

зультатами молекулярно-генетичного обстеження. МГК розглядається як особливий вид інтерперсональних відносин, що мають бути зосереджені на індивідуальних психологічних особливостях пацієнта та членів його родини.

Ключові слова: медико-генетичне консультування, етика.

Резюме

Бичкова Г.М. *Этические ориентиры медико-генетического консультирования.*

В работе приведены размышления об этических аспектах медико-генетического консультирования (МГК), его видах и особенностях в сравнении с другими видами консультирования. Обсуждаются вопросы уместности проведения генетического тестирования семейным парам при планировании рождения ребенка. Освещаются проблемы проведения МГК по результатам молекулярно-генетического обследования. МГК рассматривается как особый вид интерперсональных взаимоотношений, которые должны быть сосредоточены на индивидуальных психологических особенностях пациента и членов его семьи.

Ключевые слова: медико-генетическое консультирование, этика.

Resume

Bichkova G.M. *Ethical reference points of the medical genetic consultation.*

Reflections about aspects of medical genetic consultation (MGC), it's kinds and features comparatively with other kinds of counseling are presented in this work. Questions of the aptness of the genetical testing to couples before giving birth to a child are discussed. Problems of carrying out of MGC on results of molecular genetical investigation are dealing with. MGC is considering as a special kind of interpersonal attitudes, which have be concentrated on psychological peculiarities of patient and his family members.

Key words: medical genetic consultation, ethics.

Рецензент: д.біол.н., проф. С.М. Федченко

УДК: 617-001.4-092.9:611.018.46.013:577.366

ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЕЧЕНЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМ КРАСИТЕЛЕМ В ДЕСТРУКТИВНО ИЗМЕНЕННОЙ РОГОВИЦЕ КРОЛИКА

**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

Вступление

Применение мезенхимальных стволовых клеток (МСК) 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 [3,4,5].

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 достаточно сложную технологию введения красителя в клетку (с помощью липосом), не исключается возможность быстрой элиминации красителя из клетки, возможное проникновение красителя в ядро клетки [1].

В настоящее время широкое распространение приобрела

флуоресцентная микроскопия, использующая метод флуоресцентных зондов [2,6].

Использование флуоресцентного зонда позволяет оценить и проследить за миграцией и распределением клеток в длительные временные промежутки, что является важным моментом для изучения скорости и активности процессов регенерации в патологическом очаге.

При использовании флуоресцентного зонда DIOC-18 краситель окрашивает только мембрану клетки, сохраняя ее целостность, что является основным моментом для сохранения внутриклеточных структур [1].

Краситель DIOC-18 связывается с липидным компонентом клеточной мембраны не повреждая структуру клетки [1,7].

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 нашего исследования явилось изучение флуоресценции клеток, меченных DDC, в тканях патологически измененной роговицы кролика, учитывая положительные особенности флуоресцентного красителя DDC и необходимость изучения распределения введенных МСК в тканях.

Материалы и методы исследования

В экспериментальной группе животных была выполнена модель травмы роговицы по методике "роговичный тест". Путем 2-х кратных инстилляций препарата алкаин 0,5% была обеспечена эпibuльбарная 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. При проведении экспериментальных исследований животные находились в стандартных условиях согласно с нормами и принципами Директивы Совета ЕС по вопросам защиты хребтных животных, которых используют для экспериментальных и других научных целей.

Окраска исследуемых клеток осуществлялась добавлением в питательную среду с культивированными МСК флуоресцентного карбоцианового красителя DIOC-18, синтезированного в Институте Монокристаллов НАН Украины.

Через 24 часа производили инъекцию препарата с МСК непосредственно в зону лимба роговицы кролика (гидрирование роговицы). Гидрирование производилось в 6 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).

Полученные результаты и их обсуждение

На 3-и 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.

На 7-е сутки в зоне лимба свечение объектов было менее выражено, по сравнению с 3-ми сутками, однако в области глубокого повреждения стромы роговицы определялась более интенсивная флуоресценция. Единичные участки флуоресценции определялись также на плоскостной поверхности вне зоны бороздок.

На 14-е сутки в зоне лимба определялись светящиеся объекты. Их количество было сопоставимо с показателями на 7-е сутки. Зоны глубоких повреждений не определялись. Флуоресцирующие клетки были равномерно распределены по всей поверхности роговицы.

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.

Таким образом, краситель DDC может быть использован для маркирования МСК, поскольку обеспечивает достаточно длительную флуоресценцию меченых клеток. Возможно также предположить, что МСК принимают непосредственное участие в восстановлении поврежденных структур роговицы, активно мигрируют в патологический очаг, выполняя заместительную репаративную функцию.

Выводы

1. Определяемая флуоресценция напрямую обусловлена распределением введенных клеток в зоне патологического очага, при этом характерна специфичность в распределении клеток в различные временные промежутки.

2. В раннем периоде репарации при массивном дефекте поверхностных слоев роговицы кролика, введенные клетки распределяются в зоне их введения, обуславливая интенсивность флуоресценции.

3. В результате репаративной (заместительной) регенерации наблюдается перераспределение и изменение интенсивности свечения, а также изменяется и характер флуоресценции.

4. Таким образом, краситель DDC может быть использован для маркирования МСК, поскольку обеспечивает достаточно длительную флуоресценцию меченых клеток.

5. В дальнейшем считаем перспективным изучить непосред-

ственное участие МСК в восстановлении поврежденных структур роговицы, их миграцию в патологический очаг и возможность выполнения ними заместительной репаративной функции.

Литература

1. Пат. 13724 Україна, МПК⁶ C12N5/08. Спосіб одержання суправітально забарвлених клітин різних типів біологічних тканин / И.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.

2. Говоруха Т.П. Структурная характеристика плаценты после инкубации с ДМСО / Т.П. Говоруха, Н.В. Репин, О.М. Щупиков // Проблемы криобиологии. - 2003. - № 2. - С. 91-97.

3. Криоконсервирование стволовых клеток / В.И. Грищенко, А.Н. Гольцев, Е.А. Щегельская [и др.] // Достижения биологии и медицины. - 2006. - №1 (7). - С. 4-9

4. Грищенко В.И. Трансплантация продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения / В.И. Грищенко, А.Н. Гольцев // Проблемы криобиологии. - 2002. - № 1. - С. 54-85.

5. Грищенко В.І. Клітина і тканина терапія: сучасне і майбутнє / В.І. Грищенко // Трансплантологія. - 2000. - Т. 1, № 1. - С. 15-17.

6. Кухарчук А.П. Стволовые клетки: Эксперимент, теория, клиника. КРС / А.П. Кухарчук, В.В. Радченко, В.М. Сирман. - Киев: Мед. технологии, 2004. - С. 246-325.

7. 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.] // Проблемы криобиологии. - 2005. - Т. 15, № 3. - С. 449-451.

Резюме

Демин Ю.А., Пивненко А.В., Деміна М.Ю., Скоробогатова-Н.Г., Петренко Ю.А. *Изучение распределения мезенхимальных стволовых клеток меченых флуоресцентным красителем в деструктивно измененной роговице кролика.*

Приведены результаты применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) при экспериментальной травме роговицы. Изучена возможность маркирования МСК красителем DIOC-18. Прослежено распределение меченых МСК в поврежденной роговице после введения в зону лимба. Показано преимущество использования DIOC-18 для изучения миграции МСК в поврежденной ткани.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, травма роговицы, краситель DIOC-18.

Резюме

Дьомін Ю.А., Півненко А.В., Дьоміна М.Ю., Скоробогатова Н.Г., Петренко Ю.А. *Вивчення розподілу мезенхімальних стовбурних клітин мічених флуоресцентним фарбником в деструктивно зміненій роговиці кролика.*

Наведені результати застосування мезенхімальних стовбурних клітин (МСК) при експериментальній травмі роговиці. Вивчена можливість маркування МСК барвником DIOC-18. Простежено розподіл мічених МСК в ушкодженій роговиці після введення в зону лімба. Показана перевага використання DIOC-18 для вивчення міграції МСК в ушкодженій тканині.

Ключові слова: мезенхімальні стовбурні клітини, травма роговиці, барвник DIOC-18.

Summary

Demin Yu.A., Pivnenko A.V., Demina M.Yu., Skorobogatova N.G., Petrenko Yu.A. *Study of distributing of mesenchymal stem cells, marked by fluorescent dye in the destructively changed cornea of rabbit*

The results of application of mesenchymal stem cell (MSC) are resulted at the experimental trauma of cornea. Possibility of marking of MSC is studied with dye DIOS-18. Distributing of marked MSK is traced in the damaged cornea after introduction to the area of limb. Advantage of the use DIOC-18 is rotined for the study of migration of MSC in the damaged tissue.

Key words: mesenchymal stem cells, trauma of cornea, dye DIOS-18.

Рецензент: д.біол.н., проф. С.М. Смірнов

УДК 575.224.6:624.131.26

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ДРУГИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ОБЛУЧЕННЫХ ЛИЦ

Э.А. Демина

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины (Киев)

Щитовидная железа (thyroid gland) - железа внутренней секреции человека, которая вырабатывает и секретирует в кровь тиреоидные гормоны. Морфологическая и функциональная единица щитовидной железы - фолликулы, обладающие выраженной способностью поглощать йод из кровотока и синтезировать в составе специфического белка тиреоглобулина йодсодержащие гормоны тироксин и трийодтиронин. Эти гормоны участвуют в регуляции процессов роста, развития и дифференцировки тканей, повышают интенсивность обмена веществ, усиливая окислительные процессы и теплоизоляцию в тканях, поддерживая на оптимальном уровне энергетические и биосинтетические процессы.

В 1968 г. ЩЖ в отличие от существовавших ранее представлений, признана одним из наиболее радиочувствительных органов [1]. Гиперактивная ЩЖ обладает большей радиочувствительностью. Минимальный уровень доз, обусловивших индукцию рака ЩЖ у взрослых лиц, тотально облученных в Хиросиме и Нагасаки, составил 0,5 Гр. Частота рака ЩЖ увеличивалась соответственно росту дозы по мере приближения к эпицентру взрыва (цит. по [2]).

Радиационно-индуцированные генетические эффекты в гистологически нормальных тканях ЩЖ у больных РЩЖ свидетельствуют о мутационном процессе, который может спровоцировать малигнизацию этих клеток; слабая пролиферация здоровых клеток железы по сравнению с опухолевыми способствует позднему проявлению радиационно-индуцированных повреждений и их аккумуляции. При исследовании жертв атом-