

5. Пастух М. Б. Ультраструктурні зміни МЦР в сім'яниках пацюків при хронічній алкогольній інтоксикації та після корегуючої кровотік операції / М.Б. Пастух // Актуальні питання морфогенезу. Чернівці. – 1996. – С. 236-237.
6. Пархоменко Ю. М. Характерные метаболические нарушения в тканях крыс вызванные длительным приемом алкоголя / Ю.М. Пархоменко, Г.В. Донченко, С.Ю. Пилипчук // Укр. біохім. журнал. - 2007. Т. 79, №3. – С. 62-68.
7. Халло О. Є. Морфо-функціональна характеристика передміхурової залози і яєчка у чоловіків репродуктивного віку після герніопластики / О.Є. Халло // Галицький лікарський вісник. – 2011. - №2. – С. 121-123.

**Реферати****ГИСТО-И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЯИЧКЕ КРЫС ИЗ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ****Грицуляк Б.В., Грицуляк В.Б., Пастух М.Б., Долинко Н.П.**

Исследованы гисто- и ультраструктурные изменения в яичке 36 лабораторных крыс в условиях развития хронической алкогольной интоксикации. Установлено нарушение ультраструктуры стенки гемокapилляров, собственной оболочки извитых семенных трубочек, поддерживающих эпителиоцитов и интерстициальных эндокриноцитов с достоверным уменьшением количества развивающихся половых клеток.

**Ключевые слова:** яичко, этанол, извитые семенные трубочки.

Стаття надійшла 07.03.2014 р.

**HISTO- AND ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN RAT TESTES IN CASE OF CHRONIC ALCOHOLIC INTOXICATION****Hrytsuliak B.V., Hrytsuliak V.B., Pastukh M., Dolynko N.**

Histo- and ultrastructural changes in testes among 36 laboratory rats with chronic alcoholic intoxication have been examined. It has been established destruction of ultrastructure of blood vessels wall, proper tunic of the convoluted seminiferous tubules, supportive epithelial cells, interstitial cells, with marked decrease in numbers of developing gametal cells.

**Key words:** testis, ethanol, the convoluted seminiferous tubules.

Рецензент Шепітько В.І.

УДК 617-001.4-092.9:611.018.46.013:577.366

**Ю. А. Дёмин, А. В. Пивненко, М. Ю. Дёмина, Н. Г. Скоробогатова, Ю. А. Петренко**  
Харьковская медицинская академия последипломного образования, Институт криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

**ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК МЕЧЕНЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМ КРАСИТЕЛЕМ В ДЕСТРУКТИВНО ИЗМЕНЕННОЙ РОГОВИЦЕ КРОЛИКА**

Приведены результаты применения кМСК при экспериментальной травме роговицы. Изучена возможность маркирования кМСК красителем DiOC-18. Прослежено распределение меченых кМСК в поврежденной роговице после введения в зону лимба. Показано преимущество использования DiOC-18 для изучения миграции кМСК в поврежденной ткани.

**Ключевые слова:** флуоресцентная метка, травма роговицы, мезенхимальные стромальные клетки.

*Работа является фрагментом НДР «Экспериментально-клиническое обоснование клеточной терапии при сосудистой и воспалительной патологии органа зрения» (номер госрегистрации 0106U003994).*

Применение криоконсервированных мезенхимальных стволовых клеток (кМСК) для лечения травматических повреждений и дистрофических заболеваний роговицы является инновационным методом в современной офтальмологии. Введенные в организм стволовые клетки остаются жизнеспособными и выполняют заместительную функцию в патологическом очаге [1, 2, 3, 5]. Огромное количество экспериментальных исследований посвящено изучению распределения введенных клеток в патологическом очаге и в организме в целом.

Для этого использовались различные способы суправитального окрашивания. Однако, многие из них обладают рядом недостатков. Красители токсичны для клеток и не позволяют проследить за их судьбой продолжительное время, не обеспечивают распределение сигнала достаточной интенсивности, непрочно связываются с клеткой или предполагают сложную технологию введения красителя в клетку (с помощью липосом), не исключается возможность быстрой элиминации красителя из клетки, возможное проникновение красителя в ядро клетки [7].

В настоящее время широкое распространение приобрела флуоресцентная микроскопия, использующая метод флуоресцентных зондов [4, 6]. Использование флуоресцентного зонда позволяет оценить и проследить за миграцией и распределением клеток в длительные временные промежутки, что является важным моментом для изучения процессов регенерации в патологическом очаге. При использовании флуоресцентного зонда 3,3'-diocadecyloxa carbocyanine bromide (DiOC-18) краситель окрашивает только мембрану клетки, сохраняя ее целостность, что является основным моментом для сохранения внутриклеточных структур [4]. Краситель DiOC-18 связывается с липидным компонентом клеточной мембраны не повреждая структуру клетки [4, 7]. Технический эффект суправитального окрашивания клетки раствором красителя DiOC-18 заключается в том, что мы получаем флуоресцентно

окрашенные клетки, которые сохраняют свои функции в течении двух-трех недель и высокий уровень флуоресценции *in vitro* и *in vivo*.

**Целью** работы было изучение флуоресценции клеток меченных DiOC-18 в тканях патологически измененной роговицы, учитывая положительные особенности флуоресцентного красителя DiOC-18 и необходимость изучения распределения введенных кМСК в тканях.

**Материал и методы исследования.** В экспериментальной группе животных была выполнена модель травмы роговицы по методике «роговичный тест». Путем 2х кратных инстилляций препарата Алкаин 0.5% была обеспечена эпибульбарная анестезия, затем при помощи трепана диаметром 8 мм был сформирован травматический дефект роговицы на глубину до 2/3 стромы. Остатки ткани в пределах насечки удалены при помощи хирургического пинцета и расслаивателя. Окраска исследуемых клеток осуществлялась добавлением в питательную среду с кМСК флуоресцентного карбоцианового красителя DiOC-18 синтезированного в Институте Монокристаллов НАН Украины. Через 24 часа производили инъекцию препарата с кМСК непосредственно в зону лимба роговицы (гидрирование роговицы). Гидрирование производилось в 8 точках равномерно по периметру роговой оболочки. Контроль осуществляли на 3, 7, 14 сутки после введения меченых клеток.

Наличие флуоресцентного красителя в образцах ткани определяли с помощью инвертированного конфокального лазерного сканирующего микроскопа Zeiss LSM 510 META (Carl Zeiss, Германия).

**Результаты исследования и их обсуждение.** На 3е сутки в образцах роговицы в зоне лимба определялось интенсивное свечение клеток в местах введения препарата. В зоне повреждения глубоких слоев определялось незначительное количество флуоресцирующих объектов. Светящиеся объекты преимущественно локализовались в бороздках наружного слоя стромы роговицы полученных при механическом удалении эпителия (рис 1). На 7е сутки в зоне лимба свечение объектов было менее выражено, по сравнению с 3ми сутками, однако в области глубокого повреждения стромы роговицы определялась более интенсивная флуоресценция. Также единичные участки флуоресценции определялись на плоскостной поверхности вне зоны бороздок (рис 2). На 14 е сутки в зоне лимба определялись светящиеся объекты. Их количество было сопоставимо с показателями на 7е сутки. Зоны глубоких повреждений не определялись. Флуоресцирующие клетки были равномерно распределены по всей поверхности роговицы (рис 3).

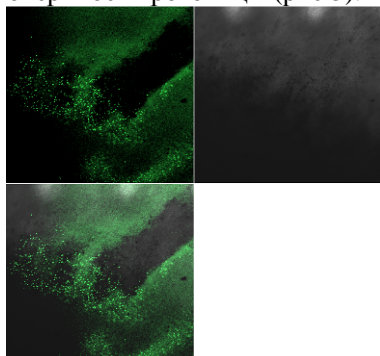


Рис 1 Конфокальное изображение роговицы с моделированной травмой 3 сутки. Гидрирование. Об 10х.

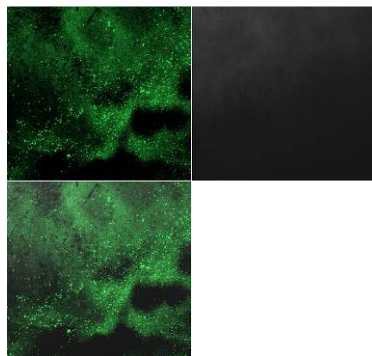


Рис 2 Конфокальное изображение роговицы 7 сутки. Гидрирование. Об 10х.

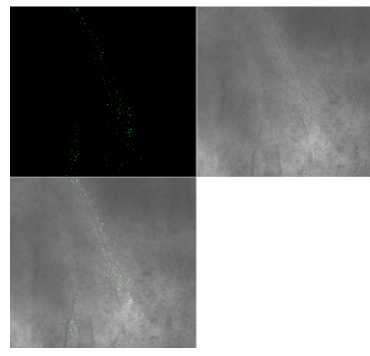


Рис 3 Конфокальное изображение роговицы с моделированной травмой 14 сутки. Гидрирование. Об 10х.

Полученные результаты позволяют предположить, что определяемая флуоресценция напрямую обусловлена распределением введенных клеток в зоне патологического очага, при этом характерна специфичность в распределении клеток в различные временные промежутки. В раннем периоде репарации при массивном дефекте поверхностных слоев роговицы, введенные клетки распределяются в зоне их введения, обуславливая интенсивность флуоресценции. В результате репаративной (заместительной) регенерации наблюдается перераспределение и изменение интенсивности свечения, что, по всей видимости, обусловлено делением и миграцией клеток по поврежденной поверхности роговицы. В результате активно протекающих репаративных процессов в роговой оболочке изменяется и характер флуоресценции. Светящиеся объекты равномерно распределены по поверхности, обуславливая равномерную флуоресценцию.

#### Заключение

Таким образом, краситель DiOC-18 может быть использован для маркирования кМСК, поскольку обеспечивает достаточно длительную флуоресценцию меченых клеток. Также возможно предположить, что кМСК принимают непосредственное участие в восстановлении поврежденных структур роговицы, активно мигрируют в патологический очаг, выполняя заместительную репаративную функцию.

**Перспективи дальніших досліджень.** В подальших дослідженнях планується вивчення особливостей розподілу мечених кМСК при експериментальній дистрофії роговиці.

#### Список литературы

1. Грищенко В. І. Клітина і тканина терапія: сучасне і майбутнє / В. І. Грищенко // Трансплантологія. – 2000. – Т. 1, № 1. – С. 15-17.
2. Грищенко В.І. Трансплантація продуктів ембріо-фетоплацентарного комплексу. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения / В.І. Грищенко, А.Н. Гольцев // Пробл. криобиологии. – 2002. – № 1. – С. 54-85.
3. Говоруха Т. П. Структурная характеристика плаценты после инкубации с ДМСО / Т. П. Говоруха, Н. В. Репин, О. М. Щупиков // Пробл. криобиологии. – 2003. – № 2. – С. 91-97.
4. Грищенко В. І. Криоконсервирование стволовых клеток / В.І. Грищенко, А. Н. Гольцев, Е. А. Щегельская [и др.] // Достижения биологии и медицины. – 2006. – №1 (7). – С. 4-9.
5. Кухарчук А. П. Стволовые клетки: Эксперимент, теория, клиника. КРС / А. П. Кухарчук, В. В. Радченко, В. М. Сирман // Мед. Технологии. – Киев, - 2004. – С. 246-325.
6. Пятикоп В. А. Восстановление структурно-функциональных параметров у крыс с криогенной травмой головного мозга, индуцированных в нейробласты / В. А. Пятикоп, Е. А. Щегельская, Ю. Е. Микулинский [и др.] // Пробл. криобиологии. – 2005. – Т. 15, № 3. – С. 449-451
7. Пат. 13724 Україна, МПК С12N5/08. Спосіб одержання суправітально забарвлених клітин різних типів біологічних тканин / (І.А. Боровой) Ю.В. Малюкин, В.П. Семиноженко, Е.А. Щегельская, Ю.Е. Микулинский, Ю.А. Демин, В.А. Пятикоп, (UA). – № 13724; Заяв.: 17.10.2005; Опубл.: 17.04.2006, Бюл. № 4. – 4 с

#### Реферати

#### ВИВЧЕННЯ РОЗПОДІЛУ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН МІЧЕНИХ ФЛУОРЕСЦЕНТНИМИ БАРВНИКАМИ У ДЕСТРУКТИВНО ЗМІНЕНІЙ РОГІВКИ КРОЛИКА

Дьомін Ю. А., Півненко А. В.,

Дьоміна М. Ю., Скоробогатова Н. Г., Петренко Ю. А.

Наведені результати застосування кМСК при експериментальній травмі роговиці. Вивчена можливість маркування кМСК барвником DiOC-18. Простежений розподіл мічених кМСК в ушкодженій роговиці після введення в зону лімба. Показана перевага використання DiOC-18 для вивчення міграції кМСК в ушкодженій тканині.

**Ключові слова:** флуоресцентна мітка, травма рогівки, мезенхімальні стромальні клітини.

Стаття надійшла 05.02.2014р.

#### STUDY OF DISTRIBUTION CRYOPRESERVED MESENCHYMAL STROMAL CELLS LABELED WITH FLUORESCENT DYES IN DESTRUCTIVE CHANGES RABBIT CORNEA

Demin A., Pivnenko A.V.,

Yu Demin M., Skorobogatov N.G., Petrenko A.

The results of application of cryopreserved MSC are resulted at the experimental trauma of cornea. Possibility of marking of MSC is studied with dye DiOC-18. Distributing of marked cryopreserved MSC is traced in the damaged cornea after introduction to the area of limb. Advantage of the use DiOC-18 is retined for the study of migration of cryopreserved MSC in the damaged tissue.

**Key words:** fluorescent tag, corneal trauma, mesenchymal stromal cells.

Рецензент Шепітько В.І.

УДК 615.218.2-085:577.15

С. Р. Исмоилов, Д. Ш. Каримова, Н. М. Ахмедова, Б. Ибатуллаев  
Ургенчский филиал Ташкентской медицинской академии, г. Ургенч

#### НАРУШЕНИЕ НОРМАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА КРЫС НА ФОНЕ ПИЩЕВОЙ АНАФИЛАКСИИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ

В опытах на белых крысах на фоне экспериментальной модели пищевой анафилаксии наблюдались в заметной степени дисбиотические нарушения в нормальной микрофлоре тонкого и толстого кишечника. Фенкарол и задитен, введенные с лечебной целью после анафилаксии, оказывали заметное корригирующее действие на отмеченные нарушения. Выявлено, что по лечебному эффекту фенкарол незначительно превосходит задитен. Но, они не смогут в достаточной степени восстановить наблюдаемые нарушения в кишечной микрофлоре, вызванные анафилаксией

**Ключевые слова:** пищевая анафилаксия, микрофлора кишечника, фенкарол, задитен.

Работа является фрагментом НИР «Изучение влияния нейролептиков, транквилизаторов и антигистаминных средств на активность гидролитических ферментов тонкого кишечника и поджелудочной железы в норме и при некоторых патологических состояниях», номер госрегистрации 01910006234.

Известно, что при различных аллергических заболеваниях организма происходит изменение состояния разных органов и систем, а пищеварительный тракт относится именно к таким системам. Вследствие имеющегося соприкосновения большей площади желудочно-кишечного тракта с внешней средой ее слизистая оболочка образует микробиологическую систему, состоящую из множества видов микроорганизмов. Кишечная микрофлора из-за своего антагонистического свойства не только защищает организм от воздействия патогенных и условно-патогенных бактерий, но и широко участвует в синтезе витаминов, в ферментативных процессах, в обмене веществ и в обеспечении иммунобиологической активности. Поэтому, изменения этой системы могут привести к нарушению обмена веществ, к дефициту микронутриентов, как минералы, витамины и микроэлементы, и к снижению иммунологического статуса организма [6, 7]. Как известно, в повседневной практике для профилактики и лечения аллергических