

Вакуленко О.В.

студентка,

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Навчально науковий центр «Інститут біології»

ВИЗНАЧЕННЯ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ ЕКСПЛАНТІВ ПЛАЦЕНТИ ЛЮДИНИ ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ

Плацента – це орган, що забезпечує постійний метаболічний зв'язок між організмом матері та плодом у внутрішньоутробний період. Порушення її функціонування призводить до патологій вагітності, затримки росту та дефектів розвитку дитини, а також ускладнень з боку материнського організму [1, 2, 4]. Перспективною модельною системою для вивчення плаценти є експланти. Експланти – це шматочки живої тканини, взяті з організму та поміщені в штучне поживне середовище. Так як клітинні лінії є однорідними популяціями клітин, то застосування експлантів більш наближене до умов *in vivo*, оскільки в останніх зберігається анатомічний зв'язок між клітинами та міжклітинний матрикс власне тієї тканини, з якої їх було взято. На відміну від культури клітин, культивування експлантів забезпечує одночасний вплив створених умов інкубації на клітини різних типів у складі цілісного фрагмента тканини.

Досі немає спільної думки, за яких умов оксигенації краще культивувати експланти. Розвиток плода починається у стані зниженої кількості кисню. Вже на другому триместрі його потреби в кисні збільшуються. Таким чином фізіологічна концентрація кисню в плаценті варіює з часом. Це ускладнює визначення оптимальних умов для експлантів. З іншого боку,

досліди з експлантами проводяться за умов *in vitro*, де відсутній гемоглобін, а транспорт газів відбувається лише за рахунок пасивної дифузії. Потребує перевірки гіпотеза про те, що підвищена концентрація кисню в атмосфері при культивуванні компенсує складнощі оксигенації *in vitro*.

Кисень є критично важливим на всіх етапах розвитку плода. Він виступає регулятором процесів ангіогенезу та інвазії трофобласту. В першому триместрі вагітності позаворсинковий трофобласт розростається у напрямку децидуальної оболонки, закупорюючи спіральні артерії матки. Це обмежує надходження крові в міжворсинковий простір та зумовлює низький вміст кисню в середовищі. Природні механізми влаштовані так, що нестача кисню запускає відповідь клітини через гіпоксіє-індуковані фактори (HIFs – транскрипційні факторів, які здатні реагувати на зміни кількості доступного кисню в клітинному оточенні). Вони активуються при зменшенні кількості кисню, а при довготривалій гіпоксії беруть участь у васкуляризації плаценти, одночасно стимулюючи диференціацію трофобласту. Рівень експресії HIFs опосередковано ілюструє стан насичення киснем або гіпоксію [2].

У ході дослідження застосувалися методи: культивування експлантів в атмосфері з різним вмістом кисню (21% O₂ або з 8% O₂) і 5% CO₂ при 37 °C, визначення лактатдегідрогеназної активності в середовищі інкубації, виділення тотальної РНК, оцінка її цілісності, синтез кДНК, а також полімеразно-ланцюгова реакція у реальному часі з праймерами до гену *HIF-2α* групи *HIFs*.

Результати: рівень експресії *HIF-2α* у транспортованій плаценті найбільший, оскільки ця тканина перед заморожуванням перебувала певний період часу на льоду в

герметичному контейнері (власне шлях транспортування від пологового будинку) (рис 1). Експланти, прокультивовані за 8% O₂, також демонструють підвищений вміст гіпоксія-індукованого фактору. Експресії *HIF-2α* в контролі, тобто «свіжої» плаценти, більше відповідають експланти, культивовані з 21%O₂.

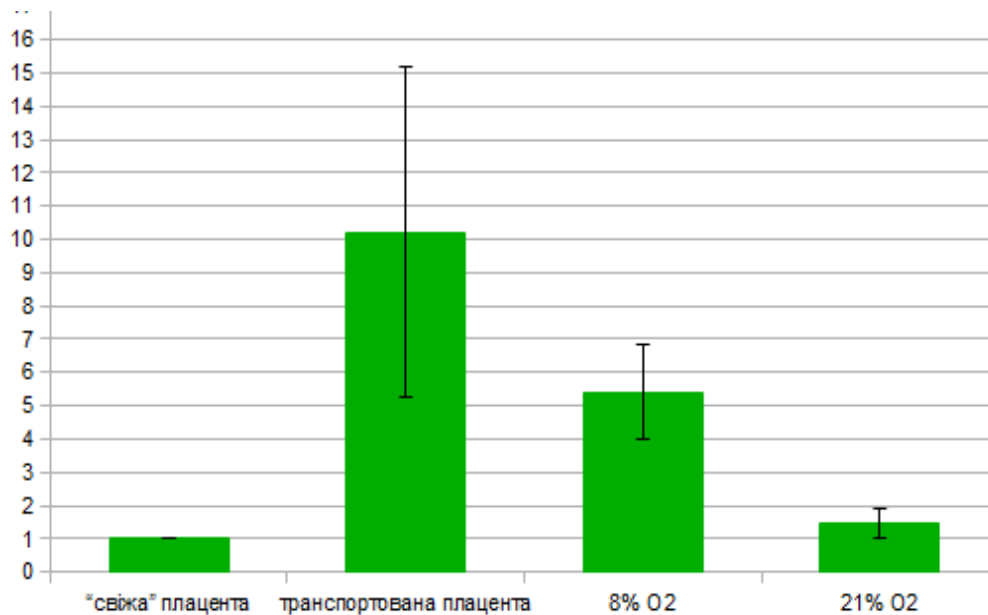


Рис. 1. Експресія *HIF-2α* за ПЛР у реальному часі при культивуванні за 8% та 21%O₂ [5]

Подальші дослідження спрямовуватимуться на використанні експлантів для дослідження фолатзалежного метаболізму у плаценті людини.

Список використаних джерел:

1. Graham J. Burton. Oxygen, the Janus gas; its effect on human placental development and function // *Journal of anatomy*. 2009. – 27-35 с.
2. Patel J, Landers K, Mortimer RH, Richard K. Regulation of hypoxia inducible factors (HIF) in hypoxia and normoxia during placental development // *Placenta*. 2010. – 951-957 с.
3. Heazell AE, Lacey HA, et al. Effects of oxygen on cell turnover and expression of regulators of apoptosis in human placental trophoblast // *Placenta*. 2008. – 175–186 с.

4. Tuuli MG, Longtine MS, Nelson DM. Review: oxygen and trophoblast biology – A source of controversy // Placenta, 2011. – 109-118 с.

5. Вакуленко О. Підбір оптимального рівня оксигенації при культивуванні експлантів плаценти людини // Київ, 2013. – 34 с.

Клименко А.С.

студент;

Хоменко О.М.

кандидат біологічних наук, доцент,

Дніпропетровський національний університет

імені Олеся Гончара

Руденко А.І.

кандидат біологічних наук,

Інститут гастроентерології

Академії медичних наук України

ЗМІНИ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В УМОВАХ НАДЛИШКУ ОКСИДУ АЗОТУ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ

Визначено вплив надлишку NO в організмі щурів на ферментативну активність підшлункової залози. При введенні нітропрусиду натрію концентрація трипсина та α – амілази у другій групі збільшується майже в 2 рази, з подальшим зниженням цих показників.

Епідеміологічні дані з різних регіонів світу свідчать про значну частоту захворювань підшлункової залози у населення. В даний час серед захворювань підшлункової