

- Goetze O. Adaptation of iron transport and metabolism to acute high-altitude hypoxia in mountaineers / O. Goetze, J. Schmitt, K. Spliethoff [et al.] // *Hepatology*. - 2013. - № 58/6. - R. 2153-2162. - Rezhim dostupu doi: 10.1002/hep.26581. Epub 2013 Oct 11.
- Govus A.D. Acute hypoxic exercise does not alter post-exercise iron metabolism in moderately trained endurance athletes / A.D. Govus, C.R. Abbiss, L.A. Garvican-Lewis [et al.] // *Eur. J. Appl. Physiol.* - 2014. - № 114(10). - R. 2183-2191. - Rezhim dostupu doi: 10.1007/s00421-014-2938-2. Epub 2014 Jul 3.
- Muckenthaler M.U. Fine tuning of hepcidin expression by positive and negative regulators / M.U. Muckenthaler // *Cell Metab.* - 2008. - № 8 (1). - R. 1-3.
- Roy C.N. Iron homeostasis: new tales from the crypt / C.N. Roy, C.A. Enus // *Blood*. - 2000. - Vol. 96, № 13. - P. 4020-4027.
- Toledano M. Hepcidin in acute iron toxicity / M. Toledano, E. Kozler, L.H. Goldstein, Abu-Kishk [et al.] // *Am. J. Emerg. Med.* - 2009. - Vol. 27, № 7. - R. 761-764.
- Wei-Na Kong. Effect of erythropoietin on hepcidin, DMT1 with IRE, and hephaestin gene expression in duodenum of rats / Kong Wei-Na, Yan-Zhong Chang, Shu-Min [et al.] // *Journal of Gastroenterology*. - 2008. - Vol. 43, № 2. - R. 136-143.
- Wieczorek L. Molecular biology of Erythropoietin / L. Wieczorek, P. Hirth, K.B. Schope // *Prod. Develop. Pharmac.* - 1991. - № 2. - R. 13-16.
- Xu C. Effect of iron supplementation on the expression of hypoxia-inducible factor and antioxidant status in rats exposed to high-altitude hypoxia environment / C. Xu, C. Dong, C. Xu [et al.] // *Biol. Trace Elem. Res.* - 2014. - Vol. 162, № 1-3. - R. 142-52. - Rezhim dostupu doi: 10.1007/s12011-014-0166-6. Epub 2014 Nov 8.
- Zhang A.S. Molecular mechanisms of normal iron homeostasis Hematology. / A.S. Zhang, C.A. Enns // *Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. - 2009. - P. 207-214. - Rezhim dostupu doi: 10.1182/asheducation-2009.1.207.

### Реферат

ОСОБЛИВОСТІ ГУМОРАЛЬНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ МЕХАНІЗМІВ ДОСТАВКИ ЗАЛІЗА ДО КІСТКОВОГО МОЗКУ ЗА УМОВ ДІЇ ГІПОКСИЧНОЇ ГІПОКСІЇ

Філімонов В.І., Бурега І.Ю.

Ключові слова: еритроцит, ретикулоцит, залізо, гіпоксія, щури.

Метою роботи стало вивчення особливостей гуморальної регуляції механізмів доставки заліза в кістковий мозок в умовах дії гіпоксичної гіпоксії. Під час активації еритропоезу збільшення доставки заліза в кістковий мозок не стимулюється еритропоетином. Дослідження показали, що під дією цього гормону утворюється якийсь умовний фактор тонкої гуморальної регуляції, який впливає на метаболізм заліза, збільшуючи його рівень в сироватці крові.

### Реферат

ОСОБЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ МЕХАНИЗМОВ ДОСТАВКИ ЖЕЛЕЗА В КОСТНЫЙ МОЗГ В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Филимонов В.И., Бурега И.Ю.

Ключевые слова: эритроцит, ретикулоцит, железо, гипоксия, крысы.

Целью работы явилось изучение особенностей гуморальной регуляции механизмов доставки железа в костный мозг в условиях действия гипоксической гипоксии. Во время активации эритропоеза увеличение доставки железа в костный мозг не стимулируется эритропоетином. Исследования показали, что под действием этого гормона образуется некий условный фактор тонкой гуморальной регуляции, который влияет на метаболизм железа, увеличивая его уровень в сыворотке крови.

УДК 616.833.58-001.3: 615.916:546.49]-085:57.012.14: 57.084

**Шамало С.М.**

## УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ТРАВМОВАНОГО СІДНИЧНОГО НЕРВА ЩУРІВ НА ТЛІ РТУТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ЇЇ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м. Київ)

*Нагальним залишається вивчення впливу фармакологічних препаратів які б покращили механізми регенерації периферійних нервів з урахуванням трофічних факторів. Метою даного дослідження було проведення порівняльного ультраструктурного аналізу периферійного нерва щурів за умов мікромеркуріалізму із застосуванням антиоксидантного препарату та без фармакотерапії. В дослідгах на білих щурах, які були розподілені на дві групи, відтворили експериментальну модель травми сідничного нерва за умов мікромеркуріалізму. У післяопераційному періоді щурам першої групи фармакотерапію не проводили, в другій групі тваринам внутрішньоочеревинно вводили щоденно протягом 2 тижнів розчин тіотриазоліну. Досліджували ультраструктурну організацію та морфометричну характеристику дистального відрізка сідничного нерва через 6 та 12 тижнів після пошкодження. Проведене дослідження свідчить, що у групи тварин, яким проводили фармакологічну корекцію тіотриазоліном, активується процес регенерації нерва за умов його пошкодження.*

Ключові слова: мікромеркуріалізм, сідничний нерв, регенерація, тіотриазолін.

*Робота є фрагментом планово-дослідної роботи кафедри гістології та ембріології «Органи нервової, імунної та сечостатевої систем в умовах експериментального пошкодження» № держ. реєстрації 0112U001413*

### Вступ

Україна стала однією із найбільш екологічно забруднених країн на планеті. У регіонах екологічної кризи важкі метали знаходяться як в об'єктах довкілля, так і безпосередньо в організмі людини у дуже високих концентраціях, які

часто перевищують гігієнічний норматив [1, 2]. На фоні погіршення екологічного стану проблема відновлення порушень периферійної інервації, викликаной травмами, не завжди призводить до задовільних результатів. Це пояснюється недостатністю фундаментальних

знань про вплив мікрооточення та трофічних факторів на механізми регенерації периферійних нервових волокон [3, 4]. Отже, залишається актуальним пошук фармакологічних препаратів, які ефективно впливали б на процеси відновлення периферійних нервів із урахуванням несприятливих чинників довкілля.

### Мета дослідження

Вивчення впливу препарату тіотриазолін на регенерацію периферійного нерва за умов субхронічного мікромеркуріалізму.

### Об'єкт і методи дослідження

В процесі роботи було обстежено 20 щурів лінії Вістар, вагою 150-200 г. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

Тварин було розподілено на 2 групи. В обох групах моделювали мікромеркуріалізм шляхом внутрішньоочеревинного введення хлориду ртуті в дозі 1/100 ЛД<sub>50</sub> протягом 2 тижнів, після чого тваринам була відтворена стандартна травма лівого сідничного нерва. Останній перетинали в ділянці середньої третини стегна і фіксували центральний та периферійний відрізки на відстані 1-2мм двома епіневральними швами. В післяопераційному періоді тваринам першої групи вводили 0,9% фізіологічний розчин, а тваринам другої групи вводили препарат тіотриазолін в дозі 100 мг/кг внутрішньоочеревинно протягом 2 тижнів. Експериментальний матеріал отримували у тварин 6, 12 тижнів після операції. Перед забором матеріалу тваринам вводили надлишкову дозу тіопенталу (200 мг/кг).

Для виконання електронномікроскопічного дослідження використовували фрагменти периферичних відрізків сідничного нерва, які фіксували в 2,5% глютаровому альдегіді на фосфатному буфері протягом 1 години при кімнатній температурі з дофіксацією в 1%-му розчині чотирьохокису осмію за Міллонінгом на протязі 1 години при температурі +4°C. Ультратонкі зрізи робили на ультратомі LKB-8800 (Швеція), враховуючи поперечну та поздовжню проекції нерва щурів, після чого контрастували 2%-м розчином ураніл ацетату в 50%-70% етанолі впродовж 15 хвилин і стільки ж часу азотнокислим свинцем. Отримані зрізи вивчали та фотографували в електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

Для поглибленого аналізу результатів електронної мікроскопії був використаний метод морфометрії, що проводився із використанням напівавтоматичного пристрою для обробки

графічних зображень, а саме товщини мієлінової оболонки нервових волокон, що регенерують.

### Результати досліджень та їх обговорення

Електронно-мікроскопічне дослідження показало, що через 6 тижнів після травми сідничного нерва за умов короткотривалого мікромеркуріалізму в дистальному відрізу тварин першої групи наявна картина поліморфізму змін. Кількість новоутворених нервових волокон зростає, але серед них зустрічаються деструктивно змінені мієлінові нервові волокна, поглинання яких макрофагоцитами або нейролеммоцитами ще не відбулося. Слід зазначити, що патологічно змінені новоутворені нервові волокна мають різні форми та розміри і розташовані групами. Переважна кількість таких волокон містить просвітлений осьовий циліндр з незначною кількістю мікротрубочок та нейрофіламентів, вакуолоподібні мітохондрії.

Мієлінова оболонка патологічно змінених новоутворених нервових волокон стоншена та деформована у вигляді хвилястості її контурів, іноді має місце розшарування ламел, але неперервність її збережена. Товщина мієлінової оболонки складає  $0,23 \pm 0,08$  мкм ( $p \leq 0,05$ ). Патологічних змін зазнають також і нейролемоцити, їх ультраструктурна організація помірно порушена. Цитоплазма таких шванноцитів електроннопросвітлена за рахунок цитолізу та містить розширенні каналіці ендоплазматичної сітки, набряклі мітохондрії. Колагенові волокна виявляються в значній кількості, але практично всі вони деполімеризовані, що пов'язано з патологічними змінами фібробластів.

У тварин другої групи ультраструктурна організація нейролеммоцитів практично не ушкоджена, вони спостерігаються в значній кількості. Лізис та набряк шванноцитів не виявлені, їх ядра мають переважно транскрипційно активні еухроматин. Цитоплазма нейролеммоцитів містить лише частково розширені каналіці ендоплазматичної сітки, комплекс Гольджі, мітохондрії із практично збереженою структурою, багато лізосом. Кількість новоутворених нервових волокон зростає у порівнянні з першою групою, а патологічні зміни в них менш виражені. Деструктивно змінені нервові волокна, які спостерігаються рідше, активно поглинаються макрофагоцитами та нейролеммоцитами, що наявні у значній кількості практично без ознак пошкодження. В той час як окремі шванноцити мають підвищену фагоцитарну активність, інші беруть участь у формуванні нових волокон. У цитоплазмі таких клітин виявляються осьові циліндри. Слід зазначити, що патологічно змінені новоутворені нервові волокна мають різні форми та розміри і розташовані групами, але мають ознаки відновлення. Переважна кількість таких волокон містить осьовий циліндр із щільним розташуванням мікротрубочок та ней-

рофіламентів, мітохондрії з добре вираженими кристами. Мієлінова оболонка патологічно змінених новоутворених нервових волокон із ознаками відновлення зберігає хвилястість контурів, але розшарування ламел практично не виявляється. Колагенові волокна спостерігаються в значній кількості, розташовані пучками, без ознак деполімеризації. Більша частина виявлених фібробластів не мають ознак пошкодження та перебувають в активному стані, на що вказує наявність добре розвинених каналців зернистої ендоплазматичної сітки. У цей же термін на зрізах виявляються кровоносні судини переважно пре- та посткапіляри. Ендотелії цих судин, як правило, електроннощільний.

Морфометричне дослідження мієлінової оболонки нервових волокон, що регенерують у ділянці дистального, встановило, що товщина мієлінової оболонки складає  $0,32 \pm 0,01$  мкм ( $p \leq 0,05$ ), що значуще більше, ніж у тварин першої групи.

Через 12 тижнів після травми у першій групі тварин визначаються зрілі та новоутворені мієлінові і безмієлінові нервові волокна поряд із залишками дегенеративно змінених. Помірна кількість зрілих та новоутворених нервових волокон неповноцінні, що проявляється деформацією мієлінової оболонки та порушенням структури осьового циліндра. Пошкодження у неповноцінних нервових волокнах перш за все спостерігаються у аксоплазмі, де виявляються локальний лізис та відшарування її від аксолеми. Електронна щільність аксоплазми таких зрілих мієлінових нервових волокон у деяких ділянках зменшена за рахунок набряку, що проявляється відсутністю органел на просвітленому фоні, а в інших навпаки збільшена, про що свідчить значна кількість мікротрубочок та нейрофіламентів. На окремих ділянках осьового циліндра нерідко відмічаються скупчення змінених мітохондрій та профілів ендоплазматичної сітки на тлі органел із звичайною будовою. Зміни мітохондрій проявляються в їх деструкції у вигляді втрати крист та просвітлення матриксу. У значної кількості нервових волокон товщина мієлінової оболонки нерівномірна і в ній не чітко виявляються мембрани мезаксонів. Характерним для деяких таких зрілих та новоутворених нервових волокон є відсутність округлої або овальної конфігурації мієлінової оболонки з утворенням помірних випинань, інвагінацій та іноді явищем фрагментації. Товщина мієлінової оболонки складає  $0,43 \pm 0,01$  мкм ( $p \leq 0,05$ ), що значуще більше ніж у тварин попереднього терміну. Безмієлінові нервові волокна зустрічаються рідко. Деструктивно змінені нервові волокна, що проявляється їх демієлінізацією, частково або повністю поглинаються макрофагами та нейролеммоцитами. У сполучній тканині, яка оточує нервові волокна, виявляються патологічно змінені фібробласти та значна кількість колагенових волокон, але

помірна частина останніх деполімеризовані, в їх фібрилах пошкоджена періодична посмугованість та розширені світлі смужки, що може бути пов'язано з патологічними змінами фібробластів, які схожі з виявленими у таких же клітин цієї групи попереднього терміну.

У дистальному відрізку тварин другої групи, які отримували тіотриазолін, спостерігаються зрілі та новоутворені мієлінові і безмієлінові нервові волокна поряд з залишками дегенеративно змінених. Лише незначна кількість зрілих та новоутворених нервових волокон неповноцінні, що проявляється вираженою деформацією мієлінової оболонки та порушенням структури осьового циліндра, решта має лише окремі ознаки дистрофії. Кількість нервових волокон збільшується, очевидно, за рахунок новоутворення. Це відноситься як до безмієлінових, так і мієлінових волокон. При цьому в їх аксоплазмі спостерігаються округлі мітохондрії, дрібні та великі вакуолі як результат локального розширення периаksonального простору, що в більшій мірі відмічаються при ртутній експозиції. Невеликі вакуолярні утвори спостерігаються і в окремих нейролеммоцитах. Слід відмітити, що лізис аксоплазми та її набряк не визначаються. У нейролеммоцитах ядра мають переважно транскрипційно активний еухроматин, частково розширені каналці зернистої ендоплазматичної сітки. На фоні збільшення кількості нервових волокон невеликих розмірів спостерігаються дегенеративно змінені нервові волокна, у яких неможливо розрізнити аксоплазму та мієлінову оболонку. Тільки по залишках окремих розшарувань мембран (мезаксонів) мієлінової оболонки можна судити, що на їх місці було мієлінове волокно. При цьому, більша частина нервових волокон має добре збережену структуру, де чітко виявляється аксоплазма з великою кількістю мікротрубочок та нейрофіламентів, невеликих розмірів мітохондрій. Периаksonальний простір таких волокон не розширений, а в мієлінової оболонці розрізняються мембрани, які її утворюють. Товщина мієлінової оболонки складає  $0,55 \pm 0,01$  мкм ( $p \leq 0,05$ ), що значуще більше, ніж у тварин першої групи та попереднього терміну дослідження. Новосформовані осьові циліндри знаходяться в оточенні значної кількості колагенових волокон без ознак деполімеризації. Структура фібробластів теж добре збережена і характеризуються високою активністю ядра, а в цитоплазмі таких клітин наявні елементи комплексу Гольджі, цистерни ендоплазматичної сітки та мітохондрії звичайної будови. На зрізах у цей термін виявлено щільне впорядковане розташування колагенових волокон та розширені повнокровні кровоносні судини.

### **Висновки**

Таким чином, короткотривалий мікромеркуріалізм за умов травмування сідничного нерва

та введення тіотриазоліну викликає пошкодження, які у більшості носять реактивний характер, а деякі з них можна класифікувати як дистрофічні. До останніх відносяться демієлінізація нервових волокон, накопичення мієліну і жирів у нейролеммоцитах та деполаризація нервових волокон. Застосування для щурів цієї групи тіотриазоліну призводить до підсилення білоксинтетичної активності шванноцитів, збільшення новоутворених волокон і товщини мієлінової оболонки та часткового відновлення структури колагенових волокон у порівнянні з тваринами першої групи, які не отримували фармакологічної корекції.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні впливу нових антиоксидантних препаратів, які стимулюють регенерацію периферійної нервової системи за умов ртутної інтоксикації.

### Література

1. Андрейчин М.А. До досвіду диференційної діагностики деяких отруєнь і інфекцій / М.А. Андрейчин, І.М. Трахтенберг // *Современные проблемы токсикологии*. - 2008. - № 3. - С. 12-17.

2. Власик Л.І. Особливості нефротоксичної дії малих доз промислових отрут залежно від віку : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня доктора мед. наук : спец. 14.03.06 «Фармакологія, клінічна фармакологія» / Л.І. Власик. - Ін-т фармакол. і токсикол., Київ, 2001. - 32 с.
3. Трахтенберг І.М. Тяжелые металлы как химические загрязнители производственной и окружающей среды (экологические аспекты) / И.М. Трахтенберг // *Довкілля та здоров'я*. - 1997. - № 2. - С. 48-51.
4. Tyrgut M. Pinealtctomy exaggerates and melatonin treatment suppresses neuroma formation of, transected sciatic nerve in rats: gross morphological, histological and stereological analysis / M. Tyrgut, Y. Uyanikgil, M. Baka [et al.] // *J. Pineal. Res.* - 2005. - Vol. 38, № 4. - P. 284-291.

### References

1. Andrejchin M.A. Do dosvidu diferencijnoi diagnostiki dejakih otruen' i infekcij / M.A. Andrejchin, I.M. Trahtenberg // *Sovremennye problemy toksikologii*. - 2008. - № 3. - S. 12-17.
2. Vlasik L.I. Osoblivosti nefrotoksichnoi dii malih doz promislivih otrut zalezno vid viku : avtoref. dis. na zdobuttja naukovo stupenja doktora med. nauk : spec. 14.03.06 «Farmakologija, klinicheskaja farmakologija» / L.I. Vlasik. - In-t farmakol. i toksikol., Kijiv, 2001. - 32 s.
3. Trahtenberg I.M. Tjazhelye metally kak himicheskie zagrjaznители proizvodstvennoj i okruzhajushhej sredy (jekologo-gigienicheskie aspekty) / I.M. Trahtenberg // *Dovkillja ta zdorov'ja*. - 1997. - № 2. - S. 48-51.
4. Tyrgut M. Pinealtctomy exaggerates and melatonin treatment suppresses neuroma formation of, transected sciatic nerve in rats: gross morphological, histological and stereological analysis / M. Tyrgut, Y. Uyanikgil, M. Baka [et al.] // *J. Pineal. Res.* - 2005. - Vol. 38, № 4. - P. 284-291.

### Реферат

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТРАВМИРОВАННОГО СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА КРЫС НА ФОНЕ РТУТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ЕЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

Шамало С.Н.

Ключевые слова: микромеркуриализм, седалищный нерв, регенерация, тиотриазолин.

Актуальным остается изучение фармакологических препаратов, которые улучшили бы механизмы регенерации периферических нервов с учетом трофических факторов. Целью данного исследования было проведение сравнительного ультраструктурного анализа периферического нерва крыс в условиях микромеркуриализма с применением антиоксидантного препарата и без фармакотерапии. В эксперименте на белых крысах, которые были разделены на две группы, создали экспериментальную модель травмы седалищного нерва в условиях микромеркуриализма. В послеоперационном периоде крысам первой группы фармакотерапию не проводили. Во второй группе животным внутривентриально вводили ежедневно, на протяжении 2 недель, раствор тиотриазолина. Исследовали ультраструктурную организацию, а также морфометрическую характеристику дистального отдела седалищного нерва через 6 и 12 недель после повреждения. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что у группы животных, которым проводили фармакологическую коррекцию тиотриазолином, активизируется процесс регенерации нерва в условиях его повреждения.

### Summary

ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN INJURED SCIATIC NERVE IN RATS UNDER MERCURY POISONING AND ITS PHARMACOLOGICAL CORRECTION

Shamalo S. N.

Key words: micromercuryism, sciatic nerve, regeneration, thiotriazolyn.

Searching for pharmacological agents that would improve the mechanisms of peripheral nerves regeneration in view of trophic factors is quite urgent. The aim of this study was to compare ultrastructural peculiarities of peripheral nerves in white rats under low-dose mercury poisoning. The rats were divided into two groups: the 1<sup>st</sup> did not receive antioxidant therapy, the 2<sup>nd</sup> received it. All the rats were subjected to modeled trauma of sciatic nerve under mercury poisoning. The rats of the second group were injected Thiotriazoline solution intraperitoneally daily for 2 weeks. We studied ultrastructural organization and morphometric characteristics of the distal part of sciatic nerve in 6 and 12 weeks after injury. The results showed that the rats of the 2<sup>nd</sup> group, which received antioxidant correction with Thiotriazoline, had enhancement of the nerve regeneration.