

During the conduct of 20 passages through the Hoottinger broth, the constancy of the cultural properties of the investigated strain was revealed. Growth in a liquid medium was in the form of a "piece of cotton", which was relatively difficult to shatter when shaking.

Seeding by the method of "prick" into the thickness of the environment TTH revealed a lack of mobility of culture throughout the study period.

As a result of the "pearl necklace" test, spherical forms of the cells of the pathogen *Bacillus anthracis* UA-07, located in the form of chains resembling a pearl necklace, were found on the medium containing penicillin. On the control medium without penicillin cells *Bac. anthracis* formed long chains of typical sticks.

Twenty-fold passages of the strain studied through the nutrient medium of the MPA with serum did not lead to the formation of a capsule by the pathogen *Bacillus anthracis* UA-07. During the microscopy of dasgs-smears and dasg-impresions, only the rod-shaped, non-encapsulated cells were detected.

Ten-fold passages of the *Bacillus anthracis* UA-07 vaccine strain caused by the bacteria in a dose of 10 billion/cm<sup>3</sup> did not result in the appearance of a capsule in the bacteria found on the studied smears and sputum preparations, liver, lung, and heart blood.

Investigations on guinea pigs, with the introduction of 10 billion cultures, found that *Bacillus anthracis* UA-07 after a 3-time repetition of the previous passage was not isolated from the body of mollusks. These data indicate that the strain is stable and in the body of mull cells does not turn into virulent state. In the study of residual virulence in mice, it was found that subcutaneous administration of cortisone causes a decrease in the protective properties of an organism of animals, and the dose of the causative agent with a concentration of 1 billion/cm<sup>3</sup> causes their death, but without the formation of capsules and.

With multiple transplants on nutrient dense and liquid media, the growth of the *Bacillus anthracis* UA-07 vaccine strain is consistent and consistent with the growth of the pathogen. Multiple sows through the body of laboratory animals (mollusks, mice) do not cause a change in the morphological and cultural properties of the strain *Bacillus anthracis* UA-07. Vaccine strain *Bacillus anthracis* UA-07 has stable biological properties and can be used in further studies to create the vaccine.

**Key words:** anthrax, stability, biological properties, *Bacillus anthracis*, strain, mice, guinea pigs, sowing, cultivation.

Надійшла 24.11.2017 р.

УДК 636.09:612.752/.753:616-073.7

САВЧУК Т. Л., аспірант

t\_sav4uk@ukr.net

МАЗУРКЕВИЧ А. Й., д-р вет. наук

МАЛЮК М. О., д-р вет. наук

ТКАЧЕНКО В. В., канд. вет. наук

ГУЛЯКОВА О. Г., лікар-рентгенолог

Національний університет біоресурсів і природокористування України

## РЕНТГЕНОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У КІСТЦІ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО УШКОДЖЕННЯ ТА ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ АЛОГЕННИХ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

Наведені результати досліджень активності та характеру репаративного остеогенезу в експериментально травмованій кістці за стимулюючого впливу трансплантованих алогенних мезенхімальних стовбурових клітин. Зокрема, наведені результати з вивчення рентгенологічних змін в кістковій тканині кролів за експериментального механічного ушкодження після введення алогенних мезенхімальних стовбурових клітин. Встановлено, що механічне ушкодження кісткової тканини спричинює виражену реакцію з боку кісткової тканини та прилеглих м'яких тканин. Після введення алогенних мезенхімальних стовбурових клітин в місце експериментально травмованої кісткової тканини спостерігається активізація процесів регенерації та повної консолідації кісткової тканини, яка розпочинається з ендостальної мозолі. Алогенні мезенхімальні стовбурові клітини прискорюють реакцію м'яких тканин, утворення кісткової мозолі та проходження процесів консолідації кісткової тканини.

Отримані дані можуть бути використані для відновлення ушкодженої кісткової тканини, а також для подальших експериментальних досліджень.

**Ключові слова:** репаративний остеогенез, кісткова мозоль, кісткова тканина, рентгенівський знімок, консолідація кісткової тканини, алогенні мезенхімальні стовбурові клітини.

**Постановка проблеми.** Незважаючи на розвиток травматології та ортопедії, повне відновлення кісткової тканини є проблемним, оскільки нерідко зустрічаються випадки порушення консолідації кісткових відламків, результатом лікування яких є уповільнення зрощення або не-

зрощення кісткових відламків та утворення хибних суглобів, а великі дефекти не можуть спонтанно гоїтися [4]. Питання регенерації кісткової тканини нині набуває особливого значення, оскільки кількість ускладнень, пов'язаних з порушенням або сповільненням процесів регенерації кісткової тканини, залишається досить високою [2].

Використання стовбурових клітин набуває все більшого поширення з метою лікуванні різних ран і травм, на які неможливо ефективно впливати сучасними методами [1, 6]. Вченими доведено, що червоний кістковий мозок містить мезенхімальні стовбурові клітини, які здатні до диференціювання в кісткову, хрящову, м'язову та інші види тканин, що дозволяє широко застосовувати такі клітини для прискорення регенерації різних тканин [3, 8].

**Аналіз останніх досліджень та публікацій.** У літературі найбільш широко представлені розробки з отримання та культивування стовбурових клітин кісткового мозку [3, 7, 8]. Дослідники пов'язують можливість застосування стовбурових клітин за їх трансплантації на біо-сумісних носіях [7, 8]. Клітини на матрицях використовують для відновлення проблемних пошкоджень кістки, поєднаних з обширними дефектами, після остеомієліту, резекції новоутворень тощо.

На сьогодні, у зв'язку із фундаментальними дослідженнями в галузі репаративного остеогенезу, встановлено, що існує багато факторів ризику, здатних порушити перебіг цього процесу [1].

Однак для практичного застосування мезенхімальних стовбурових клітин необхідні додаткові дослідження, в тому числі з використанням їх у репаративній регенерації кісткової тканини, що і стало предметом цього дослідження.

**Мета дослідження.** Провести оцінку рентгенологічних змін в кістковій тканині кролів за різних термінів репаративної регенерації після введення алогенних мезенхімальних стовбурових клітин.

**Матеріал і методи досліджень.** Експеримент проведений на 12 кролях-самках 3-місячного віку породи шиншила, масою тіла 2,5-3 кг. Утримання піддослідних тварин та використання їх в експериментах здійснювали відповідності до вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (15.12.2009. Відомості ВР, 2010, №9).

Ушкодження кісткової тканини моделювали в середній третині діяфізу великогомілкової кістки, з медіальної поверхні у вигляді нанесення дірчастого дефекту. Дефект наносили за допомогою хірургічного свердла діаметром 2,5 мм під загальним наркозом тварини («Золетіл» з розрахунку 0,05 мг/кг ваги). У місці розрізу шкіри проводили місцеву анестезію 0,5 % розчином новокаїну. Оперативне поле розміром 2×2 см вибривали та дворазово обробляли 5 % розчином йоду (метод Філончикова). Усі процедури з оперативного втручання проводили відповідно до вимог асептики та антисептики. Після формування дефекту операційну рану зашивали, тварин виводили з наркозу та утримували в стаціонарних умовах кафедри хірургії ім. І.О. Поваженка.

Тварини після формування у них дефекту були розділені на дві групи по 6 у кожній, де перша група була контрольною, а тваринам другої групи на наступний день після нанесення травми одноразово вводили алогенні мезенхімальні стовбурові клітини в дозі  $3,5 \times 10^6$  клітин безпосередньо в місце експериментального травмування кістки.

Рентгенологічні дослідження процесу відновлення дефекту великогомілкової кістки у контрольній та дослідній групах проводили на 3, 7, 14, 21, 28 і 42 добу дослідження в двох проекціях апаратом «Вател-1» у лабораторії ветеринарної рентгенології та рентгенодіагностики кафедри терапії і клінічної діагностики згідно з інструкцією [5].

**Основні результати дослідження.** В результаті проведених досліджень встановлено, що на 3 добу у тварин контрольної групи кістковий дефект був округлої форми діаметром 2,5 мм і глибиною 0,5 мм (рис. 1). Інших змін не спостерігалось.

У тварин дослідної групи на 3 добу експерименту зміни в кістковій тканині у місці нанесення дефекту на рентгеновському знімку були аналогічними з такими у контрольній групі, але зафіксована незначна реакція з боку м'язових тканин та початкові ознаки ендостальної мозолі, що виходили з кістково мозкового каналу (рис. 2).

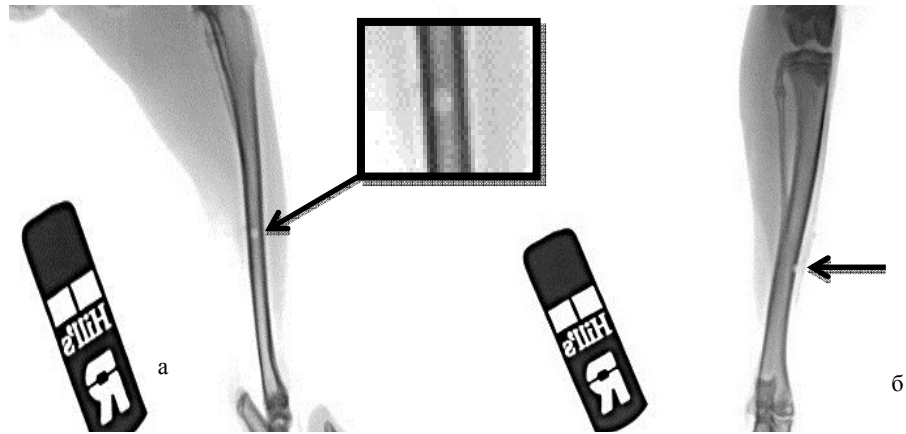


Рис. 1. Місце дефекту кістки у тварин контрольної групи на 3 добу після нанесення дефекту: а – бокова проекція; б – пряма проекція.

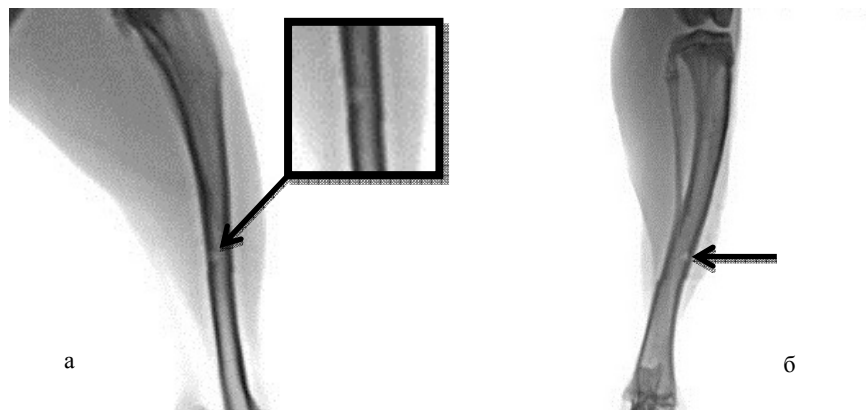


Рис. 2. Місце дефекту кістки у тварин дослідної групи на 3 добу після нанесення дефекту: а – бокова проекція; б – пряма проекція.

На 7 добу у тварин контрольної групи спостерігалось незначне зменшення діаметра дефекту до 2,4 мм, глибина не змінилася і становила 0,5 мм. Відмічалася виражена реакція м'яких тканин (рис. 3).

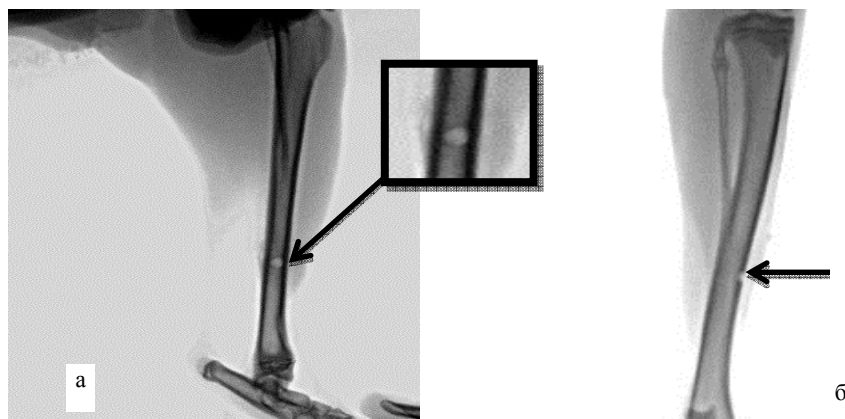


Рис. 3. Місце дефекту кістки у тварин контрольної групи на 7 добу після нанесення дефекту: а – бокова проекція; б – пряма проекція.

У тварин дослідної групи на 7 добу експерименту спостерігали добре виражену реакцію з боку прилеглих м'яких тканин, а також виражені ознаки розвитку ендостальної та періостальної мозоль у вигляді осередків окостеніння. Діаметр округлого дефекту зменшився до 2,2 мм, а глибина до 0,4 мм (рис. 4). Спостерігалася консолідація тканини кісткового дефекту.

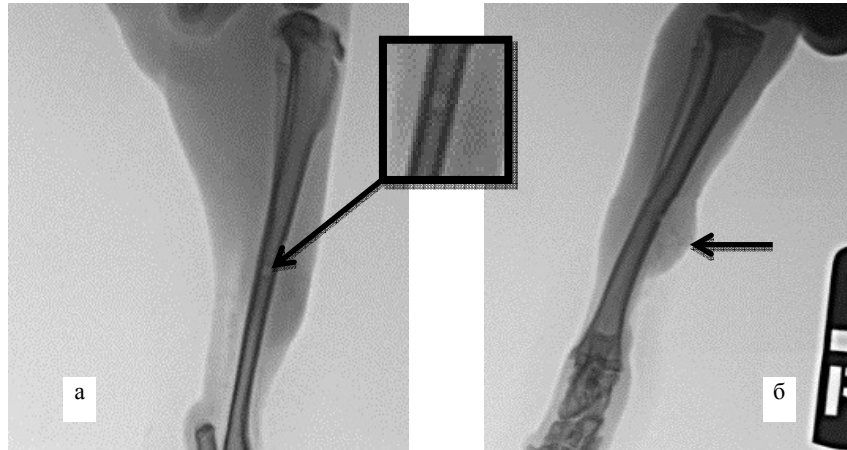


Рис. 4. Місце дефекту кістки у тварин дослідної групи на 7 добу після нанесення дефекту: а – бокова проекція; б – пряма проекція.

На 14 добу експерименту у тварин контрольної групи спостерігали добре виражену реакцію м'яких тканин, з'являлися ознаки періостальної мозолі, незначні ознаки ендостальної мозолі, діаметр дефекту зменшився до 2,2 мм, а глибина до 0,4 мм. Консолідація тканини кісткового дефекту продовжувалася (рис. 5).

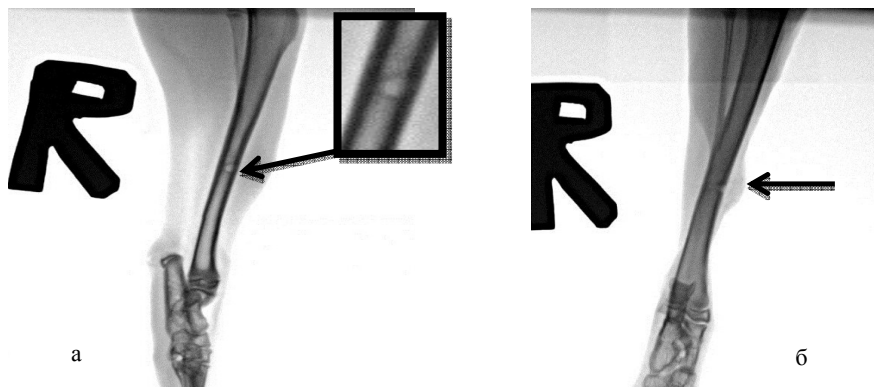


Рис. 5. Місце дефекту кістки у тварин контрольної групи на 14 добу після нанесення дефекту: а – бокова проекція; б – пряма проекція.

У тварин дослідної групи на 14 добу експерименту, на відміну від контрольної групи, спостерігали зниження реакції м'яких тканин, добре виражену кісткову мозоль, зменшення діаметра дефекту до 1 мм і глибини до 0,2 мм (рис. 6). Спостерігалася виражена консолідація тканини кісткового дефекту.

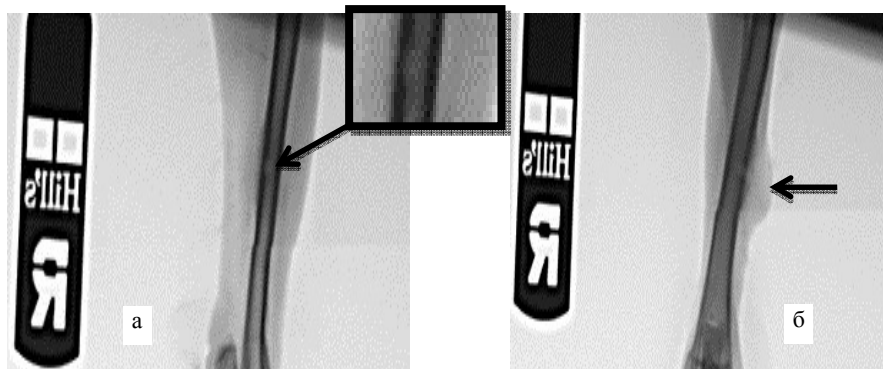


Рис. 6. Місце дефекту кістки у тварин дослідної групи на 14 добу після нанесення дефекту: а – бокова проекція; б – пряма проекція.

На 21 добу у тварин контрольної групи основних змін не спостерігалось, рентген-знімки були аналогічні таким на 14 добу експерименту, лише зменшилась реакція м'яких тканин (рис. 7).

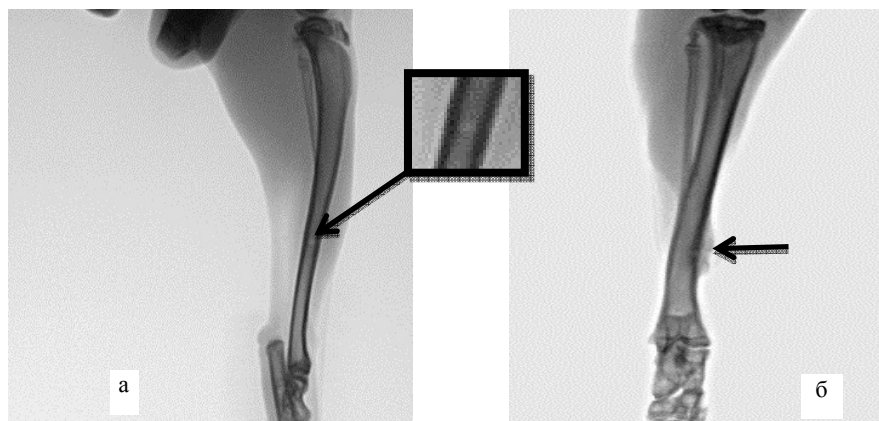


Рис. 7. Місце дефекту кістки у тварин контрольної групи на 21 добу після нанесення дефекту: а – бокова проекція; б – пряма проекція.

У тварин дослідної групи на 21 добу експерименту спостерігали зменшення діаметра дефекту до 0,5 мм, глибини – до 0,1 мм. Реакція з боку м'яких тканин була відсутня. Відмічали зменшення об'єму і ущільнення періостальної мозолі та виражену ендостальну мозоль (рис. 8). Продовжувалася виражена консолидація тканини кісткового дефекту.

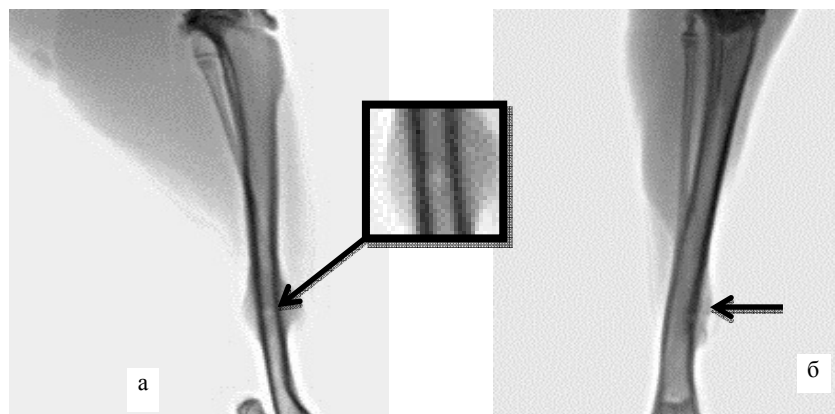


Рис. 8. Місце дефекту кістки у тварин дослідної групи на 21 добу після нанесення дефекту: а – бокова проекція; б – пряма проекція

На 28 добу експерименту у тварин контрольної групи спостерігали зменшення діаметра дефекту до 0,5 мм і глибини до 0,1 мм, незначну реакцію м'яких тканин, зменшення та ущільнення періостальної і ендостальної мозолі, консолидацію тканини кісткового дефекту (рис. 9).

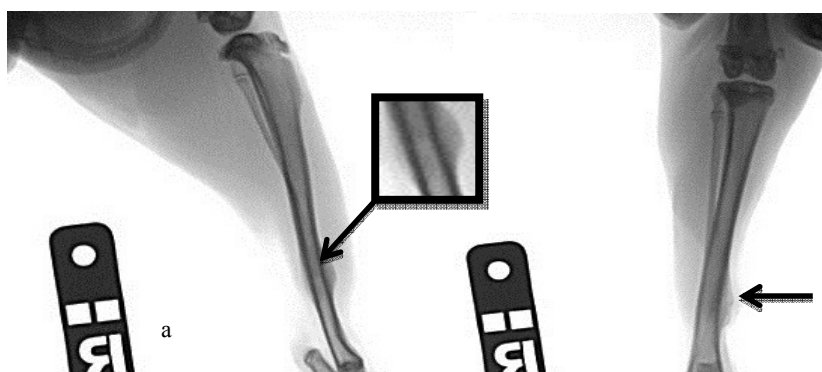


Рис. 9. Місце дефекту кістки у тварин контрольної групи на 28 добу після нанесення дефекту: а – бокова проекція; б – пряма проекція.

У тварин дослідної групи на 28 добу експерименту спостерігали відсутність реакції м'яких тканин, круглий дефект практично не візуалізувався, кісткова мозоль зменшилася в об'ємі і ущільнилася до кісткової тканини. Консолідація тканини кісткового дефекту продовжувалася (рис. 10).

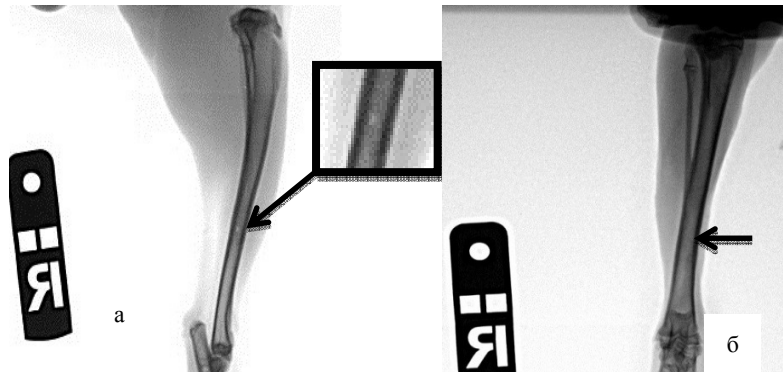


Рис. 10. Місце дефекту кістки у тварин дослідної групи на 28 добу після нанесення дефекту: а – бокова проекція; б – пряма проекція.

На 42 добу експерименту в тварин контрольної групи спостерігали відсутність реакції м'яких тканин, круглий дефект практично не візуалізувався, кісткова мозоль зменшилася в об'ємі і ущільнилася. Консолідація тканини кісткового дефекту продовжувалася (рис. 11).

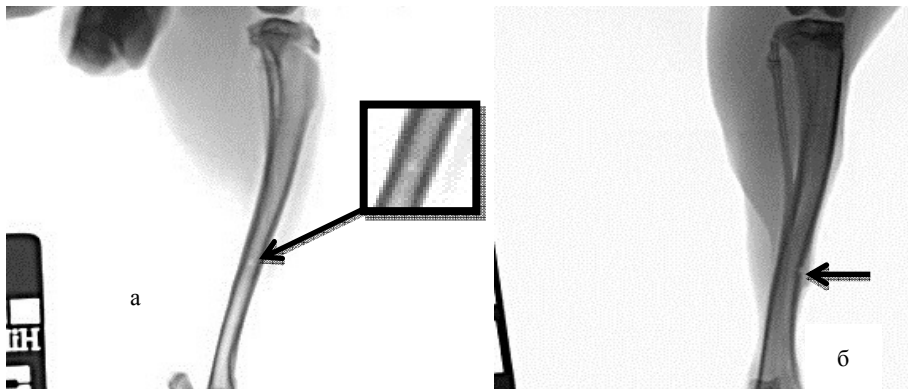


Рис. 11. Місце дефекту кістки у тварин контрольної групи на 42 добу після нанесення дефекту: а – бокова проекція; б – пряма проекція.

У тварин дослідної групи на 42 добу експерименту спостерігали відсутність реакції м'яких тканин і круглого дефекту, кісткова мозоль ущільнилася до кісткової тканини (рис. 12). Відбулася повна консолидація тканини кісткового дефекту.

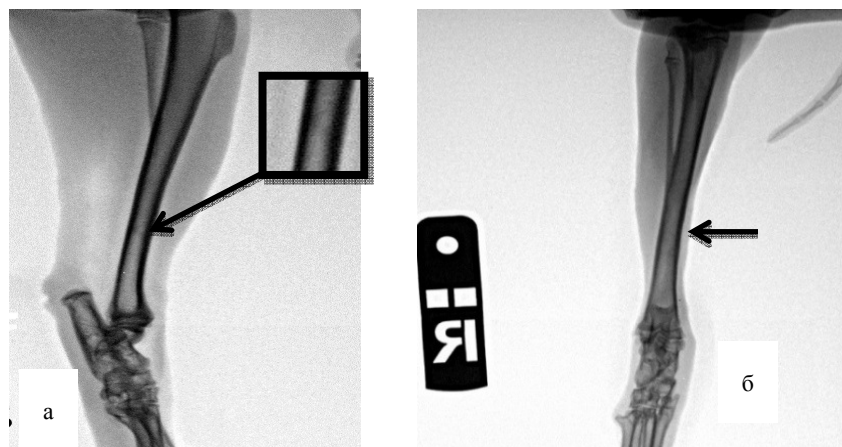


Рис. 12. Місце дефекту кістки у тварин дослідної групи на 42 добу після нанесення дефекту: а – бокова проекція; б – пряма проекція.

**Висновки.** 1. Механічна травма кісткової тканини призводить до реакції м'яких тканин, спрямованої на відновлення цілісності кісткової тканини.

2. Рентгенологічними дослідженнями встановлено, що після введення аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин в місце експериментально травмованої кісткової тканини, процеси регенерації, зокрема реакція м'яких тканин, утворення кісткової мозолі, консолідація кісткової тканини, пришвидшуються в порівнянні із контролем. За цих умов кісткова мозоль розвивається з ендостальної мозолі та відбувається повна консолідація кісткової тканини.

Отримані експериментальні дані можна використовувати для лікування тварин з травмами кісток.

У подальших дослідженнях планується підтвердити дані рентгенологічних змін гістологічними та біохімічними дослідженнями. Проаналізувати зміни в експериментально травмованій кістці після введення аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин у кров'яне русло.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Волков А. В. Тканевая инженерия: новые перспективы развития медицины. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2005. № 1. С. 57–63.
2. Дедух Н. В., Малишкіна С. В. Регенерація кістки: досягнення та перспективи. Трав-ма. 2006. Т. 7, № 2. С.212–216.
3. Мазуркевич А.Й. Малюк М.О., Ковпак В.В. Перспективи застосування стовбурових клітин у ветеринарній медицині. Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С. З. Гжицького. Львів. 2006. Т. 8, № 4 (31), ч. 2. С. 128–134.
4. Петренко О.Ф. Особливості переломів кісток у домашніх тварин. Ветеринарна медицина України. 2002. № 5. С. 16–17.
5. Семизоров А.Н. Рентгенография в диагностике и лечении переломов костей. М., 200. С. 21—27.
6. Chanda D., Kumar S., Ponnazhagan S. Therapeutic potential of adult bone marrow-derived mesenchymal stem cells in diseases of the skeleton. J. Cell. Biochem. 2010. Vol. 111, № 2. P. 249–257.
7. In vivo bone formation by Human marrow stromal cells: Reconstruction of the mouse calvarium and mandible / M. H. Mankani, et al. Stem cells. 2008. Vol. 24, № 9. P. 2140–2149.
8. Osteogenic differentiation of cultured marrow stromal stem cells on the surface of bioactive glass ceramics / H. Ohgushi, et al. J. Biomed. Mater. Res. 2006. Vol. 32. № 30. P. 341–348.

#### REFERENCES

1. Volkov A. V. (2005). Tkanevaya ynzheneryya: novue perspektyvu razvytyyya medytyny [Tissue Engineering: New Perspectives on the Development of Medicine]. Kletochnaya transplantolohyya y tkanevaya ynzheneryya [Cell transplantology and tissue engineering]. № 1. pp. 57–63.
2. Diedukh N. V. (2006). Reheneratsiia kistky: dosiahnennia ta perspektyvy [Bone regeneration: achievement and prospects]. Travma. Vol. 7, № 2, pp. 212–216.
3. Mazurkevych A.I. (2006). Perspektyvy zastosuvannia stovburovykh klityn u veterynarii medytyni [Prospects for the use of stem cells in veterinary medicine]. Naukovyi visnyk Lvivskoi natsionalnoi akademii veterynarnoi medytyny im. S.Z. Hzhyskoho. Lviv, Vol. 8, № 4 (31), ch. 2, pp. 128–134.
4. Petrenko O.F. (2002). Osoblyvosti perelomiv kistok u domashnikh tvaryn [Features of bone fractures in pets]. Veterynarna medytyna Ukrain, № 5, pp. 16–17.
5. Semyzorov A.N. (2007). Renthnohrafiyya v dyahnostyke y lechenyy perelomov kostey [Radiography in the diagnosis and treatment of bone fractures]. M, pp. 21—27.
6. Chanda D., Kumar S., (2010). Ponnazhagan S. Therapeutic potential of adult bone marrow-derived mesenchymal stem cells in diseases of the skeleton. J. Cell. Biochem. Vol. 111, № 2, pp. 249–257.
7. Mankani, M. H. (2008). In vivo bone formation by Human marrow stromal cells: Reconstruction of the mouse calvarium and mandible. Stem cells. Vol. 24, № 9, pp. 2140–2149.
8. Ohgushi H. (2006). Osteogenic differentiation of cultured marrow stromal stem cells on the surface of bioactive glass ceramics. J. Biomed. Mater. Res. Vol. 32, № 30, pp. 341–348.

#### **Рентгенологические изменения в кости при экспериментальном повреждении и после введения аллогенных мезенхимальных стволовых клеток**

**Савчук Т. Л., Мазуркевич А. Й., Малюк Н. А., Ткаченко В. В., Гулякова А. Г.**

Приведены результаты исследований активности и характера репаративного остеогенеза в экспериментально травмированной кости при стимулирующем влиянии трансплантированных аллогенных мезенхимальных стволовых клеток. В частности, приведены результаты по изучению рентгенологических изменений в костной ткани кроликов при экспериментальном механическом повреждении после введения аллогенных мезенхимальных стволовых клеток. Установлено, что механическое повреждение костной ткани вызывает выраженную реакцию со стороны костной ткани и соответствующую реакцию со стороны близлежащих мягких тканей. После введения аллогенных мезенхимальных стволовых клеток в место экспериментально травмированной костной ткани, наблюдается активность процессов регенерации и полной консолидации костной ткани, которая начинается с эндостальной мозоли. Аллогенные

мезенхимальные стволовые клетки ускоряют реакцию мягких тканей, образование костной мозоли и прохождения процессов консолидации костной ткани.

Полученные данные могут быть использованы для восстановления поврежденной костной ткани, а также для дальнейших экспериментальных исследований.

**Ключевые слова:** репаративный остеогенез, костная мозоль, костная ткань, рентгеновский снимок, консолидация костной ткани, аллогенные мезенхимальные стволовые клетки.

#### **Radiographic changes in experimental bone damage and after doing allogenic mesenchymal stem cells**

**Savchuk T., Mazurkevych A., Maliuk M., Tkachenko V., Huliakova O.**

The article presents the results of the research activity and the nature of the reparative osteogenesis in the experimental bone over the stimulating influence of transplanted allogenic mesenchymal stem cells. In particular, the results from the study of radiological changes in the bone tissue of rabbits with experimental mechanical damage after doing allogenic mesenchymal stem cells. Established that mechanical damage to bone tissues causes a pronounced reaction from the bone tissue and the corresponding response from the surrounding soft tissues. After the introduction of allogenic mesenchymal stem cells in place of experimentally traumatized bone tissue, the activity of regeneration processes and the full consolidation of bone tissue, which begins with endosteal callus. Allogenic mesenchymal stem cells accelerate the reaction of the soft tissues, callus formation and transmission processes, the consolidation of the bone tissue.

The obtained data can be used to repair damaged bone tissue, and for the further experimental studies.

**Key words:** reparative osteogenesis, callus, bone, x-ray, consolidation bone tissue, allogenic mesenchymal stem cells.

*Надійшла 17.11.2017 р.*

**УДК 619:616.056.5-071/084:636.5**

**САКАРА В.С.**, аспірант

Науковий керівник – **МЕЛЬНИК А.Ю.**, канд. вет. наук

v.sakara@outlook.com

*Білоцерківський національний аграрний університет*

#### **ПЛИВ ВІТЧИЗНЯНОГО ВІТАМІННО-АМІНОКИСЛОТНОГО КОМПЛЕКСУ АБЕТКА ДЛЯ ТВАРИН НА ОБМІН МІКРОЕЛЕМЕНТІВ У КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ**

Викладено результати випробування вітчизняного вітамінно-амінокислотного препарату Абетка для тварин на вміст заліза, цинку, купруму та мангану в сироватці крові курчат-бройлерів кросу СОВВ 500 в умовах навчально-виробничого центру Білоцерківського національного аграрного університету. Застосування вітамінно-амінокислотного комплексу Абетка для тварин у рекомендованій дозі 1 мл/л води підвищує рівень цинку в сироватці крові курчат-бройлерів дослідної групи після третього відбору крові (після другого 7-добового застосування препарату) до  $160,0 \pm 4,92$  мкг/100 мл, порівняно з початком дослідження (на 6,7 %;  $p < 0,05$ ) та з показником другого (після першого 7-добового вживання препарату)  $123,0 \pm 3,83$  мкг/100 мл – на 23,1 % ( $p < 0,001$ ). Найбільш показовими при застосуванні препарату були зміни вмісту цинку, порівнюючи його вміст в сироватці крові курчат дослідної групи третього відбору до контролю, де показник збільшився на 13,4 % ( $p < 0,05$ ). Зміни мангану мали подібну динаміку: за другого відбору крові його концентрація збільшилася на 34,9 % ( $p < 0,05$ ) і становила  $18,3 \pm 2,10$  мкг/100 мл, у третьому на 25,5 % ( $p < 0,05$ ) –  $16,0 \pm 1,15$  мкг/100 мл. Різниця між показниками дослідної та контрольної груп по закінченні експерименту збільшилась на 28,9 % ( $p < 0,05$ ) і становила  $16,0 \pm 1,15$  мкг/100 мл.

**Ключові слова:** курчата-бройлери, препарат Абетка для тварин, залізо, цинк, манган, купрум, мідь.

**Постановка проблеми.** Однією з найбільш актуальних науково-практичних проблем сучасного птахівництва є питання вітамінно-мінерального забезпечення птиці [1]. Мікроелементи є життєво важливими речовинами [2–4], які діють переважно як каталізатори багатьох ферментних і гормональних систем [5], та тісно взаємодіють з вітамінами [6]. Проте, у літературі зустрічається невелика кількість інформації щодо фізіологічної дії деяких мікроелементів в організмі птиці за різної забезпеченості її жиророзчинними вітамінами [1]. Купрум, цинк і манган – необхідні елементи для розвитку та росту курчат-бройлерів [7].

За дефіциту цинку спостерігаються дерматити, відсутність апетиту, проноси, затримка росту, погіршення зору та дефекти кінцівок [8, 9], а за нестачі мангану виникає пероз [10–13]. Всмоктування цинку у тонкому відділі кишечника гальмується за дефіциту вітаміну А [14]. Для нормального обміну цинку необхідне постійне надходження вітамінів А, С, В<sub>1</sub> та В<sub>с</sub>. Проте,