

© Майор В. В., Шаторна В. Ф.

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

Майор В. В., Шаторна В. Ф.

## АНАЛІЗ ВПЛИВУ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА ЙОГО ПОЄДНАНОГО ВПЛИВУ З ЦИТРАТАМИ МЕТАЛІВ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЛАЦЕНТИ ЩУРІВ ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпро)

verashatornaya@yandex.ru

Дослідження виконано у рамках науково-дослідної теми «Біологічні основи морфогенезу органів та тварин під впливом нанометалів в експерименті» (№ державної реєстрації 0115U004879).

**Вступ.** Стан демографічної ситуації в Україні за останні десятиріччя викликає занепокоєння багатьох вчених у зв'язку з тим, що зростання депопуляції населення обумовлено як соціальними, так і екологічними факторами. Так, у багатьох регіонах України і в промислово розвиненому Дніпропетровському регіоні, тиск антропогенних чинників навколишнього середовища досяг критичного рівня. В умовах прогресування техногенного забруднення довкілля одним з провідних питань є вивчення особливостей впливу солей важких металів на стан органів і тканин репродуктивної системи людини та тварин. Потрапляючи в організм людини, свинець уражає органи кровотворення, нервову, серцево-судинну, травну та інші системи органів [1,5,7,9], досить значним є вплив сполук свинцю на репродуктивну систему, він здатний проходити гемато-плацентарний бар'єр та призводити до патологічних процесів в організмі плоду та плаценті [2,3,6].

Широке застосування сполук свинцю викликало масштабне екологічне забруднення, вплив на людей і суттєві проблеми суспільної охорони здоров'я в багатьох частинах світу. ВООЗ визначила свинець одним з 10 хімічних речовин, що викликають основну стурбованість у сфері охорони здоров'я і вимагають дій з боку держав-членів, для того щоб захистити здоров'я трудящих, дітей та жінок дітородного віку, тому сучасні дослідники особливу увагу приділяють вивченню впливу на організм низьких концентрацій свинцю, які в умовах техногенних забруднень ототожнюють з гранично допустимими для об'єктів навколишнього середовища [9,11,14,16]. Для оцінки впливу речовин на організм потрібно враховувати інформацію про сукупний вплив елементів на стан біологічних систем. Хімічні елементи функціонуючі 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.** Аналіз морфофункціонального стану плаценти щурів під впливом низьких доз ацетату свинцю та при його комбінованому введенні з цитратами золота або срібла, отриманих за аквананотехнологією.

**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. Тварини були поділені на чотири групи по 16 особин: 1 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05 мг/кг; 2 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05 мг/кг та розчин цитрату золота у дозі 1,5 мкг/кг; 3 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05 мг/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 після депарафінування були пофарбовані гематоксиліном та еозином. Для виявлення ступені накопичення глікогену у плаценті проводили ШИК-реакцію. Отримані дані оброблялись методом варіаційної статистики з використанням критеріїв Стьюдента.

Проведення експерименту здійснювалось із дотриманням принципів біоетики, що викладені у Хельсінській 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).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Зміна масометричних показників плацент контрольної та дослідних груп залежить від терміну вагітності і становить на 16-тій добі вагітності — 0,282±0,004 - 0,311±0,008 г, а на 20-тій добі вагітності — 0,54±0,01 - 0,59±0,02 г. Найвищий показник маси плаценти на обох досліджуваних термінах вагітності визначається в контрольній групі, для дослідної групи ізольованого введення ацетату свинцю характерним є зниження маси у порівнянні із нормою на 9,3%

**Показники відносного об'єму клітин Кащенко-Гофбауера плацент контрольної та дослідних груп, %**

Показник	Контроль		Ацетат свинцю		Ацетат свинцю+ цитрат золота		Ацетат свинцю+ цитрат срібла	
	16-та доба	20-та доба	16-та доба	20-та доба	16-та доба	20-та доба	16-та доба	20-та доба
Клітини Кащенко-Гофбауера	15,66±0,87	3,66±0,10	21,57±0,96 ***	8,88±0,43 ***	20,81±1,35 **	17,19±0,47 ***, °°°	17,90±1,45 °	12,30±0,61 ***, °°°

Примітка.

\*\* 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.

(p<0,001) на 16-тій добі вагітності та на 3,4% (p>0,05) на 20-тій добі.

Аналіз масометричних показників плаценти щурів в групах комбінованого введення ацетату свинцю з цитратами золота або срібла виявив тенденцію до зниження на обох термінах вагітності у порівнянні із контролем без достовірної різниці, але продемонстрував перевищення показників групи ізольованого введення на 16-тій добі вагітності на 9,2% (p<0,05), у групі ацетат свинцю + цитрат золота та на 8,8% (p<0,01), у групі ацетат свинцю + цитрат срібла.

Діаметр плаценти контрольної та дослідних груп на 16-тій добі вагітності коливається в межах 1,04±0,02 - 1,10±0,01 см, на 20-тій добі вагітності – у межах 1,44±0,03 см (ацетат свинцю) — 1,51±0,04 см (контроль) та не має статистично достовірної різниці. В групах комбінованого введення цей показник дещо вищий за діаметр групи ізольованого введення та складає 1,47±0,02 см у групі ацетат свинцю + цитрат золота та 1,46±0,02 см у групі ацетат свинцю + цитрат срібла.

Гистоморфометричні дослідження виявили зміни товщини плаценти 16-ї та 20-ї доби вагітності у всіх дослідних групах, а також зміну співвідношення материнського та плодового шарів за рахунок зменшення плодової частки (лабіринтної зони) та зростання материнської (децидуальна оболонка та спонгіотрофобласт). На 16-тій добі вагітності у всіх дослідних груп відзначається відставання розвитку плаценти, зниження її загальної товщини у порівнянні до контролю. У групі введення ацетату свинцю цей показник нижчий від контрольних значень на 5% (p<0,05), у групі комбінованого введення ацетату свинцю з цитратом золота – на 14,2% (p<0,0001), у групі комбінації ацетату свинцю з цитратом срібла – на 8,1% (p<0,001).

На 20-тій добі вагітності проявляються компенсаторні пристосування плаценти у групах комбінованого введення ацетату свинцю та цитратів металів, відбувається нормалізація показника відсоткового співвідношення материнської та плодової частин, зростання загальної товщини плаценти за рахунок розростання лабіринтної зони, в якій активно проходять процеси ангиогенезу. На 20-тій добі вагітності загальна товщина плаценти контрольної групи складає 2638,47±62,88 мкм, в групі ізольованого введення цей показник вищий у порівнянні із контрольною групою у на 12,5% (p<0,001), у групі ацетат свинцю + цитрат золота вищий на 14,5% (p<0,0001), у групі ацетат свинцю + цитрат срібла вищий на 14,7% (p<0,0001).

Збільшенню товщини зони лабіринту, який складається із фетальних капілярів та плодових судин, а також синусів, в яких знаходиться материнська кров, на нашу думку сприяв високий рівень клітин Кащенко-Гофбауера, які як відомо, впливають на процеси морфогенезу плаценти, виробляючи різні фактори

росту та цитокіни [12,17]. У групах комбінованого введення ацетату свинцю та цитратів металів рівень цих макрофагів в декілька разів перевищував норму на 20-тій добі вагітності (табл.).

Таким чином, в результаті введення дослідним тваринам протягом вагітності низьких доз ацетату свинцю відбувається погіршення матково-плацентарного кровообігу, плодові судини та капіляри містять невелику кількість формених елементів крові, зустрічається явище сладжу еритроцитів в капілярах та материнських лакунах. В плацентах самиць груп комбінованого введення ацетату свинцю та цитратів металів виявлено високу ступінь кровонаповнення плацент, що сприяє посиленню доставки кисню та поживних речовин та сприяє нормальному розвитку плоду.

Аналіз змін діаметру центральної матково-плацентарної артерії показав, що на 16-тій добі вагітності у групах комбінованого введення ацетату свинцю та цитратів металів відбувається достовірне збільшення цього показника відносно контрольної групи. На 20-тій добі вагітності достовірна різниця між контрольною та дослідними групами відсутня. На нашу думку розширення діаметру центральної матково-плацентарної артерії, що несе кров матері, є пристосувальною реакцією, що сприяє кращому кровопостачанню плаценти.

**Висновки.** Аналіз отриманих експериментальних даних при введенні цитратів металів щурам на фоні інтоксикації свинцем до 20-ї доби вагітності визначається покращенням морфофункціональних показників розвитку плаценти у порівнянні із групою ізольованого введення свинцю, а саме: збільшення діаметру плаценти, розростання лабіринтного відділу, зростання відносного об'єму клітин Кащенко-Гофбауера, збільшення діаметру центральної матково-плацентарної артерії, що свідчить про зниження токсичної дії свинцю на морфофункціональний стан плаценти вагітних щурів в експерименті.

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

## Література

1. Апихтіна О.Л. Вазотоксична дія свинцю: ендотеліальна дисфункція як наслідок порушень у системі ендogenous 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. Соколенчук, 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. дисс. 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. Human placental Hofbauer cells express sprouty proteins: a possible modulating mechanism of villous branching / E.Y. Anteby, S. Natanson-Yaron, C. Greenfield [et al.] // Placenta. – 2005. – № 6. – P. 476-480.
13. Kingdom J.C. Oxygen and placental villous development: origins of fetal hypoxia / J.C. Kingdom, P. Kaufmann // Placenta. – 1997. – № 18. – P. 613-621.
14. 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.
15. Schwartz D.A. Chorangiomas and its precursors: Underdiagnosed placental indicators of chronic fetal hypoxia / D.A. Schwartz // Obstet Gynecol Surv. – 2001. – № 56. – P. 523-525.
16. 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.
17. Sequential expression of VEGF and its receptors in human placental villi during very early pregnancy: differences between placental vasculogenesis and angiogenesis / R. Demir, U.A. Kayisli, Y. Seval [et al.] // Placenta. – 2004. – № 6. – P. 560-572.
18. Stanek J. Hypoxic Patterns of Placental Injury: a review / J. Stanek // Archives of Pathology & Laboratory Medicine. – 2013. – № 137. – P. 706-720.

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

### АНАЛІЗ ВПЛИВУ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА ЙОГО ПОЄДНАНОГО ВПЛИВУ З ЦИТРАТАМИ МЕТАЛІВ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЛАЦЕНТИ ЩУРІВ

Майор В. В., Шаторна В. Ф.

**Резюме.** Проведене експериментальне дослідження виявило, що при введенні цитратів металів дослідним тваринам на фоні інтоксикації свинцем до 20-ї доби вагітності формуються компенсаторні пристосування у плаценті, що призводять до покращення морфофункціональних показників розвитку у порівнянні із групою ізольованого введення свинцю, а саме: збільшення діаметру плаценти, розростання лабіринтного відділу, зростання відносного об'єму клітин Кашченко-Гофбауера, збільшення діаметру центральної матково-плацентарної артерії, що призводить до посиленого кровопостачання плаценти. Сукупність даних ознак сприяє формуванню живого плоду під час вагітності, що супроводжується хронічною свинцевою інтоксикацією.

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

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

### АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ АЦЕТАТА СВИНЦА И ЕГО СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ С ЦИТРАТАМИ МЕТАЛЛОВ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЛАЦЕНТЫ КРЫС

Майор В. В., Шаторная В. Ф.

**Резюме.** Проведенное экспериментальное исследование показало, что при введении цитратов металлов экспериментальным животным на фоне интоксикации свинцом к 20 суткам беременности формируются компенсаторные приспособления в плаценте, приводящие к улучшению морфофункциональных показателей развития по сравнению с группой изолированного введения свинца, а именно: увеличение диаметра плаценты, разрастание лабиринтного отдела, увеличение относительного объема клеток Кашченко-Гофбауера, увеличение диаметра центральной маточно-плацентарной артерии, что приводит к усиленному кровоснабжению плаценты. Совокупность данных признаков способствует формированию живого плода во время беременности, сопровождающейся хронической свинцовой интоксикацией.

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

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

### **ANALYSIS OF THE INFLUENCE OF LEAD ACETATE AND THE COMBINED EFFECT OF METAL CITRATES ON THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE PLACENTA OF RATS**

**Maior V. V., Shatorna V. F.**

**Abstract.** At the present time well known fact is the environmental contamination of heavy metal compounds, the most common of which is lead and its compounds. Getting in the body, lead affects hemopoietic organs, nervous, cardiovascular, digestive system and other organs, very significant is the effect of lead compounds on the reproductive system, it is able to pass the blood-placental barrier and lead to pathological processes in the body of the fetus and placenta. To assess the influence of substances on the organism need to be informed about the cumulative effect of the elements on condition of biological systems. Chemical elements functioning in the body interact with one another, these interactions can be detected in the form of synergistic or antagonistic effects. Lead is a physiological antagonist to 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 help 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 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.

The experimental research showed that the injection of citrate metal to experimental animals against the backdrop of lead intoxication to the 20th day of pregnancy forming compensatory adaptation in the placenta, leading to improved morphological development indicators in comparison with a group of isolated injection of lead acetate – increasing the diameter of the placenta, the expansion labyrinthine zone, increase the relative volume of the Hofbauer cells, increasing the diameter of the central uterine-placental arteries, which leads to increased blood flow to the placenta. The combination of these features contributed to the formation of a living fetus during pregnancy, which is followed by chronic lead intoxication.

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

*Рецензент – проф. Білаш С. М.*  
Стаття надійшла 06.10.2016 року