

of vitamins A and E in blood of bull-calves at nitrate-cadmium loading.

Investigated levels of vitamins A and E under conditions of chronic nitrate-nitrite toxicosis with cadmium loading. It is established that if the nitrate-cadmium burden in the blood plasma of young cattle reduces the level of vitamins A and E. On 20-th day of the experiment the level of vitamins A and E in blood of bull-calves under conditions of nitrate-cadmium load was low. Application Metifen and vitamix Se experienced animals stimulated no enzyme system of antioxidant defenses, as indicated by high levels of vitamins A and E in plasma. Found that the use metifen at a dose of 0,28 g/kg of feed and vitamix Se at a dose of 0,3 g/kg animal weight for the loading conditions bulls nitrates and Cadmium, prevents the development of chronic nitrate-cadmium toxicosis and stress oxidizing.

Keywords: nitrates, nitrites, cadmium, vitamins A and E, metifen, vitamix Se, bulls.

Рецензент: д.вет.н., професор Камбур М. Д.
Дата надходження до редакції: 08.12.2015 р.

УДК 636.7:612.419:57.086.13

ЗБЕРІГАННЯ КЛІТИН КІСТКОВОГО МОЗКУ СОБАК

Л. А. Водоп'янова, к.біол.н., доцент, Харківська державна зооветеринарна академія

Процес кріоконсервування без застосування кріозахисту є дуже несприятливим для клітин, це зумовлює застосування кріопротекторів при заморожуванні. Використовували кінцеві концентрації ДМСО – 10 %, 7 %, 5 %, ПЕО-400 – 10 %, 15 %, 20 %, гліцерин – 10 %, 20 %, 30 %. Гліцерин виявився менш ефективним кріопротектором з досліджених. При застосуванні ДМСО зберігається більш 80 % клітин.

Ключові слова: клітини кісткового мозку, збереження клітин, кріопротектори.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Трансплантація клітин кісткового мозку (ККМ), що мають здатність розвиватися у різні клітини крові, використовуються у сучасній ветеринарній медицині як ефективний засіб лікування різноманітних захворювань кровотворної системи [7]. Потреба у ККМ тварин збільшується щороку та вимагає створення ефективних методів зберігання клітин. Низькотемпературне консервування (при -196°С) ККМ людини, дозволяє зберігати матеріал до трансплантування впродовж декількох років [6], але у ветеринарній практиці подібні методи лише розробляються. Дослідження способів зберігання ККМ собак під захистом різних кріопротекторів, дозволить розробити ефективну методику їх кріоконсервування і довгострокового зберігання для подальшого застосування терапії тварин.

Мета досліджень. Вивчення впливу факторів кріоконсервування на збереженість ККМ собак.

Матеріали і методи досліджень. ККМ собак отримували від статевозрілих самців 3-4 лет (n=8) у відповідності із «Загальними принципами експериментів на тваринах», що погоджені І Національним конгресом по біоетиці (Київ, 2001) методом кістковомозгової пункції [5].

При виборі кріопротекторів піймали до уваги дані по ефективності використання розчинів діметилсульфоксиду (ДМСО), гліцерину, поліети-

леноксид з М.м. 400 (ПЕО-400) при кріоконсервуванні ККМ людини. Кріоконсервування проводили в присутності кріопротекторів у наступних кінцевих концентраціях: ДМСО – 10 %, 7 %, 5 %, ПЕО-400 – 10 %, 15 %, 20 %, гліцерин 10 %, 20 %, 30 %. Інкубація клітин ДМСО – 10 хвилин, ПЕО та гліцерином – 30 хвилин при температурі 4°С. Заморожування проводили двоступово: перший етап – занурення в пари рідкого азоту (-80°С, температура контролювалася термопарою), другий етап занурення в рідкий азот (-196°С). Розморожування проводили через 24 години, на водяній бані 41°С при постійному похитуванні в продовж 1-3 хвилин.

Кріопротектори вилучали шляхом додавання до ККМ розчину, що складається з 199 середовища, цитрату натрію, сировотки крові ембріональної телячої, з подальшим центрифугуванням.

Визначення збереженості ККМ собак проводили за допомогою суправітальної окраски трипановим синім по стандартній методиці [2, 3] в свіжоотриманій суспензії (контроль), відмитих від кріопротектору після інкубації та заморожування-відігріву суспензіях клітин.

Результати власних досліджень. По показникам, що представлені на малюнку 1 видно, що всі досліджені розчини кріопротекторів на стадії інкубації, оказують негативний невеликий вплив на збереженість ККМ собак, що більш виражено в присутності ДМСО в концентрації 10 %.

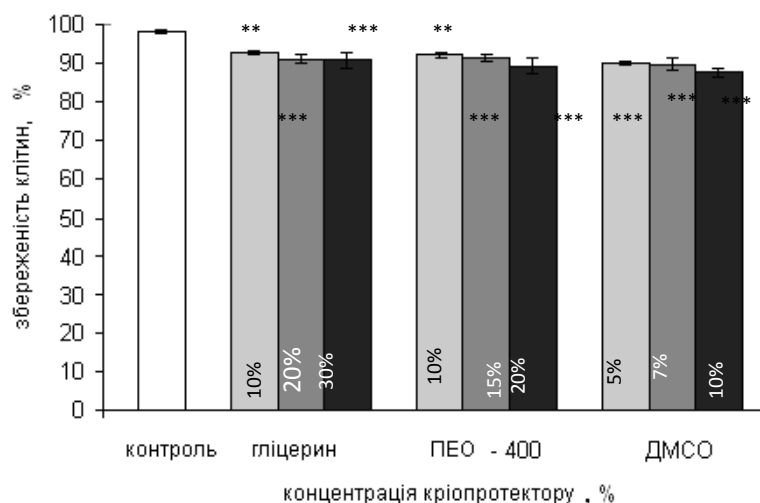


Рис. 1. Показники збереженості ККМ собак після інкубації з розчинами криопротекторів. *** – достовірно відносно свежоотриманої суспензії (контроль), $p < 0,001$. ** – достовірно відносно контролю, $p < 0,01$.

Можливо, це пов'язано з токсичними властивостями розчинів ДМСО, що мають концентрацію вище концентрації 8 % (≈ 1 М) [4], або з високою тоничністю криозахисного середовища, що складається на основі проникаючих криопротекторів і робить клітини чутливими до заміщення фізіологічного середовища на криозахисне [8].

Заморожування суспензії ККМ собак без використання криозахисту негативно відображається на життєздатності клітин і робить суспензію непридатною для трансплантації (рис. 2). Розчини ПЕО-400 забезпечують високий рівень збереженості ККМ, а найбільш виражені криопротекторні властивостями мають розчини ДМСО 7 та 10 %.

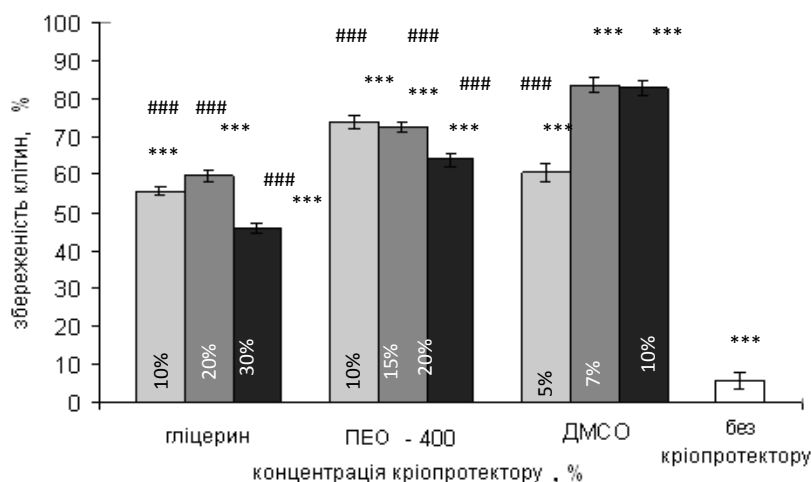


Рис. 2. Показники збереженості ККМ собак після заморожування-відігріву під захистом різних концентрацій криопротекторів. *** – достовірно відносно свежоотриманої суспензії (контроль), $p < 0,001$. ### – достовірно відносно клітин інкубованих з криопротектором, $p < 0,001$.

Гліцерин виявився менш ефективним криопротектором з досліджених. Можливо, це пов'язано зі зниженою проникаючою здатністю гліцерину скрізь плазматичні мембрани більшості типів ККМ при температурі інкубації, в цьому випадку він діє як екзоцелюлярний криопротектор [1].

Висновки. 1. Після заморожування-відігріву кісткового мозку собак без криопротектора зберігається лише незначна кількість клітин, що становить менш ніж 6% від показників контролю.

2. Встановлено, що ДМСО в 7 %, 10 % кон-

центрації та ПЕО-400 в 10 % і 15% концентрації забезпечують збереження близько 80 % клітин кісткового мозку собак після заморожування-відігріву. Гліцерин надає недостатньо високий рівень захисту клітин кісткового мозку собак при криоконсервуванні, що складає від 50 % до 60 % від показників контролю.

Перспективи подальших досліджень.

Подальша розробка та дослідження методів довгострокового зберігання елементів гемопоєзу, дозволить важливі показники для створення банку трансплантаційного матеріалу.

Список використаної літератури:

1. Белоус А.М. Кробиология / А.М. Белоус, В.И. Грищенко. – К.: Наук. думка, 1994. – 430 с.

2. Пушкарь Н.С. Консервирование костного мозга при ультранизких температурах с ПЭО-400 / Пушкарь Н.С., Цуцаева А.А., Иткин Ю.А., Шраго М.И. – Метод. рекомендации. – М., 1984. – 1 с.
3. Цуцаева А.А. Криоконсервирование клеточных суспензий / Цуцаева А.А., Аграненко В.А., Федорова Л.И. – Киев: Наук. думка, 1983. – 240 с.
4. Fuller B.J. Cryoprotectants: the essential antifreezes to protect role in the frozen state / Fuller B.J. // Cryoletters – 2004. – Vol. 25, № 6. – P. 375-388.
5. Kushida T. A new method for bone marrow harvesting / Kushida T., Inaba M., Ikebukuro K., Ngahama T. et al. // Stem cells. – 2000. – Vol. 18, № 6. – P. 453-456.
6. Sppurr E.E. Cryopreserved human haematopoietic stem cells retain engraftment potential after extended (5-14 years) criostorage / Sppurr E.E., Wiggins N.E., Marsden K.A., Lowenthal R.M. Ragg S.S. // Cryobiology. – 2002. – Vol. 44, № 3 – P. 210-217.
7. Van de Ouweland F. Enrichment and cryopreservation of bone marrow progenitor cells for autologous reinfusion / Van de Ouweland F., De Witte T., Geerdink P., Haanen C. // Cryobiology. – 1982. – Vol. 19, № 3. – P. 292-298.
8. Willhite D.H. Dimethyl sulfoxide / Willhite D.H., Katz P.I. // J.Appl. Toxicol. – 1984. – Vol. 4, №.3. – P. 155-159.

Водопьянова Л. А. Хранение клеток костного мозга собак.

Процесс криоконсервирования без применения криозащиты неблагоприятен для клеток, это обуславливает применение криопротекторов при замораживании. Использовали конечные концентрации криопротекторов ДМСО 10 %, 7 %, 5 %, ПЭО-400 – 10 %, 15 %, 20 %, глицерин – 10 %, 20 %, 30 %. Глицерин оказался менее эффективным из исследованных криопротекторов. При использовании ДМСО сохраняется более 80 % клеток.

Ключевые слова: клетки костного мозга, хранение клеток, криопротекторы

Vodopyanova L. A. Storage bone marrow cells of dogs.

The process of cryopreservation without cryoprotectant is unfavorable for the cells, this causes the use of cryoprotectants during freezing. Final concentrations of cryoprotectants DMSO 10 %, 7 %, 5 %, PEO-400 – 10 %, 15 %, 20 %, glycerol – 10 %, 20 %, 30 % have been used. Glycerol wasn't effective from the studied cryoprotectants. It has been found that the 7 % DMSO was most effective then other and protected more than 80 % of cells.

Keywords: bone marrow cells, storage cells, cryoprotectants.

Рецензент: к.вет.н., професор Зон Г.А.

Дата надходження до редакції: 07.10.2014 р.

УДК 636:612.3:636:576.8:636.2.084

ДОБОВА ДИНАМІКА ВИКОРИСТАННЯ НАТРІЮ ТКАНИНАМИ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ КОРІВ У ПЕРІОД СПАДУ ЛАКТАЦІЇ

Л. В. Плюта, к.вет.н., доцент, Сумський національний аграрний університет

В статті було розглянуто питання щодо використання тканинами молочної залози корів Натрію впродовж доби в період спаду лактації. Було встановлено, що при забезпеченні організму корів поживними речовинами згідно норм тканини молочної залози корів знижували використання Натрію впродовж доби від доїння до доїння в 3,01 рази ($p < 0,001$). У період спаду лактації тканини молочної залози корів у середньому поглинали $0,85 \pm 0,17$ ммоль/л, або 0,55 % Натрію з артеріальної крові.

Ключові слова: фізіологія, осмотично-активні речовини, молоко, корови, лактація, кров, артеріовенозна різниця.

Постановка проблеми у загальному вигляді. Агропромисловий комплекс - один з найбільших і найважливіших секторів економіки України. Від його стабільності, розвитку, функціонування залежить стан економіки, продовольча безпека держави, розвиток внутрішнього і зовнішнього ринків, матеріальний рівень життя населення. Важливе значення в цьому плані має молочне скотарство. Розвиток цієї галузі потребує розвитку та вдосконалення. Вирішення даної проблеми повинно базуватися на закономірностях фізіологічних і біохімічних процесів, що відбуваються в молочній залозі і в організмі лак-

туючих тварин. Отримання якісної продукції від корів не можливе без врахування секреторної функції тканин молочної залози корів впродовж доби в різні періоди лактації. [1, 3, 4]. Аналіз результатів досліджень з питань вивчення впливу осмотично-активних речовин на склад молока свідчить про необхідність вивчення даного питання [2, 3, 5].

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

У зв'язку з вищевикладеним набуває актуальність вивчення питання поглинання молочною залозою осмотично-активних речовин [1, 5]. Дослідження з даного напрямку дозволять встановити динаміку

Вісник Сумського національного аграрного університету

Серія «Ветеринарна медицина», випуск 6 (38), 2016