

ВПЛИВ НИЗЬКИХ ДОЗ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ НА КАРДІОГЕНЕЗ ЩУРА В ЕКСПЕРИМЕНТІ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпропетровськ)

verashatornaya@yandex.ru

Дослідження виконано у рамках науково-дослідної роботи кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки Державного закладу «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Морфогенетичні закономірності ембріогенезу під впливом нанометалів» (№ державної реєстрації 0115U004879).

Вступ. Екологічне неблагополуччя більшості країн Світу на сьогоднішній день є одним із провідних чинників порушення здоров'я населення. Серед найбільш небезпечних техногенних забрудників довкілля пріоритетне положення займають важкі метали, серед яких найпоширенішим є свинець та його сполуки. Накопичення у біологічних системах і живих організмах цих елементів істотно модифікує плин нормальних фізіологічних процесів й може призводити до суттєвих патологічних змін. При цьому вченими та практичними лікарями найчастіше аналізуються лише клінічні аспекти даної проблеми, тоді як екологічна та морфологічна складові залишаються недостатньо вивченими.

Не дивлячись на значні досягнення в сучасній діагностиці та лікуванні багатьох захворювань серцево-судинної системи, існує тенденція до їх зростання в Україні як у дорослих так і у дітей [1,5]. За останні 25 років кардіоваскулярна патологія серед населення України виросла в 3 рази, а за даними Всесвітньої ліги серця Україна займає одне з перших місць серед держав Європи по рівню смертності від хвороб кровообігу та інсультів [1,6]. Результати численних досліджень підтверджують, що однією з етіопатогенетичних 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 [2,8,9].

Рядом експериментальних робіт сучасних українських вчених, таких як Трахтенберг І.М., Скальний В.А. та Зербіно Д.Д. показано, що свинець має високий тропізм до ендотелію судин, викликаючи в ньому структурні зміни, які зумовлені його прямим впливом безпосередньо на внутрішньоклітинні ультраструктури. Ці зміни призводять до порушень транспортної, метаболічної, синтетичної, адгезивної функцій клітин і сприяють розвитку судинної патології, яка супроводжується порушеннями роботи серця [4,5,7]. Аналіз результатів проведених експериментів групи дослідників на чолі з професором Д.Д. Зербіно довів неповноцінність 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 фактор ризику, а як важливий етіологічний стимул розвитку серцево-судинних захворювань [3,4].

Безпосереднє спостереження за розвитком порушень розвитку патології у людини неможливо, тому за допомогою індукованих експериментальних моделей стає можливим аналіз морфогенетичних змін, що виникають протягом ембріогенезу під впливом певних чинників.

Мета дослідження: дослідити можливий кардіотоксичний вплив низьких доз ацетату свинцю в експерименті на ембріонах щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження було проведено на щурах, що утримувались в звичайних умовах віварію ДЗ «ДМА МОЗ України». 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).

Експериментальна частина роботи виконана на 16 білих статевозрілих щурах-самицях лінії Вістар вагою 180-200 г у віці 95-110 днів. В експериментальних моделях використовували низькі дози розчину ацетату свинцю, вплив на ембріогенез проводили за наступним планом: 1 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05 мг/кг; 2 група – контрольна. Згідно загальноприйнятими інструкціям проведення експериментальних робіт, розчин ацетату свинцю вводили самицям через зонд один раз на добу, в один і той же час, з 1 по 19 день вагітності (на 20-й день вагітності проводили оперативний забій). Для визначення впливу ацетату свинцю на хід кардіогенезу, проводили вилучення серця у фіксованих нейтральним формаліном ембріонів щурів контрольної та експериментальної груп.

Серце досліджувалось ззовні на відповідність стадії розвитку: визначалось формування вушок передсердь, борозд серця та його форми. Потім визначали масу серця та проводили стандартні розрізи для дослідження стану камер серця і клапанного апарату. Виготовляли гістологічні препарати для визначення можливих змін на тканинному рівні.

Результати досліджень та їх обговорення. Порушення ходу кардіогенезу в групі свинцевої інтоксикації виявлялось вже на рівні визначення маси

серця ембріонів, а саме спостерігалось достовірне зменшення маси серця: в групі інтоксикації – $32,45 \pm 1,08$ (мг) проти контрольної – $35,33 \pm 1,03$ (мг).

Серце досліджували спочатку макроскопічно – під бінокулярною лупою: проводили розрізи горизонтальні та сагітальні для визначення відповідності розвитку органа стадії розвитку ембріона: визначали стан розвитку міокарду камер серця, міжшлуночкової перегородки та формування передсердно шлуночкових клапанів (рис. 1).

При впливі низьких концентрацій ацетату свинцю навіть на макрорівні відмічалось витончення міокарду стінок серцевих камер та порушення внутрішнього рельєфу шлуночків. Трабекули шлуночка серця в групі свинцевої інтоксикації дезорієнтовані, соскоподібні м'язи не виразні (близько 23%) сухожилкові нитки передсердно-шлуночкових клапанів були вкорочені (18%), а самі стулки виявляли поліморфність (рис. 2). Такі морфологічні зміни беззаперечно впливали на скорочувальну функцію серця та порушували гемодинаміку. Якщо в контрольній групі соскоподібні м'язи були добре сформовані, мали чіткі контури та відокремлювались від трабекул міокарду шлуночків, то в групі свинцевої інтоксикації деякі соскоподібні м'язи майже не відрізнялись від трабекул міокарду.

Подальші дослідження проводились на гістологічних зрізах. Наприкінці ембріогенезу ми спостерігали завершення процесів септації серця, зміни орієнтації трабекул шлуночків з радіально розташованих на спіральньо орієнтовані, що відображає напрямок основних функціональних навантажень серця при скороченнях.

В нормі трабекули люмінального шару в цей період вже об'єднуються та утворюють специфічні для даного шлуночку патерни, формуючи внутрішній рельєф вентрикулярної поверхні. Подальша компактизація призводить до потовщення трабекул, а потовщення компактного шару відбувається внаслідок диференціювання клітин та васкулогенезу.

При оцінюванні ходу кардіогенезу одним з показників формоутворюючих процесів серця є процес

компактизації міокарду шлуночків. Динаміка зростання компактного та трабекулярного шарів серцевого м'яза досить цікава та докладно вивчена. Одним з основних етапів формування міокарду є просторова зміна напрямків шарів міокарду шлуночків, цей процес відбувається паралельно компактизації міокарду серця і співпадає в часі з ангиогенезом. В контрольній групі нами визначались на гістологічному рівні добре розвинені шари міокарду та судин, що формуються (рис. 3).

Як показали результати морфометричних досліджень, товщина стінки шлуночку після впливу ацетатом свинцю зменшується і це зменшення не є однозначним для міокарду правого та лівого шлуночків та передсердь. Більше ушкоджується міокард правого шлуночку, а саме відбувається зменшення товщини стінки за рахунок витончення компактного прошарку. Лівий шлуночок менше підлягає впливу токсикантів, можливо це зумовлено його більшим фізичним та гемодинамічним навантаженням, що спрацьовує як захисний механізм (рис. 4).

Як показали результати вимірювання товщини компактного міокарду стінки серця в нормі в правому шлуночку в середньому $201,6 \pm 8,3$ мкм, а при впливі ацетатом свинцю достовірно зменшувалась до $179,1 \pm 12,3$ мкм ($p < 0,05$). Товщина стінки лівого шлуночку (компактного шару) становила в нормі $215,3 \pm 10,7$ мкм, в той час, як при свинцевій інтоксикації зменшувалась до $198,2 \pm 14,3$ мкм ($p < 0,05$).

Зміни кардіогенезу в шлуночковому відділі ембріонального серця визначались не лише на рівні товщини, але спостерігались також і порушення васкулогенезу компактного міокарду. В групі дослідних тварин, що підлягали впливу ацетатом свинцю, нами визначалось збільшення кількості функціонуючих судин та збільшення їх діаметру. Такий факт морфологічної адаптації з боку судинної системи свідчить про гіпоксичний стан міокарду під впливом ацетату свинцю (рис. 5).

Мікроскопічні дослідження серійних гістологічних зрізів серця ембріонів щурів дозволили оцінити зміни

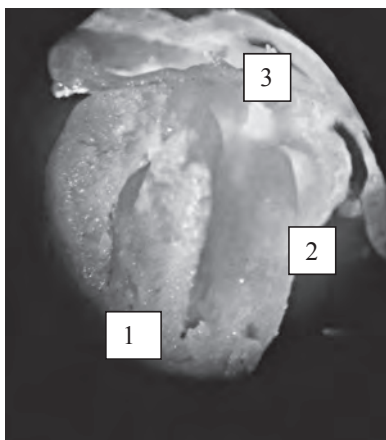


Рис. 1. Макропрепарат серця ембріона щура контрольної групи. Вскриті камери серця. Зб. 0,4x7.
1. Міжшлуночкова перегородка.
2. Стінка лівого шлуночку.
3. Передсердя.

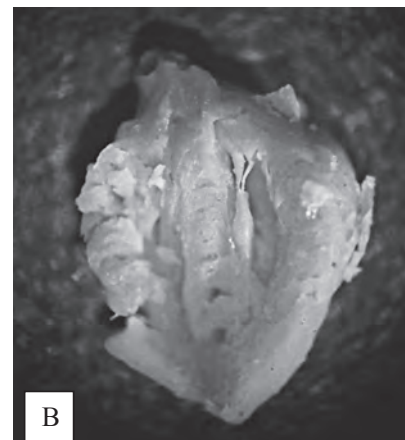
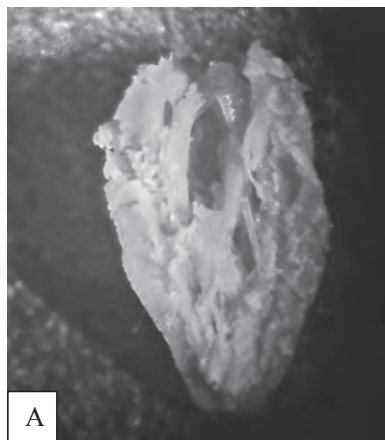


Рис. 2. Макропрепарат трабекулярного шару шлуночку серця ембріона щура в групі свинцевої інтоксикації (А) та в контрольній групі (В).

МОРФОЛОГІЯ

не тільки товщини стінки, а й кількість та ступінь формування трабекул, що утворюють внутрішній рельєф шлуночку. Трабекули шлуночків в серцях контрольної групи добре сформовані, всередині кожної спостерігаються процеси компактизації міокарду визначаються судини, що їх живлять. В серцевій стінці групи інтоксикації трабекули витончені, не утворюють містків та не містять судин.

Аналізуючи морфометричні показники товщини міжшлуночкової перегородки ми визначили, що вплив ацетатом свинцю на організм вагітної самиці призводить до витончення міжшлуночкової перегородки серця ембріона у порівнянні з контрольною групою.

Нами також досліджувались структури передсердно-шлуночкових клапанів серця ембріона щура: стулки, соскоподібні м'язи та сухожилкові нитки. Відокремлення соскоподібних м'язів відбувається протягом раннього кардіогенезу внаслідок процесу делямінації, результатом якого є утворення стулки передсердно-шлуночкового клапану, первинної сухожилкової нитки та верхівки соскоподібного м'яза шлуночку. Стулки передсердно-шлуночкових клапанів в контрольній групі були досить виразно сформовані, хоч і не є гістологічно зрілою структурою, гістологічне дозрівання структур клапанного апарату серця завершується після народження щура.

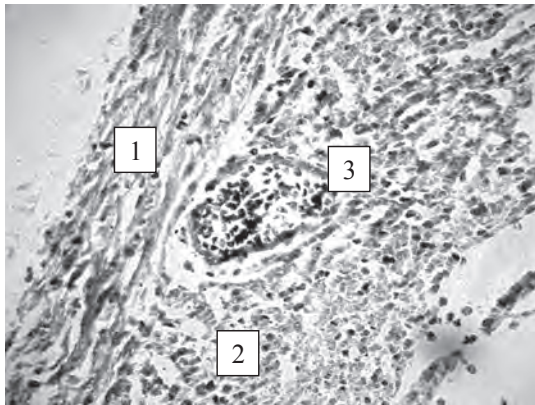


Рис. 3. Мікрофотографія стінки лівого шлуночку серця ембріона щура в контрольній групі. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення: Ок.8 х об.40.
1. Повздовжній шар міокарду.
2. Поперечний шар міокарду.
3. Судина з клітинами крові.

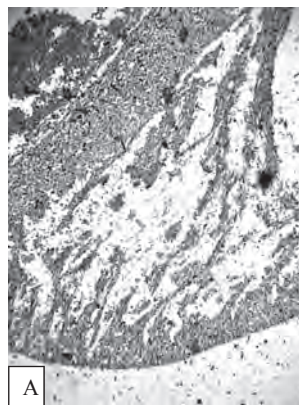


Рис. 4. Мікрофотографія стінки правого шлуночку серця ембріона щура в групі свинцевої інтоксикації (А) та в контрольній групі (В). Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення: Ок.8 х об.10.

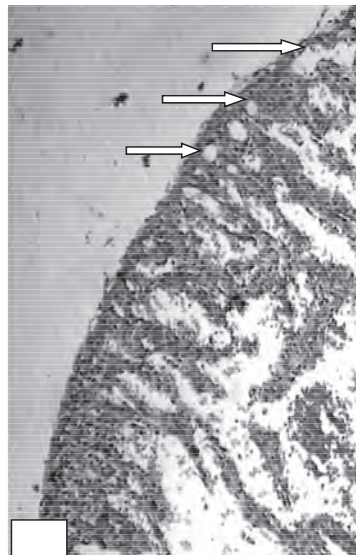
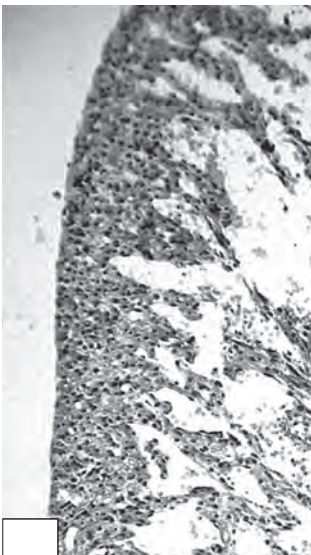


Рис. 5. Мікрофотографія стінки правого шлуночку серця ембріона щура 20-ї доби розвитку в контрольній групі (А) та в групі свинцевої інтоксикації (В). Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення: Ок.8 х об.40. Збільшення діаметру судин компактного міокарду в групі свинцевої інтоксикації вказано стрілками.

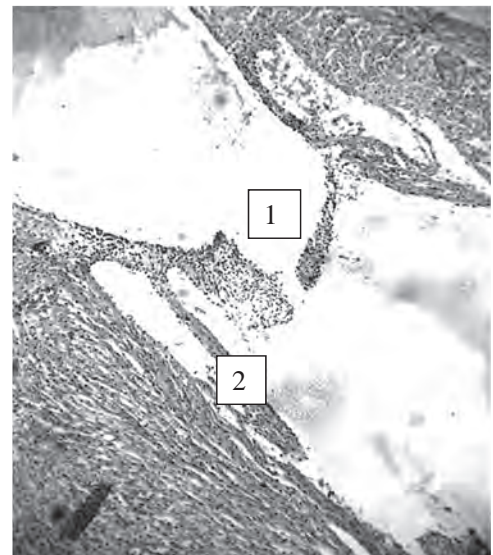


Рис. 6. Мікрофотографія стулок передсердно-шлуночкового клапану серця ембріона щура 20-ї доби розвитку в групі свинцевої інтоксикації. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення: Ок.8 х об.10.
1. Стулки клапанів.
2. Аномальна сухожилкові нитка, що кріпиться до нижньої поверхні стулки.

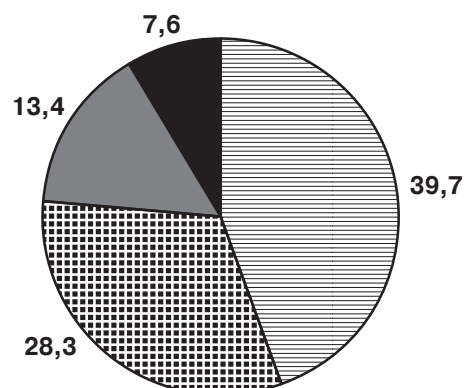
В наших гістологічних дослідженнях в групі свинцевої інтоксикації спостерігалось порушення форми стулок передсердно-шлуночкових клапанів у вигляді укорочення або витончення підстави. В деяких випадках визначалось формування додаткових аномальних сухожилкових ниток, які прикріплені не до краю стулки, а до нижньої поверхні, чого не зустрічалось в групі контролю (**рис. 6**). Таке аномальне розташування сухожилкових ниток розцінювалось нами як патологія клапанного апарату, яка виникала внаслідок порушення процесу делямінації стінки шлуночку під впливом ацетату свинцю. Такі стулки не були конгруентними і це не могло не відбиватися на скорочувальній функції серця. В окремих випадках (близько 16%) зустрічались потовщення крайової поверхні стулки за рахунок розростання мезенхімних клітин (**рис. 6**).

Загальновідомо, що формування трабекулярного прошарку передсердь в нормі відстає у часі від трабекуляції шлуночків. Гребенясті м'язи посилюють скоротливість передсердь і діють як контрактильні структури серця, що розвивається. В серцях ембріонів групи, експонованої свинцем ми зустрічали затримку формування трабекул, або навпаки збільшення кількості та різноманітності форм трабекул.

Таким чином, підсумовуючи експериментальні дані з впливу ацетату свинцю на кардіогенез ембріона щура, ми дійшли висновку, що процес септації та формування стінок камер серця і клапанного апарату порушується в порівнянні з контролем. Найзначнішу частину порушень складала зміни товщини міокарду передсердь та шлуночків (28,3%), витончення міжшлуночкової перегородки 7,6%, що було майже вдвічі меншим за показники порушення формування клапанного апарату – 13,4% (**рис. 7**).

Високий відсоток (майже 40%) відсутності значимих порушень кардіогенезу дослідних тварин групи свинцевої інтоксикації пояснюється значним рівнем ембріональної смертності в даній групі: більшість ембріонів, що мали вади розвитку (в тому числі і серця) загинули на ранніх етапах ембріогенезу. Проте необхідно враховувати, що в даному дослідженні спостерігались комбіновані групи порушень розвитку серця, наприклад: збільшення обсягу передсердь часто співпадало з порушенням формування міжшлуночкової перегородки серця або поліморфністю стулок передсердно-шлуночкових клапанів.

Висновки. Як результат токсичної дії ацетату свинцю на кардіогенез в експерименті виявлялось



- ▨ вигукнення стінки передсердь та шлуночків
- порушення формування клапанного апарату
- вигукнення МШП
- норма

Рис. 7. Співвідношення відсотків порушень розвитку камер серця та стулок передсердно-шлуночкових клапанів серця ембріонів щура в експерименті під впливом ацетату свинцю (%).

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 визначалась у:

- зменшенні товщини компактного міокарду стінок шлуночків серця.
- збільшенні об'єму та зменшенні товщини стінок передсердь, затримці утворення та розвитку трабекул передсердь.
- вигукненні всіх частин міжшлуночкової перегородки.

Формуванні аномальних за формою стулок та сухожилкових струн передсердно-шлуночкових клапанів, що безумовно, призводило до порушення гемодинаміки серця.

Перспективи подальших досліджень. Науковий інтерес представляє гістологічне дослідження серця ембріона щура з використанням електронної мікроскопії для визначення стану ультраструктурних органел в міокарді. Перспективним є також експериментальний пошук нових антагоністів ацетату свинцю.

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. 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.
3. Зербіно Д.Д. Свинець: пусковий стимул деяких судинних хвороб / Д.Д. Зербіно, Т.М. Соломенчук, Ю.О. Поспішіль // Acta Medica Leopoliensia. Львівський медичний часопис. – 1995. – Т. 1, число 2/3. – С. 50-54.
4. Зербіно Д.Д. Свинець: ураження судинної системи / Д.Д. Зербіно, Т.Н. Соломенчук // Український медичний часопис. – 2002. – № 2 (28). – III-IV. – С. 34-42.
5. Острополец С.С. Миокард. Структура и функция в норме и патологии / С.С. Острополец. – Донецк: Норд Пресс, 2007. – 212 с.
6. Оцінка вмісту важких металів у ґрунтах Маріуполя та їх вплив на здоров'я людини / С.П. Кармазиненко, Ю.Ю. Войтюк, І.В. Кураєва, В.Й. Манічев // Стан навколишнього середовища. Довкілля і здоров'я. – 2013. – № 4. – С. 10-13.
7. Скальный А.В. Диагностика, профилактика и лечение отравлений свинцом / А.В. Скальный, А.Т. Быков, Б.В. Лимин. – М.: ВЦМК «Защита». – 2002. – 52 с.
8. Скальный А.В. Микроэлементы для вашего здоровья / А.В. Скальный. – М.: «Издательский дом «Оникс-21 век», 2003. – 238 с.

9. Шаторна В.Ф. Морфологическое исследование влияния некоторых микроэлементов на эмбриогенез и органогенез крыс / В.Ф. Шаторная, В.И. Гарец // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української стоматологічної академії. – 2015. – Том 15, Випуск 3 (51). – С. 263-266.

УДК: 611.12-034:591.33-092.9

ВПЛИВ НИЗЬКИХ ДОЗ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ НА КАРДІОГЕНЕЗ ЩУРА В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Шаторна В. Ф., Гарець В. І., Нефьодова О. О., Кононова І. І.

Резюме. Дослідили кардіотоксичний вплив низьких доз ацетату свинцю в експерименті на вагітних саміцях білих щурів. Для визначення впливу ацетату свинцю на хід кардіогенезу, проводили вилучення серця у фіксованих формаліном ембріонів щурів контрольної та експериментальної груп. Серце досліджувалось макроскопічно на відповідність стадії розвитку та мікроскопічно на гістологічних зрізах для визначення можливих змін на тканинному рівні.

Доведено кардіотоксичність низьких доз ацетату свинцю, що проявлялась у зменшенні товщини компактного міокарда стінки шлуночків, витонченні відділів міжшлуночкової перегородки, утворенні додаткових аномальних сухожильних струн передсердно-шлуночкових клапанів.

Ключові слова: кардіогенез, ацетат свинцю, міокард, серце.

УДК: 611.12-034:591.33-092.9

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ДОЗ АЦЕТАТА СВИНЦА НА КАРДИОГЕНЕЗ КРЫСЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Шаторная В. Ф., Гарец В. И., Нефедова Е. А., Кононова И. И.

Резюме. Исследовали кардиотоксическое влияние низких доз ацетата свинца в эксперименте на беременных самках белых крыс. Для определения влияния ацетата свинца на кардиогенез, проводили извлечение сердца в фиксированных формалином эмбрионов крыс контрольной и экспериментальной групп. Сердце исследовалось макроскопически на соответствие стадии развития и микроскопически на гистологических срезах для определения возможных изменений на тканевом уровне.

Доказано кардиотоксичность низких доз ацетата свинца, которая проявлялась в уменьшении толщины компактного миокарда стенки желудочков, истончении отделов межжелудочковой перегородки, образовании дополнительных аномальных сухожильных струн предсердно-желудочковых клапанов.

Ключевые слова: кардиогенез, ацетат свинца, миокард, сердце.

UDC: 611.12-034:591.33-092.9

EFFECT OF LOW DOSES OF LEAD ACETATE TO CARDIOGENESIS IN EXPERIMENT ON RAT

Shatorna V. F., Harets V. I., Nefedova E. A., Kononova I. I.

Abstract. The pollution of the environment – one of the most pressing global environmental problems. Among the large variety of factors that affect the human body, the top spot is occupied by heavy metals and their compounds entering the environment as a result of human activity. The data of scientific literature concerning the action of lead compounds in mammalian embryogenesis and quite contrary and show a lack of information on the effects of heavy metals on reproductive function and prenatal ontogenesis, organogenesis, and no data on the effect of low and ultra low doses in cardiogenesis. Despite the development of national and foreign scientists, not all aspects of the problem studied in sufficient.

The aim of researching: experimental determination of morphogenetic patterns of cardiogenesis influenced by lead acetate in isolated. Research materials were chosen as experimental animals in rats. All rats were divided into 2 groups: Group 1 – animals injected by solution of lead acetate at a dose of 0.05 mg/kg; Group 2 – control.

According to generally accepted guidelines for experimental work, solutions of lead acetate injected to pregnant female through a tube once a day, at the same time 1 to 19 days of pregnancy (after 20 days of pregnancy was performed operative slaughter). Bereaved embryo from the uterus, fixed in neutral formalin, bereaved heart, serial histological preparations were made and examined by microscopy and morphometry.

Analysis of the results revealed embryotoxic effect of lead acetate (in isolated introduction) on the course of embryogenesis, which is manifested in increase in total embryonic mortality, we also observed changes of cardiogenesis, namely: thinning of the wall interventricular septum, thickness reduction of a compact layer and reducing ventricular heart weight.

Analysis of histological sections of rats embryo hearts in a group of lead intoxication showed a negative effect of lead acetate on the course of cardiogenesis, which was to reduce the thickness of the ventricular wall thinning due to the compact layer. According to the results of our experiments on the influence of lead acetate is thinning all departments of interventricular septum compared with the control, end the formation of additional anomalous tendon strings of atrioventricular valves.

Thus the analysis of the results showed a negative effect of lead acetate on the course of cardiogenesis, which consisted of wall thinning of interventricular septum, reducing the thickness of the ventricle due to thinning of the compact layer and reducing the weight of the heart.

Keywords: cardiogenesis, lead acetate, myocardium, heart.

Рецензент – д. мед. н. Степанчук А. П.

Стаття надійшла 21.03.2016 року