

УДК 619:636.09:616–089.843  
© 2017

**А.Й. МАЗУРКЕВИЧ,**  
доктор ветеринарних наук,  
член-кор. НААН України

**М.О. МАЛЮК,**  
доктор ветеринарних наук

**В.В. КОВПАК,  
Ю.О. ХАРКЕВИЧ,  
В.Б. ДАНИЛОВ,**  
кандидати ветеринарних наук

Національний університет біоресурсів  
і природокористування України  
E-mail: amaz@naui.kiev.ua  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ

*На підставі аналізу результатів власних досліджень, досягнень світової і вітчизняної ветеринарної та біологічної наук у розвитку клітинних технологій з використанням стовбурових клітин тваринного походження пропонуються поетапне впровадження у вітчизняну ветеринарну медицину нових методів клітинної регенеративної медицини, а також доповнення навчальних базових та клінічних дисциплін відомостями з цього актуального напрямку.*

*Ключові слова:* ветеринарна медицина, трансплантація, стовбурові клітини, розвиток клітинних технологій.

**Актуальність проблеми.** Застосування стовбурових клітин (СК) у ветеринарній клінічній практиці базується на здатності цих клітин після введення їх в організм тварини-реципієнта відновлювати порушену клітинну структуру будь-якого органа чи тканини [1–3]. Безліч публікацій щодо результатів вивчення властивостей стовбурових клітин *in vitro* та *in vivo*, їх експериментальних і клінічних випробувань свідчать про високу актуальність [4, 5].

Як відомо, стовбурові клітини – це недиференційовані (незрілі) клітини, наявні в усіх багатоклітинних організмах. У стовбурових клітин відсутня спеціалізація, яка притаманна спеціалізованим клітинам. Вони самі себе відновлюють шляхом симетричного і асиметричного поділу [6].

## ПРОБЛЕМИ ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДІВ КЛІТИННОЇ РЕГЕНЕРАТИВНОЇ ТЕРАПІЇ У ВЕТЕРИНАРНІЙ КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ

Зазвичай клітини розмножуються через *симетричний поділ*, унаслідок чого виникають дві дочірні клітини. Разом з тим особливістю розмноження стовбурових клітин є їх здатність розмножуватися і через *асиметричний поділ*, у результаті якого виникає одна дочірня клітина *стовбуrowa*, а інша – *клітина-попередниця*. Вона в подальшому проходить декілька етапів поділу (симетричного!) і згодом остаточно диференціюється у зрілу клітину. Клітини, утворені в результаті симетричного та асиметричного поділу, відрізняються між собою на молекулярному рівні, очевидно, за рахунок наявних у них білкових рецепторів на цитоплазматичній мембрані.

Саме в такий спосіб в організмі тварини постійно поновлюється клітинний склад органа чи тканини та забезпечується клітин-

ний гомеостаз цілісного організму протягом усього його індивідуального життя.

Ученими встановлено, що кількісний склад стовбурових клітин в організмі змінюється з віком. На найраніших стадіях розвитку організму зародок (запліднений ооцит і бластомери 2–8-клітинної стадії) повністю складається зі стовбурових клітин. Ці клітини за здатністю до диференціювання відносять до *тотіпотентних*. Вони можуть формувати всі ембріональні та екстра-ембріональні типи клітин. Останні вже здатні формувати всі типи клітин ембріона і відносяться до *плюрипотентних* стовбурових клітин. У новонародженому організмі кількість стовбурових клітин зменшується до однієї стовбурової клітини на 10 000 спеціалізованих клітин, а в зрілому віці це співвідношення становить 1 СК на 300 000 спеціалізованих клітин [7].

Основним місцем утворення стовбурових клітин у дорослому організмі є кістковий мозок. Крім того, практично в усіх видах тканин виділені так звані тканинспецифічні стовбурові клітини. За сучасними даними, стовбурові клітини можна виділити із крові, жирової тканини, материнської плаценти, пупкового канатика тощо.

У процесі старіння організму запаси стовбурових клітин поступово виснажуються з різною швидкістю залежно від індивідуальних особливостей організму, характеру пережитих ним патологічних процесів та впливу довкілля. Відповідно знижуються й можливості до самовідновлення його тканин.

За наявності в організмі патологічного процесу, що супроводжується інтенсивним руйнуванням структури тканин, циркулюючі в крові стовбурові клітини разом із тканинспецифічними СК шляхом активного розмноження поступово відновлюють їх порушену структуру. Встановлено, що тканинспецифічні стовбурові клітини здатні диференціюватися в клітини інших тканин завдяки своїй *пластичності* (явище *трансдиференціації*). У такий спосіб процес регенерації тканини відбувається завдяки активності не тільки регіональних стовбурових клітин, а й завдяки використанню саме циркулюючих у крові і лімфі стовбурових клітин інших ліній, здатних самостійно знаходити ушкоджені місця

в тканинах та відновлювати їх завдяки своїй здатності до трансдиференціації [8].

Таким чином, забезпечення структурної цілісності й клітинного гомеостазу організму за фізіологічних умов та умов порушень цілісності тканин чи органів відбувається за участю всіх видів стовбурових клітин, що носить великий біологічний смисл для організму.

Разом з тим, ще далеко не всі сторони властивостей стовбурових клітин вивчені. За висновками експертів, у найближчі десятиліття значно розшириться ареал використання стовбурових клітин у ветеринарній клінічній практиці. Уже зараз наука має можливості запропонувати виробництву новітні методи лікування високоцінних тварин: племінних, комунікативних та високопродуктивних.

Зростання попиту на використання СК та продуктів клітинних технологій у ветеринарній клітинній регенеративній медицині вимагає від дослідників пошуку нових можливостей задля продовження життя та термінів використання племінних і продуктивних тварин, яких вибраковують через неефективність лікування традиційними методами уражень печінки, молочної залози, яєчників, нирок, органів і тканин опорно-рухового апарату тощо. Отже, ці проблеми стосуються в першу чергу скотарства, конярства, вівчарства, свинарства, а також сфери використання спортивних та комунікативних тварин, збереження генофонду.

Нині, незважаючи на серйозні етичні та юридичні незгодженості, в наукових лабораторіях та клініках різних країн світу розвиток технологій методи лікування хворих з використанням стовбурових клітин набирають високих темпів. У науковій літературі наводяться приклади успішного лікування стовбуровими клітинами найскладніших хвороб, які не піддаються лікуванню існуючими традиційними методами.

У ветеринарній медицині застосування СК для лікування тварин зародилося практично одночасно з дослідженнями їх властивостей в біології та гуманній медицині, оскільки всі досліді в медичних лабораторіях проводяться саме на тваринах. Проте результати таких досліджень не можуть бути використані у ветеринарній медицині, через

те, що видові властивості СК тваринного походження вимагають від дослідників ураховувати якраз видові особливості в методах отримання СК, їх виділення, культивування, зберігання та застосування. До кінця невивченими залишаються питання видової чутливості та характеру імунної відповіді з боку організму тварин-реципієнтів на донорські клітини. Не встановлені способи і кратність введення клітин та їх доза.

**Мета нашого дослідження** – поширити в клінічну практику ветеринарної медицини результати експериментів щодо ефективного використання сучасних методів відновлення структури і функції патологічно змінених тканин тваринного організму за допомогою трансплантованих мезенхімальних стовбурових клітин.

**Результати дослідження та їх обговорення.** На державному рівні вивчення властивостей стовбурових клітин тваринного походження та можливостей використання клітинних технологій у ветеринарній клітинній регенеративній терапії вперше розпочато 2006 року в НУБіП України. За порівняно короткий проміжок часу нами розроблені середовища для ефективного культивування СК різних видів тварин, встановлені технологічні параметри процесів отримання стовбурових клітин з найвищою біологічною активністю. Уперше отримані ембріональні стовбурові клітини з 5-денного зародка на стадії бластоцисти після штучного запліднення яйцеклітини свині *in vitro* за оригінальною схемою, здійснено спрямоване диференціювання СК у кардіоміоцити. Розроблені нові та модифіковані існуючі методи відбору клітинного матеріалу від тварин різних видів, виділення з нього мезенхімальних стовбурових клітин з використанням відповідних технологічних регламентів, які забезпечують їм найвищу біологічну активність [9]; встановлена висока регенеративна здатність трансплантованих мезенхімальних стовбурових клітин у відновленні експериментально ушкодженої шкіри, суглобового хряща, сухожилків, нирок, печінки, підшлункової залози; встановлені особливості імунної відповіді з боку організму тварин-реципієнтів на введені аlogenні та ксеногенні мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) [10, 11]. Ученими

НУБіП України виявлено нові характеристики специфічних маркерів МСК, що можна використовувати як показники для оцінки їх біологічної активності та видової приналежності [12]; досліджено вплив МСК на перебіг пухлинного процесу в організмі мишей-реципієнтів так званих «високоракових» ліній [13].

Встановлено також, що в організмі тварин-реципієнтів *не виникає* імунної відповіді на введені аlogenні МСК такого характеру, як це спостерігається після трансплантації органів і тканин, оскільки МСК виділяють біологічно активні речовини *імуносупресори*, які знижують чутливість до них з боку клітин імунної системи [9, 14]. Тому при трансплантації не спостерігається їх відторгнення, відпадає потреба у виборі індивідуального підходу до використання стовбурових клітин для лікування тварин. На введені ксеногенні МСК у тварин-реципієнтів виникають імунні реакції, сила яких, залежно від виду тварин, призводить до зниження регенеративної здатності введених МСК на 35–45 %.

Ураховуючи викладене, нами запропоновано нові підходи до використання аlogenних стовбурових клітин у ветеринарній медицині. Суть пропозиції полягає в тому, що отримані СК від однієї тварини-донора можна з успіхом використовувати для лікування цілої групи інших тварин цього ж виду.

Перевагою такого підходу є можливість використовувати клітини від здорових донорів для лікування багатьох тварин одного виду, того часу як використання аутогенної клітинної терапії передбачає лікування хворої тварини тільки її власними СК. Останнє значно скорочує можливості використання СК та в разі підвищує вартість такого лікування. За ефективністю і безпечністю метод використання аlogenних СК не поступається перед застосуванням аутогенних СК, що на порядок знижує вартість лікування, робить його доступним для широкого використання.

Отримані результати експериментальних досліджень проходять клінічну апробацію для подальшого використання у ветеринарній клітинній регенеративній терапії.

Поширення методів клітинної регенеративної терапії у ветеринарній медицині потребує належної професійної підготов-

ки фахівців та поінформованості власників тварин щодо ефективності й доцільності застосування стовбурових клітин та продуктів клітинних технологій у ветеринарній медицині, вартості послуг тощо. Без глибоких знань видової біології стовбурових клітин неможливо розробити наукові рекомендації щодо отримання, культивування, зберігання клітинного матеріалу для отримання активних популяцій СК; без вивчення глибинних механізмів взаємодії між введеними СК та організмом реципієнта неможливо, а часом і небезпечно, призначати лікування стовбуровими клітинами та прогнозувати рівень

ефективності від їх застосування. Це вимагає розширення системи підготовки фахівців з глибокими знаннями й умінням у сфері клітинних технологій та клінічного використання стовбурових клітин через магістратуру та підвищення кваліфікації лікарів ветеринарної медицини. Усі необхідні умови для цього існують в НУБіП України. Тому було б доцільним ввести до програми навчальних дисциплін базового блоку – Гістології та цитології, Фізіології, Патологічної фізіології, Генетики, Фармакології, Імунології, а також клінічного циклу – тему “Стовбурові клітини у ветеринарній медицині”.

### Висновки

1. Запропонована система використання донорських аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин у ветеринарній медицині, яка не поступається за своєю ефективністю методам застосування аутогенних МСК, але значно здешевлює вартість лікування, робить його доступним для широкого кола користувачів.

2. Для поліпшення знань у студентів вищих навчальних закладів ветеринарного профілю про стовбурові клітини та їх застосування у ветеринарній медицині рекомендується доповнити програми навчальних базових та клінічних дисциплін відомостями з цього актуального напрямку.

### Бібліографія

1. Miki T. Amnion-derived pluripotent / multipotent stem cells / T. Miki, S.C. Strom // Stem Cell Rev. – 2006. – Vol. 2. – P. 133–142.

2. Fortier L.A. Stem cells: classifications, controversies, and clinical applications / L.A. Fortier // Vet Surg. – 2005. – 34(5). – P. 415–423.

3. Hillebrands J.L. Origin of vascular smooth muscle cells and the role of circulating stem cells in transplant arteriosclerosis / J.L. Hillebrands, F.A. Klatter, J. Rozing // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2003. – V. 23. – № 3. – P. 380–387.

4. Сарфати Дж. Стволовые клетки и Книга Бытия / Дж. Сарфати // ТЖ. – 2001. – 15(3). – P. 19–26.

5. Бутенко Г.М. Стовбурові клітини і проблема відновлення периферичних нервів / Г.М. Бутенко, Ю.Б. Чайковський // Здорове довголіття – 2013. – № 5(101). – С. 56–59.

6. The new stem cells biology: something for everyone / S.L. Preston, M.R.S.J. Alison Forbes et. al. // Mol. Patol. – 2003. – Vol. 56. – P. 86–96.

7. Что такое стволовые клетки [Електронный ресурс]. – Режим доступа: www.bibliotekar.ru/index.files/5stvolovye.htm

8. Петренко А.Ю. Стволовые клеточные клетки из разных источников / А.Ю. Петренко, В.И. Грищенко // Междунар. мед. журн. – 2003. – Т. 1. – С. 123–129.

9. Використання мезенхімальних стовбурових клітин тваринного походження для корекції репаративних процесів в організмі тварин-реципієнтів:

методичні рекомендації // Мазуркевич А.Й., Данілов В.Б., Малюк М.О., Ковпак В.В., Харкевич Ю.О., Журба В.І., Бобось О.Л., Золтан Н.І. – К., 2012. – 42 с.

10. Стовбурові клітини у ветеринарній медицині. Том перший. Експериментальні дослідження з отримання, зберігання і застосування мезенхімальних стовбурових клітин / Мазуркевич А.Й., Малюк М.О., Ковпак В.В., Харкевич Ю.О., Журба В.І. – К.: ТОВ ЦП “Компринт”, 2013 – 266 с.

11. Мазуркевич А.Й. Морфологічні зміни у підшлунковій залозі за алоксанового цукрового діабету у шурів / А.Й. Мазуркевич, В.В. Ковпак, Ю.О. Харкевич // Науковий вісник НУБіП України. – 2015. – № 227. – С. 155–159. – (Серія: Ветер. медицина, якість і безпека продукції тваринництва).

12. Immunophenotypic characterisation and cytogenetic analysis of mesenchymal stem cells from equine bone marrow and foal umbilical cords during in vitro culture / A. Mazurkevych, M. Maluyuk, N. Bezdi-eniezhnykh, L. Starodub, Y. Kharkevych, E. Brusko, M. Gryzińska, A. Jakubczak // J. of Veter. Research form. Bull. of the Vet. Institute in Pulawy. – Vol. 60, Iss. 3 (Sep 2016). – P. 339–347.

13. Кладницька Л.В. Життєздатність та проліферативна активність мезенхімальних стовбурових клітин лінійних мишей с 57bl/6 залежно від умов виділення первинного матеріалу / Л.В. Кладницька, В.В. Ковпак / Наук.вісник НУБіП України. – К., 2013. – Вип. 188, ч. 3. – С. 578–585. – (Серія: Ветеринарна медицина).