и рекурренцией очень важно. Определив в предоперационном или интраоперационном периоде с помощью системы FIGO факторы риска, указывающие на возможность генерализации метастазов в ЛУ при РЭ, считается целесообразным выполнение указанным больным лимфаденэктомии. А это резко увеличивает сроки выживаемости больных.

Ключевые слова: рак эндометрия, лимфаденэктомия, метастазирование, лимфатические узлы.

FACTORS AFFECTING SURVIVABILITY OF PATIENTS WITH GYNECOLOGICAL CANCER WITH DESTRUCTION OF PARA-AORTIC AND PELVIC LYMPHATIC NODES AFTER LYMPHADENECTOMY

Ibragimov A. M.

Abstract. *The aim of the study* was to identify factors associated with paraaortic and pelvic LU in patients with endometrial cancer (EC), lymph node metastases (LNM), as well as to assess the survival of patients after lymphadenectomy.

Methods. The study included 417 patients with paraaortic and ilicheskom LNM, which 2000-2015 at the Medical faculty of the University Hajitepe had undergone surgical treatment, and 835 patients with endometrial cancer with para-aortic and held pelvically lymph node dissection. After receiving a review of the Ethical Committee of the University of Hajitepe, the research began. All patients were subjected to total abdominal hysterectomy, bilateral salpingoophorectomy, Cytology, pelvically and para-aortic lymphadenectomy. Patients with re were evaluated peritoneum Cytology, clinical and pathological features, age, histological subtype, stage, according to the classification FIGO (13), depth of myometrial invasion, tumor size, lymph vascular invasion (LVAI), cervical coverage, adnexic coverage and MDR.

Results. Age included in a study of patients who underwent para-aortic and pelvio lymphadenectomy ranged between 26-86 years (58,8±10,1).

The incidence of re has changed dramatically due to age dynamics. Thus, the incidence of re at the age of 20-34 years was 1.5%; 35-44 years – 10.8%; 45-54 years – 19%; 55-64 years – 32.6%; 65-84 years – 22.6%; and at the age of 85 and over 85 years – 13.5%. According to the classification of FIGO (83), stage I was observed in 59% (246 patients), stage II – in 28.1% (117 patients), and stage III – in 11% (46 patients). Otolith was observed in 8 (2,0%) patients. Lymph-vascular invasion was noted in 96 (23.0%), and in 321 (77.0%) – it was not noted. The size of the border for the tumor «primer» was taken as 2 cm. Patients with tumor size «primer» ≤ 2 cm were 127 (30.5%), and > 2 cm – 290 (69.5%). Regardless of the stage, serous, transparent cell adenocarcinomas and patients of stage II-IV should be assigned to a high risk group. Serous or transparent cell re are too aggressive tumors. The relative five-year survival rate of patients with serous tumors is 45%, with transparent cell tumors – 65%, and with endometrioid tumors – 91%. There is a serious decrease in the five-year survival of patients with stage III of the disease, compared with patients in the early stages of the disease. The prognosis of re in young patients is usually the most favorable. Although overage does not apply to all patients, it has a negative impact on the survival rate of many of them. The most common symptom of re is abnormal bleeding in the uterus in 75-90% of patients. In 70-80% of patients with the established diagnosis stage I was registered, in 20% – invasion into neighboring organs and lymph nodes, and in 8% – metastases outside the organs. All patients underwent dissection of pelvic and paraaortic lymph nodes. No Association was found between cervical grandular coverage, cervical stromal coverage and isolated paraaortic MDR. In patients with deep myometrial invasion, the ratio of isolated paraaortic MDR is greater than in patients without myometrial invasion. Thus, the distribution and indicators of isolated paraaortic MDR, from the point of view of the therapeutic approach, along with the significance, with the wrong definition of the stage, are completed by an erroneous diagnosis. The interaction of risk factors such as myometrial invasion depth ≥ 50%, cervical spread, LVI, positive peritoneal Cytology and adnexal and omental coverage – with survival and recurrence is very important. And this dramatically increases the survival time of patients.

Key words: endometrial cancer, lymphadenectomy, metastasis, lymph nodes.

Рецензент – проф. Тарасенко К. В.
Стаття надійшла 09.05.2019 року

DOI 10.29254/2077-4214-2019-2-1-150-129-134
УДК 612.017:616.36:612.621.1:615.27:611.018

[1]Калейнікова О. М., [1]Срібна В. О., [1]Ступчук М. С., [2]Карвацький І. М., [2]Савчук В. С., [1]Блашків Т. В., [1]Вознесенська Т. Ю.

ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА І РЕСВЕРАТРОЛУ НА ЖІНОЧУ РЕПРОДУКТИВНУ ФУНКЦІЮ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЛОМЕРОЛОНЕФРИТУ

[1]Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ (м. Київ)
[2]Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця (м. Київ)
syana_ds@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Роботу виконано у 2018 році в рамках програми НАН України «Функціональна геноміка, протеоміка та метаболоміка в системній біології», а також наукової програми відділу імунофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України: «Дослідження клітинно-молекулярних механізмів імуноіндукованих розладів жіночої репродуктивної системи та корегуючого впливу наночастинок металів» / державний реєстраційний номер 0116U004471, номер теми: 1-8-17, постанова бюро ВМФМБ № 8 § 31 від 08.09.2016, договору про науково-практичне співробітництво між Інститутом фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ та Національним

медичним університетом ім. О.О. Богомольця щодо проведення досліджень функціонування жіночої репродуктивної системи за різних експериментальних умов.

Вступ. Наномедицина і нанофармакологія розвиваються високими темпами в пошуку нових лікарських засобів. Провідне місце серед них займають препарати на основі наночастинок срібла (НЧС).

У розвитку аутоімунних захворювань важливу роль відіграють такі фактори як спадкова схильність, несприятлива дія чинників довкілля, порушення імунітету. До аутоімунних захворювань нирок відносять первинні гломерулонефрити (швидко прогресуючі, хронічні та ін.) і гломерулопатії (велика група хвороб), синдром Гудпасчера, системні васкуліти, а також інші системні аутоімунні захворювання, що супроводжуються ураженням функції нирок.

Раніше отримано дані про вплив одно-, п'яти- і десятикратного введення НЧС (2 мг/кг та 4 мг/кг) на мейотичне дозрівання ооцитів [1]. А також встановлено, що в умовах експериментального гломерулонефриту введення НЧС покращує функціональний стан яєчника у тварин: збільшується кількість ооцитів, які відновлюють мейоз та формують перше полярне тільце *in vitro*, а також збільшується кількість живих клітин та зменшується кількість клітин з морфологічними ознаками апоптотичної загибелі у фолікулярному оточенні ооцитів [2].

Актуальними є дослідження в яких буде проведено оцінку впливу введення субстанції НЧС і ресвератролу (РЕС) на ооцити і клітини його фолікулярного оточення, а також на пре– і постімплантаційну ембріональну смертність у мишей, що надасть нові дані, які будуть сприяти успішному переходу нанотехнології срібла в клініку і просуванню розробки безпечних, економічно ефективних і екологічно чистих препаратів НЧС, а також більш повного розуміння механізмів їх дії в умовах лабораторних випробувань.

Мета роботи – в умовах експериментального гломерулонефриту (ЕГ) оцінити вплив введення субстанції НЧС і ресвератролу (РЕС) на процес проходження ооцитами стадій мейотичного дозрівання – метафази I та метафази II, на життєздатність і цілісність ДНК клітин фолікулярного оточення ооцитів (ФОО), а також пре– і постімплантаційну ембріональну смертність у мишей.

Об'єкт і методи дослідження. *Тварини.* Досліди проводили з дотриманням Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження (від 21.02.2006 р.) та принципів «Міжнародної Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986). Дослідження проведено з використанням 28+28 самиць і 14 самців білих лабораторних мишей (масою 20-22 г). Перед початком і під час експерименту оцінювали об'єктивний статус тварин (зовнішній вигляд, загальну рухову активність, потреба в їжі та воді, 2 рази на тиждень визначали масу тіла); видільну функцію нирок (за кількістю спонтанних сечовиділень за добу, у разовій порції сечі, використовуючи тест-смужки визначали білок (діагностичні тест-смужки Citolab для швидкого виявлення білку, «Фармаско», Україна).

Експериментальний глумеролонефрит (ЕГ) у мишей отримували шляхом чотирьох-кратної імунізації білих лабораторних мишей I покоління суспензією антигену нирки, отриманої від материнської особи. Імунізацію тварин проводили з розрахунку 10 мкл суспензії на 10 грамів маси тіла за наступною схемою: 3-разове внутрішньочеревне 1 раз на добу; повторно імунізацію проводили через 3 тижні одноразово внутрішньочеревно у тій самій дозі.

Характеристика наночастинок срібла (НЧС) – розмір: 30 нм, концентрація: 8 мг/мл за металом, форма: сферична, колір: коричневий, синтезовані в Інституті біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України за оригінальним протоколом (методом хімічної конденсації), не генотоксичні (тест in vitro на культурі клітин СНО-К1, метод: кометний аналіз; тест in vivo щури лінії Vistas, вагою 200±20 г, метод: кометний аналіз), не мутагенні (тест-об'єкти: апікальні меристеми Allium сера, миші лінії BALB/c, вага 20±2 г, метод підрахунку хромосомних аберацій, мікроядерний тест).

У першій серії тварини були розділені на такі групи: I – Контроль (N=4); II – ЕГ (N=4); III – НЧС (N=4); IV – ЕГ+НЧС (N=4); V - РЕС (N=4); VI - ЕГ+РЕС (N=4); VII – ЕГ+НЧС+РЕС (N=4); N – кількість тварин у групі. Забір експериментального матеріалу (яєчники) здійснювали під ефірним наркозом на наступний день після останнього (третього) введення ресвератролу.

У другій серії (групи тварин як і у першій серії) самиць контрольних і дослідних груп парували з інтактними самцями. В день останнього введення ресвератролу до самиць контрольних і дослідних груп підсаджували самців у співвідношенні 2:1. Спарювання та подальші маніпуляції із ембріонами відбувалися згідно з Манк (1990). Забір експериментального матеріалу (яєчники, матка і яйцеводи) здійснювали під ефірним наркозом на 10/11 і на 18/19 день після запліднення, яке встановлювали за Манк (1990). З досліду тварин виводили з експерименту шляхом перерізання спинного мозку під ефірним наркозом з дотриманням правил евтаназії.

Введення речовин проводили: суспензію антигену нирки – внутрішньочеревно тричі 1 раз на добу; а також повторно через 3 тижні одноразово внутрішньочеревно в дозі (10 мкл суспензії на 10 грамів маси тіла тварини); ресвератрол вводили чотири рази: за 1 год до повторної (останньої) імунізації, внутрішньочеревно в дозі (50 мг/кг) і тричі 1 раз на добу з наступного дня після останнього (четвертого) введення суспензії антигену нирки; НЧС – розводили у воді для ін'єкцій, внутрішньовенно в дозі 2 мг/кг, за 1 год до повторної (останньої) імунізації, внутрішньочеревно в дозі (50 мг/кг) і тричі 1 раз на добу з наступного дня після останнього (четвертого) введення суспензії антигену нирки.

Культивування ооцитів. З яєчників мишей неферментативно (механічно) виділяли ооцити. Оцінювали стан зародкового пухирця, перивітелінового простору та цитоплазми, а саме щільність, ступінь гранульованості, ознаки фрагментації і дегенерації. Після 2 год культивування підраховували ооцити (% до загальної кількості), що перебували на стадії метафази I (розчинення зародкового пухирця), після 20 г культивування підраховували ооцити (% до загальної кількості), що перебували на стадії метафази

II (сформованого першого полярного тільця), а також ооцити з атиповою морфологією (нерівномірно гранульованою цитоплазмою та ознаками фрагментації останньої).

Метод прижиттєвого подвійного забарвлення флуоресцентними барвниками. Шляхи клітинної загибелі (кумулюсних клітин та клітин тимуса і лімфатичних вузлів) вивчали з допомогою метода прижиттєвого подвійного забарвлення флуоресцентними барвниками нуклеїнових кислот Хехст 33342 та йодид пропідіума. Зв'язані з хроматином барвники дають змогу оцінити морфологічні особливості ядерного матеріалу. Оцінку проводили не менш як 400 клітин за допомогою люмінесцентного мікроскопу „Люмам И-1" (ЛОМО, Росія) з водно-імерсійним об'єктивом х85 та з відео системою передачі зображення на комп'ютер.

Метод ДНК-комет (лужний). Для виявлення пошкоджень ДНК в ядрах клітин тимуса, лімфатичних вузлів і ФОО використовували метод ДНК-комет (лужний). Аналіз ДНК–комет на електрофореграмах, забарвлених Хехст 33342 (700 мкмоль/л) протягом 15 хв, здійснювали візуально, використовуючи люмінесцентний мікроскоп ЛЮМАМ И-1 (Росія) та відео систему передачі зображення на комп'ютер при застосуванні водно-імерсійного об'єктива (×30). На кожному мікропрепараті аналізували не менше ніж 400 окремо розташованих ДНК-комет. За співвідношенням ДНК у "голові" та "хвості" комети поділяли на 5 класів (0-4).

Оцінка показників ембріональної смертності у мишей. Самиць контрольних і дослідних груп парували з інтактними самцями. Спарювання та подальші маніпуляції із ембріонами проводили згідно з методикою (Манк, 1990). Стадії розвитку пре- і постімплантаційних ембріонів визначали за (Манк, 1990). Підраховували: А – кількість живих ембріонів, Б – число місць резорбції (число загиблих ембріонів), В – число жовтих тіл вагітності. Показники пре- і постімплантаційної загибелі обчислювали за формулами: ((В-А+Б)/В)•100% і (Б/(А+Б))•100%, відповідно.

Статистична обробка даних. Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію t Стьюдента за допомогою програми GraphPadPrismversion 5.00 for Windows (GraphPadSoftware, США); p<0.05 вважалося статистично вірогідним.

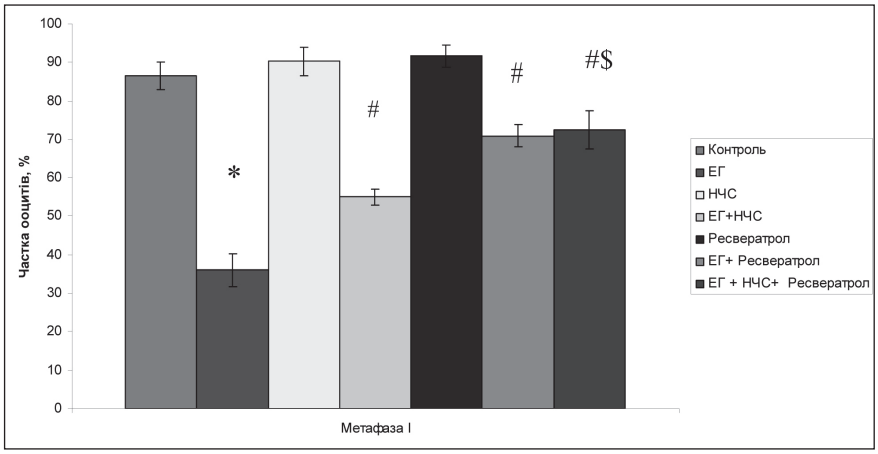

Рис. 1. Частки ооцитів, які успішно пройшли метафазу I мейотичного дозрівання за умов ЕГ і введення субстанції наночастинок срібла і ресвератролу.

Примітки: * - p<0.05 – вірогідність відмінностей середніх груп даних у порівнянні з такими в контролі; # - p<0,05 - вірогідність відмінностей середніх груп даних у порівнянні з такими за умов ЕГ; $ - p<0.05 - вірогідність відмінностей середніх груп даних у порівнянні з такими за умов ЕГ і введення НЧС.

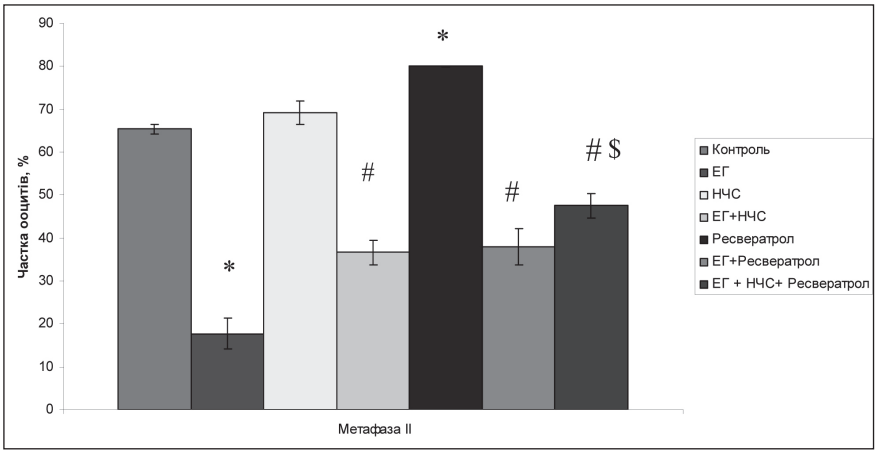

Рис. 2. Частки ооцитів, які успішно пройшли метафазу II мейотичного дозрівання за умов ЕГ і введення субстанції наночастинок срібла і ресвератролу.

Примітки: * - p<0.05 – вірогідність відмінностей середніх груп даних у порівнянні з такими в контролі; # - p<0,05 - вірогідність відмінностей середніх груп даних у порівнянні з такими за умов ЕГ; $ - p<0.05 - вірогідність відмінностей середніх груп даних у порівнянні з такими за умов ЕГ і введення НЧС.

Результати дослідження та їх обговорення. Дані про вплив введення за умов ЕГ субстанції НЧС і РЕС на проходження ооцитами мейотичного дозрівання (метафази I та метафази II) представлені на **рисунку 1 та 2.**

Таким чином, за умов ЕГ введення НЧС, РЕС і НЧС+РЕС призводить до підвищення відсотка ооцитів, що успішно проходять метафазу I (розчинення зародкового пухирця) та метафазу II (формування I-го полярного тільця).

Дані про вплив введення за умов ЕГ субстанції НЧС і РЕС на життєздатність клітин фолікулярного оточення ооцитів наведені у **таблиці 1.**

Таким чином, встановлено, що за умов ЕГ введення НЧС, РЕС і НЧС+РЕС призводить до підвищення частки клітин ФОО живих, а також зменшення частки апоптотичних і некротичних.

Дані про вплив введення за умов ЕГ субстанції НЧС і РЕС на ступінь пошкодження ДНК клітин фолікулярного оточення ооцита представлено в **таблиці 2.**

Таблиця 1.

Частки живих та загиблих шляхами апоптозу та некрозу клітин фолікулярного оточення ооцитів за умов ЕГ і введення субстанції наночастинок срібла і ресвератролу

Група тварин	Типи клітин ФОО, %		
	Живі	Апоптотичні	Некротичні
Контроль	79,50±0,70	12,49±1,80	8,01±0,70
ЕГ	41,82±0,31*	35,18±1,80*	23,01±1,40*
НЧС	83,61±0,10	10,79±0,30	5,60±0,31
ЕГ+НЧС	62,81±1,50#	19,50±0,91#	17,69±0,80#
РЕС	82,33±0,58	12,00±1,01	5,67±0,58
ЕГ+РЕС	64,75±1,01#	19,25±1,70 #	16,00±0,82 #
ЕГ+НЧС+ РЕС	69,50±1,29#	18,50±2,62 #	12,00±0,10#

Примітки: * - p<0.05 – вірогідність відмінностей середніх груп даних у порівнянні з такими в контролі; # - p<0,05 - вірогідність відмінностей середніх груп даних у порівнянні з такими за умов ЕГ.

Таблиця 2.

Частка ДНК-комет ядер клітин фолікулярного оточення ооцитів за умов ЕГ і введення субстанції наночастинок срібла і ресвератролу

Група тварин	Частка ДНК-комет ядер клітин фолікулярного оточення ооцитів, %				
	0	1	2	3	4
Контроль	84,6±4,83	12,4±3,17	2,2±1,23	0,6±0,78	0,2±0,83
ЕГ	0,2±0,57 *	1,1±2,26 *	4,2±1,18	19,8±1,14 *	74,7±5,32 *
НЧС	80,7±7,54	8,5±1,67	4,4±1,24	3,9±1,17	2,5±1,22
ЕГ+НЧС	15,00±1,58 #	31,20±1,92#	31,00±1,58#	14,40±1,14	8,40±1,53#
РЕС	79,89±5,19	15,83±3,56	3,45±1,43	0,57±0,73	0,26±0,34
ЕГ+РЕС	9,88±3,40 #	22,75±4,77#	32,88±3,87#	21,38±2,56	13,13±3,31#
ЕГ+НЧС+РЕС	18,88±3,23 # ^	41,88±5,44 # ^	22,75±3,62 #	9,00±2,27 # ^	7,50±2,62 #

Примітки: * - p<0.05 – вірогідність відмінностей середніх груп даних у порівнянні з такими в контролі; # - p<0,05 - у порівнянні з такими за умов ЕГ; $ - p<0.05 - у порівнянні з такими за умов ЕГ+НЧС; ^ - p<0,05 – у порівнянні з такими за умов ЕГ+РЕС.

Таким чином, встановлено, що за умов ЕГ, як застосування НЧС так і РЕС послаблює пошкодження в ядрах клітин ФОО за рахунок зменшення в них кількості однониткових розривів (ефект НЧС=РЕС), а ефект введення НЧС і РЕС (разом) – кількість ядер 0,1 і 3-го класів визначається НЧС, тобто за умов ЕГ введення НЧС+РЕС дає кращий ефект ніж окремо НЧС і окремо РЕС.

Встановлено, що введення: 1) НЧС не впливає на пре- і постімплантаційну смертність ембріонів; 2) НЧС за умов ЕГ – зменшує постімплантаційну ембріональну смертність до 1,38±0,37 (p<0.05, n=6) у порівнянні з 5,16±0,63 за умов ЕГ, преімплантаційна смертність не змінюється. 3) РЕС – не впливає на пре- і постімплантаційну смертність ембріонів; 4) РЕС за умов ЕГ – не впливає на величину преімплантаційної смертності ембріонів і зменшує до 2,63±0,91 (p<0.05, n=6) постімплантаційну ембріональну смертність, у порівнянні з 5,16±0,63 за умов ЕГ; 5) НЧС+РЕС за умов ЕГ не впливає на величину преімплантаційної смертності ембріонів і зменшує до 1,87±0,83 (p<0.05, n=6) постімплантаційну ембріональну смертність, у порівнянні з 5,16±0,63 за умов ЕГ; у порівнянні з введенням НЧС за умов ЕГ – немає відмінностей серед середніх груп даних; у порівнянні з введенням РЕС за умов ЕГ – немає відмінностей серед середніх груп даних. Таким чином, показано, що за умов ЕГ введення субстанції НЧС, РЕС і НЧС+РЕС преімлантаційна смертність не змінюється, постімплантаційна – зменшується.

За даними літератури відомо, що, розвиток гломерулонефриту за імунним механізмом пов'язаний: а) з наявністю спільних перехресно-реагуючих антигенів мікроорганізмів (бактерій, вірусів та ін.) і антигенів базальної мембрани клубочків; б) з інтенсивною появою на базальній мембрані гломерул антигенів головного комплексу гістосумісності (зокрема, HLA-DR2 і DR3 антигенів); в) з пошкодженням ниркової тканини і вивільненням прихованих антигенів або детермінант гломерулярної базальної мембрани, до яких немає толерантності [3].

З метою дослідження імунних захворювань нирок та розробки тактики їх терапії використовують експериментальні моделі ушкодження нирок, що відображають особливості патогенезу різних варіантів даного захворювання [4,5]. Є дані про внутрішньовенне введення НЧС [6,7]. Для всіх розмірів частинок, незалежно від їх покриття, найвищі концентрації срібла знайдені в селезінці і печінці, а потім в легенях, нирках і в головному мозку через 24 годин після внутрішньовенного введення; срібло, фільтрується печінкою і виводиться з організму через жовч [6,7]. Відомо, що доза 10 мг/кг ваги тіла у мишей еквівалентна для людини доза 0,81 мг/кг ваги тіла, що відповідає приблизно 50 мг для людини 60 кг, відповідно до основних принципів для перерахунку дози від тварин до людини [8].

Нами була обрана доза 2 мг/кг ваги тіла, оскільки вона не перевищує дози, які використовувалися в попередніх дослідженнях внутрішньовенного введення і не викликали значних побічних ефектів у тварин [7,9,10]. В літературі є дані щодо впливу наночастинок на ооцити. Є дані про реакцію *in vitro* кумулюсно-ооцитарних клітинних комплексів свині на наночастинки золота, срібла і сплаву золото-срібло, вкриті бичачим сироватковим альбуміном (БСА) [11]. Мейотичне дозрівання ооцитів оцінювали після 46 год культивування in vitro в присутності різних типів наночастинок, а також нітрату срібла в середовищі протягом усього часу *in vitro* дозрівання. Дозрівання в даному випадку визначалося як відсоток ооцитів, що відображають метафазну пластинку і сформоване полярне тіло (другий поділ мейозу) по 350 ооцитів на кожну групу. Концентрація наночастинок становила 10 мкг/мл, і всі частинки були кон'юговані з бичачим сироватковим альбуміном (БСА) [11].

Раніше нами отримано дані про вплив одно-, п'яти- і десятикратного введення НЧС (2 мг/кг та 4 мг/кг) на мейотичне дозрівання ооцитів [1]. Так, одноразове п'ятикратне введення НЧС (2 мг/кг) не впливало на мейотичне дозрівання ооцитів; десятикратне введення AgNPs (2 мг/кг) викликає зменшення кількості ооцитів здатних до формування першого полярного тільця (метафаза II) [1]. А також встановлено, що в умовах експериментального гломерулонефриту введення НЧС покращує функціональний стан яєчника у тварин: збільшується кількість ооцитів, які відновлюють мейоз та формують перше полярне тільце *in vitro*, а також збільшується кількість живих клітин та зменшується кількість клітин з морфологічними ознаками апоптотичної загибелі у фолікулярному оточенні ооцитів; не встановлено пригнічення оваріальної функції у самок мишей в умовах введення НЧС (2 мг/кг) [2].

В цій роботі нами вперше показано, що за умов ЕГ введення субстанції НЧС, ресвератролу і НЧС+РЕС призводить до: підвищення відсотка ооцитів, що успішно проходять метафазу I (розчинення зародкового пухирця) та метафазу II (формування I-го полярного тільця); підвищення частки клітин ФОО живих, а також зменшення частки апоптотичних і некротичних; послаблення пошкодження в ядрах клітин ФОО за рахунок зменшення в них кількості одноніткових розривів; зменшення преімплантаційної смертності ембріонів. За умов ЕГ ефект введення НЧС на ооцити, клітини ФОО і преімплантаційні ембріони є порівнюваним з таким від введення РЕС і є підстави стверджувати, що в ефекті НЧС на клітини ФОО задіяні механізми подібні до таких за умов введення РЕС.

Висновки. Отримано дані про те, що за умов ЕГ введення субстанції НЧС, РЕС і НЧС+РЕС призводить до: підвищення відсотка ооцитів, що успішно проходять метафазу I (розчинення зародкового пухирця) та метафазу II (формування I-го полярного тільця); підвищення частки клітин ФОО живих, а також зменшення частки апоптотичних і некротичних; послаблення пошкодження в ядрах клітин ФОО за рахунок зменшення в них кількості одноніткових розривів; зменшення преімплантаційної смертності ембріонів.

Перспективи подальших досліджень. Майбутні дослідження можна спрямовувати на встановлення можливих механізмів дії наночастинок (срібла) на соматичні і герметативні клітини у відповідних експериментальних умовах.

Література

1. Lytvynenko A, Rieznichenko L, Sribna V, Stupchuk M, Grushka N, Shepel A, et al. Functional status of reproductive system under treatment of silver nanoparticles in female mice. International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology. 2017;6(5):1713-20.
2. Voznesenska TIu, Stupchuk MS, Kaleinikova OM, Sribna VO, Blashkiv TV. Vplyv vnutrishnovennoho vvedennia nanochastynok sribla na ootsyty i klityny yikh folikuliarnoho otochennia v umovakh eksperymentalnoho hlomerulonefrytu. Naukovyi visnyk Skhidnoievropeiskoho natsionalnoho universytetu imeni Lesi Ukrainky. Seriia: biolohichni nauky. 2018;4(377):92-100. [in Ukrainian].
3. Gilbert S, Weiner D. National Kidney Foundation's Primer on Kidney Diseases. 6th edition. Elselvier; 2014. 592 p.
4. Kolomeyets NYu, Averianova NI, Kosareva PV, Kolomeyets NYu. Razrabotka modeli khronicheskogo glomerulonefrita u belykh nelineynykh krys. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. 2012. Dostupno: www.science-education.ru/103-6454 [in Russian].
5. Paltseva EM. Eksperimentalnyye modeli khronicheskikh zabolevaniy pochek. Klinicheskaya nefrologiya. 2009;2:37-42. [in Russian].
6. Recordati C, De Maglie M, Bianchessi S, Argentiere S, Cella C, Mattiello S, et al. Tissue distribution and acute toxicity of silver after single intravenous administration in mice: nano-specific and size-dependent effects. Part Fibre Toxicol. 2015;13:12.
7. Xue Y, Zhang S, Huang Y, Zhang T, Liu X, Hu Y, et al. Acute toxic effects and gender-related biokinetics of silver nanoparticles following an intravenous injection in mice. J Appl Toxicol. 2012;32:890-9.
8. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N, Reagan-Shaw S. Dose translation from animal to human studies revisited. FASEB J. 2008;22:659-61.
9. De Jong W, Van Der Ven L, Sleijffers A, Park M, Jansen E, Van Loveren H, et al. Systemic and immunotoxicity of silver nanoparticles in an intravenous 28 days repeated dose toxicity study in rats. Biomaterials. 2013;3(34):8333-43.
10. Park K, Park E, Chun I, Choi K, Lee S, Yoon J, et al. Bioavailability and toxicokinetics of citrate-coated silver nanoparticles in rats. Arch Pharm Res. 2011;34:153-8.
11. Tiedemann D, Taylor U, Rehbock C, Jakobi J, Klein S, Kues W, et al. Reprotoxicity of gold, silver, and gold-silver alloy nanoparticles on mammalian gametes. Analyst. 2014;139(5):931-42.

ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА І РЕСВЕРАТРОЛУ НА ЖІНОЧУ РЕПРОДУКТИВНУ ФУНКЦІЮ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЛОМЕРОЛОНЕФРИТУ

Калейнікова О. М., Срібна В. О., Ступчук М. С., Карвацький І. М., Савчук В. С., Блашків Т. В., Вознесенська Т. Ю.

Резюме. Мета роботи – в умовах експериментального гломерулонефриту (ЕГ) оцінити вплив введення субстанції НЧС і ресвератролу (РЕС) на процес проходження ооцитами стадій мейотичного дозрівання – метафази I та метафази II, на життєздатність і цілісність ДНК клітин фолікулярного оточення ооцитів (ФОО), а також пре– і постімплантаційну ембріональну смертність у мишей.

Отримано дані про те, що за умов ЕГ введення субстанції НЧС, РЕС і НЧС+РЕС призводить до: підвищення відсотка ооцитів, що успішно проходять метафазу I (розчинення зародкового пухирця) та метафазу II (формування I-го полярного тільця); підвищення частки клітин ФОО живих, а також зменшення частки апоптотичних і некротичних; послаблення пошкодження в ядрах клітин ФОО за рахунок зменшення в них кількості одноніткових розривів; зменшення преімплантаційної смертності ембріонів.

Ключові слова: ооцити, клітини фолікулярного оточення ооцитів, ембріони, ресвератрол, субстанція наночастинок срібла, експериментальний гломерулонефрит.

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА И РЕСВЕРАТРОЛА НА ЖЕНСКУЮ РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЛОМЕРОЛОНЕФРИТА

Калейникова А. Н., Срибна В. А., Ступчук М. С., Карвацкий И. М., Савчук В. С., Блашкив Т. В., Вознесенская Т. Ю.

Резюме. Цель работы – в условиях экспериментального гломерулонефрита (ЭГ) оценить влияние введения субстанции наночастиц серебра (НЧС) и ресвератрола (РЭС) на процесс прохождения ооцитами стадий мейотического созревания – метафазы I и метафазы II, на жизнеспособность и целостность ДНК клеток фолликулярного окружения ооцитов (ФОО), а также пре- и постимплантационную эмбриональную смертность у мышей.

Получены данные о том, что в условиях ЭГ введения субстанции НЧС, РЭС и НЧС+РЭС приводит к: повышению процента ооцитов, успешно проходящих метафазу I (растворение зародышевого пузырька) и метафазу II (формирование I-го полярного тельца), возрастанию доли живых клеток ФОО, а также уменьшению доли апоптотических и некротических; ослаблению повреждения в ядрах клеток ФОО за счет уменьшения в них количества однонитевых разрывов; уменьшению преимлантационной смертности эмбрионов.

Ключевые слова: ооциты, клетки фолликулярного окружения ооцитов, эмбрионов, ресвератрол, субстанция наночастиц серебра, экспериментальный гломерулонефрит.

EFFECTS OF SILVER NANO-PARTICLES AND RESVERATROL TREATMENT ON FEMALE REPRODUCTIVE FUNCTION UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL GLOMERULONEPHRITIS

Kaleinikova O., Sribna V., Stupchuk M., Karvatsky I., Savchuk V., Blashkiv T., Voznesenska T.

Abstract. Nanomedicine and nanopharmacology are developing at a high race in the search for new drugs. The leading place among them is preparations based on silver nanoparticles (AgNPs). In the progress of autoimmune diseases an important role is played by factors such as hereditary predisposition, adverse effects of environmental factors, immunity disorder. The autoimmune kidney diseases include primary glomerulonephritis (rapidly progressive, chronic, etc.) and glomerulopathy (a large group of diseases), Goodpascher's syndrome, systemic vasculitis, as well as other systemic autoimmune diseases that are associated with impaired renal function.

The purpose of the work – under conditions of experimental glomerulonephritis (EG), to assess the effect of the treatment of the substance AgNPs and resveratrol (RES) on the process of oocyte meiotic maturation stages (metaphase I and metaphase II), on the viability and DNA integrality of the oocyte follicular environment cells (OFECs), as well as pre- and post-implantational embryonic mortality in mice. It was used 56 females and 14 male white laboratory mice (weighing 20-22 g).

Experimental glomerulonephritis (EG) in mice was achieved by immunization of white laboratory mice of the first generation with a kidney antigen suspension derived from a parent. Animal immunization was carried out at the rate of 10 mkL of suspension per 10 g of body weight according to the following scheme: 3 times intra-abdominal 1 time per day; re-immunization was carried out after 3 weeks with a single intra-abdominal treatment of the same dose.

Characteristics of silver nanoparticles (AgNPs) – size: 30 nm, concentration: 8 mg/ml per metal, shape: spherical, colour: brown, synthesized at the Institute of Biocolloid Chemistry named after F.D. Ovcharenko of the National Academy of Sciences of Ukraine according to the original protocol (chemical condensation method). In the *first series* animals were divided into the following groups: I – Control (N = 4); II – EG (N = 4); III – AgNPs (N = 4); IV – EG + AgNPs (N = 4); V – RES (N = 4); VI – EG + RES (N = 4); VII – EG + AgNPs + RES (N = 4); N – number of animals in the group. In the *second series* (group of animals as in the first series). One day after the last injection, males were planted to females in a ratio of 1:2. Were used the method of oocytes cultivation, the method of colour fluorescent dyes, the method of DNA-comets (alkaline), and the method for measuring the pre- and post-implantation embryonic mortality and the statistical analysis methods.

It was established that under conditions of EG, both the use of AgNPs and RES weakens the damage in the nuclei of OFECs due to the reduction in their number of single-strand breaks (the effect of AgNPs = RES), and the effect of the treatment of AgNPs and RES (together) – the number of nuclei 0,1 and the third grade is determined by the AgNPs, that is, under the conditions of the EG, the treatment AgNPs+RES has a better effect than a separate AgNPs and separately RES.

It was established that the treatment of: 1) AgNPs do not affect the pre- and post-implantation mortality of embryos; 2) AgNPs under conditions of EG – reduces post-implantational embryonic mortality to 1.38±0.37 ($p < 0.05$, $n = 6$) compared with 5.16±0.63 under the conditions of EG, preimplantation mortality remains unchanged; 3) RES – does not affect the pre- and post-implantation mortality of embryos; 4) RES under conditions of EG – does not affect the magnitude of preimplantation mortality of embryos and reduces post-implantational embryonic mortality to 2.63±0.91 ($p < 0.05$, $n = 6$), compared with 5.16±0.63 under conditions of EG; 5) AgNPs+RES under conditions of EG do not affect the magnitude of preimplantation mortality of embryos and reduces post-implantational embryonic mortality to 1.87±0.83 ($p < 0.05$, $n = 6$), compared with 5.16±0.63 under conditions of EG; in comparison with the treatment of AgNPs under the conditions of EG – there are no differences among the middle data groups; in comparison with the treatment of RES under conditions of EG – there are no differences among the middle data groups. Thus, it has been shown that under conditions of the treatment of the substance of the AgNPs, RES and AgNPs+RES, the preimplantation mortality rate does not change and post-implantation – decreases. Future studies can be directed to the establishment of possible mechanisms for the action of nanoparticles (silver) on somatic and germetative cells in appropriate experimental conditions.

Key words: oocytes, cells of follicular environment of oocytes, embryos, resveratrol, substance of silver nanoparticles, experimental glomerulonephritis.

Рецензент – проф. Тарасенко К. В.
Стаття надійшла 11.04.2019 року