

слизова оболонка, від якої відходять тонкі тяжі, що мають хвилясті контури [3].

Як видно з літературних даних, на сьогодні накопичено великий обсяг інформації у галузі патоморфології ВШ. Останнім часом досягнуті значні успіхи у вивченні різних аспектів етіології, патогенезу та лікування ВХ. Але попри незліченну кількість досліджень, наукових праць та публікацій, присвячених цьому захворюванню, попри те, що критерії діагностики є добре відомими і запропонована величезна кількість засобів і методів лікування, все ж залишається широке коло не вирішених та суперечливих питань, продовжує зростати рівень захворюваності на ВХ. Нез'ясовані остаточно причини виразкоутворення, тонкі механізми ульцерогенезу, особливості будови, патологічні зміни структури стінки шлунка, що сприяють розвитку та хронізації даного дефекту, фактори, що перешкоджають епітелізації та повноцінному загосненню виразкового ураження, характерні ознаки СОШ при передвиразковому стані. Дослідження особливостей формування ВШ відкриває перспективу пошуку нових, ефективніших засобів та методик комплексного лікування хвороби, отримання додаткових і більш надійних діагностичних критеріїв уражен-

ня, необхідних для створення нових і удосконалення існуючих методів діагностики.

1. Дубінін С.І., Харченко О.В. Морфологічні зміни нейронів інтрамуральних гангліїв підслизового сплетіння шлунка хворих на хронічну виразку шлунка // Вісник проблем біології і медицини. – 2001. – №5. – С. 44-48.
2. Харченко Н.В., Бабак О.Я. Гастроентерологія. – К.: 2007. – 720 с.
3. Аруин В.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. – М.: Трида-Х, 1998. – 496 с.
4. Аруин Л.И., Шехтер А.Б., Милованова З.П., Городинская В.С. Фибриноид и фибриноидный некроз в морфогенезе хронических язв желудка // Архив патологии. – 1989. – № 12. – С. 16-22.
5. Богер М.М. Язвенная болезнь. – Новосибирск: Наука, 1986. – 256 с.
6. Василенко В.Х., Гребенев А.Л., Шептулин А.А. Язвенная болезнь. – М.: Медицина, 1987. – 288 с.
7. Григорьев П.Я. Диагностика и лечение язвенной болезни желудка и двенадцатипалой кишки. – М.: Медицина, 1986. – 277 с.
8. Дегтярева И.И., Матвиенко А.В., Родонезская Е.В. Морфологические изменения слизистой оболочки желудка у больных язвенной болезнью // Врачебное дело. – 1984. – № 11. – С. 84-87.
9. Дегтярева И.И., Харченко Н.В. Язвенная болезнь (современные аспекты диагностики и лечения). – К, 1996. – 333 с.
10. Дмитриев И.В., Доросевич А.Е. Морфологические и морфогенетические особенности язвенной болезни желудка // Архив патологии. – 1996. – №5. – С. 74-78.
11. Комаров Ф.И., Гребенев А.Л., Шептулин А.А. Руководство по гастроэнтерологии. – М.: Медицина, 1995. – 672 с.
12. Масевич Ц.Г., Рысс С.М. Болезни органов пищеварения. – Л.: Медицина, 1975. – 688 с.
13. Щербинина М.Б., Короленко А.С. Язвенная болезнь желудка: особенности морфогенеза // Морфология. – 2007. – №1. – С. 124-129.

Надійшла до редколегії 19.02.09

УДК 576.3

К. Лапшина, студ., Н. Скрипник, канд. біол. наук,
О. Дерябіна, канд. біол. наук, М. Держинський, д-р біол. наук

ВПЛИВ АЛОГЕННОЇ ПЛАЗМИ НА МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛІНІЇ КЛІТИН RK-13

В роботі було проведено комплексний порівняльний морфологічний та морфометричний аналіз клітин культури RK-13, культивованих на скляному та пластиковому субстратах у середовищі DMEM з додаванням ембріональної телячої сироватки або інактивованої та неінактивованої алогенної плазми. При культивуванні у середовищах, що містили алогенну плазму було виявлено появу нетипових морфологічних форм, утворення атипичних конгломератів та зміну ядерно-цитоплазматичного співвідношення.

Complex comparative morphological and morphometrical analysis of RK-13 cell culture that was grown on glass and plastic substrate in DMEM supplemented with fetal calf serum or inactivated and non-inactivated allogeneic plasma were performed in present work. RK-13 cells cultured in media which contained allogeneic plasma had changed the nuclear cytoplasmic rate along with the appearance of atypical cell forms and cell conglomerates.

Вступ. Для підтримання морфо-фізіологічної стабільності клітинних культур є важливим не лише підбір основного поживного середовища, але й застосування спеціальних біологічних рідин, що містять ростові фактори та гормони. Однак при застосуванні таких додатків виникає ряд проблем, пов'язаних зі стандартизацією, оскільки їх якісний склад відрізняється у різних партіях комерційного продукту [8], генетичною чужорідністю та можливістю контамінації. Крім того сироватка заважає тестуванню впливу на клітини різноманітних хімічних сполук, оскільки здатна взаємодіяти з ними. В такому випадку постає необхідність у застосуванні безсироваткових поживних середовищ [7, 4, 1], які, однак, виявляються не здатними підтримувати постійний рівень проліферації та колонієутворення [5].

Для уникнення цих проблем розробляються численні підходи, в тому числі, розглядається можливість використання аутологічних та алогенних біологічних рідин. Так, наприклад, при культивуванні на середовищах з аутологічною плазмою кордової крові CD34⁺-клітин була показана їх спроможність зберігати здатність до більш широкої диференціації ніж при культивуванні на плазмі дорослої крові [2].

Крім того аутологічна плазма знайшла своє застосування при культивуванні трансплантатів рогівки, ротового епітелію та фібробластів шкіри людини, які давали нормальний ріст та цитоархітектоніку [6]. До того ж

виявлена здатність аутологічної плазми довгий час підтримувати життєздатність клітин, не здатних до поділу, що було показано при роботі зі здоровими та хворими на уремію донорами [3].

Метою даної роботи було визначення впливу різних концентрацій термічно інактивованої та неінактивованої алогенної плазми на морфо-фізіологічні характеристики лінії клітин RK-13.

Матеріали та методи. Алогенна плазма була отримана від здорового кроля за стандартною методикою. Термічна інактивація проводилась впродовж 30 хвилин при 58°C.

Клітини лінії RK-13 культивувалися у базовому середовищі DMEM без додатків протягом доби. На другу добу частина матеріалу фіксувалась для використання в якості добового контролю. Інша частина культивувалась протягом ще трьох діб у середовищах, що містили 5% та 15% інактивованої або неінактивованої плазми на скляному та пластиковому субстратах (контрольна культура культивувалась у середовищі з 10% ембріональної телячої сироватки (ЕТС)).

Для проведення морфо-фізіологічного аналізу стану культур використовувалось забарвлення за методом Романовського-Гімза з деякими модифікаціями.

Результати та їх обговорення. В результаті проведення морфометричного аналізу клітин RK-13 контрольних та дослідних культур був визначений характер змін їх ядерно-цитоплазматичного співвідношення (ЯЦС) (табл. 1).

Отримані результати свідчать про збільшення ЯЦС у контрольних культурах після 4-добового культивування в порівнянні з першою добою. У культивованих з 5% інактивованої плазми на скляному субстраті клітин ЯЦС зростало в порівнянні з контрольними 4-добовими культурами, тоді як на пластиковому субстраті – зменшувалося. При культивуванні клітин в 15% інактивованої плазми достовірної зміни їх ЯЦС не виявлено, хоча спостерігалась тенденція до його збільшення у культурах вирощених на скляному субстраті та зменшення – на пластиковому. У клітин, культивованих у 5% неінактивованої плазми на скляному субстраті спостерігалась лише тенденція до зменшення їх ЯЦС, тоді як на пластиковому – достовірне збільшення порівняно з 4-добовим контролем. При культивуванні клітин у 15% неінактивованої плазми на скляному та пластиковому субстраті достовірних змін ЯЦС не виявлено, лише тенденція до зменшення у першому та зростання – у другому випадках.

Аналіз морфологічних особливостей культур клітин лінії RK-13, вирощених на різних субстратах, показав,

що при культивуванні на середовищі DMEM з додаванням різних концентрацій інактивованої та неінактивованої алогенної плазми утворювались нетипові форми клітин. Так при застосуванні 5% інактивованої плазми та вирощуванні на скляному та пластиковому субстратах, спостерігались формування клітинами довгих тонких відростків та поява нетипових дрібних, багатоядерних, гігантських та вакуоляризованих клітин. Серед клітин, культивованих на пластиковому субстраті частіше зустрічались розпластані та багатокутні форми. При культивуванні з 15% інактивованої плазми на скляному субстраті клітини, що формували тонкі тяжі мали близьку до прямокутної форму та були короткими, а при щільному рості – мали видовжену та багатокутну форму. Для клітин, культивованих на пластиковому субстраті, були характерні всі морфологічні особливості культивованих на склі клітин, але частіше зустрічались багатоядерні клітини та клітини з вакуолею.

Таблиця 1. Зміни ядерно-цитоплазматичного співвідношення клітин під дією алогенної плазми

Назва групи	Ядерно-цитоплазматичне співвідношення
контроль 1 доба	0,246±0,009
контроль 4 доба	0,347±0,007*
5% інактивованої плазми, скляний субстрат	0,378±0,008°
5% інактивованої плазми, пластиковий субстрат	0,316±0,007°
15% інактивованої плазми, скляний субстрат	0,381±0,016
15% інактивованої плазми, пластиковий субстрат	0,329±0,007
5% неінактивованої плазми, скляний субстрат	0,328±0,008
5% неінактивованої плазми, пластиковий субстрат	0,376±0,010°
15% неінактивованої плазми, скляний субстрат	0,326±0,012
15% неінактивованої плазми, пластиковий субстрат	0,356±0,009

Примітка: дані є статистично достовірними при $p \leq 0,05$.

* – в порівнянні з контролем 1 доби

° – в порівнянні з контролем 4 доби

При культивуванні у 5% неінактивованої плазми на скляному субстраті зустрічались короткі та видовжені клітини близької до прямокутної форми, а також дрібні клітини з кількома тонкими відростками, зовсім округлі, багатоядерні нормальних розмірів та нетипові гігантські багатоядерні та одноядерні клітинні форми. У культурах з пластикового субстрату часто зустрічались клітини нормальних розмірів з багатьма дрібними ядрами та одиночні клітини з 2-3-ма довгими тонкими відростками. При культивуванні у 15% неінактивованої плазми переважали багатоядерні видовжені клітини.

При культивуванні у 5% інактивованої плазми спостерігалось утворення видовжених клітинних конгломератів у вигляді ланцюжків, товщиною в 1-3 клітини. При культивуванні з 15% інактивованої плазми на скляному субстраті клітини найчастіше формували "ланцюжки", товщиною в клітину та конгломерати з кількох клітин з довгими тонкими відростками. Клітини з пластикового субстрату не росли суцільним шаром, а формували "мережу ланцюжків", що переплітаються. У культурах, що були оброблені 5% неінактивованої плазми і росли на скляному субстраті короткі прямокутної форми клітини формували довгі "ланцюжки". Клітини з пластикового субстрату росли не суцільним шаром, а формували дрібні скупчення відростатих клітин або мережу "ланцюжків". При культивуванні у 15% неінактивованої плазми клітини видовжуються, формуються тяжі паралельно направлених видовжених клітин.

Висновки. Дані, отримані в результаті морфологічного та морфометричного аналізу дають можливість припустити наявність цитотоксичного ефекту високих концентрацій (5%-15%) алогенної плазми та вказують на його відсутність у 10% ембріональної телячої сироватки.

1. Amit M., Shariki C., Margulets V. Feeder layer- and serum-free culture of human embryonic stem cells // Biol Reprod. – 2004. – Vol.70. – P.837–845.
2. Borrás F E, Matthews N C, Patel R., Navarrete C. Dendritic cells can be successfully generated from CD34+ cord blood cells in the presence of autologous cord blood plasma. // Nature. – 2000. – Vol. 26. – № 4. – P. 371–376.
3. Cendorglo M., Jaber B. L., Balakrishnan V. S., Perianayagam M., King A. J. Neutrophil Apoptosis and Dysfunction in Uremia. // J Am Soc Nephrol. – 1999. – № 10. – P.93–100.
4. Li Y., Powell S., Brunette E. Expansion of human embryonic stem cells in defined serum-free medium devoid of animal-derived products. // Biotechnol Bioeng. – 2005. – № 91. – P.688–698.
5. Meda M., Noda K., Tanakai K., Yamane I., Matsuya Y. Cultivation of V79 Cells in Serum-Free Medium Containing Bovine Serum Albumin and the Use of Gelatin as an Attachment Factor. // Tohoku J. exp. Med. – 1983. – № 141. – P. 99–106.
6. Nakamura T., Ang L. P. K., Rigby H., Sekiyama E., Inatomi T. The Use of Autologous Serum in the Development of Corneal and Oral Epithelial Equivalents in Patients with Stevens-Johnson Syndrome // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2006. – № 47. – P.909–916.
7. Shipley G. D., Ham R. G. Improved medium and culture conditions for clonal growth with minimum serum protein and for enhanced serum-free survival of Swiss 3T3 cells. // In Vitro. – 1981. – Vol.17. – P.656–670.
8. Zheng X., Baker H., Hancock W.S. Proteomic analysis for the assessment of different lots of fetal bovine serum as a raw material for cell culture. Part IV. Application of proteomics to the manufacture of biological drugs. // Biotechnol Prog. – 2006. – Vol.22. – P.1294–1300.

Надійшла до редколегії 03.06.09