

**ПРЕНАТАЛЬНА ДИНАМІКА КИСЛИХ ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНІВ В СЕРЦІ ЩУРІВ  
В НОРМІ ТА ПІД ВПЛИВОМ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ****Державний заклад «Дніпропетровська медична академія****МОЗ України» (м. Дніпро)****dovgalgem@i.ua**

Виконане дослідження є частиною планової наукової теми кафедри анатомії людини «Розвиток та морфо-функціональний стан органів та тканин експериментальних тварин та людини в нормі, в онтогенезі, під впливом зовнішніх чинників» (№ державної реєстрації 0111U009598).

**Вступ.** Теперішній час відзначається активним дослідженням впливу негативних факторів навколишнього середовища, особливо в пренатальний період розвитку. Більшість органів і систем зародка та плоду страждають від впливу важких металів [1,2]. Патологія серця та вади його розвитку також залежать від ступеня впливу токсикантів, зокрема сполук свинцю, що є одними з найбільш загрозливих зовнішніх агентів в пренатальному онтогенезі. Стромальний компонент серця виключно важливий в ранньому розвитку для основних процесів гістогенезу, зокрема диференціювання, міграції клітин всіх типів та їх апоптозу [3,4,7,8]. В теперішній час підтримується великий інтерес до впливу сполук свинцю на серце зрілих щурів [5], а дослідження формування стромального компонента серця залишаються важливими внаслідок подальшого розвитку новітніх технологій [4,6,9]. Таким чином, в науковій літературі практично відсутні дослідження розвитку матриксу серця ссавців після впливу сполук свинцю.

**Метою дослідження** було встановлення динаміки змін позаклітинного матриксу в серці щурів протягом пренатального розвитку в нормі та після впливу ацетату свинцю.

**Об'єкт і методи дослідження.** Матеріалом були ембріони та плоди інтактних білих щурів лінії Вістар на 11, 12, 14, 16 та 18 добу пренатального розвитку в нормі та після впливу ацетату свинцю. Самиці отримували ацетат свинцю per os в вигляді водного розчину в дозі 50 мг/кг на добу протягом 3 тижнів до початку вагітності та протягом вагітності. Матеріал фіксували рідиною розчином формаліну та заливали у парапласт за загальноприйнятими методиками. Для виявлення кислих глікозаміногліканів (ГАГ) гістологічні зрізи піддавали гістохімічному забарвленню за Стідменом.

Експерименти виконані з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006).

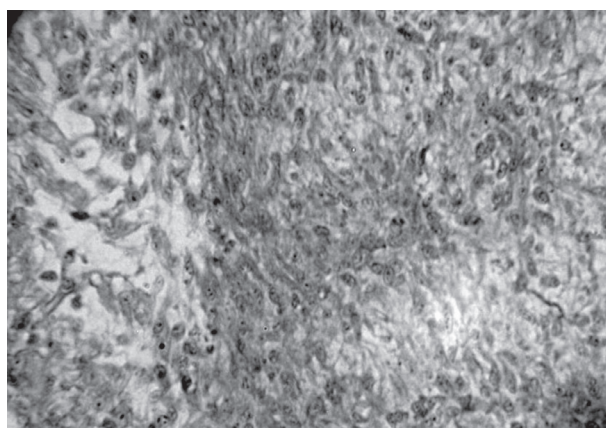
**Результати досліджень та їх обговорення.** На 11 добу пренатального розвитку в серці щурів контр-

ольної групи ми спостерігали розвинені передсердя з широким отвором венозного синусу, міжпередсердну перегородку, що формується, шлуночок, що переходив в конусно-стовбуровий відділ. Розподіл кислих ГАГ був залежним від виразності мезенхімних структур та базальної мембрани. Так, накопиченням кислих ГАГ визначався субендокардіальний прошарок в усіх відділах серця, хоча передсердний відрізнявся найменшою концентрацією цих речовин. У відповідності до швидкого розвитку структур, що містять мезенхімну тканину – подушок атріоventрикулярного каналу (АВК), подушок конусного та стовбурового відділу серця – ми спостерігали й найбільшу щільність кислих ГАГ в цих ділянках. Розподіл цього компонента матриксу був нерівномірним в кожній з цих структур. Передня та задні подушки АВК демонстрували найбільшу концентрацію кислих ГАГ в центральних відділах подушок, де відбувалася інтенсивна проліферація мезенхімних клітин. Майже ацелюлярні зони подушок, прилеглі до міокарду АВК, не містили цих речовин. Субендокардіальні ділянки подушок мали тонкий прошарок кислих ГАГ, що за товщиною та інтенсивністю забарвлення наближався до прошарку в шлуночковому відділі. Конусні та стовбурові подушки мали більш рівномірний патерн розподілу речовин, що мали забарвлення альціановим блакитним. В міокарді передсердь кислі ГАГ не виявлялися, а в міжклітинному просторі шлуночкового відділу виявлялися тонкі смужки забарвленого матеріалу, особливо в губчастому шарі.

На 12 добу зберігалися особливості розподілу кислих ГАГ, що ми спостерігали на попередній стадії. Інтенсивне накопичення цього компонента матриксу спостерігалось в міжпередсердній перегородці, яка знаходилась на стадії активного формування, на стику мезенхімної та м'язової тканин; менша інтенсивність реакції була притаманна мезенхімній частині перегородки. Кислі ГАГ мали нерівномірний розподіл в подушках АВК. Ділянки атріо-ventрикулярних (АВ) подушок, що найбільш виступали в порожнину серця, містили ці речовини в великій концентрації в відносно бідних на клітини зонах біля міокарду. Ділянки максимального скупчення клітин визначалися мінімальним накопиченням цього компонента матриксу. В каудальних відділах обох подушок, практично не визначалося забарвлення на кислі ГАГ, навіть у малоклітинних зонах. Для гребенів конусно-стовбурового відділу серця був також характерним рівномірний розподіл цих речовин. Між шлуночковим ендотелієм та міокардом ми спостерігали тонкий прошарок кислих ГАГ. В субендокар-

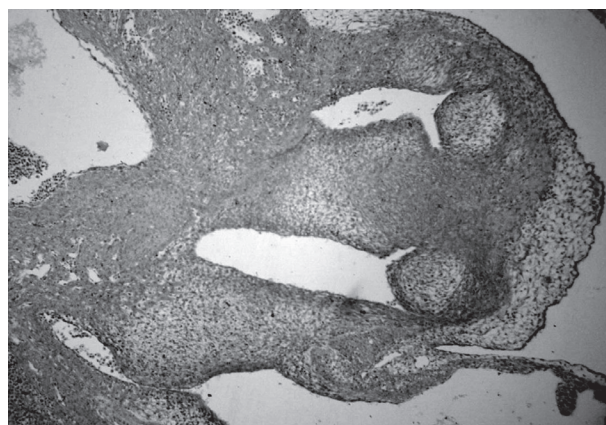
діальній зоні передсердного відділу вони майже не накопичувались.

На 14 добу місця активного росту та трансформацій в серці були відмічені підвищеною концентрацією кислих ГАГ. Клин м'язової тканини міжпередсердної перегородки контактував з мезенхімною тканиною передньо-верхньої АВ подушки, що була насичена цими речовинами. Міжпередсердна перегородка відрізнялась відносно рівномірним розподілом кислих ГАГ в мезенхімній частині. В АВ перегородці, що на цей час була вповненою з мезенхімної тканини, накопичення кислих ГАГ відмічало центральні її ділянки (**рис. 1**), які відрізнялися також більшою щільністю клітин, деякі з них знаходились на різних



**Рис. 1.** Фрагмент АВ перегородки серця щура на 14 добу пренатального розвитку в нормі. Забарвлення за Стідменом. Збільш.: ок.  $\times 10$ , об.  $\times 40$ .

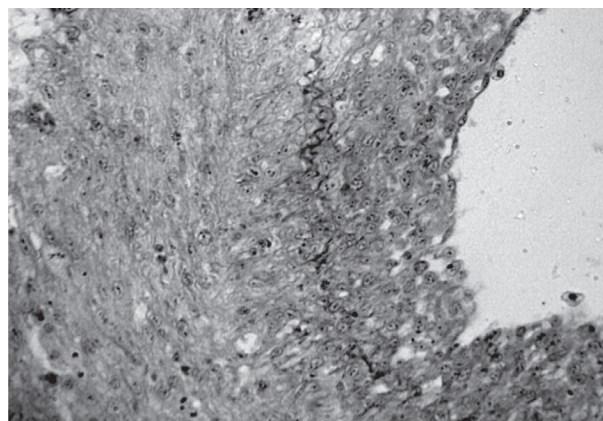
стадіях апоптозу. Інтерстицій міокарду передсердь та АВК містив невеликі тяжі забарвленої речовини. В усіх відділах серця був присутній забарвлений прошарок між ендокардом та міокардом, інтенсивність кольору залежала від товщини шару матриксу. Так, в передсердному відділі він був найтоншим з найменшою виразністю забарвлення, хоча порівняно до попередньої точки спостереження реакція помітно посилювалась. Найбільш інтенсивне забарвлення демонстрували каудальні частини обох передсердь, що контактували з АВК. Цікавим фактом є те, що пе-



**Рис. 2.** Аорта та легеневий стовбур серця щура на 16 добу пренатального розвитку в нормі. Забарвлення за Стідменом. Збільш.: ок.  $\times 10$ , об.  $\times 10$ .

редсердний відділ серця у курки на аналогічних стадіях формування серця майже не накопичує кислі ГАГ [3]. Зберігався шар матриксу, що був насиченим на ГАГ, в субендокардіальному просторі шлуночків, особливо в трабекулах, та випускного тракту. В субепікарді, що був добре розвинений на цей період спостереження, інтенсивність секреції кислих ГАГ теж залежала від відділу серця та товщини цього шару. Ми спостерігали тонкі тяжі, інтенсивно забарвлені альціановим блакитним, що були розташовані в напрямку від субепікарду до міокарду. Найчастіше така картина була притаманною передсердному відділу серця напроти місць активного росту гребінчастих м'язів. Також істотне накопичення забарвлених речовин відбувалося в конусно-стволовому відділі серця, що частково розділився (**рис. 2**). В ділянці контакту тулубної мезенхіми та АВК, що відмічає дорсальний мезокардій, інтенсивність реакції була дуже високою. Це пов'язано з активною міграцією клітин, що мають позасерцеве походження в субепікардіальну мезенхіму, а потім в більш глибокі шари серця. Ці мігранти, частина яких походить з нервового гребеня, сформують популяції гладком'язових клітин, перичитів, фібробластів серця [7,8].

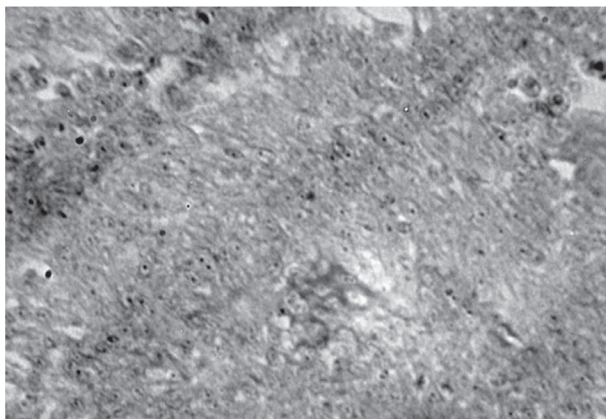
На 16 добу передсердний відділ серця відзначався нагромадженням кислих ГАГ між міокардом й ендокардом в гребінчастих м'язах обох передсердь. В шлуночках концентрація речовин цього типу зменшувалась відповідно до стоншення цього прошарку. Розподіл кислих ГАГ у мезенхіми аорти та легеневого стовбура мав градієнт зі збільшенням у напрямку до зони контакту з міокардом (**рис. 3**). В міокарді



**Рис. 3.** Фрагмент стінки легеневого стовбура серця щура на 16 добу пренатального розвитку в нормі. Забарвлення за Стідменом. Збільш.: ок.  $\times 10$ , об.  $\times 40$ .

цього відділу ми спостерігали окремі забарвлені тяжі. В зоні контакту АВК з тулубною мезенхімою зберігалась підвищена щільність цих речовин.

На 18 добу передсердний відділ демонстрував зменшення інтенсивності продукції кислих ГАГ, особливо в субендокардіальній зоні. В міокарді передсердь ми не виявили забарвлення внаслідок високої щільності кардіоміоцитів. Субендокардіальний шар зберігав високу концентрацію речовин цього типу. В зоні АВ клапанів найбільш виразна реакція була притаманна стулкам, але не в місцях максимального скупчення мезенхімних клітин. Контакт міокарду



**Рис. 4.** Фрагмент зони контакту мезенхіми та міокарду АВК на 16 добу пренатального розвитку під впливом ацетату свинцю. Забарвлення за Стідменом. Збільш.: ок.  $\times 10$ , об.  $\times 40$ .

та мезенхіми АВК також виділявся підвищеною інтенсивністю забарвлення, особливо з правого боку. Стулки мітрального клапану та півмісяцевих клапанів демонстрували істотну концентрацію цих речовин. В шлуночковому відділі серця, як в стінках, так й в міжшлуночковій перегородці, насиченість інтерстицію кислими ГАГ була невисокою. В стінці аорти та легеневого стовбуру ми спостерігали суттєве накопичення кислих ГАГ. Барвник розподілявся концентрично між прошарками мезенхімних клітин, що формували мембрани.

В зародків експериментальної групи, як правило, спостерігалось зменшення інтенсивності продукції кислих ГАГ протягом всього дослідженого періо-

ду. Привертало увагу різке збіднення речовинами цього типу субепікардіального шару та іноді надлишкове накопичення, зокрема в зоні контакту мезенхіми та міокарду АВК, основи конусу серця, верхньої частини міжшлуночкової перегородки, що було пов'язаним з апоптотичними процесами (рис. 4). На всіх досліджених етапах загалом пригнічення секреції речовин цього типу супроводжувалось менш виразним розвитком мезенхімних структур.

**Висновки.** Кислі ГАГ в серця щурів протягом пренатального періоду накопичуються в ділянках, що піддані активним морфогенетичним перебудовам, — міжпередсердна перегородка, гребінчасті м'язи передсердь, АВ подушки, АВ перегородка, трабекули шлуночків, подушки конусу та стволу, клапанні зони, зона дорсального мезокардію та субепікардіальний шар, та мають важливе значення для їх формування. В цілому, концентрація кислих ГАГ в основній речовині сполучної тканини серця знижується протягом дослідженого періоду, але це залежить від відділу та окремих ділянок. Під впливом ацетату свинцю, загалом, відбувається пригнічення продукції кислих ГАГ, та в ділянках, що містять патологічно високу концентрацію апоптотичних клітин, навпроти, концентрація їх може підвищуватись.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальша перспектива досліджень в цьому напрямку є пов'язаною з виявленням відхилень в розвитку інших компонентів матриксу та волокон строми серця під впливом ацетату свинцю та інших сполук важких металів.

### Література

1. Dovgal H.V. Morfologichni zmini v rozvitku pechinki schuriv pri vplivi atsetatu svintsyu ta za umov korektsiyi v prenatalnomu periodi / H.V. Dovgal // Ukrayinskiy morfologichniy almanah. – 2014. – Т. 12, № 1. – С. 42-44.
2. Dovgal H.V. Rozvitok selezinki schuriv v piznomu prenatalnomu periodi pid vplivom atsetatu svintsyu ta za umov korektsiyi / H.V. Dovgal // Visnik problem biologiyi i meditsini. – 2013. – Vip. 4 (105). – С. 197-200.
3. Mashtalir M.A. Kletochnyie populyatsii v embrionalnom serdtse: vzaimodeystviya pri normalnom i anomalnom razvitii / M.A. Mashtalir // Tavricheskiy mediko-biologicheskiy vestnik. – 2004. – Т. 7, № 4. – С. 84-85.
4. Acellular cardiac extracellular matrix as a scaffold for tissue engineering: in vitro cell support, remodeling, and biocompatibility / Y. Eitan, U. Sarig, N. Dahan, M. Machluf // Tissue. Eng. Part C. Methods. – 2010. – Vol. 16, № 4. – P. 671-683.
5. Cardiovascular responses to lead are biphasic, while methylmercury, but not inorganic mercury, monotonically increases blood pressure in rats / T.M. Wildemann, N. Mirhosseini, S.D. Siciliano, L.P. Weber // Toxicology. – 2015. – Vol. 328. – P. 1-11.
6. Imaging cardiac extracellular matrices: a blueprint for regeneration / J.P. Jung, J.M. Squirrell, G.E. Lyons [et al.] // Trends Biotechnol. – 2012. – Vol. 30, № 4. – P. 233-240.
7. Poelmann R.E. A Subpopulation of apoptosis-prone cardiac neural crest cells targets to the venous pole: multiple functions in heart development? / R.E. Poelmann, A.C. Gittenberger-de Groot // Dev. Biol. – 1999. – Vol. 207. – P. 271-286.
8. Poelmann R.E. The role of the epicardium and neural crest as extracardiac contributors to coronary vascular development / R.E. Poelmann, H. Lie-Venema, A.C. Gittenberger-de Groot // Tex. Heart Inst. J. – 2002. – Vol. 29, № 4. – P. 255-261.
9. Spatial and temporal analysis of extracellular matrix proteins in the developing murine heart: a blueprint for regeneration / K.P. Hanson, J.P. Jung, Q.A. Tran [et al.] // Tissue Eng. Part A. – 2013. – Vol. 19, № 9-10. – P. 1132-1143.

УДК 611.12: 611.013: 612.751.3

#### **ПРЕНАТАЛЬНА ДИНАМІКА КИСЛИХ ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНІВ В СЕРЦІ ЩУРІВ В НОРМІ ТА ПІД ВПЛИВОМ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ**

**Довгаль Г. В., Довгаль М. А., Романенко О. А., Руденко К. М.**

**Резюме.** Метою дослідження було встановлення динаміки кислих глікозаміногліканів (ГАГ) в серці щурів в нормі та після впливу ацетату свинцю на 11, 12, 14, 16 та 18 добу пренатального розвитку. Самиці отримували ацетат свинцю per os в вигляді водного розчину в дозі 50 мг/кг на добу 3 тижні до початку та протягом вагітності. Гістологічні зрізи вилучених зародків та плодів піддавалися гістохімічному дослідженню за Стідменом для виявлення кислих ГАГ. Встановлено, що ці речовини мають важливе значення для формування трабекул в шлуночках серця та гребінчастих м'язів в передсердях; всіх ділянок, що містять мезенхімну тканину, а також

клапанної та субепікардіальної зон, що піддаються активним структурним перебудовам протягом цього періоду. Під впливом ацетату свинцю загалом відбувається пригнічення продукції кислих ГАГ та в ділянках з високою щільністю апоптотичних клітин концентрація їх може підвищуватись.

**Ключові слова:** серце, ацетат свинцю, пренатальний розвиток, позаклітинний матрикс, кислі глікозаміноглікани.

УДК 611.12: 611.013: 612.751.3

### **ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИНАМИКА КИСЛЫХ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ В СЕРДЦЕ КРЫС В НОРМЕ И ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ АЦЕТАТА СВИНЦА**

**Довгаль Г. В., Довгаль М. А., Романенко А. А., Руденко Е. Н.**

**Резюме.** Целью исследования было определение динамики кислых гликозаминогликанов (ГАГ) в сердце крыс в норме и под воздействием ацетата свинца на 11, 12, 14, 16 и 18 сутки пренатального развития. Самки получали ацетат свинца per os в виде водного раствора в дозе 50 мг/кг/сут 3 недели до начала беременности и на протяжении беременности. Гистологические срезы зародышей и плодов крыс подвергали гистохимическому исследованию по Сиддмену для выявления кислых ГАГ. Обнаружено, что эти вещества имеют важное значение для формирования трабекул в желудочках сердца и гребенчатых мышц в предсердиях; всех участков, которые содержат мезенхимную ткань, а также клапанной и субэпикардиальной зон, которые подвергаются активным перестройкам на протяжении этого периода. Под воздействием ацетата свинца угнетается продукция кислых ГАГ, а в участках с высокой плотностью апоптотических клеток концентрация их может возрастать.

**Ключевые слова:** сердце, ацетат свинца, пренатальное развитие, внеклеточный матрикс, кислые гликозаминогликаны.

UDC 611.12: 611.013: 612.751.3

### **THE PRENATAL DYNAMICS OF ACID GLYCOSAMINOGLYCANS IN THE INTACT RAT HEART AND AFTER LEAD ACETATE TREATMENT**

**Dovgal H. V., Dovgal M. A., Romanenko O. A., Rudenko K. M.**

**Abstract.** Lead acetate – one of the prevalent toxicant in the external environment – is also known as dangerous prenatal factor. Most organs and systems of the embryo and fetuses, including cardio-vascular system, suffer from the influence of lead acetate. The stroma of the heart is extremely important in early development. Little is known about the development of the mammalian heart matrix after lead acetate treatment.

*The purpose of our study* was to determine the changes in the extracellular matrix of rat heart during prenatal development after lead acetate treatment.

*Object and methods.* The material was the embryos and fetuses of the intact Vistar rats at 11<sup>th</sup>, 12<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup> and 18<sup>th</sup> days of prenatal development and after lead acetate treatment. Female rats were treated by 50 mg/kg of lead acetate per os daily for 3 weeks before pregnancy and during pregnancy. The embryos and fetuses were taken, fixed in formalin and embedded into paraplast. To detect acid glycosaminoglycans (GAG) sections were stained with alcian blue by Stidman.

*Results and discussion.* On the 11<sup>th</sup> day of prenatal development in the intact hearts the mesenchymal cushions of atrioventricular canal as well as conical and truncal cushions had demonstrated the highest concentration of acid GAG. The accumulation of acidic GAG was observed in the subendocardial layer in all parts of the heart. The intensive accumulation of this matrix component had been observed in the atrial septum by 12<sup>th</sup> prenatal day, especially along the line of the contact of muscular and mesenchymal portions of atrial septum. The thin layer of acid GAG had indicated the subendocardial zone in the ventricles and within the subepicardial layer. The increasing of acid GAG production by 14<sup>th</sup> prenatal day had marked the regions of rapid growth and transformation in the heart. In both atria the accumulation of this component of matrix was observed in the atrial wall opposite the place of musculi pectinati growth. The mesenchymal part of the atrial septum had demonstrated the uniform pattern of acid GAG distribution. The mesenchymal atrio-ventricular septum was saturated with these substances in its central portion where the active apoptotic processes had been noticed. The high level of acid GAG had also been observed in the cono-truncal part of the heart and within the mesenchyma of the dorsal mesocardium. The accumulation of acid GAG had been noticed in the subendocardial layer of musculi pectinati of both atria by 16<sup>th</sup> prenatal day. This layer had become thinner in the ventricles meanwhile the concentration acid GAG was decreasing there between 14<sup>th</sup> and 16<sup>th</sup> prenatal day. The distribution of acid GAG in the mesenchyma of the aorta and pulmonary trunk had shown a gradient with an increase towards the zone of contact with the myocardium. The pattern of acid GAG distribution had remained mostly the same by 18<sup>th</sup> day with common decrease in production.

The inhibition of acid GAG production accompanied by the retardation of mesenchymal structures had been observed in the hearts of the fetuses and embryos of experimental group throughout the prenatal period. We had noticed the markedly loss of acid GAG in the subepicardial layer. Some regions such as the contact area of mesenchyma and myocardium of atrio-ventricular canal, the basis of the heart cone, the upper part of the interventricular septum had demonstrated the local accumulation of acid GAG, strongly associated with the apoptotic processes.

*Conclusions.* The acid GAG play the crucial role for the heart regions with the active developmental changes. The inhibition of the acid GAG production occurs after lead acetate treatment, and in the areas with high amount of apoptotic cells the concentration of acid GAG may be elevated.

**Keywords:** heart, lead acetate, prenatal development, extracellular matrix, acid glycosaminoglycans.

*Рецензент — проф. Білаш С. М.*

*Стаття надійшла 09.08.2017 року*