крыс производилось восстановление целостности нервного ствола с использованием высокочастотной электросварочной технологии с последующим назначением препарата Траумель С в послеоперационном периоде. При изучении регенерационной невромы методом электронной микроскопии установлено позитивное воздействие использования электрохирургического аппарата для восстановления целостности нервного ствола в сочетании с применением фармакологических препаратов в виде ускорения дегенерации и ранней регенерации нервных волокон в месте травмы.

Ключевые слова: электрохирургическая сварочная технология, травмы периферических нервов, Траумель С.

nerve stumps joining using high-frequency electric welding technology with further Traumel C administration. After injured nerve's regenerative neuroma's ultrastructural analysis we estimate positive influence of electrosurgical device application for nerve injuries treatment both with Traumec C administration in postoperative period due to degeneration enhancement and early regeneration promotion at trauma site.

Key words: electrosurgical welding, peripheral nerve injury, Traumel S

Стаття надійшла 6.06.2015 р. Рецензент Геращенко С.Б.

УДК 612.62: 616.155.194: 615.038

А. П. Литвиненко, Т. В. Блашків, Л. С. Резніченко, Т. Ю. Вознесенська, Т. Г. Грузіна
Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, м. Київ, Інститут біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України, м. Київ

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНА АНЕМІЯ: ВПЛИВ СУБСТАНЦІЇ НАНОЧАСТИНОК ЗАЛІЗА НА МЕЙОТИЧНЕ ДОЗРІВАННЯ ООЦИТІВ І СКОРОТЛИВІСТЬ МАТКИ

Досліджували вплив субстанції наночастинок нуль-валентного заліза (Fe0, НЧЗ) на функціональний стан органів репродуктивної системи за умов експериментальної залізодефіцитної анемії у мишей (ЗДА). Встановлено, що за умов ЗДА п'ятикратне внутрішньовенне введення НЧЗ зумовлює покращення якості ооцитів та нормалізує скоротливість овариального і цервікального відділів матки у мишей.

Ключові слова: залізодефіцитна анемія, наночастинки нуль-валентного заліза, ооцити, овариальний та цервікальний відділи матки.

Робота є фрагментом НДР «Дослідження молекулярно-генетичних та імунопатологічних механізмів функціональних порушень жіночої репродуктивної системи та можливості їх корекції» № держреєстрації 0112U008233 та цільової комплексної програми фундаментальних досліджень НАН України «Фундаментальні проблеми наноструктурних систем, наноматеріалів, нанотехнологій» за договором № 119-Н.

Зі швидким розвитком нанотехнологій, наночастинки заліза (НЧЗ) широко використовують у промислових, комерційних і біомедичних областях. Через їх фізико-хімічні властивості, такі як, малий розмір, велика площа поверхні, заряд, структура, різноманітність форм, високу реакційну здатність і супермагнітні властивості, НЧЗ починають використовувати і в якості високоефективних засобів при лікуванні та в діагностиці певних захворювань [4, 5, 10, 11]. Всесвітня організація охорони здоров'я відносить залізодефіцитний стан та залізодефіцитну анемію до десяти основних факторів ризику, які підвищують захворюваність і смертність населення. За оцінками ВООЗ 30% невагітних і більше 42% вагітних жінок страждають анемією [8, 12, 13]. Дефіцит заліза робить організм жінки більш сприйнятливим до інфекційних захворювань, так як залізо бере участь в термінальному окисленні і окисному фосфорилюванні, роботі імунної системи, у синтезі гемоглобіну, впливає на внутрішньоклітинний метаболізм та ін. [1, 6]. Незважаючи на сучасні досягнення медицини, залізодефіцитна анемія (ЗДА) залишається широко розповсюдженою хворобою і може бути причиною порушень репродуктивної функції у жінок.

Для лікування залізодефіцитних станів сьогодні актуальним стає пошук потенційних субстанцій для створення лікарських засобів із застосуванням нанотехнологій. Перспективними в цьому аспекті є наночастинки нуль-валентного заліза (НЧЗ, Fe0) [9]. Fe0 досліджені недостатньо, дані про вплив таких наночастинок на функціональний стан органів репродуктивної системи за умов залізодефіцитної анемії – відсутні.

Метою роботи було дослідити вплив субстанції наночастинок нуль-валентного заліза на функціональний стан органів репродуктивної системи за умов експериментальної ЗДА, а саме на мейотичне дозрівання ооцитів та скоротливість матки у самок мишей.

Матеріал та методи дослідження. Використовували експериментальну субстанцію сферичних наночастинок нуль-валентного заліза із середнім розміром 40 нм, синтезовані в Інституті біоколоїдної хімії ім. Ф.Д.Овчаренка НАН України методом хімічної конденсації у водному середовищі шляхом відновлення хлориду заліза (III). Субстанція НЧЗ охарактеризована

як біобезпечна і біосумісна згідно вимог Методичних рекомендацій «Оцінка безпеки лікарських нанопрепаратів», затверджених Науково-експертною радою Державного експертного центру МОЗ України (протокол №8 від 26.09.2013 р.) [3].

Оскільки НЧЗ володіють магнітними властивостями нами обрано внутрішньовенний спосіб введення для запобігання формування агрегатів даних наночастинок. Як препарат порівняння використано комерційний протианемічний препарат останнього покоління на основі полімальтозного комплексу гідроксиду заліза (III) − «Феррум Лек» («Сандоз», Польща/Словенія).

Досліди проводили з використанням самок мишей лінії BALB/c масою 15–16 г відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, використаних в експериментальних та інших наукових цілях».

Тварин було поділено на 4 групи по 6 тварин у кожній групі: 1 − контрольні тварини (протягом 2 міс отримували стандартну дієту, внутрішньовенно вводили 0,9% р-н NaCl); 2 − експериментальна залізодефіцитна анемія (протягом 2 міс. утримували на залізодефіцитній дієті, внутрішньовенно вводили 0,9% р-н NaCl); 3 − п'ятикратне внутрішньовенне введення НЧЗ (16,8 мг/кг, через день протягом 10 діб після перебування на залізодефіцитній дієті); 4 – десятикратне пероральне введення препарату порівняння «Феррум Лек» («Сандоз», Польща/Словенія, 16,8 мг/кг, щоденно протягом 10 діб після перебування на залізодефіцитній дієті).

Для оцінки мейотичне дозрівання ооцитів in vitro з яєчників мишей виділяли ооцити (без кумулюсних клітин та в складі кумулюсно-ооцитарних клітинних комплексів). Морфологічні дослідження ооцитів проводили під мікроскопом МБС-10. Визначали стан зародкового пухирця; перивітелінового простору та цитоплазми, а саме щільність, ступінь гранульованості, ознаки фрагментації і дегенерації. Ооцити від мишей однієї групи збирали та розподіляли в окремі камери. Усі контрольні і експериментальні ооцити культивували в одинакових умовах (стерильний бокс, камери по 0,4 мл культурального середовища DME з 15 ммоль/л HEPES, концентрація кальцію 1,71 ммоль/л, температура 37 °С, тривалість 20 год). Після 2 год культивування підраховували ооцити (у % до загальної кількості), що перебували на стадії метафази I - розчинення зародкового пухирця, а після 20 год – на стадії метафази II - формування першого полярного тільця.

Для дослідження скоротливості смужки міометрію матки застосовували метод фазно-графічного аналізу [7]. Для реєстрації сили ізометричних скорочень ізольовані смужки оваріального (ОВ) і цервікального (ЦВ) відділів матки переносили в камеру, фіксували і з'єднували із консолею механоелектричного перетворювача сили в електричний сигнал. Камеру перфузували розчином Кребса (37оС, pH 7,29). Силу ізометричних скорочень реєстрували за допомогою швидкодіючого самописця Н3021-3. Рівномірність перфузії забезпечувалась перистальтичним насосом НП-1М. Базова активність реєструвалася протягом 20 хв. Для кількісної характеристики спонтанних фазних скорочень були взяті наступні параметри скоротливості: амплітуда скорочення (мН), частота скорочення (кількість за секунду), тривалість активного стану (с), швидкість скорочення і розслаблення (мН/с); індекс скоротливості розраховували як добуток амплітуди скорочення на відношення швидкості скорочення до швидкості розслаблення (ІС=Fmax*CVmax/RVmax, мН).

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали в програмі GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, USA). Перевірку даних на нормальність розподілу проводили за тестом Колмогорова-Смирнова та порівнювали середні за t критерієм Стьюдента. Дані представлено як M±m (середнє ± стандартна помилка), $p<0,05$ вважалося статистично вірогідним.

Результати дослідження та їх обговорення. Вперше отримано дані про вплив введення субстанції наночастинок заліза на мейотичне дозрівання ооцитів за умов ЗДА (табл. 1).

Встановлено, що п'ятикратне внутрішньовенне введення НЧЗ та десятикратне пероральне введення препарату «Феррум Лек» покращують якість ооцитів, а саме викликають збільшення кількості (%) ооцитів на стадії метафази I (з розчиненим зародковим пухирцем) та на стадії метафаза II (формування першого полярного тільця) у порівнянні з такими у тварин, що утримувалися на залізодефіцитній дієті. Вперше отримано дані про вплив введення НЧЗ Fe0 та препарату «Феррум Лек» на параметри скоротливості ОВ і ЦВ матки за умов ЗДА (рис.1). Встановлено, що п'ятикратне внутрішньовенне введення НЧЗ призводило до зростання параметрів скоротливості в оваріальному відділі – амплітуди і ІС та в ЦВ − амплітуди, ІС та тривалості активного стану (до 6,40±0,48 при 4,70 ±0,37 у мишей із ЗДА, $p<0,05$), порівняно такими величинами у тварин із ЗДА.

Таблиця 1

Вплив введення субстанції наночастинок заліза на мейотичне дозрівання ооцитів за умов експериментальної залізодефіцитної анемії

Група тварин	Метафаза I, %	Метафаза II, %
1. Контроль	78,04 ± 1,98	55,88 ± 3,85
2. ЗДА	49,01 ± 5,44**	15,03 ± 2,48***
3. НЧЗ за умов ЗДА	70,91 ± 1,85#	33,45 ± 3,59##
4. «Феррум Лек» за умов ЗДА	72,64 ± 4,60#	41,16 ± 0,94##

Примітки: ** - p<0,01; *** - p<0,001 - по відношенню до таких величин контролю; #- p<0,05; ## - p<0,01- по відношенню до таких величин у тварин із ЗДА.

За умов ЗДА десятикратне пероральне введення препарату «Феррум Лек» зумовлювало підвищення величин ІС в обох відділах матки, амплітуди лише в ОВ матки и не впливало на величину тривалості активного стану.

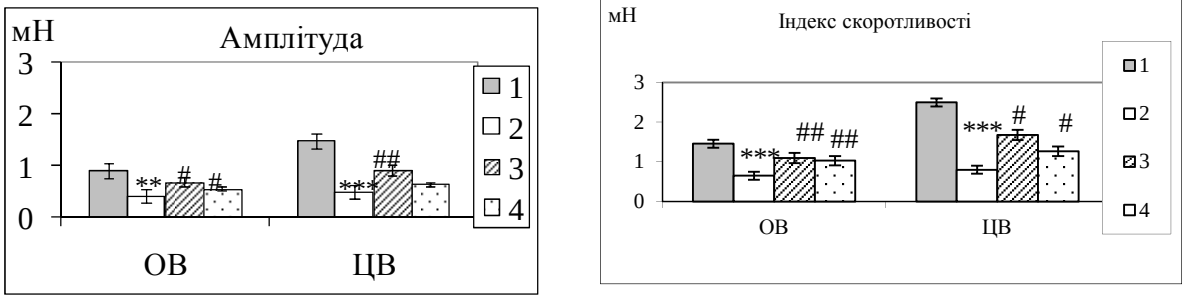

Рис.1. Вплив введення субстанції наночастинок заліза та препарату «Феррум Лек» на амплітуду та індекс скоротливості оваріального (ОВ) і цервікального відділів (ЦВ) матки за умов експериментальної залізодефіцитної анемії. Примітки: умовні позначення груп тварин: 1– контроль; 2 – ЗДА; 3 – НЧЗ за умов ЗДА; 4 − «Феррум Лек» за умов ЗДА; *- p<0,05; ** - p<0,01, *** - p<0,001 − по відношенню до таких величин контролю; #- p<0,05; ##- p<0,01 − по відношенню до таких величин у тварин із ЗДА.

Раніше нами встановлено, що утримування тварин на залізодефіцитній дієті викликає розвиток ЗДА та зумовлює зменшення кількості ооцитів в яєчнику, пригнічення мейотичного дозрівання таких ооцитів in vitro, а також показано, що експериментальна ЗДА викликає пригнічення параметрів скоротливості матки: амплітуди, швидкості скорочення, швидкості розслаблення, індексу скоротливості, тривалості активного стану та не впливає на частоту скорочень [2].

Ми вважаємо, що позитивний ефект НЧЗ на функціональний стан органів репродуктивної системи зумовлений їх впливом на функціональний стан мітохондрій, на виділення активних форм кисню, серед яких оксид азоту, який здатний регулювати іонно-транспортні системи міометрія матки, а також впливати на оогенез, що потребує подальшого детального вияснення.

Отримані результати підтверджують необхідність подальших зусиль спрямованих на створення новітніх лікарських протианемічних препаратів, які будуть покращувати функцію яєчників і матки у вагітних і невагітних жінок з ознаками анемії. Важливо, що субстанція наночастинок нуль-валентного заліза має більший позитивний ефект на параметри скоротливості оваріального і цервікального відділів матки, порівняно з препаратом «Феррум Лек».

Підсумок

За умов експериментальної ЗДА п’ятикратне внутрішньовенне введення субстанції наночастинок нуль-валентного заліза призводить до покращення функціонального стану органів репродуктивної системи: покращує якість ооцитів та параметри скоротливості матки.

Перспективи подальших досліджень *у вивченні можливих механізмів дії наночастинок нуль-валентного заліза на ооцити та міометрій матки у дослідах in vitro.*

Список літератури

1. Zaporozhan V. M. Zalizodefitsitna anemiya u vagitnih: problemi standartizatsiyi yakosti medichnoyi dopomogi / V. M. Zaporozhan, I. A. Ancheva // Liki Ukrayiny plyus. – 2014. – No.3 (20). – S. 14–17.

2. Litvinenko A. P. Funktsionalniy stan reproduktivnoyi sistemi samok mishey za umov modelyuvannya zalizodefitsitnoyi anemiyi / A. P. Litvinenko, L. S. Reznichenko, A. M. Doroshenko [ta in.] // Visnik problem biologiyi i meditsini. – 2014. – Vip.4, Tom 2 (114). - S.136-140.

3. Metodichni rekomendatsiyi «Otsinka bezpeki likarskih nanopreparativ», zatverdzheni Naukovo-ekspertnoyu radoyu Derzhavnogo ekspertnogo tsentru MOZ Ukrayiny (protokol No. 8 vid 26. 09. 2013). – Kyiv, - 2013. – 108 s.

4. Rozenfeld L. G. Nanotehnologiyi, nanomeditsina: perspektivi naukovih doslidzhen ta vprovadzhennya yih rezultativ v medichnu praktiku / L. G. Rozenfeld, V. F. Moskalenko, I. S. Chekman [ta in.] // Ukr. med. Chasopis. – 2008. – No.67(5). – S. 63–68.

5. Trahtenberg I. M. Nanochastinki metaliv, metodi otrimannya, sferi zastosuvannya, fiziko-himichni ta toksichni vlastivosti / I. M. Trahtenberg, N. M. Dmitruha // Urayinskiy zhurnal z problem meditsini pratsi. – 2013. – No.4(37). – S.62–74.
6. Hardy S. Intravenous Iron Administration and Hypophosphatemia in Clinical Practice / S. Hardy, X. Vandemergel // Int J Rheumatol. − 2015. − P. 1−6.
7. Gullam J. Phase-plot analysis of the oxytocin effect on human myometrial contractility / J. Gullam, A. Blanks, S. Thornton [et al.] // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2009. – Vol. 144, Suppl. 1. – P. 20–24
8. Friedman A. J. Iron deficiency anemia in women: a practical guide to detection, diagnosis, and treatment / A. J. Friedman, A. Shander, S. R. Martin [et al.] // Obstet Gynecol Surv. − 2015. − № 70(5). − P. 342 − 353.
9. Kapse-Mistry S. Nanodrug delivery in reversing multidrug resistance in cancer cells / S. Kapse-Mistry, T. Govender, R. Srivastava // Front Pharmacol. – 2014. – №5. – P. 154−159.
10. Tosco T. Nanoscale zerovalent iron particles for groundwater remediation: a review / T. Tosco, M. P. Papini, C. C. Viggi [et al.] // Journal of Cleaner Production. − 2014. − № 77. − P. 10–21.
11. Tang S. N. Magnetic nanoparticles: Essential factors for sustainable environmental applications / S. N. Tang, I.C. Lo // Water Research. − 2013.− № 47. − P. 2613–2632.
12. Wallace D. F. A critical role for murine transferrin receptor 2 in erythropoiesis during iron restriction / D. F. Wallace, E. S. Secondes, G. Rishi [et al.] // Br J Haematol. − 2015. − №168(6). − P. 891−901.
13. Zupanic-Krmek D. Anemia of chronic disease: illness or adaptive mechanism / D. Zupanic- Krmek, M. Sucic, D. Bekic // Acta Clin Croat. – 2014. – Vol. 53, №3. – P. 348–354.

Реферати

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНАЯ АНЕМИЯ: ВЛИЯНИЕ СУБСТАНЦИИ НАНОЧАСТИЦ ЖЕЛЕЗА НА МЕЙОТИЧЕСКОЕ СОЗРЕВАНИЕ ООЦИТОВ И СОКРАТИМОСТЬ МАТКИ

Литвиненко А. П., Блашки Т. В., Резниченко Л. С., Вознесенская Т. Ю., Грузина Т. Г.

Исследовали влияние введения субстанции наночастиц железа (Fe0, НЧЗ) на функциональное состояние органов репродуктивной системы в условиях экспериментальной железодефицитной анемии у мишей (ЖДА). Установлено, что в условиях ЖДА пятикратное введение НЧЗ приводит к улучшению качества ооцитов и нормализации сократимости овариального и цервикального отделов матки у мышей.

Ключевые слова: железодефицитная анемия, ооциты, овариальный и цервикальный отделы матки.

Стаття надійшла 11.06.2015 р.

EXPERIMENTAL IRON DEFICIENCY ANEMIA: IRON NANOPARTICLES SUBSTANCE EFFECTS ON OOCYTES MEIOTIC MATURATION AND UTERINE CONTRACTILITY

Litvinenko A. P., Blashky T.V., Reznichenko L. S., Voznesenskaya T., Georgians T. G.

The effect of the introduction of the zero-valent iron nanoparticles substance (Fe0, nZVI) on the functional state of the reproductive system in experimental iron deficiency anemia in mice (IDA) has been studied. It was found that in the five-fold administration Fe0 leads to an improvement in the quality of oocytes and the normalization of the contractility of ovarian and cervical departments of the mouse uterus.

Key words: iron deficiency anemia, iron nanoparticles, oocytes, ovarian and cervical parts of the uterus.

Рецензент Запорожець Т.М.

УДК 615.213: 615.015.4

О. Д. Мовчан
ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»

ФАРМАКОДИНАМІЧНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ТОЛЕРАНТНОСТІ ДО ДІЇ ПРОТИСУДОМНИХ ЗАСОБІВ

Зниження чутливості до базових антиконвульсантів фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію при їх тривалому застосуванні потребує розкриття механізмів розвитку толерантності для пошуку шляхів її подолання.

Мета дослідження - визначення функціонального стану нейромедіаторних систем з використанням селективних агоністів і антагоністів різних типів рецепторів. Досліджена участь ГАМК-, гліцин- та глутаматергічної систем мозку в механізмах дії протисудомних засобів. Показано, що у толерантних тварин нівелюється дія антиконвульсантів фенобарбіталу, карбамазепіну, вальпроату натрію на моделях коразолових, пікротоксинових, бікукулінових та тіосемікарбазидних судом. Не встановлено відмінностей у функціонуванні гліцин- і глутаматергічної систем між нетолерантними тваринами і тваринами, толерантними до дії фенобарбіталу і карбамазепіну.

Ключові слова: протисудомні засоби, толерантність, ГАМК-, гліцин- та глутаматергічні системи.

Незважаючи на значні успіхи в епілептології, особливо в останні 15-20 років, приблизно кожний третій хворий на епілепсію залишається в тій чи іншій мірі резистентним до лікування [5, 7]. Пошук шляхів подолання терапевтичної резистентності при лікуванні епілепсії може знаходитися в площині досліджень, пов’язаних з вивченням механізмів розвитку толерантності до протиепілептичних препаратів.

Оскільки вказане явище є захисною реакцією організму, спрямованою на нейтралізацію впливу ксенобіотиків, тому в цей процес можуть залучатися різноманітні механізми [2, 12].