УДК 616.15:616-005.1-036.11-085:[615:549.731.13]

Є.В. Мокляк
ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

СТАН ГЕМАТОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ПРИ КОРЕКЦІЇ ГОСТРОЇ КРОВОВТРАТИ НАНОЧАСТИНКАМИ МАГНЕТИТУ

В експерименті на білих щурах-самцях показано, що при гострій постгеморагічній анемії застосування суспензії наночастинок магнетиту (5-8 нм), одержаних шляхом електронно-променевої технології, у дозі 6,75 мг Fe/кг сприяє нормалізації загальної кількості еритроцитів, гематокриту, гемоглобіну у всі досліджені терміни після крововтрати (3, 24, 72 год та 5 діб) і збільшує насичення еритроцитів гемоглобіном у перші 3 год компенсаторного періоду після вилучення крові.

Ключові слова: наночастинки магнетиту, крововтрата, постгеморагічна анемія, еритроцити, гемоглобін.

Робота є фрагментом НДР «Пошук засобів та біологічно активних речовин з числа похідних 2-оксоіндолу та 3-оксипіридину для фармакокорекції адаптивних процесів при порушеннях гомеостазу різної етіології» (№ державної реєстрації 0111U004879).

Одним із напрямків нанофармакології є дослідження магнітних наночастинок (НЧ), до яких належать НЧ оксидів заліза, зокрема магнетиту (Fe_3O_4) [2,3,7,11,13]. Показано, що на фармакологічні властивості таких НЧ впливає їх розмір, поверхневе покриття та магнітні характеристики [7,9,10]. Вони вводяться в організм парентеральним (внутрішньовенним) або ентеральним (пероральним чи ректальним) шляхами [16]. Фармакодинаміка НЧ магнетиту зумовлена магнітними властивостями та наявністю в їх складі заліза, тому такі НЧ мають протианемічну дію шляхом поповнення загального пулу заліза в організмі, властивість впливати на час релаксації оточуючих протонів, що поліпшує візуалізацію певних структур при магнітно-резонансній томографії, гіпертермічну дію, а також транспортну дію, яка полягає в доставці лікувального агенту до клітин-мішеней шляхом активного таргетингу [15,18]. Властивості НЧ магнетиту визначають їх використання з метою контрастування під час магнітно-резонансної томографії, лікування злоякісних новоутворень та фармакологічної корекції анемічних станів [13,17]. На здатності вивільнених із нанооксидів іонів заліза брати участь у синтезі гемоглобіну грунтується концепція ферумокситолу – нового (і поки-що єдиного в світі) нанопрепарату, спеціально розробленого для лікування пацієнтів на залізодефіцитну анемію [12]. Ферумокситол (Feraheme™, AMAG Pharmaceuticals, USA) – це ін'єкційний протианемічний препарат для дорослих хворих із хронічною нирковою недостатністю та кінцевою стадією захворювання нирок, дозволений до клінічного застосування в США [8,14].

Процес створення лікарського препарату, зокрема аналогічного зазначеному вище ферумокситолу, потребує промислових методів одержання та стандартизації НЧ. Серед численних методів одержання НЧ магнетиту перспективним з точки зору промислового впровадження є електронно-променева технологія у вакуумі, яка дозволяє одержати значні кількості порошкоподібного конденсату НЧ оксиду заліза високої чистоти [4,5]. Ця технологія розвивається в Україні переважаючими темпами і потребує медико-біологічного дослідження одержаних конденсатів.

Метою роботи було вивчити вплив НЧ магнетиту, одержаних шляхом електронно-променевої технології, на основні показники «червоної крові» за умов анемії, викликаної гострою крововтратою.

Матеріал та методи дослідження. Експерименти виконані на 48 білих статевозрілих щурах-самцях. На їх проведення було одержано дозвіл комісії з питань біоетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Гостру крововтрату моделювали шляхом вилучення крові з серця під ефірним наркозом. Кров вилучали в кількості 25% від її циркулюючого об'єму [6]. Відразу після крововтрати тваринам інтраперитонеально вводили суспензію НЧ магнетиту у воді для ін'єкцій у дозі 25 мг/кг маси тіла (6,75 мг Fe/кг). Суспензію НЧ готували ex tempore. Об'єм введеної рідини становив 1 мл. Конденсат НЧ магнетиту (5-8 нм) із вмістом заліза 26,9% був люб'язно наданий ст.н.с., к.тех.н. Ю.А. Кураповим (Інститут електрозварювання ім. Є.О. Патона НАН України). Тваринам з контрольною патологією вводили розчинник у такій же кількості. Тварин виводили з експерименту через 3, 24 та 72 год, а також через 5 діб після гострої крововтрати. У зразках крові із серця тварин вивчали загальну кількість еритроцитів (RBC), гематокрит (Hct), загальний гемоглобін (Hb), середній об'єм еритроциту (MCV), середню концентрацію гемоглобіну в еритроциті (MCHC), середню кількість гемоглобіну в еритроциті (MCH) та ширину кривої розподілу еритроцитів (RDW) [1]. Одержаний матеріал статистично обробляли за допомогою стандартних комп'ютерних програм пакету Microsoft Excel.

Результати дослідження та їх обговорення. Показано, що через 3 год після вилучення крові RBC знижується в 1,2 разу ($p<0,001$) у порівнянні з інтактними тваринами (табл. 1).

© Мокляк Є.В., 2014

Таблиця 1

Вплив наночастинок магнетиту (6,75 мг Fe/кг) на гематологічні показники через 3 год після вилучення крові (M±m)

Показники	Групи тварин		
	Інтактні (8)	Крововтрата (5)	Крововтрата + НЧ магнетиту (5)
RBC, $x10^{12}$/л	7,79±0,20	6,38±0,13*	6,91±0,17*,**
Hb, г/л	136,63±3,69	82,50±3,97*	102,40±3,11*,**
Hct, од.	0,42±0,02	0,32±0,01*	0,36±0,01*,**
MCV, $мкм^3$	54,28±1,22	50,28±0,98*	52,82±1,63
MCH, пг	17,55±0,51	12,90±0,46*	14,80±0,46*,**
MCHC, г/дл	324,13±8,81	256,0±4,37*	281,40±7,08*,**
RDW, %	11,08±0,35	11,15±0,51	10,56±0,32

Примітки. В табл. 1 і наступних: 1. * – p<0,05 у порівнянні з інтактними тваринами (контроль). 2. ** – p<0,05 у порівнянні з тим же терміном після крововтрати без введення наночастинок магнетиту (контрольна патологія).

Hb зменшується в 1,7 разу (p<0,001), а Hct знижується в 1,3 разу (p<0,001). Ці зрушення супроводжуються вірогідним зменшенням середнього об'єму еритроцитів (MCV) (p<0,05). Індекси MCH і MCHC знижуються в 1,4 та 1,3 разу відповідно (p<0,001) у порівнянні з контролем. Змін RDW не відбувається. Застосування НЧ магнетиту підвищує RBC через 3 год після крововтрати в 1,1 разу (p<0,05) у порівнянні з контрольною патологією (табл. 1). Рівень Hb зростає в 1,2 разу (p<0,005), а Hct – на 1,1 разу (p<0,05) порівняно з такими при крововтраті без введення суспензії НЧ. Ці зміни відбуваються на фоні вірогідного зростання еритроцитарних індексів MCH і MCHC (p<0,02) за відсутності істотних змін MCV та RDW. Розвиток контрольної патології через 24 год після вилучення крові характеризується зменшенням RBC в 1,5 разу (p<0,001), Hb – в 1,6 разу (p<0,001), Hct – в 1,5 разу (p<0,001) у порівнянні з контролем (табл. 2). При цьому спостерігається зменшення MCHC (p<0,02) за відсутності суттєвих змін інших еритроцитарних індексів. Корекція гострої постгеморагічної анемії за допомогою НЧ магнетиту підвищує рівень RBC через 24 год після крововтрати в 1,3 рази (p<0,005) у порівнянні з контрольною патологією (табл. 2). Hb зростає в 1,2 разу (p<0,02), Hct збільшується в 1,3 разу (p<0,001) порівняно з аналогічними показниками при крововтраті без фармакологічної корекції. Водночас зменшується насичення еритроцитів гемоглобіном, про що свідчить зниження MCH (p<0,02) і MCHC (p<0,002) у порівнянні з контрольною патологією.

Таблиця 2

Вплив наночастинок магнетиту (6,75 мг Fe/кг) на гематологічні показники через 24 год після вилучення крові (M±m)

Показники	Групи тварин		
	Інтактні (8)	Крововтрата (5)	Крововтрата + НЧ магнетиту (5)
RBC, $x10^{12}$/л	7,79±0,20	5,08±0,10*	6,83±0,41**
Hb, г/л	136,63±3,69	85,0±1,45*	101,0±4,74*,**
Hct, од.	0,42±0,02	0,28±0,01*	0,37±0,02**
MCV, $мкм^3$	54,28±1,22	56,10±1,08	54,10±0,95
MCH, пг	17,55±0,51	16,70±0,38	14,82±0,43**
MCHC, г/дл	324,13±8,81	299,0±1,92*	274,60±5,04*,**
RDW, %	11,08±0,35	10,60±0,30	10,60±0,41

Через 72 год після вилучення крові в організмі щурів зберігаються істотні порушення гематологічних параметрів, а саме: зменшення RBC в 1,4 разу (p<0,001), Hb – в 1,5 разу (p<0,001), Hct – в 1,3 разу (p<0,001) у порівнянні з інтактними тваринами (табл. 3). Відмічається зниження MCH (p<0,02) та MCHC (p<0,01), а також тенденція до підвищення MCV (p<0,1) та до зменшення RDW (p<0,2). Коригуючий вплив НЧ магнетиту в цьому терміні спостережень проявляється збільшенням RBC в 1,1 разу (p<0,01), Hb (p<0,005) та Hct (p<0,01) – в 1,2 разу порівняно з аналогічними показниками при крововтраті без введення НЧ, хоча зазначені параметри ще не досягають нижньої межі умовної норми (табл. 3). При цьому всі еритроцитарні індекси лишаються такими ж, як і при крововтраті без корекції. Через 5 діб після вилучення крові RBC, Hb та Hct лишаються нижчими за показники інтактних тварин, зокрема: RBC нижчий в 1,2 разу (p<0,002), Hb – в 1,4 разу (p<0,001), Hct – в 1,2 разу (p<0,01) (табл. 4). Індекси MCH та MCHC знижені (p<0,005) порівняно з цими показниками в контролі, а індекси MCV та RDW не змінені. Введення НЧ магнетиту сприяє тому, що через 5 діб після вилучення крові RBC перевищує таку за умов контрольної патології в 1,2 разу (p<0,01) і не відрізняється від умовної норми (табл. 4).

Відбувається також нормалізація гемоглобіну, який підвищується в 1,4 рази ($p<0,02$) і досягає рівня контролю. Hct під впливом НЧ магнетиту зростає в 1,2 разу ($p<0,001$) і не відрізняється від такого в інтактних тварин. При цьому еритроцитарні індекси не мають істотних відмінностей від контрольної патології, причому насичення еритроцитів гемоглобіном (за станом індексу MCHC) є вірогідно нижчим за умовну норму. НЧ магнетиту, одержані шляхом електронно-променевої технології у вакуумі, можуть бути диспергувані у водному середовищі і застосовані для корекції гематологічних показників при гострій постгеморагічній анемії, що супроводжується швидким розвитком терапевтичного ефекту (не пізніше 3 год від вилучення крові) та його сталістю протягом 5 діб компенсаторного періоду після крововтрати.

Таблиця 3

Вплив наночастинок магнетиту (6,75 мг Fe/кг) на гематологічні показники через 72 год після вилучення крові (M±m)

Показники	Групи тварин		
	Інтактні (8)	Крововтрата (5)	Крововтрата + НЧ магнетиту (5)
RBC, $x10^{12}$/л	7,79±0,20	5,66±0,12*	6,42±0,16*,**
Hb, г/л	136,63±3,69	90,67±1,02*	105,0±3,02*,**
Hct, од.	0,42±0,02	0,32±0,01*	0,37±0,01*,**
MCV, $мкм^3$	54,28±1,22	56,87±0,32	57,28±1,38
MCH, пг	17,55±0,51	15,97±0,22*	16,30±0,30
MCHC, г/дл	324,13±8,81	282,0±3,35*	285,80±2,20*
RDW, %	11,08±0,35	10,50±0,08	11,48±1,25

Таблиця 4

Вплив наночастинок магнетиту (6,75 мг Fe/кг) на гематологічні показники через 5 діб після вилучення крові (M±m)

Показники	Групи тварин		
	Інтактні (8)	Крововтрата (5)	Крововтрата + НЧ магнетиту (5)
RBC, $x10^{12}$/л	7,79±0,20	6,42±0,24*	7,62±0,23**
Hb, г/л	136,63±3,69	100,75±3,53*	125,60±7,08**
Hct, од.	0,42±0,02	0,35±0,01*	0,43±0,01**
MCV, $мкм^3$	54,28±1,22	54,25±0,68	57,06±1,65
MCH, пг	17,55±0,51	15,65±0,13*	16,48±1,0
MCHC, г/дл	324,13±8,81	289,75±2,76*	288,60±10,04*
RDW, %	11,08±0,35	11,23±0,47	11,26±0,63

Одержані результати вказують на перспективність дослідження таких НЧ оксиду заліза з метою створення на їх основі лікарських препаратів нового покоління.

Висновки

1. Контрольна патологія у вигляді гострої крововтрати з введенням розчинника характеризується зниженням RBC, Hb, Hct у всі терміни спостережень (3 год – 5 діб) та зменшенням індексів MCHC та MCH через 24, 72 год та 5 діб, яке свідчить про розвиток гіпохромії еритроцитів.
2. Застосування суспензії НЧ магнетиту (6,75 мг Fe/кг) при гострій постгеморагічній анемії сприяє нормалізації основних гематологічних показників (RBC, Hct, Hb) у строки від 3 год до 5 діб після крововтрати і збільшує насичення еритроцитів гемоглобіном у перші 3 год від втрати крові.

Перспективи подальших розробок у даному напрямку. *Планується порівняти ефект різних доз та схем введення НЧ магнетиту на стан показників «червоної крові» у тварин з гострою постгеморагічною анемією.*

Список літератури

1. Антонов В.С. Автоматизация гематологического анализа / В.С. Антонов, Н.В. Богомолова, А.С. Волков // Справочник заведующего клинико-диагностической лабораторией. – 2010. – №1.
2. Губин С.П. Наночастицы благородных металлов и материалы на их основе / С.П. Губин, Г.Ю. Юрков, Н.А. Катаева // – М.: ИОНХ РАН, - 2006. – 155 с.
3. Коваленко Л.В. Биологически активные нанопорошки железа / Л.В. Коваленко, Г.Э. Фолманис // – М.: Наука, 2006. – 124 с.
4. Мовчан Б.А. Твердо- и жидкофазные медицинские субстанции с наноразмерной структурой, осаждаемые из паровой фазы в вакууме (електронно-лучевая технология) / Б.А. Мовчан // – Харків, 2011. – С. 130-132.
5. Патон Б.Є. Пат. 92556 Україна, МПК B82B 3/00, C23C 14/24, C23C 14/54. Спосіб одержання наночастинок системи метал-кисень із заданим складом електронно-променевим випаровуванням і конденсацією у вакуумі / Патон Б.Є., Мовчан Б.О., Курапов Ю.А., Яковчук К.Ю. (UA); заявник та патентовласник Астромонт Лімітед (CY). – №a200905985; заявл. 10.06.2009; опубл. 10.11.2010, Бюл. №21/2010.
6. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів / О.В. Стефанов // – К.: Авіцена, - 2001. – 527 с.
7. Чекман І.С. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація : монографія / І.С. Чекман, З.Р. Ульберг, В.О. Маланчук [та ін.] // – К.: Поліграф плюс, - 2012. – 328 с.

8. Balakrishnan V.S. Physicochemical properties of ferumoxytol, a new intravenous iron preparation / V.S. Balakrishnan, M. Rao, A.T. Kausz [et al.] // Eur. J. Clin. Invest. – 2009. – Vol. 39, №6. – P. 489-496.
9. Behrens S. Preparation of functional magnetic nanocomposites and hybrid materials: recent progress and future directions / S. Behrens // Nanoscale. – 2011. –Vol.3. – P. 877-892.
10. Gupta A.K. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications / A.K. Gupta, M. Gupta // Biomaterials. – 2005. – Vol.26, №18. – P. 3995-4021.
11. Laurent S. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations and biological applications / S. Laurent, D. Forge, M. Port [et al.] // Chem. rev. – 2008. – Vol.108. – P. 2064-2110.
12. Macdougall I.C. Current and upcoming erythropoiesis-stimulating agents, iron products, and other novel anemia medications / I.C. Macdougall, M. Ashenden // Adv. Chronic Kidney Dis. – 2009. – Vol.16, №2. – P. 117-130.
13. Petri-Fink A. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): from synthesis to in vivo studies – a summary of the synthesis, characterization, in vitro, and in vivo investigations of SPIONs with particular focus on surface and colloidal properties / A. Petri-Fink, H. Hofmann // IEEE Trans. Nanobioscience. – 2007. – Vol.6, №4. – P. 289-297.
14. Rosner M.H. Ferumoxytol for the treatment of iron deficiency / M.H. Rosner, M. Auerbach // Expert. Rev. Hematol. – 2011. – Vol.4, №4. – P. 399-406.
15. Santhosh P.B. Multifunctional superparamagnetic iron oxide nanoparticles: promising tools in cancer theranostics / P.B. Santhosh, N.P. Ulrih // Cancer Lett. – 2013. – Vol.336, №1. – P. 8-17.
16. Wang J. Pharmacokinetic parameters and tissue distribution of magnetic Fe3O4 nanoparticles in mice / J. Wang, Y. Chen, B. Chen [et al.] // Int. J. Nanomedicine. – 2010. – Vol.21, №5. – P. 861-866.
17. Wang S.Y. Magnetic nanoparticles and thermally responsive polymer for targeted hyperthermia and sustained anti-cancer drug delivery / S.Y. Wang, M.C. Liu, K.A. Kang // Adv. Exp. Med. Biol. – 2013. – Vol.765. – P. 315-321.
18. Zhang L. Multifunctional superparamagnetic iron oxide nanoparticles: design, synthesis and biomedical photonic applications / L. Zhang, W.F. Dong, H.B. Sun // Nanoscale. – 2013. – Vol.5, №17. – P. 7664-7684.

Реферати

СОСТОЯНИЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ КОРРЕКЦИИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРИ НАНОЧАСТИЦАМИ МАГНЕТИТА

Мокляк Е.В.

В эксперименте на белых крысах-самцах показано, что при острой постгеморрагической анемии применение суспензии наночастиц магнетита (5-8 нм), полученных с помощью электронно-лучевой технологии, в дозе 6,75 мг Fe/кг способствует нормализации общего количества эритроцитов, гематокрита, гемоглобина во все сроки исследовапния после кровопотери (3, 24, 72 часа и 5 суток) и увеличивает насыщение эритроцитов гемоглобином в первые 3 часа компенсаторного периода после забора крови.

Ключевые слова: наночастицы магнетита, кровопотеря, постгеморрагическая анемия, эритроциты, гемоглобин.

Стаття надійшла 16.12.2013 р.

STATE OF HAEMATOLOGICAL PARAMETERS IN THE CORRECTION OF ACUTE BLOOD LOSS WITH MAGNETITE NANOPARTICLES

Mokliak Ye.V.

In the experiments in albino male rats it is shown that in acute posthemorrhagic anemia, the use of magnetite nanoparticles suspension (5-8 nm) prepared by electron-ray technology in the dose of 6.75 mg Fe/kg helps to normalize the total red blood cells count, hematocrit and hemoglobin at all terms of observation (3, 24, 72 hours and 5 days after blood loss) and increases the saturation of red blood cells by hemoglobin in the first 3 hours of compensation period after the blood exfusion.

Key words: magnetite nanoparticles, blood loss, posthemorrhagic anemia, red blood cells, hemoglobin.

Рецензент Запорожець Т.М.

УДК 616-001.17-06:616.24-091.8-076]-092.9

З. М. Небесна
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", м. Тернопіль

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ КОМПОНЕНТІВ АЕРОГЕМАТИЧНОГО БАР'ЄРУ У ВІДДАЛЕНІ ТЕРМІНИ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ

В експерименті на білих щурах проведено вивчення субмікроскопічного стану компонентів аерогематичного бар'єру респіраторного відділу легень в стадії пізньої токсемії та септикотоксемії після термічної травми III ступеня. Встановлено, що в пізні терміни після важких опіків відбуваються значні деструктивні зміни ультраструктури компонентів альвеолярної стінки та гемокапілярів.

Ключові слова: аерогематичний бар'єр, ультраструктурні зміни, термічна травма, пізня токсемія.

Робота є фрагментом НДР "Ремоделювання кровоносних русел внутрішніх органів та тканин при різних патологічних станах в експерименті", номер державної реєстрації 0111U008026.

Встановлення патогенезу органів систем організму при термічних травмах до теперішнього часу займає одне з провідних місць як в теоретичній так і практичній медицині. Глибокі, значні за площею опіки призводять не лише до локального пошкодження тканин шкіри, а й супроводжуються

© Небесна З.М., 2014