

ВИВЧЕННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПІННОГО АЕРОЗОЛЮ МЕТОДОМ IN VITRO

Дроздова А.О., *Лакатош В.М., **Черняєв С.В., Давтян Л.Л.,

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика; *Національний університет біоресурсів і природокористування України; **Національний фармацевтичний університет

Вступ. Збереження репродуктивного здоров'я нації залежить від ставлення кожної людини до планування своєї сім'ї. На теперішній час раціональний вибір сперміцидних засобів є основою для планування сім'ї.

Незважаючи на реалізацію в Україні протягом останніх 15 років заходів, що направлені на охорону репродуктивного здоров'я та планування сім'ї, рівень абортів, як методу регулювання народжуваності, залишається високим. Згідно з даними офіційної статистики, в Україні у 2010 році було зроблено більш як 150 тисяч абортів. Штучне переривання вагітності – один із найбільш значних чинників розладу здоров'я жінки, а спричинені ним ускладнення призводять майже до кожної десятої втрати у показнику смертності, пов'язаної з вагітністю та пологами.

Внаслідок реалізації національних програм "Планування сім'ї" (1995 – 2000) і "Репродуктивне здоров'я 2001 – 2005" кількість абортів в Україні зменшилася на 78 %. Показник штучних абортів в 2007 р. складає в Україні 12,8 на 1000 жінок фертильного віку (ЖФВ), що абсолютно відповідає показнику небажаної вагітності в 2007 р. – 12,2 на 1000 ЖФВ [1 – 4].

Разом з тим, дуже розповсюджені статеві інфекції від яких засоби оральної гормональної контрацепції не спроможні захистити. У зв'язку з цим перспективним є використання засобів місцевої контрацепції (МК), перевага яких полягає в їх безпеці, відсутності протипоказань, а також у захисній дії проти захворювань, що передаються статевим шляхом (ЗПСШ). Тому актуальним є створення засобів МК, що комбінують сперміцидну та антибактеріальну дію і спроможні не тільки попереджати від небажаної вагітності, але і є засобами профілактики ЗПСШ.

У цьому аспекті актуальним є розробка науково-практичних підходів щодо створення антимікробних лікарських форм, зокрема пінного аерозолі зі сперміцидною дією.

Метою нашого дослідження є вивчення специфічної активності (сперміцидної дії) опрацьованого лікарського засобу з подальшим встановленням концентрації сперміцидної активності діючих речовин.

Матеріали та методи дослідження. Вивчення сперміцидної дії нового лікарського засобу проводили методом in vitro. Для досліджень була використана свіжо отримана і розведена розчинником для короткочасного зберігання «Minitube» (Німеччина) сперма

кнурів породи велика біла. Кожний еякулят оцінено за макро- та мікроскопічними показниками: колір, запах, об'єм, консистенція, рухливість, концентрація спермій.

Визначення рухливості сперми проводили в препараті «роздавлена крапля» під мікроскопом зі збільшенням 100-180 раз на столику з підігрівом. Для визначення рухливості на предметне скло теплою стерильною скляною паличкою наносили невеличку краплю сперми і накривали покривним склом. Підрахунок спермій проводили не менш ніж в 3-х полях зору мікроскопа. Підраховували кількість спермій з прямолінійно-поступальним рухом, окремо кількість спермій з неправильним рухом (манежним, коливальним) та мертвих спермій.

Рухливість (Р) спермій визначали за формулою 1:

$$P_c = \frac{n_1 \cdot 10}{n}, \quad (1)$$

де: n – загальна кількість підрахованих спермій;

n₁ – кількість підрахованих спермій з прямолінійно-поступальним рухом;

10 – постійний коефіцієнт.

Визначення кількості мертвих спермій (H_c) проводили методом диференціального фарбування за формулою 2:

$$H_c = \frac{C^+}{C^- + C^+}, \quad (2)$$

де: C⁺ – кількість спермій із зафарбованими голівками;

C⁻ – кількість спермій із незафарбованими голівками.

Визначення концентрації спермій проводили у лічильній камері Горяєва. Сперму розріджували у меланжері 3 % розчином натрію хлористого, вносили її під покривне скельце камери і при малому збільшенні у затемненому полі підраховували кількість спермій у п'яти великих (80 малих) квадратах, розміщених по діагоналі.

У чисті, сухі, стерильні, підігріті до температури 38 °С флакони на 10 мл (зберігаються у термостаті), вносили по 0,5 мл препаратів сперміцидної дії різної концентрації та консистенції. Через 5 хв у кожен флакон додавали 0,5 мл досліджуваної сперми, змішували. Вплив модельних зразків на сперму оцінювали у препараті «роздавлена крапля» та мазку на визначення мертвих спермій одразу, через 1, 5, 10, 20, 30 та 60

хв інкубації. В контролі використовували фізіологічний розчин та 1 % розчин хінозолу, що має відому сперміцидну активність.

Результати та їх обговорення. Нами було вивчено якість спермійв кнурів (табл. 1).

Таблиця 1. Показники якості спермійв кнурів

Плідник	Концентрація, млд.	Рухливість, бали	Патологічні спермії, %	pH
1	0,28	7,5	7	7,22
2	0,18	7,2	10	7,2
3	0,20	7,0	8	7,15

Спочатку було досліджено водний розчин хінозолу в концентрації від 0,025 до 1 %. Отримані результати досліджень показали, що зразки в концентрації 0,025 до 0,07 % виявили різну сперміцидну ефективність, яка однак є невисокою, так як дозволяла сперміям зберігати рухливість (прямолинійно-поступальний рух) через 20 хв після їх змішування з дослідними зразками.

Після змішування зразків з концентрацією хінозолу 0,1 і 0,2 % зі спермою через 30 – 1 хв рухливість спермії знизилась і склала 1,3 проти 5,3 в контролі. Вже через 2 хв у всіх досліджуваних зразках відмічались тільки окремі коливальні рухи, а через 5 хв – всі спермії загинули. При збільшенні концентрації розчину хінозолу в 2 рази (від 0,1 % до 0,2 % розчину хінозолу) підвищення сперміцидної активності не спостерігалось.

Після змішування сперміїв із зразками з концентрацією хінозолу 0,5 – 1 % в модельних зразках «роздавлена крапля» не виявили жодних форм руху сперміїв у всіх зразках, тобто активність складала 0 балів і всі спермії загинули одразу після контакту із досліджуваними зразками.

Зразки з концентрацією хінозолу 0,75 – 1 % виявляють високу сперміцидну ефективність – спермії гинули одразу після їх контакту із дослідними зразками.

Розчин молочної кислоти при змішування зі спермою кнурів *in vitro* у співвідношенні 1:1 виявило ефективну сперміцидну дію, викликаючи їх загибель одразу після змішування.

При вивченні впливу допоміжних речовин на рухливість сперміїв встановлено, що розчин ДМСО (3,5 %) після змішування зі спермою (через 30 с–1 хв) рухливість сперміїв значно знизилась і склала 1 проти 5,6 в контролі. Через 5 хв

інкубації рухливість сперміїв складала 0,4, а після 10 хв – виявлялись тільки колові, коливальні і, в одному випадку, одиничні спермії з прямолинійним рухом. Через 20 хв інкубації спермії у всіх зразках були мертвими.

Суттєвої різниці не виявлено при вивченні впливу зразків основи аерозолу з різною комбінацією допоміжних речовин на сперміїв кнурів: через 30 с – 1хв після змішування у всіх зразках спермії загинули. Це пов'язано з тим, що у даних зразках відбувається піноутворення, що приводить до загибелі сперміїв. Було досліджено також вплив основи з молочною кислотою на рухливість сперміїв. Встановлено, що суттєвої різниці між зразками основи без молочної кислоти і зразками основи з молочною кислотою немає. Отже, сперміцидна активність модельних зразків обумовлена не тільки наявністю речовин різних фармакотерапевтичних груп, що мають сперміцидну активність, але й фізико-механічними властивостями системи. Завдяки в'язкості системи відбувається знерухомилення сперміїв, що в подальшому призводить до їх загибелі. Додавання до модельних зразків активного фармацевтичного інгредієнту (АФІ), зокрема хінозолу, підсилює сперміцидну активність лікарського засобу.

В зв'язку з тим, що сама основа виявляє сперміцидну активність (завдяки в'язкості системи), оптимальна кількість хінозолу визначена та обґрунтована в мікробіологічних дослідженнях. Доведено, що метронідазол і хінозол в кількості 0,5 % і 1 % у складі лікарської форми виявляють високу антимікробну активність.

Наступним етапом наших досліджень стало вивчення сперміцидної активності опрацьованого лікарського засобу (табл. 2).

Таблиця 2. Сперміцидна активність лікарського засобу

Зразок	Час контакту сперміїв зі зразками	Кнур 1				Кнур 2				Кнур 3			
		Рухливість, бали											
пінний аерозоль	30 с – 1хв	0	0	0	0	0	0	0	0				
		0		0		0		0					
		0		0		0		0					
	2 хв	0	0	0	0	0	0	0	0				
		0		0		0		0					
		0		0		0		0					
	5 хв	0	0	0	0	0	0	0	0				
		0		0		0		0					
		0		0		0		0					

Дослідження показали високу сперміцидну ефективність лікарського засобу – спермії гинули одразу після їх контакту із препаратом. Після змішування сперми із зразком «розда-

влена крапля» не виявили жодних форм руху сперміїв, тобто активність складала 0 балів. Отже, опрацьовані пінний аерозоль виявляє високу сперміцидну активність.

Висновок: Вивчена сперміцидна активність опрацьованого лікарського засобу. Встановлено, що в'язкість системи істотно впливає на рухливість сперміїв. Комплексними дослідженнями доведена оптимальна концентрація метронідазо-

лу та хінозолу у складі лікарського засобу – 0,5 і 1 % відповідно.

Перспективи дослідження. Перспективою даного дослідження є визначення сперміцидної активності методом *In vivo*.

ЛІТЕРАТУРА:

1. **Камаева С.С.** Изучение контрацептивного действия лекарственного средства на основе этония / С. С. Камаева, И. В. Мухина, Л. А. Поцелуева, Н. В. Жемарина, Н. Н. Проданец // Вестник Санкт-Петербургского университета. – Сер. 11. – 2009. Вып. 1. – С. 168 – 174
2. **Кулаков В.И.** Руководство по планированию семьи / Под ред. В.Н.Серова. – Русфармамед, 2004. – 298 с.

3. Про затвердження Державної програми “Репродуктивне здоров'я нації” на період до 2015 року, затверджено Постановою Кабінету Міністрів України від 27 грудня 2006 року №1849.

4. **Alekseev O.M., Widgren E.E., Richardson R.T., O'Rand M.G.** Association of NASP with HSP90 in mouse spermatogenic cells: stimulation of ATPase activity and transport of linker histones into nuclei // J. Biol. Chem.- 2005.- Jan.- № 280(4).- P. 2904-2911.

Дроздова А.О., Лакатош В.М., Черняєв С.В., Давтян Л.Л. Вивчення специфічної активності пінного аерозолу методом *in vitro* // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 6. – С. 50-52.

Наведені експериментальні дані щодо визначення сперміцидної дії як лікарського засобу, так і допоміжних речовин, що входять до складу пінного аерозолу. Доведено, що система виявляє сперміцидну активність не тільки за рахунок діючих речовин, але й завдяки в'язкості системи.

Ключові слова: пінний аерозоль, сперміцидна активність, рухливість сперміїв.

Дроздова А.О., Лакатош В.М., Черняєв С.В., Давтян Л.Л. Изучение специфической активности пенного аэрозоля методом *in vitro* // Украинский медицинский альманах. – 2012. – Том 15, № 6. – С. 50-52.

Наводятся экспериментальные данные по определению спермицидного действия как лекарственного средства, так и вспомогательных веществ, входящих в состав пенного аэрозоля. Доведено, что система проявляет спермицидную активность не только за счет действующих веществ, но и благодаря вязкости системы.

Ключевые слова: пенный аэрозоль, спермицидная активность, подвижность спермиев.

Drozdova A.A., Lakatosh V.M., Chernyaev S.V., Davtian L.L. Study of specific activity of foamy aerosol by method of *in vitro* // Украинский медицинский альманах. – 2012. – Том 15, № 6. – С. 50-52.

Experimental information is pointed on determination of spermicidnogo action of both medication and auxiliary matters, entering in the complement of foamy aerosol. It is led to, that the system shows spermicidnuyu activity not only due to leystvuyuschikh matters but also to due to viscosity systems.

Key words: Foamy aerosol, spermicidnaya activity, mobility of sperm.

Надійшла 14.09.2012 р.

Рецензент: проф. Л.В.Савченкова

УДК: 340.6:577.213.32:611-084

© Дунаєв О.В., Михайличенко Б.В., Сулоєв К.М., 2012

ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН ЛЮДИНИ З МЕТОЮ ВИЗНАЧЕННЯ ДАВНОСТІ НАСТАННЯ СМЕРТІ І ЗАПОДІЯННЯ МЕХАНІЧНИХ УШКОДЖЕНЬ

Дунаєв О.В., Михайличенко Б.В.*, Сулоєв К.М.**

*ДЗ «Луганський медичний університет МОЗ України»; *Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця МОЗ України; **ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»*

Вступ. Одним із головних та першорядних питань, яке періодично порушується слідчими органами перед судово-медичною експертизою, є питання про тривалість життя потерпілого після отримання травми, що призвела до смертельного наслідку, зокрема, механічної травми (дорожньо-транспортні пригоди, нещасні випадки на виробництві, падіння з висоти, убивства та ін.). В судово-медичній експертизі відомі способи визначення давності настання смерті та отримання ушкоджень, що ґрунтуються на вилученні м'яких тканин, визначенні їх пружно-в'язких властивостей за допомогою графічних характеристик, розрахунків декременту їх загасань та зіставлення показників з експериментально-еталоновими значеннями [1,2].

Недолік такого підходу зумовлений замалою точністю кінцевого результату внаслідок розбіжності параметрів біофізичних властивостей вилучених тканин, внаслідок різниці їх форм і розмірів, пружних і в'язких властивостей. Відомий спосіб визначення давності настання смерті шляхом дослідження біофізичних властивостей біологічних тканин з використанням методики визначення біоелектричної провідності [3-5]. Недоліком об'єкта також є низька точність кінцевого результату.

Результати власних досліджень. В основу власного способу визначення давності отримання ушкоджень та настання смерті була покладена реєстрація змін пружних властивостей тканин та встановлення давності настання смерті (отримання