

УДК: 611.12-034:591.33-092.9

Шаторна В. Ф., Гарець В. І., Колосова І. І., Кононова І. І., Слесаренко О. Г.

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ В ЯЄЧНИКАХ ЩУРІВ  
ПІД ВПЛИВОМ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ В КОМБІНАЦІЇ З ЦИТРАТОМ СРІБЛА  
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпро)**

verashatornaya67@gmail.com

Дослідження виконано у рамках науково-дослідної роботи кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки Державного закладу «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Біологічні основи морфогенезу органів та тканин під впливом нанометалів в експерименті» (№ державної реєстрації 0115U004879).

**Вступ.** Останні десятиріччя характеризуються зростанням депопуляції населення, що обумовлено як соціальними так і екологічними факторами [1,7,8,10]. Так, у промислово розвиненому Дніпропетровському і багатьох інших регіонах України тиск антропогенних чинників навколишнього середовища досяг критичного рівня [11, 14, 16]. У числі сполук, що є забруднювачами довкілля, одне з чільних місць посідає свинець та його сполуки, які є токсинами політропної та поліпатогенетичної дії [2,4]. Висока токсичність цих сполук визначається тим, що вони можуть депонуватись в організмі та призводити до дефіциту есенціальних елементів, заміщуючи їх в металовмісних білках [9]. Свинець та його сполуки вражають ендокринну, імунну, сечовидільну, травну, нервову, серцево-судинну, дихальну та репродуктивну системи, генетичний апарат клітини, проявляють ґонадотоксичну і ембріотоксичну дію [5,6].

Стан репродуктивного здоров'я населення є своєрідним індикатором екологічної ситуації місця проживання, тому в умовах прогресування техногенного забруднення довкілля одним з актуальних питань є вивчення особливостей впливу солей важких металів на репродуктивну систему людини і тварин, оскільки відомо, що дія солей свинцю може призводити до мертвонароджень, викиднів, структурно-функціональних перебудов органів жіночої статеві системи [3,12,13,15]. Малодослідженим є вплив свинцю в концентраціях, які раніше вважалися безпечними, проте є дані, що вони збільшують ризик пренатального і постнатального ураження організму, тому це потребує пошуку ефективних засобів профілактики негативної дії ксенобіотиків, особливо в умовах промислових міст. Одним із перспективних напрямків є дослідження наночастинок мікроелементів, які застосовуються у фармацевтичній та технічній промисловості, сільському господарстві та сучасній медицині. Серед усього різноманіття елементів найбільший інтерес в практичній медицині викликають наночастинки срібла. Срібло має широкий спектр антибактеріальних, антимікотичних та імунomodуючих ефектів, широко використовується в хірургічній практиці [13].

Враховуючи специфіку демографічної ситуації в сучасній Україні, несприятливу тенденцію до збільшення частоти безпліддя та захворювань репродук-

тивної системи стає очевидною необхідність поглибленого дослідження морфофункціонального стану яєчників як ключової ланки цієї системи в умовах дії важких металів та виявлення їх антагоністів. Цим визначається мета, актуальність і перспективність даного наукового дослідження.

**Мета дослідження:** з'ясувати закономірності морфофункціонального стану яєчників щурів та дослідити їх ремоделювання з визначенням змін перебігу загального ембріогенезу за умов ентерального введення ацетату свинцю ізольовано і в комплексі з цитратом срібла, отриманого з використанням нанотехнологій.

**Об'єкт і методи досліджень.** Експериментальні дослідження проведені на 120 білих статевозрілих щурах-самках лінії Wistar (розплідник «Далі-2001» місто Київ, Україна). Утримання експериментальних тварин здійснювалося відповідно до санітарно-гігієнічних норм віварію ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (температура повітря  $22 \pm 2$  °C, світлий / темний цикл 12 / 12 годин, їжа та пиття *ad libitum*). Усі дослідні проводили у відповідності до законодавства України (Закон України № 3447-IV, 2006), правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою (Council of Europe, Strasbourg, 1986). Комісії з біоетики ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 6 від 16.09.2016 р.) встановлено, що проведені наукові дослідження експериментальних тварин відповідають етичним вимогам.

Щури є оптимальним об'єктом експериментального дослідження як поліестричні тварини з низьким рівнем спонтанних вад розвитку, численним послідом, довжиною естрального циклу 4-5 діб, мають подібну до людини будову жіночих статевих залоз, процес фолікулогенезу та закономірності оваріального циклу. Матеріалом для дослідження стали 48 яєчників та 190 плодів (на 12-ту, 16-ту, 20-ту доби пренатального розвитку), що були отримані від білих щурів-самок лінії Вістар.

Усі щури були розділені на 3 групи: дослідна група № 1 – щури, яким ізольовано вводили розчин ацетату свинцю в дозі 0,05 мг/кг; дослідна група № 2 – щури, яким вводили розчин ацетату свинцю в дозі 0,05 мг/кг у комбінації з розчином цитрату срібла в дозі 2 мкг/кг та контрольна група (№ 3) – щури, яким вводили дистильовану воду. Розчини вводили в шлунок самкам через зонд один раз на добу, в один і той же час, з першого дня вагітності та впродовж усієї вагітності. В експериментальних моделях використовували розчин ацетату свинцю (виробник

– ЗАТ «Науково-дослідний центр фармакотерапії»), а також розчин цитрату срібла, отриманого із застосуванням аквананотехнології. Розчин цитрату срібла отримували в Науково-дослідному інституті нанобіотехнологій та ресурсозбереження України (м. Київ) згідно з договором про наукову співпрацю. Використання методик макроскопічних досліджень яєчників дозволило виявити органометричні зміни при впливі досліджуваних чинників та підтвердити отримані результати при мікроскопічних дослідженнях. Отримані результати оброблялись статистично.

### **Результати дослідження та їх обговорення.**

Як показав аналіз отриманих результатів експерименту ентеральне ізольоване введення ацетату свинцю на 12-ту, 16-ту, 20-ту доби ембріогенезу призводить до зменшення маси плодів на 16,7% ( $p < 0,001$ ), 19,9% ( $p < 0,001$ ), та 7,3% ( $p > 0,05$ ), а також кількості живих плодів на 1 самку на 27,0% ( $p < 0,01$ ), 25,3% ( $p < 0,01$ ), 16,6% ( $p < 0,05$ ) відповідно термінів спостереження, за рахунок високих показників ембріолетальності: вдвічі більших передімплантаційної, постімплантаційної та загальної ембріональної смертності щурів. У дослідній групі тварин, які отримували комбінацію ацетату свинцю та цитрату срібла, між величинами загальної, до- та постімплантаційної загибелі ембріонів, кількості живих плодів на 1 самку порівняно з контрольною групою не було достовірної різниці, що засвідчило відсутність виражених змін, до того ж зазначені показники, з урахуванням похибки, знаходились у межах фізіологічного рівня, що характерний для даного виду лабораторних тварин.

Важливим показником токсичного ураження будь-якого органу є його відносна маса та структурні зміни, які в подальшому відображаються на його функції. Аналіз морфометричних показників яєчників показав зменшення їх абсолютної та відносної маси в дослідній групі ізольованого впливу ацетатом свинцю на всіх досліджуваних термінах гестації відносно до контрольної групи. Максимальне зниження зазначених показників відзначено на 16-й добі вагітності. Так, сумарна абсолютна маса яєчників зменшилася на 17,2% ( $p < 0,01$ ), при цьому абсолютна маса правого яєчника знижувалася на 14,4% ( $p < 0,05$ ), лівого – на 20,3% ( $p < 0,01$ ), а сумарна відносна маса яєчників – на 11,7% ( $p < 0,05$ ), при цьому відносна маса правого яєчника знижувалася на 9,0% ( $p > 0,05$ ), лівого – на 14,6% ( $p < 0,05$ ). Такі показники можуть свідчити про дегенеративні процеси у тканинах органу. Об'єктивним підтвердженням негативної дії ацетату свинцю були показники індексу впливу розчинів металів (I) досліджуваної сполуки на масометричні показники яєчників нижче одиниці від  $(0,78 \pm 0,033)$  у.о. до  $(0,93 \pm 0,045)$  у.о., що свідчить про пригнічення морфофункціонального стану гонад. Істотні морфологічні зміни спостерігали в яєчниках щурів групи свинцевого впливу на гістологічному рівні. Примордіальні фолікули розташовувалися переважно поодиночі, а не у вигляді груп, як у контрольній групі, відзначалося значне зниження загального вмісту фолікулів та переважання атретичних, жовті тіла мали овальну і неправильну форму. Таким чином, проведені нами макроскопіч-

ні дослідження виявили особливості впливу низьких доз ацетату свинцю на масометричні параметри яєчників, а саме: пригнічення розвитку яєчників за показниками абсолютної, відносної маси, вагового індексу та певні зміни на мікроскопічному рівні.

У дослідній групі комбінованого введення ацетату свинцю з цитратом срібла виявлено покращення масометричних показників яєчників, на що вказувало збільшення показників абсолютної та відносної маси на всіх досліджуваних термінах вагітності щодо групи ізольованого введення ацетату свинцю. Введення ацетату свинцю з цитратом срібла в організм вагітної самиці щура зменшує токсичність свинцю та позитивно впливає на масометричні показники яєчників і свідчить про наявність компенсаторних реакцій в органі, що підтверджено середніми позитивними значеннями показника I, який складає  $- 1,14 \pm 0,062$  у.о. Вивчення генеративних та стромальних елементів яєчників щурів у дослідній групі комбінованого введення ацетату свинцю з цитратом срібла не виявило суттєвих відмінностей від групи контролю, а порівняно з групою ізольованого введення ацетату свинцю відмічалось покращення досліджуваних показників, а саме: збільшення кількості примордіальних фолікулів ( $+33,3\%$ , ( $p < 0,01$ )) при зменшенні атретичних ( $- 63,8\%$ , ( $p < 0,001$ ), збільшення кількості ( $+17,0\%$ , ( $p < 0,05$ )) та відносної площі жовтих тіл ( $+62,8\%$ , ( $p < 0,05$ )) на всіх стадіях гестації.

Усе вищесказане свідчить про зменшення токсичної дії ацетату свинцю у комбінації з цитратом срібла та про розвиток компенсаторно-приспосувальних реакцій у яєчниках самок щурів.

**Висновки.** Експериментально встановлено, що вплив ізольованого введення ацетату свинцю призводить до зменшення масометричних показників яєчників, прискореної та активної атрезії фолікулів, що проявляється у зниженні загальної кількості примордіальних фолікулів при збільшенні атретичних в яєчнику щурів, зменшенні розмірів жовтих тіл та їх передчасному регресі, розростанні строми органу, гемодинамічних порушеннях, що призводить до поглиблення альтеруючого ефекту ацетату свинцю.

Аналіз отриманих результатів визначив модифікуючу дію цитрату срібла на ембріо- та гонадотоксичність ацетату свинцю, що проявлялося покращенням морфофункціонального стану яєчників дослідних тварин при комбінованому введенні з ацетатом свинцю.

**Перспективним напрямком подальших досліджень** є вивчення впливу наднизьких доз ацетату свинцю в комбінації з цитратом золота на морфофункціональний стан яєчників дослідних тварин.

## Література

1. Aylamazyan E.K. Vliyaniye ekologicheskoy obstanovki na reproduktivnoye zdorov'ye zhenshchiny. Novyy vzglyad na problemu / E.K. Aylamazyan, T.V. Belyayeva, Ye.G. Vinogradova // Vestnik Rossiysk. assots. akusherov-ginekologov. – 1996. – № 2. – S. 13-16.
2. Global'naya strategiya VOZ po pitaniyu, fizicheskoy aktivnosti i zdorov'yu: Rukovodstvo dlya stran po monitoringu i otsenke osushchestvleniya. – Vsemirnaya organizatsiya zdravookhraneniya, 2009. – 47 s. [Elektronnyy resurs]. – Rezhim dostupa: <http://www.euro.who.int/document/E81507r.pdf>.
3. Dudenkova N.A. Vliyaniye atsetata svintsya na strukturnyye izmeneniya yaichnikov samok belykh kryis v period postnatal'nogo ontogeneza / N.A. Dudenkova, O.S. Shubina // Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. – 2015. – № 2. – S. 542.
4. Ivanitskaya N.F. Sochetannoye vozdeystviye svintsya i radiatsii na potomstvo v period predimplantatsii / N.F. Ivanitskaya, YU.N. Talakin, T.YU. Babich // Sovremennyye problemy toksikologii. – 2001. – № 3. – S. 10-18.
5. Morfofunktsional'naya kharakteristika reaktzii nekotorykh organov reproduktivnoy i simpato-adrenalovoy sistem na deystviye atsetata svintsya / T.A. Vylegzhanina, T.Ye. Kuznetsova, Ye.L. Ryzhkovskaya // Ksenobiotiki i zhivyye sistemy: mater. III mezhdunar. nauchn. konf., Minsk, 22-24 oktyabrya 2008 g. – Minsk: Izd. Tsentru BGU, 2008. – S. 25-27.
6. Nef'odova O.O. Viznachennya vplivu atsetatu svintsyu na khhd kardnogenezu shchura v yeksperimentn / O.O. Nef'odova // Vnshnik problem biologicheskoy meditsini. – 2014. – Vip. 4, T. 2 (114). – S. 243-246.
7. Paran'ko N.M. Rol' tyazhelykh metallov v vznikovenii reproduktivnykh narusheniy / N.M. Paran'ko, N.I. Rublevskaya, E.N. Belitskaya, T.A. Golovkova, T.D. Zemlyakova, L.Ye. Chub, G.G. Shmatkov // Gigiyena i sanitariya. – 2002. – № 1. – S. 28-30.
8. Skal'nyy A.V. «Khimicheskiye elementy v fiziologii i ekologii cheloveka» / A.V. Skal'nyy // [Elektronnyy resurs]. – Rezhim dostupa: <http://www.m-kat.ru/ebook.php?file=skalny.djvu&page=31>.
9. Skal'nyy A.V. Diagnostika, profilaktika i lecheniye otravleniy svintsom / A.V. Skal'nyy, A.T. Bykov, B.V. Limin. – M.: VTSMK «Zashchita», 2002. – 52 s.
10. Trakhtenberg H.M. Svintseva nebezpeka v Ukraini / H.M. Trakhtenberg // Naukoviy zhurnal MOZ Ukraini. – 2013. – № 3. – S. 50-60.
11. Tyazhelye metally vneshney sredy i ikh vliyaniye na reproduktivnyuyu funktsiyu zhenshchin / A.M. Serdyuk, E.N. Belitskaya, N.M. Paran'ko, G.G. Shmatkov. – Dnepropetrovsk: ART-PRESS, 2004. – 148 s.
12. Khvan P.A. Strukturno-funktsional'noye sostoyaniye gonad kryis pri vozdeystvii svintsozoderzhashchey pyli / P.A. Khvan // II Vseros. konf. «Endokrinnyye sistemy i organy i vrednyye faktory vneshney sredy». Tez. dokl. – L., 1983. – S. 163.
13. Shatorna V.F. Yeksperimental'ne doslhdzhennya yemrnotoksichnostn atsetatu svintsyu ta nanozolota / V.F. Shatorna // Vnshnik problem biologicheskoy meditsini. – 2013. – Vip. 2, T. 2. – S. 154-159.
14. Abdel Rahim A.G. Effects of dietary copper, cadmium, iron, molybdenum and manganese on selenium utilization by the rat / A.G. Abdel Rahim, J.R. Arthur, C.F. Mills // Nutr. – 1986. – Vol. 116, № 3. – P. 403-411.
15. Erickson J.R. A dynamic pathway for calciumindependent activation of CaMKII by methionine oxidation / J.R. Erickson, M.L. Joiner, X. Guan, W. Kutschke // Cell. – 2008. – Vol. 133, № 3. – P. 462-474.
16. Kazi T.G. Copper, chromium, manganese, iron, nickel, and zinc levels in biological samples of diabetes mellitus patients / T.G. Kazi, H.I. Afridi, N. Kazi [et al.] // Biol. Trace Elem. Res. – 2008. – Vol. 122, № 1. – P. 1-18.

УДК: 611.12-034:591.33-092.9

### МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ В ЯЄЧНИКАХ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ В КОМБІНАЦІЇ З ЦИТРАТОМ СРІБЛА

Шаторна В. Ф., Гарець В. І., Колосова І. І., Кононова І. І., Слесаренко О. Г.

**Резюме.** Однією з актуальних проблем сучасної біології і медицини є поглиблення вивчення змін органів репродуктивної системи під впливом екотоксикантів. Репродуктивне здоров'я населення – один із найбільш чутливих біологічних показників, який віддзеркалює ступінь забруднення довкілля, особливо в промислово розвинених регіонах.

Проведено комплексне наукове експериментальне дослідження з використанням ацетату свинцю та цитрату срібла, отриманого за наноакватехнологією на морфофункціональний стан яєчників та загальний хід ембріогенезу щурів на 12-ту, 16-ту, 20-ту доби гестації. Виявлена в експерименті на щурах антагоністична дія цитрату срібла на токсичність ацетату свинцю. Співставлені результати впливу на морфофункціональний стан яєчників та загальний хід ембріогенезу щурів на досліджуваних термінах. Експериментально визначено, що введення цитрату срібла на фоні впливу ацетату свинцю сприяє розвитку компенсаторно-приспосувальних реакцій в яєчниках щурів, про що свідчить більший фолікулярний резерв і повільніший процес атреції та призводить до зменшення негативного впливу ацетату свинцю на процеси ембріонального розвитку, що підтверджується зниженням смертності і збільшенням маси плодів.

**Ключові слова:** ацетат свинцю, цитрат срібла, нанометали, яєчники, ембріогенез.

УДК: 611.12-034:591.33-092.9

### МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЯИЧНИКАХ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ АЦЕТАТА СВИНЦА В КОМБИНАЦИИ С ЦИТРАТОМ СЕРЕБРА

Шаторная В. Ф., Гарець В. И., Колосова И. И., Кононова И. И., Слесаренко О. Г.

**Резюме.** Одной из актуальных проблем современной биологии и медицины является углубление изучения изменений органов репродуктивной системы под влиянием экотоксикантов. Репродуктивное здоровье населения – один из самых чувствительных биологических показателей, который отражает степень загрязнения окружающей среды, особенно в промышленно развитых регионах.

Проведено комплексное научное экспериментальное исследование с использованием ацетата свинца и цитрата серебра, полученного по наноакватехнологии на морфофункциональное состояние яичников и общий ход эмбриогенеза крыс на 12-е, 16-е, 20-е сутки гестации. Обнаружено в эксперименте на крысах антагонистическое действие цитрата серебра на токсичность ацетата свинца. Сопоставлены результаты влияния на морфофункциональное состояние яичников и общий ход эмбриогенеза крыс на исследуемых сроках. Экспериментально установлено, что введение цитрата серебра на фоне влияния ацетата свинца способствует развитию компенсаторно-приспособительных реакций в яичниках крыс, о чем свидетельствует большой фолликулярный резерв и медленнее процесс атрезии и приводит к уменьшению негативного воздействия ацетата свинца на процессы эмбрионального развития, что подтверждается снижением смертности и увеличением массы плодов.

**Ключевые слова:** ацетат свинца, цитрат серебра, нанометаллы, яичники, эмбриогенез.

**UDC:** 611.12-034:591.33-092.9

### **MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN OVARIES OF THE RATS UNDER THE INFLUENCE OF THE LEAD ACETATE IN COMBINATION WITH SILVER CITRATE**

**Shatornaya V. F., Garets V. I., Kolosova I. I., Kononova I. I., Slesarenko E. G.**

**Abstract.** The high toxicity of lead compounds is determined by the fact that they can be deposited in the body and lead to a deficiency of essential elements, replacing them in metal-containing proteins. Lead and its compounds affect endocrine, immune, urinary, digestive, nervous, cardiovascular, respiratory and reproductive systems, genetic apparatus of cells, have gonadotoxic and embryotoxic activity.

One of the actual problems of modern biology and medicine is the deepening of the study of changes in organs of the reproductive system under the influence of ecotoxicants. Reproductive health of the population is one of the most sensitive biological indicators that reflects the degree of environmental pollution, especially in industrialized regions.

A complex scientific experimental study with the using of lead acetate in a dose of 0.05 mg/kg and silver citrate in a dose of 2 µg/kg, obtained by nanoaquatechnology, on the morphofunctional state of the ovaries and the general course of embryogenesis of rats was conducted. The introduction was performed intragastrically, during the entire period of pregnancy of the rats' females. The study material was collected on the 12<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup>, 20<sup>th</sup> days of gestation.

As was shown by the analysis of the results of the experiment, the enteric isolated introduction of lead acetate leads to a decrease in the weight of fetus by 16.7% – 19.9%, and also leads to a decrease of the number of alive fetus per 1 female by 16.6% – 27.0%, according to the terms of observation. This situation is caused due to high embryomortality indices, which were twice more than in the control group of the experimental animals (preimplantation, post-implantation and embryonic mortality of rats). In the experimental group of animals, which received a combination of lead acetate and silver citrate, between the values of total, pre- and postimplantation deaths of embryos, the number of alive fetuses per 1 female, as compared with the control group, did not show the significant difference, which indicated no significant changes. And also these indicators, taking into account the error, were within the physiological level, which is typical for this specie of laboratory animals.

The separate introduction of lead acetate determined range of the changes of the macroscopic, histologic and morphometric characteristics of rat ovary: a significant ( $p < 0.05$ ) decrease in absolute and relative weight of the ovary, weight index of the organ, fast and active follicle atresia. Morphological changes in the ovaries by the impact of lead are associated with significant decrease in the total number of primordial follicles and increasing in the number of atresial follicles, with a decrease in the number and size of corpora lutea, their premature regression, degeneration and reduction of the luteocytes and their content, hemodynamic disturbances, that shows a violation of the structure and functions of the ovaries of the rats.

The antagonistic effect of silver citrate on the toxicity of lead acetate has been detected in the experiment on the rats. It has been experimentally determined that the introduction of silver citrate against the background of lead acetate contributes to the development of compensatory and adaptive reactions in rat ovaries, as evidenced by a greater follicular reserve and a slower process of atresia and leads to a decrease in the negative effects of lead acetate on embryonic development, which is confirmed by a decrease in mortality and an increase in the mass of fetuses.

The analysis of the obtained results determined the modifying effect of silver citrate on the embryo and gonadotoxicity of lead acetate, which was manifested by the improvement of the morphofunctional state of the ovaries of the experimental animals in the combined lead introduction.

**Keywords:** lead acetate, silver citrate, nanometals, ovaries, embryogenesis.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.*

*Стаття надійшла 11.08.2017 року*