

© Шаторна В. Ф., Майор В. В.

УДК 618.36-092.9:611.018:546.81:661.8:616-099

Шаторна В. Ф., Майор В. В.

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЛАЦЕНТИ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА ЙОГО КОМБІНАЦІЙ З ЦИТРАТАМИ МЕТАЛІВ НА РІЗНИХ ТЕРМІНАХ ВАГІТНОСТІ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

(м. Дніпропетровськ)

verashatornaya@yandex.ru

Дослідження виконано відповідно договору про наукову співпрацю між Національним медичним університетом ім. О. О. Богомольця, Інститутом нанобіотехнологій та ресурсозбереження України та ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» у рамках науково-дослідної роботи «Біологічні основи морфогенезу органів та тварин під впливом нанометалів в експерименті» (№ державної реєстрації 0115U004879).

Вступ. Свинець є металом, що контролюється у багатьох країнах як пріоритетного забруднювача довколишнього середовища, його сполуки легко поширюються в атмосфері у вигляді аерозолів, пилу та смогу. Потрапляючи в організм людини, свинець уражає органи кровотворення, нервову, серцево-судинну, травну та інші системи органів [1,5,7,9] є репродуктивна токсичність свинцю, що здатний проходити гемато-плацентарний бар'єр та призводити до патологічних процесів в організмі плоду та плаценті [2,3,6].

Особливу увагу останнім часом приділяють вивченню впливу на організм низьких концентрацій свинцю, які в умовах техногенних забруднень ототожнюють з гранично допустимими для об'єктів навколишнього середовища [9,11,12,13]. Для оцінки впливу речовин на організм потрібно враховувати інформацію про сукупний вплив елементів на стан біологічних систем. Хімічні елементи функціонуючи в організмі взаємодіють один з одним, ці взаємодії можуть виявлятися у формі синергічних або антагоністичних ефектів [8]. Фізіологічними антагоністами свинцю є цинк, залізо, кальцій, магній, фосфор, селен, а також вітаміни А, С, Е, В-комплекс, фолієва кислота, сірковмісні амінокислоти [8]. Пошук нових біоантагоністів для свинцю є актуальною задачею, дослідження модифікуючого впливу тих чи інших мікроелементів може дозволити вирішити питання профілактики інтоксикації населення промислових територій.

Мета дослідження. Виявлення особливостей морфофункціонального стану плаценти щурів, особливостей фетоплацентарного кровообігу та розвитку судин плаценти, що виникають під впливом низьких доз ацетату свинцю та при його комбінованому введенні з цитратами золота або срібла.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальну частину дослідження проведено

на 64 білих самицях щурів лінії «Вістар», початковою вагою 150-180 г, віком 2,5-3 місяці. На підготовчому етапі перед проведенням експерименту вивчали функціональний стан яєчників, визначали стадії естрального циклу шляхом вивчення вагінального мазка, перший день вагітності визначали за наявністю сперматозоїдів у вагінальних мазках.

Проведення експерименту здійснювалось із дотриманням принципів біоетики, що викладені у Хельсинській декларації Всесвітньої медичної асоціації про гуманне ставлення до тварин, а також згідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 15.12.2009 р. № 1759-VI та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001).

Тварини були поділені на чотири групи по 16 особин: 1 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05мг/кг; 2 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05мг/кг та розчин цитрату золота у дозі 1,5 мкг/кг; 3 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05мг/кг та розчин цитрату срібла у дозі 2 мкг/кг; 4 група – контрольна. Розчини досліджуваних речовин вводили щоденно протягом вагітності внутрішньошлунково через зонд у один й той самий час. Частину тварин (n=32) виводили з експерименту на 16-ту добу вагітності, іншу частину (n=32) на 20-ту добу шляхом передозування ефірного наркозу, вилучали плоди та плаценти вагітних щурів.

Для вивчення плацент на тканинному рівні, відібраний матеріал був зафіксований у розчині 10% нейтрального формаліну з наступним виготовленням серійних парафінових гістологічних зрізів, що

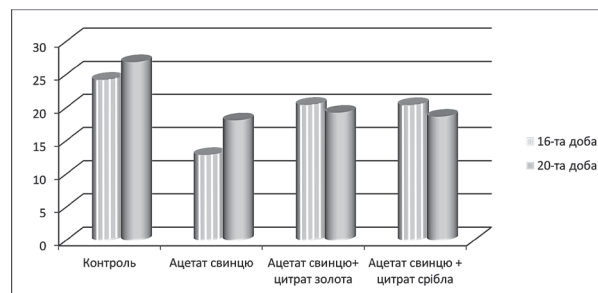


Рис. 1. Показники відносного об'єму материнських лакун плаценти щурів контрольної та дослідних груп на різних термінах вагітності, %.

МОРФОЛОГІЯ

Таблиця 1.

Відносні об'єми гістологічних елементів плаценти щурів, %

після депарафінування були пофарбовані гематоксиліном та еозином. Для виявлення ступеня накопичення глікогену у плаценті проводили ШИК-реакцію. Отримані дані оброблялись методом варіаційної статистики з використанням критеріїв Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. При гістологічному дослідженні препаратів плацент щурів у всіх групах виявлені складові гемохоріальної плаценти щурів, що присутні в нормі. Основним за товщиною був лабіринтний шар плаценти, в якому спостерігали фетальні судини та балочки, всередині яких знаходились капіляри. Наступним за товщиною був шар спонгіотрофобласту, в якому виявляли мате-

Група	Доба	Показник			
		Материнські лакуни	Глікогенні клітини	Велетенські клітини	Плодові судини
Контроль	16	24,19±1,69	15,86±0,72	10,24±0,59	5,37±0,31
	20	26,88±1,79	4,98±0,79	14,42±1,36	5,35±0,47
Ацетат свинцю	16	12,86±1,35 ***	25,81±3,07*	6,07±0,78 ***	5,61±0,54
	20	18,09±1,61**	6,46±0,82	16,69±2,11	4,54±0,29*
Ацетат свинцю+цитрат золота	16	20,42±1,59 oo	19,80±1,30*	9,12±0,82°	5,35±0,55
	20	19,24±1,04 **	6,9±0,39*	14,22±1,78	4,25±0,28*
Ацетат свинцю+цитрат срібла	16	20,39±1,41°	24,52±1,92 **	6,42±0,38 ***	5,74±0,58
	20	18,64±1,68*	12,82±1,21 ***,ooo	13,57±1,94	5,05±0,34

Примітки: * p < 0,05; ** p < 0,001; *** p < 0,0001 по відношенню до контрольної групи;

° p < 0,05; °° p < 0,001; °°° p < 0,0001 по відношенню до групи свинцевої інтоксикації.

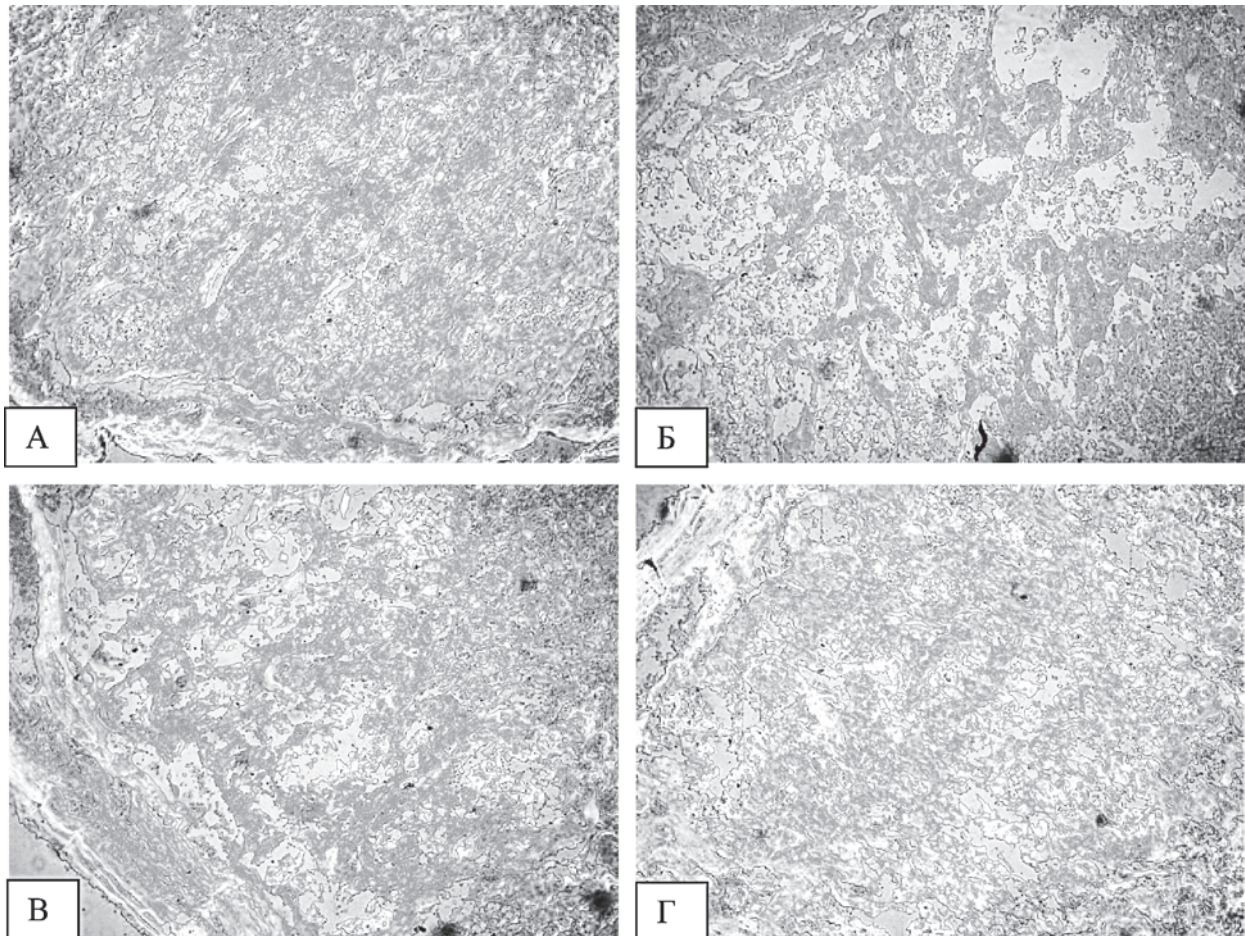


Рис. 2. Мікрофотографія зони спонгіотрофобласту плаценти 16-ї доби вагітності. А – контрольна група, Б – група ацетату свинцю, В – група комбінованого впливу ацетату свинцю та цитрату золота, Г – група комбінованого впливу ацетату свинцю та цитрату срібла. Забарвлення ШИК, 36.х100.

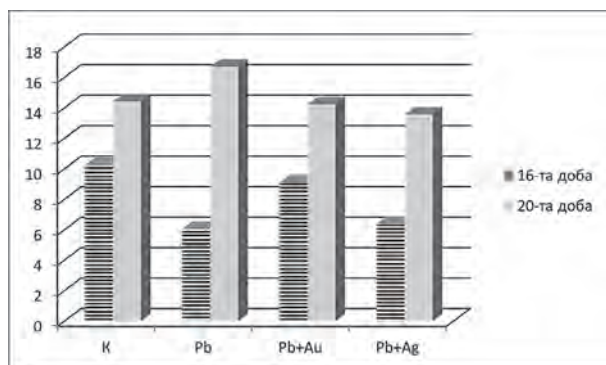


Рис. 3. Відносний об'єм велетенських клітин трофобласту плаценти щурів у контрольній та дослідних групах на різних термінах вагітності, %.

ринські лакуни, островки глікогенних клітин та клітини трофобласту. Найбільш периферичний шар – децидуальна оболонка, була представлена шаром сплюснених децидуальних клітин. На межі спонгіотрофобласту та децидуальної оболонки розташовувались ряд велетенських клітин трофобласту.

Аналіз результатів досліджень плацент щурів показав, що в результаті введення дослідним тваринам протягом вагітності низьких доз ацетату свинцю відбувається погіршення матково-плацентарного кровообігу, що проявляється у зменшенні відносного об'єму материнських лакун на 16-тій добі на 47% та на 20-тій добі на 33% у порівнянні із контрольною групою. В результаті введення цитратів золота або срібла на фоні інтоксикації свинцем, відбувається покращення цього показника у порівнянні із групою ізольованого введення (табл. 1, рис. 1): на 16-ту добу відносний об'єм лакун в обох групах комбінованого введення достовірно ($p < 0,001$) вищий на 58% порівняно із групою введення ацетату свинцю, але досліджувані показники на 20-ту добу вагітності не значно відрізняються від дослідної групи інтоксикації.

В шарі спонгіотрофобласту значну частину займають глікогенні клітини, що виконують трофічну

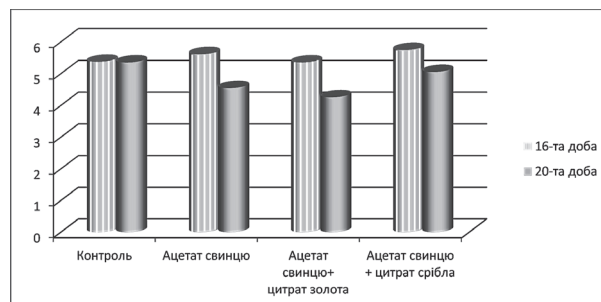


Рис. 4. Показники відносного об'єму плодкових судин лабиринтної зони плаценти щурів на різних термінах вагітності, %.

функцію та приймають участь у вуглеводному обміні. Відносний об'єм цих клітин за умов ізольованого введення свинцю на 16 добі вагітності зростає на 63% ($p < 0,05$) у порівнянні із контролем, але глікогенні клітини є запустілими (рис. 2), що може призводити до енергетичного дефіциту у плоду, оскільки за екстремальних умов, в яких перебуває плід, в першу чергу витрачається глікоген із органів і тканин матері, в тому числі із плаценти. На 20 добі вагітності цей показник також є збільшеним у порівнянні із контролем на 30% (табл. 1).

У групах комбінованого введення як на 16-тій, так і на 20-тій добі вагітності відносний об'єм глікогенних клітин також є високим, але на відміну від групи ізольованого введення свинцю клітини містять велику кількість гранул глікогену (рис. 2), що говорить про покращення трофічної функції плаценти.

Аналіз результатів показника відносного об'єму велетенських клітин зони спонгіотрофобласту показав, що у групі введення розчину ацетату свинцю на 16 дні вагітності помітно зниження відносного об'єму велетенських клітин на 40% у порівнянні із контролем ($p < 0,0001$), що свідчить про порушення ендокринної функції плаценти на цьому терміні вагітності. У групах комбінованого введення ацетату свинцю із цитратами металів спостерігається підвищення відносного об'єму велетенських клітин у порівнянні із групою інтоксикації: на 34% у групі

Таблиця 2.

Діаметр судин плаценти щура

Група	Діаметр центральних судин, мкм		Діаметр крайових судин, мкм		Середній показник, мкм	
	16-та доба	20-та доба	16-та доба	20-та доба	16-та доба	20-та доба
Контроль	58,68±2,95	61,71±5,50	41,52±3,59	53,70±2,91	50,10±2,78	57,71±3,14
Свинець	60,76±3,60	83,77±6,99*	44,55±3,69	52,66±3,87	52,65±2,94	68,21±4,66
Свинець+золото	56,77±2,09	66,45±3,20°	32,42±1,66*;**	49,01±3,18	44,59±2,61°	57,73±2,63°
Свинець+срібло	48,70±2,04*;*°	45,68±3,60***	32,57±2,3*	49,40±5,65	40,64±2,13**;*°	47,54±3,32*;*°

Примітки: * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$; *** $p < 0,0001$ по відношенню до контрольної групи;

° $p < 0,05$; *° $p < 0,001$; **° $p < 0,0001$ по відношенню до групи свинцевої інтоксикації.

комбінації із цитратом золота ($p < 0,05$ до групи ацетату свинцю) та на 5% у групі комбінації із цитратом срібла. На 20-й день вагітності показник відносного об'єму велетенських клітин у групах комбінованого введення не відрізняється від контролю (**рис. 3**).

Аналізуючи показник відносного об'єму плодових судин лабіринтної зони, було визначено, що цей показник у контрольній групі зберігається сталим з 16-го до 20-го дня вагітності та складає близько 5,3%. У дослідних групах ізольованого введення ацетату свинцю та його комбінацій з цитратами металів спостерігалось зменшення відносного об'єму фетальних судин на 20-тій добі вагітності щурів (**рис. 4**).

В результаті впливу низьких доз ацетату свинцю на 16 та 20 добі вагітності не виявлено достовірної різниці у середньому діаметрі фетальних судин плаценти (**табл. 2**), але центральні судини на 20 добу були розширені у порівнянні із контролем майже на 35% ($p < 0,05$), що може бути пов'язано із строками васкуляризації, центральні судини піддаються більш тривалому впливу токсиканту у порівнянні із крайовими, що формуються пізніше.

При введенні ацетату свинцю у комбінації з цитратом золота на 16 добі вагітності у плаценті щурів центральні судини не відрізняються за діаметром від контрольної групи, крайові судини звужені. На 20 добі вагітності немає достовірної

різниці у діаметрі як центральних, так і крайових судин, середній діаметр є найближчим до контролю серед інших дослідних груп. При введенні цитрату срібла на фоні інтоксикації свинцем спостерігається зниження середнього діаметру фетальних судин на 19% ($p < 0,001$) на 16 добі вагітності та на 21% ($p < 0,05$) на 20 добі вагітності щурів.

Висновки. Аналіз результатів проведеного експериментального дослідження показав токсичний вплив ацетату свинцю на морфофункціональний стан плаценти щурів, порушення трофічної та ендокринної функції. Були виявлені зміни кровообігу плаценти, які виявлялись у зниженні відносного об'єму судин та материнських лакун, зниженні кровонаповнення. В результаті комбінованого введення цитратів металів з ацетатом свинцю спостерігалось покращення показників морфофункціонального стану плаценти щурів у порівнянні із групою ізольованого введення ацетату свинцю, підвищення кількості глікогену, нормалізація показника відносного об'єму велетенських клітин, посилення кровонаповнення плаценти.

Перспективи подальших досліджень. В подальших дослідженнях планується провести порівняльний аналіз з впливу ацетату свинцю при ізольованому введенні та при комбінованому з цитратами металів на ембріогенез та плацентогенез щурів.

Література

1. Апихтіна О.Л. Вазотоксична дія свинцю: ендотеліальна дисфункція як наслідок порушень у системі ендогенного оксиду азоту / О.Л. Апихтіна // Журнал АМН України. – 2009. – Т. 15, № 2. – С. 346-354.
2. Білецька Е.М. Вплив свинцю у макроформі і у вигляді цитрату, отриманого за нанотехнологією, на перебіг вагітності та антенатальний розвиток щурів / Е.М. Білецька, Н.М. Онул // Медицина сьогодні і завтра. – 2013. – № 2 (59). – С. 5-9.
3. Грызлова Л.В. Влияние ацетата свинца на плацентарный барьер и на развитие костной ткани в раннем онтогенезе (экспериментальные исследования): автореф. дис. на соиск. уч. степ. канд. биол. наук: спец. 16.00.02 «Патология, онкология и морфология животных» / Л.В. Грызлова. – Саранск, 2006. – 21 с.
4. Динерман А.А. Роль загрязнителей окружающей среды в нарушении эмбрионального развития / А.А. Динерман. – М: Медицина, 1980. – 191 с.
5. Зербино Д.Д. Свинец — этиологический фактор поражения сосудов: основные доказательства / Д.Д. Зербино, Т.И. Соломенчук, Ю.А. Поспишил // Мистецтво лікування. – 2009. – № 8 (64). – С. 1214.
6. Куликова Г.В. Влияние низкой концентрации свинца на плаценту и плод (экспериментальное исследование): автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук: спец. 03.00.25 «Гистология, цитология, клеточная биология» / Г.В. Куликова. – М., 2008. – 27 с.
7. Морфометрический анализ почек белых крыс при воздействии ацетата свинца / Ю.В. Киреева, О.С. Шубина, Н.А. Мельникова [и др.] // Современные наукоемкие технологии. – 2010. – № 11. – С. 98-99.
8. Скальный А.В. Биоэлементы в медицине / А.В. Скальный, И.А. Рудаков. – М: «Мир», 2004. – 271 с.
9. Трахтенберг И.М. Роль свинца и железа, как техногенных химических загрязнителей, в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний / И.М. Трахтенберг, И.П. Лубянова, Е.Л. Апыхтина // Therapia. – 2010. – № 7-8. – С. 36-39.
10. Шубина О.С. Влияние свинцовой интоксикации на морфофункциональное состояние системы плацента-плод / О.С. Шубина, Ю.В. Киреева // Вестник ОГУ. – 2008. – № 6 (88). – С. 118-121.
11. Bellinger D.C. Teratogen update: lead and pregnancy / D.C. Bellinger // Birth Defects Res A Clin Mol Teratol. – 2005. – Vol. 73, № 6. – P. 409-420.
12. Lidsky T.I. Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates / T.I. Lidsky, J.S. Schneider // Brain. – 2003. – Vol. 126, № 1. – P. 5-19.
13. Semczuk M. New data on toxic metal intoxication (Cd, Pb, and Hg in particular) and Mg status during pregnancy / M. Semczuk, A. Semczuk-Sikora // Med Sci Monit. – 2001. – Vol. 7, № 2. – P. 332-340.

УДК: 618.36-092.9:611.018:546.81:661.8:616-099

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЛАЦЕНТИ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА ЙОГО КОМБІНАЦІЙ З ЦИТРАТАМИ МЕТАЛІВ НА РІЗНИХ ТЕРМІНАХ ВАГІТНОСТІ

Шаторна В. Ф., Майор В. В.

Резюме. В результаті проведеного експериментального дослідження виявлено токсичний вплив ацетату свинцю на морфофункціональний стан плаценти щурів, порушення трофічної функції. Спостерігались

зміни кровообігу плаценти, які проявлялись у зниженні відносного об'єму судин та материнських лакун, зниженні кровонаповнення. В результаті введення цитратів металів на тлі свинцевої інтоксикації відзначено покращення показників морфофункціонального стану плаценти щурів у порівнянні із групою ізольованого введення ацетату свинцю, підвищення кількості глікогену, нормалізація показника відносного об'єму велетенських клітин, посилення кровонаповнення плаценти.

Ключові слова: ацетат свинцю, цитрат золота, цитрат срібла, плацента щурів.

УДК: 618.36-092.9:611.018:546.81:661.8:616-099

ОСОБЕННОСТИ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЛАЦЕНТЫ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ АЦЕТАТА СВИНЦА И ЕГО КОМБИНАЦИЙ С ЦИТРАТАМИ МЕТАЛЛОВ НА РАЗНЫХ СРОКАХ БЕРЕМЕННОСТИ

Шаторна В. Ф., Майор В. В.

Резюме. В результате проведенного экспериментального исследования выявлено токсическое воздействие ацетата свинца на морфофункциональное состояние плаценты крыс, нарушение трофической функции. Наблюдались изменения кровообращения плаценты, которые проявлялись в уменьшении относительного объема сосудов и материнских лакун, снижении кровенаполнения. В результате введения цитратов металлов на фоне свинцовой интоксикации отмечено улучшение показателей морфофункционального состояния плаценты крыс по сравнению с группой изолированного введения ацетата свинца, повышение количества гликогена, нормализация показателя относительного объема гигантских клеток, усиление кровенаполнения плаценты.

Ключевые слова: ацетат свинца, цитрат золота, цитрат серебра, плацента крыс.

UDC: 618.36-092.9:611.018:546.81:661.8:616-099

CHARACTERISTICS OF RATS PLACENTA FUNCTIONAL STATE UNDER THE INFLUENCE OF LEAD ACETATE AND ITS COMBINATIONS WITH CITRATE METALS ON VARIOUS TERMS OF PREGNANCY

Shatorna V. F., Maior V. V.

Abstract. Lead is a metal that is controlled in many countries as a priority pollutant of environment, its compounds are easily spread in the atmosphere as aerosols, dust and smog. It affects blood forming organs, nervous, blood circulative and digestive systems. It is known that lead passes through placental barrier and leads to pathological processes in the body of the fetus and placenta. Particularly sensitive to lead exposure pregnant woman and fetus. So it is important to find ways to protect mother's and child's organism from the negative effects of lead.

Study of influence of low doses of lead acetate is important aim of modern scientific works. For estimation of influence of substances on the human body need to be informed about the cumulative effect of the elements on condition of biological systems. Chemical elements interact with each other, these interactions can be detected in the form of synergistic or antagonistic effects. Lead is a physiological antagonist zinc, iron, calcium, magnesium, phosphorus, selenium, and vitamins A, C, E, B complex, folic acid, sulfur-containing amino acids. Search for new bioantagonists for lead is an urgent task, study the impact of modifying certain micronutrients can afford to solve the issue of prevention of intoxication population of industrial areas.

The aim of the research work: to investigate morphological and functional state of rat placenta, placental blood flow and features of placental the vessels under the influence of gold and silver citrates on a background of lead intoxication.

Study was conducted on 64 white mature pregnant female rats Wistar. All animals were divided into 4 groups (16 animals in each group): Group I — animals injected with solution of lead acetate at a dose of 0.05 mg/kg, group II — animals injected with solution of lead acetate at a dose of 0.05 mg/kg and solution of gold citrate at a dose of 1.5 mcg/kg; III group — animals injected with solution of lead acetate at a dose of 0.05 mg/kg and solution of silver citrate at a dose of 2 mcg/kg; IV group – control, animals injected with distilled water. Rats were mated by the standard scheme. First day of pregnancy was identified from the moment of determining of sperm in vaginal swab. Solutions of heavy metals and nanometals were injected to pregnant female through a tube once a day, at one and the same time. Operative slaughter was performed on 16th and 20th day of pregnancy. The animals were taken out of the experiment by an overdose of ether anesthesia.

Histological slides of placenta were made by standard methods, placentas were fixed in a solution of 10% neutral formalin, dehydrated with successively stronger concentrations of ethyl alcohol, embedded in paraffin wax and sectioned on a microtome, stained with hematoxylin and eosin.

Analysis of the results of the conducted research work showed toxic effects of lead acetate on morphofunctional condition of the placenta in rats, violations of trophic and endocrine function. Changes of placental blood flow were detected, which were identified in reducing the relative volume of the parent vessel and lacunas, reducing blood supply. As a result of the injection of metal citrates the improvement of functional state of the placenta in rats was observed. Increasing the number of glycogen, normalization of the relative volume of giant cells, increased blood supply of the placenta were found in comparison with group of lead intoxication.

Keywords: lead acetate, gold citrate, silver citrate, rat placenta.

Рецензент — проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 15.05.2016 року