

чи профілактиці конкретного захворювання, або провести порівняння методів дослідження. Це дозволяє спростити використання отриманих теоретичних знань в практичній роботі лікаря ветеринарної медицини.

Отримання якісної освіти в гуманній та ветеринарній медицині виключно за допомогою онлайн-занять не прийнятне. Для викладачів факультету ветеринарної медицини спільною великою проблемою є неможливість проведення практичних занять. Для майбутнього ветеринарного лікаря необхідне отримання практичних навичок безпосереднього контакту з твариною, вміння працювати із досліджуваним матеріалом, реактивами, спеціальними інструментами та приладами. Жодні ілюстрації, відео чи розповіді не можуть цього замінити. Нажаль, через військові дії на території Харківської області ми не можемо перейти на змішану форму навчання.

Не вирішена проблема якісного оцінювання знань студентів. У традиційній освіті одним із стимулів до навчання є оцінка. Індивідуальність та коректність оцінки можлива через безпосереднє спілкування викладача і студента. Дистанційне навчання надає студентам більше можливостей для фальсифікації результатів, а саме: виконання завдань іншою людиною, просте і швидке копіювання відповідей у іншого студента, елементарне використання ресурсів Інтернету і т. ін. крім того, ускладнюється і робота викладача через неможливість перевірити джерела усіх студентських відповідей. Результатом цього може бути як високі оцінки у тих, хто вдало фальсифікує свої відповіді, так і низькі – у тих, хто працює самостійно [3].

Висновки. Організація якісного масового дистанційного навчання – складний і багатофакторний процес.

Серед здобутків вищої освіти в умовах воєнного стану можна назвати: потужне впровадження інформаційних технологій у процес навчання; використання технології адаптивного навчання; студенти мають можливість вчитися, працювати.

Суттєвим важелем забезпечення якості дистанційного навчання під час дії воєнного стану є дисциплінованість викладачів, яка проявляється у дотриманні розкладу занять, своєчасності завантаження навчальних матеріалів до освітньої онлайн-платформи Moodle, перевірки виконаних студентами завдань та обґрунтування виставлених оцінок.

Викладачі мусять проводити заняття, опитувати студентів, давати завдання, всіляко залучати їх до навчального процесу, оскільки життя триває. Академічна доброчесність в умовах воєнного стану у вищих навчальних закладах є надважливим питанням.

Бібліографічний список:

1. Васильченко Л., Шацька Н. (2023) Дистанційне (онлайн) навчання у закладах ЗСО: проблеми, виклики, рішення. *Education Innovation Practice* 10(7):19-24. DOI:10.31110/2616-650X-vol10i7-003.
2. Положення про дистанційну форму здобуття повної загальної середньої освіти: затверджено наказом МОН від 8 вересня 2020 року №1115. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0703-13#Text>.
3. Проблеми і перспективи розвитку онлайн-освіти : Монографія / за заг. ред. Т. А. Васильсої, С. І. Котенка. – Суми : Сумський державний університет, 2023. – 125 с.
4. Соколенко О.Л. (2023) Вища освіта крізь призму війни. *Юридичний науковий електронний журнал*. №7. 2023. С. 562-564. DOI <https://doi.org/10.32782/2524-0374/2023-7/128>

УДК 612.014:602.9.395:018.26

ДОСВІД ОТРИМАННЯ, КУЛЬТИВУВАННЯ ТА КРІОКОНСЕРВУВАННЯ

МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ СОБАКИ

Сукач О.М. доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків, Україна; Державний біотехнологічний

університет, Харків, Україна; Харківський національний педагогічний університет імені Г. С. Сковороди, Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7838-7319>

Оченашко О.В. кандидат біологічних наук, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8365-6715>

Всеволодська С.О. Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0617-7694>

Мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) є гетерогенною популяцією постнатальних клітин-попередників стромального походження, які можуть бути виділені з різних тканин дорослого організму. МСК характеризуються мультилінійним (адипогенним, остеогенним, хондрогенним) диференціюванням і здатністю до самооновлення [1]. МСК також секретують безліч цитокінів і факторів росту, які пригнічують імунну систему, інгібують фіброз і апоптоз, активують ангиогенез і стимулюють проліферацію та диференціювання тканинних стовбурових клітин [2]. Таким чином, МСК володіють як регенеративним потенціалом, так і вираженими імуномодуючими властивостями не викликаючи розвитку імунної відповіді при їх трансплантації.

В теперішній час МСК експериментально використовуються в ветеринарії для лікування захворювань опорно-рухової системи [3], печінки [4], нирок [5], шкіри [6] у собак. Отримані позитивні результати терапії з МСК вказують на великі перспективи її застосування для лікування різних захворювань собак. Однак широке впровадження клітинної терапії МСК у ветеринарну практику потребує вирішення кількох проблем, найважливішими з яких є визначення оптимального джерела МСК та створення низькотемпературних банків перевірених, стандартизованих МСК собак. МСК можуть бути отримані з більшості тканин насичених кровонесними судинами. Однак жирова тканина, можливо, є найбільш прийнятним джерелом через її велику кількість, доступність і високу концентрацію МСК в ній.

Метою дослідження було отримання МСК з жирової тканини собаки, їх культивування і наступне кріоконсервування.

Матеріали і методи. МСК отримували з підшкірно-жирового шару біоптату шкіри собаки породи Мастіно віком 3 роки. Зразок тканини приблизного розміру 3x3 см та вагою 5 грамів поміщали в стерильне транспортне середовище, що містило антибіотик (100 одиниць/мл пеніциліну) та доставляли в лабораторію.

Усі маніпуляції по отриманню МСК проводили в стерильних умовах боксу. З біоптату шкіри відокремлювали підшкірний жировий шар та двічі промивали від крові фосфатно-сольовим буфером, що містив 100 одиниць/мл пеніциліну та 100 мкг/мл стрептоміцину. Тканину подрібнювали на фрагменти 2-10 мм ножицями та інкубували в PBS Дюльбекко, що містив 0,1% колагенази типу I, протягом 30 хв. при 37°C та постійному перемішуванні. Після завершення часу інкубації оброблені фрагменти тканини фільтрували через нейлоновий фільтр та центрифугували при 400g протягом 5 хв. Осад клітин ресуспендували в середовищі альфа МЕМ (BioWest, Франція), збагаченому 10% фетальної сироватки телят (BioWest, Франція), переносили в чашку Петрі (d=35 mm, Bioswesstec, Швейцарія) й культивували для отримання адгезивної фракції клітин при 37°C в CO₂ інкубаторі (Binder, ФРГ) в атмосфері 5% CO₂ 95% повітря. Цей пасаж враховували як нульовий (P0). Після досягнення 80-100% конфлуентного росту, клітини знімали з пластику за допомогою суміші Трипсин/Версен за стандартною методикою і пересіювали у культуральний флакон T25, а в подальшому у флакони T75 (Bioswesstec, Швейцарія), притримуючись коефіцієнту розсіву 1:3 - 1:4. Пасування культури клітин проводили 4 рази до отримання необхідної кількості клітин.

Підрахунок клітин проводили в камері Горяєва. Життєздатність клітин оцінювали по виключенню вітального барвника трипанового синього. Візуалізацію клітин здійснювали за допомогою світлового мікроскопу EmScore (USA), поєднаного з цифровою камерою.

Результати і обговорення. При культивуванні первинної суспензії, отриманої з жирової тканини, перші поодинокі прикріплені клітини з'являлися на другу добу спостереження. Вони швидко проліферували та формували невеликі ділянки моношару. На четверту добу культивування клітини формували на поверхні чашки Петрі щільний моношар, який переважно складався з клітин веретеноподібної форми, але при цьому зустрічались ділянки, сформовані клітинами витягнутої та округлої форми. На цьому етапі клітини знімали та переносили в культуральний флакон T25. Через три доби культивування у флаконі утворювався 100% моношар клітин, який знімали та пересівали у флакони T75 з коефіцієнтом розведення 1:4. При кожному наступному пересіві культура зберігала динаміку росту та формувала 100 % моношар на 3-4 добу культивування. Слід зазначити, що після другого пасажу клітини виглядали морфологічно однорідно та мали витягнуту веретеноподібну форму.

Підрахунок кількості отриманих клітин показав, що в результаті культивування на протязі 18 діб (4 пасажа) з жирової тканини вагою 5 г ми отримали 85×10^6 МСК. Ця кількість достатня для проведення двох-трьох курсів клітинної терапії МСК собаці вагою 40-50 кг [7].

Частину отриманих клітин ми кріоконсервували в стерильних кріопробірках під захистом 10% ДМСО в середовищі культивування, яке містило 10% фетальної сироватки телят. Концентрація МСК при цьому складала 2×10^6 клітин, об'єм суспензії - 500 мкл. Клітини заморожували зі швидкістю $1^\circ\text{C}/\text{хв}$ до -80°C з наступним перенесенням в рідкий азот. Після зберігання на протязі 1 місяця МСК швидко відігрівали на водяній бані при 38°C , ступінчасто відмивали від ДМСО й переносили в культуральний флакон T75. Життєздатність деконсервованих МСК, визначена по трипановому тесту, складала 90%. Культивування на протязі 4 діб призводило до формування клітинного моношару на 100% поверхні флакону. Тобто проліферативна активність кріоконсервованих МСК не відрізнялась від інтактних МСК

Висновок. МСК, отримані з жирової тканини трирічної собаки породи Мастино характеризуються високою проліферативною активністю, що дозволяє отримати терапевтичні дози клітин на протязі 2 тижнів культивування. Кріоконсервування МСК під захистом 10% ДМСО зі швидкістю $1^\circ\text{C}/\text{хв}$ до -80°C з наступним перенесенням в рідкий азот дозволяє зберегти 90% життєздатних клітин з високою здатністю до проліферації.

Бібліографічний список:

1. Vieira, N. M., Brandalise, V., Zucconi, E., Secco, M., Strauss, B. E., & Zatz, M. (2010). Isolation, characterization, and differentiation potential of canine adipose-derived stem cells. *Cell transplantation*, 19(3), 279-289.
2. Caplan, A. I., & Dennis, J. E. (2006). Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *Journal of cellular biochemistry*, 98(5), 1076-1084.
3. Shah, K., Drury, T., Roic, I., Hansen, P., Malin, M., Boyd, R., ... & Ferguson, R. (2018). Outcome of allogeneic adult stem cell therapy in dogs suffering from osteoarthritis and other joint defects. *Stem Cells International*, 2018.
4. Nishimura, T., Takami, T., Sasaki, R., Aibe, Y., Matsuda, T., Fujisawa, K., ... & Sakaida, I. (2019). Liver regeneration therapy through the hepatic artery-infusion of cultured bone marrow cells in a canine liver fibrosis model. *PLoS One*, 14(1), e0210588.
5. Lee, S. J., Ryu, M. O., Seo, M. S., Park, S. B., Ahn, J. O., Han, S. M., ... & Youn, H. Y. (2017). Mesenchymal stem cells contribute to improvement of renal function in a canine kidney injury model. *in vivo*, 31(6), 1115-1124.
6. Kang S-J, Gu N-Y, Byeon JS, Hyun B-H, Lee J and Yang D-K (2023) Immunomodulatory effects of canine mesenchymal stem cells in an experimental atopic dermatitis model. *Front. Vet. Sci.* 10:1201382. doi: 10.3389/fvets.2023.1201382

7. Harman R, Carlson K, Gaynor J, Gustafson S, Dhupa S, Clement K, Hoelzler M, McCarthy T, Schwartz P and Adams C (2016) A prospective, randomized, masked, and placebo-controlled efficacy study of intraarticular allogeneic adipose stem cells for the treatment of osteoarthritis in dog. *Front. Vet. Sci.*, V. 3. <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00081>

УДК: 636.92.09:616.31(477.53-25+477.54-25)

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ РІЗНИХ МЕТОДІВ ІНТУБАЦІЇ В КРОЛИКІВ (ORYCTOLAGUS CUNICULUS) ЗА ДАНИМИ КЛІНІК ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ “ЕКОЦЕНТР” (М. ХАРКІВ) ТА “ЕКОЦЕНТР ЛОКЕС” (М. ПОЛТАВА)

Сєгодін О.Б., кандидат ветеринарних наук, доцент, Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5637-4050>

Степаненко Г.О., кандидат ветеринарних наук, клініка ветеринарної медицини “ЕкоЦентр”, м. Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8705-8437>

Тимошенко О.П., доктор біологічних наук, професор, Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9696-1698>

Вступ. Дослідження, виконані у Великій Британії, встановили смертність кроликів після анестезії на рівні 1,83%. Смертність від анестезії в інших видів тварин була достовірно нижча, наприклад у людей – від 0,02% до 0,005%, собак – 0,17% і котів – 0,24% відповідно [1].

Потенційними факторами, що сприяють високій летальності від анестезії, є обмежені знання ветеринарами загальної практики фізіології кроликів, анатомії їх дихальних шляхів, відсутність навчання специфічним технікам інтубації, нехтування профілактикою стресу під час перебування пацієнта у клініці та під час маніпуляцій [2].

Мета. Дослідити ефективність використання різних технік інтубації у кроликів (*Oryctolagus cuniculus*).

Матеріали та методи дослідження. Контроль ефективності інтубації проводився за допомогою візуального контролю, аускультації, капнометрії та пульсової оксиметрії монітором пацієнта Dash 3000. За необхідністю, рентгенологічно підтверджувалось розташування ендотрахеальної трубки саме у проекції трахеї за допомогою оцифровувача Durr Dental. Для ендоскопічної інтубації використовувалася жорстка оптика Shenda діаметром 2,7 мм, кутом 30 градусів та довжиною 12 см. Для ларингеальної інтубації використовували Supraglottic Airway Device V-gel for rabbits.

Для статистичної обробки та фіксації даних використовували Excel та програмне забезпечення Stata V.13 (Stata).

Дослідження проводилось на спонтанно захворілих пацієнтах, що надходили у клініку для проведення оперативних втручань відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), які узгоджуються з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986).), відповідають Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження» та Директиві 2010/63/ЄС «Про захист тварин, які використовуються в наукових цілях».

Власні дослідження. За досліджуваний період з 2019 по 2022 роки на базі ветеринарних клінік “ЕкоЦентр” (м. Харків), “ЕкоЦентр Локес” (м. Полтава) за даними амбулаторного журналу було зареєстровано 16858 первинних звернень власників. З яких 5803 були собаками (34,4%), 6127 – котами (36,3%), а 4928 – представниками гризунів, зайцеподібних та інших екзотичних тварин (29,3%). З останніх саме кролики склали 23,8%, представлених 1174 тваринами, що корелює світовій тенденції утримання цих тварин, як