

рекомендуємо замість соняшникової олії додавати 6 % фільтроперліту в раціон курчат-бройлерів.

Для підвищення яйценосності курей-несучок та міцності яєчної шкаралупи рекомендуємо додавати до раціону курей-несучок 3 % фільтроперліту.

#### Література

1. Архипов А. В. Энергетическое питание птицы / А.В. Архипов // Тез. докл. Всес. науч.-техн. конф. Новосибирск, 1990. Биология. Москва. – 1990. – № 12. – С. 39–40.

2. Ібатулін І. І. Перетравність та баланс поживних речовин при згодовуванні курам – несучкам корму з високим вмістом вітаміну Е / І. І. Ібатулін, В. В. Отченашко // Науковий вісник ЛДАВМ ім. С. З. Гжицького, Львів 2000, Т. 2 (№ 3–4) – С. 159–167.

3. Кирилів Я. І. Обмінні процеси і продуктивність курей – несучок в залежності від якості протеїну корму / Я. І. Кирилів, І. Б. Ратич, Г. М. Стояновська та ін. // Науково-технічний бюлетень Інституту землеробства і біології тварин. – Львів, 1999. – Вип. 1 (3), – С. 122–128.

4. Кирилів Б. Я. Вміст загальних ліпідів і співвідношення їх окремих класів у плазмі крові і тканині печінки курей – несучок за різної кількості ліпідів раціону / Б. Я. Кирилів, І.Б. Ратич // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин. – Львів, 2001 – Вип. 1–2. – С. 21–26.

5. Моравська О. В. Жирнокислотний спектр загальних ліпідів та вміст вітаміну А в тканинах ембріонів і жовтку яєць гусей залежно від рівня токоферолу в комбікормі / О. В. Моравська, С. О. Вовк // Вісник ХНУ імені В. Н. Каразіна. – 2009. – вип. – 10, № 878. – С. 34–39

6. Артюнян Н. С. Рафинация масел 4 жиров: теоретические основы, практика, технология, оборудование / Н. С. Артюнян, Е. П. Корпенко, Е. А. Нестерова. – СПб. ТиОГД, 2004. – 288 с.

7. Shariatmadari F. The application of zeolite in poultry production // World's Poultry Science. – 2008. – № 1. – V. 64. – P. 76–84.

*Стаття надійшла до редакції 21.05.2015*

УДК 619:611.018.15

**Ковпак В. В.**, к.вет.н.,

**Підопригора О. С.**, студентка 2 курсу ОКР «Магістр»<sup>©</sup>

E-mail: alex88-87@yandex.ru

*Національний університет біоресурсів і природокористування України,  
м.Київ, Україна*

### **МОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ В СЕРЦІ ЩУРІВ ЗА ІНФАРКТУ МІОКАРДА ПРИ ВВЕДЕННІ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН**

*У даній статті представлена модель ішемічного інфаркту міокарда у щурів та наведені результати дослідження мікроструктурних змін у ньому на різних строках після моделювання патологічного процесу. На основі мікроструктурних змін міокарда на фоні ішемічного інфаркту відмічено стадійність процесу, що у свою чергу дозволяє визначити оптимальний час використання клітиннозамісної терапії при даній патології. Встановлено, що процес перебігу інфаркту ускладнюється розширенням ішемічної зони. Досліджено макроскопічні зміни у*

серці щурів за експериментально сформованого інфаркту міокарда за введення мезенхімальних стовбурових клітин (МСК), середовища Ігла модифікованого Дюльбеко (ДМЕМ) та у неоперованих тварин. Досліджено вплив МСК на розвиток інфаркту міокарда у щурів. Встановлено достовірний позитивний терапевтичний ефект після трансплантації МСК в зону ішемії, який характеризується зменшенням площі некротизованої ділянки, та прискоренням розвитку рубця.

**Ключові слова:** ішемічний інфаркт, гістоструктура міокарда, мезенхімальні стовбурові клітини, щури, морфометричні зміни.

УДК 619:611.018.15

**Ковпак В. В.**, к.вет.н., **Пидопригора О. С.**, студентка 2 курсу ОКР «Магістр»  
Національний університет біоресурсів і природопольовання України, Київ,  
Україна

### **МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕРДЦЕ КРЫС ПРИ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА ПРИ ВВЕДЕНИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

В данной статье представлена модель ишемического инфаркта миокарда у крыс и приведены результаты исследования микроструктурных изменений в нем на разных сроках после моделирования патологического процесса. На основе микроструктурных изменений миокарда на фоне ишемического инфаркта отмечена стадийность процесса, что в свою очередь позволяет определить оптимальное время использования клеточнозаместительной терапии при данной патологии. Определено, что процесс течения инфаркта осложняется расширением ишемической зоны. Исследовано макроскопические изменения в сердце крысы при экспериментально сформированом инфаркте миокарда при введении мезенхимальных стволовых клеток (МСК), среды Игла модифицированного Дюльбеко (ДМЕМ) и у неоперированных животных. Исследовано влияние МСК на развитие инфаркта миокарда у крыс. Установлено, что процесс течения инфаркта осложняется расширением ишемической зоны. Установлена достоверный положительный терапевтический эффект после трансплантации МСК в зону ишемии, который характеризуется уменьшением площади некротизированных участков, и ускорением развития рубца.

**Ключевые слова:** ишемический инфаркт, гистоструктуры миокарда, мезенхимальные стволовые клетки, крысы, морфометрические изменения.

UDC: 619:611.018.15

**Kovpak V. V., Pidoprygora O. S.**

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

### **THE MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE HEART OF RATS WITH MYOCARDIAL INFARCTION AFTER APPLICATION OF STEM CELLS**

This article presents a model of ischemic myocardial infarction in rats and results of research microstructural changes in it in different terms after modeling the pathological process. Based on the microstructural changes in myocardial ischemic myocardial background process stages followed, which in turn determines the optimum using cell replacement therapy in this condition. That the process is complicated course of myocardial ischemic zone expansion. Compared macroscopic changes in the rat heart by experimental myocardial infarction formed by the introduction of mesenchymal stem cells (MSC), medium Iгла modified Dyulbeko (DMEM) and not operated animals.

*Investigated effect of MSCs on the development of myocardial infarction in rats. That the process is complicated course of myocardial ischemic zone expansion. The authentic positive therapeutic effect after transplantation of MSCs in the ischemic area, which is characterized by a decrease in the area of necrotic areas and advance the development of scar.*

**Key words:** *ischemic infarct myocardium histostructure, mesenchymal stem cells, rats, morphometric changes.*

Практичний інтерес до ветеринарної кардіології виник в 1960-х роках, після надходження інформації, отриманої від посмертних розтинів тварин. Незважаючи на багато наукових відкриттів, спрямованих на зниження кількості серцево-судинних захворювань та смертності, група даних патологій залишається найбільш проблемною. Провідну роль у виникненні основних захворювань серця у домашніх тварин відіграють розлади коронарного кровообігу, що у свою чергу призводять до ішемічних, некротичних чи фібринозних змін міокарда [5].

Тромбоз чи емболія коронарних артерій сприяє виникненню в серці зони ішемії і некрозу кардіоміоцитів, які з часом заміщаються сполучнотканинним рубцем. Пошкоджений міокард ніколи не відновлює своєї початкової структури. Це спричиняє порушення функцій серця і розвитку таких ускладнень як серцева недостатність, аритмії, аневризми, розрив міокарда і т. д.

Клітинна терапія – новий метод лікування захворювань, пов'язаних з незворотною загибеллю клітинних елементів. Сфера використання клітинних технологій постійно розширюється. На експериментальному рівні клітинні технології вже активно використовуються в кардіології, за інфаркту міокарда і кардіоміопатії [2, 7].

Використання клітинних технологій на експериментальних моделях ушкодженого міокарда мало позитивний вплив на репарацію тканини і відновлення серцевої діяльності. Як агентів клітинної терапії інфаркту міокарда використовували міобласти поперечно-посмугової мускулатури, фетальні кардіоміоцити, гемопоетичні стовбурові клітини, стовбурові клітини ендотелію судин, у тому числі й мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) [1, 3, 4, 8, 6]. Однак проведені дослідження не охоплюють усього спектра проблем, пов'язаних з клітинною терапією інфаркту міокарда.

Свідчення того, що МСК можуть диференціюватися в кардіоміоцити як *in vitro*, так і *in vivo*, мають здатність впливати на ендогенні популяції стовбурових клітин і мігрувати в зону пошкодження, слугували основою для формування цілі і завдання нашого дослідження.

Метою нашої роботи було дослідити морфометричні зміни в серці, а також дослідити мікро- та макроструктурні зміни у серцевому м'язі при експериментально сформованому інфаркті міокарда у щурів та вплив мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) на перебіг інфаркту міокарда.

**Матеріали і методи.** Експериментальні дослідження проведені в умовах проблемної науково-дослідної лабораторії фізіології та експериментальної патології тварин НУБіП України.

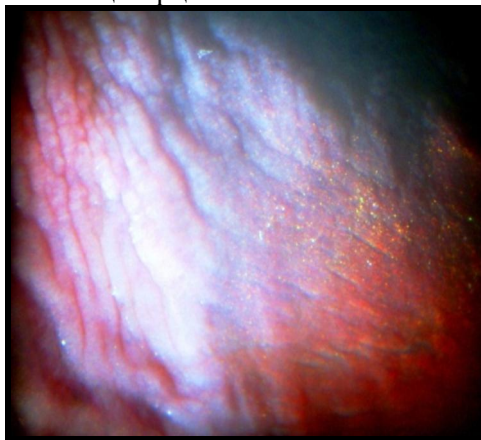
Експерименти на тваринах були проведені з дотриманням вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (ст. 230 від 2006 року), «Загальних етичних експериментів над тваринами», схвалених Національним конгресом з біоетики і узгоджених з положеннями «Європейської конвенції щодо захисту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

Для досліджень використовували самиць лабораторних щурів масою 210–250 г, віком 3 місяці, у яких формували інфаркт міокарда, шляхом лігування лівої коронарної артерії. Контроль за перебігом інфаркту здійснювали на 7-у, 12-у, 17-у та 25-у добу після його формування за допомогою гістологічного методу.

З цією метою у тварин після виведення їх із досліду методом евтаназії відбирали проби міокарду. Фіксацію відібраних зразків здійснювали протягом 7-ми діб, використовуючи 10 % водний розчин нейтрального формаліну, об'єм якого у 20–40 разів перевищував об'єм відібраного матеріалу. Зрізи завтовшки 5–7  $\mu\text{m}$  виготовляли за допомогою ротатійного мікротома HM 320 E (MICROM, Німеччина). Для дослідження гістоструктури міокарду, зрізи фарбували гематоксиліном та еозином, для виявлення сполучної тканини – за методом Ван Гізона, після чого препарати піддавали світловій мікроскопії.

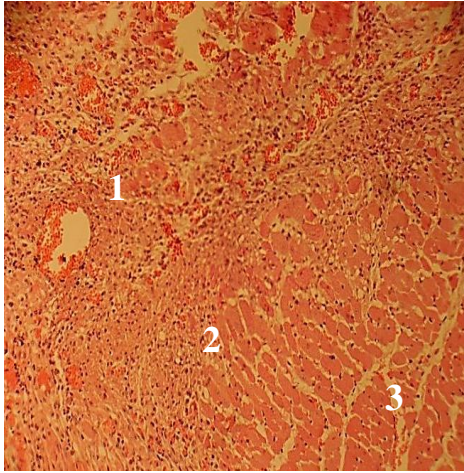
Для визначення морфометричних змін у серці тварини були розділені на 3 групи: I – норма (неоперовані тварини), II – контроль (тварини з експериментально сформованим інфарктом міокарда та інтраміокардіально введеним в зону ішемії середовища Ігла модифікованого Дюльбеко (ДМЕМ), III – дослідна (тварини з експериментально сформованим інфарктом міокарда та інтраміокардіально введеними в зону ішемії МСК з ДМЕМ). Дослідження проводилися на 8-й день після експериментально сформованого інфаркту міокарда. Розмір експериментального інфаркту міокарда визначали за допомогою фарбування зрізів серця 2,3,5-трифенілтетразолієм хлоридом (ТТХ). У тварин одразу після евтаназії (через 8 днів після трансплантації клітин) вилучали серце, промивали його фізіологічним розчином і розрізали в поздовжньому напрямку за допомогою леза. Зрізи поміщали в 1%-й розчин ТТХ (SIGMA, США), що зафарбовує життєздатний міокард, де збережена активність НАД-залежних ферментів, в темно-червоний (буряковий) колір, і інкубували протягом доби в  $\text{CO}_2$  інкубаторі при температурі  $37^\circ\text{C}$  та вмістом  $\text{CO}_2$ –5 %.

Зрізи розглядали під бінокулярною лупою при збільшенні в 20 разів (рис. 1). Загальну площу рубця вираховували за зрізами і представляли в відсотковому співвідношенні від загальної площі серця.

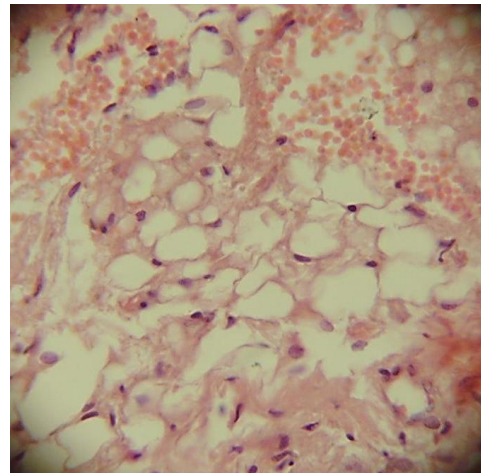


**Рис.1. Серце щура з експериментально сформованим інфарктом міокарда, пофарбоване ТТХ,  $\times 20$**

**Результати й обговорення.** На 7-му добу після моделювання інфаркту міокарду відмічали наявність запального процесу, інфільтрацію зони пошкодження тканинними макрофагами, лейкоцитами та утворення грануляційної тканини у вигляді бар'єру навколо ділянки пошкодження. У зоні ішемії спостерігали міоцитоліз кардіоміоцитів та коагуляційний некроз: при цьому загиблі клітини набрякали, проте зберігали свої контури, оскільки цитоплазматичні білки коагулювались та ставали стійкими до дії лізосомальних ферментів (рис. 2, 3). Одночасно спостерігали підвищену активність стромального компоненту – проліферацію клітин строми, активацію ендотеліоцитів.



**Рис. 2.** Ділянка інфаркту міокарда: 1 – зона запалення; 2 – демаркаційна зона; 3 – набряк кардіоміоцитів. Гістопрепарат, фарбування гемотоксилином і еозином, 10x10



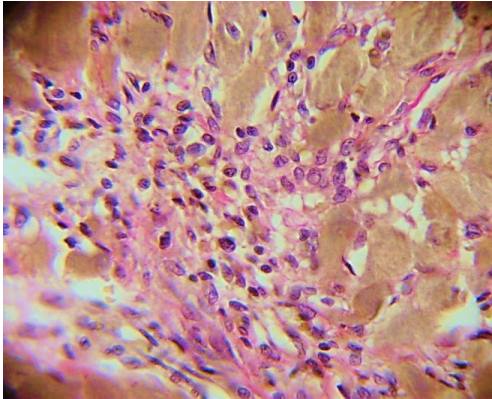
**Рис. 3.** Ділянка інфаркту міокарда: некроз кардіоміоцитів, інфільтрація лейкоцитами та еритроцитами. Гістопрепарат, фарбування гемотоксилином і еозином, 40x10

На 12-у добу після формування інфаркту спостерігали активізацію процесів формування рубцевої тканини та відкладання колагену без утворення колагенових волокон (рис. 4). В позаінфарктній зоні спостерігали набряк кардіоміоцитів та формування складів еритроцитів у капілярах. В зоні інфаркту спостерігали окремі острівці некротизованих кардіоміоцитів (рис. 5).

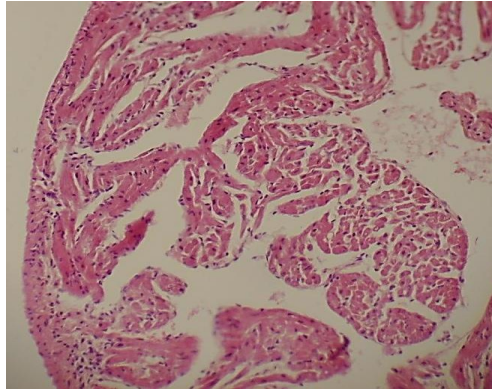
На 17-у добу у ділянці патологічного процесу спостерігались початкові етапи формування сполучної тканини. При цьому і виявлялась значна кількість судин та фібробластів. У центральних ділянках інфаркту відмічалась присутність сформованих колагенових волокон. Поза зоною пошкодження спостерігався інтрацелюлярний набряк кардіоміоцитів (рис. 6). На 25-у добу після формування інфаркту у зоні пошкодження спостерігали активне формування і структурування сполучної тканини. У сполучній тканині відмічали значну кількість судин синусоїдного типу.

Патологічний процес захоплював не лише зону інфаркту, а й сусідні ділянки, де також спостерігались ознаки прогресуючого периферичного інфаркту міокарду: набряк кардіоміоцитів, активацію стромального компоненту, формування

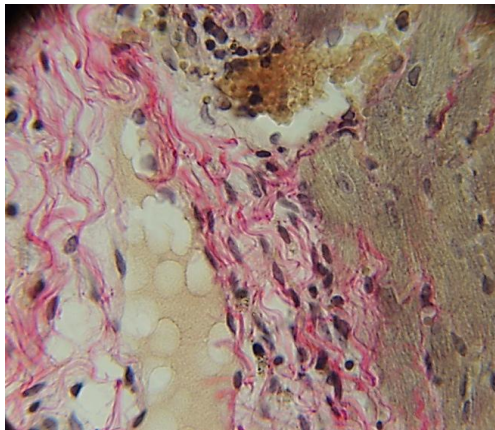
грануляційної тканини. У окремих ділянках відмічали повне заміщення некротичної тканини рубцевою. Рубцева тканина була неоднорідна, що свідчить про неодномоментність її розвитку (рис. 7). У процесі перебігу інфаркту його зона збільшувалась, що, можливо, відбувалося за рахунок здавлювання судин набряклими пошкодженими кардіоміоцитами.



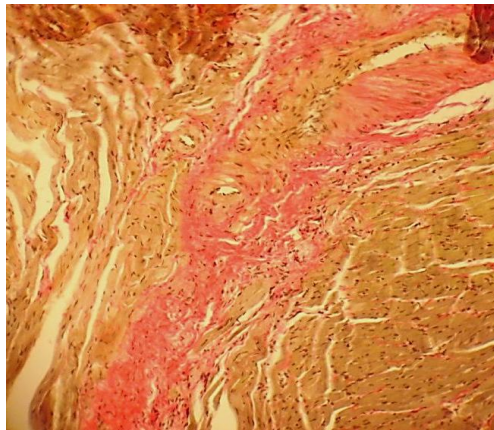
**Рис. 4. Ділянка інфаркту: проліферація клітин строми. Гістопрепарат, фарбування за методом Ван Гізон, 40x10**



**Рис. 5. Ділянка інфаркту: острівки некротизованих кардіоміоцитів. Гістопрепарат, фарбування гематоксилином та еозином, 10x10**



**Рис. 6. Ділянка інфаркту: формування колагенових волокон у місці інфаркту. Гістопрепарат, фарбування за методом Ван Гізон, 40x10**

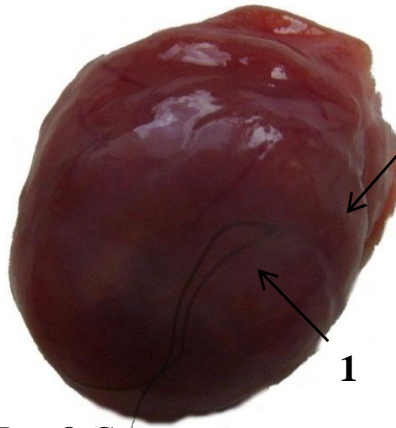


**Рис. 7. Ділянка інфаркту: тяж сполучної тканини у місці формування інфаркту. Гістопрепарат, фарбування за методом Ван Гізон, 10x10**

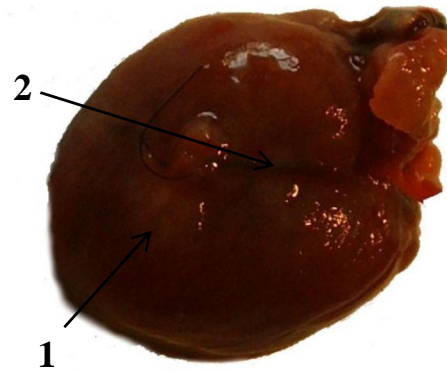
Макроскопічне дослідження нативних препаратів сердець щурів контрольної групи (при введенні ДМЕМ) показало збільшення серця і наявність аневризми лівого шлуночка порівняно з нормою (неоперовані тварини) (рис. 8). У тварин, яким здійснювалась трансплантація МСК, на передній стінці лівого шлуночка відмічали рубцеві зміни, розміри серця були незначно збільшені (рис. 9).

Для чіткого розмежування здорового міокарда та ішемізованих тканин використовували фарбування 2,3,5-трифенілтетразолієм хлоридом. Даний метод дозволяє на макроскопічному рівні визначити межі інфаркту міокарда та визначити його площу.

Результати визначення площі некрозу після фарбування зрізів серця щурів 2,3,5-трифенілтетразолієм хлоридом показали, що площа некрозу в контрольній групі складала  $20,3 \pm 0,9$  % від загальної площі серця. В дослідній групі відмічали позитивний терапевтичний ефект, при цьому зона некрозу зменшилась в середньому на 5,6 % і складала  $14,7 \pm 0,9$  %.



**Рис. 8. Серце щура контрольної групи (введення ДМЕМ): 1 – некротизовані тканини, 2 – аневризма. Нативний препарат**



**Рис. 9. Серце щура дослідної групи (введення МСК): 1 – рубцева тканина, 2 – аневризма. Нативний препарат**

#### **Висновки:**

1. Процес перебігу інфаркту у щурів ускладнюється розширенням ішемічної зони внаслідок набряку пошкоджених кардіоміоцитів та здавлювання ними судин позаінфарктної зони.

2. Дослідження мікроструктурних змін міокарда на фоні ішемічного інфаркту дозволяє прослідкувати стадійність процесу та визначити оптимальні терміни для проведення клітиннозамісної терапії.

3. При трансплантації МСК в зону ішемії відмічається достовірний позитивний терапевтичний ефект, який характеризується зменшенням площі некротизованої ділянки серця порівняно з контрольною групою.

#### **Перспективи подальших досліджень:**

Наведені результати позитивного впливу МСК на перебіг експериментально сформованого інфаркту міокарду у щурів використовуватимуться для вивчення механізмів впливу стовбурових клітин на даний патологічний процес.

#### **Література**

1. Atkins B. Z., Hueman M. T., Meuchel J. M., Cottman M. J., Hutcheson K. A., Taylor D. A. Myogenic cell transplantation improves in vivo regional performance in infarcted rabbit myocardium // J Heart Lung Transpl. – 1999. – Vol. 18, № 12. – P. 1173–1180.
2. Hill J. M., Syed M. A., Arai A. E., Powell T. M., Paul J. D., Zalos G., Read E. J., Khoo H., Leitman S. F., Horne M. K., Csako G., Dunbar C. E., Cannon R. O.

Outcomes of granulocyte colony-stimulating factor administration to patients with severe coronary artery disease // *Circulation*. – 2004. – Vol. 110 (suppl III). – P. 352.

3. Kawamoto A., Tkebuchava T., Yamaguchi J., Nishimura H., Yoon Y. S., Milliken C., Uchida S., Masuo O., Iwaguro H., Ma H., Hanley A., Silver M., Kearney M., Losordo D. W., Isner J. M., Asahara T. Intramyocardial transplantation of autologous endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization of myocardial ischemia // *Circulation*. – 2003. – Vol.107, №3 – P. 461–468.

4. Leobon B., Garcin I., Menasche P., Vilquin J. T., Audinat E., Charpak S. Myoblasts transplanted into rat infarcted myocardium are functionally isolated from

5. Philip R. Fox. Textbook of canine and feline cardiology: principles and clinical practice / Philip R. Fox, David Sisson, N. Sydney Moise. – [2nd ed.] – Philadelphia: W.B.SAUNDERS COMPANY, 1999. – 955 p.

6. Skobel E., Schuh A., Schwarz E. R., Liehn E. A., Franke A., Breuer S., Gunther K., Reffelmann T., Hanrath P., Weber C. Transplantation of fetal cardiomyocytes into infarcted rat hearts results in long-term functional improvement // *Tissue Eng*. – 2004. – Vol.10, № 5 (6). – P. 849–864.

7. Smits P. C., van Geuns R. J. Poldermans D., Bountiokos M., Onderwater E. E., Lee C. H., Maat A. P., Seruys P.W. Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-month follow-up // *J Am Coll Cardiol*. – 2003. – Vol.42. – P. 2063–2069.

8. Xu X., Xu Z., Xu Y., Gul G. Effects of mesenchymal stem cell transplantation on extracellular matrix after myocardial infarction in rats // *Coron Artery Dis*. – 2005. – Vol. 16, № 4. – P. 245–255.

*Стаття надійшла до редакції 3.03.2015*

УДК 619:57.085.21.086

**Ковпак В. В.**, к.вет.н.; **Харкевич Ю. О.**, к.вет.н.;  
**Каленюк Ю. В.**, студентка 2 курсу ОКР «Магістр»  
E-mail: vitkovpak@mail.ru

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ,  
Україна*

#### **ВПЛИВ СЕРЕДОВИЩА НА ЗБЕРЕЖЕНІСТЬ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ПІД ЧАС КРІОКОНСЕРВУВАННЯ**

*У даній статті представлені результати дослідження впливу кріоконсервування мезенхімальних стовбурових клітин різного складу кріосередовищ. Порівняно захисні властивості п'яти середовищ. Вплив кріосередовищ оцінювали на підставі визначення життєздатності та збереження адгезивних властивостей клітин після розмороження. Дослідження проведені на клітинах собаки, kota та кроля.*

**Ключові слова:** мезенхімальні стовбурові клітини, кріоконсервування, диметилсульфоксид, адгезивні властивості клітин, життєздатність клітин.

УДК 619:57.085.21.086

**Ковпак В. В.**, **Харкевич Ю. А.**, **Каленюк Ю. В.**

*Національний університет біоресурсів і природопользования Украины, Киев,  
Украина*

#### **ВЛИЯНИЕ СРЕДЫ НА СОХРАННОСТЬ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИИ**

*В данной статье представлены результаты исследования влияния криоконсервирования мезенхимальных стволовых клеток состава криозащитных сред. Представлены результаты защитных свойства пяти сред. Действие*