

**МОДИФІКУЮЧА ДІЯ ДЕЯКИХ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ НА ТОКСИЧНІСТЬ
АЦЕТАТУ СВИНЦЮ****Державний заклад «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»****(м. Дніпропетровськ)**

Робота виконана згідно запланованої кафедральної теми ДЗ ДМА МОЗ України «Розвиток та морфофункціональний стан органів і тканин експериментальних тварин та людини в нормі, в онтогенезі, під впливом зовнішніх чинників», № держ. реєстрації 0111U009598.

Вступ. Однією з провідних проблем промислово розвинених регіонів в даний час є вивчення антропогенної дії солей важких металів на стан здоров'я людини і тварин. Їх з'єднання не руйнуються в ґрунті, воді, рослинах і організмі тварин. Вони можуть тривалий час зберігатися в об'єктах довкілля, мігрувати, накопичуватися в організмі людини і тварин, викликаючи зміни в органах і тканинах [1, 2, 3]. У числі цих з'єднань одне з перших місць займає свинець, за результатами офіційної статистики серед професійних інтоксикацій свинцева займає перше місце. Серед робітників, постраждалих від дії свинцю, близько 40% складають жінки, для яких свинець представляє особливу небезпеку, оскільки цей елемент володіє здатністю проникати через плаценту та накопичуватися в грудному молоці. ВООЗ відзначає можливість ризику спонтанних абортів при збільшенні концентрації свинцю в крові вагітних робітниць та, як наслідок, збільшення числа хромосомних аберацій [4, 5]. Таким чином, визначення впливу свинцю та його сполук на репродуктивну систему та ембріогенез є актуальною задачею сучасних досліджень. Цікавим в цьому напрямку є пошук нових антагоністів для свинцевих сполук.

В останні два десятиліття в усьому світі швидкими темпами розвиваються технології спрямованого одержання та використання наночастинок, переважно металів. Це «штучні об'єкти», без яких вже неможливо уявити сучасний розвиток науки. Форми наночастинок найрізноманітніші, починаючи від фулеренів, нанотрубок, нанопроводів до квантових точок та квантових коралів [7, 11, 13, 14]. Перед ученими різних спеціальностей стоять завдання всебічного вивчення фізіологічних, біохімічних, фармакологічних властивостей наночастинок та інших продуктів нанотехнологій, визначення їх позитивної дії на організм і можливого негативного впливу як на людину чи тварину, так і на зовнішнє середовище [16]. У багатьох країнах світу починають застосовувати розробки з нанотехнологій у різних галузях народного господарства, зокрема в медицині для синтезу нових лікарських засобів та раціональної фармакотерапії

різних захворювань [6, 7, 9]. З'явилися перші препарати на основі наночастинок для застосування в онкології, радіології, кардіології, неврології, офтальмології, ортопедії і травматології, дерматології; розробляються методи створення завдяки нанотехнологіям і нових вакцин [7, 10]. Срібло – мікроелемент, що необхідний організму. Висока біологічна активність мікроелементів-металів в організмі зв'язана, перш за все, з участю їх в синтезі деяких ферментів, вітамінів і гормонів. Загальновідомо, що в добовому раціоні людини в середньому повинно міститися 80 мкг іонів срібла. Встановлено також, що в організмі тварин і людини вміст срібла складає 20 мкг на 100 г сухої речовини. Найбільш багаті сріблом мозок, залози внутрішньої секреції, печінка, нирки і кістки скелета. Іони срібла беруть участь в змінних процесах організму. Залежно від концентрації його катіони можуть як стимулювати, так і пригнічувати активність ряду ферментів. Під впливом срібла в два рази посилюється інтенсивність окислювального фосфорилування в мітохондріях головного мозку, а також збільшується вміст нуклеїнових кислот, що покращує функцію головного мозку [15, 17]. Вивчення антимікробних властивостей наносрібла є сучасною актуальною проблемою дослідників. У всіх випадках при бактерицидному ефекті міра активності срібла тим більше, чим вище концентрація іонів срібла, але це не єдина позитивна риса наносрібла, яку треба досліджувати [8, 12, 15, 18, 19]. Аналіз джерел за визначеною тематикою виявив досить незначну кількість робіт, присвячених дослідженням впливу нанопродуктів на репродуктивну систему, процес запліднення та ембріогенез.

Мета дослідження – експериментальне дослідження впливу ацетату свинцю та модифікуючої дії комбінації свинцю з цитратом срібла, отриманого за нанотехнологією на репродуктивну систему та хід ембріогенезу шурів.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження були проведені на самицях шурів лінії Wistar (розплідник «Далі-2001»). Вибір об'єктом дослідження саме цих лабораторних тварин зумовлений низьким рівнем у них спонтанних вад розвитку (0,02-0,85%) порівняно з мишами (0,04-15,7%) та кролями (0,74-4,2%) [3,4, 8]. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та

інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

На підготовчому етапі перед проведенням експерименту вивчали функціональний стан яєчників у 80 самиць з початковою масою 150-180 г, віком 2,5-3 місяці, у яких досліджували естральний цикл методом піхвових мазків [8]. Всього за 12 днів (період карантину) було проаналізовано 960 препаратів, що дозволило визначити у кожній самки тривалість циклу та окремих його фаз, наявність усіх 4 фаз циклу та ритмічність їх чергування.

Для вивчення дії досліджуваних хімічних речовин із 24 самок вагою 160-190 г із стійким ритмом естрального циклу сформовано 3 групи: 1 – контрольна, 2 – експериментальна – введення ацетату свинцю в дозі 0,05 мг/кг маси; 3 – експериментальна – введення – ацетату свинцю в дозі 0,05 мг/кг маси + цитрат срібла в дозі 1,5 мкг/кг.

Для дослідження впливу досліджуваних речовин самок із стійким ритмом естрального циклу на стадіях проєструс і еструс парували з інтактними самцями за схемою 2:1. Перший день вагітності визначали за наявністю сперматозоїдів у піхвових мазках [8].

Самиць щурів впливу хімічних чинників піддавали з 1-го по 19-й день вагітності. Для дослідження гаметотоксичного та ембріотоксичного впливу важких металів обрано ацетат свинцю та його комбінація з цитратом срібла, отриманого за нанотехнологією. Вибір свинцю як досліджуваної речовини обґрунтовується широким його розповсюдженням в об'єктах довкілля промислового регіону, при цьому свинець, як політропний токсин і найбільш глобальний токсикант, який впливає на якість гамет та на перебіг вагітності за даними літератури та результатами власних досліджень [наші роботи]. Для проведення досліджень обрано низькі дози металів, які відображають реальне їх співвідношення в добових раціонах жінок, в тому числі вагітних промислового регіону. Доза по свинцю складає 0,05 мг/кг маси тіла, що в 10 разів вище ДСД та відповідає порогу токсичності (Goyer) [з книги Ершова].

Вимірювання маси експериментальних тварин, ректальної температури та краніокаудального розміру самиць проводили кожні 3-4 дні.

Результати впливу оцінювали після евтаназії під наркозом тіопенталу натрію самиць на 20 день вагітності. Про можливу негативну дію досліджуваних речовин на ембріональний розвиток міркували за здатністю підвищувати рівень ембріональної смертності (ембріолетальний ефект) та викликати зовнішні та структурні вади розвитку внутрішніх органів і кісткової системи (тератогенний ефект); загальний розвиток плодів оцінювали за показниками маси тіла, краніокаудального розміру, діаметру, маси та розмірів плаценти [8]. Половину плодів фіксували в 10% розчині формаліну для морфологічних та гістологічних досліджень. Другу половину заморожували для подальшого визначення вмісту важких металів в

огранах самиць та в ембріонах інверсійно-вольтамперометричним методом.

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики. Оцінку вірогідності статистичних досліджень проводили за допомогою t-критерію Ст'юдента.

Результати досліджень та їх обговорення.

Під час операції приділяли особливу увагу органам репродукції та змінам, що виникають після впливу розчину металів та нанометалів. Для визначення фертильності самок щурів досліджували не тільки вагітні мазки, але й будову самих репродуктивних органів: матки та яєчників як вагітних так і невагітних самок. Щури – це ссавці, що мають двороздільну матку (правий та лівий ріг), кожен ріг якої фіксується на брижі і наприкінці якого розташовано яєчник. Роги матки можуть бути в нормі як повністю симетричні та однакові по діаметру так і асиметричні. Окремо вивчалися форма та вагові показники гонад. Яєчники щурів мають округлу форму, горбисту поверхню, їх розміри та вага змінюються з віком та залежать від стадії естрального циклу у невагітних та під час вагітності. У статевозрілих самок фолікули видно неозброєним оком, за рахунок чого сам орган і має горбисту поверхню. В фазу метеструсу з'являються жовті тіла, що мають більший діаметр у порівнянні з зрілими фолікулами. Жовті тіла видні під оболонкою яєчника як білувато-жовті сферичні угруповання, що виступають над поверхнею органа. Під час проведення операції вагітних самок, уважно оглядали внутрішні органи, матку, судини, яєчники, визначали кількість ембріонів в кожному відділі двороздільної матки і занесли дані до протоколу. В цей час визначали постімплантаційну смертність по різниці між кількістю місць імплантації і кількістю живих плодів. Місця імплантації добре помітні неозброєним оком – плацента темного кольору і виглядає як виступ стінки матки.

Результати нашого експерименту показали, що в групі експонованій ацетатом свинцю визначались показники ембріотоксичності, а саме: зменшення кількості жовтих тіл вагітності в яєчниках, зменшення кількості живих ембріонів у порівнянні до контрольної групи експерименту. Кількість ембріонів на 1 самицю в групі інтоксикації $7,5 \pm 0,53$, в той час, як в контрольній групі їх кількість становила $9,0 \pm 0,4$ (табл.).

В експериментальній групі комбінованого впливу ацетату свинцю і цитрату срібла визначалося зменшення токсичної дії, а саме: збільшення кількості ембріонів та кількості жовтих тіл, що свідчить про позитивну дію останнього на репродуктивну систему та ембріогенез (табл.).

Аналіз загальних показників ембріонального розвитку в групі, що отримувала комбінацію ацетату свинцю та наноаквахелату срібла виявив покращення показників репродуктивної системи та ембріонального розвитку порівняно з інтактною групою, що проявляється достовірним підвищенням кількості живих ембріонів на 1 самицю на $12,6\% - 10,13 \pm 0,4$ проти $9,0 \pm 0,4$, що обумовлено

Показники ембріонального розвитку щурів в нормі та в експерименті

Показник	Контроль	Дослідні групи	
		ацетат свинцю	ацетат свинцю + наносрібло
Індекс плодовитості	0,8	0,9	0,8
Кількість живих плодів на 1 самицю	9,0±0,4	7,50±0,53*	10,13±0,4*;***
Кількість жовтих тіл вагітності на 1 самицю	10,13±0,53	9,88±0,53	11,13±0,27**
Маса тіла 1 плода, г	2,38±0,08	2,21±0,17	2,15±0,09°
Маса плаценти, мг	0,59±0,02	0,57±0,02	0,54±0,01
Загальна ембріональна смертність, %	11,11±4,43	24,05±1,33**	8,99±4,46**
Передімплантаційна смертність, од	0,10±0,05	0,23±0,06	0,09±0,04·
Постімплантаційна смертність, од	0,01±0,01	0,02±0,02	-

Примітка: * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001; ° – p=0,05-0,1 по відношенню до контролю; ** – p<0,05; *** – p<0,001; · – p=0,05-0,1 по відношенню до групи з ацетатом свинцю.

підвищенням кількості жовтих тіл вагітності майже на 10% – 11,13±0,27 проти 10,13±0,53 при практично однакових показниках загальної та доімплантаційної смертності та відсутності постімплантаційної смертності (**табл.**). При цьому спостерігається тенденція до зниження маси тіла плодів, яка становить в середньому 2,15±0,09 г.

При порівнянні показників ембріонального розвитку в групі комбінованої дії ацетату свинцю + наносрібло з групою, що отримувала чистий розчин ацетату свинцю можна відзначити збільшення кількості живих плодів – на 35,13%, що обумовлено збільшенням на 32,7% жовтих тіл вагітності, зменшенням у 2,7 разу рівня загальної смертності за рахунок зменшення доімплантаційної смертності у 2,6 разу та відсутності постімплантаційної смертності. Маса плодів у групі, що отримувала комбінацію свинцю та наносрібла, показники маси плаценти та плодоплацентарного коефіцієнту практично не відрізняються від аналогічних показників у групі із ізольованою свинцевою інтоксикацією.

Таким чином, введення розчину цитрату срібла, отриманого за нанотехнологією зменшує токсичність ацетату свинцю на репродуктивну систему та

ембріогенез. Така дія характерна для біоантагоністу, яким виступає в експерименті срібло.

Висновки. Як показав аналіз сучасної наукової ітератури, існує певний дефіцит відомостей про дослідження впливу тих чи інших нанопродуктів на репродуктивну функцію, ембріогенез та органогенез.

Результати наших експериментів показали, що при комбінованому введенні низьких доз свинцю + наносрібло спостерігається збільшення кількості жовтих тіл вагітності, кількості живих плодів, що обумовлено зниженням загальної та доімплантаційної ембріональної смертності. Вищенаведене дає підставу стверджувати, що введення розчинів наноаквахелату срібла на фоні інтоксикації ацетату свинцю попереджує негативний вплив останнього на репродуктивну систему та процеси ембріонального розвитку плодів в експериментальних умовах та свідчить про їх біоантагонізм.

Перспективи подальших досліджень. Наступним етапом дослідження є визначення вмісту важких металів в огранах самиць та в ембріонах інверсійно-вольтамперометричним методом (для цього частина матеріалу підлягала заморозці) та гістологічні дослідження паренхіматозних органів самиць та ембріонів.

Література

1. Білецька Е. М. Техногенне навантаження важкими металами та зміни глибокого кисневого статусу у вагітних в умовах інтенсивної промислової зони / Е. М. Білецька, К. В. Воронін, В. А. Потапов, Т. В. Лещева // Медичні перспективи. – 2000. – Т. 5, № 1. – С. 83-89.
2. Венцівський Б. М. Вміст важких металів у біологічних субстратах системи «мати-плацента-плід» за синдрому затримки розвитку плоду / Б. М. Венцівський // Ліки України. -2010. – №3 (12). – С. 38-41.
3. Динерман А. А. Роль загрязнителей окружающей среды в нарушении эмбрионального развития / А. А. Динерман. – М. : Медицина, 1980. – 191 с.
4. Иваницкая Н. Ф. Сочетанное действие свинца и радиации на потомство в период предимплантации / Н. Ф. Иваницкая, Ю. Н. Талакин, Т. Ю. Бабич // Гигиена и санитария. –1991. –№12. –С. 48-51.
5. Измеров Н. Ф. Новые подходы к регламентации свинца в воздухе рабочей зоны / Н. Ф. Измеров и др. // Токсикологический вестник. – 2000. – №5. – С. 34-39.
6. Лавриненко В. Є. Терагенні ефекти різних класів наноматеріалів / В. Є. Лавриненко, С. С. Зінабадінова // Укр. наук. - мед. молодіжний журнал. – 2010. – №3 (Спец. вип.). – С. 57–58.
7. Лахтин В. М. Нанотехнологии и перспективы их использования в медицине и биотехнологии / В. М. Лахтин, С. С. Афанасьев, М. В. Лахтин и др. // Вестн. РАМН. – 2008. – №4. – С. 50–55.
8. Методы экспериментального исследования по установлению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию с целью гигиенического нормирования // Методические рекомендации № 1744. – М. – 1977. – 10 с.

9. Мовчан Б. А. Электронно-лучевая нанотехнология и новые материалы в медицине – первые шаги / Б. А. Мовчан // Вісник фармакології і фармації. – 2007. – № 12. – С. 5–13.
10. Москаленко В. Ф. Наукові основи наномедицини, нанофармакології та нанофармації / В. Ф. Москаленко, В. М. Лісовий, І. С. Чекман та ін. // Вісник Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця. – 2009. – № 2. – С. 17–31.
11. Пиотровский Л. Б. Фуллерены: фотодинамические процессы и новые подходы к медицине / Л. Б. Пиотровский, В. Б. Кузнецов – СПб. : Роза мира, 2005. – 139 с.
12. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 31 октября 2007г. № 79 (г. Москва) «Об утверждении Концепции токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов» // Российская газета. – 2007. – № 90. – С. 12–17.
13. Пул Ч. Нанотехнологии / Ч. Пул, Ф. Оуенс. – М. : Техносфера, 2006. – 336 с.
14. Раков Э. Г. Химия и применение углеродных нанотрубок / Э. Г. Раков // Успехи химии. – 2001. – Т. 70, № 10. – С. 934 – 973.
15. Федоров И. Наночастицы серебра/ И. Федоров // Вестник инноваций. – 2005. – Т. 1, № 2. – С. 25–31.
16. Шаторна В. Ф. Дослідження впливу нанометалів на стан репродуктивної функції та ембріогенезу / В. Ф. Шаторна, В. І. Гарець, О. О. Савенкова, І. І. Колосова, // Тавричеський медико-біологічний вестник. -Матеріали IV Національного конгресу АГЕТ України. -Сімферополь. -2013. – Т. 16, № 1, ч. 1. – С. 246-251.
17. Bayston R. In vitro antimicrobial activity of silver-processed catheters for neurosurgery / Bayston R., Vera L., Mills A. [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. – 2010. – Vol. 65, № 2. – P. 258–265.
18. Chen D. Biological effects induced by nanosilver particles: in vivo study / Chen D., Xi T., Bai J. // Biomed. Mater. – 2007. – Vol. 3, № 2. – P. S126–128.
19. Chen X. Nanosilver: a nanoparticle in medical application / Chen X., Schluessener H. J. // Toxicol. Lett. – 2008. – Vol. 176, № 1. – P. 1–12.
20. Chen Z. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo / Chen Z., Meng H., Xing G. [et al.] // The journal of physical chemistry. Toxicology letters. – 2006. – Vol. 218. – P. 432–451.

УДК 611. 12-034:591. 33-092. 9

МОДИФІКУЮЧА ДІЯ ДЕЯКИХ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ НА ТОКСИЧНІСТЬ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ

Шаторна В. Ф.

Резюме. Метою дослідження було визначення впливу ацетату свинцю та цитрату срібла, отриманого за нанотехнологією на репродуктивну систему та хід ембріогенезу дослідних тварин.

Експериментальна частина роботи виконана на щурах-самцях лінії Вістар. Порівняння результатів ембріотропної дії низьких доз свинцю з показниками контрольної групи виявило його ембріотоксичність, що визначалось у збільшенні загальної ембріональної смертності, зниження кількості живих плодів та ін.

Дані експерименту свідчать, що при комбінованому введенні низьких доз свинцю + наносрібло спостерігається збільшення кількості жовтих тіл вагітності в яєчниках, кількості живих плодів порівняно з групою зі свинцевою інтоксикацією при практично однаковій масі плодів. Дослідження показали, що введення розчину цитрату срібла на фоні інтоксикації свинцем попереджує негативний вплив останнього на процеси ембріонального розвитку плодів в експериментальних умовах та свідчить про їх біоантагонізм.

Ключові слова: наносрібло, ацетат свинцю, ембріогенез, біоантагонізм.

УДК 611. 12-034:591. 33-092. 9

МОДИФИЦИРУЮЩИЕ ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА ТОКСИЧНОСТЬ АЦЕТАТА СВИНЦА

Шаторная В. Ф.

Резюме. Целью исследования было определение влияния ацетата свинца и цитрата серебра, полученного по нанотехнологии на репродуктивную систему и ход эмбриогенеза опытных животных.

Экспериментальная часть работы выполнена на крысах-самках линии Вистар. Сравнение результатов эмбриотропного действия низких доз свинца с показателями контрольной группы выявило его эмбриотоксичность, что определялось в увеличении общей эмбриональной смертности, снижении количества живых плодов и др.

Данные эксперимента показали, что при комбинированном введении низких доз свинца + наносеребро наблюдается увеличение количества желтых тел беременности в яичниках, количества живых плодов по сравнению с группой со свинцевой интоксикацией при практически одинаковой массе плодов. Исследования показали, что введение раствора цитрата серебра на фоне интоксикации свинцом предупреждает негативное влияние последнего на процессы эмбрионального развития в экспериментальных условиях и свидетельствует об их биоантагонизме.

Ключевые слова: наносеребро, ацетат свинца, эмбриогенез, биоантагонизм.

UDC 611. 12-034:591. 33-092. 9

The Modifying Effect of Some Trace Elements on the Toxicity of Lead Acetate

Shatornaya V. F.

Summary. The purpose of the study. Experimental study of the effect of lead acetate and modifying a combination of lead citrate of silver derived with nanotechnology to the reproductive system and the process of embryogenesis in rats.

Object and methods. Experimental studies were conducted on female rats Wistar. To study the action of the chemicals studied 24 females weighing 160-190 g with a stable rhythm estrous cycle formed 3 groups: 1 – control, 2 – experimental – the introduction of lead acetate at a dose of 0.05 mg / kg, 3- experimental – input – lead acetate at a dose of 0.05 mg / kg + silver citrate at a dose of 1.5 mg / kg.

To investigate the influence of these substances females with a stable rhythm estrous cycle stages of proestrus and estrus mated with intact males scheme 2-1. The first day of pregnancy was determined by the presence of sperm in vaginal smears.

Rats subjected to exposure to chemical factors from the 1st to the 19th day of pregnancy. To investigate gametotoxic and embryotoxic effects of heavy metals chosen lead acetate and its combination of silver citrate derived from nanotechnology. Possible negative effects of these substances on fetal development speculated on the ability to raise the level of embryonic mortality (embriolethal effect), and call external and structural defects of internal organs and skeletal system (teratogenic effects), total fetal development was assessed in terms of body weight, craniocaudal size diameter, weight and size of the placenta.

The results of our experiment showed that in the group exposed lead acetate defined indicators embryo, namely reducing the number of corpora lutea in the ovaries pregnancy, reducing the number of live embryos compared to the control group experiment.

In the experimental group, the combined effects of acetate and lead citrate reduction of silver was determined by the toxic effect, namely an increase in the number of embryos and the number of corpora lutea, indicating a positive effect of the latter on the reproductive system and embryogenesis.

Analysis of the overall performance of embryonic development in the group that received the combination of lead acetate and silver nanoaquahelats showed improvement of the reproductive system and embryonic development compared with intact group manifested significant increase in the number of live embryos per 1 female at 12,6% – $10,13 \pm 0,4$ vs $9,0 \pm 0,4$, due to increased number of corpora lutea of pregnancy by almost 10% – $11,13 \pm 0,27$ to $10,13 \pm 0,53$ in almost identical terms and preimplantational overall mortality and mortality absence postimplantational.

When comparing the performance of embryonic development in the combination of lead acetate + nanosilver with a group that received a clean solution of lead acetate may be noted increase in the number of live fetuses – at 35.13%, due to an increase of 32.7% corpora lutea of pregnancy, a decrease of 2.7 times the level of total mortality by reducing preimplantational mortality 2.6 times and lack postimplantational mortality.

The results of our experiments have shown that the combined administration of low doses of lead + nanosilver an increase in the number of corpora lutea of pregnancy, number of live fetuses, due to the decrease in general and preimplantational embryonic mortality. The above gives reason to believe that the introduction of solutions of nanoaquahelats of silver background toxicity of lead acetate prevents the negative influence of the latter on the reproductive system and processes of embryonic development of the fetus in experimental conditions and shows their bioantagonism.

Key words: nanosilver, lead acetate, embryogenesis, bioantagonism.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Стаття надійшла 17. 09. 2013 р.