

EFFECT OF MESENCHYMAL STEM CELLS IN REPARATIVE OSTEOGENESIS IN ANIMALS

M. O. Maluyk, M. A. Kulida, A. S. Serdyukov, A. V. Bogoslavets

Abstract. Investigated correlation structure of bone and regenerate fibrinous in rabbits during treatment with allogeneic mesenchymal bone marrow stem cells to correct reparative process in the tissue of animals.

Found that the experimental group of animals regeneration of bone in the defect area occurred much faster and better than animals in the control group. These are the facts: regenerate a large area compared to animals in the control group; more pronounced development periosteum compared to animals in the control group; greater intensity of calcium deposits compared to animals in the control group; no pathological changes (histiocytic infiltration of fibrous connective tissue, vascular congestion) than animals in the control group.

Keywords: mesenchymal stem cells, bone regenerate

УДК 576.31: 611.018.26.013

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ КУЛЬТУРИ КЛІТИН ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ НА РАННІХ ПАСАЖАХ

А. Й. МАЗУРКЕВИЧ, доктор ветеринарних наук, професор кафедри фізіології, патофізіології та імунології тварин

В. В. КОВПАК, кандидат ветеринарних наук, докторант*¹

О. С. КОВПАК, аспірант**

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: alex88-87@yandex.ru

Анотація. Жирова тканина – альтернативне джерело стовбурових клітин дорослого організму. Однак отримання необхідної кількості клітинного матеріалу можливе лише за тривалого культивування *in vitro*. Тому необхідним етапом перед трансплантацією є дослідження стабільності культури клітин та оцінка ризиків неопластичної трансформації клітин.

Культуру клітин жирової тканини отримували з підшкірної жирової клітковини нелінійних щурів віком 4 місяці. Для проведення цитогенетичного аналізу використовували клітини, отримані з культури першого-шостого пасажів. У дослідженні враховували

© А. Й. МАЗУРКЕВИЧ, В. В. КОВПАК, О. С. КОВПАК, 2017

1* Науковий консультант – доктор ветеринарних наук, професор А. Й. Мазуркевич

** Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор А. Й. Мазуркевич

кількість клітин зі зміненим каріотипом, клітини з мікроядрами, двоядерні клітини та клітини в стані апоптозу, враховували мітотичний індекс.

У процесі дослідження нами виявлено зміни у генетичному апараті клітин, що проявлялись у вигляді анеуплоїдій, поліплоїдій, а також наявності мікроядер, кількість яких змінювалась залежно від пасажу. Однак мінливість каріотипу, клітин, отриманих з жирової тканини щурів, упродовж всього часу культивування не перевищувала спонтанного рівня мутацій, характерного для даного виду тварин.

Отримані дані генетичної стабільності культури клітин жирової тканини за всіма досліджуваними показниками знаходяться в межах норми, характерної для ссавців, що дозволяє подальше дослідження трансплантації з мінімальним ризиком неопластичної трансформації вказаної культури.

Ключові слова: цитогенетичний аналіз, мікроядерний тест, культура клітин жирової тканини

Актуальність. Можливості клітинних технологій в регенеративній медицині все більше приваблюють не тільки спеціалістів в області молекулярної біології і генної інженерії, а і практикуючих лікарів різних спеціальностей. Процедура отримання культур клітин достатньо затратна, але все ж головним обмеженням широкого впровадження клітинної терапії є її безпечність та етична складова.

Проте серед великої кількості джерел отримання культури клітин останнім часом все більшу цікавість становлять культури клітин, отримані із жирової тканини, завдяки відносній простоті отримання донорського матеріалу.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Тривалий час функції жирової тканини розглядалися лише в якості ізоляції та захисту внутрішніх органів. Проте це повноцінний ендокринний орган, який включає у себе різні види клітин [5]. Стовбурові клітини, що містяться у жировій тканині, мультипотентні. Вони здатні диференціюватися у різноманітні клітинні лінії, у тому числі жирову, кісткову, хрящову, нервову тканини, ендотелій [6] і клітини печінки [8]. Все вищезазначене, у поєднанні з відносною простотою отримання, свідчить про високий потенціал жирової тканини в якості найбільш важливого джерела стовбурових клітин дорослого організму. Однак сучасна практика запровадження клітинної терапії вимагає кропіткого експертного аналізу вихідного матеріалу, ретельної деталізації кожного з етапів застосування клітин, відстеження подальшої долі останніх *in vitro* або *in vivo*, що і було частково покладено в основу наших досліджень.

Мета роботи – дослідити зміни у каріотипі культури клітин жирової тканини на ранніх пасажах. Оцінити стабільність отриманої культури.

Матеріали і методи дослідження. Експерименти на тваринах були проведені з дотриманням вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (ст. 230 від 2006 року). У досліді використали 3

самців не лінійних щурів віком 4 місяці. Евтаназію дослідних тварин здійснювали шляхом декапітації під ефірним наркозом. Культуру клітин виділяли з підшкірної жирової клітковини. Отримання культури клітин жирової тканини здійснювали за стандартною методикою [7] у власній модифікації. Культивування проводили у стандартному культуральному середовищі: 80% – DMEM; 20% – FBS; 10 мкл/см³ – антибіотика-антимікотика (“Sigma”, США) (рис.1); у CO² інкубаторі за 37 °C та 5% концентрації CO₂ [2], 14 днів до утворення моношару (рис. 2). Клітини знімали за стандартною методикою (розчином 0,25% трипсин/ЕДТА) [2]. Подальше пасажування здійснювалось у розведенні 1:3. Мікроскопічний аналіз і оцінку культури здійснювали за допомогою інвертованого мікроскопа Axiovert 40 (Карл Цейс). Цитогенетичний аналіз проводили на 30 метафазних пластинках культури клітин підшлункової залози щура з кожного пасажу. Дослідження проводили на клітинах першого-шостого пасажів. Для отримання препаратів хромосом використовували модифікацію стандартного цитогенетичного методу [2].

Отримані препарати забарвлювали за допомогою набору для фарбування (лейкоциф 200), згідно інструкції виробника. Аналіз метафазних пластинок здійснювали за допомогою мікроскопа Leica DMR (Німеччина), збільшення $\times 400$, $\times 1000$. У підготовлених вище зазначеним способом препаратах виявляли кількісні порушення хромосом – анеуплоїдію (А), поліплоїдію (ПП), а також підраховували кількість двоядерних клітин (ДЯ), клітин з мікроядрами (МЯ), мітотичний індекс (відсоток клітини в стадії поділу від загальної кількості проаналізованих клітин (MI), апоптозні клітини (АП) [1]. Препарати забарвлювали за допомогою набору для фарбування (лейкоциф 200) згідно інструкції виробника. Частоту прояву ДЯ, МЯ та АП вираховували на 500 клітин (%).

Результати досліджень та їх обговорення. Аналіз каріотипу культури клітин, отриманої з жирової тканини щурів у процесі їх культивування, показав, що для них характерні кількісні порушення (анеуплоїдія та поліплоїдія). Результати досліджень зміни кількості хромосомних порушень приведено у таблиці 1 та на рис. 1.

1. Результати цитогенетичного аналізу культури клітин жирової тканини щурів I – VI пасажів, $M \pm m$, $n = 3$

№ пасажу	Клітини з нормальним каріотипом, %	Анеуплоїдія, %	Поліплоїдія, %
I	90,0 \pm 0,0	4,4 \pm 1,3	5,6 \pm 1,3
II	92,3 \pm 1,3*	4,4 \pm 1,3	3,3 \pm 2,0
III	94,4 \pm 1,3*	5,6 \pm 1,3	0,0 \pm 0,0*
IV	94,4 \pm 1,3*	5,6 \pm 1,3	0,0 \pm 0,0*
V	93,3 \pm 0,0***	6,7 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0*
VI	87,8 \pm 1,3	12,2 \pm 1,3*	0,0 \pm 0,0*

Примітка: *- $P < 0,05$; **- $P < 0,01$; ***- $P < 0,001$, порівняно з контролем (контролем виступав перший пасаж)

Появу анеуплоїдних клітин (рис.1, б) відмічали з першого до шостого пасажу у кількості від 4,4% до 12,2%. Цитогенетичну мінливість (анеуплоїдію) в основному становили клітини, каріотип яких дорівнював ($2n = 38$) хромосом. Кількість прояву анеуплоїдій незначно зростав з першого (4,4%) до п'ятого (6,7%) пасажу. Ватро зазначити, що на шостому пасажі відмічали різке достовірне збільшення кількості клітин з анеуплоїдією до 12,2%. Вказані зміни можуть бути пояснені тим, що під час культивування відбувається нагромадженням генетичних помилок [4], що і відмічалось нами під час пасажуваннями з піком на шостому пасажі. Варто відмітити, що дане явище у культурі клітин *in vitro* індукує запрограмовану смерть, що підтверджується змінами кількості клітин у стані апоптозу (табл. 2). В той же час отримані нами показники не перевищували спонтанного рівня соматичного мутагенезу, характерного для лімфоцитів ссавців.

Кратне збільшення числа хромосом (поліплоїдія) проявилось у популяції клітин на першому (5,6%) та другому пасажах (3,3%) (рис. 1, в), за подальшого пасажування поліплоїдій не відмічали (табл. 1.). Поліплоїдії можуть спричинятися відхиленням від нормального ходу мітозу, а також внаслідок злиття двох клітин, що більш характерно саме для культур клітин. Проте, під час дослідження культури клітин жирової тканини на перших пасажах ми відмічали велику кількість двоядерних клітин (2,9% – I; 2,5% – II пасаж) та високий мітотичний індекс (4,3% – I; 4,1% – II пасаж) (табл. 2.). Це наводить на думку, що виявленні поліплоїдії на перших пасажах зумовлені високою швидкістю поділу, що призвело до збільшення кількості клітин у процесі цитокінезу. Варто зазначити, що отриманий нами результат був нижчим спонтанної хромосомної мінливості для ссавців (6-15%) [3].

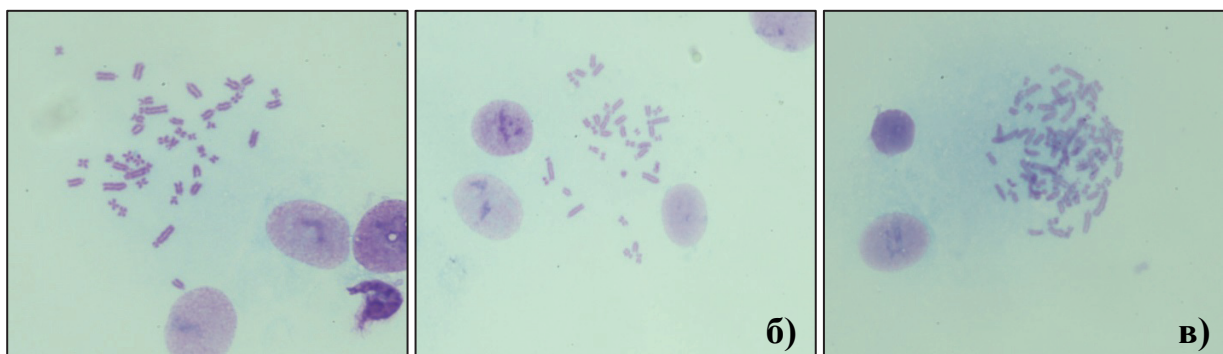


Рис. 1. Мікрофотографії метафазних пластинок культури клітин жирової тканини щура (1 пасаж), забарвлення Лейкодиф 200. Зб. $\times 1000$: а) нормальний каріотип, $n = 42$; б) анеуплоїдія, $n = 38$; в) поліплоїдія, $n = 84$.

Для оцінки цитогенетичних змін культури клітин жирової тканини щурів був проведений мікроядерний тест (табл. 2) та рис. 2

Як відомо, мікроядра утворюються в результаті порушення веретена поділу, що призводить до нерозходження чи відставання в розходженні хромосом до полюсів клітини. До складу мікроядра (рис. 2, а)

можуть входити як окремі цілі хромосоми, так і їх фрагменти. Вони є патологічною структурою і їх утворення пов'язано з хромосомною нестабільністю.

2. Результати мікроядерного тесту культури клітин жирової тканини щурів на ранніх пасажах культивування, $M \pm m$, $n = 3$

№ пасажу	Клітини з нормальним ядром, %	Клітини з мікроядрами, %	Двоядерні клітини, %	Апоптоз, %	Мітотичний індекс, %
I	96,9 ± 0,2	0,1 ± 0,1	2,9 ± 0,2	0,1 ± 0,1	4,3 ± 0,2
II	97,3 ± 0,3	0,1 ± 0,1	2,5 ± 0,3	0,1 ± 0,1	4,1 ± 0,1
III	97,6 ± 0,1*	0,3 ± 0,1	1,9 ± 0,1**	0,2 ± 0,0	3,6 ± 0,1*
IV	97,7 ± 0,1*	0,3 ± 0,1	1,7 ± 0,1**	0,3 ± 0,1	3,5 ± 0,1*
V	97,9 ± 0,1**	0,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1**	0,3 ± 0,1	3,4 ± 0,1*
VI	96,5 ± 0,2	1,0 ± 0,1**	1,1 ± 0,1**	1,4 ± 0,1***	2,0 ± 0,1***

Примітка: *- $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$, порівняно з контролем (контролем виступав перший пасаж)

Результати, наведені у таблиці 2, свідчать про наявність мікроядер на всіх пасажах. При цьому, на шостому пасажі відмічали достовірне збільшення їх кількості, що корелює з показниками анеуплоїдій, вказаними у табл. 1. Відсоток клітин з мікроядрами, виявлений нами в процесі дослідження, знаходився в межах норми для ссавців (1,6-5,6%) [3].

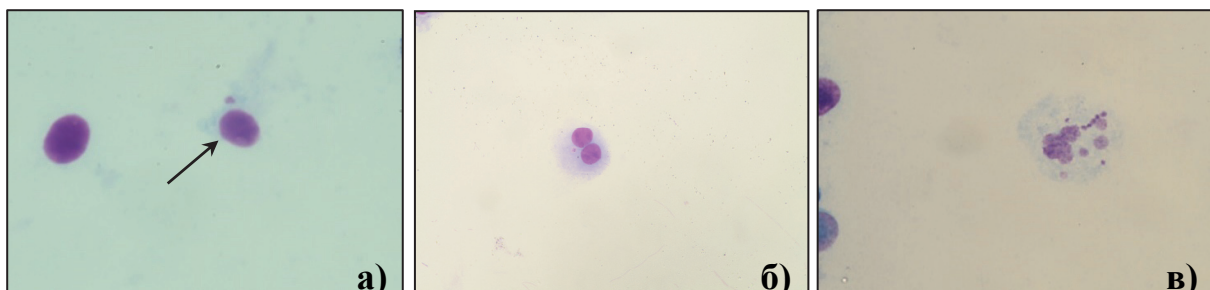


Рис. 2. Мікрофотографії клітин зі змінами у ядрі (6 пасаж), забарвлення Лейкоциф 200. Зб. $\times 1000$: а) клітина з; б) двоядерна клітина, в) клітина в стані апоптозу

Одночасно нами відмічалось достовірне зменшення кількості двоядерних клітин (рис. 2, б) у культурі клітин жирової тканини щура з першого до шостого пасажу, що може бути пояснене зменшенням кількості поділів клітин за одиницю часу. Кількість двоядерних клітин протягом всього часу дослідження не перевищувала спонтанної мутації характерної для ссавців (5,4%) [3].

Мітотичний індекс в процесі культивування достовірно знижувався з першого (4,3%) до шостого (2,0%) пасажу. Норма для ссавців становить 2,9-4,1% [3].

Під час дослідження були виявлені клітини у стані апоптозу (рис. 2, в), кількість яких не значно зростала до 5 пасажу (0,1% – I; 0,3% – V пасаж) з подальшим різким достовірним збільшенням на 6 пасажі (1,4%).

Все частіше питання стабільності та безпечності піднімається у наукових колах. Варто зазначити, що більшість дослідників спрямувало свою увагу на мезенхімальні стовбурові клітини, отримані з кісткового мозку. Проте дані, що оприлюднені у різних джерелах кардинально розділилися. Miura M., 2005 стверджував, що нестабільність генома може призвести до спонтанної іморталізації та злоякісної трансформації культури клітин, у той час як Rubio D., 2005 та Mareschi K., 2006 вказують на відсутність генетичних помилок у культурі клітин *in vitro* за культивування до 2 місяців. Група авторів на чолі з Izadpanah R., 2008 описують відсутність неопластичного ефекту у імунодифіцитних мишей у разі введення культури клітин на ранніх етапах культивування, навіть за зміненого каріотипу. Проте основна маса дослідників сходиться на тому, що злоякісна трансформація можлива за тривалого культивування клітин. Результати їх досліджень показують взаємозв'язок кількості клітин зі зміненим каріотипом та часу культивування. Ватро відмітити, що не останню роль у підтриманні стабільності культури клітин відіграють джерело отримання, умови культивування, ензимна обробка культури клітин тощо.

Отримані нами дані щодо хромосомної стабільності культури клітин жирової тканини перевершують з даними інших авторів щодо зростання кількості клітин з порушеним каріотипом зі збільшенням часу культивування. Проте, згідно наших досліджень, культура клітин жирової тканини I-VI пасажів за досліджуваними показниками не виходить за межі, характерні для спонтанного мутагенезу лімфоцитів *in vivo*.

Висновки і перспективи подальших досліджень. Аналіз каріотипу культури клітин жирової тканини щурів показав, що за використаних нами умов їх культивування, кількість анеуплоїдій та поліплоїдій змінюється з кожним пасажем, але не виходить за межі спонтанного мутагенезу, характерного для ссавців.

За результатами цитогенетичної оцінки культури встановлено, що кількість клітин з мікроядрами, двоядерних клітин та клітин у стані апоптозу знаходиться у межах норми з першого до шостого пасажу.

Отримані дані дозволяють подальші дослідження з трансплантації культури клітин жирової тканини з мінімальним ризиком неопластичної трансформації.

Список використаних джерел

1. Использование микроядерного теста для оценки эффективности лечения аллергии у детей: метод. рекомендации / сост.: Т. С. Колмакова, С. Н. Белик, Е. В. Моргуль, А. В. Севрюков. – Ростов на Дону: Изд-во РостГМУ, 2013. – 31 с.
2. Мазуркевич, А. Й. Клітинні технології у ветеринарній медицині: навч. посібн. / А. Й. Мазуркевич, В. В. Ковпак, В. Б. Данілов. – К.: КОМПРИНТ, 2014. – 132 с.
3. Микроядерный тест как метод определения сезонной изменчивости цитогенетических показателей у млекопитающих / О. Ковалёва, Н. Кобозева, Е. Бурдо, Т. Глазко // Рарітетна теріофауна та її охорона. Праці Теріологічної школи. – Луганськ. – 2008. – №9, – С. 266-269.

4. Мушкамбаров, Н. Н. Молекулярная биология: учебное пособие для студентов медицинских вузов / Н. Н. Мушкамбаров, С. Л. Кузнецов. – М.:ООО «Медицинское информационное агентство», 2013. – 544 с.
5. Урбанович, А. М. Гормоны жирової тканини та їх клінічне значення / А. М. Урбанович // Endokrynologia, 2013. – Vol.18. – №1. – P. 69-72.
6. Clonal analysis of the differentiation potential of human adipose-derived adult stem cells./ F. Guilak, K. E. Lott, H. A. Awad, et al. // J. Cell Physiol., 2006. – №206. – P.229–237.
7. Ian Freshney R. Culture of animal cells: a manual of basic technique / R. Ian Freshney. – [5th ed.] - USA: John Wiley & Sons, 2005. – 642 p.
8. Differentiated human adipose-derived stem cells exhibit hepatogenic capability in vitro and in vivo. / J. C. Ruiz , J. W. Ludlow, S. Sherwood, et al. // J Cell Phys., 2010. – №225. – P.429–436.

References

1. Kolmakowa, T. C., Belik, C. N., Morgul', E. W., & Cewrjukow, A. W. (2013). Icpol'sowanie mikrojadernogo tecta dlja ozenki jevvektivnosti letschenija allergii u detej: metod. rekomendazii. [Using the micronucleus test to assess the effectiveness of the treatment of allergies in children: guidelines]. Roctow na Donu. Isd-wo RoctGMU [in Russian].
2. Masurkewitsch, A. J., Kowpak, W. W., & Danilow, W. B. (2014). Klitinni tehnologiji u weterinarnij medizini. Nawtschal'nij pocibnik. [Cellular technologies in veterinary medicine. Study Guide]. Kyev : KOMPRINT [in Ukrainian].
3. Kovaljowa, O., Koboseva, N., Burdo, E., & Glasko, T. (2008). Mikrojadernyj tect kak metod opredelenija cesonnoj ismentschiwocti zitogenetitscheckich pokasatelej u mlekopetajushich [Micronucleus test as a method of determining the seasonal variability of cytogenetic indices in of mammals]. Raritetna teriovauna ta ii ochorona – Rare fauna and its protection, 9, 266-269 [in Ukrainian].
4. Muschkambarow, N. N., & Kusnezow, C. L. (2013). Molekuljarnaja biologija.Utschebnoe pocobie dlja ctudentow medizinkich wusow [Molecular biology. Textbook for medical students]. Moscow : Medizinkoe invormazionnoe agentctwo [in Russian].
5. Urbanovych, A. M. (2013) Hormony zhyrovoyi tkanyny ta yikh klinichne znachennya [Hormones of adipose tissue and their clinical significance] Endokrynologia, 18, 1,69-72 [in Russian].
6. Guilak, F., Lott, K. E., Awad, H. A., et al. (2006) Clonal analysis of the differentiation potential of human adipose-derived adult stem cellsJ. Cell Physiol., 206, 229–237.
7. Ian Freshney, R. (2005) Culture of animal cells: a manual of basic technique [5th ed.]. USA: John Wiley & Sons.
8. Ruiz, J. C., Ludlow, J. W., Sherwood S., et al.(2010) Differentiated human adipose-derived stem cells exhibit hepatogenic capability in vitro and in vivo. J Cell Phys., 225, 429–436.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ КРЫС НА РАННИХ ПАССАЖАХ

А. И. Мазуркевич, В. В.Ковпак, О. С.Ковпак

Аннотация. Жировая ткань – альтернативный источник стволовых клеток взрослого организма. Однако получение необходимого количества клеточного материала возможно только при длительном культивировании *in vitro*. Поэтому необходимым этапом перед трансплантацией является исследование стабильности культуры клеток и оценка рисков неопластической трансформации клеток.

Культуру клеток жировой ткани получали из подкожной жировой клетчатки не линейных крыс в возрасте 4 месяца. Для проведения цитогенетического анализа использовали клетки, полученные из культуры первого - шестого пассажей. В исследовании учитывали количество клеток с измененным кариотипом, клетки с микроядрами, двухъядерные клетки и клетки в состоянии апоптоза также вычисляли митотический индекс. В процессе исследования нами выявлены изменения в генетическом аппарате клеток, которые проявлялись в виде анеуплоидий, полиплоидий, а также наличием микроядер, количество которых менялось в зависимости от пассажа. Однако изменчивость кариотипа клеток полученных из жировой ткани крыс в течение всего времени культивирования не превышала спонтанного уровня мутаций, характерного для данного вида животных.

Полученные данные генетической стабильности культуры клеток жировой ткани по всем исследуемым показателям находятся в пределах нормы, характерной для млекопитающих, что позволяет проводить дальнейшее исследование по трансплантации с минимальным риском неопластической трансформации указанной культуры.

Ключевые слова: цитогенетический анализ, микроядерный тест, культура клеток жировой ткани

CYTOGENETIC ANALYSIS OF ADIPOSE TISSUE CULTURE IN RATS AT EARLY PASSAGES

A. I. Mazurkevich, V. V. Kovpak, O. S. Kovpak

Abstract. Opportunities offered by cell-based technologies in regenerative medicine become more and more appealing not only to experts in molecular biology and genetic engineering but also various medical practitioners. Procedure for obtaining cell cultures is costly, and yet the primary obstacle to cell therapy implementation on a wide scale is its safety and ethical issues. Adipose tissue is an alternative source of adult stem cells. However, a required quantity of cell material may be obtained only through long-term *in vitro* cultivation. That is why before transplantation it is necessary to study stability of cell culture and to assess risks of neoplastic transformation of cells. Adipose tissue culture was obtained from subcutaneous fat of outbred rats 4 months old. Cells obtained from passage one to passage six culture were used for cytogenetic analysis. The study was performed taking into account number of cells with abnormal karyotype, cells with micronuclei, binuclear cells and apoptotic cells, and included mitotic count. In the course of the study we have discovered abnormalities in the genetic apparatus of the cells

manifesting themselves in the form of aneuploidy, polyploidy and micronuclei, the number of which varied depending on the passage. However, throughout the cultivation period mutability of the karyotype obtained from adipose tissue of rats did not exceed spontaneous level of mutations typical for this animal species.

According to all studied parameters data concerning genetic stability of adipose tissue culture are within normal range typical for mammals permitting further study of transplantation with minimum risk of neoplastic transformation of the above culture.

Keywords: cytogenetic analysis, micronucleus test, adipose tissue culture

УДК 619:612.11:617.71:636.1

ПОКАЗНИКИ КЛІТИННИХ ТА ГУМОРАЛЬНИХ ФАКТОРІВ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ОРГАНІЗМУ КОНЕЙ ЗА РІЗНОГО ПЕРЕБІГУ УВЕЇТУ

А. О. МЕЖЕНСЬКИЙ, кандидат ветеринарних наук,
старший науковий співробітник лабораторії, доцент
**Державний науково-дослідний інститут з лабораторної
діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи**
E-mail: mezhaavet@gmail.com

Анотація. Через значне поширення у коней увеїтів вивчення їх патогенезу, розробка методів патогенетично обґрунтованого лікування мають важливе практичне значення та є актуальною проблемою сьогодення.

Метою роботи є дослідження показників клітинних та гуморальних факторів неспецифічної резистентності організму клінічно здорових коней і хворих на гострий, підгострий та хронічний увеїт. У 10 тварин з кожної групи визначали бактерицидну (БАСК) і лізоцимну (ЛАСК) активність сироватки крові, фагоцитарну активність нейтрофілів (ФА), фагоцитарний індекс (ФІ) та коефіцієнт завершеності фагоцитозу (КЗФ) загальноприйнятими методами. Встановлено, що у клінічно здорових коней всі досліджувані показники знаходилися у межах референтних значень. За гострого увеїту в коней розвився дисбаланс клітинних та гуморальних факторів неспецифічної резистентності організму, що проявлялося вірогідним зниженням БАСК та ЛАСК разом із підвищенням ФА та збільшенням ФІ. При цьому фагоцитарна реакція була завершеною. За підгострого та хронічного увеїту ступінь дисбалансу клітинних і гуморальних факторів неспецифічної резистентності організму коней посилювалася, що проявлялося вірогідним пригніченням БАСК, ЛАСК, ФА і зниженням ФІ та призводило до незавершеності фагоцитарної

© А. О. МЕЖЕНСЬКИЙ, 2017