

STUDY OF THE MORPHOMETRIC FEATURES OF CAPILLARY NETWORK IN THE EARLY STAGES OF POROUS FIBER MATRIX IMPLANTATION**Pantus A. V., Rozhko M. M., Bagrii M. M., Kovalchuk N. E., Yarmoshuk I. R.**

Abstract. Currently the interest in biopolymers in bioengineering and medicine is increasing progressively. The materials used in tissue engineering are expected to have some special features and supply engineer and microengineer constructions with characteristics that living tissues have, as follows: the ability of self-repair; the ability of changing anatomy and properties in response to environmental factors. The purpose of the study: to estimate experimentally the development patterns of the vasculature in the early stages of porous fiber matrix implantation.

The research was carried out on 20 lab animals (rabbits), which were divided into two groups. The first group: surgical intervention was performed to 10 animals, which included the creation of the pocket in the subcutaneous adipose tissue and suturing. The second group: the implantation of the biopolymer matrix into the area between the shoulder blades was performed to 10 animals.

The month after the matrix with the underlying tissues was removed. It was divided into 25 parts for histological examination. 9 segments were chosen for analysis: the one from centrally located area, four segments from precentral and four ones from peripheral zones.

The histological slides were examined lightoptically with the help of the microscope Leica DME with different magnifications. The morphometric features were analyzed using the system for taking microscopic pictures of histological samples (microscope Leica DME and digital camera Nikon P5100) and by using the program ImageTool 2.0 for Windows. The research were conducted at the Department of Pathomorphology and Legal Medicine of Ivano-Frankivsk National Medical University.

Statistical analysis was performed with the aid of PC programs Microsoft Exel and Statistica 5.5 (Multiple Regression) using the methods of variation statistic and correlation.

By using a freezing microtome the slides 30-50 nm were made, then were dehydrated in alcohols of different concentrations, soaked in methyl salicylate and fixed in polystyrene. Afterwards, the slides were examined with the microscope MPS-6.

The results display the absence of acute or chronic inflammatory infiltration as well as no transplantation rejection. The fiber matrix made by us, creates a peculiar bridge for germination and development of capillary network due to its hygroscopicity and sponginess.

Key words: biopolymer, bioimplant, vascular mesh.

*Рецензент – проф. Ткаченко І. М.
Стаття надійшла 05.02.2019 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2019-1-2-149-309-312

УДК 611.12-034:591.33-092.9

Шаторна В. Ф., Кононова І. І., Каплуненко А. М.

ВПЛИВ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА НАНОСРІБЛА НА КАРДІОГЕНЕЗ ЩУРІВ**ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпро)****verashatornaya67@gmail.com**

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження виконано у рамках науково-дослідної роботи кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки «Біологічні основи морфогенезу органів та тварин під впливом нанометалів в експерименті» (№ державної реєстрації 0115U004879).

Вступ. Не дивлячись на значні досягнення в діагностиці та лікуванні більшості захворювань серцево-судинної системи, існує тенденція до їх зростання в Україні як у дорослих так і у дітей [1,2]. 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, та ін. [3].

Серед багатьох негативних факторів навколишнього середовища, 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. Рядом експериментальних робіт сучасних

українських вчених, таких як Трахтенберг І.М., 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 гемореології і мікроциркуляції [4,5,6]. Аналіз результатів проведених експериментів групи дослідників на чолі з професором Д.Д. Зербіно дозволив зробити припущення 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 фактор ризику, а як важливий етіологічний стимул розвитку серцево-судинних захворювань [7]. Тому важливим є пошук шляхів захисту від негативного впливу низьких доз ацетату свинцю на організм в цілому та кардіогенез зокрема.

В сучасних медичних дослідженнях та практиці досить широко використовуються нанопрепарати,

препарати з наночастинками срібла широко застосовують у хірургії завдяки його бактерицидним та фунгіцидним властивостям [8,9,10]. 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.

Мета дослідження: визначення морфогенетичних закономірностей формування ефектів ізольованого впливу ацетату свинцю та комбінованої дії ацетату свинцю з цитратом наносрібла, на розвиток серця зародків щурів в експерименті.

Об'єкт 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 дослідження проводили у відповідності до законодавства України, правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою.

Всі щури були розділені на 3 групи: 1 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05 мг/кг, Кількість самиць – n=8; кількість ембріонів n= 60;

2 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05 мг/кг та розчин цитрату срібла отриманого за аквананотехнологією у дозі 2 мкг/кг; Кількість самиць – n=8; кількість ембріонів n= 81;

3 група – контрольна. Кількість самиць – n=8; кількість ембріонів n= 72.

Впливу зазначених чинників самиць щурів надавали внутрішньошлунково 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 та наносрібла на хід кардіогенезу, проводили вилучення серця у фіксованих нейтральним формаліном ембріонів щурів. Серце досліджували спочатку макроскопічно – під бінокулярно лупою: проводили розрізи горизонтальні та сагітальні для визначення відповідності розвитку органа стадії розвитку ембріона: визначали стан розвитку камер серця та міжшлункової перегородки та внутрішнього рельєфу шлуночків. Також виготовляли серійні гістологічні зрізи для визначення змін на гістологічному рівні, які досліджували з використанням загальноприйнятих гістологічних оглядових методів забарвлення. Забарвлення: гематоксилін-еозином дозволило проаналізувати гістогенетичні процеси в міокарді та ендокардіальних подушках передсердно-шлункового каналу.

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики. Оцінку вірогідності статистичних досліджень проводили за допомогою t-критерію Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Як результат токсичної дії ацетату свинцю на кардіогенез при ізольованому введенні в експерименті вияв-

лялось 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 також у зменшенні товщини компактного міокарду стінки шлуночку серця з $201,6 \pm 8,3$ мкм до $179,1 \pm 12,3$ мкм ($p < 0,05$) та збільшенні об'єму і зменшення товщини стінок передсердь з затримкою утворення та розвитку міокарда передсердь. Спостерігалось витончення різних частин міжшлункової 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 стулок півмісяцевих заслінок крупних судин в порівнянні до контролю, а саме ми спостерігали формування аномальних за формою стулок, що безумовно, призводило до порушення гемодинаміки серця.

Введення ацетату свинцю відбивалось на порушенні базових гістогенетичних процесів серця, що розвивається. Порушення процесів делямінації та компактизації міокарду шлуночків призводило до зсувів процесу утворення трабекулярного шару міокарду шлуночків та закладки клапанів передсердно-шлункових отворів: укорочення стулок, зміна вмісту та обсягу передсердно-шлункових клапанів супроводжувалась утворенням додаткових аномальних сухожилкових струн, що прикріплювались не до краю стулки, а до її нижньої поверхні. Нами зустрічались потовщення крайової поверхні стулки за рахунок розростання мезенхімних клітин (**рис. 1**).

В експериментальній групі комбінованого впливу ацетату свинцю та цитрату срібла визначалось гіпертрофічне збільшення обсягу передсердь, при цьому спостерігалось розширення аорти та легеневого стовбуру 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 [6], в яких визначено, що важкі метали такі як ртуть, сурма і свинець є індукторами утворення вільних радикалів в уражених тканинах серця, а підвищення концентрації цих мікроелементів в міокарді призводить до збільшення в ньому кількості фіброзної тканини.

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

В серцях ембріонів групи свинцевої інтоксикації ми зустрічали витончення стінки передсердь та затримку формування трабекул, або навпаки збільшення кількості та поліморфність трабекул. Особливість впливу цитрату срібла на токсичність ацетату свинцю при комбінованому введенні пояснюється специфічною дією сполук срібла на стан судин. Виявлено, що хронічний вплив срібла або його солей визначається на товщині судин, а саме: судини м'язово-еластичного типу у відповідь на контакт зі сріблом

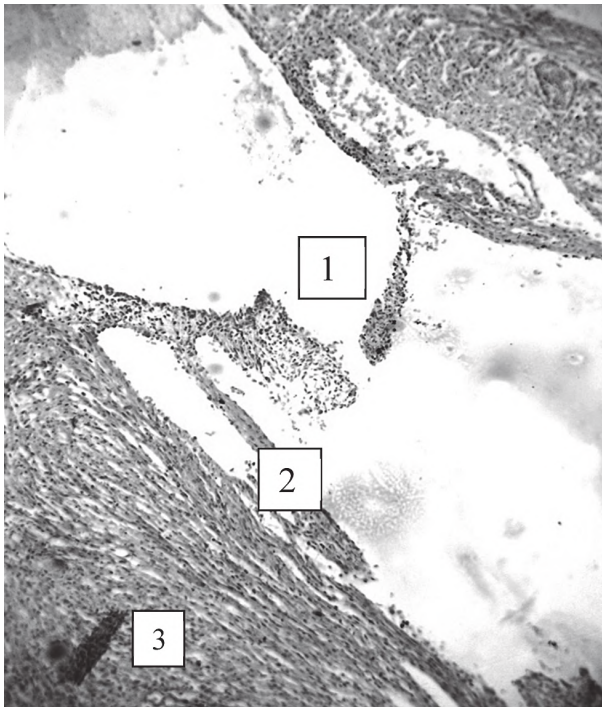


Рис. 1. Стулки передсердно-шлуночкового клапану серця ембріона щура 20-ї доби ембріогенезу в групі свинцевої інтоксикації. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення: Ок.8 х об.10. Позначення: 1. Стулки клапанів; 2. Аномальна сухожилкова нитка, що кріпиться до нижньої поверхні стулки; 3. Міокард лівого шлуночку.

потовщуються за рахунок 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, в експерименті визначаються потовщення міокарда у вушках ембріонального серця (рис. 3).

Порожнина передсердя групи комбінованого впливу була значно збільшена, стінка сформована, але потовщена, трабекули утворені широкими тяжами орієнтованого міокарда. Деякі трабекули мали нетипову форму та розміри, різниці в показниках між правим і лівим передсердям ми не спостерігали. Дефектів формування міжпередсердної перегородки в групі комбінованого впливу ацетату свинцю та цитрату срібла ми не зустріли.

Висновок. При ізольованому введенні ацетату свинцю визначається спектр змін кардіогенезу: зменшення товщини компактного міокарду стінки правого шлуночку серця ($p < 0,05$); зменшення товщини компактного міокарду лівого шлуночку; витончення різних частин міжшлуночкової перегородки; формування додаткових сухожилкових струн стулок передсердно-шлуночкових клапанів, зменшення товщини стінок передсердь з затримкою розвитку трабекул, що свідчить про кардіотоксичний вплив низьких доз

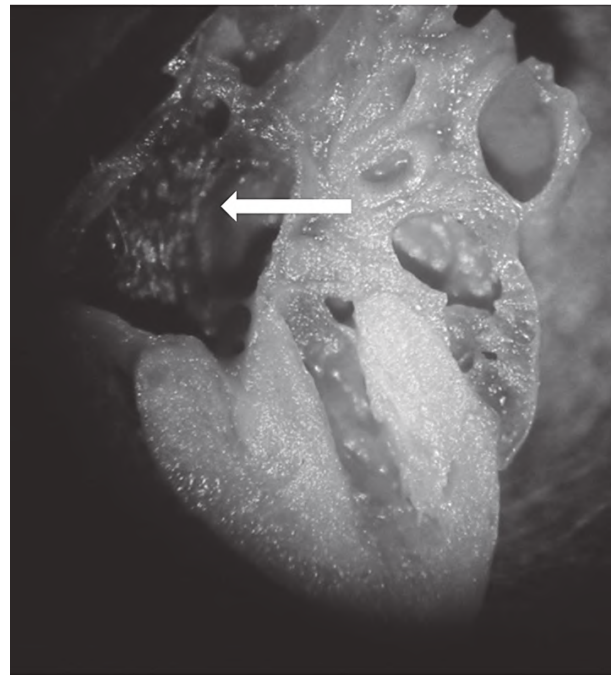


Рис. 2. Розріз фіксованого серця ембріона щура експериментальної групи комбінованого впливу ацетату свинцю + цитрату срібла на 20-й добі ембріогенезу. Розширені передсердя вказано стрілкою.

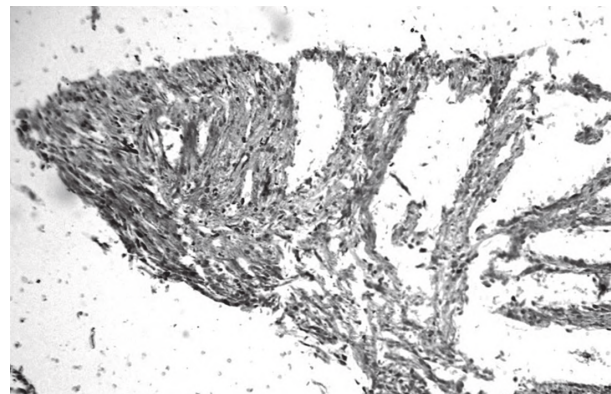


Рис. 3. Стінка лівого передсердя серця ембріона щура в групі комбінованого впливу ацетату свинцю та цитрату срібла. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення: Ок.8 х об.40.

ацетату свинцю при внутрішньошлуночковому введенні в експерименті.

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

Перспективи подальших досліджень. Перспективним дослідженням, на нашу думку, є експериментальний пошук нових біоантогоністів токсичності ацетату свинцю серед ультрамікроелементів та їх наоформ.

Література

1. Volosovets' OP. Suchasni dosyahnennya ta problemy dytyachoyi kardiorevmatolohichnoyi sluzhby Ukrainy. Zdorov'e rebenka. 2006;1:9-14. [in Ukrainian].
2. Koval' AP, Mokrik IYu, Dubovaya AV. Toksichnyye elementy u detey s vrozhdennymi porokami serdtsa i magistral'nykh sosudov. Mediko-sotsial'nyye problemy sem'i. 2012;3-4(17):95-9. [in Russian].
3. Natsional'na dopovid' pro stan navkolyshn'oho pryrodnoho seredovyschcha v Ukraini u 2010 rotsi. Ministerstvo okhorony navkolyshn'oho pryrodnoho seredovyschcha Ukrainy. 2010. 548 s. [in Ukrainian].
4. Hnateyko OZ, Lukyanenko NS. Ekohenetychni aspekty patolohiyi lyudyny, sprychynenoyi vplyvom shkidlyvykh faktoriv zovnishn'oho seredovyschcha. Zdorov'e rebenka. 2010;6(9):82-7. [in Ukrainian].

5. Zerbino DD, Solomenchuk TI, Pospishil' YuA. Svinets – etiologicheskii faktor porazheniya sosudov: osnovnyye dokazatel'stva. *Mistetstvo líkuvannya*. 2009;8(64):12-4. [in Russian].
6. Trakhtenberh IM, Chekman IS, Lynnyk VO, Kaplunenko VH, Bilets'ka EM, Shatorna VF, ta in. Vzayemodiya mikroelementiv: biolohichnyy, medychnyy i sotsial'nyy aspekty. *Visn. NAN Ukrainy*. 2013;6:11-20. [in Ukrainian].
7. Zerbino DD. Koronaryty v dytyachomu vitsi: kliniko-patomorfolohichni zminy. *Sertse i sudyny*. 2015;4:100-3. [in Ukrainian].
8. Lakhtin VM, Afanas'yev SS, Lakhtin MV. Nanotekhnologii i perspektivy ikh ispol'zovaniya v meditsine i biotekhnologii. *Vestn. RAMN*. 2008;4:50-5. [in Russian].
9. Glushchenko NN, Bogoslovskaya OA, Ol'khovskaya IP. Sravnitel'naya toksichnost' soley i nanochastits metallov i osobennost' ikh biologicheskogo deystviya. *Izvestiya Akademii promyshlennoy ekologii*. 2006;3:46-7. [in Russian].
10. Shatorna VF, Harets' VI, Nefedova EA, Ostrovskaya SS, Kononova YY. Modyfyturyuyushchee deystvie tsytratov metallov na kardiyotoksichnost' atsetata svyntsa u émbryonov krys. Aktual'ni pytannya medychnoyi nauky ta praktyky. *Zbirnyk naukovykh prats' Vypusk 82. Zaporizhzhya*. 2015;2:377-87. [in Russian].

ВПЛИВ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА НАНОСРІБЛА НА КАРДІОГЕНЕЗ ЩУРІВ

Шаторна В. Ф., Кононова І. І., Каплуненко А. М.

Резюме. При ізольованому внутрішньошлунковому введенні ацетату свинцю в дозі 0,05 мг/кг вагітним самкам щурів виявлено його кардіотоксичність на серця ембріонів. На 20-у добу пренатального розвитку в ембріональних серцях визначали: зменшення товщини компактного міокарда стінки шлуночків, витончення відділів міжшлункової перегородки, утворення додаткових аномальних сухожильних струн передсердно-шлункових клапанів. Комбіноване введення ацетату свинцю і цитрату срібла (в дозі 2 мкг/кг) знижує кардіотоксичність ацетату свинцю і відновлює товщину міокарда серця ембріона. Комбіноване введення цитрату срібла попереджає негативний вплив ацетату свинцю на кардіогенез щурів в експерименті.

Ключові слова: ацетат свинцю, цитрат срібла, кардіогенез, міокард, міжшлункова перегородка.

ВЛИЯНИЕ АЦЕТАТА СВИНЦА И НАНОСЕРЕБРА НА КАРДИОГЕНЕЗ КРЫС

Шаторная В. Ф., Кононова И. И., Каплуненко А. Н.

Резюме. При изолированном внутрижелудочном введении ацетата свинца в дозе 0,05 мг/кг беременным самкам крыс выявлена его кардиотоксичность на сердца развивающихся эмбрионов. На 20-е сутки пренатального развития в эмбриональных сердцах определяли: уменьшение толщины компактного миокарда стенки желудочков, истончение отделов межжелудочковой перегородки, образование дополнительных аномальных сухожильных струн предсердно-желудочковых клапанов. Комбинированное введение ацетата свинца и цитрата серебра (в дозе 2 мкг/кг) снижает кардиотоксичность ацетата свинца и восстанавливает толщину миокарда сердца эмбриона. Комбинированное введение цитрата серебра предупреждает негативное влияние ацетата свинца на кардиогенез крыс в эксперименте.

Ключевые слова: ацетат свинца, цитрат серебра, кардиогенез, миокард, межжелудочковая перегородка.

INFLUENCE OF LEAD ACETATE AND NANOSILVER ON RAT CARDIOGENESIS

Shatorna V. F., Kononova I. I., Kaplunenko A. M.

Abstract. Pressing problem for the industrial regions of Ukraine are heavy metal pollution, with priority toxicants which is lead and its compounds. Search for new bioantagonism possible lead compounds – a task relevant (important) to modern medicine.

Objective. The aim of the study was to determine the experimental morphogenetic effects of patterns of isolated impact of lead acetate and lead acetate combined action of silver citrate to heart development of the embryos of rats.

Methods. The study conducted on embryos of white rats. In the experiment, there were 3 groups of animals: control group isolated administration of lead acetate group and the combined administration of lead acetate and silver citrate.

Results. Experimental results showed cardiotoxicity of lead acetate, which was determined to reduce the thickness of the compact myocardium wall ventricle of the heart, reducing thickness fibrillation, ventricular septal thinning. Violation of delamination processes and ventricular myocardium compaction under the influence isolated lead acetate manifest violation of the trabecular layer formation and the formation of ventricular myocardium atrioventricular valve holes: shortening valves, change the content and scope of the atrioventricular valves accompanied by the formation of additional anomalous tendon strings. The influence on the course of cardiogenesis in groups with combined effects of lead acetate and silver citrate showed recovery of myocardial thickness and ventricular fibrillation, no violations in the formation of valvular heart rat embryos, indicating a decrease in cardiac toxicity of lead acetate citrate metals during combined administration.

Conclusion. Introduction solutions silver citrate prevents the negative effect of lead acetate on the general course of processes of cardiogenesis of embryos of rats under experimental conditions and indicates their bioantagonism.

Key words: lead acetate, silver citrate, cardiogenesis, myocardium, interventricular septum.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 11.02.2019 року*