

ВПЛИВ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА ЦИТРАТУ СРІБЛА НА КАРДІОГЕНЕЗ ЩУРІВ

**В.Ф. Шаторна¹, О.О. Нефьодова¹, В.Г. Каплуненко²,
І.С. Чекман³, доктор мед. наук, професор, член-кор. НАН України**

¹ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

м. Дніпропетровськ

²Український державний науково-дослідний інститут нанобіотехнологій
та ресурсозбереження, м. Київ, Україна

³Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, м. Київ

РЕЗЮМЕ. Запропоновано новий підхід щодо визначення морфогенетичних закономірностей формування ефектів сумісного впливу важких металів. Показано, що при комбінованому введенні ацетату свинцю та цитрату срібла спостерігається зменшення кардіотоксичності ацетату свинцю, що дає можливість розглядати цитрат срібла як біоантагоніст ацетату свинцю щодо впливу на кардіогенез у щурів.

Ключові слова: кардіогенез, важкі метали, біоантагонізм, ацетат свинцю, цитрат срібла.

Дослідження виконано відповідно до угоди про наукову співпрацю між Національним медичним університетом імені О.О. Богомольця, Інститутом нанобіотехнологій та ресурсозбереження України та ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» у рамках науково-дослідної роботи «Розвиток та морфо-функціональний стан органів та тканин експериментальних тварин і людини в нормі, в онтогенезі, під впливом зовнішніх факторів» (номер державної реєстрації 0111U009598).

Вступ. Проблема екологічної детермінованості здоров'я населення є однією з найбільш актуальних проблем сучасності. При цьому вченими та практичними лікарями, як правило, аналізуються лише клінічні аспекти проблеми, в той час як її екологічна та морфологічна складова залишається поза увагою. Незважаючи на значні досягнення в діагностиці та лікуванні багатьох захворювань серцево-судинної системи, існує тенденція до їхнього зростання в Україні як у дорослих, так і у дітей. За останні 25 років кардіоваскулярна патологія серед населення України зросла втричі, а за даними Всесвітньої ліги серця Україна посідає одне з перших місць серед держав Європи за рівнем смертності від хвороб кровообігу та інсультів [1,2]. Результати численних досліджень підтверджують, що однією з патогенетичних причин серцево-судинних хвороб може бути вплив екологічних факторів: викиди промислових підприємств та автотранспорту, хімізація сільського господарства, використання барвників, консервантів та інших хімічних домішок у виробництві продуктів харчування [3].

Серед багатьох негативних факторів довкілля, що впливають на здоров'я населення, одне за найважливіших місць посідає хімічне

забруднення важкими металами, серед яких найпоширенішим є свинець. В останнє сторіччя прогресує накопичення свинцю в ґрунті, атмосферному повітрі та воді, що може мати незворотні наслідки для людства. Експериментальними дослідженнями українських вчених доведено, що свинець має високий тропізм до ендотелію судин, викликаючи в ньому структурні зміни, які зумовлені його безпосереднім впливом на внутрішньоклітинні ультраструктури. Ці зміни призводять до порушень транспортної, метаболічної, синтетичної, адгезивної функцій клітин і сприяють розвитку судинної патології, яка супроводжується порушеннями гемореології та мікроциркуляції [4-7]. Аналіз результатів експериментів, проведених групою дослідників на чолі з професором Д.Д. Зербіно, дозволив зробити припущення щодо неповноцінного лікування захворювань серцево-судинної системи без урахування впливу на організм сполук свинцю. Автор наполягає, що стратегія лікування таких патологій як васкуліти, ангіопатії, інфаркти повинна враховувати вплив сполук свинцю не як фактора ризику, а як важливого етіологічного стимулу розвитку серцево-судинних захворювань [4]. Експериментальними дослідженнями доведено, що при введенні свинцю низької концентрації дослідним тваринам, відбувається підвищення його рівня в крові, збільшення до- і післяімплантаційної загибелі ембріонів та виникнення структурно-метаболічних порушень в органах плодів, що супроводжується затримкою їх росту і диференціювання [5,6]. Тому важливим є пошук шляхів захисту від негативного впливу низьких доз свинцю на організм у цілому та репродуктивну систему, зокрема.

У сучасних медичних дослідженнях та практиці досить широко використовуються нано-

препарати. Препарати з наночастинками срібла широко застосовують у хірургії завдяки його бактерицидним та фунгіцидним властивостям [9, 10]. Об'єкти нанорозмірів надзвичайно реакційно активні, оскільки мають велику питому поверхневу енергію, тому наночастинки легко можуть агрегувати одна з одною та з мембранами клітин, взаємодіяти з білками, тими або іншими речовинами в зовнішньому середовищі і так далі [8]. Недостатньо вивченим залишається питання впливу наночастинок на організм та на процес ембріонального розвитку. Не визначеними на сьогодні залишаються і питання можливого антагонізму чи синергізму нанорозмірних металів по відношенню до дії на організм ацетату свинцю [11].

Безпосереднє спостереження за формуванням порушень розвитку у людини неможливо, тому за допомогою індукованих експериментальних моделей стає можливим аналіз морфогенетичних змін протягом ембріогенезу під впливом досліджуваних чинників.

Мета дослідження. Визначення морфогенетичних закономірностей формування ефектів ізольованого впливу ацетату свинцю та комбінованої дії ацетату свинцю з цитратом срібла, отриманого за аквананотехнологією, на розвиток серця зародків щурів в експерименті.

Матеріал і методи дослідження. Експериментальні дослідження були проведені на самицях щурів лінії Wistar (розплідник «Далі», м. Київ). Утримання експериментальних тварин здійснювалося відповідно до санітарно-гігієнічних норм віварію ДЗ «ДМА МОЗ України» (температура повітря: $22 \pm 2^\circ\text{C}$, світлий/темний цикл: 12/12 годин, їжа та пиття ad libitum). Усі досліди проводили у відповідності до законодавства України [Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» / Відомості Верховної Ради України. — 2006. — № 27. — С.230], правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. — Council of Europe, Strasbourg, 1986. — 53 p.]. Комісією з біоетики Дніпропетровської державної медичної академії (протокол №1 від 22 січня 2015 р.) встановлено, що проведені наукові дослідження зародків експериментальних тварин відповідають етичним вимогам згідно з наказом МОЗ України № 231 від 01.11.2000 року.

Всі щури були розділені на 3 групи: 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 срібла у дозі 2,0 мкг/кг;

3 група — контрольна. В експериментальних моделях використовували розчини цитрату срібла, отримані за аквананотехнологією. Розчини цитратів нанометалів отримували згідно з угодою про наукову співпрацю в Науково-дослідному інституті нанобіотехнологій та ресурсозбереження України (директор — професор В.О. Ліннік).

Чутливість зародка до токсичної дії речовин залежить від стадії розвитку і терміну введення речовини вагітним самкам, експериментальне введення охоплює весь період вагітності. Впливові зазначених чинників самок щурів піддавали з 1-го по 19-й день вагітності. Результати впливу досліджуваних чинників на ембріогенез та репродуктивну систему самиць оцінювали після евтаназії під наркозом тіопенталу натрію самиць на 20 день вагітності.

Для визначення впливу ацетату свинцю на хід кардіогенезу проводили вилучення серця у фіксованих нейтральним формаліном ембріонів щурів. Серце досліджували спочатку макроскопічно — під біокулярною лупою: проводили розрізи горизонтальні та сагітальні для визначення відповідності розвитку органа стадії розвитку ембріона: визначали стан розвитку камер серця та міжшлуночкової перегородки та внутрішнього рельєфу шлуночків. Також виготовляли серійні гістологічні зрізи для визначення змін на гістологічному рівні.

Результати досліджень та їх обговорення. Як результат токсичної дії при введенні ацетату свинцю на кардіогенез в експерименті виявлялось зменшення середніх показників маси серця ембріонів з $35,33 \pm 1,03$ мг в нормі до $32,45 \pm 1,08$ мг в групі свинцевої інтоксикації.

Кардіотоксичність ацетату свинцю у щурів в експерименті проявлялась зменшенням товщини компактного міокарда стінки шлуночка серця з $201,60 \pm 8,30$ мкм до $179,10 \pm 12,30$ мкм ($p < 0,05$). Також визначалось збільшення об'єму та зменшення товщини стінок передсердь із затримкою утворення та розвитку міокарда передсердь. У проведених дослідженнях спостерігали витончення різних частин міжшлуночкової перегородки: апікальна частина з $490 \pm 15,74$ мкм до $432 \pm 15,89$ мкм, середня частина з $447 \pm 16,67$ мкм у контролі до $412 \pm 15,69$, базальна частина — з $439 \pm 14,88$ мкм до $417 \pm 13,45$ мкм, що також свідчить про кардіотоксичний ефект ацетату свинцю.

Вплив ацетату свинцю також відбивався на формоутворюючих процесах півмісяцевих заслінок крупних судин у порівнянні з контролем, а саме спостерігали формування аномальних за формою заслінок, що, безумовно, призводило до порушення гемодинаміки серця. Введення ацетату свинцю відбивалося на порушенні базових гістогенетичних процесів

серця, що розвиваються. Порушення процесів делямінації та компактизації міокарда шлуночків призводило до зсувів процесу утворення трабекулярного шару міокарда шлуночків та закладки і утворення клапанів передсердно-шлуночкових отворів: укорочення стулок, зміна вмісту та об'єму передсердно-шлуночкових клапанів супроводжувалась утворенням додаткових аномальних сухожилкових струн, що прикріплювались не до краю стулки, а до її нижньої поверхні. Мало місце потовщення крайової поверхні стулки за рахунок розростання мезенхімних клітин (рис. 1).

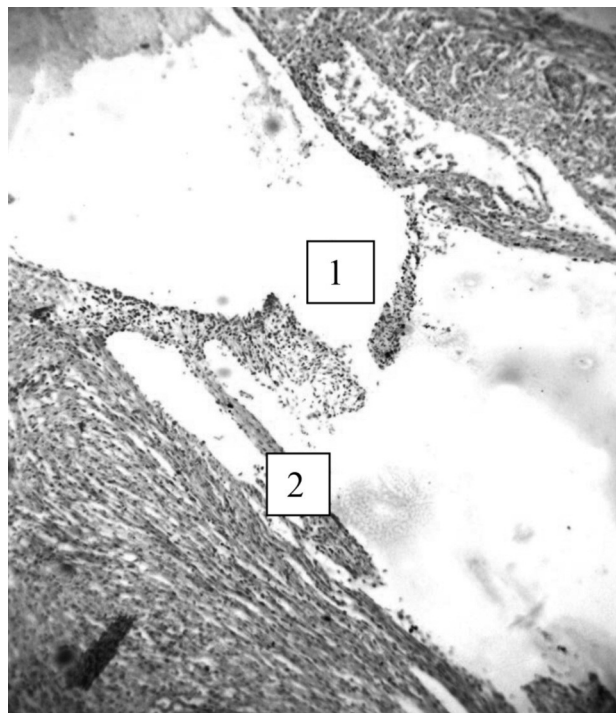


Рис. 1. Мікрофотографія стулок передсердно-шлуночкового клапану серця ембріона щура в групі свинцевої інтоксикації. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення: Ок.8 х об.10.

Позначення: 1. Стулки клапанів;
2. Аномальна сухожилкова струна, що кріпиться до нижньої поверхні стулки.

У групі комбінованого впливу ацетату свинцю та цитрату срібла визначалось гіпертрофічне збільшення об'єму передсердь, при цьому спостерігалось розширення аорти та легеневого стовбура в місцях відходження вказаних структур від серця (рис.2). Збільшення передсердь супроводжувалось також гіпертрофічним розростанням сполучної навколосерцевої тканини та формуванням лакун з чітко визначеними краями (рис.2). Такі дані відповідають результатам наукових досліджень [4, 5], в яких визначено, що важкі метали такі як ртуть, сурма і срібло є індукторами утворення вільних радикалів в уражених тканинах серця, підвищення концентрації цих мікроелементів

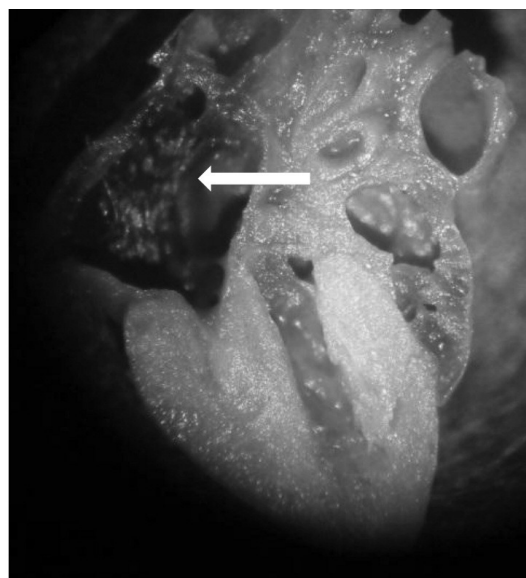


Рис. 2. Розріз фіксованого серця ембріона експериментальної групи комбінованого впливу ацетат свинцю + цитрат срібла. Розширені передсердя вказано стрілкою.

у міокарді призводить до збільшення в ньому кількості фіброзної тканини.

Досліджуючи розвиток передсердь серця ембріона щура в експериментальній групі комбінованого впливу, на гістологічному рівні спостерігається локальне потовщення міокардіального шару в 38,7% випадків (рис. 3). Гребенясті м'язи передсердь були потовщені, що підсилювало контрактильність стінок передсердь серця.

В серцях ембріонів групи свинцевої інтоксикації зустрічали витончення стінки передсердь та затримку формування міокардіальних тяжів, або навпаки збільшення кількості та поліморфність їх. Особливість впливу цитрату срібла на токсичність ацетату свинцю при комбінованому введенні пояснюється специфічною дією сполук срібла на стан судин у дослідженнях на дорослих людях. Виявлено,

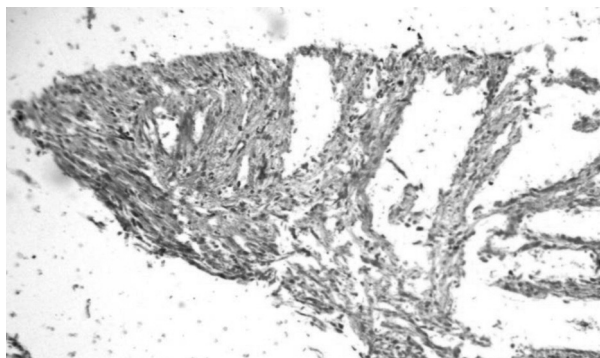


Рис. 3. Мікрофотографія стінки лівого передсердя серця ембріона щура в групі комбінованого впливу ацетату свинцю та цитрату срібла. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення: Ок.8 х об.40.

що хронічний вплив срібла або його солей позначається на товщині судин, а саме: судини м'язово-еластичного типу у відповідь на контакт зі сріблом потовщуються внаслідок розростання як сполучної тканини, так і м'язової. Передсердя є похідною венозного синусу, тому і відповідь з боку формоутворюючих процесів передсердь схожа на відповідь з боку судин (рис.3), визначаються потовщення міокарда у вушках ембріонального серця.

Порожнина передсердя групи комбінованого впливу була значно збільшена, стінка сформована, але потовщена, м'язовий прошарок

утворений широкими тяжами орієнтованого міокарда. Деякі тяжі мали нетипову форму та розміри, різниці в показниках між правим і лівим передсердям не спостерігали. Вад формування міжпередсердної перегородки в групі комбінованого впливу ацетату свинцю та цитрату срібла також не відзначено.

Висновок. При комбінованому введенні ацетату свинцю та цитрату срібла спостерігається зменшення кардіотоксичності ацетату свинцю, що дає можливість розглядати цитрат срібла як біоантагоніст ацетату свинцю щодо впливу на кардіогенез у щурів.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Волосовець О.П.* Сучасні досягнення та проблеми дитячої кардіоревматологічної служби України / О.П. Волосовець // Здоров'я ребенка. – 2006. – № 1. – С. 9–14.
2. *Глуценко Н.Н.* Сравнительная токсичность солей и наночастиц металлов и особенность их биологического действия / Н.Н. Глуценко, О.А. Богословская, И.П. Ольховская // Известия Академии промышленной экологии. – 2006. – № 3. – С. 46–47.
3. *Гнатейко О.З.* Екогенетичні аспекти патології людини, спричиненої впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища / О.З. Гнатейко, Н.С. Лук'яненко // Здоров'я ребенка. – 2007. – № 6 (9). – С. 82–87.
4. *Зербино Д.Д.* Свинец – этиологический фактор поражения сосудов: основные доказательства / Д.Д. Зербино, Т.М. Соломенчук, Ю.О. Поспишил // Архив патологии. – 1997. – № 1. – С. 9–12.
5. *Трахтенберг И.М.* Роль эндотелия в механизмах развития вазотоксических эффектов свинца / И.М. Трахтенберг, С.П. Луговской // Журнал АМН України. – 2005. – Т. 11, № 1. – С. 63–74.
6. *Трахтенберг И. М.* Свинцева небезпека в Україні / І.М. Трахтенберг // Науковий журнал МОЗ України. – 2013. – № 3. – С. 50–60.
7. *Сердюк А.М.* Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на репродуктивную функцию женщин / А.М. Сердюк, Э.Н. Белицкая, Н.М. Паранько, Г.Г. Шматов. – Днепропетровск: АРТ-ПРЕСС. – 2004. – 148 с.
8. *Сердюк А.М.* Нанотехнології мікронутрієнтів: питання безпеки та біотичності наноматеріалів при виробництві харчових продуктів / А.М. Сердюк, М.П. Гуліч, В.Г. Каплуненко, М.В. Косінов // Журнал АМН України. – 2010. – Т. 16, №3. – С. 467–471.
9. *Чекман І.С.* Нанофармакологія / І.С. Чекман – К.: Задруга, 2011. – 424 с.
10. *Чекман І.С.* Основи наномедицини / І.С. Чекман, В.О. Маланчук, А.В. Рибачук – К.: Книга плюс. – 2012. – 245 с.
11. *Савенкова О.О.* Експериментальне визначення антагонізму біметалів при впливі на стан репродуктивної системи та ембріогенез щура / О.О. Савенкова // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Т.2., Вип. 1. – С.259–265.

ВЛИЯНИЕ АЦЕТАТА СВИНЦА И ЦИТРАТА СЕРЕБРА НА КАРДИОГЕНЕЗ КРЫС

В.Ф. Шаторная, Е.А. Нефедова, И.С. Чекман, В.Г. Каплуненко

РЕЗЮМЕ. Предложен новый подход к определению морфогенетических закономерностей формирования эффектов совместного влияния тяжелых металлов. Показано, что при комбинированном введении ацетата свинца и цитрата серебра наблюдается уменьшение кардиотоксичности ацетата свинца, что позволяет рассматривать цитрат серебра как биоантагонист ацетата свинца по влиянию на кардиогенез у крыс.

Ключевые слова: кардиогенез, тяжелые металлы, биоантагонизм, ацетат свинца, цитрат серебра.

EFFECT OF LEAD ACETATE AND SILVER CITRATE TO CARADIOGENESIS OF RATS

V. Shatorna, O. Nefedova, I. Chekman, V. Kaplunenko

SUMMARY. A new approach to identify patterns of morphogenetic effects of combined effect of heavy metals has offered. It is shown that the combined administration of lead acetate and silver citrate decrease cardiotoxicity of lead acetate, which enables to consider silver citrate as lead acetate bioantagonist to influence the cardiogenesis in rats.

Key words: cardiogenesis, heavy metals, bioantagonism, citrate silver, lead acetate.

Надійшла до редакції 19.07.2015 р.