

**В.І. Гарець,
В.Ф. Шаторна,
Ю.О. Бельська**

МОРФОЛОГІЯ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ ПЕЧІНКИ ПІД ВПЛИВОМ ЦИТРАТІВ СРІБЛА ТА ЗОЛОТА НА ТЛІ СВИНЦЕВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

*ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
кафедра медичної біології, фармакогнозії та ботаніки
(зав. – д. біол. н., проф. В.Ф. Шаторна)
вул. Севастопольська, 19, Дніпропетровськ, 49027 Україна
SE «Dnipropetrovsk medical academy of Health Ministry of Ukraine»
Department of Medical Biology, Botany and Pharmacognosy
Sevastopols'ka str., 19, Dnipropetrovsk, 49027, Ukraine
e-mail: garetsvira@gmail.com*

Ключові слова: ембріональна печінка, ацетат свинцю, цитрат срібла, цитрат золота
Key words: embryonic liver, lead acetate, silver citrate, gold citrate

Реферат. Морфологія ембріональної печінки под впливом цитратів срібра и золота на фоне свинцевої інтоксикації. Гарець В.І., Шаторная В.Ф., Бельская Ю.О. В експерименте на крысах изучали морфологическое состояние эмбриональной печени под влиянием цитратов серебра и золота на фоне свинцовой интоксикации. Выявлено, что значения гепатофетального индекса в группах Pb+Ag и Pb+Au имели достоверные отличия в сравнении с группой свинцовой интоксикации, однако достоверно не отличались от контрольных показателей и составляли $0,086 \pm 0,001$ и $0,083 \pm 0,001$ соответственно. Величина относительной площади кровеносных сосудов в группах Pb+Ag и Pb+Au составляла $13,08 \pm 0,53\%$ и $16,83 \pm 0,53\%$ соответственно, что также не имело достоверной разницы по сравнению с контрольной группой, однако отличалось от величины показателей группы свинцовой интоксикации. Под влиянием цитрата серебра на фоне свинцовой интоксикации значение относительной площади гемопоэтических клеток составляло $52,5 \pm 0,95\%$, что свидетельствует о модифицирующем действии серебра на процессы гемопоэза в эмбриональной печени. Таким образом, введение цитратов серебра и золота предупреждает негативное влияние свинца на морфометрические показатели эмбриональной печени, относительную площадь кровеносных сосудов и гемопоэтических клеток. Полученные в ходе эксперимента данные свидетельствуют о протекторном действии серебра и золота при свинцовой интоксикации в период гепатогенеза.

Abstract. Morphology of embryonic liver under the influence of silver and gold citrates on a background of lead intoxication. Harets V.I., Shatorna V.F., Belska Ju.O. Morphological state of embryonic liver under the influence of silver and gold citrates on a background of lead intoxication was studied. We found that values of the hepatofetal index in the groups Pb+Ag and Pb+Au had significant differences as compared to the group exposed to lead intoxication, but did not differ significantly from the control group and made up $0,086 \pm 0,001$ and $0,083 \pm 0,001$, respectively. Value of the relative area of blood vessels in groups Pb+Ag and Pb+Au was $13.08 \pm 0.53\%$ and $16.83 \pm 0.53\%$, respectively, which had no significant difference as compared to control group, but differed from the value of lead intoxication group. Under the influence of silver citrate on a background of lead intoxication the relative area of hematopoietic cells was $52,5 \pm 0,95\%$; this indicates to modification action of silver on haematopoiesis. Thus, injection of silver and gold citrates prevents negative effect of lead on morphometric parameters of embryonic liver, relative area of blood vessels and hematopoietic cells. Experiment results showed protective effect of silver and gold citrates on a background of lead intoxication during hepatogenesis.

Свинець – природний токсичний елемент, який є частиною земної кори. Використання цього металу в промисловості призвело до широкомасштабного забруднення навколишнього середовища і порушень громадського здоров'я у багатьох країнах світу. Свинець характеризується політропністю дії на організм людини та призводить до виникнення багатьох метаболічних розладів [2]. Солі п्लумбуму накопичуються в кістках, викликають їх пошкодження та розвиток остеопорозу [9]. Вагітні жінки й діти

особливо чутливі до свинцевого впливу. Дія високої концентрації свинцю під час вагітності викликає викидні, мертвонародження, передчасні пологи, низьку вагу при народженні та аномалії різних органів плоду [3, 8]. Захворювання печінки, пов'язані з впливом токсичних речовин під час внутрішньоутробного розвитку, на сьогоднішній день з'являються все частіше. Відомо, що печінка виконує кровотворну функцію під час ембріогенезу. Свинець у свою чергу викликає порушення кровотворення,

дезорганізацію паренхіми й судинного компонента печінки [4, 7, 13]. На сьогоднішній день відомий ряд мікроелементів з біоантагоністичними властивостями по відношенню до свинцю. Дослідження свідчать, що цинк, вступаючи в конкурентну взаємодію зі свинцем, мінімізує його шкідливий вплив, веде до зниження показників ембріолетальності та збільшення кількості живих плодів [3, 12, 15]. Широковідомим мікроелементом, протидіючим свинцю, є селен, який зменшує свинець-індукований оксидативний стрес [16].

Срібло та золото посідають особливе місце серед усього різноманіття мікроелементів. Срібло має широкий спектр антибактеріальних і антимикотичних ефектів та чинить стимулюючий ефект на кровотворні органи [10, 11]. Золото використовується в терапії онкологічних захворювань, а також з метою діагностики та лікування ревматичних хвороб [14]. Попередні дослідження виявили модифікуючий ефект срібла та золота на тлі свинцевої інтоксикації протягом ембріонального періоду [5]. Проте органогенез печінки під сумісним впливом цитратів срібла і золота на тлі свинцевої інтоксикації вивчений недостатньо.

Тому метою нашого дослідження було виявлення модифікуючих ефектів цитратів срібла та золота на морфологічний стан печінки ембріонів щурів 16 дня пренатального розвитку на тлі свинцевої інтоксикації.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Експериментальна частина роботи виконана на 24 білих статевозрілих щурах-самицях лінії Вістар вагою 180-200 г у віці 95-110 днів. Дослідження на тваринах проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), які узгоджуються з Європейською конвенцією про захист експериментальних тварин (Страсбург, 1985).

В експериментальних моделях використовували розчин ацетату свинцю (виробник - ЗАТ «Науково-дослідний центр фармакотерапії», м. Санкт-Петербург, Росія) та розчини цитратів срібла та золота, отриманих за аквананотехнологією, згідно з договором про науково-технічну співпрацю між Державним закладом «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» та Українським державним науково-дослідним інститутом нанобіотехнологій та ресурсозбереження від 4 березня 2012 року.

Моделювання впливу розчинів цитратів металів на організм самиці щура та на ембріогенез проводили за таким планом. Всі щури були розподілені на 4 групи: група К (контрольна) –

тварини, яким вводили дистильовану воду; група Pb – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю в концентрації 0,05 мг/кг; група Pb+Ag – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю в концентрації 0,05 мг/кг та розчин цитрату срібла в концентрації 2 мкг/кг; група Pb+Au – щури, яким вводили розчин ацетату свинцю в концентрації 0,05 мг/кг та розчин цитрату золота в концентрації 1,5 мкг/кг. Дози металів збільшено в 10 разів порівняно з рівнем їх сумарного добового надходження, що відповідає 0,05 мг/кг маси тіла для ацетату свинцю (близько 1/30000 LD₅₀) [3].

Згідно із загальноприйнятими інструкціями проведення експериментальних робіт, розчини металів вводили самицям ентерально через зонд один раз на добу, в один і той же час, з 1-го по 15-й день вагітності. Протягом періоду введення розчинів реєстрували стан та поведінку самок, динаміку маси тіла та ректальну температуру. На 16-й день вагітності проводили оперативний забій. Щурят вилучали з матки, перевіряли на тест «живі-мертві», зважували, фотографували та фіксували у 10%-розчині нейтрального формаліну для подальшого морфометричного та гістологічного досліджень. Дослідних тварин виводили з експерименту способом передозування ефірного наркозу. Після фіксації з ембріону екстрагували печінку, зважували її та розраховували гепатофетальний індекс (ГФІ) за формулою [1]:

$$ГФІ = \frac{МП}{МЕ}$$

де МП – маса печінки, а МЕ – маса ембріону.

Гістологічні препарати фарбували гематоксиліном та еозином. Для оцінки відмінностей експериментальних груп від контрольної використовували мікроскоп Zeiss Primo Star. Фотографії гістологічних зразків виготовляли за допомогою камери Ахіосам ERc 5s. Відносну площу судин печінки та гемопоетичних клітин визначали з використанням точкового методу підрахунку [6] за допомогою програми Photoshop CS і розраховували за формулою відповідно до рекомендацій Г. Г. Автандилова [1]:

$$V_v = \frac{P_i}{P_t}$$

де V_v – відносна площа структури;

P_i – кількість тест-точок, що припадає на тест-структуру;

P_t – загальна кількість точок тест-системи.

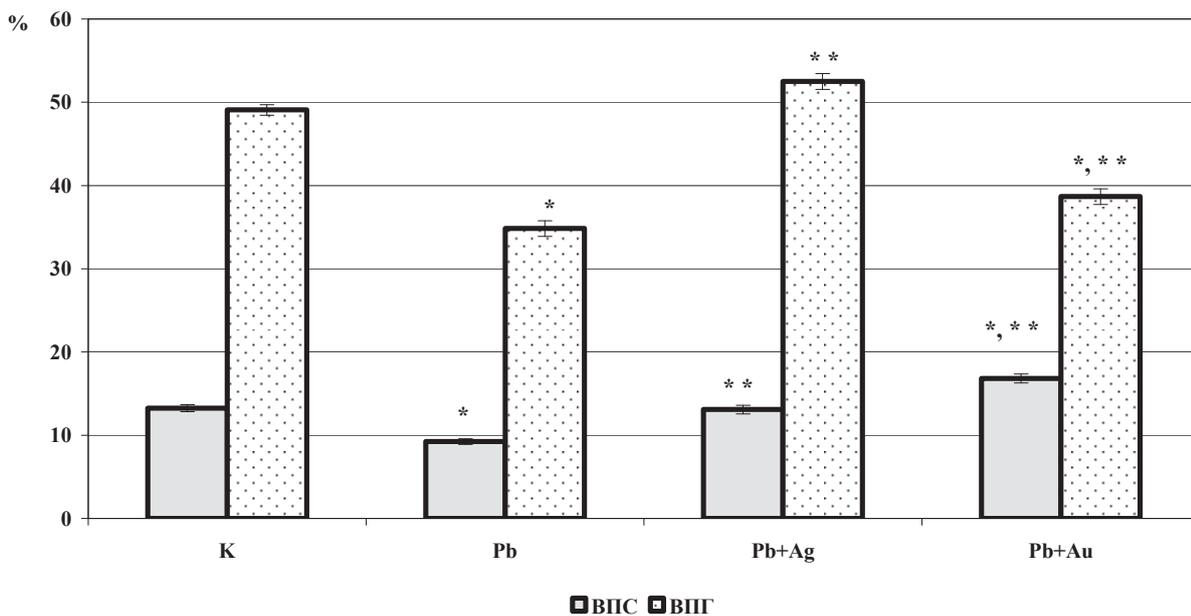
Результати підлягали статистичному аналізу з використанням програм Microsoft Excel 2010 та Atestat Program. Достовірність відмінностей виявлялася за допомогою критерія Стюдента. Відмінності між групами були значущими при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Загальновідомо, що у відповідь на дію свинцю в органах відбувається розростання сполучної тканини. Нами виявлено, що в групі свинцевої інтоксикації величина ГФІ становила $0,108 \pm 0,003$, що на 22% більше порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). Маса печінки збільшувалася за рахунок розростання сполучної тканини у відповідь на вплив токсичного агенту. У групі Pb+Ag величина ГФІ практично відповідала значенням групи контрольних тварин і становила $0,086 \pm 0,001$, що достовірно менше на 20% порівняно з групою Pb і на 2% більше цього показника у тварин групи К. У групі Pb+Au значення ГФІ становили $0,083 \pm 0,001$, що достовірно менше на 23% порівняно з групою

Pb і на 2% менше цього показника у тварин групи К. Тобто при введенні цитратів срібла та золота на тлі свинцевого впливу спостерігається відновлення морфометричних показників печінки до рівня значень контрольної групи.

Відносна площа кровоносних судин (ВПС) ембріональної печінки у групі Pb становила $9,25 \pm 0,32\%$, що на 30,2% менше від групи К ($p < 0,05$). На нашу думку, це свідчить про затримку ангиогенезу під впливом ацетату свинцю. У групі Pb+Ag величина ВПС становила $13,08 \pm 0,53\%$, що несуттєво менше від групи К, проте більше на 41,4% порівняно з групою Pb ($p < 0,05$). У групі Pb+Au величина ВПС становила $16,83 \pm 0,53\%$, що більше на 27% від контрольних значень і значно більше на 82% порівняно з групою Pb ($p < 0,05$). Отримані дані дають підставу припустити, що цитрати срібла та золота на тлі свинцевої інтоксикації проявляють модифікуючі властивості при ембріональному розвитку печінки (рис.).



Примітки: ВПС - відносна площа кровоносних судин, ВПГ - відносна площа гемопоетичних клітин; * - достовірна відмінність від тварин групи К ($p < 0,05$); ** - достовірна відмінність від тварин групи Pb ($p < 0,05$).

Відносна площа кровоносних судин та гемопоетичних клітин ембріональної печінки шурів на 16 день розвитку

В ембріональний період розвитку шурів печінка бере на себе функцію кровотворення, яка досягає максимуму на 15-16 день пренатального онтогенезу. Тому основним компонентом паренхіми печінки на 16 день є гемопоетичні клітини. Під впливом ацетату свинцю відносна площа гемопоетичних клітин (ВПГ) становила

$34,83 \pm 0,95\%$, що на 29% менше порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). Отримані дані свідчать про затримку процесів гемопоезу у відповідь на вплив сполук свинцю. У групі Pb+Ag значення ВПГ становили $52,5 \pm 0,95\%$, що на 7% більше порівняно з контрольною групою і достовірно більше на 51% порівняно з групою

свинцевої інтоксикації. У групі Pb+Au величина ВПГ становила $38,67 \pm 0,95\%$, що на 21% менше порівняно з групою К ($p < 0,05$), проте на 11% більше від значень групи Pb (рис.).

ВИСНОВКИ

1. Цитрати срібла та золота на тлі свинцевої інтоксикації в період гепатогенезу мають моди-

фікуючу дію, про що свідчить відновлення морфометричних та ангиогенетичних показників до рівня контрольних значень.

2. Введення цитрату срібла в умовах свинцевої інтоксикації запобігає затримці процесів гемопоезу в ембріональній печінці.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. – Москва, 1990. – 384 с.

2. Белецкая Э.Н. Гигиенические аспекты остеотропности свинца как фактора риска кальцийдефицитной патологии у человека (обзор литературы) / Э.Н. Белецкая, Н.М. Онул, О.В. Безуб // Медицинские перспективы. – 2014. – Т. XIX, № 2. – С. 130-138.

3. Біопротекторна дія цинку в макро- і наноаквахелатній формі на ембріогенез шурів за умов свинцевої інтоксикації / Е.М. Білецька, І.С. Чекман, Н.М. Онул [та ін.] // Медичні перспективи. – 2013. – Т. XVIII, № 2. – С. 114-119.

4. Довгаль Г.В. Морфологічні зміни в розвитку печінки шурів при впливі ацетату свинцю та за умов корекції в пренатальному періоді / Г.В. Довгаль // Укр. морфол. альманах. – 2014. – Т. 12, № 1. – С. 42-44.

5. Експериментальне дослідження модифікуючого впливу наноаквахелату цитрату золота на ембріотоксичність ацетату свинцю у шурів / В.Ф. Шаторна, В.І. Гарець, Е.М. Білецька [та ін.] // Медичні перспективи. – 2014. – Т. XIX, № 2. – С. 12-17.

6. Потоцька О.Ю., Горбунов А.О., Твердохліб І.В., [та ін.] Спосіб вимірювання мікроскопічних структур. UA Патент UA51942; 2010.

7. Романенко О.А. Імуногістохімічне дослідження печінки шурів в пізньому пренатальному періоді під впливом ацетату свинцю та за умов корекції / О.А. Романенко, Г.В. Довгаль, М.А. Довгаль // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 3. – С. 158-161.

8. Скальный А.В. Биоэлементы и показатели эмбриональной смертности лабораторных крыс / А.В. Скальный, С.В. Залавина, С.В. Ефимов // Вестник Оренбург. гос. ун-та. – 2006. – №2. – С. 78-81.

9. Campbell J.R. The association between blood lead levels and osteoporosis among adults—Results from the Third National Health and Nutrition Examination

Survey (NHANES III) / J.R. Campbell, P. Auinger // Environmental Health Perspectives. – 2007. – Vol. 115, N 7. – P. 1018-1022.

10. Colloidal silver fabrication using the spark discharge system and its antimicrobial effect on Staphylococcus aureus / D.C. Tien, K.H. Tseng, C.Yu. Liao, T.T. Tsung // Medical Engineering & Physics. – 2008. – Vol. 30, N 8. – P. 948-952.

11. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli / S. Pal, Y.K. Tak, J.M. Song [et al.] // Applied Environmental Microbiology. – 2007. – Vol. 73, N 6. – P. 1712-1720.

12. El-Mehi A.E. Effect of Lead Acetate on the Thyroid Gland of Adult Male Albino Rats and the Possible Protective Role of Zinc Supplementation: A Biochemical, Histological and Morphometric Study / A. E. El-Mehi, S. A. Amin // J. Amer. Science. – 2012. – Vol. 8, N 7. – P. 61-71.

13. Hepatotoxic effects of lead acetate in rats: histopathological and cytotoxic studies / Z. Haouas, A. Sallem, I. Zidi, H. Hichri [et al.] // J. Cytology Histology. – 2014. – Vol. 5, N 5. – P. 1-6.

14. Laser-induced explosion of gold nanoparticles: potential role for nanophotothermolysis of cancer / R.R. Letfullin, C. Joenathan, T.F. George, V.P. Zharov // Nanomedicine. – 2006. – Vol. 1, N 4. – P. 473-480.

15. Pattnaik N. Comparison of World Trade Center dust with zinc acetate and lead oxide combinations to determine damage to human lung cells / N. Pattnaik, A.M. DiLorenzo // J. Toxicology and Environmental Health Sciences. – 2013. – Vol. 5, N 4. – P. 60-65.

16. Protective Effects of Selenium and Alpha-Tocopherol against Lead-Induced Hepatic and Renal Toxicity in Oreochromis Niloticus / S.A. Elgaml, R. Khalil, E.A. Hashish, A. El-Murr // J. Aquaculture Research & Development. – 2015. – N 6.

REFERENCES

1. Avtandilov GG. [Medical morphometry]. 1990;384. Russian.

2. Beletskaya EN. [Hygienic aspects of lead osteotrophic as a risk factor for calcium-deficient pathology in humans (review)]. Medical perspectives. 2014;19(2):130-8. Russian.

3. Beletskaya EM, Chekman IS, Onul NM, Kaplunenko VG, Stus VP. [Bioprotective effect of zinc in macro- and nanoaquachelate form on embryonal

development of rats in conditions of lead intoxication]. Medical perspectives. 2013;18(2):114-9. Ukrainian.

4. Dovgal' HV. [Morphological changes of rat liver under the influence of lead acetate and in case of correction in the prenatal period]. Ukrainian morphological Almanac. 2014;1:42-44. Ukrainian.

5. Shatorna VF, Harets VI, Beletskaya EM, Onul NM, Nefodova OO, Ostrovs'ka SS, Stepanov SV, Dihno. [Experimental study of modifying influence of

nanoaquachelate gold citrate on embryotoxicity of lead acetate in rats]. Medical perspectives. 2014;19(2):12-17. Ukrainian.

6. Potots'ka OYu, Horbunov AO, Tverdokhlib IV, Murashnikina DH, Khripkov IS, Silkina YuV. [Method for measurement of microscopic structures]. UA Patent UA51942; 2010. Ukrainian.

7. Romanenko OA, Dovgal HV, Dovgal MA. [Immunohistochemical study of rat liver in the late prenatal period under the influence of lead acetate and the conditions of correction]. Bulletin problems of biology and medicine. 2012;3:158-61. Ukrainian.

8. Skalnyiy AV, Zalavina SV. [Bioelements and indicators of embryonic mortality of laboratory rats]. Gazette of OSU. 2006;2:78-81. Russian.

9. Campbell JR, Auinger P. The association between blood lead levels and osteoporosis among adults – Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). Environmental Health Perspectives. 2007;115(7):1018-22.

10. Tien DC, Tseng KH, Liao CYu and Tsung TT. Colloidal silver fabrication using the spark discharge system and its antimicrobial effect on Staphylococcus aureus. Medical engineering & physics 2008;8(30):948-52.

11. Pal S, Tak YK, Song JM. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the

nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli. Applied and environmental microbiology 2007;6(73):1712-20.

12. El-Mehi AE, Amin SA. Effect of Lead Acetate on the Thyroid Gland of Adult Male Albino Rats and the Possible Protective Role of Zinc Supplementation: A Biochemical, Histological and Morphometric Study. Journal of American Science 2012;8(7):61-71.

13. Haouas Z, Sallem A, Zidi I, Hichri H, Mzali I and Mehdi M. Hepatotoxic effects of lead acetate in rats: histopathological and cytotoxic studies. J Cytol Histol 2014;5(5):1-6.

14. Letfullin RR, Joenathan C, George TF, and Zharov VP. Laser-induced explosion of gold nanoparticles: potential role for nanophotothermolysis of cancer. Nanomedicine. 2006;1(4):473-80.

15. Pattnaik N, DiLorenzo AM. Comparison of World Trade Center dust with zinc acetate and lead oxide combinations to determine damage to human lung cells. Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences. 2013;5(4):60-65.

16. Elgaml SA, Khalil R, Hashish EA and El-Murr A. Protective Effects of Selenium and Alpha-Tocopherol against Lead-Induced Hepatic and Renal Toxicity in Oreochromis Niloticus. Journal of Aquaculture Research & Development. 2015;6:1.

Стаття надійшла до редакції
09.03.2016



УДК 612.176:616-089.22:159.9.019.4:576.32/.36:612.017-092.9

Ю.В. Федоренко

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ Й АДАПТАЦІЯ У БЛИХ ЩУРІВ З АКТИВНИМ І ПАСИВНИМ ТИПОМ ПОВЕДІНКИ ЗА УМОВ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

кафедра нормальної фізіології

(в.о. зав. – к. мед. н., доц. О.Г. Мусаковець)

вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна

Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Department of physiology

Peckarska str., 52, Lviv, 79010, Ukraine

e-mail: lnmu.fedorenkov.i@gmail.com

Ключові слова: *імобілізаційний стрес, активний і пасивний тип поведінки, біохімічні показники, адаптаційні процеси*

Key words: *immobilization stress, active and passive type of behavior, biochemical parameters, adaptive processes*