

**ПОРУШЕННЯ МОРФОГЕНЕЗУ СЕРЦЯ ЩУРІВ В РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ПІД ВПЛИВОМ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ**

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

**inna.sheva5365602@gmail.com**

**Зв'язок публікацій з плановими науково-дослідними роботами.** Дослідження виконано згідно теми кафедральної наукової роботи кафедри анатомії людини державного закладу «Дніпропетровської медичної академії Міністерства охорони здоров'я України», «Морфогенез органів та систем організму людини та експериментальних тварин в онтогенезі в нормі та під впливом зовнішніх чинників», № державної реєстрації 01170006976.

**Вступ.** Свинець (Pb) токсикант політропної дії – накопичується у серці і має виражену кардіотоксичну дію [1]. Загальний цитотоксичний вплив ацетату свинцю лише частково досліджено біохімічними і морфологічними методами. Так, індукований окислювальний стрес пов'язаний з порушенням рівноваги між генерацією та утилізацією активних форм кисню (АФК) і ендогенних механізмів антиоксидантного захисту [2]. Це викликає патобіохімічний каскад пошкодження мембранних ліпідів, нуклеїнових кислот та білків [3]. На морфологічному рівні довготривале пероральне вживання ацетату свинцю викликає фокальну ішемію і пошкодження міокарду [1,4]. Ушкодження міокарду пов'язують з порушенням гістогематичного бар'єру, ремодулюванням міжклітинного простору, зокрема значним збільшенням позаклітинних білків (ламінину, колагену та фібронектину), що є структурними ознаками ініціації фіброзу [5,4]. Білки позаклітинного матриксу відіграють певну роль у фізіологічній роботі серця, морфогенезі серця та регенерації. При пошкодженні відбувається ремодулювання матриксу рядом ферментів, зокрема матриксними металопротеїнази (MMPs). Ці ензими є одними з ключових протеаз позаклітинного матриксу, які залучені до зміни міжклітинного простору. На моделі інфаркту міокарду встановлено, що у перифокальній щодо інфаркту зоні зростає експресія судинного ендотеліального фактору росту (VEGF), що розглядається як механізм спрямованого ангиогенезу навколо ділянки пошкодженого міокарду [6]. Під впливом свинцю встановлено зниження VEGF у печінці, хоча застосування  $\alpha$ -токоферолу пригнічувало цитотоксичну дію свинцю і збільшувало синтез цього фактору росту [7,8]. Тому сполуки з антиоксидантною дією розглядають як потенційні протекторні засоби і корекції токсичного впливу сполук свинцю. Разом з тим, структурні основи пошкодження міокарду в ранньому онтогенезі при інтоксикації сполуками свинцю та молекулярно-біологічна оцінка змін потребує подальшого вивчення.

**Мета дослідження** – дослідити зміни морфогенезу серця за умов експозиції ацетату свинцю та впливу лікопіну і інуліну у щурів.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження проведено на самицях щурів лінії Wistar. Тварин утримували за стандартних умов віварію ДЗ «ДМА МОЗ України»: температура повітря  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , вологість повітря  $55 \pm 15\%$ , 12-годинний світлий/темний цикл, вільний

доступ до води та їжі. Вибір in vivo моделі на лабораторних щурах зумовлений подібністю етапів розвитку серцево-судинної системи щурів і людини, низьким рівнем спонтанних вад розвитку, можливістю чіткого визначення настання вагітності, відносно короткою тривалістю пренатального періоду онтогенезу, а також зручністю у моделюванні хронічного впливу важких металів на організм [9]. Відповідно до мети дослідження, тварин було розділено на чотири групи:

Група 1 – контрольна група; Група 2 – група з хронічною експозицією ацетату свинцю; Група 3 – група з хронічною експозицією ацетату свинцю і додаванням лікопіну; Група 4 – група з хронічною експозицією ацетату свинцю і додаванням інуліну.

Експериментальну модель відтворювали шляхом введення 2,5%-го розчину ацетату свинцю із розрахунку 50 мг/кг маси тіла щура на добу. Розчин вводили внутрішньошлунково через зонд один раз на добу щоденно протягом всього терміну вагітності. Водні розчини лікопіну (Hubei Pharmaceutical) і інуліну вводили аналогічним способом із розрахунку 500 мг/кг маси тіла щура на добу. Самиці контрольної групи отримували дистильовану воду. Матеріалом дослідження слугували серця новонароджених щурів (1, 5 і 7 доба після розродження дослідних самок щурів). Для гістологічного дослідження вилучені серця і фіксували протягом 24 годин у 10%-му розчині нейтрального забуференого формаліну, зневоднювали у етиловому спирті зростаючої концентрації, просочували хлороформом і заливали у парафін. З отриманих парафінових блоків за допомогою санного мікротома виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5 мкм. Депарафіновані зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином.

Для імуногістохімічного дослідження депарафіновані зрізи товщиною 5 мкм були поміщені на скельця з адгезивним покриттям SuperFrost Plus та піддавали нагріванню на водяній бані протягом 20 хвилин у 0,01M цитратному буфері (pH 6,0) за температури  $98-101^\circ\text{C}$  для демаскування антигенів. Активність ендогенної пероксидази пригнічували 3% розчином перекису водню, після чого промивали зрізи у 0,01 M розчині фосфатно-сольового буфера і наносили блокуючу сироватку для перешкодження неспецифічному зв'язуванню реагентів з тканинними компонентами. Інкубацію з первинними антитілами ( $\alpha$ -SMA, VEGF, MMP-9) проводили у вологій камері термостату за температури  $37^\circ\text{C}$  у відповідності до інструкцій фірми-виробника, після чого надлишок антитіл відмивався за допомогою фосфатного буфера. Інкубацію зрізів із вторинними антитілами, міченими біотином, проводили за кімнатної температури протягом 20 хвилин, після чого зрізи повторно промивали у буфері. Візуалізацію імуногістохімічної реакції проводили з використанням системи детекції LSAB (Labelled Streptavidin-Biotin) і хромогену діамінобензидину (DAB), після чого

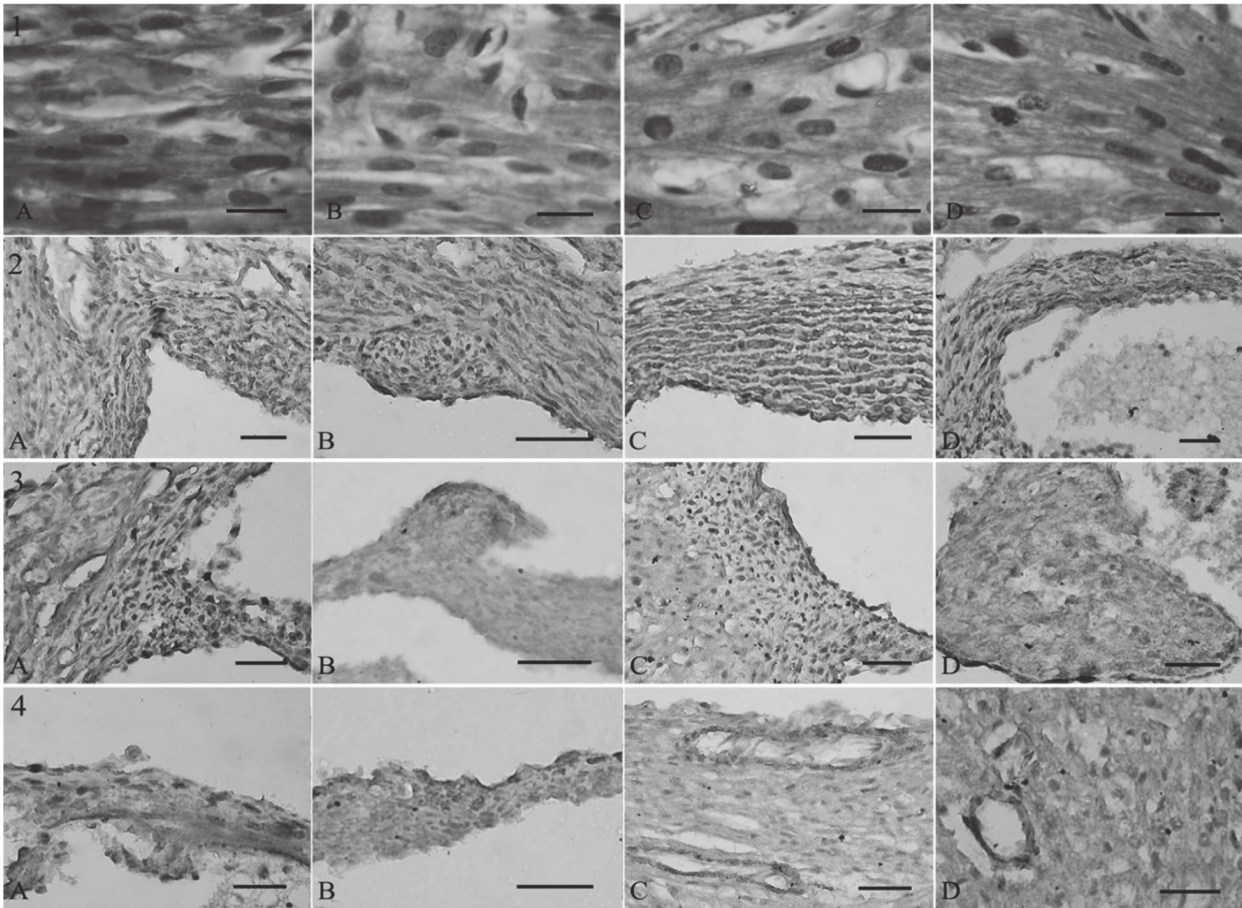


Рис. 1. Гістологічне та імуногістохімічне дослідження серця на 1 добу постнатального розвитку за експозиції ацетату свинцю. 1А-1D: зменшення розмірів ядер кардіоміоцитів міокарду (гематоксилін-еозин); 2А-2D: імуногістохімічна локалізація  $\alpha$ -SMA у корені аорти.  $\alpha$ -SMA експресується у гладкомязових клітинах, у групі 2 і 4 рівень імунопозитивного забарвлення менший порівняно до контролю; 3А-3D: імуногістохімічна локалізація MMP-9 у серці; MMP-9 експресується у ендотеліоцитах і клітинах субендотеліального шару міокарду; у групі 2, 3 і 4 рівень імунопозитивного забарвлення різко зменшений щодо контролю; 4А-4D: імуногістохімічна локалізація VEGF у серці; MMP9 експресується у ендотеліоцитах передсердя, шлуночків і клітин кровеносних судин міокарду; Різке зменшення імунопозитивного забарвлення у групі 2, не виявлено різниці у рівні експресії VEGF у групі 3 і 4 щодо групи 1. Ціна поділки 20  $\mu$ m.

зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном Майєра [10].

Препарати, забарвлені за гістологічними та імуногістохімічними методиками, вивчали за допомогою світлового мікроскопа Leica CM E (Leica Microsystems, Німеччина) при збільшеннях  $\times 40$ ,  $\times 100$ ,  $\times 400$ ,  $\times 1000$ , і фотографували цифровою фотокамерою Olympus BX 51 (Японія). Оцінка рівня імуногістохімічної реакції проводилась, як описано у публікації для VEGF та інших антигенів [11]. Для оцінки вибирали чотири тест-зони (збільшення  $\times 400$ ), у яких підраховували відсоток клітин з позитивним імунозабарвленням. Кожній тест-зоні у досліджуваному зразку призначали значення у балах, від 0 до 4. Значення балів наступне: 0 – негативна реакція; 1 – число клітин із позитивним фарбуванням менше 5%; 2 – число клітин із позитивним фарбуванням від 5 до 50%; 3 – число клітин із позитивним фарбуванням більше 50%, але слабкою реакцією; 4 – число клітин із позитивним фарбуванням більше 50% з вираженою реакцією до антигена (досліджуваного білка). Морфометрію серця проведено з використанням програмного забезпечення CarlZeiss (AxioVision SE64 Rel.4.9.1) при збільшенні  $\times 400$ .

Статистичну оцінку проводили з використанням непараметричних методів. Критерій Колмогорова-Смірнова використано для визначення нормальності

розподілу вибірок даних. Міжгрупову різницю визначали за непараметричним критерієм Крускала-Уоліса. Результати морфометричного дослідження наведено у вигляді середнього значення і похибки середнього ( $M \pm m$ ). Вибіркові дані аналізували з використанням програмного забезпечення Origin Lab version 8.0.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Гістологічні дослідження показали структурні зміни серця у групах 2, 3 і 4. У всіх досліджених групах з експозицією ацетату свинцю реєстрували морфогенез камер серця, оболонки серця – ендо-, міо- і епікарда. На 1 добу постнатального розвитку кардіоміоцити формували волокна у шлуночках і передсердях міокарда. У термін 5-7 доби відмічено збільшення щільності волокон кардіоміоцитів у шлуночках серця, міжшлуночкової перегородці і лівому передсерді. Ендокард структурно незмінений і реєстрували у всіх камерах серця. У міокарді виявлено судини різного калібру, вислані ендотелієм та тонким шаром гладком'язових клітин. Порівняно з групою 1 виявлено збільшення інтерстиційного простору між волокнами кардіоміоцитів. У групі 2 реєстрували каріопікноз, а в окремих зразках фокальну редукцію клітин, що свідчило про ушкодження кардіоміоцитів, тобто дистрофічні зміни (рис. 1). У групі 3 загублених клітин у міокарді не відмічено, але міжклітинний простір був суттєво збільшений



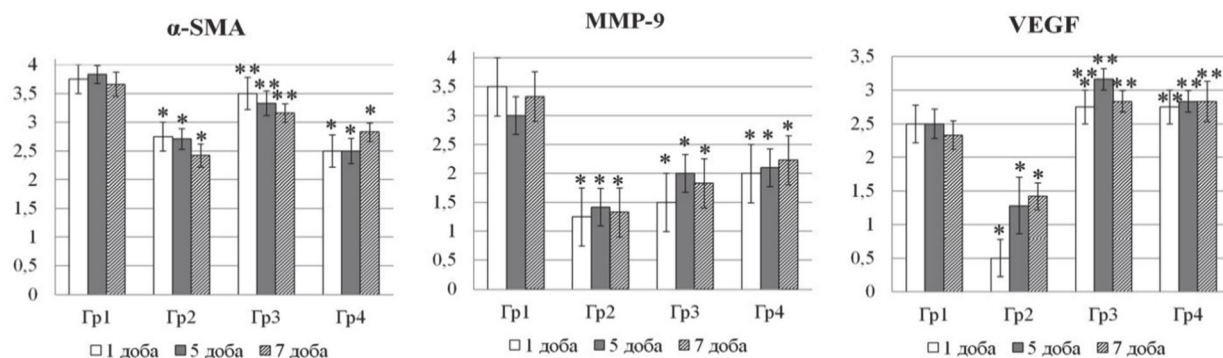


Рис. 2. Різниця експресії α-SMA, MMP-9 і VEGF у міокарді щурів на 1 добу постнатального розвитку за методом de la Torre NG. Примітка, тут і далі: \* – достовірно щодо групи 1 (P<0,05); \*\* – достовірно щодо групи 2 (P<0,05).

щодо групи 1. У групі 4 морфогенез міокарду не мав суттєвої різниці щодо групи 2, лише зазначено збільшення товщини стінки лівого шлуночка.

**Рисунок 1** ілюструє результати гістологічного дослідження. У всіх групах з ацетатом свинцю відмічено зменшення розмірів ядер кардіоміоцитів. Виявлено зміни експресії SMA, MMP-9 і VEGF у міокарді. Імунопозитивне забарвлення α-SMA відмічено у корені аорти та великих судинах міокарду, особливо шлуночків серця. Рівень забарвлення, що свідчить про експресію білка, був меншим у групі 2 і 4 у всі терміни спостереження. У групі 3 вірогідної різниці щодо груп 1 не встановлено (**рис. 2**).

Експресію MMP-9 виявлено у ендотеліоцитах передсердя, шлуночків і клітин кровеносних судин міокарду. Рівень MMP-9 був значно меншим у всіх групах порівняння (групи 2, 3 і 4) щодо контролю (група 1). Тенденцію до активації експресії MMP-9 відмічено у групі 4.

Рівень VEGF був різко зниженим у групі 2, не виявлено вірогідної різниці між контролем (група 1) і групами з введенням досліджуваних засобів (група 3 і 4). Імуногістохімічні дослідження показали різницю експресії VEGF між 1, 5 і 7 добами у групі 2.

**Рисунок 3** ілюструє результати кількісної оцінки серця, що зроблено морфометричним методом на гістологічних мікропрепаратах. Зміни значень збігаються з описаною гістологічною картиною і додатково підтверджують зміни морфогенезу серця за експозиції ацетату свинцю. Так, у групі 2 вірогідно меншими були довжина серця на 1 і 5 добу (P<0,05), товщини стінки лівого передсердя у всі терміни дослідження (P<0,05). Товщина стінки правого шлуночка була меншою на 7 добу, а лівого на 1 і 7 добу (P<0,05). На основі результатів гістологічного, імуногістохімічного та морфометричного досліджень зроблено заключення про порушення і затримку морфогенезу міокарду за експозиції ацетату свинцю.

У групі 3 і 4 дані морфометрії також засвідчили структурні порушення, особливо ті, що пов'язані з збільшенням лівого шлуночка, у меншій мірі міжшлуночкової перетинки. Разом з тим встановлено статистично значуще відновлення на рівні міжшлуночкової перегородки за введення лікопіну і інуліну, додатково лівого шлуночка і передсердя при дії інуліну, що є пов'язано з цитопротекторної дії. Останнє позначилось на збільшенні довжини серця на 5 добу спостереження, тобто прискорення морфогенезу серця за експозиції ацетату свинцю.

Сполуки свинцю характеризуються високою токсичністю, здатністю накопичуватись у органах, викликати структурні і функціональні порушення [12,13]. Кількість наукових даних щодо вад розвитку серцево-судинної системи викликаних свинцем є недостатньою для розуміння закономірностей їх розвитку і можливості профілактики та лікування. Відповідно до опублікованих досліджень [14] експозиція свинцю на пренатальному розвитку викликала зниження активності ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази) у потомстві. Разом з тим, *in vitro* дослідження продемонстрували активацію іншого протекторного ферменту гемоксигенази-1, що суперечить дослідженням *in vivo* [15]. Тому біохімічні та молекулярно-біологічні методи дають суперечливі, а інші протилежні результати. В цьому контексті морфологічні дослідження дозволяють достовірно встановити дистрофічні порушення та вади морфогенезу серця.

У попередніх дослідженнях [16] на ультраструктурному рівні нами виявлено ушкодження кардіоміоцитів, а саме порушення комплексу міофібрил, набряк цитоплазми і фрагментацію мітохондрій. Відомо, що α-SMA (альфа-актин гладких міоцитів) переважно експресується у гладких міоцитах судин і міофібробластах і відіграє важливу роль у фіброгенезі. Рівень експресії α-SMA корелює з активацією міофібробластів і ремоделюванням структурної організації тканин. У власних дослідженнях виявлено вірогідне зменшення рівня α-SMA за експозиції ацетату свинцю, що було наслідком цитотоксичного ураження клітин строми органу. Про відповідно зміни може свідчити ензими позаклітинного матриксу – MMPs. Зокрема, MMP-9 задіяна у багатьох фізіологічних і патологічних процесах у серці. Як відомо з літератури, сполуки свинцю мають неселективну цитотоксичну дію, але роль MMP-9 у пошкодженні міокарду на тлі інтоксикації свинцем залишалась невідомою. У *in vitro* дослідженнях виявлено, що свинець збільшував рівень MMP-9 у культурі клітин С6. *In vivo* дослідження засвідчили збільшення експресії MMP-9 у головному мозку у ранньому постнатальному розвитку [17]. А застосування інгібіторів ензиму зменшувало проникність свинцю через гематоенцефалічний бар'єр [18]. Ці дані засвідчили зв'язок ступеня проникнення свинцю через гістогематичні бар'єри у тканини та рівнем експресії MMP-9, тобто із збільшенням експресії ензимів міжклітинного простору, зменшується бар'єрна функція мікросудин і зростає проникність свинцю та його цитотоксична дія. Проте у

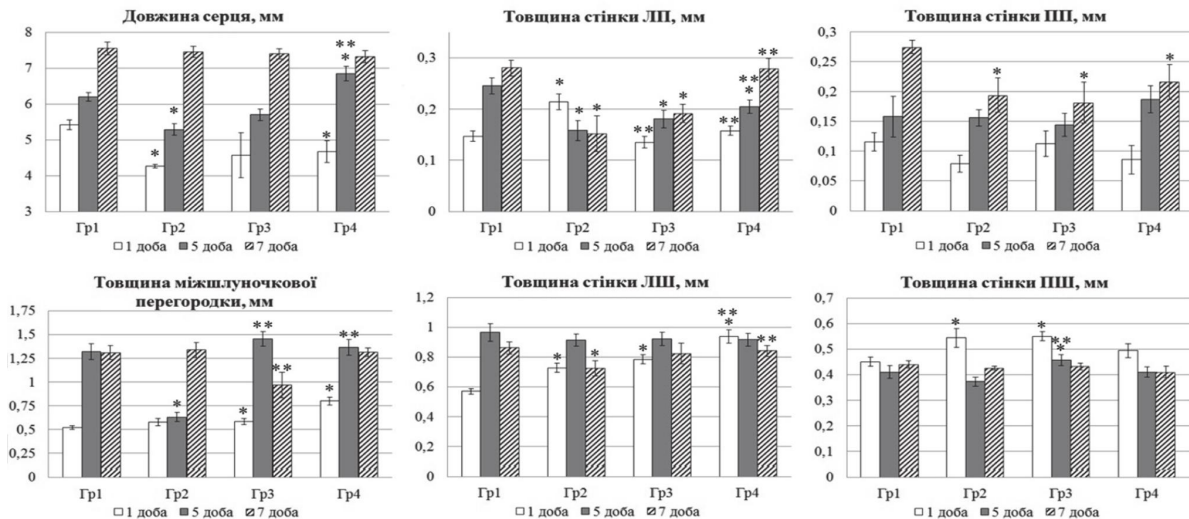


Рис. 3. Зміни морфометричних показників серця на 1, 5 і 7 добу постнатального розвитку за експозиції ацетату свинцю. Примітка, тут і далі: \* – достовірно щодо групи 1 (P<0,05); \*\* – достовірно щодо групи 2 (P<0,05).

власних дослідженнях виявлено різке зменшення експресії MMP-9 у міокарді, хоча тенденцію до експресії на 7 добу виявлено. Ці зміни оцінено як прояв додаткового пошкодження стромальних елементів, тобто неселективної загибелі кардіоміоцитів та фібробластів. Зменшення кількості активних фібробластів, ймовірно, спричинило низький рівень MMP-9. У іншій публікації зменшення вмісту колагену у міокарді також оцінено як прояв пошкодження строми [19].

Важливе місце у морфогенезі серця посідає ангіогенез, який перебуває під регуляторним фактором росту VEGF. Погляд на участь VEGF у ангіогенезі при експозиції свинцю також є суперечливою. Так, під впливом свинцю виявлено активацію експресії VEGF астроцитів при експозиції свинцем [20,21]. У інших дослідженнях показано зниження VEGF у печінці, а введення  $\alpha$ -токоферолу сприяло ангіогенезу [7,8]. VEGF може мати важливе значення при регенеративних процесах. На моделі інфаркту міокарду встановлено, що експресія VEGF у перифокальній щодо інфаркту зоні зростає, що розглядається як механізм спрямованого ангіогенезу навколо ділянки пошкодженого міокарду [6]. У іншій публікації цільова доставка VEGF до перифокальної зони покращує неоангіогенез міокарду [22]. У проведеному нами дослідженні показано зменшення клітин з імунітопозитивним забарвленням до VEGF, але відмічено тенденцію росту у між 1 і 7 добами постнатального розвитку. Описані результати дозволили припустити порушений та ослаблений потенціал міокарду до ангіогенезу при інтоксикації ацетатом свинцю.

З літературних джерел відомо, що застосування засобів з антиоксидантною дією дозволило пригнітити кардіотоксичну дію ацетату свинцю, зменшити пероксидацію, підтримати рівень ряду ферментів (глутатіон редуктази, супероксиддисмутази та ін.) [4], сприяло морфогенезу серця, запобігло пошкодженню судин, розвитку фіброзу і запальних процесів у міокарді [23]. Мелатонін пригнічував накопичення свинцю у серці [19].

Вибір лікопіну в якості потенційного коректора при моделюванні хронічної свинцевої інтоксикації зумовлений його здатністю пригнічувати оксидативний стрес, у той час як вибір інуліну пояснюєть-

ся даними, що свідчать про його здатність адсорбувати і посилювати виведення свинцю з організму [24]. Лікопін з вітаміном Е зменшував токсичний вплив свинцю на біохімічні показники крові [25]. Цитопротекторна дія комбінації лікопіну і епікатехіну полягала у зменшенні рівня ензимів печінки, які є маркерними показниками при ураженні печінки (аланінтрансамінази, аспартаттрансамінази, лужної фосфатази,  $\gamma$ -глутамілтрансферази) і зменшення пероксидації ліпідів [26]. Нажаль, тільки у окремих публікаціях описано гістофункціональне відновлення органів за експозиції ацетату свинцю. Так, у роботі [8] лише часткове збільшення  $\alpha$ -SMA-позитивних клітин вздовж синусоїдних капілярів печінки було структурним доказом протекторної дії лікопіну, тоді як рівень MMP-1 та MMP-9 був різко зниженим, а каспази-3 різко збільшеним, що вказувало на глибоке порушення строми органу. У роботі встановлено збільшення VEGF у групі з ліпіном і інуліном і додатково  $\alpha$ -SMA у групі з лікопіном. Тим не менше, на основі гістологічних та морфометричних досліджень зроблено висновок про порушення морфогенезу серця за хронічної експозиції ацетату свинцю та часткову протекцію міокарду за введення інуліну і лікопіну.

**Висновок.** Морфогенез серця у терміни 1-7 доби постнатального розвитку був пригнічений ацетатом свинцю, що на морфологічному рівні обумовлено цитотоксичною дією щодо міокарду. Порушений морфогенез серця характеризувався зменшенням експресії  $\alpha$ -SMA, MMP-9 і VEGF у міокарді у всі терміни раннього постнатального розвитку і є імунітохімічним проявом пошкодження кардіоміоцитів і фібробластів. Лікопін і інулін покращили морфогенез серця, що виявлено на основі збільшення експресії  $\alpha$ -SMA у групі 3, VEGF у групі 3 і 4 та товщини камер серця.

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідити морфогенез серця на пренатальному розвитку під впливом ацетату свинцю та за умов корекції.

**Література**

1. Winiarska-Mieczan A, Krusinski R, Kwiecien M. Tannic Acid influence on lead and cadmium accumulation in the hearts and lungs of rats. *Adv Clin Exp Med*. 2013 Sep-Oct;22(5):615-20.
2. Sharma S, Thakur A. Biochemical studies on the mice heart regarding lead acetate induced oxidative stress. *Int J Pharm Sci Res*. 2017;8(3):1388-92. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.8(3).1388-92
3. Patra RC, Rautray AK, Swarup D. Oxidative Stress in Lead and Cadmium Toxicity and Its Amelioration. *Veterinary Medicine International*. 2011;1:9.
4. Debosree Ghosh, Syed Benazir Firdaus, Elina Mitra, Aindrila Chattopadhyay, Sanjib K. Pattari, Santanu Dutta, et al. Aqueous leaf extract of *Murraya koenigii* protects against lead-induced cardio toxicity in male wistar rats. *International Journal of Phytopharmacology*. 2013;4(2):119-32.
5. Lee UE, Friedman SL. Mechanisms of Hepatic Fibrogenesis. *Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology*. 2011;25(2):195-206. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.bpg.2011.02.005>
6. Zhao T, Zhao W, Chen Y, Ahokas RA, Sun Y. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-A: role on cardiac angiogenesis following myocardial infarction. *Microvascular Research*. 2010;80(2):188-94. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.mvr.2010.03.014>
7. Das KK, Jargar JG, Saha S, Yendigeri SM, Singh SB. A-tocopherol supplementation prevents lead acetate and hypoxia-induced hepatic dysfunction. *Indian Journal of Pharmacology*. 2015;47(3):285-91. Available from: <http://doi.org/10.4103/0253-7613.157126>
8. Dovhal HV, Dovhal MA, Romanenko OA. The expression of immunohistochemical markers in the fetal liver after maternal exposure of lead acetate and under the correction. *Science Review*. 2017;7:17-9.
9. Ema M, Endoh K, Fukushima R. Historical control data on developmental toxicity studies in rodents. *Congenital Anomalies*. 2014;54:150-61. DOI: 10.1111/cga.12050
10. George L. Kumar, Lars Rudbeck. Immunogistohimicheskie metody: rukovodstvo: DAKO. Per. s angl. pod red. Franka GA, Malkova PG. 2011; 224 s. [in Russian].
11. De la Torre NG, Buley I, Wass JA, Turner HE. Angiogenesis and lymphangiogenesis in thyroid proliferative lesions: relationship to type and tumour behaviour. *Endocr Relat Cancer*. 2006 Sep;13(3):931-44.
12. Barbosa F Jr, Sertorio JT, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. Clinical evidence for lead-induced inhibition of nitric oxide formation. *Arch Toxicol*. 2006 Dec;80(12):811-6.
13. Silveira EA, Lizardo JHF, Souza LP, Stefanon I, Vassallo DV. Acute lead-induced vasoconstriction in the vascular beds of isolated perfused rat tails is endothelium-dependent. *Braz J Med Biol Res*. 2010 May;43(5):492-9. DOI: 10.1590/S0100-879X2010007500027
14. Babu MS, Gopal NV, Reddy KP. Post natal antioxidant enzyme activity of rat brain regions during developmental lead exposure. *Environ Biol*. 2007;28:21.
15. Cabell L, Ferguson C, Luginbill D, Kern M, Weingart A, Audesirk G. Differential induction of heme oxygenase and other stress proteins in cultured hippocampal astrocytes and neurons by inorganic lead. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004;198:49-60.
16. Dovgal GV, Shevchenko IV. Ultrastrukturni osnovi kardiotskikhnoyi diyi acetatu svincyu na morfogenezu sercy. *Vistnik problem biologiyi i medicine*. 2018;2(144):306-10. [in Ukrainian].
17. Li N, Li X, Li L, Zhan P, Qiao M, Zhao Q, et al. Original Research. The expression of MMP2 and MMP9 in the hippocampus and cerebral cortex of newborn mice under maternal lead exposure. *Experimental Biology and Medicine*. 2016;241(16):1811-8. Available from: <http://doi.org/10.1177/1535370216647808>
18. Liu X, Su P, Meng S, Aschner M, Cao Y, Luo W, et al. Role of matrix metalloproteinase-2/9 (MMP2/9) in lead-induced changes in an in vitro blood-brain barrier model. *International Journal of Biological Sciences*. 2017;13(11):1351-60. Available from: <http://doi.org/10.7150/ijbs.20670>
19. Ghosh D, Mitra E, Firdaus SB, Ghosh AK, Chattopadhyay A, Pattari SK, et al. Melatonin protects against lead-induced cardio toxicity: involvement of antioxidant mechanism. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2013;5(3):806-13.
20. Hossain MA, Bouton CM, Pevsner J, Laterra J. Induction of vascular endothelial growth factor in human astrocytes by lead. Involvement of a protein kinase C/activator protein-1 complex-dependent and hypoxia-inducible factor 1-independent signaling pathway. *J Biol Chem*. 2000 Sep. 8;275(36):74-82.
21. Barbeito AG, Martinez-Palma L, Vargas MR, Pehar M, Manay N, Beckman JS, et al. Lead exposure stimulates VEGF expression in the spinal cord and extends survival in a mouse model of ALS. *Neurobiology of Disease*. 2010;37(3):574-80. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.11.007>
22. Rosano JM, Cheheltani R, Wang B, Vora H, Kiani MF, Crabbe DL. Targeted Delivery of VEGF after a Myocardial Infarction Reduces Collagen Deposition and Improves Cardiac Function. *Cardiovasc Eng Technol*. 2012 Jun;3(2):237-47.
23. Marwa A, Ahmed and Khaled M, Hassanein A. Cardio protective effects of *Nigella sativa* oil on lead induced cardio toxicity: anti inflammatory and antioxidant mechanism. *J. Physiol. Pathophysiol*. December 2013;4(5):72-80.
24. Hernandez-Martinez AR, Molina GA, Jimenez-Hernandez LF, Oskam AH, Fonseca G, Estevez M. Evaluation of Inulin Replacing Chitosan in a Polyurethane/Polysaccharide Material for Pb<sup>2+</sup> Removal. *Molecules*. 2017 Nov;29(22):12). DOI: 10.3390/molecules22122093
25. Usama M, Mahmoud Abdel-Basset M. Ebied, Salwa M. Mohamed. Effect of lead on some haematological and biochemical characteristics of *Clarias gariepinus* dietary supplemented with lycopene and vitamin E. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci*. 2013;5(1):67-89.
26. Komousani TA, Moselhy SS. Modulation of lead biohazards using a combination of epicatechin and lycopene in rats. *Hum Exp Toxicol*. 2011 Oct;30(10):1674-81. DOI: 10.1177/0960327110396536. Epub 2011 Jan 24

**ПОРУШЕННЯ МОРФОГЕНЕЗУ СЕРЦЯ ЩУРІВ В РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ПІД ВПЛИВОМ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ****Довгаль Г. В., Довгаль М. А., Шевченко І. В.**

**Резюме.** Метою роботи було дослідити зміни морфогенезу серця за умов експозиції ацетату свинцю та впливу лікопіну і інуліну у щурів. Дослідження проведені на самицях щурів лінії Wistar. Відповідно до мети дослідження, тварин було розділено на чотири групи: 1 – контрольна група; 2 – група з хронічною експозицією ацетату свинцю; 3 – група з хронічною експозицією ацетату свинцю і додаванням лікопіну; 4 – група з хронічною експозицією ацетату свинцю і додаванням інуліну. Матеріалом дослідження слугували серця новонароджених щурів (1, 5 і 7 доба після розродження дослідних самок щурів). Гістологічні дослідження показали структурні зміни серця у групах 2, 3 і 4. У всіх досліджених групах з експозицією ацетату свинцю реєстрували морфогенез камер серця, оболонки серця – ендо-, міо- і епікарда. Виявлено зміни експресії SMA, MMP-9 і VEGF у міокарді. Порухений морфогенез серця характеризувався зменшенням експресії  $\alpha$ -SMA, MMP-9 і VEGF у міокарді у всі терміни раннього постнатального розвитку і є імуногістохімічним проявом пошкодження кардіоміоцитів і фібробластів. Лікопін і інулін покращили морфогенез серця, що виявлено на основі збільшення експресії  $\alpha$ -SMA у групі 3, VEGF у групі 3 і 4 та товщини камер серця.

**Ключові слова:** постнатальний онтогенез, ацетат свинцю, серце, міокард, лікопін, інулін, шлуночки серця, передсердя серця, міжшлуночкова перетинка, кардіоміоцити, кровеносні судини.

### НАРУШЕНИЕ МОРФОГЕНЕЗА СЕРДЦА КРЫС В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ АЦЕТАТА СВИНЦА И ПРИ УСЛОВИИ КОРРЕКЦИИ

**Довгаль Г. В., Довгаль М. А., Шевченко И. В.**

**Резюме.** Целью работы было исследовать изменения морфогенеза сердца в условиях экспозиции ацетата свинца и воздействия ликопина и инулина в крыс. Исследования проведены на самках крыс линии Wistar. В целях исследования, животных было разделено на четыре группы: 1 – контрольная группа; 2 – группа с хронической экспозицией ацетата свинца; 3 – группа с хронической экспозицией ацетата свинца и добавлением ликопина; 4 – группа с хронической экспозицией ацетата свинца и добавлением инулина. Материалом исследования послужили сердца новорожденных крыс (1, 5 и 7 сутки после родов исследуемых самок крыс). Гистологические исследования показали структурные изменения сердца в группах 2, 3 и 4. Во всех группах, которые были в эксперименте с экспозицией ацетата свинца регистрировали морфогенез камер сердца, оболочек сердца – эндо, мио и эпикарда. Выявлены изменения экспрессии SMA, MMP-9 и VEGF в миокарде. Нарушение морфогенеза сердца характеризовалось уменьшением экспрессии  $\alpha$ -SMA, MMP-9 и VEGF в миокарде во все сроки раннего постнатального развития и является иммуногистохимическим проявлением повреждения кардиомиоцитов и фибробластов. Ликопин и инулин улучшили морфогенез сердца, выявлено на основе увеличения экспрессии  $\alpha$ -SMA в группе 3, VEGF в группе 3 и 4 и толщины камер сердца.

**Ключевые слова:** постнатальный онтогенез, ацетат свинца, сердце, миокард, ликопин, инулин, желудочки сердца, предсердия сердца, межжелудочковая перегородка, кардиомиоциты, кровеносные сосуды.

### IMPAIRMENT OF THE MORPHOGENESIS OF THE HEART OF RATS IN THE EARLY POSTNATAL PERIOD UNDER THE INFLUENCE OF LEAD ACETATE AND SUBJECT TO CORRECTION

**Dovgal G. V., Dovgal M. A., Shevchenko I. V.**

**Abstract.** The aim of the work was to investigate changes in heart morphogenesis under the conditions of lead acetate exposure and the effects of lycopene and inulin in rats. Studies have been carried out on female Wistar rats. Animals were kept in standard vivarium conditions. For the purpose of the study, animals were divided into four groups: 1 – control group; 2 – group with chronic lead acetate exposure; 3 – a group with chronic exposure to lead acetate and the addition of lycopene; 4 – a group with chronic exposure to lead acetate and the addition of inulin. The study material was the hearts of newborn rats (1, 5 and 7 days after birth of the studied female rats). Preparations stained by histological and immunohistochemical methods were studied using a light microscope and photographed with a digital camera. Statistical evaluation was performed using non-parametric methods. The Kolmogorov-Smirnov criterion is used to determine the normality of the distribution of data samples. Intergroup difference was determined by non-parametric Kruskal-Wallis criteria. The results of the morphometric study are presented as the mean and error of the mean ( $M \pm m$ ). Data samples were analyzed using software. Histological studies showed structural changes in the heart in groups 2, 3, and 4. In all the groups that were experimentally with lead acetate, the morphogenesis of the heart chambers and the membranes of the heart – endo, myo, and epicardium – were recorded. On day 1 of postnatal development, the cardiomyocytes formed fibers in the ventricles and atria of the myocardium. At 5, 7 days, an increase in the density of cardiomyocyte fibers in the ventricles of the heart, interventricular septum and left atrium was noted. In all groups with lead acetate, a decrease in the size of the nuclei of cardiomyocytes was observed. Changes in the expression of SMA, MMP-9 and VEGF in the myocardium were revealed. Disturbance of cardiac morphogenesis was characterized by a decrease in the expression of  $\alpha$ -SMA, MMP-9 and VEGF in the myocardium in all periods of early postnatal development and is an immunohistochemical manifestation of damage to cardiomyocytes and fibroblasts. Lycopene and inulin improved heart morphogenesis, found on the basis of increased  $\alpha$ -SMA expression in group 3, VEGF in group 3 and 4, and thickness of the heart chambers.

**Key words:** postnatal ontogenesis, lead acetate, heart, myocardium, lycopene, inulin, ventricles of the heart, heart atria, interventricular septum, cardiomyocytes, blood vessels.

*Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.*

*Стаття надійшла 20.11.2018 року*