

poplasia and hypoplasia of fetal zones, by cytolysis and resorption of spongy cells against the backdrop of proliferation of connective tissue in the beam area. And the hypertrophy of endocrinocytes in permanent cortex suggests the manifestation of compensatory and adaptive response.

УДК 611.12-034:591.33-092.9

Шаторная В.Ф., Гарец В.И.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕКОТОРЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА ЭМБРИОГЕНЕЗ И ОРГАНОГЕНЕЗ КРЫС

Государственное учреждение «Днепропетровская медицинская академия»
Министерства здравоохранения Украины

Целью экспериментальной работы явилось изучение влияния низких доз ацетата свинца при изолированном введении и ацетата свинца в комбинации с цитратом золота или в комбинации с цитратом серебра на общий ход эмбриогенеза и органогенез крыс. При изолированном введении ацетата свинца выявлена его эмбриотоксичность, кардиотоксичность и гепатотоксичность. Эмбриотоксическое действие проявлялось в повышении уровня эмбриональной смертности, негативное влияние на кардиогенез выражалось в уменьшении толщины компактного миокарда стенки желудочков, истончении отделов межжелудочковой перегородки, образовании дополнительных аномальных сухожильных струн предсердно-желудочковых клапанов. Гепатотоксичность определялась по снижению массы печени эмбриона. Комбинированное введение ацетата свинца и цитрата золота или цитрата серебра снижает эмбриотоксичность, кардиотоксичность и гепатотоксичность ацетата свинца по всем перечисленным показателям.

Ключевые слова: ацетат свинца, цитрат золота, цитрат серебра, кардиогенез, гепатогенез, эмбриогенез.

Работа выполнена согласно плановой научной кафедральной темы ГУ ДМА Минздрава Украины «Развитие и морфофункциональное состояние органов и тканей экспериментальных животных и человека в норме, в онтогенезе под влиянием внешних факторов», № гос. регистрации 0111U009598.

Известно, что тяжелые металлы относятся к приоритетным загрязняющим веществам, влияющим на здоровье населения. Так, свинец даже в небольших концентрациях может вызывать заболевания населения урбанизированных территорий. В последнее столетие прогрессирует накопление свинца в почве, атмосферном воздухе и воде, что может иметь необратимые последствия для человечества [1, 2, 3]. Соединения свинца обладают высокой токсичностью, особенно чувствительны к отравлению свинцом дети. Индивидуальная восприимчивость к отравлению свинцом сильно различается, и одни и те же дозы свинца у разных людей могут вызывать большой или меньший эффект, поэтому интерес в экспериментальной биологии и медицине к влиянию соединений свинца на репродуктивную систему и эмбриогенез актуален.

Потенциал наноматериалов быстро растет и постоянно изучается в различных областях науки и техники [4, 5, 6]. Уникальные свойства наноматериалов делают их очень привлекательными для фармацевтической промышленности, сельского хозяйства, технической промышленности. О влиянии наночастиц металлов на здоровье человека сегодня привести статистически достоверные факты возникновения болезней невозможно. Чаще всего токсическое действие нанометаллов изучают в эксперименте на животных или на культурах клеток. К сожалению, довольно активные исследования по влиянию наноматериалов на организм почти не касаются исследований по выявлению степени эмбриотоксичности и возможной тератогенности нано-

продуктов. Неопределенными на сегодня остаются и вопросы возможного антагонизма или синергизма наноразмерных металлов как микроэлементов.

Биологическая роль микроэлементов в жизнедеятельности организма весьма значительна и определяется их участием практически во всех видах обмена веществ. Эссенциальные (жизненно необходимые) микроэлементы являются кофакторами многих ферментов, витаминов, гормонов, участвуют в процессах кроветворения, роста, размножения, дифференцировки и стабилизации клеточных мембран, тканевом дыхании, иммунных реакциях и многих других процессах, обеспечивающих нормальную функциональную активность [7, 8, 9]. При определенных условиях эссенциальные микроэлементы могут проявлять токсическое действие, а некоторые токсические микроэлементы в определенной дозе обладают свойствами эссенциальных. Влияние токсических элементов на репродуктивное здоровье и эмбриогенез и поиск новых биоантогонистов – проблема своевременная.

Целью настоящей экспериментальной работы явилось изучение влияния низких доз ацетата свинца при изолированном введении и ацетата свинца в комбинации с цитратом золота или в комбинации с цитратом серебра на состояние репродуктивной функции, общий ход эмбриогенеза и органогенез крыс.

Объект и методы исследования

Объектом исследования были выбраны в

качестве экспериментальных животных крысы (40 белых половозрелых самок стандартного веса и возраста). Исследования проводили в соответствии с «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», утвержденных Пятым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2013), которые согласуются с Европейской конвенцией о защите экспериментальных животных (Страсбург, 1985).

В экспериментальных моделях использовали раствор ацетата свинца и растворы цитрата серебра, цитрата золота, полученные с применением аквананотехнологии. Цитраты биометаллов безопасны, более того, они проявляют антиоксидантное и радиопротекторное действие, положительно влияют на сердечнососудистую и иммунную системы организма.

Моделирование влияния растворов микроэлементов на организм самки и на эмбриогенез у крыс проводили по следующей схеме. Все крысы были разделены на 4 группы: 1 группа – животные, которым вводили раствор ацетата свинца в дозе 0,05 мг/кг; 2 группа – животные, которым вводили раствор ацетата свинца в дозе 0,05 мг/кг и раствор цитрата золота в дозе 1,5 мкг/кг; 3 группа – животные, которым вводили раствор ацетата свинца в дозе 0,05 мг/кг и раствор цитрата серебра в дозе 2 мкг/кг; 4 группа – контрольная. Согласно инструкции проведения экспериментальных работ, растворы микроэлементов вводили самкам через зонд один раз в сутки, в одно и то же время, с 1 по 19 день беременности (на 20-й день беременности проводили оперативный забой). Исследуемых животных выводили из эксперимента способом передозировки эфирного наркоза после удаления матки с эмбрионами. Эмбрионов изымали из матки вместе с плацентой, не нарушая пупочного канатика, внимательно осматривали, определяли возможные изменения или пороки развития, цвет покровов и соответствие стадии нормального развития согласно общепринятых критериев: формирование век, ушных раковин, закладки вибрисс, развития конечностей и др., снимали массометрические показатели, определяли пол. После отделения плаценты измеряли ее диаметр и взвешивали для определения плодоплацентарного коэффициента.

Эмбриотропное действие исследуемых веществ оценивали по показателям общей эмбриональной смертности, предимплантационной и постимплантационной смертности и количеству плодов на одну самку. После фиксации у плодов извлекали для дальнейших гистологических исследований сердце и печень

Результаты исследований и их обсуждение

Как показали результаты исследований, сверхмалые дозы ацетата свинца, вводимые на протяжении всего периода беременности выявило его эмбриотоксичность. Так, в этих двух группах (при практически одинаковом количест-

ве желтых тел беременности) наблюдается достоверное снижение количества живых плодов на 17%. Анализ результатов морфометрических показателей развития плаценты контрольной и опытных групп свидетельствуют, что средняя масса плацент групп подопытных животных колеблется в пределах $0,59 \pm 0,02$ г в контрольной группе до $0,57 \pm 0,02$ при свинцовой интоксикации. Несмотря на некоторую тенденцию к снижению массометрических параметров плацент у крыс, получавших ацетат свинца, эти различия оказались недостоверными, в отличие от результатов исследований других ученых, у которых масса и диаметр плацент при введении ацетата свинца были статистически ниже по сравнению с контрольной группой.

Также исследовали влияние ацетата свинца на органогенез: печень, сердце и плаценту. Показатели массы и размеров плаценты в экспонированной свинцом группе несколько ниже, а плодово-плацентарный коэффициент выше по сравнению с группой контроля, что свидетельствует о плацентарной недостаточности, которая формируется под влиянием ацетата свинца. Возникающие в условиях свинцовой интоксикации морфофункциональные изменения гемато-плацентарного барьера приводят к уменьшению массы плода, плаценты, что свидетельствует о нарушении компенсаторно-приспособительной реакции системы: мать – плацента – плод. И хотя разница этих массометрических показателей недостоверна, это может расцениваться как адаптационно-компенсаторное приспособление организма беременной самки к обеспечению лучшего питания плодов в условиях воздействия дестабилизирующего фактора.

Показатели массы печени эмбрионов экспериментальных групп достоверно отличаются от показателей контрольной группы. Так, масса печени в группе влияния ацетата свинца меньше в 2,5 раза по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Нарушение хода кардиогенеза было выявлено уже на уровне определения массы сердца эмбрионов крыс, а именно: в группе свинцовой интоксикации наблюдалось не только уменьшение массы самых эмбрионов, но и достоверное уменьшение массы сердца. При воздействии ацетата свинца отмечено в сердцах эмбрионов истончение компактного миокарда стенок сердечных камер, нарушение внутреннего рельефа желудочков, истончение отделов межжелудочковой перегородки, образование дополнительных аномальных сухожильных струн предсердно-желудочковых клапанов. Тробокулы в группе свинцовой интоксикации дезориентированы; папиллярные мышцы не выражены (около 23%); сухожильные нити предсердно-желудочковых клапанов часто укорочены (18%), а сами створки – полиморфны. Такие морфологические изменения, безусловно, влия-

ли на сократительную функцию сердца и нарушали гемодинамику.

Во второй и третьей экспериментальных группах с использованием комбинации ацетата свинца и микроэлементов (золота и серебра) определяли уменьшение токсического действия, а именно: увеличение количества эмбрионов на 1 самку и количества желтых тел в яичниках самок крыс. Это свидетельствует в пользу положительного влияния микроэлементов на токсичность ацетата свинца при комбинированном введении.

При анализе общих показателей в группе, получавшей комбинацию ацетата свинца и цитрата серебра отмечено улучшение показателей репродуктивной системы и эмбрионального развития по сравнению с интактной группой. Об этом свидетельствует достоверное повышение количества живых эмбрионов на 1 самку на 12,6%, а также увеличение количества желтых тел беременности почти на 10% при практически одинаковых показателях общей и доимплантационной смертности и отсутствия постимплантационной смертности. Позитивные результаты наблюдали и по влиянию на органогенез. В группе комбинированного влияния ацетата свинца и цитрата серебра масса печени увеличивалась в 1,16 раза по сравнению с контрольной группой и в 2,9 раза больше по сравнению с группой влияния ацетата свинца ($p < 0,05$). Компенсаторное действие цитрата серебра на токсичность ацетата свинца по влиянию на кардиогенез проявлялось увеличением массы сердца и восстановлением толщины стенок желудочков, клапанного аппарата и межжелудочковой перегородки.

Аналогичные тенденции мы наблюдали и в эксперименте при комбинированном введении ацетата свинца и цитрата золота. Изменения проявлялись существенным увеличением количества желтых тел беременности, живых плодов на одну самку. При сравнении показателей эмбрионального развития в группе, получавшей комбинацию ацетата свинца и цитрата золота, с группой, получавшей чистый препарат ацетата свинца, нами отмечено существенное увеличение количества живых плодов - на 53,3%. Это обусловлено несколькими факторами: увеличением на 30,4% желтых тел беременности, уменьшением в 2,3 раза уровня общей смертности за счет недостоверного уменьшения доимплантационной смертности в 2,1 раза и отсутствия постимплантационной смертности. При анализе данных по влиянию на органогенез в группе совместного влияния ацетата свинца и цитрата золота показатель массы печени достоверно больше в 1,5 раза по сравнению с группой изолированного влияния ацетата свинца. Исследование толщины компактного миокарда

продемонстрировало восстановление массы сердца, толщины миокарда правого и левого желудочка, что свидетельствует о положительном влиянии цитрата золота на кардиотоксичность ацетата свинца

Анализируя результаты комбинированного воздействия ацетата свинца и цитратов серебра, золота, полученных по нанотехнологии, на экспериментальных животных, можно заметить более выраженное протекторное влияние цитратов металлов при свинцовой интоксикации, проявляющееся увеличением количества живых плодов, желтых тел беременности, снижением общей и доимплантационной эмбриональной смертности, снижением токсичного влияния на органогенез.

Выводы

Таким образом, при длительном введении сверхмалых доз ацетата свинца беременным самкам крыс наблюдается выраженное эмбриотоксическое действие, которое проявляется в достоверном снижении количества живых плодов (на 17%) и снижении количества желтых тел беременности в яичниках самок. Исследования хода органогенеза эмбрионов крыс выявили снижение массометрических показателей плаценты, печени, сердца, а также выявлен спектр нарушений кардиогенеза.

При комбинированном введении низких доз ацетата свинца+цитрат серебра или ацетата свинца+цитрат золота наблюдается увеличение количества желтых тел беременности, количества живых плодов, что обусловлено снижением общей и доимплантационной эмбриональной смертности, улучшение показателей развития печени и сердца. Результаты проведенного эксперимента показали, что введение цитрата золота или цитрата серебра на фоне интоксикации ацетатом свинца предупреждает негативное влияние последнего на репродуктивную систему и процессы эмбрионального развития и свидетельствует о биоантагонизме.

В перспективе дальнейших исследований

Научный интерес представляет гистологическое исследование органов эмбриона, плаценты, яичников самки в группах влияния. Перспективным есть также экспериментальный поиск новых антагонистов ацетату свинца.

Литература

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. Динерман А.А. Роль загрязнителей окружающей среды в нарушении эмбрионального развития / А.А. Динерман. – М.: Медицина, 1980. – 191 с.
3. Динерман А.А. Накопление свинца в плаценте и эмбрионе при его введении беременным самкам / А.А. Динерман, Н.А. Рождественская, С.И. Храмова // Свинец в окружающей среде (гигиенические аспекты) М., 1978. – С. 63-65.

4. Москаленко В.Ф. Нанотехнології, наномедицина, нанофармакологія: стан, перспективи наукових досліджень, впровадження в медичну практику / В.Ф. Москаленко, Л.Г. Розенфельд, Б.О. Мовчан, І.С. Чекман // І нац. конгр. «Человек и лекарство — Украина». — К., 2008. — С. 167–168.
5. Наноматеріали в біології. Основи нановетеринарії / [В. Б. Борисевич, В. Г. Каплуненко, Косінов М.В та ін.] (ред. проф. В. Б. Борисевич, проф. В.Г. Каплуненко). — К. : ВД «Авіцена», 2010. — 416 с.
6. Петренко О.Ф. Рекомендації щодо застосування наночастинок Ag, Cu, Zn для лікування ран у собак та для профілактики гел'мінтозів тварин / [О.Ф. Петренко, В.Б. Борисевич, О.О. Петренко, К.Г. Лопатко та ін.]. — К. : НУБіП України, 2009. — 40 с.
7. Скальный А.В. Диагностика и профилактика микроэлементозов с учетом результатов медико-экологической экспертизы / В кн. Основы системного анализа в эколого-гигиенических исследованиях / В.Г. Маймулов, С.В. Нагорный, А.В. Шабров.— СПб. : СПб ГМА им. И.И.Мечникова, 2000. — С.175–200.
8. Чекман І.С. Нанофармакологія / І.С. Чекман. — Київ : Задруга, 2011. - 424 с.
9. Шаторна В.Ф. Модифікуюча дія деяких мікроелементів на токсичність ацетату свинцю / В.Ф. Шаторна // Вісник проблем біології і медицини. — 2013. — Вип. 3, Т.2. — С. 310-315.
2. Dinerman A.A. Rol' zagrjaznitez okružhajushhej sredy v narushenii jembrional'nogo razvitija / A.A. Dinerman. — M. : Medicina, 1980. - 191 s.
3. Dinerman A.A. Nakoplenie svinca v placente i jembrione pri ego vvedenii beremennym samkam / A.A. Dinerman, N.A. Rozhdestvenskaja, S.I. Hramova // Svinec v okružhajushhej srede (gigienicheskie aspekty) M., 1978. — S. 63-65.
4. Moskalenko V.F. Nanotehnologii, nanomedicina, nanofarmakologija: stan, perspektivi naukovih doslidzen', vprovadzhenja v medichnu praktiku / V.F. Moskalenko, L.G. Rozenfel'd, B.O. Movchan, I.S. Chekman // I nac. kongr. «Chelovek i lekarstvo — Ukraina». — K., 2008. — С. 167–168.
5. Nanomateriali v biologii. Osnovi nanoveterinariji / [V. B. Borisevich, V. G. Kaplunenko, Kosinov M.V ta in.] (red. prof. V. B. Borisevich, prof. V.G. Kaplunenko). — K. : VD «Avicena», 2010. — 416 s.
6. Petrenko O.F. Rekomendacii shhodo zastosuvannja nanochastok Ag, Cu, Zn dlja likuvannja ran u sobak ta dlja profilaktiki gel'mintoziv tvarin / [O.F. Petrenko, V.B. Borisevich, O.O. Petrenko, K.G. Lopat'ko ta in.]. — K. : NUBiP Ukraini, 2009. — 40 s.
7. Skal'nyj A.V. Diagnostika i profilaktika mikrojelementozov s uchedom rezul'tatov mediko-jekologicheskoj jeksper'tizy / V kn. Osnovy sistemnogo analiza v jekologo-gigienicheskih issledovanijah / V.G. Majmulov, S.V. Nagornyj, A.V. Shabrov.— SPb. : SPb GMA im. I.I.Mechnikova, 2000. — S.175–200.
8. Chekman I.S. Nanofarmakologija / I.S. Chekman. — Kiiv : Zadruga, 2011. - 424 s.
9. Shatorna V.F. Modifikujucha dija dejakih mikroelementiv na toksichnist' acetatu svincju / V.F. Shatorna // Visnik problem biologii i medicini. — 2013. — Vip. 3, T.2. — S. 310-315.

References

Реферат

МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ДЕЯКИХ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ НА ЕМБРІОГЕНЕЗ І ОРГАНОГЕНЕЗ ЩУРІВ

Шаторна В.Ф., Гарець В.І.

Ключові слова: ацетат свинцю, цитрат золота, цитрат срібла, кардіогенез, гепатогенез, ембріогенез.

Метою експериментальної роботи було вивчення впливу низьких доз ацетату свинцю при ізольованому введенні і ацетату свинцю в комбінації з цитратом золота або в комбінації з цитратом срібла на загальний хід ембріогенезу і органогенез щурів. При ізольованому введенні ацетату свинцю виявлено його ембріотоксичність, кардіотоксичність і гепатотоксичність. Ембріотоксична дія проявлялась у підвищенні рівня ембріональної смертності, негативний вплив на кардіогенез виражався в зменшенні товщини компактного міокарда стінки шлуночків, витончення відділів міжшлункової перегородки, утворення додаткових аномальних сухожилкових струн передсердно-шлункових клапанів. Гепатотоксичність визначалася в зниженні маси печінки ембріона. Комбіноване введення ацетату свинцю і цитрату золота або цитрату срібла знижує ембріотоксичність, кардіотоксичність і гепатотоксичність ацетату свинцю по всіх перерахованих показниках.

Summary

MORPHOLOGICAL STUDY OF THE EFFECTS OF CERTAIN TRACE ELEMENTS ON EMBRYOGENESIS AND ORGANOGENESIS IN RATS

Shatornaya V.F., Garets V.I.

Key words: lead acetate, citrate, gold, silver citrate, cardiogenesis, hepatogenesis, embryogenesis.

The objective of the experimental work was to study the effect produced by low doses of lead acetate administered separately and lead acetate in combination with gold citrate or silver citrate on the general course of embryogenesis and organogenesis in rats. The separate introduction of lead acetate was revealed to cause embryotoxicity, cardiotoxicity and hepatotoxicity. Embryotoxicity was manifested by increasing embryonic mortality, negative impact on cardiogenesis was expressed by reducing the thickness of the compact myocardium of the ventricular walls, the thinning of the interventricular septa, and by the formation of additional anomalous tendon strings of atrioventricular valves. Hepatotoxicity was manifested by reducing the mass of fetal liver. The combined administration of lead acetate and gold citrate or silver citrate reduces the embryotoxicity, cardiotoxicity and hepatotoxicity of lead acetate for all the listed indices. The combined administration of citrate gold or silver prevents the negative impact of lead acetate.