

Розділ 2 ФІЗІОЛОГІЯ І БІОХІМІЯ

УДК 636.7:611.018.46:577

ВМІСТ ГЛІКОГЕНУ В ГЕМОПОЕТИЧНИХ КЛІТИНАХ КІСТКОВОГО МОЗКУ СОБАК

Водоп'янова Л.А., к.б.н., доцент,
vodopyanova@mail.ru

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків

Анотація. Клінічна потреба в кістковому мозку постійно зростає і вимагає створення резерву. Визначення вмісту глікогену, як енергетичного субстрату в клітинах кісткового мозку собак, дозволяє прогнозувати тривалість зберігання та ефективність застосування біоматеріалу.

Ключові слова: клітини кісткового мозку, глікоген.

Актуальність проблеми. Кістковий мозок - це комплекс гемопоетических клітин і елементів мікрооточення, які активно беруть участь в кровотворенні. Клітини кісткового мозку (ККМ) через реплікацію і диференціювання, підтримують гемопоез в ході мікрооточення (ретикулярні, ендотеліальні, остеогенні та ін.) координують процес їх диференціювання. Високий терапевтичний потенціал ККМ дає можливість використовувати їх при лікуванні порушень гемопоезу, відновленні дефіциту імунної системи, корекції гомеостазу організму після хими- і радіотерапії [1, 2, 3]. Подібні методи терапії, є новими для ветеринарії, проте вже показали свою результативність.

Не дивлячись на те, що ККМ активно вивчаються, багато аспектів їх біохімії все ще невизначені і заслуговують на особливу увагу. Багато років дослідження спрямовані на вивчення механізмів і боротьбу з негативними наслідками зберігання біооб'єктів. Для підвищення ефективності трансплантації, необхідно контролювати зв'язок між зміною енергетичного потенціалу і збереженням клітин.

Відомо, що усім клітинам постійно потрібна енергія у виді АТФ. В той же час, запасу АТФ в клітинах практично не існує і йде його постійний синтез [4]. На етапі підготовки кісткового мозку до трансплантації всі процеси протікають *in vitro*, де загальна кількість енергії залежить від внутрішніх запасів глікогену. Порушення, якого або етапу метаболізму, що приводить до припинення синтезу АТФ, згубно для клітини, у зв'язку з цим **метою роботи** було вивчення мієлограми та енергетичного статусу ККМ собак.

Матеріали і методи дослідження. *Отримання інтактних ККМ.* ККМ були отримані від собак віком 3-4 років (n = 10). ККМ із стегнової кістки отримували методом кісткомозкової пункції з вимиванням середовищем 199. Концентрацію клітин в суспензії доводили до 1×10^6 /мл шляхом розведення середовищем 3% ембріональної сироватки крові теляти, що містить, 91% - 199 середовищ, 6% цитрату натрію (робоче середовище) [5]. Всі роботи проводили при температурі не вище 4°C. У мазках, забарвлених по Романовському, визначали вид ККМ (мієлограму).

Визначення глікогену проводили з застосуванням PAS реакції за Мак – Манусом [6]. Показники інтенсивності забарвлення оцінювали за допомогою середнього гістохімічного коефіцієнту (СГК).

Статистичний аналіз. Дані представлені як середні значення ($M \pm m$) 10 незалежних експериментів. Статистичну обробку результатів проводили по методу Стюдента-Фишера з використанням програми Microsoft Office Excel.

Результати дослідження. Встановлено, що кістковий мозок собак складається з широкого спектру клітин на різних стадіях розвитку. При цьому переважають клітини гранулоцитарного ряду на завершальних стадіях диференціювання. В таблиці 1 показано співвідношення клітин кісткового мозку собак, що характеризує мієлограму свіжоотриманої суспензії.

При дослідженні вмісту глікогену було встановлено, що в клітинах еритроцитарного ряду, починаючи з пронормоцитів, глікоген не виявляється. Ретикулярних, макрофагальних клітинах, а також клітинах моноцитарного і лімфоцитарного рядів виявлено дифузне забарвлення середньої інтенсивності. Найбільш

виражене забарвлення глікогену в клітинах мегакаріоцитарного ряду та гранулоцитах, також у останніх відмічена залежність забарвлення від ступеня зрілості клітин.

Експозиція клітин при 4 °С упродовж 30 хвилин не призводить до зміни вмісту глікогену та змін в мієлограмі.

Таблиця 1.

Показники мієлограми та вмісту глікогену (СГК) в ККМ собак

Інтактний КМ	ККМ, ($\times 10^6$ /мл)	СГК по глікогену
Загальна кількість клітин	10 \pm 0,01	-
Бласти	0,38 \pm 0,09	1,01 \pm 0,05
Мієлобласти	0,07 \pm 0,01	1 \pm 0,08
Промієлоцити	0,39 \pm 0,08	1 \pm 0,05
Мієлоцити	0,49 \pm 0,01	1,7 \pm 0,06
Метамієлоцити	0,43 \pm 0,08	1,73 \pm 0,03
Палочкоядерні гранулоцити	2,87 \pm 0,13	2,32 \pm 0,08
Сегментоядерні гранулоцити	1,11 \pm 0,13	2,52 \pm 0,07
Моноцити	0,34 \pm 0,02	0,81 \pm 0,04
Лімфоцити	0,63 \pm 0,06	0,63 \pm 0,07
Мегакаріоцити	0,01 \pm 0,003	2,87 \pm 0,01
Еритробласти	0,08 \pm 0,003	0
Нормобласти базофільні	0,1 \pm 0,01	0
Нормобласти поліхроматофільні	1,32 \pm 0,09	0
Нормоцити оксіфільні	0,17 \pm 0,03	0
Поліхроматофільні еритроцити	1,35 \pm 0,05	0
Ретикулярні клітини	0,29 \pm 0,05	0,29 \pm 0,01

Данні представлені, як середнє значення ($M \pm m$) 10 незалежних експериментів. Значення СГК: 0 – нема забарвлення; від 0,01 до 1 - поодинокі гранули; від 1,01 до 2 – гранули заповнюють майже всю цитоплазму; від 2,01 до 3 - гранули заповнюють всю цитоплазму.

Встановлено, що при тривалій інкубації швидкість і узгодженість біохімічних процесів в клітинах змінюється, при цьому підвищуються витрати енергетичного потенціалу, викликане численними чинниками: перехід на анаеробний гліколіз в клітинах *in vitro*, пригноблення біологічного окислення різними інгібіторами, формування додаткових шляхів метаболізму. ККМ використовують анаеробний гліколіз для синтезу АТФ. Це характерно клітинам еритроцитарного, макрофагального ряду, гранулоцитам, моноцитам і лімфоцитам, клітинам, що генетично пристосовані до виконання своїх функцій, як в умовах нормоксії, так і гіпоксії (ішемії при запаленні). Таким чином, підтверджується необхідність якнайшвидшого проведення трансплантації біоматеріалу, а тривале зберігання ККМ *in vitro* неможливе, оскільки в клітинах зменшується вміст глікогену і підвищується утворення лактату, що згубне для клітини [7, 8, 9, 10].

Висновки

Відновлення функціонування, метаболізму, і передусім, енергетичних процесів після трансплантації станеться швидше в клітинах, де біохімічні зрушення були мінімальні. Інкубаційний період в 30 хвилин, ще не викликає зменшення вмісту глікогену, зміни мінімальні і це не повинно відбиватися на функціональних та терапевтичних властивостях ККМ, що застосовуються при лікуванні різних порушень гемопоезу у собак.

Література

1. Warry E.E. Autologous peripheral blood hematopoietic cell transplantation in dogs with T-cell lymphoma / E.E Warry., J.L Willcox., S.E Suter . // Vet. Intern. Med. – 2014.- Vol. 28 (2), - P. 529-37.
2. Petersen S.M. In utero hematopoietic stem cell transplantation in canines: exploring the gestational age window of opportunity to maximize engraftment / S.M. Petersen, M. Gendelman , K.M Murphy, M. Torbenson., Jones R.J., Stetten G., Bird C., Blakemore K.J // Fetal Diagn. Ther.- 2013.- Vol. 33(2), P. 116-3.
3. Escobar C. Hematologic changes after total body irradiation and autologous transplantation of hematopoietic peripheral blood progenitor cells in dogs with lymphoma / Escobar C., Grindem C., Neel J.A., Suter S.E. // Vet. Pathol. – 2012. - Vol.49 (2), P. 341-343.
4. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / под ред. М.И. Прохоровой. - Л.: Изд. Ленинград. универ., 1982. – 272 с.
5. Kawano Y. Cryopreservation of mobilized blood stem cells at a higher cell concentration without the

- use of a programmed freezer / Kawano Y. // Ann Hematol.- 2004. – Vol. 83, №1. – P. 50-54.
6. Цитохимия костного мозга при криоконсервировании: Атлас / Обозная Э.И., Панков Е.Я. – Киев: Наукова думка, 1989.- 256 с.
 7. Mamprin M.E. Adenosine 5 triphosphate transport and accumulation during the cold preservation of rat hepatocytes in University of Wisconsin solution / Mamprin M.E., Vega F., Rodrigues J.V. // World J. Gastroenterol. – 2005. – Vol. 11, №13. – P. 1957-1964.
 8. Murdoch C. Hypoxia regulates macrophage functions in inflammation / Murdoch C., Muthana M., Lewis C.E. // The Journal of Immunology. – 2005. – Vol.175, №10. – P. 6257-6263.
 9. Weisdorf D.J. Granulocytes utilize different energy sources for movement and phagocytosis / Weisdorf D.J., Craddock P.R., Jacob H.S.// Inflammation. – 1982. – Vol. 6, № 3. – P. 245-256.
 10. Patel S.D. The lactate issue revisited: novel feeding protocols to examine inhibition of cell proliferation and glucose metabolism in hematopoietic cell cultures / Patel S.D., Paroutsakis E.T., Winter J.N., Muller W.M. // Biotechnol. Prog. - 2000. - Vol. 16, № 5. - P. 885-892.

GLYCOGEN CONTENT OF THE HEMATOPOIETIC CELLS OF DOGS` BONE MARROW
Vodopyanova L.A.

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkov, Ukraine

Summary. The bone marrow cells have high therapeutic potential, it gives an opportunity to use them for treatment of different destructions of hematopoiesis. Thus, a clinical requirement in marrow constantly increases and requires creation of reserve of biomaterial. The research of glycogen in the dogs` bone marrow cells have been studied. It allows to forecast shelf-life and efficiency of application of biomaterial.

Key words: bone marrow cells, glycogen.

СОДЕРЖАНИЕ ГЛИКОГЕНА В ГЕМОПОЕТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ КОСТНОГО МОЗГА СОБАК
Водопьянова Л. А., к.б.н., доцент

Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков

Аннотация. Клиническая потребность в костном мозге постоянно растет и требует создания резерва. Определение содержания гликогена, как энергетического субстрата в клетках костного мозга собак, позволяет прогнозировать длительность хранения и эффективность применения биоматериала.

Ключевые слова: клетки костного мозга, гликоген.

УДК 636.12/.13:619:577.125.33

**КОРЕКЦІЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У СПОРТИВНИХ КОНЕЙ
КОНКУРНОГО ТИПУ ТРЕНУВАНЬ**

Жукова І.О., д. вет. н, доцент

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків

Анотація. Проведено аналіз показників проміжних (дієнові кон'югати) і кінцевих (малоновий діальдегід) продуктів перекисного окиснення ліпідів, а також антиоксидантів (каталаза, церулоплазмін) у плазмі крові коней конкурного типу тренувань. Встановлено, що найнижчий показник вмісту малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів та активності каталази і церулоплазміну був у тварин, яким вводили внутрішньом'язово препарат Е-селен, що свідчить про посилення у них антиоксидантного захисту.

Ключові слова: перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), коні, малоновий діальдегід, дієнові кон'югати, антиоксиданти.

Актуальність проблеми. Спортивні коні витримують поза межні фізичні навантаження, непорівнянні з тими, які запрограмовані природою. І якщо їм не допомогти відновитися після чергового інтенсивного тренінгу то під час наступного старту на серйозний результат розраховувати нічого. Препарати для цієї мети дуже обмеженого переліку і досить дорогі. Проте пошук нових, ефективніших засобів, які не потрапляли б під обмеження Міжнародної федерації кінного спорту (FEI) і влаштовували за ціною, ускладнений.