

of which they can be effectively used. The mechanism of the effect of MSC in organism is not fully understood, but it is assumed that they modulate immune responses through a lot of mechanisms, engage in direct interaction with damaged cells, secrete paracrine factors that enter the intercellular fluid, blood, differentiates into cells of damaged tissues. In the literature, we found a small number of data about the morphological characteristics of MSCs of different species of animals (Maciel et al. 2014, Hoogduijn et al. 2013, Grzesiak et al. 2011 ). Therefore, the aim of our work was to study the morphological and functional characteristics of MSCs at different stages of cultivation. The studies were conducted on 2-3-months-old males of C57BL/6 mice weighing 20-24 g. Obtaining and cultivating of mesenchymal stem cells (MSCs) were carried out in a sterile laminar box with compliance of conditions of asepsis and antiseptics (Mazurkevych A.I. et al. 2014). MSCs of the 2, 4, 7 and 12 passages were analyzed. Morphometric analysis was performed using a light microscopy. Morphometric parameters such as cell and nucleus area or nuclear-cytoplasmic ratio (NCR) were calculated using the Axiovision light microscope (Carl Zeiss, Germany) and Image J 1.45 software. Trypan blue dye used for investigation of the viability of MSC. The morphological features of cells during cultivation changes: at first cells have a spindle-like shape with two long cytoplasmic processes, located bipolar. In later passages, cells have a significant number of cytoplasm processes, bipolar arrangement of processes changes to stellar. The morphometric indices of the cells during cultivation do not remain stable. The nucleus area on the 2nd passage was  $154,44 \pm 6,23$  and on the 7th passage –  $142,43 \pm 5,05 \mu\text{m}^2$  and does not change significant during the cultivation to 7th passage. At the 12th passage it is significantly lowered compared to passage 2nd and was  $123,11 \pm 10,507 \mu\text{m}^2$  ( $p < 0,05$ ),  $\eta^2_{\chi} = 0,70$  ( $p < 0,05$ ). In contrast, the cells area has increased significantly since the 4th passage and was  $853,78 \pm 36,71$  ( $p < 0,05$ ), on the 7th passage –  $993,11 \pm 36,17$  ( $p < 0,001$ ), on the 12th –  $2304,40 \pm 280,12 \mu\text{m}^2$  ( $p < 0,001$ ). This, accordingly, leads to a significant decrease of the NCR at the 4 th passage by 12,9 % ( $p \leq 0,05$ ), at the 7th passage – by 35,3 % ( $p < 0,001$ ), at the 12 passage – by 76,6 % ( $p < 0,001$ ) compared to passage 2nd. Consequently, the NCR during cultivating of MSC is reduced due to an increase of the area of the cell cytoplasm, which coincides with the morphological characteristics of MSCs at different passages. The proliferative activity of the MSC of the bone marrow during cultivation significantly decreases at the later passages. It was on the 7th passage  $2,31 \pm 0,2$  ( $p < 0,05$ ), on the 12th –  $2,1 \pm 0,28$  ( $p < 0,05$ ) compared to passage 2nd.

## **ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ НА ПРОЦЕССЫ ПИЩЕВАРЕНИЯ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ**

**Л.М. Степченко**

*Днепровский государственный аграрно-экономический университет, г. Днепр, Украина, stepchenko2@gmail.com*

Известно, что биологически активные гуминовые вещества, выделяемые из торфа, характеризуются высокой полифункциональной активностью. Использование гуминовых веществ в рационе высокопродуктивной птицы обеспечивает увеличение количества и качества биологических продуктов с одной стороны, а с другой – активизирует механизмы природной резистентности их организма. Существуют различные взгляды на механизм участия гуминовых соединений в процессах метаболизма в организме продуктивных животных. Однако, анализ влияния этих веществ на процессы внешнего начального этапа обмена веществ – пищеварения – практически не проводился. В экспериментах исследовалось влияние гуминовых веществ на организм цыплят бройлерного типа, кур-несушек, страусов путём введения в их основной рацион кормовых добавок гуминовой природы «Гумилид», и «Гидрогумат». Вся экспериментальная часть исследований проводилась в условиях ферм и птицефабрик. При этом всех подопытных животных делили на группы (контрольные и опытные). В экспериментальных группах у животных исследовали показатели, которые характеризуют процессы пищеварения после введения в рационы продуктивной птицы кормовых добавок гуминовой природы. Эксперименты показали, что включение в рацион кормовых добавок гуминовой природы без изменения их питательности обеспечивает повышение активности амиллитических и протеолитических пищеварительных ферментов химуса и слизистой оболочки экстрактов двенадцатиперстной и других отделов тонкого кишечника у цыплят-бройлеров, страусов и кур-несушек. Кроме того, гуминовые добавки активно влияют на выработку пищеварительных

ферментов секреторними клетками піджелудочної залози. Ети процеси супроводжуються активністю усвоєння продуктів гідроліза субстратів корма, котрі переходять во внутрішню середу організму. В результаті, в кишечнику відбувається зміна програм регулювання за рахунок гуїнових речовин і їх фрагментів, а також продуктів гідроліза компонентів корма. Використання в годженні продуктивних тварин таких доданків гуїнової природи, як Гідрогумат, Гумінат, Гумілід і ГСВД, забезпечує підвищення фізіологічної регенерації структурних компонентів органів травлення, в першу чергу, дванадцятипалої і других кишків, а також піджелудочної залози і печінки. Етот факт підтверджується достовірним збільшенням якісних і кількісних характеристик морфологічних маркерів ферментативної і метаболічної активності у тварин експериментальних груп.

## **FUNCTIONAL ACTIVITY OF BONE MARROW DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS ON DIFERENT PASSAGE OF CULTIVATION IN VITRO**

**L.V. Kladnytska, A.I. Mazurkevych, M.O. Maluk, V.A. Tomchuk, L.V. Garmanchuk, S.V. Velychko, V.B. Danilov, V.V. Kovpak, Y. O. Kharkevych, R.R. Bokotko, D. V. Shelest, V.S. Velychko, I.A. Stupak**

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, kladlarisa@ukr.net*

In our previous studies, we determined that in the process of cultivation there are changes in the morphometric indices of mesenchymal stem cells: cell area, nucleus area, nuclear cytoplasmic ratio. Moreover, we have researched that the expression of membrane, cytoplasmic and nuclear proteins of MSC is changing during cultivation in vitro (Kladnytska et al. 2017). Literature data also indicate a change in the phenotype of MSCs during cultivation (Maciel et al. 2014). The purpose of our studies was to determine the viability and apoptosis of MSCs for cultivation in serum-deprivation medium. The studies were conducted on 2-3-month-old males of C57BL/6 mice weighing 20-24 g. Obtaining and cultivating of mesenchymal stem cells (MSCs) were carried out in a sterile laminar box with compliance of conditions of asepsis and antiseptics (Mazurkevych A.I. et al. 2014). MSCs of the 2, 4, 7 and 12 passages were analyzed. Cells counting was performed using a light-optical microscope in Goryaevs camera. Calculation of the cell proliferation index was carried out according to commonly accepted methods. Trypan blue dye used for investigation of the viability of MSC. Evaluation of the level of apoptosis of MSC caused by their cultivation in serum-free medium. MSC at 2, 4, 7 and 12 passages were seeded in a quantity of  $2 \times 10^3$  cells in wells of a 96-well plate, and cultivated during 72 hours in a serum-free medium. Apoptotic cells were revealed by using a trypan blue dye. During cultivation of the primary material from the bone marrow unequal proliferative activity and rate of cell monolayer formation at different passages were recorded. Formation of the monolayer depends on many soluble factors, in particular from those that synthesize cells themselves in the culture medium. During cultivation coefficient of proliferation was  $2,86 \pm 0,01$  at the 2 passage,  $2,74 \pm 0,30$  at the 4 passage, significantly decreased at the 7 passage to  $2,31 \pm 0,2$  ( $p \leq 0,05$ ) and to  $2,1 \pm 0,2$  ( $p \leq 0,05$ ) at the 12 passage. The viability of cells in during cultivation also significantly decreased. It was  $95,33 \pm 1,55$  at the 2 passage,  $96,33 \pm 1,36$  at the 4 passage, significantly decreased at the 7 passage to  $88,33 \pm 1,94$  ( $p \leq 0,05$ ) and to  $86,33 \pm 1,94$  % ( $p \leq 0,05$ ) at the 12 passage. Indicator of serum deprivation-induced apoptosis significantly increased. It was  $14,0 \pm 1,74$  at the 2 passage,  $19,0 \pm 0,58$  at the 4 passage, significantly decreased at the 7 passage to  $20,67 \pm 1,55$  ( $p \leq 0,05$ ) and to  $22,67 \pm 1,55$  % ( $p \leq 0,05$ ) at the 12 passage. Thus, the indicated changes in viability, proliferative activity, and apoptosis of cells in culture during cultivation indicate a decrease in functional status due to cell aging.

## **СТАН ІМУНІТЕТУ В ОРГАНІЗМІ КУРЕЙ ЗА ВПЛИВУ МІНЕРАЛЬНИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН**

**О. М. Терещенко, О. В. Білоконь, В. О. Трокоз, В. І. Карповський**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, e-mail: elena.light1993@gmail.com*

Активність імунної системи організму залежить від ряду факторів. З одного боку, вона зумовлена генетичними та віковими характеристиками організму, а з іншого – умовами середовища та