МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЖИТОМИРСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА
ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ЗООЛОГІЇ ІМ. І.І. ШМАЛЬГАУЗЕНА НАН УКРАЇНИ
ГІДРОЕКОЛОГІЧНЕ ТОВАРИСТВО УКРАЇНИ
УКРАЇНСЬКЕ НАУКОВЕ ТОВАРИСТВО ПАРАЗИТОЛОГІВ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА

БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ – 2024

ЗБІРНИК НАУКОВИХ ПРАЦЬ

За матеріалами

XV Всеукраїнської науково-практичної конференції

від 08-09 жовтня 2024 р.

Житомир – 2024

УДК 577
Б 65

Рекомендовано до друку вченою радою
Житомирського державного університету імені Івана Франка
(протокол №20 від 25 жовтня 2024 року)

Рецензенти:

Заблоцька Ольга – доктор пед. наук, професор, завідувачка кафедри технологій медичної діагностики, реабілітації та здоровёя людини Житомирського медичного інституту Житомирської обласної ради.

Богдан Олександр – кандидат мед. наук, голова Житомирської обласної організації, віце-президент Товариства Червоного Хреста України.

Бордюг Наталія – доктор пед. наук, професор, директор Комунального закладу позашкільної освіти «Обласний еколого-натуралістичний центр» Житомирської обласної ради.

Біологічні дослідження – 2024: Збірник наукових праць. – Житомир: 2024. – 158 с.

У збірнику представлено нові результати теоретичних, прикладних та науково-методичних досліджень провідних вчених з різних аспектів біології. Це видання розраховане на студентів, аспірантів, викладачів, вчителів та науковців.

Редакційна колегія:

Киричук Галина Євгеніївна – ректор ЖДУ імені Івана Франка, д. б. н., проф.;
Боцян Тетяна Вікторівна – проректор з наукової і міжнародної роботи ЖДУ імені Івана Франка, к.е.н., доц.;
Корнійчук Наталія Миколаївна – проректор з навчальної роботи ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Афанасьєв Сергій Олександрович – директор Інституту гідробіології НАН України, д.б.н., проф.;
Харченко Віталій Олександрович – директор Інституту зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України, д.б.н., с.н.с.;
Юришинець Володимир Іванович – заступник директора Інституту гідробіології НАН України з наукової роботи, д.б.н., с.н.с.;
Аністратенко Віталій Вячеславович- заступник директора Інституту зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України, д.б.н., проф.;
Корнюшин Вадим Васильович – гол.н.с. відділу паразитології Інституту зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України, д.б.н., проф.;
Грубінко Василь Васильович – завідувач кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін Тернопільського національного університету імені Володимира Гнатюка, д.б.н., проф.;
Крот Юрій Григорович – в.о. завідувача відділом екологічної фізіології гідробіонтів та біотехнології Інституту гідробіології НАН України, пр.н.с., к.б.н., ст.н.с.;
Романенко Олександр Вікторович – завідувач кафедри біології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, академік НАН України, д.б.н., проф.;
Кутек Тамара Борисівна – декан факультету фізичного виховання і спорту, д.фіз.вих., проф.
Романюк Руслана Костянтинівна – декан природничого факультету ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., д.пед.н., доц.;
Гарбар Олександр Васильович – завідувач кафедри екології та географії ЖДУ імені Івана Франка, д.б.н., проф.;
Константиненко Людмила Анатоліївна – завідувач кафедри ботаніки, біоресурсів та збереження біорізноманіття ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Павлюченко Олеся Вікторівна – завідувач кафедри зоології, біологічного моніторингу та охорони природи ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Гарлінська Алла Миколаївна – завідувач кафедри медико-біологічних дисциплін ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Грищук Сергій Миколайович - заступник вик. дир. Благодійної організації «Лікарняна каса Житомирської області», к.м.н., доцент;
Чайка Юлія Юріївна – старший викладач кафедри медико-біологічних дисциплін ЖДУ імені Івана Франка;
Оксюта Мирослава Вікторівна − лаборант кафедри медико-біологічних дисциплін ЖДУ імені Івана Франка (секретар конференції).

Матеріали друкуються в авторській редакції. За достовірність фактів, власних імен та інші відомості відповідають автори публікацій.

Думка редакції може не збігатися з думкою авторів

©ЖИТОМИРСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА, 2024

СЕКЦІЯ 10. БІОТЕХНОЛОГІЯ

УДК 611.018.53:618.48:57.086.13:577.121.7

ЗБЕРЕЖЕНІСТЬ І ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ ПІСЛЯ КРІОКОНСЕРВУВАННЯ У L-КАРНІТИН-ВМІСНИХ РОЗЧИНАХ ТА ПЕРЕНЕСЕННЯ У ФІЗІОЛОГІЧНІ УМОВИ *IN VITRO*

П.М. Зубов[1], О.Л. Зубова[2]

[1, 2]Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, 61016, Україна

Кордова кров (КК), яка раніше вважалася медичними відходами, в даний час визнана цінним джерелом клітин для терапевтичного використання [3]. Накопичені за тривалий період спостереження щодо клінічного застосування КК значно покращили розуміння її біологічних властивостей і терапевтичного потенціалу [5]. Легкий спосіб отримання КК і унікальні характеристики клітин розкривають її можливості для терапії різних гематологічних та негематологічних захворювань [4]. Найбільш поширеним застосуванням є трансплантація гемопоетичних прогеніторних клітин (ГПК), які мають подібні властивості з клітинами кісткового мозку. З огляду на широке застосування КК виникла необхідність створення кріобанків та ефективних кріотехнологій довгострокового зберігання. Вирішення цієї задачі можливе лише шляхом проведення досліджень по вивченню впливу факторів на збереження та життєздатність клітин на всіх етапах заморожування-відігрівання. Це дозволить виявити критичні точки, в яких відбувається порушення структурних компонентів клітин, що стане основою для розробки ефективних технологій кріоконсервування. Крім того, для прогнозування терапевтичної ефективності препаратів кордової крові важливо не лише оцінювати їх стан одразу після розморожування, але й вивчати відстрочений стан клітин, перенісши їх у фізіологічні умови in vitro [1].

У попередніх роботах ми показали, що при кріоконсервуванні ядровмісних клітин кордової крові (ЯВК) на етапі еквілібрації з кріопротекторами, а також після розморожування, спостерігається збільшення активних форм кисню. Це може призвести до порушення енергетичного стану клітин і пошкодження їх мембран через перекисне окислення ліпідів [2]. Ми вважаємо, що додавання до кріозахисного середовища речовин з антиоксидантними властивостями дозволить уникнути або сповільнити розвиток оксидативного стресу, покращуючи результати кріоконсервування. Спираючись на аналіз літератури, ми припустили, що додавання антиоксиданту L-карнітину до кріопротекторного розчину може суттєво поліпшити результати кріоконсервування ЯВК кордової крові [6].

Таким чином, метою роботи було визначення збереженості і життєздатності ядровмісних, у тому числі гемопоетичних прогеніторних,

клітин кордової крові людини після кріоконсервування у L -карнітин-вмісних розчинах та перенесення до фізіологічних умов *in vitro*.

Виділення фракції ядровмісних клітин із цільної КК проводили методом седиментації у 6 % розчині поліглюкіну. В якості кріопротектора використовували ДМСО у кінцевих концентраціях 2,5; 5 та 7,5 %. L-карнітин використовували в кінцевих концентраціях 1; 5; 10; 15; 20; 50 мМ. Кріоконсервування проб КК проводили на програмному заморожувачі зі швидкістю 1 ºС/хв до -80 ºС з наступним зануренням до рідкого азоту. Моделювання трансфузії *in vitro* проводили шляхом перенесення у співвідношенні 1:10 суспензії деконсервованих клітин у розчин Хенкса (рН 7,4) при підтримуванні температури 37 ºС протягом однієї години. Підрахунок клітин у пробах проводили в камері Горяєва згідно зі стандартною методикою. Життєздатність ЯВК ($CD45^+$) та ГПК ($CD34^+$) оцінювали з використанням моноклональних антитіл CD45FITC, CD34PE і ДНК-барвника 7-аміноактиноміцину D (7AAD) методом протокової цитофлуориметрії.

Отримані нами результати показали, що після годинної інкубації розморожених клітин в фізіологічних умовах *in vitro* спостерігається значне зниження (на 20-35 %) збереженості та життєздатності ядровмісних, у тому числі гемопоетичних прогеніторних, клітин кордової крові, що вказує на виражену дестабілізацію клітин при заморожуванні-відтаванні.

Визначення кількості збережених ЯВК КК після кріоконсервування у розчинах з різною концентрацією ДМСО і L-карнітину та годинної інкубації клітин у розчині Хенкса виявило значущі відмінності за даним показником між пробами, що містили різну концентрацію ДМСО. Мінімальні значення (28-33 %) були у зразках, що містили 2,5 % ДМСО. Клітини, заморожені з кріопротектором у концентрації 5 %, характеризувалися збереженістю на рівні 38-43 %. Максимальна збереженість (49-57 %) фіксувалася в пробах, що містили 7,5 % ДМСО. Наявність L-карнітину у кріопротекторних розчинах забезпечувало збільшення кількості збережених клітин при всіх концентраціях ДМСО, що досліджувалися. Максимальний ріст збереженості виявлявся у пробах, що містили 15-50 мМ антиоксиданту. Аналогічні закономірності також спостерігалися при аналізі збереженості ГПК: мінімальна збереженість клітин була у зразках, заморожених з 2,5 % ДМСО, а максимальна (60-73 %) – при вмісті 7,5 % ДМСО у складі кріопротекторного розчину. Наявність у пробах антиоксиданту також, як і у випадку з ЯВК, забезпечувала збереженість більшої кількості ГПК у пробах. При кріоконсервуванні з 2,5 % ДМСО та L-карнітином достовірні відмінності спостерігалися лише у пробах з 20 мМ антиоксидантом. Підвищення збереженості у цих зразках складало близько 28 %. В розчинах з 5 % ДМСО ефект від внесення антиоксиданту був більш виражений: L-карнітин викликав достовірне підвищення кількості збережених ГПК, починаючи з концентрації L-карнітину 5 мМ. У пробах, що містили 7,5 % ДМСО та 10 – 50 мМ L-карнітину, кількість збережених клітин була на 15-20 % вищою у порівнянні з контрольними пробами, які не містили антиоксидант.

У наступній серії експериментів було проведене визначення виходу живих клітин після кріоконсервування у різних розчинах та моделювання трансфузії *in vitro* у порівнянні з контрольними значеннями до кріоконсервування.

Так, у пробах, що містили 2,5 % ДМСО та антиоксидант, достовірних відмінностей не спостерігалося. Можна говорити лише про тенденцію збільшення виходу живих клітин з 22,7 % у контролі до 27 % у пробах, що містили 20 мкМ L-карнітину. Аналогічний ефект спостерігався і у пробах з 5 % ДМСО. При концентрації кріопротектора 7,5 % та антиоксиданту – 15-50 мМ спостерігалося достовірне збільшення виходу живих клітин. Підвищення складало до 21 % у порівнянні з контрольними пробами, куди не вносили L-карнітин.

Визначення кількості живих ГПК у порівнянні з контрольними значеннями до заморожування показало, що в зразках, які містили 2,5 % ДМСО та L-карнітин, спостерігалася тенденція до підвищення даного показника при зростанні концентрації антиоксиданту. Максимальні показники фіксувалися в пробах, що містили 2,5 % ДМСО та 20 мМ L-карнітину (в цих пробах вихід клітин був на 40 % більшим у порівнянні з контрольними значеннями). Збільшення концентрації кріопротектора в зразках до 5 % в 1,5–1,9 раз підвищувало вихід живих клітин. Окрім цього, додавання в кріопротекторне середовище L-карнітину викликало додаткове зростання виходу живих ГПК на 18-25 % (концентрація 20 мМ виявилася найефективнішою). Годинна інкубація зразків, кріоконсервованих з 7,5 % ДМСО та L-карнітином, в розчині Хенкса виявила ефективність внесення антиоксиданту в концентраціях 10 - 50 мМ. У цих експериментальних зразках вихід живих ГПК був на 20-27 % вищим у порівнянні з пробами, в які його не вносили.

Таким чином було показано, що кріоконсервування ядровмісних клітин під захистом ДМСО та з додаванням антиоксиданту L-карнітину в ефективних концентраціях (15-20 мМ) дозволяє зберігати на 13-28 % більше життєздатних ядровмісних клітин, включно з гемопоетичними прогеніторними, після годинної інкубації в фізіологічних умовах *in vitro*, у порівнянні з контрольними зразками, в які не вносили антиоксиданти.

Література

1. Бабійчук Л.О., Зубов П.М., Макашова О.Є., Зубова О.Л. Моделювання трансфузії як підхід для прогнозування ефективності кріоконсервованих препаратів ядровмісних клітин кордової крові людини: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., м. Одеса, 16-17 жовт. 2020 р. Одеса, 2016. С. 66–70.

2. Макашова О.Е., Зубова О.Л., Зубов П.М., Бабійчук Л.О. Активні форми кисню як фактор зниження кількості життєздатних ядровмісних клітин кордової крові людини при кріоконсервуванні. Медична та клінічна хімія. 2019 Т. 21, № 3, додаток. С. 112–113.

3. Ballen K., Gluckman E., Broxmeyer H. Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond. Blood. 2013. Vol. 122, № 4. P. 491–498.

4. Orlando N., Pellegrino C., Valentini C. Umbilical cord blood: Current uses for transfusion and regenerative medicine. Transfus. Apher. Sci. 2020. Vol. 59, № 5. P. 102952.

5. Sanchez-Petitto G., Rezvani K., Daher M. Umbilical cord blood transplantation: connecting its origin to its future. Stem Cells Transl Med. 2023. Vol. 12, № 2. P. 55–71.

6. Surai P.F. Antioxidant action of carnitine: molecular mechanisms and practical applications // EC Veterinary Science. 2015. Vol. 2, № 1. P. 66-84.

УДК 612.111:57.043:577.352.4

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ПОШКОДЖЕННЯ ЕРИТРОЦИТІВ ЛЮДИНИ ТА КРОЛИКА ПРИ ЇХ ПЕРЕМІЩЕННІ З РОЗЧИНУ КРІОПРОТЕКТОРУ У СОЛЬОВЕ СЕРЕДОВИЩЕ.

О.Є. Ніпот[1], Н.А. Єршова[1], С. М. Федосова[2], О.О. Чабаненко[1], С.С. Єршов[1], Н.М. Шпакова[1]

[1]Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, 61016, Україна

[2]Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, м. Харків, Україна

На даний час механізми захисту еритроцитів людини за умов заморожування-відтавання є достатньо вивченими, що дозволило розробити протоколи кріоконсервування цих клітин. Застосування таких протоколів для еритроцитів тварин потребує змін, які будуть враховувати особливості будови їх мембран, в'язкоеластичних властивостей, проникності для кріопротекторних речовин, тощо. У якості ефективного кріопротектору клітин часто використовується диметилсульфоксид (ДМСО). Кріопротекторний механізм ДМСО зазвичай пояснюється здатністю пригнічувати утворення льоду та зменшенням осмотичного стресу під час заморожування [1]. Показано його успішне використання у кріопротекторних сумішах для еритроцитів ссавців [2].

Мета роботи – оцінити рівень пошкодження еритроцитів людини та кролика при їх переміщенні з розчину кріопротектору ДМСО у сольове середовище.

Для дослідження використовували еритроцити, отримані з крові людини та кролика за стандартною методикою. Заготівлю крові кролика і всі маніпуляції проводили відповідно до вітчизняних та міжнародних біоетичних норм. Після видалення плазми еритромасу двічі відмивали фізіологічним розчином шляхом центрифугування. До суспензії еритроцитів додавали розчин ДМСО. Кінцева концентрація кріопротектора складала 10 %. Суміш інкубували за температури 22°С впродовж 20 хв. Після цього клітини переносили у розчини NaCl різної концентрації. Вміст гемоглобіну, що вийшов у супернатант, визначали спектрофотометрично. Статистичну обробку отриманих числових даних проводили за допомогою програми "Statistica" (версія 6.0).