

личества эритроцитов, а также общего белка и его гамма-глобулиновой фракции.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Зень В. М. Естественная резистентность организма телят при выращивании на открытых площадках // Материалы XVII международной научно-практической конференции «Современные технологии сельскохозяйственного производства». – Гродно, 2014. – С. 50-52.
2. Красочко, П. А., Новиков О. Г., Ятусевич А. И. Болезни крупного рогатого скота и свиней. Мн.:Технопринт, 2003. – 464 с.
3. Плященко, С. И. Повышение естественной резистентности организма животных – основа профилактики болезней // Ветеринария, 1991. - № 6. С. 49-52.
4. Плященко, С. И., Сидоров, В. Т. Естественная резистентность организма животных.- Л.: Колос. Ленингр. Отд-ние, 1979. - 184 с.

УДК 575/576:602.9:611.018.46:636.1

### **ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ СОБАКИ НА РАННИХ ПАССАЖАХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ IN VITRO**

**Кладницкая Л. В., Мазуркевич А. И., Величко С. В., Малюк Н. А.,  
Безденежных Н. А., Козицкая Т. В.**

Национальный университет биоресурсов и природопользования  
Украины; институт экспериментальной патологии, онкологии  
и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины,  
Киевский национальный медицинский университет  
им. О. О. Богомольца  
г. Киев, Украина

В настоящее время известно, что в строме жировой ткани присутствует популяция стволовых прогениторных клеток с мультилинейным потенциалом, подобных мезенхимальным стволовым клеткам, полученным из костного мозга. Учитывая то, что жировую ткань можно получить с наименьшей травматизацией и нагрузкой для организма донора, ее рассматривают как альтернативный источник первичного материала для получения культуры стволовых клеток, которые могут быть применены для трансплантации с целью коррекции функционального состояния систем и органов [1, 2, 3]. Однако особенности иммуногенности стволовых клеток, которые позволяют обосновать применение и подтвердить клиническую эффективность новых разработок в направлении клеточных технологий, освещены недостаточно.

Опыты проводились в условиях проблемной научно-исследовательской лаборатории физиологии и патофизиологии животных факультета ветеринарной медицины Национального университета биоресурсов и природопользования Украины. Процедуру обработки первичного материала (жировой ткани собаки) проводили в кабинете биологической безопасности класса II, типа A2 «ESCO». Культивирование клеток проводили в CO<sub>2</sub> инкубаторе HERACELL (Німеччина) [4]. Методом иммуноцитохимических исследований в клетках полученной культуры IV-го пассажа определяли экспрессию цитоплазматических и ядерных белков. Анализ результатов проводили по подсчету клеток с экспрессией (коричневая окраска клеток) с помощью светового микроскопа и оценивали классическим методом в балах H-Score:  $S = 1xA + 2xB + 3xC$ , где S – показатель «H-Score», значения которого находятся в пределах от 0 (белок не экспрессируется) до 300 (сильная экспрессия в 100% клеток), A – % слабо «окрашенных» клеток, B – % умеренно «окрашенных» клеток, C – % сильно «окрашенных» клеток [5]. Статистическую обработку полученных экспериментальных результатов проводили по Н. А. Плохинскому, а также с использованием пакета анализа данных Microsoft Excel.

В результате исследований установлено, что стволовые клетки жировой ткани собаки IV-го пассажа характеризуются высоким уровнем экспрессии PCNA –  $275 \pm 9$ , Ki-67 –  $299 \pm 1$ , виментина –  $266 \pm 21$ , актина –  $299 \pm 1$ , E-кадгерина –  $298 \pm 1$ , панцитокератина –  $300 \pm 0$ . Максимальные показатели уровня экспрессии этих белков характеризуют высокие адгезивные свойства, активную пролиферацию, сигнализацию и процессы миграции клеток культуры. В то же время уровень экспрессии белка CD44 составлял  $26 \pm 3$ , Vcl-2 –  $9 \pm 2$ , B-катенина –  $98 \pm 9$  баллов. Уровень экспрессии B-катенина характеризует подвижность клеток культуры, Vcl-2 – уровень апоптоза, гликопротеин CD44 играет важную роль в межклеточных взаимодействиях, клеточной адгезии и миграции.

Таким образом, стволовые клетки IV-го пассажа жировой ткани собаки характеризуются высоким уровнем экспрессии белков межклеточного взаимодействия, адгезии, пролиферации, а также миграции.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Isolation and characterization of canine adipose-derived mesenchymal stem cells. / M. Neupan, C. Chang, M. Kiupel, V. Yuzbasiyan-Gurkan // Tissue Eng Part A. – 2008 Jun; – 14(6):1007-15. doi: 10.1089/tea.2007.0207.
2. Получение культуры стволовых клеток из жировой ткани собаки /Л. В. Кладницкая, А. И. Мазуркевич, С. В. Величко, О. В. Жигунова / Вестник Сумского национального аграрного университета. Серия «Ветеринарная медицина». – 2016. –Выпуск 6 (38). – С.19-24.

3. Проліферативна активність мезенхімальних стовбурових клітин залежно від умов виділення первинного матеріалу/ А. Й. Мазуркевич, Л. В. Кладницька, В. В. Ковпак// ISSN 0201-8489. – Фізіол. журн. – 2014. – Т. 60. – № 3(Додаток). – 14 с.
4. Патент Украины на полезную модель №109148. Способ получения мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани собаки / Кладницкая Л. В., Мазуркевич А. И., Величко С. В.// Заявитель Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины. №и201602329; заявл. 11.03.2016; опубл. 10.08.2016, бюл. № 15
5. A "quickscore" method for immunohistochemical semiquantitation: validation for oestrogen receptor in breast carcinomas / S. Detre, G. Sacconi Jotti, M. Dowsett // Clin Pathol.-1995.- 48: 876-878.

УДК 575/576:602.9:611.018.46:636.1

## **ЭКСПРЕССИЯ ЯДЕРНЫХ И ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ НА ПОЗДНИХ ПАССАЖАХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ IN VITRO**

**Кладницкая Л. В., Мазуркевич А. И., Величко С. В., Малюк Н. А.,  
Безденежных Н. А., Козицкая Т. В.**

Национальный университет биоресурсов и природопользования  
Украины; институт экспериментальной патологии, онкологии  
и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины  
Киевский национальный медицинский университет  
им. О. О. Богомольца  
г. Киев, Украина

Использование стволовых клеток с целью коррекции функционального состояния систем и органов в последнее время получает все более сильную заинтересованность как со стороны исследователей, так и со стороны потребителей (владельцев животных, требующих трансплантации биологического материала). Для наработки необходимого количества стволовых клеток для трансплантации необходимо пассажировать культуру достаточно много раз, что может быть причиной ее старения и изменения характеристик [1]. Таким образом, исследование иммунофенотипа клеток культуры на поздних пассажах культивирования является актуальным вопросом.

Исследования проводили в проблемной научно-исследовательской лаборатории физиологии и патофизиологии животных факультета ветеринарной медицины Национального университета биоресурсов и природопользования Украины. Первичный материал – жировую ткань получали от собак возраста до 12-ти месяцев. Процедуру обработки первичного материала проводили в кабинете биологической безопас-