

УДК 57.085.23+57.03

**ПІДБІР ОПТИМАЛЬНИХ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ
МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН,
ОТРИМАНИХ З ПУПОВИНИ ТА АМНІОНУ ЩУРІВ**

Палій І.Р.^{1,2}, Довгалюк А.І.², Огінська Н.В.², Дробик Н.М.¹

¹ Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка

² Тернопільський національний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського

E-mail: ilona.smola24@gmail.com

Сьогодні мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) розглядаються науковцями як перспективний матеріал для клітинної терапії та регенеративної медицини. Стівбурові клітини (СК) людини виділяють з кісткового мозку, пуповинної крові, жирової тканини, ендометрію, пульпи зуба, амніону, пуповини тощо. [2, 4].

Згідно критеріїв, визначених у 2006 році Комітетом з мезенхімальних і тканинних стовбурових клітин Міжнародного товариства клітинної терапії, вважається, що клітини пуповинного канатика та амніотичної оболонки належать до мезенхімальних [1]. Показано, що МСК пуповини та амніону експресують поверхневі маркери з такими кластерами диференціації: CD29, CD44, CD73, CD90, CD105 і не експресують CD14, CD34, CD45 і HLA-DR, характерні для гемопоетичних СК. Такі МСК характеризуються низькою експресією антигенів МНС I класу, що захищає їх при алогенному введенні від атаки природних кілерів реципієнта, а також низькою чи нульовою експресією антигенів МНС II класу. На підставі цього доведено, що мезенхімальні стовбурові клітини пуповинного канатика та амніотичної оболонки менш імуногенні порівняно з клітинами, виділеними з інших джерел [2, 4].

Враховуючи фенотип та біологічні властивості, МСК пуповини та амніону вважають проміжним типом між ембріональними стовбуровими клітинами та стовбуровими клітинами дорослого організму. Важливими перевагами цих видів МСК, отриманих із післяродового матеріалу, порівняно із стовбуровими клітинами з інших джерел дорослого організму чи

ембріона, є доступність, економічність, етичність, вищий регенераторний потенціал і низький ризик передачі інфекцій [2, 4].

З метою подальшого вивчення механізмів впливу МСК на відновлення пошкоджених структур в експериментальних тварин нами було заплановано виділення та масштабування стовбурових клітин щурів.

Експерименти проведені на тваринах із дотриманням вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (ст. 230 від 2006 року), Загальних етичних експериментів над тваринами», схвалених Національним конгресом з біоетики і узгоджених із положеннями «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментах та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986) [3].

Завданням даного дослідження був підбір оптимальних умов для культивування ліній МСК щурів з пуповини та амніону на основі порівняння їхньої проліферативної активності у різних ростових середовищах. Критерієм ефективності умов культивування вважали проліферативний потенціал культур МСК, який визначали за швидкістю утворення моношару (щільність клітинної популяції – конфлюент 100%).

МСК отримували з пуповини та амніону щурів на пізній стадії гестації. Для цього після евтаназії тварин (з використанням тіопенталу) забирали шматочки амніотичної оболонки та пуповинного канатика, відмивали від згустків крові буферним розчином Hank's (Gibco) з додаванням 1% PenStrep (пеніцилін-стрептоміцин (Sigma)), подрібнювали скальпелем та ферментували колагеназою I (Sigma) у концентрації 0,075 мг/мл упродовж 1 год за температури 37° С. Після відмивання від колагенази експланти були висаджені у культуральні флакони з різними ростовими середовищами. Вирощування клітин здійснювали у CO₂-інкубаторі за температури 37 °С та 5 %-вої концентрації CO₂ до утворення конфлюенту 90–100 %.

Згідно літературних даних [3], оптимальним середовищем для вирощування МСК щурів було визначено DMEM/F12 (Sigma) з додаванням 20 %-вої ембріональної сироватки телят (ECT) (Gibco). Метою нашого дослідження було порівняння ефективності використання культуральних середовищ

DMEM/F12 (Gibco) та DMEM/F12 Advanced (Gibco) з додаванням різних концентрацій сироватки (2, 5, 10 і 20 %).

Первинну культуру мезенхімальних клітин отримували на середовищі DMEM/F12 Advanced +10% ECT. Як показав мікроскопічний аналіз клітинної лінії з пуповини, на 3 добу після висаджування експлантів пуповинні МСК швидко проліферували і покривали дно культурального флакона зі щільністю 35–40 %. На 5 добу культивування ця культура утворила моношар (конфлюент 100 %), тому була пасивована на свіжоприготовлене середовище зі зниженою концентрацією ECT (5 %). Однак, МСК з амніону не виявляли жодної проліферативної активності впродовж першого тижня за аналогічних умов культивування. Тому для стимулювання росту амніотичних клітин концентрація сироватки була збільшена до 20 %. 100 % конфлюент у цій культурі спостерігали на 24 добу після висаджування експлантів.

Для порівняння впливу різного складу живильного середовища на інтенсивність росту клітин нами було використано два види культуральних середовищ DMEM/F12 та DMEM/F12 Advanced. Відмінність між цими середовищами полягає у тому, що DMEM/F12 Advanced має додатково у своєму складі інсулін, трансферин, етаноламін, глутатіон, аскорбінову кислоту, додаткове джерело білка AlbuMAX® II, тому його можна використовувати із додаванням мінімальних концентрацій ECT. Вирощування як пуповинних так і амніотичних МСК упродовж 2, 3, 4 та 5 пасажів на DMEM/F12 з концентраціями ECT 5, 10, 20 % було менш ефективним, ніж на DMEM/F12 Advanced з додаванням 2 % ECT. Очевидно, такий результат зумовлений особливими додатками, що присутні у складі останнього середовища.

Присутність навіть невеликої кількості чужорідних білків (наприклад, альбумінів з ембріональної телячої сироватки) у суспензії МСК може викликати небажану імунну реакцію реципієнта при клітинній терапії. Тому, зменшення концентрації ECT при масштабуванні стовбурових клітин підвищує їхню якість при терапевтичному застосуванні.

Отже, доведена ефективність застосування культурального середовища DMEM F12 Advanced з додаванням мінімальної концентрації ECT 2 % при вирощуванні мезенхімальних

стовбурових клітин пуповинного канатика та амніотичної оболонки щурів.

1. Ковпак В. В., Ковпак О. С. Проліферативна активність мезенхімальних стовбурових клітин щура за впливу культурального середовища / Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України – 2016. – №3.– С. 62–65.
2. Насадюк Х. М. Стівбурові клітини пупкового канатика: біологічна характеристика, підходи до банкінгу та клінічного застосування /Клітинна та органна трансплантологія – 2016. – Т. 4, № 2. – С. 224-229.
3. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // Cytotherapy. – 2006. – Vol. 8, № 4. – P. 315-317.
4. Shende P. Gupta H., Gaud R.S. Cytotherapy using stromal cells: current and advance multi-treatment approaches // Biomedicine & Pharmacotherapy – 2018. – Vol. 97, № 1. – P. 38-44.

УДК 612.8:159.922.82

**ОСОБЛИВОСТІ СЕНСОМОТОРНИХ РЕАКЦІЙ І
СТРУКТУРИ ІНТЕЛЕКТУ В ОСІБ ЮНАЦЬКОГО ВІКУ**

Петрівська С.О.

Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка

E-mail: 0966614940@ukr.net

Останнім часом значно зростає необхідність вивчення впливу психічних суб'єктивних станів на комплекс об'єктивних психофізіологічних і фізіологічних показників, оскільки на фізіологічний стан людини великий вплив має його психоемоційний стан [4].

Однією з головних проблем сучасного світу є швидке зростання дії на людину різних видів інформації. Тому, на сьогодні актуальність ефективного розв'язання проблеми психофізіологічного забезпечення переробки інформації