

2010. - Vol.206. - P.145-150.  
Ulinastatin improves pulmonary function in

severe burn-induced acute lung injury  
by attenuating inflammatory response

/Y.Fang, P.Xu, C.Gu [et al.] //The J. of  
trauma. - 2011. - Vol.71. - P.1297-1304.

*Небесна З. М., Волков К.С.*

**СТРУКТУРНАЯ И МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ СОСУДОВ ЛЕГКИХ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ И В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ СУБСТРАТА ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ КСЕНОКОЖИ**

**Резюме.** В эксперименте на половозрелых белых крысах-самцах проведены гистологические и морфометрические исследования сосудов легких в стадиях ранней и поздней токсемии и септикотоксемии после экспериментальной термической травмы в условиях проведения ранней некрэктомии и применении измельченного субстрата лиофилизированной ксенокожи. Установлено, что использование указанного препарата предотвращает развитие деструктивных изменений в стенке сосудов и компонентах аэрогематического барьера легких и положительно влияет на течение в них регенераторных процессов. Это способствует относительной нормализации сосудистого русла и их морфометрических показателей в поздние сроки эксперимента.

**Ключевые слова:** сосуды легких, аэрогематический барьер, гистологические и морфометрические изменения, термическая травма, субстрат лиофилизированной ксенокожи.

*Nebesna Z.M., Volkov K.S.*

**STRUCTURAL AND MORPHOMETRIC REORGANIZATION OF THE LUNG VESSELS AFTER EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA AND APPLICATION OF LYOPHILIZED XENOGRAFT SUBSTRATE**

**Summary.** In the experiment on mature white male rats histological and morphometric study of vessels of the lungs was performed in early and late stages of toxemia and septicotoxemia after experimental thermal trauma in terms of early necrectomy and lyophilized xenograft substrate application. It was established that the use of this method prevents the development of destructive changes in the vascular wall components and aero-hematic barrier of the lungs and positive impact on the course they regenerative processes. This contributes to the relative normalization of the microcirculatory bed and their morphometric parameters in the later stages of the experiment.

**Key words:** vessels of the lungs, aero-hematic barrier, histologic and morphometric changes, thermal trauma, lyophilized xenograft substrate.

**Рецензент:** д.мед.н., професор Герасимюк І.Є.

Стаття надійшла до редакції 1.06.2015 р.

*Небесна Зоя Михайлівна* - к.біол.н., доцент кафедри гістології та ембріології ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України"; Zoyadacenko@gmail.com

*Волков Константин Степанович* - д.біол.н., професор, завідувач кафедри гістології та ембріології ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України"; +38 0322 25-17-80

© Любич Л.Д., Семенова В.М., Стайно Л.П.

УДК: 576.8.083.1:591.3:591.81:616-006.484-092.9

*Любич Л.Д., Семенова В.М., Стайно Л.П.*

ДУ "Інститут нейрохірургії ім.акад.А.П.Ромоданова НАМН України" (вул.Платона Майбороди, 32, Київ, 04050, Україна)

**ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ КУЛЬТИВУВАННЯ ДЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ОЦІНКИ ВПЛИВУ СУПЕРНАТАНТУ ФЕТАЛЬНИХ НЕЙРОГЕННИХ КЛІТИН НА КЛІТИНИ ГЛІОМИ С6**

**Резюме.** Мета роботи полягала в оцінці впливу супернатанту фетальних нейрогенних клітин (СНК) щура на культивовані клітини гліоми щура С6. СНК, отримані з суспензій нейрогенних клітин мозку щура на 9 (Е9) та 14 (Е14) добу гестації (0,01, 0, 10 мг/мл) додавали до суспензії клітин гліоми щура С6; через 24 год інкубації в суспензіях визначали кількість життєздатних клітин та вираховували цитотоксичний індекс. СНК (0,01, 0, 10 мг/мл) додавали до первинних культур гліоми щура С6, через 24 і 48 год інкубації аналізували цитологічні препарати та визначали мітотичний індекс. СНК фетального мозку щура різних строків гестації виявили цитотоксичний та антимітотичний ефект на культивовані клітини гліоми С6, який посилювався зі збільшенням терміну гестації мозку щура, подовженням тривалості інкубації та був дозозалежним. Первинні культури гліом головного мозку щура є адекватною експериментальною моделлю для оцінки протипухлинної дії фетальних нейрогенних клітин щура.

**Ключові слова:** прогеніторні нейрогенні клітини щура, супернатант, гліома С6 щура, цитотоксичний індекс, мітотичний індекс.

**Вступ**

Успішна розробка фундаментальних проблем сучасної нейробіології та нейроонкології значною мірою обумовлена застосуванням методу культивування нервової тканини, перевагою якого є можливість протягом тривалого часу прижиттєво спостерігати культивовані нейроклітини в різних експериментальних умовах

та проводити електрофізіологічні, біохімічні, молекулярно-генетичні та інші дослідження для з'ясування механізмів функціонування живих нейронів та гліоцитів [Пинаев и др., 2008; 2011]. У культурі нервової тканини продовжується диференціювання нейронів та гліальних клітин, відбувається реалізація запрограмованих в

онтогенезі структурно-цитохімічних властивостей, утворюються нові синаптичні зв'язки між клітинами [Пинаев и др., 2011].

У нейроонкології первинні та дисоційовані культури клітин, отримані з різних пухлин, широко застосовуються у дослідженні проліферативного потенціалу та механізмів канцерогенезу, а також для первісної апробації нових підходів у терапії пухлин [Розуменко, 2007].

Серед пухлин ЦНС найбільшу групу складають пухлини гліального гістогенезу. Первинна культура гліальних пухлин є найбільш доступною моделлю для порівняльного вивчення їх проліферативного потенціалу. В динаміці росту експлантованих гліом відтворюються просторова архітектура та фенотипові особливості клітинного складу вихідних пухлин, а також простежуються різні за активністю міграційні та проліферативні властивості гліом різного ступеня анаплазії. Це надає можливість вивчати морфологічні реакції пухлинних клітин на прямий вплив різних антибластичних препаратів та біологічно активних речовин.

Незважаючи на інтенсивні дослідження злоякісних гліом у всьому світі, на сьогодні значного прогресу в їх лікуванні не досягнуто через інвазивність і високу рецидивність гліом. Поєднання у комплексному лікуванні цих пухлин хірургії, променевої та хіміотерапії є золотим стандартом, але не забезпечує його ефективності. Одним з альтернативних підходів для вирішення цієї проблеми є використання нейрогенних стовбурових клітин та прогеніторних клітин (НСК/НПК [Лисяний и др., 1999; Семенова и др., 1999; Лисяний та ін., 2008; Ahmed et al., 2012; Bovenberg et al., 2013].

Відомо, що НПК виявляють протипухлинні властивості у мишей та щурів [Achanta et al., 2010; Ito et al., 2010]. Мультипотентні НПК людини, щура і миші експресують як прозапальні, так і супресорні цитокіни [Jeon et al., 2008; Kim 2011]. Однак механізм протипухлинних властивостей НПК залишається нез'ясованим.

Згідно з попередніми дослідженнями, фетальні нервові клітини щурів 18-20 доби гестації виявляють протипухлинний вплив на клітини експериментальної гліоми 101.8 *in vitro* [Walzlein et al., 2008; Liu et al., 2013] та *in vivo* при сумісній гетеротрансплантації під капсулу нирки мишей [Walzlein et al., 2008]. Показано протипухлинний вплив супернатанту фетальних клітин мозку щура у щурів з гліомою 101.8 *in vivo* [Chen et al., 2010].

Метою даної роботи є оцінка впливу супернатанту фетальних нейрогенних клітин (СНК) щура на культивовані клітини гліоми щура С6.

### Матеріали та методи

Матеріалом для культивування слугували клітини гліоми головного мозку щурів - клітинна лінія С6 ("Клітинний банк ліній тканин людини та тварин", Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р.Є.Кавецького НАН України, м.Київ) (n=16).

Супернатант нейроклітин (СНК) отримували із суспензії

нейрогенних клітин мозку щура на 9 (E9) та 14 (E14) добу гестації. Нативну тканину мозку щура, отриману у зазначені строки, звільняли у фізіологічному розчині від оболонок, переносили до середовище DMEM ("Sigma", Німеччина) і суспендували за допомогою шприца з товстою голкою. Клітини осаджували центрифугуванням протягом 5 хв при 1500 об/хв, відмивали у середовищі DMEM, до осаду клітин додавали свіже середовище DMEM та ресуспендували. Життєздатність клітин у суспензії визначали у стандартному цитотоксичному тесті з 0,2% трипановим синім ("Merch", Німеччина). Концентрацію клітин доводили до  $6,0 \times 10^6$ /мл, до отриманої клітинної суспензії додавали мітоген конканавалін А (0,10 мг/мл) та інкубували 2 год в CO<sub>2</sub>-інкубаторі при температурі (37,0±0,5)°C, постійній вологості 95% та 5% CO<sub>2</sub>. Після інкубації клітини осаджували центрифугуванням протягом 5 хв при 1500 об/хв, відмивали у середовищі DMEM, до осаду клітин додавали свіже середовище DMEM, ресуспендували та інкубували протягом 24 год. Після інкубації клітини повторно осаджували центрифугуванням протягом 5 хв при 1500 об/хв, відбирали супернатант, визначали у ньому концентрацію білка, стандартизували до концентрації 0,1 мг/мл, аліквотували і зберігали при (-20±0,5)°C.

Вивчення впливу СНК на короткострокові культури клітин гліоми С6. СНК (0,01, 0,10 мг/мл) додавали до суспензій клітин С6 ( $2,0 \times 10^6$ , n=12), які в об'ємі 2 мл інкубували у скляних біологічно інертних центрифужних пробірках при періодичному струшуванні протягом 24 год в CO<sub>2</sub>-інкубаторі при температурі (37,0±0,5)°C, постійній вологості 95% та 5% CO<sub>2</sub>. В суспензіях визначали кількість життєздатних клітин до та після інкубації з СНК. Життєздатність клітин у суспензіях визначали за проникністю плазматичної мембрани для 0,2% трипанового синього ("Merch", Німеччина). Цитотоксичну дію СНК оцінювали за цитотоксичним індексом (ЦІ):

$$ЦІ = \frac{ЖК_n - ЖК_{n+СНК}}{ЖК_n} \cdot 100\%$$

де ЖК<sub>n</sub> - кількість життєздатних клітин у початковій суспензії;

ЖК<sub>n+снк</sub> - кількість життєздатних клітин у суспензії після інкубації з СНК.

Для отримання первинних культур клітини гліоми С6 в кількості  $1 \times 10^6$  наносили на покривні адгезивні скельця, вкриті поліетиленіміном ("Sigma", Німеччина), які поміщали у чашки Петрі і культивували в середовищі 199 та DMEM (1:1) із додаванням 10% ембріональної телячої сироватки, 400 мг% глюкози та 0,2 од/мл інсуліну. Культури клітин тримали в CO<sub>2</sub>-інкубаторі (37°C, 95% вологості та 5% CO<sub>2</sub>) та прижиттєво спостерігали в інвертованому мікроскопі (Eclips TS 100, Японія).

Вивчення впливу СНК у первинних культурах. Для дослідження відбирали культури з рівномірною зоною росту, додавали СНК (0,01, 0,10 мг/мл) та інкубували протягом 24 та 48 год. Для цитологічного дослідження культури фіксували 10% формаліном і фарбували

гематоксиліном Караччі.

*Мікроскопічне дослідження* та фотореєстрацію цитологічних препаратів первинних культур здійснювали на світлооптичному фотомікроскопі Axiophot ("OPTON", Німеччина) з об'єкт-мікрометром ("Carl Zeiss", Німеччина), який атестований для калібрування збільшення зображень при морфометричних дослідженнях (об'єктив  $\times 40$ , окуляр  $\times 10$ , перехідник  $\times 2$ ). У препаратах аналізували цитологічні зміни клітинного складу та визначали мітотичний індекс (MI).

У цитологічних препаратах культур аналізували цитологічні зміни клітинного складу та визначали мітотичний індекс (MI). Підрахунок мітозів проводили у трьох спостереженнях культур кожного зразка в 10 випадково вибраних полях зору мікроскопу ( $\times 400$ ). У кожному препараті підраховували не менше 1000 клітин. MI вираховували за формулою:

$$MI = (\text{кількість клітин з наявністю мітозів} / 1000) \times 100\%$$

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакету статистичних програм "Statistica 6.0", програмне забезпечення StatSoft, Inc. (2003). Достовірність різниці оцінювали із застосуванням t-критерію Стьюдента. Статистично значущими вважали відмінності при  $p < 0,05$ , статистично високозначущими - при  $p < 0,01$ .

### Результати. Обговорення

Вплив СНК на короткострокові культури гліоми С6. Супернатанти фетального мозку щурів обох досліджених термінів гестації (E9, E14) виявили цитотоксичну дію на всі зразки клітин гліоми С6 у короткострокових культурах. Рівень цитотоксичного впливу характеризувався дозозалежністю та посилювався зі збільшенням тривалості інкубації клітин із супернатантами. Зі зростанням концентрації СНК (E9) від 0,01 до 0,10 мг/мл ЦІ у суспензіях клітин гліоми С6 підвищувався і сягав  $(37,61 \pm 2,57)\%$  та  $(50,12 \pm 4,55)\%$  (рис. 1) відповідно при 24-год. та 48-год. інкубації. За умов впливу СНК (E14) зі збільшенням концентрації від 0,01 до 0,10 мг/мл ЦІ у суспензіях клітин гліоми С6 статично високозначуще зростає до  $(73,35 \pm 2,10)\%$  та  $(91,41 \pm 3,66)\%$  ( $p = 0,0043$ ;  $p = 0,0015$ ) відповідно при 24-год. та 48-год. інкубації.

Таким чином, СНК (E14) виявив більш виражену цитотоксичну дію на клітини гліоми С6, порівняно з СНК (E9): показники ЦІ статистично високозначуще відрізнялись за умов впливу концентрації 0,01 мг/мл ( $p = 0,0022$  при 48-год. інкубації) та 0,10 мг/мл ( $p = 0,0098$  та  $p = 0,013$  відповідно при 24-год. та 48-год. інкубації) (рис. 2).

Характеристика первинних культур гліоми С6 головного мозку щурів (контрольні спостереження). Протягом 1-2 доби культивування в зоні росту відзначались поширені розростання пухлинних клітин з високою щільністю розподілу та утворенням множинних багаточисельних мікроагрегатів (рис. 2а), які містили переважно недиференційовані пухлинні клітини з вузькими цитоплазматичними тілами та ядрами з ознаками помірної атипії. Середній MI культивованих пухлинних

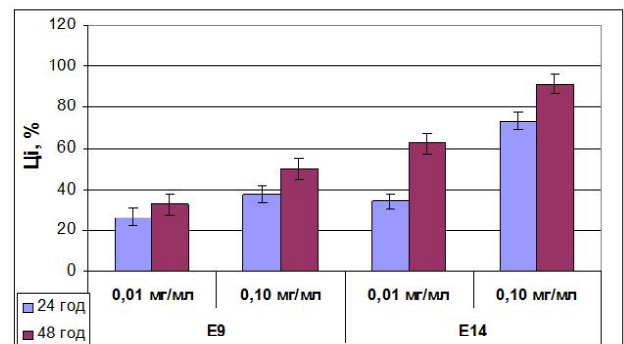


Рис. 1. Показники впливу СНК щура в короткострокових культурах (цитотоксичний індекс (ЦІ), %).

клітин складав 4,9%. Серед клітин у стані мітотичного поділу зустрічались цитологічні ознаки патології мітозів, що є притаманним для злоякісних пухлин. Між ущільненими мікроагрегатами в ділянках моношарового розташування пухлинних клітин відзначались розростання відростчатих клітин астроцитарного фенотипу, які утворювали сіткоподібні структури (рис. 2б).

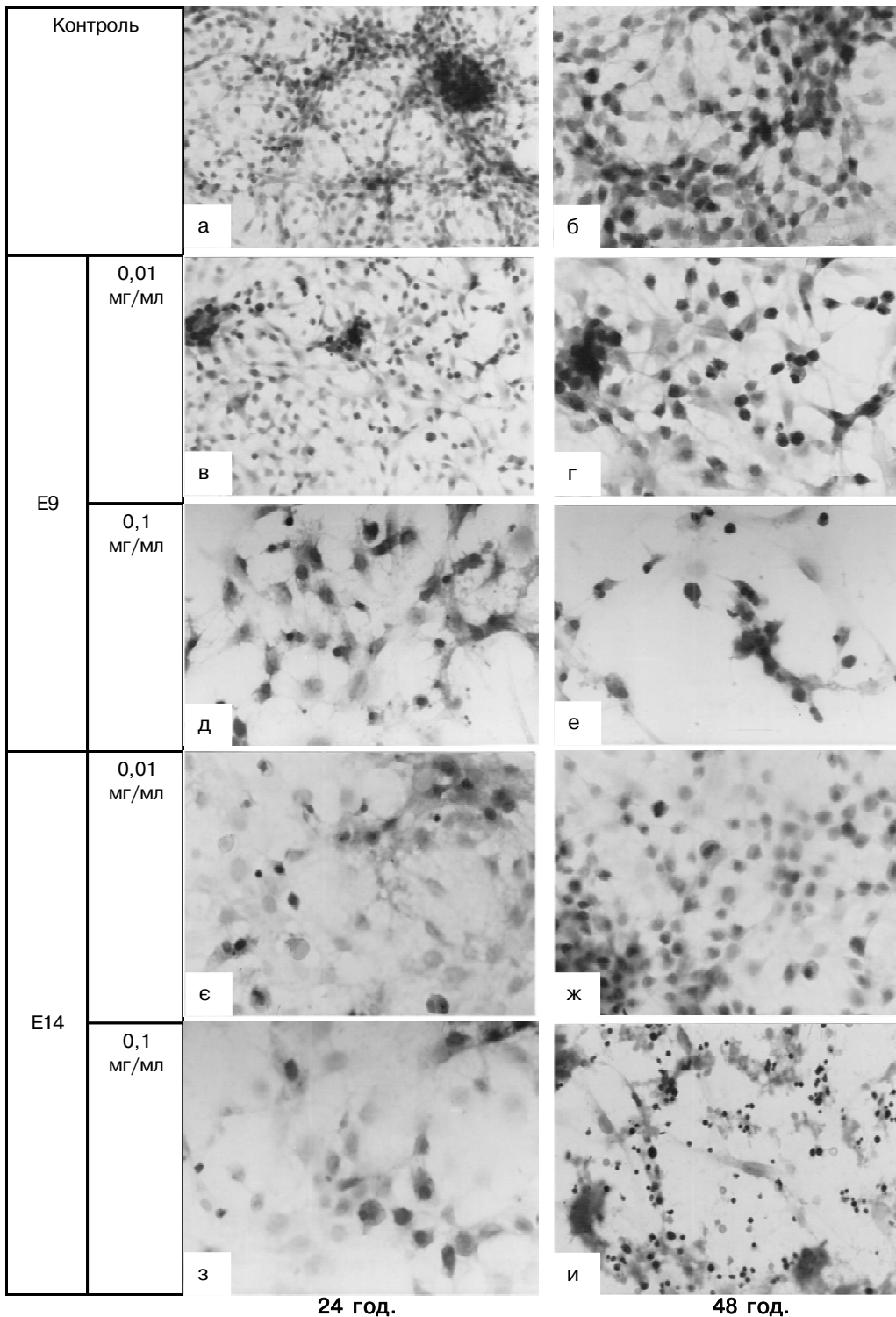
На 4-5 добу культивування спостерігалось поступове розрихлення клітинних мікроексплантатів з утворенням моношарових розрощень пухлинних клітин уніполярної, трикутної або ромбоподібної форми з досить довгими відростками. В таких ділянках зони росту культур виявлялись більш поширені ділянки сіткоподібної архітекtonіки внаслідок утворення міжклітинних зв'язків.

У наступні строки спостереження (8-9 доба) в культурах гліоми С6 відбувалось подальше розрідження клітинних масивів зони росту у зв'язку з десквамацією частки спонтанно загиблених клітин, з'являлась значна кількість апоптозних тілець, що відображує спонтанну загибель культивованих клітин. Некробіотичні процеси спонтанної загибелі охоплювали переважну кількість клітин зони росту, збереженими залишались окремі ділянки сіткоподібних структур та клітинні сферодні мікроагрегати, оточені моношаровими розростаннями недиференційованих клітин епітеліоїдного типу.

Таким чином, в умовах культивування клітини гліоми С6 головного мозку щурів виявляли високу міграційну та проліферативну активність з переважанням клітинної популяції недиференційованого фенотипу. В той же час частка пухлинних клітин демонструвала прояви генетично детермінованого гістотипового астроцитарного диференціювання, що відображує астроцитарний генез експериментальної гліоми С6.

Вплив СНК на первинні культури гліоми С6. Через 24 год інкубації культур гліоми С6 з СНК (E9) у концентрації 0,01 мг/мл у зоні росту культур з'являлись дистрофовані або некробіотично змінені пухлинні клітини із закругленими цитоплазматичними тілами та гіперхромними ядрами, дифузно розташовані на моношарових клітинних розрощеннях (рис. 2в). Мітотичний індекс зменшувався до 1,9% ( $p = 0,01$  у порівнянні з контролем).

Подовження строку інкубації культур з СНК (E9, 0,01



мг/мл) до 48 год призводило до збільшення вмісту пухлинних клітин з цитологічними ознаками дистрофії та некробіозу (рис. 2г). Мітотичний індекс склав 1,4% ( $p=0,01$  у порівнянні з контролем).

За умов інкубації з СНК (E9) збільшеної концентрації (0,10 мг/мл) протягом 24 год у більшості зразків культур гліоми С6 спостерігалось розрідження клітинних масивів за рахунок ретракції зони росту у зв'язку з редукцією відростків у пошкоджених клітинах (рис. 2д), яке супроводжувалось пригніченням мітотичної активності пухлинних клітин ( $MI=1,4\%$ ,  $p=0,01$  у порівнянні з контролем).

Збільшення тривалості інкубації культур гліоми С6 з СНК (E9, 0,10 мг/мл) до 48 год викликало подальше зростання дистрофічних та некробіотичних змін у пухлинних клітинах зони росту культур. Відбувалась десквамація значної кількості пошкоджених клітин, внаслідок чого прикріпленими до підложки залишались окремі клітинні скупчення різної щільності (рис. 2е). У збереже-

**Рис. 2.** Морфоструктурні зміни у первинних культурах за умов впливу СНК. Фарбування гематоксиліном Караччі: а - культура гліоми С6 на 2-у добу росту. Загальний вигляд зони росту.  $\times 400$ ; б - культура гліоми С6. Сіткоподібні розростання відростчатих клітин астроцитарного фенотипу.  $\times 800$ ; в - культура гліоми С6, інкубація з СНК (E9), 0,01 мг/мл, 24 год.  $\times 400$ ; г - культура гліоми С6, інкубація з СНК (E9), 0,01 мг/мл, 48 год.  $\times 800$ ; д - культура гліоми С6, інкубація з СНК (E9), 0,10 мг/мл, 24 год. Редукція відростків у пухлинних клітинах.  $\times 800$ ; е - культура гліоми С6, інкубація з СНК (E9), 0,10 мг/мл, 48 год. Дистрофічні та некробіотичні зміни у пухлинних клітинах.  $\times 800$ ; є - культура гліоми С6, інкубація з СНК (E14), 0,01 мг/мл, 24 год. Клітини-тіні.  $\times 800$ ; ж - культура гліоми С6, інкубація з СНК (E14), 0,01 мг/мл, 48 год. Редукція відростків, заокруглення цитоплазматичних тіл пухлинних клітин.  $\times 800$ ; з - культура гліоми С6, інкубація з СНК (E14), 0,10 мг/мл, 24 год. Клітини-тіні.  $\times 800$ ; и - культура гліоми С6, інкубація з СНК (E14), 0,10 мг/мл, 48 год. Голі ядра зруйнованих пухлинних клітин.  $\times 800$ .

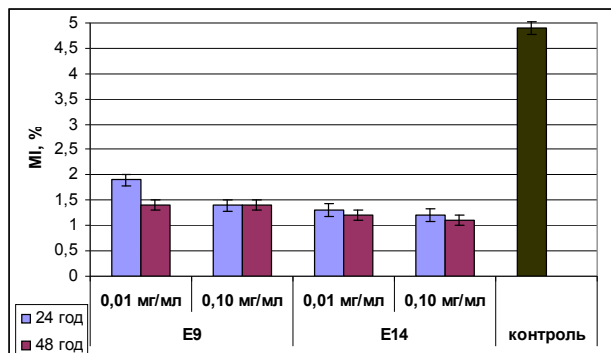


Рис. 3. Динаміка зміни мітотичного індексу (MI) в первинних культурах гліоми С6 за умов впливу СНК щура.

них ділянках пухлинних клітин мітотична активність утримувалась на рівні 1,4% ( $p=0,01$  у порівнянні з контролем).

За умов впливу СНК, отриманого з фетальних нейрогенних клітин більш пізнього терміну гестації (E14, 0,01 мг/мл), у культурах гліоми С6 головного мозку щурів через 24 год інкубації з'являлась значна кількість клітин-тіней, що переважали в зоні росту (рис. 2е). MI знижувався до 1,3% ( $p=0,01$  у порівнянні з контролем).

При збільшенні тривалості інкубації до 48 год у зоні росту культури визначались ознаки розрідження структури з наростанням частки пошкоджених пухлинних клітин (редукція відростків, заокруглення цитоплазматичних тіл) (рис. 2ж). У збережених клітинних ділянках зони росту культур MI становив 1,2% ( $p=0,01$  у порівнянні з контролем). Важливо відзначити наявність блокованих форм К-мітозів серед фігур мітотичного поділу пухлинних клітин.

За умов впливу СНК (E14) збільшеної концентрації (0,10 мг/мл) через 24 год інкубації дистрофічні зміни у пухлинних клітинах поглиблювались (рис. 2з). При продовженні строку інкубації до 48 год відбувалось значне розрідження клітинної щільності з майже субтотальним руйнуванням пухлинних клітин, які набували вигляду голих ядер внаслідок деструкції цитоплазми. Залишались збереженими дифузно розташовані окремі пухлинні клітини з наявністю відростків (рис. 2и). MI знижувався до 1,1% ( $p=0,01$  у порівнянні з контролем).

Таким чином, результати тестування чутливості куль-

тивованих пухлинних клітин гліоми С6 до впливу СНК (E14) у концентраціях 0,01 та 0,10 мг/мл протягом 24 та 48 год свідчать про дозозалежну цитотоксичну дію СНК. Порівняльна цитологічна оцінка ступеня виразності протипухлинних властивостей СНК (E9) та СНК (E14) виявила більш виразний пошкоджуючий ефект в умовах культивування з супернатантом клітин більш пізнього строку гестації (СНК (E14)): більш рання поява цитодеструктивних змін (через 24 год інкубації) при застосуванні меншої концентрації СНК (0,01 мг/мл); кількісно достовірно більш значуще зниження мітотичної активності культур ( $p=0,01$  у порівнянні з контролем,  $p<0,05$  у порівнянні з показниками впливу СНК (E9)) (рис. 3).

Таким чином, на моделі культивованої гліоми С6 при дослідженні прямого впливу СНК, отриманих з фетальних НКП різних термінів гестації, виявлено дозозалежний цитотоксичний та цитостатичний ефект, який посилюється зі збільшенням строків інкубації культур з препаратом. Важливо підкреслити, що більший ступінь прояву цитотоксичного впливу є характерним для СНК від НКП більш пізнього терміну гестації (E14). Раніше нами показано протипухлинні властивості СНК фетального мозку щура *in vitro* на первинних культурах гліом людини [Любич та ін., 2014].

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. СНК фетального мозку щура різних строків гестації виявили цитотоксичний та антимиотичний ефект на культивовані клітини гліоми С6, який посилювався зі збільшенням терміну гестації мозку щура, продовженням тривалості інкубації та був дозозалежним.

2. Первинні культури гліом головного мозку щура є адекватною експериментальною моделлю для оцінки протипухлинної дії фетальних нейрогенних клітин щура.

3. Використання первинних культур гліом головного мозку щура дозволяє оцінити індивідуальну чутливість пухлинних клітин до досліджуваного біопрепарату.

Отримані результати можуть стати теоретичним підґрунтям для подальшої розробки оптимізованих схем альтернативного лікування цих пухлин з використанням біопрепаратів фетоплацентарного комплексу.

### Список літератури

Влияние клеток головного мозга на рост опухолей под капсулой почки *in vivo* / Н.И.Лисяний, Г.М.Олейник, О.В.Маркова [и др.] // Иммунология системы головного мозга; под ред. Н.И.Лисяного.- К., 1999.- С.116-135.

Дослідження дії супернатанту прогеніторних нейроклітин щура на клітини культивованих гліом людини / Л.Д.Любич, В.М.Семенова, Л.П.Стайно [та ін.] // Вісник морфології.- 2014.- Т.20, №1.- С.192-197.

Изучение противоопухолевых свойств различных популяций клеток мозга в культуре нервной ткани /

В.М.Семенова, В.И.Цимбалюк, Л.П.Стайно [и др.] // Иммунология системы головного мозга; под ред. Н.И.Лисяного.- К., 1999.- С.136-146.

Лисяний М.І. Дослідження протипухлинної дії прогеніторних нейроклітин (НК) при експериментальній гліомі головного мозку у щурів / М.І.Лисяний, Л.Д.Любич, О.Г.Хохлов // Иммунология та алергология.- 2008.- №3.- С.61-66.

Пинаев Г.П. Клеточные культуры в фундаментальных и прикладных исследованиях / Пинаев Г.П. // Методы культивирования клеток; под

ред. Г.П.Пинаева, М.С.Богдановой.- С.-Пб.: Изд-во политехн. ун-та, 2008.- С.7-21.

Пинаев Г.П. Проблемы и перспективы развития клеточных технологий / Г.П.Пинаев // Клеточные технологии для регенеративной медицины; под ред. Г.П.Пинаева, М.С.Богдановой, А.М.Кольцовой.- С.-Пб.: Изд-во политехн.ун-та, 2011.- С.8-24.

Розуменко В.Д. Фотодинамическая терапия гліом головного мозга / Гліомы головного мозга; под ред. Ю.А.Зозули.- К.: УИПК "ЕксОб".- 2007.- С.495-501.

- Achanta P. Gliomagenesis and the use of neural stem cells in brain tumor treatment /P.Achanta, R.N.I.Sedora, A.Qui?ones-Hinojosa //Anticancer agents med. chem.- 2010.- Vol.10(2).- P.121-130.
- Bovenberg M.S. Advances in stem cell therapy against gliomas / M.S.Bovenberg, M.H.Degeling, B.A.Tannous //Trends mol. med.- 2013.- Vol.19 (5).- P.281-291.
- Maintaining and loading neural stem cells for delivery of oncolytic adenovirus to brain tumors /A.U.Ahmed, I.V.Ulasov, R.W.Mercer [et al.] //Methods mol. biol.- 2012.- Vol.797.- P.97-109.
- Human neural stem cells transduced with IFN-beta and cytosine deaminase genes intensify bystander effect in experimental glioma /S.Ito, A.Natsume, S.Shimato [et al.] // Cancer Gene Ther.- 2010.- Vol.17(5).- P.299-306.
- Human neural stem/progenitor cells derived from embryonic stem cells and fetal nervous system present differences in immunogenicity and immunomodulatory potentials in vitro /J.Liu, C.Glitherström, M.Forsberg [et al.] // Stem Cell. Res.- 2013.- Vol.10 (3).- P.325-337.
- Kim S.U. Neural stem cell-based gene therapy for brain tumors /S.U.Kim // Stem Cell. Rev.- 2011.- Vol.7(1)- P.130-140.
- Migration of human neural stem cells toward an intracranial glioma / J.Y.Jeon, J.H.An, S.U.Kim [et al.] // Exp. mol. med.- 2008.- Vol.40 (1).- P.84-91.
- Neural stem cells secrete factors that promote auditory cell proliferation via a leukemia inhibitory factor signaling pathway / H.C.Chen, H.I.Ma, H.K. [et al.] //J. Neurosc. Res.- 2010.- Vol.88 (15).- P.3308-3318.
- The antitumorigenic response of neural precursors depends on subventricular proliferation and age /J.H.Walzein, M.Synowitz, Engels B. [et al.] //Stem Cells.- 2008.- Vol.26(11).- P.2945-2954.

**Любич Л.Д., Семенова В.М., Стайно Л.П.**

#### ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ СУПЕРНАТАНТА ФЕТАЛЬНЫХ НЕЙРОГЕННЫХ КЛЕТОК НА КЛЕТКИ ГЛИОМЫ C6

**Резюме.** Цель работы состояла в оценке влияния супернатанта фетальных нейрогенных клеток (СНК) крысы на культивированные клетки глиомы крысы C6. СНК, полученные из суспензий нейрогенных клеток мозга крысы на 9-е на 9-е (E9) и 14-е (E14) сутки гестации (0,01, 0,10 мг/мл) добавляли к суспензии клеток глиомы крысы C6; через 24 часа инкубации в суспензиях определяли количество жизнеспособных клеток и высчитывали цитотоксический индекс. СНК (0,01, 0,10 мг/мл) добавляли к первичным культурам глиомы крысы C6, через 24 и 48 часов инкубации анализировали цитологические препараты и определяли митотический индекс. СНК фетального мозга крысы разных сроков гестации выявили цитотоксический и антимиотический эффект на культивированные клетки глиомы C6, усиливавшийся с увеличением срока гестации мозга крысы, продлением срока инкубации и был дозозависимым. Первичные культуры глиом головного мозга крысы являются адекватной экспериментальной моделью для оценки противоопухолевого действия фетальных нейрогенных клеток крысы.

**Ключевые слова:** прогениторные нейрогенные клетки крысы, супернатант, глиома C6 крысы, цитотоксический индекс, митотический индекс.

**Lyubich L.D., Semenova V.M., Stayno L.P.**

#### APPLICATION OF CULTIVATION FOR EXPERIMENTAL IMPACT ASSESMENT OF FETAL NEUROGENIC CELLS' SUPERNATANT ON C6 GLIOMA CELLS

**Summary.** The purpose of the study was to evaluate the effect of rat fetal neurogenic cells supernatant (RFNS) on cultured cells of rat glioma C6. RFNS from suspensions of neurogenic cells of rat brain of 9-th (E9) and 14-th (T14) days of gestation (0,01, 0,10 mg/ml) were added to cell suspensions of rat glioma C6; after 24 h of incubation cell suspensions were analyzed for number of viable cells, cytotoxic index (CI) was calculated. RFNS (0,01, 0,10 mg/ml) were added to primary cultures of rat glioma C6, after 24 and 48 h of incubation cytological preparations were analyzed and mitotic index was determined. RFNS of fetal rat brain of different terms of gestation revealed cytotoxic and antimitotic effect on cultured C6 glioma cells, which intensified with increasing gestational age of rat brain, lengthening the duration of incubation and was dose-dependent. Primary cultures of rat brain gliomas are adequate experimental model for the evaluation of the antitumor action of fetal rat neurogenic cells.

**Key words:** rat progenitor neurogenic cells, supernatant, rat glioma C6, cytotoxic index, mitotic index.

**Рецензент: д.біол.н., професор Стеченко Л.О.**

Стаття надійшла до редакції 20.04.2015 р.

Любич Лариса Дмитрівна - к.біол.н., ст. наук. сп. ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України"; +38 044 483-36-84

Семенова Віра Михайлівна - д.мед.н., професор, завідувач лабораторією культивування тканин ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України"; +38 044 483-92-08

Стайно Лариса Петрівна - наук. сп. лабораторії культивування тканин ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України"; +38 044 483-92-08

© Алексевич К.О., Кузів О.Є., Фіра Л.С., Грималюк О.І.

УДК 612.17-089:612.35+616.36-002]-085

**Алексевич К.О., Кузів О.Є., Фіра Л.С., Грималюк О.І.**

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського" МОЗ України (майдан Волі, 1, м.Тернопіль, 46001, Україна)

## МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ МІОКАРДА ТА ПЕЧІНКИ НА ТЛІ ТЕТРАХЛОРЕТАНОВОГО ГЕПАТИТУ ЗА КАРДІОТОКСИЧНОЇ ДІЇ АДРЕНАЛІНУ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ МЕКСИДОЛОМ