

ДЕРЖАВНИЙ ЗАКЛАД  
«ДНІПРОПЕТРОВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ  
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ»

**ШЕВЧЕНКО ІННА ВОЛОДИМИРІВНА**

УДК: 611.12:611.08:591.33:591.412:546.815:661.852.712

**МОРФОГЕНЕЗ СЕРЦЯ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА  
ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ (АНАТОМО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ  
ДОСЛІДЖЕННЯ)**

14.03.01 – нормальна анатомія

**Автореферат**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Дніпро – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Державному закладі «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України».

**Науковий керівник:**

доктор медичних наук, професор **Довгаль Геннадій Володимирович**, Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», кафедра анатомії людини, завідувач кафедри.

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, професор **Хмара Тетяна Володимирівна**, Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», кафедра анатомії людини імені М.Г. Туркевича, професор кафедри;

доктор медичних наук, професор **Маєвський Олександр Євгенійович**, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, кафедра клінічної медицини, завідувач кафедри.

Захист відбудеться 5 грудня 2019 року о 13 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 08.601.03 при ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (49005, м. Дніпро, вул. Севастопольська, 19).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (49044, м. Дніпро, вул. Володимира Вернадського, 9).

Автореферат розісланий 30 жовтня 2019 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради Д 08.601.03  
доктор медичних наук, професор

О.Є. Олійник

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Встановлення особливостей морфогенезу органів різних систем у порівняльно-ембріологічному аспекті в нормі, а також змін їх структурно-функціональної організації внаслідок негативного впливу довкілля є пріоритетним завданням сучасної морфології. У розробці загальних питань біології і медицини значне місце повинні займати дослідження щодо закономірностей розвитку тканин, органів і систем організму людини і тварин на різних стадіях онто- та філогенезу відповідно. В останні роки у жінок дітородного віку відзначається зростання числа захворювань пов'язаних з умовами хронічної інтоксикації, що, в свою чергу, не може не відбитися на здоров'ї їхніх дітей (Білецька Е.М. та ін., 2015; Островська С.С., 2016). Наукова зацікавленість особливостями впливу антропогенних факторів на організм викликана значним забрудненням навколишнього середовища важкими металами, при цьому пріоритетним токсикантом є свинець та його сполуки. В останні десятиріччя значно зріс попит промисловості на свинець, що призвело до нераціонального використання природних ресурсів і зростання рівня свинцевого забруднення довкілля (Иваницкая Н.Ф., 2013). Несприятлива екологічна ситуація збільшує ризик надходження свинцю в організм людини і тварин, існує небезпека забруднення цим важким металом продуктів харчування, особливо в техногенних зонах. Свинець є металом з високою акумулятивною токсичністю (Шаторна В.Ф., 2016).

В експериментальних дослідженнях визначено терапевтичні та токсичні дози деяких речовин, але на сьогоднішній день відсутні відомості про дози, що є тератогенними (Куликова Г.В., 2008; Alba A., 2012). Одним із актуальних завдань сучасної ембріології і токсикології є встановлення впливу ацетату свинцю на пренатальний розвиток органів різних систем та морфологічних передумов можливого формування вад розвитку (Грызлова Л.В., 2003; Островская С.С., 2007; Довгаль Г.В. та ін., 2014; Нефьодова О.О., 2014). Однак дотепер недостатньо вивчений вплив ацетату свинцю на кардіогенез за умов експерименту. У джерелах літератури є повідомлення щодо накопичення свинцю у серці (Winiarska-Mieczan A., 2013) та особливостей патобіохімічних змін внаслідок гострої та хронічної інтоксикації свинцем, яка викликає накопичення активних форм кисню та циклооксигеназо-залежних вазоконстрикторів, а також здійснює інгібуючий вплив на утворення оксиду азоту, і тим самим призводить до вираженої ендотеліальної дисфункції (Barbosa F. et al., 2006; Silveira E.A. et al., 2010). Довготривале пероральне вживання ацетату свинцю викликає фокальну ішемію і пошкодження міокарда (Winiarska-Mieczan A., 2013; Debosree Ghosh, 2013). Про порушення будови ендотелію судин серця свідчать результати морфологічних досліджень, в результаті яких встановлено, що звуження просвіту мікросудин обумовлено набряком ендотелію та випинанням ендотеліоцитів у просвіт капілярів, що підвищує ризик стазу крові у міокарді та порушення функціональних показників (Трахтенберг І.М., 2005).

В якості кардіопротекторів використовуюється інулін та лікопін. Останній

#

знижує оксидативний стрес при холестази (Токас et al., 2015), корегує свинець-індуковані зміни крові (Salawu E.O., 2010) і протидіє токсичним ефектам свинцю (Komousani T.A., Moselhy S.S., 2011). На противагу цьому інулін сприяє виведенню з організму свинцю та засвоюванню кальцію (Белянкина Н.Е. и соавт., 2009; 2010; Лисицына А.Б. и соавт., 2011). Таким чином, з'ясування впливу на морфогенез серця ізольованого введення ацетату свинцю та комбінованого його введення з інуліном та лікопіном є нагальним та актуальним.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини “Розвиток і становлення органів і тканини експериментальних тварин та людини в онтогенезі в нормі та під впливом зовнішніх чинників” (№ державної реєстрації 01170006976). Автор є співвиконавцем даної науково-дослідної роботи.

**Мета дослідження:** встановити онтогенетичні закономірності розвитку серця щурів під впливом ацетату свинцю та при корекції лікопіном та інуліном.

**Завдання дослідження:**

1. Встановити особливості розвитку серця щурів на етапах пренатального (14, 16, 18 доба гестації) та постнатального (1, 5, 7 доба після народження) онтогенезу за умов норми.

2. Виявити морфологічні зміни серця експериментальних тварин у пре- та постнатальному періодах онтогенезу внаслідок дії ацетату свинцю.

3. Дослідити ультраструктурні зміни кардіоміоцитів щурів на етапах постнатального розвитку під впливом ацетату свинцю.

4. З'ясувати морфологічні зміни структур серця експериментальних тварин при корекції лікопіном та інуліном.

5. Вивчити імуногістохімічні зміни (за допомогою маркерів матриксної металопротеїнази-9 (MMP-9),  $\alpha$ -ізоформи гладком'язового актину ( $\alpha$ -SMA), васкулярного ендотеліального фактору росту (VEGF) в серці щурів упродовж пізнього пренатального (14, 16, 18 доба гестації) та раннього постнатального (1, 5, 7 доба після народження) розвитку під впливом ацетату свинцю та при корекції лікопіном та інуліном.

*Об'єкт дослідження* – серця ембріонів та щурят у нормі та під впливом ацетату свинцю та за умов корекції.

*Предмет дослідження* – порушення розвитку серця щурів в онтогенезі за умов хронічної інтоксикації ацетатом свинцю та при корекції лікопіном та інуліном.

*Методи дослідження:* макроскопія; звичайне і тонке препарування; гістологічні – для аналізу стану тканин серця; імуногістохімічні – для оцінки експресії маркерів MMP-9,  $\alpha$ -SMA, VEGF; електронна мікроскопія – для встановлення ультраструктурних змін кардіоміоцитів і міжклітинних структур; морфометричні – для вивчення кількісної морфологічної оцінки маси і параметрів серця щурів різного віку; статистичні – для оцінки ступеня вірогідності одержаних результатів.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше встановлена динаміка

#

змін структурної організації серця щурів під впливом ацетату свинцю на етапах пренатального та постнатального розвитку. Виявлено закономірну затримку набору маси вагітних самок щурів, ембріонів та новонароджених щурят за умов хронічної інтоксикації ацетатом свинцю. На основі світлооптичних, електронно-мікроскопічних та імуногістохімічних методів визначені та описані зміни морфогенезу серця, що відображають кардіотоксичну дію ацетату свинцю.

Вперше встановлено, що під дією ацетату свинцю відбуваються більш виражені зміни будови міокарда шлуночків, ніж міокарда передсердь. Доказом порушень розвитку серця є зміни будови серцевих м'язових волокон і кардіоміоцитів. Хронічна кардіотоксична дія ацетату свинцю викликає пошкодження кардіоміоцитів шляхом набряку цитоплазми та деструкції мітохондрій і міофібрил.

На основі результатів імуногістохімічних досліджень вперше виявлено пригнічення експресії маркерів ( $\alpha$ -SMA, MMP-9 і VEGF) у міокарді шлуночків на 14-у і 18-у добу внутрішньоутробного розвитку та на ранніх стадіях постнатального періоду онтогенезу.

Вперше доведено зменшення токсичності ацетату свинцю на процеси морфогенезу серця щура за умов корекції лікопіном та інуліном.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати дисертаційного дослідження розширюють і поглиблюють знання про тканинно-судинні взаємовідношення у міокарді шлуночків у пренатальному періоді розвитку експериментальних тварин. Сукупність уперше встановлених фактів розкриває онтогенетичні зміни розвитку серця щурів під впливом ацетату свинцю. Отримані анатомо-експериментальні дані є морфологічною основою для розробки протекторних засобів для лікування захворювань серця, етіологічним фактором яких став вплив техногенних сполук свинцю.

Результати дослідження можуть бути використані у науковій та навчальній роботі кафедр анатомії людини, гістології, патологічної анатомії, патологічної фізіології, педіатрії та медичної генетики, акушерства та гінекології та стануть в нагоді в практичній роботі фахівців у галузі педіатрії, акушерства та кардіології.

**Впровадження результатів дослідження.** Результати наукової роботи впроваджені в навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри анатомії людини Харківського національного медичного університету; кафедри анатомії людини Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; кафедри анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»; кафедри анатомії людини Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського; кафедри нормальної фізіології Запорізького державного медичного університету; кафедри загальної медицини приватного вищого навчального закладу «Київський міжнародний університет».

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно проведено патентно-інформаційний пошук і проаналізовано наукову літературу. Спільно з науковим керівником визначено тему, об'єкт, мету та завдання дослідження. Автором самостійно складено план та робочу програму дослідження, підібрано методи

#

дослідження, зібрано матеріал для морфологічних досліджень і проведено анатоמו-експериментальні дослідження. Імуногістохімічне дослідження виконано в морфологічному відділі лікувально-діагностичного центру ТОВ «Аптеки медичної академії» (м. Дніпро). Особисто написано та проілюстровано всі розділи дисертації, проведено статистичну обробку й аналіз отриманих даних. Висновки та практичні рекомендації сформульовано разом із науковим керівником. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, участь здобувача є визначальною.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертаційного дослідження оприлюднені на: науковій конференції студентів та молодих вчених «Новини і перспективи медичної науки», присвяченій 100-річчю ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (Дніпропетровськ, 2016); науковій конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології», присвяченій 100-річчю Дніпропетровської (Катеринославської) школи морфологів (Дніпропетровськ, 2016); другій Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (Дніпро, 2018); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю (Харків, 2018); Proceedings of the Second International Conference of European Academy of Science (Bonn, Germany, 2018).

**Публікації.** За результатами дисертаційної роботи опубліковано 12 наукових робіт, з них 6 статей у фахових наукових виданнях, рекомендованих МОН України, які включені до різних наукометричних баз (2 статті – одноосібно); 1 стаття в іноземному періодичному виданні; 5 тез у матеріалах наукових форумів різного рівня.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація викладена на 163 сторінках машинопису (126 сторінок основного тексту) і складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел і додатків. Список використаних джерел включає 198 найменувань (з них: 58 – кирилицею, 140 – латиницею). Робота ілюстрована 52 рисунками та містить 10 таблиць.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріал та методи дослідження.** Експериментальні дослідження проведено на 70 самицях білих щурів лінії Wistar, яких утримували у віварії ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». Кожну тварину оглядали, зважували та проводили маркування. Тварини впродовж експерименту знаходилися на стандартному раціоні харчування, режимі та умовах утримання згідно санітарно-гігієнічних норм віварію (температура повітря:  $22 \pm 2$  °C, світлий/темний цикл: 12/12 годин). Експерименти проведено з дотриманням основних положень Закону України № 1759-VI «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 15.12.2009 р. та Директиви ЄС про захист тварин, що використовуються з науковою метою № 63 (від 22.09.2010 р.), наказів МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. та МОН України № 249 від 01.03.2012 р.

#

Комісією з біомедичної етики ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 3 від 24.02.2019 р. ) встановлено, що проведені наукові дослідження на експериментальних тваринах відповідають етичним вимогам.

Вибір об'єктом дослідження саме цих лабораторних тварин зумовлений низьким рівнем виникнення у них спонтанних вад розвитку порівняно з мишами та кролями. Одержання чітко датованих термінів розвитку зародка щура, можливість стандартизації етапів розвитку, а також простота у визначенні впливу тератогенних факторів є перевагою у виборі саме цього матеріалу для дослідження.

На підготовчому етапі перед проведенням експерименту вивчали функціональний стан яєчників у самиць репродуктивного віку (2,5-3 місяців) з початковою масою 150-180 г, у яких досліджували естральний цикл методом піхвових мазків. Для вирішення поставлених завдань самиць із стійким ритмом естрального циклу на стадіях проєструс і еструс парували з інтактними самцями за схемою 2:1. Перший день вагітності визначали за наявністю сперматозоїдів у піхвових мазках.

Відповідно до мети дослідження проведено дві серії дослідів:

I серія полягала у з'ясуванні особливостей пренатального морфогенезу серця. Для цього вагітним тваринам вводили внутрішньошлунково 50 мг/кг розчину ацетату свинцю на протязі всього терміну вагітності. Для отримання ембріонів та проведення морфологічного дослідження вагітних самиць виводили з експерименту на 14-у, 16-у і 18-у добу.

II серія полягала у дослідженні розвитку серця на етапах раннього постнатального онтогенезу. Для цього окрему групу вагітних самок утримували в аналогічних умовах віварію та раціону, вводили внутрішньошлунково 50 мг/кг розчину ацетату свинцю. Після народження щурят виводили з експерименту на 1-у, 5-у і 7-у добу для проведення морфологічного дослідження. Вибір термінів дослідження пояснюється особливостями морфогенезу серця, зокрема його камер, трабекулярного і щільного шарів міокарда.

Тварин I та II серії дослідів розділено на 4 групи: 1 група – контрольна; 2 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 50 мг/кг; 3 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 50 мг/кг та розчин інуліну в дозі 500 мг/кг; 4 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 50 мг/кг та розчин лікопіну в дозі 500 мг/кг.

Кількісний розподіл експериментального матеріалу за групами наведений у таблиці 1.

Важливою ланкою досліджень було застосування біомодифікаторів токсичної дії ацетату свинцю на організм щурів, зокрема на структури серця, – лікопіну та інуліну. Вибір цих речовин є вдалим, завдяки їхній позитивній політропній дії на організм. Вибір лікопіну, в якості потенційного коректора при моделюванні хронічної свинцевої інтоксикації, зумовлений його здатністю пригнічувати оксидативний стрес, у той час як вибір інуліну пояснюється його здатністю адсорбувати і посилювати виведення свинцю з організму.

Матеріалом дослідження слугували серця ембріонів щурів на 14-у, 16-у і

#

18-у добу пренатального розвитку і серця щурят на 1-у, 5-у і 7-у добу постнатального онтогенезу. Вплив ацетату свинцю окремо, а також у комбінації з лікопіном та інуліном на пренатальному та постнатальному етапах розвитку моделювали опосередковано через введення розчинів цих речовин у материнський організм внутрішньошлунково через зонд один раз на добу щоденно протягом всього терміну вагітності. Ацетат свинцю вводили у вигляді 2,5% водного розчину із розрахунку 50 мг/кг маси тіла щура на добу. Лікопін та інулін вводили із розрахунку 500 мг/кг маси тіла щура на добу. Самиці контрольної групи отримували дистильовану воду.

Таблиця 1

**Кількісний розподіл експериментального матеріалу за групами дослідження**

Група		Кількість об'єктів дослідження	
		Пренатальний розвиток	Постнатальний розвиток
Серія досліджу		Кількість самок	Кількість самок
1	Контрольна група	8	8
2	Ацетат свинцю	10	8
3	Ацетат свинцю + лікопін#	10	8
4	Ацетат свинцю + інулін#	10	8
Всього		38	32

Результати впливу досліджуваних чинників оцінювали після евтаназії шляхом глибокого ефірного наркозу. Вилучених з матки ембріонів та народжених щурят, спочатку оглядали з метою виявлення очевидних патоморфологічних змін, а потім фотографували, зважували, визначали краніокаудальний розмір і фіксували матеріал у 10% нейтральному формаліні для подальших гістологічних досліджень. Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики.

У відповідності до мети і завдань дослідження, проведено комплексне макромікроскопічне, електронномікроскопічне та імуногістохімічне дослідження, а також кількісна оцінка параметрів серця ембріонів та новонароджених щурів.

Гістологічний метод дозволяє порівнювати відхилення в топографії структур серця, крупних судин, виготовлення серійних гістотопографічних зразків для аналізу розміщення структур серця в нормі та для порівняння з порушенням розвитку, для аналізу стану розвитку камер та перегородок серця. Для проведення світлооптичного дослідження та морфометричного аналізу зразки тканин фіксували у розчині 10%-ного забуференого формаліну, виготовляли парапластові зрізи завтовшки 5-7 мкм, фарбували гематоксиліном та еозином за стандартними методиками (Ромейс Б., 1953).



#

Для імуногістохімічної оцінки змін використовували первинні моноклональні антитіла до матриксної металопротеїнази-9 (ММР-9),  $\alpha$ -ізоформи гладком'язового актину ( $\alpha$ -SMA), васкулярного ендотеліального фактору росту (VEGF) з наступним дофарбуванням гематоксиліном Майєра. Для оцінки вибирали чотири тест-зони, у яких підраховували відсоток клітин з позитивним імунозабарвленням. Для оцінки інтенсивності імуногістохімічної мітки використовували напівкількісну шкалу: від «-» до «+++». Враховувався ступінь експресії антигенних детермінант у полі зору: 0 балів – негативна реакція (жодної забарвленої клітини), + (1 бал) – слабо позитивна реакція (позитивно забарвлені окремі розкидані клітини, чи розповсюджена, але слабка реакція), ++ (2 бали) – помірно позитивна, +++ (3 бали) – виражена (більша кількість інтенсивно забарвлених клітин).

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 (Olympus Corporation, Японія).

Для електронно-мікроскопічного дослідження зразки фіксували у 2,5%-ному розчині глутаральдегіду з наступною постфіксацією у 1%-ному розчині тетроксиду осмію («SPI», США). Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікротомі УМТП-6М («SELMІ», Україна) і проводили подвійне контрастування за методом Рейнольдса (Уикли Б., 1975). Дослідження проводили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-100-01 («SELMІ», Україна) при напрузі прискорення 65-90 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 10000 за стандартною схемою (Кюо J., 2007). Оцінювали лінійні показники мітохондрій, саркомерів і кардіоміоцитів. Електронограми отримували, знімаючи ультратонкі зрізи на різних збільшеннях із подальшим скануванням за допомогою сканера з високою роздільною здатністю для отримання цифрових зображень.

У процесі біостатистичного аналізу використовували метод варіаційної статистики. Оцінку достовірності відмінностей між вибірками проводили за допомогою t-критерію Стьюдента. Математична обробка даних включала розрахунок середніх арифметичних значень ( $M$ ), стандартних похибок середнього ( $m$ ) та стандартних відхилень ( $\sigma$ ). Достовірними вважали результати при  $p < 0,05$ . Обробка отриманих даних проводилась з використанням програмних продуктів STATISTICA 6.1 (StatSoftInc., серійний № AGAR909E415822FA) та Microsoft Excel (Microsoft Office 2016 Professional Plus, Open License 67528927).

**Результати дослідження та їх обговорення.** Встановлено, що найбільша втрата маси тіла в експериментальній групі, в порівнянні з контрольною групою, відбувається при ізольованому введенні ацетату свинцю, тоді як в групах комбінованого введення ацетату свинцю з інуліном та лікопіном вона знаходилась в межах між контрольною та ізольованим введенням ацетату свинцю.

#

Статистично значуще зменшення маси тіла експериментальної групи щурів, яким вводили ацетат свинцю I серії досліду (тварини від яких отримували ембріони на 14-ій, 16-ій і 18-ій добі пренатального розвитку) виявлено майже протягом всього терміну спостереження, крім 10-12-ої діб, від 7,4 % до 9,2 % у термін перших 9-и діб експерименту і від 7,2 % до 15,7 % на 13-у і 18-у добу досліду ( $P \leq 0,05$ ). Аналіз змін маси дослідних груп щурів, які отримували ацетат свинцю та інулін і лікопін, показав наступні результати: до 13-ої доби експерименту не виявлено статистично значущої різниці між групами порівняння, впродовж 14-18-ої діб спостереження набір маси щурів у групі з інуліном був більшим порівняно з групою експериментальних тварин, яким вводили ацетат свинцю, при цьому у цей термін досліду відмічено менший набір маси у групі щурів, які отримували ацетат свинцю з лікопіном порівняно з групою, яким у комбінації з ацетат свинцем вводили інулін ( $P \leq 0,05$ ).

Значення зміни маси вагітних самиць щурів у II серії досліду, тобто груп з потомством на ранньому етапі постнатального розвитку (1-а, 5-а, 7-а доба після народження), були статистично значуще меншими від контрольних. Тривале вживання ацетату свинцю призвело до зменшення набору маси впродовж терміну експерименту – в середньому на 13,2 % (з максимальною різницею у 20,8 % на 14-у добу,  $P < 0,05$ ).

Таким чином, середнє збільшення маси інтактних щурів становить 34,1 % ( $P < 0,05$ ); у щурів, які знаходилися під дією ацетату свинцю – 19,6 % ( $P < 0,05$ ); у тварин, які зазнали вплив ацетату свинцю у комбінації з інуліном – 18,7 % ( $P < 0,05$ ); у щурів, яким вводили ацетат свинцю разом із лікопіном – 14,5 % ( $P < 0,05$ ). Тобто середня різниця набору маси вагітних самок дорівнює 17,1 % ( $P < 0,05$ ). Показник маси самиць у групах порівняння з лікопіном і інуліном суттєво не відрізняється від основної дослідної групи, що підтверджує негативний вплив ацетату свинцю на метаболізм та морфогенез вагітних, при цьому статистично значущої різниці від основної дослідної групи не встановлено. Вищезазначене свідчить про токсичну дію ацетату свинцю на соматичний стан вагітних щурів і набір маси при вагітності.

Вивчення впливу ацетату свинцю на морфогенез серця було розпочато з аналізу змін маси ембріонів та щурят. Приріст маси ембріонів контрольної групи та в групах комбінованого введення ацетату свинцю з інуліном та лікопіном на 14-18-у добу становить 151,7 %, у той час як при ізольованому впливі ацетату свинцю даний показник є достовірно меншим і дорівнює 145,5 %. Вірогідна різниця становить, у середньому, 6,2 % ( $P < 0,05$ ). Маса ембріонів на 18-у добу гестації у групах щурів, які додатково отримували інулін та лікопін, збільшилась відповідно на 168,7 % та 154,8 % ( $P < 0,05$ ), тобто знаходилася в межах статистичної похибки контрольної групи. Ці дані вказують на затримку пренатального розвитку щурів під дією ацетату свинцю і запобіганню зменшення токсичної дії свинцю на ембріогенез при введенні ацетату свинцю з інуліном та лікопіном.

Збільшення маси новонароджених щурят з 1-ої до 7-ої доби становить 164,8 % ( $P \leq 0,05$ ). При цьому у групі тварин, які знаходилися під впливом

#

ацетату свинцю, даний показник був у межах 163,4 %, але вихідна маса щурят на 1-у добу була вірогідно меншою від інтактних тварин на 18,6 % ( $P \leq 0,05$ ). У групі щурів, яким на тлі хронічного вживання ацетату свинцю вводили інулін або лікопін, набір маси щурят на 7-у добу склав 158,8 % і 163,1 % ( $P \leq 0,05$ ) відповідно. Таким чином, цей показник не відрізнявся від тварин контрольної групи, а вихідна маса новонароджених щурят також не мала суттєвої різниці від інтактних тварин. Перед забором матеріалу для гістологічного дослідження додатково оцінену масу серця і відношення маси серця щодо маси ембріонів/щурят. Враховуючи стереометричні особливості серця у ранньому пренатальному розвитку, масу серця визначали тільки на 18-у добу гестації, а у постнатальному розвитку – у всі три терміни експерименту.

В усі терміни виведення дослідних тварин з експерименту встановлено вірогідно меншу масу серця, в той час як у групі щурів з корекцією збільшення маси органу відмічено у переважній більшості зразків (об'єктів) (рис. 1).

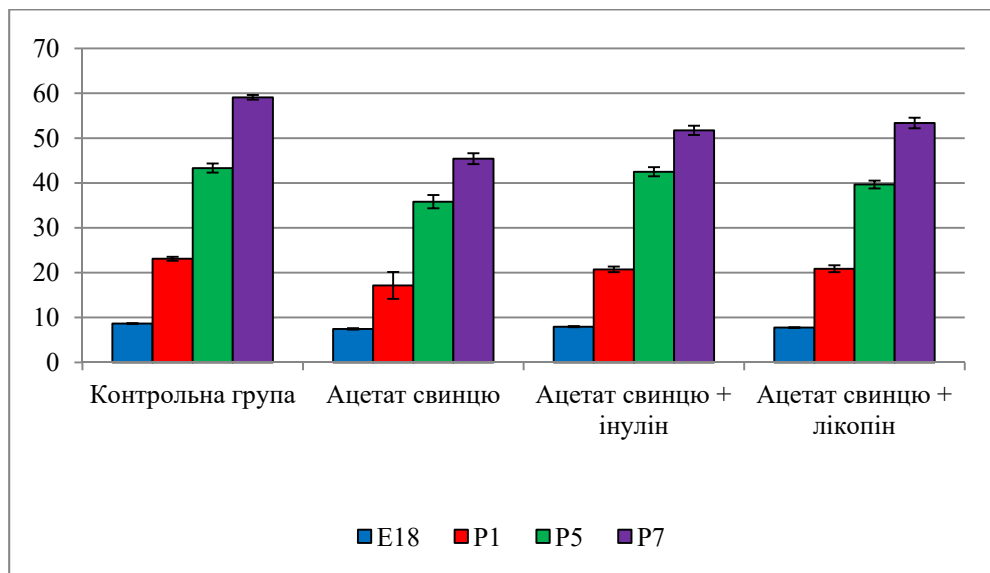


Рис. 1. Зміна маси серця ембріонів та щурят (мг): E18 – 18 доба гестації; P1 – 1-а доба після народження; P5 – 5-а доба після народження; P7 – 7-а доба після народження.

На основі цих даних зроблено висновок про захисний вплив лікопіну та інуліну на період вагітності, а також пре- і постнатальний розвиток щурів. При цьому кардіофетальний індекс – співвідношення маси органу до маси потомства був меншим від контрольних значень лише на 7-у добу постнатального розвитку у групі тварин під дією ацетату свинцю, на 1-у і 7-у добу у групі щурів, які знаходилися під комбінованим впливом ацетату свинцю та інуліну (рис. 2).

Аналіз результатів зважування дозволив виявити різницю змін маси ембріонів та потомства щурів за умов дії ацетату свинцю, довести негативну дію інтоксиканту на пре- та постнатальний розвиток щурів. Доведено захисний вплив лікопіну та інуліну на розвиток ембріонів, що знайшло своє відображення у відновленні набору маси ембріонів та щурят у всі терміни дослідження.

#

Однак, висновки, зроблені на основі лише результатів зважування, є недостатніми для аналізу впливу ацетату свинцю на морфогенез серця. Для отримання об'єктивних даних було проведено гістологічне дослідження. Виявлена вірогідна затримка набору маси серця ембріонів пов'язана зі змінами розвитку міокарда внаслідок негативного впливу ацетату свинцю, що характеризується недорозвиненням щільного шару міокарда шлуночків у порівнянні з папілярно-трабекулярним шаром та збільшенням міжклітинного простору між серцевими м'язовими волокнами.

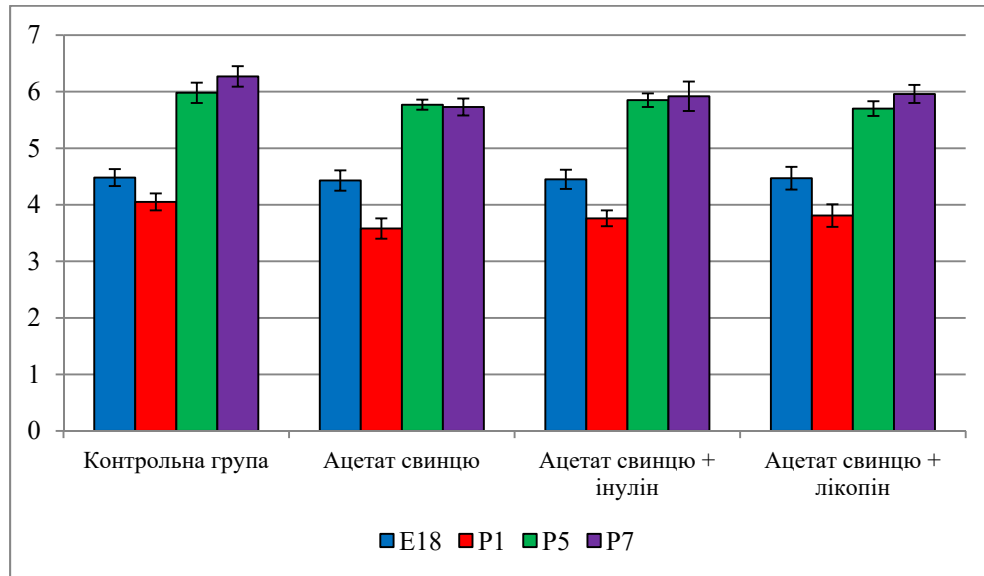


Рис. 2. Динаміка зміни кардіофетального індексу: E18 – 18 доба гестації; 1 – 1-а доба після народження; P5 – 5-а доба після народження; P7 – 7-а доба після народження.

Встановлені морфологічні зміни свідчать про затримку структурно-функціональної диференціації шарів міокарда шлуночків та дистрофічні зміни. При цьому виявлена проліферативна активність вказує на одночасний розвиток стінки серця. У групі тварин під впливом ацетату свинцю встановлено зменшення ступеня розвитку щільного шару міокарда шлуночків, збільшення міжклітинного простору, що вказує на порушення міжклітинних взаємовідношень при формуванні м'язових волокон. Разом з тим виявлені клітини у різних фазах мітозу є доказом проліферативних процесів, тобто активного морфогенезу. Негативна дія впливу ацетату свинцю проявляється також у збільшенні васкуляризації, що свідчить про гіпоксичний стан міокарда (рис. 3).

Зміни морфогенезу аорти за умов хронічної дії ацетату свинцю полягають у пошкодженні гладком'язових клітин середньої оболонки, збільшенні міжклітинних просторів між шарами клітин в оболонці. Також відбуваються структурні зміни інтими: загибель та десквамація шару ендотеліальних клітин. Проведено оцінку щільності клітинних шарів середньої оболонки. Зовнішня оболонка представлена неоформленою волокнистою сполучною тканиною.

#

Встановлені зміни аорти можна оцінити як модельний об'єкт дослідження особливостей пошкодження судин, а результати можуть бути екстрапольовані на інші магістральні судини.

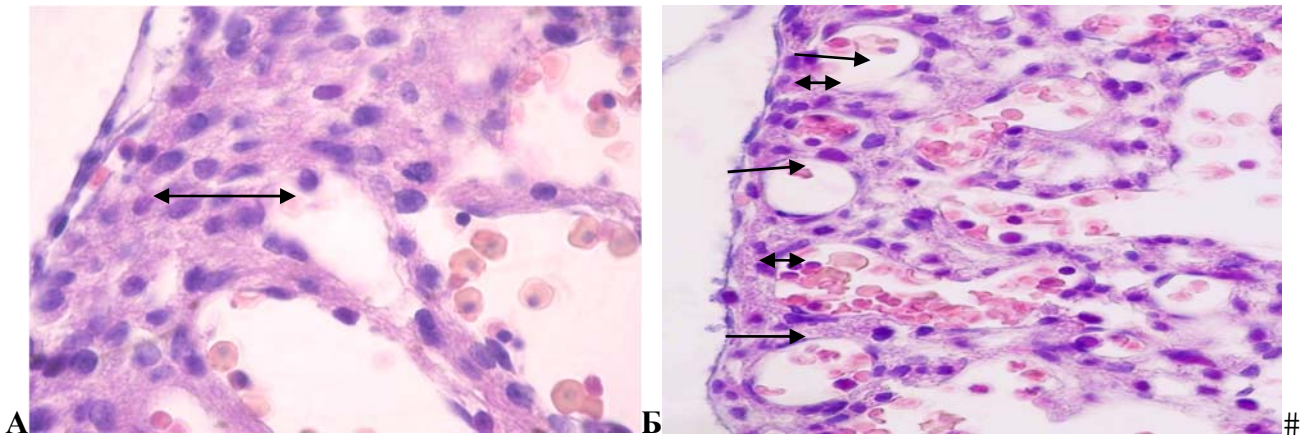


Рис. 3. Зріз стінки шлуночка серця ембріона щура контрольної групи (А); стінки шлуночка серця ембріона щура в групі ізольованого введення ацетату свинцю (Б). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Об. 100, ок. 10: ↔ товщина щільного шару міокарда; ← васкуляризація міокарда.

Досліджуючи морфометричні показники серця за умов введення ацетату свинцю встановлено достовірно меншу товщину міжшлуночкової перегородки, стінки лівого передсердя, площі перерізу лівого шлуночка і міжшлуночкової перегородки у групі тварин, які підлягали впливу ацетату свинцю щодо групи контролю. Тобто найбільш вираженим є порушення розвитку лівого шлуночка та міжшлуночкової перегородки. Так, на 1-у добу постнатального розвитку товщина стінки лівого та правого шлуночків є вірогідно більшою від контрольної групи (26,3% і 20,0%,  $P < 0,05$ ), а в подальшому досягає значень інтактних тварин. Стінка міжшлуночкової перегородки є вірогідно меншою на 5-у і 7-у добу розвитку, а товщина стінки передсердь статистично значимо тоншою у всі три терміни постнатального розвитку. Зміни морфометричних показників у зазначені терміни постнатального періоду вказують на порушений морфогенез передсердь та правого шлуночка. Найбільш виражені зміни площі ядер кардіоміоцитів виявлені у правому шлуночку та передсердях. Площа ядра кардіоміоцитів передсердь є більшою від контрольних значень, що вказує на компенсаторну реакцію клітин за умов кардіотоксичної дії ацетату свинцю, а у правому шлуночку, – навпаки меншою від контрольних значень, що є свідченням дистрофічних змін і затримки розвитку серцевих м'язових волокон.

При електронномікроскопічному дослідженні кардіоміоцитів лівого шлуночка встановлено дистрофічні їх зміни, які полягають у зменшенні об'ємної щільності міофібрил на 1-у і 7-у добу постнатального розвитку, зменшенні діаметру мітохондрій на 1-у добу та їх збільшенні в результаті набряку матриксу органели на 7-у добу. Одночасне збільшення об'ємної щільності мітохондрій на 7-у добу вказує на те, що спочатку відбувається фрагментація частини інтактних

#

мітохондрій, а у наступні терміни набряк органел. При цьому міжклітинні контакти у більшості кардіоміоцитів залишаються збереженими. Тобто порушення морфогенезу серця у пізньому пренатальному та ранньому постнатальному періодах полягає у розвитку дистрофічних змін кардіоміоцитів, редукції органел, порушенні формування системи міофібрил.

У групах дослідних тварин з корекцією виявлено збільшення кількості клітин у різних фазах мітозу, що є свідченням проліферативної активності та інтенсивного морфогенезу міокарда. Проте, також було відмічено токсичну дію ацетату свинцю, свідченням якої були зміни щільності м'язових волокон у міокарді шлуночків, збільшення міжклітинного простору та фокальні безклітинні ділянки на 18-у добу гестації.

Після застосування лікопіну виявлено вірогідне збільшення товщини стінки правого шлуночка, а дія інуліну позначилась у відновленні морфогенезу лівого передсердя і правого шлуночка. Встановлено інтенсивний морфогенез папілярно-сосочкового шару міокарда шлуночків. За результатами мікроскопічного та морфометричного досліджень зроблено висновок про кардіопротекторну дію досліджуваних лікарських засобів, їх вплив на відновні процеси та потенційно більшу кардіопротекторну дію інуліну щодо лікопіну. Для підтвердження цієї гіпотези проведено імуногістохімічне дослідження.

Метод імуногістохімії дозволив одержати нові дані щодо морфофункціональних особливостей розвитку серця. Критеріями оцінки обрано  $\alpha$ -SMA, VEGF та MMP-9. Білок  $\alpha$ -SMA є маркером кардіоміоцитів і гладком'язових клітин. За змінами цього білка можна стверджувати про порушення розвитку клітин та їх синтетичну активність. VEGF – фактором росту судин, тобто зміни його експресії є свідченням активності ангиогенезу, MMP-9 є ензимом позаклітинного матриксу, який задіяний у морфогенезі тканин.

Рівень експресії  $\alpha$ -SMA у інтактних тварин у пренатальному онтогенезі не має суттєвої різниці між термінами експерименту, тоді як за умов дії ацетату свинцю встановлено вірогідне зменшення синтезу цього білка, що є доказом кардіотоксичної дії. При введенні інуліну відмічено тенденцію збільшення рівня  $\alpha$ -SMA, а при застосуванні лікопіну змін не виявлено. У постнатальному періоді розвитку встановлено статистично значуще збільшення синтезу  $\alpha$ -SMA у шлуночках серця, головним чином у папілярно-сосочковому шарі, та аорті при введенні лікопіну.

У інтактних ембріонів спостерігається тенденція до збільшення рівня VEGF на 14-18-у добу гестації, а у постнатальному розвитку він є суттєво більшим, хоча не відрізняється між термінами експерименту. Топографічними осередками експресії VEGF є клітини ендокарду шлуночків і передсердь, дрібних судин міокарда та магістральні судини, зокрема аорта. На 16-у і 18-у добу гестації та у наступні терміни постнатального розвитку встановлено зменшення рівня VEGF у групі тварин, які підлягали впливу ацетату свинцю, що можна пояснити змінами ангиогенезу у міокарді серця. За умов корекції виявлено неоднорідну дію лікарських засобів на зміну синтезу VEGF. Так, при введенні лікопіну встановлено відновлення морфогенезу серця лише у постнатальному

#

періоді, в той час як після введення інуліну достовірно збільшення експресії VEGF виявлено у всі терміни дослідів (рис. 4).

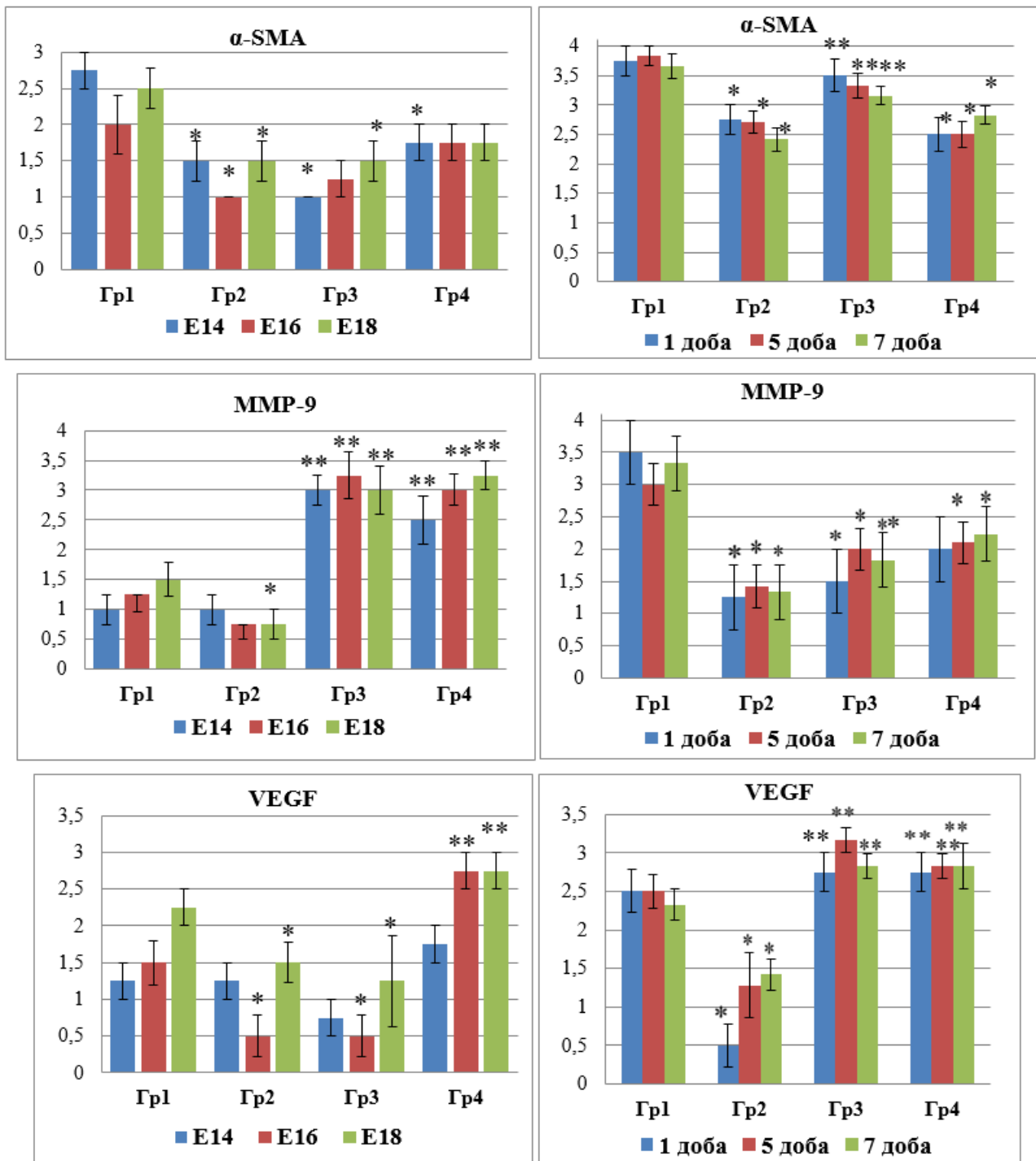


Рис. 4. Різниця експресії  $\alpha$ -SMA, MMP-9 і VEGF у міокарді шурів на етапах пренатального (14-а, 16-а та 18-а доба гестації) та постнатального (1-а, 5-а та 7-а доба після народження) розвитку: Гр1 – група контролю; Гр2 – група з ізольованим введенням ацетату свинцю; Гр3 – група з комбінованим введенням ацетату свинцю з лікопіном; Гр4 – група з комбінованим введенням ацетату свинцю з інуліном; \* – вірогідно щодо групи 1 ( $P < 0,05$ ); \*\* – вірогідно щодо групи 2 ( $P < 0,05$ ).

#

Рівень MMP-9 є вірогідно меншим за контрольні значення на 18-у добу гестації і у наступні терміни постнатального розвитку. Синтез цього ензиму особливо зменшується у щільному шарі міокарда шлуночків і передсердях, що пов'язано з дистрофічними змінами у цих ділянках. Відновлення синтезу MMP-9 виявлено після введення лікопіну і інуліну у пренатальному періоді, а у постнатальному періоді розвитку ступінь імунопозитивного забарвлення не відрізняється від групи порівняння, що ймовірно пов'язано з відновними процесами та меншими змінами ремоделювання міжклітинного простору при дистрофічних змінах міокарда. Таким чином, встановлені імуногістохімічні зміни підтверджують затримку розвитку міокарда, що характеризується меншою щільністю імунопозитивних кардіоміоцитів у шлуночках і передсердях, появою фокальних осередків порожнього інтерстиційного простору, що проявляється набряком та певними дистрофічними змінами. За всіма застосованими маркерами ( $\alpha$ -SMA, MMP-9 і VEGF) встановлено структурно-метаболичні порушення та показано вірогідне пригнічення морфогенезу серця.

Вищенаведене дає підстави стверджувати, що ізольоване введення розчину ацетату свинцю у пренатальному та ранньому постнатальному періодах розвитку призводить до порушень морфогенезу стінки серця, передусім міокарда передсердь і правого шлуночка, до появи безклітинних ділянок, що є свідченням дистрофічних змін кардіоміоцитів. Встановлено, що комбіноване введення ацетату свинцю з інуліном та лікопіном попереджує токсичний вплив ацетату свинцю на загальний хід кардіогенезу ембріонів щурів та новонароджених щурят в експериментальних умовах та свідчить про їх біоантагонізм.

## ВИСНОВКИ

З'ясування змін структурно-функціональної організації серця в процесі гісто- та органогенезу під дією ацетату свинцю за умов експерименту і доцільність розробки кардіопротекторних засобів для лікування захворювань, етіологічним фактором яких став вплив техногенних сполук свинцю, зумовили актуальність проведення даного дослідження.

1. Упродовж 14-18 діб внутрішньоутробного розвитку щурів відбувається збільшення товщини стінки серця і щільності кардіоміоцитів, інтенсивний морфогенез серцевих м'язових волокон та збільшення товщини стінки аорти. Диференціація міокарда на щільний та папілярно-трабекулярний шари розпочинається з 14-ї доби гестації та продовжується у ранньому постнатальному періоді. Особливістю морфологічної характеристики серця впродовж 1-7 діб постнатального онтогенезу є активний розвиток міофібрил кардіоміоцитів і становлення міжклітинних взаємовідношень.

2. Дія ацетату свинцю викликає порушення морфогенезу міокарда різних відділів серця, з більшим ураженням передсердь та правого шлуночка. Водночас встановлено низький ступень становлення тканинно-судинних взаємовідношень у субепікардіальному шарі міокарда шлуночків у порівнянні з іншими відділами серця. З розвитком дистрофічних змін у міокарді зменшується проліферативна активність у стінці серця, виявляються безклітинні ділянки щільного шару



#

міокарда.

3. Проявами кардіотоксичної дії ацетату свинцю є зміни ультраструктурної організації кардіоміоцитів – набряк їх цитоплазми та редукція органел. З'ясовано, що на 1-у добу постнатального розвитку фрагментація мітохондрій змінюється їх набряком та деструкцією на 7-у добу, а розтяг саркомерів змінюється деструкцією та скороченням збережених міофібрил.

4. Доведено кардіопротекторну дію лікопіну та інуліну щодо морфогенезу міокарда передсердь та шлуночків за умов впливу ацетату свинцю. Встановлено, що відновні процеси у міокарді відбуваються неоднорідно і домінують у лівому шлуночку при введенні лікопіну та передсердях і правому шлуночку при застосуванні інуліну. Активність морфогенезу міокарда зумовлена збільшенням проліферативних процесів у міокарді шлуночків та інтенсивним становленням гісто-судинних взаємовідношень у папілярно-трабекулярному шарі.

5. Результати імуногістохімічного дослідження підтверджують кількісні морфо-функціональні зміни міокарда на різних етапах пре- та постнатального розвитку: пригнічення експресії  $\alpha$ -SMA, MMP-9 і VEGF у міокарді шлуночків у терміни 14-18 доби гестації та впродовж 1-7 діб після народження. Зменшення синтезу маркерів кардіоміоцитів, фактору ангиогенезу і реорганізації міжклітинного матриксу свідчить про структурно-функціональні пошкодження міокарда та аорти. Встановлено збільшення експресії VEGF при дії інуліну і додатково  $\alpha$ -SMA при застосуванні лікопіну, що є доказом кардіопротекторних властивостей цих препаратів.

### **ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. Визначені особливості морфогенезу серця щурів розширюють уявлення про становлення тканинно-судинних взаємовідношень у міокарді шлуночків, про терміни диференціації стінки міокарда шлуночків та передсердь у пренатальному періоді розвитку. Результати дослідження хронічної дії ацетату свинцю доводять та пояснюють структурні основи кардіотоксичної дії та є підґрунтям для розуміння морфологічних передумов можливого виникнення вад серцево-судинної системи при дії інтоксикантів.

2. Результати морфологічного та імуногістохімічного дослідження дозволяють зрозуміти механізм кардіопротекторної дії лікарських засобів та відновного процесу у серці. Отримані дані можуть бути використані у розробці інноваційних лікарських засобів у акушерсько-гінекологічній, неонатологічній та кардіологічній практиці для лікування захворювань серця, етіологічним фактором яких став вплив техногенних сполук свинцю.

3. У навчальному процесі кафедр морфологічного профілю, фармакології, кардіології, педіатрії та медичної генетики, акушерства та гінекології, а також у процесі написання монографій та навчальних посібників доцільно використовувати результати дослідження щодо впливу ацетату свинцю на морфогенетичні процеси кардіогенезу експериментальних тварин, а також відомості про ефект зменшення його токсичності за рахунок введення інуліну та лікопіну.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Довгаль Г. В., Шевченко І. В. Структурно-функціональні зміни серцево-судинної системи. Вісник проблем біології і медицини. 2014. Т. 116, вип. 4. С. 20-24. *(Здобувачем проведено дослідження, аналіз та узагальнення літературних даних, сформульовано висновки. Співавтор Довгаль Г.В. надавав консультативну допомогу в інтерпретації отриманих результатів).*

2. Dovgal H. V., Dovgal M. A., Zharikov M. Yu., Rudenko K. M., Shevchenko I. V., Savochkina M. V. Early developmental dynamics of cell surface glycoconjugates in the rat left ventricle myocardium relate to the tissue stereological data. European Applied Sciences. 2017. N 1. P. 17-19. *(Здобувачем проведено аналіз використаних джерел, опрацювання стереологічних даних. Співавтори Довгаль Г.В. і Довгаль М.А. надавали консультативну допомогу, співавтори Жаріков М.Ю., Руденко К.М., Савочкіна М.В. брали участь в інтерпретації отриманих результатів).*

3. Шевченко І. В. Імуногістохімічні дослідження порушень морфогенезу серця за умов експозиції ацетатом свинцю на пренатальному етапі розвитку у щурів. Український журнал медицини, біології та спорту. 2018. Т.4 № 1(17). С. 90-95.

4. Довгаль Г. В., Шевченко І. В. Порушення раннього морфогенезу серця за умов введення ацетату свинцю. Морфологія. 2018. Т.12, № 2. С. 66-73. *(Здобувачем проведено експеримент, виконано морфологічне дослідження, проведено аналіз даних та їх статистичну обробку, сформульовано висновки. Співавтор Довгаль Г.В. надавав консультативну допомогу в інтерпретації отриманих результатів).*

5. Довгаль Г. В., Шевченко І. В. Ультраструктурні основи кардіотоксичної дії ацетату свинцю на морфогенез серця. Вісник проблем біології і медицини. 2018. Вип. 2(144). С. 306-310. *(Здобувачем проведено моделювання кардіотоксичної дії ацетату свинцю, виконано морфологічне дослідження, проведено статистичну обробку експериментальних даних та сформульовано висновки. Співавтор Довгаль Г.В. надавав консультативну допомогу в узагальненні отриманих результатів).*

6. Шевченко І. В. Морфологічні основи морфогенезу серця у ранньому постнатальному розвитку в нормі. Вісник проблем біології і медицини. 2018. Вип. 3(145). С. 340-344.

7. Довгаль Г. В., Довгаль М. А., Шевченко І. В. Порушення морфогенезу серця щурів в ранньому постнатальному періоді під впливом ацетату свинцю та за умов корекції серця. Вісник проблем біології і медицини. 2018. Вип. 4(147). Т.2. С. 271-276. *(Здобувачем проведено моделювання кардіотоксичної дії ацетату свинцю, виконано морфологічне дослідження, проведено статистичну обробку експериментальних даних та сформульовані висновки. Співавтор Довгаль Г.В. надавав консультативну допомогу в інтерпретації результатів, співавтор Довгаль М.А. проводила аналіз даних літератури, брала участь в оформленні статті).*

#

8. Довгаль Г. В., Довгаль М. А., Шевченко І. В. Зміни матриксу серця щурів під впливом ацетату свинцю в пренатальному онтогенезі. *Новини і перспективи медичної науки* : матеріали наук. конф. студентів та молодих вчених, присвяченій сторіччю ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». Збірник наукових робіт. Дніпропетровськ, 2016. С. 53-56. (Здобувачем виконано морфологічне дослідження, проведено аналіз даних та їх статистичну обробку, сформульовано висновки. Співавтори Довгаль Г.В. і Довгаль М.А. надали консультативну допомогу).

9. Довгаль Г. В., Довгаль М. А., Шевченко І. В. Перебудова матриксу серця щурів під впливом ацетату свинцю в пренатальному періоді онтогенезу. *Теорія та практика сучасної морфології* : матеріали наук. конф. з міжнар. участю, присвяченій 100-річчю Дніпропетровської (Катеринославської) школи морфологів. Збірник наукових робіт. Дніпро, 2016. С. 53-54. (Здобувачем виконано морфологічне дослідження, проведено аналіз даних та їх статистичну обробку, сформульовано висновки. Співавтори Довгаль Г.В. і Довгаль М.А. надали консультативну допомогу).

10. Шевченко І. В., Косьміна Б. К. Ультраструктурні основи порушеного морфогенезу серця щурів під впливом ацетату свинцю. *Теорія та практика сучасної морфології* : Друга всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, 10-12 жовтня 2018 р., Дніпро. Дніпро, 2018. С. 177-178. (Здобувачем проведено моделювання кардіотоксичної дії ацетату свинцю, виконано морфологічне дослідження, проведено статистичну обробку експериментальних даних та сформульовано висновки. Співавтор Косьміна Б.К. проводив аналіз даних літератури, брав участь в оформленні рукопису).

11. Dovgal H. V., Romanenko O. A., Shevchenko I. V. The expression of immunohistochemical markers in the liver and heart in the early ontogenesis after maternal exposure of lead acetate and under the correction by lycopene and inulin. *Proceedings of the Second International Conference of European Academy of Science*. November 20-28, Bonn, Germany, 2018. P. 49. (Здобувачем проведено експеримент і виконано морфологічне дослідження, Співавтори Довгаль Г.В. і Романенко О.А. брали участь в аналізі даних та їх статистичній обробці).

12. Шевченко І. В. Кардіотоксична дія ацетату свинцю // *Нанотехнології у фармації та медицині* : Матеріали II Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (19-20 квітня 2018 р., м. Харків). Харків, 2018. С. 99.

## АНОТАЦІЯ

**Шевченко І. В. Морфогенез серця щурів під впливом ацетату свинцю та за умов корекції (анатомо-експериментальне дослідження).** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія (222 – медицина). – Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро, 2019.

#

У результаті впливу ацетату свинцю відбувається порушення морфогенезу стінки серця, передусім правого шлуночка, з'являються безклітинні ділянки у щільному шарі міокарда шлуночків, пошкоджується ендотелій кровоносних судин та спостерігається пряма та/або опосередкована індукція дистрофічних змін кардіоміоцитів. При цьому виявлено збільшену щільність ядер у різних фазах мітозу, що є свідченням прояву компенсаторних та регенеративних процесів. Водночас кардіотоксична дія ацетату свинцю викликає деструктивні зміни на рівні міофібрил та набряк і фрагментацію мітохондрій.

Комбіноване введення ацетату свинцю з лікопіном та інуліном сприяє морфогенезу серця, що визначається у збільшенні щільності м'язових волокон міокарда передсердь і шлуночків, зменшенні інтерстиційного простору та дистрофічних змін у щільному шарі міокарда. На основі імуногістохімічного методу встановлено зменшення експресії  $\alpha$ -SMA, MMP-9 і VEGF. Корекція за умов комбінованого введення ацетату свинцю з лікопіну та інуліну не вплинула на зміни експресії  $\alpha$ -SMA у пренатальному розвитку, але сприяла відновленню процесів морфогенезу в серці в ранньому постнатальному періоді при введенні інуліну. Збільшення синтезу VEGF у міокарді шлуночків пояснює прискорення ангиогенезу та становлення судинно-тканинних взаємовідношень у щільному шарі міокарда. Збільшення рівня MMP-9 нами оцінено як компенсаторну реакцією у відповідь на інтоксикацію та репаративні зміни, які поєднані з реорганізаційними змінами у міокарді.

**Ключові слова:** серце, морфогенез, ацетат свинцю, токсична дія, інулін, лікопін.

## АННОТАЦІЯ

**Шевченко І. В. Морфогенез серця крыс под впливом ацетата свинца и при условии коррекции (анатомо-экспериментальное исследование).** – Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук (доктора философии) по специальности 14.03.01 – нормальная анатомия (222 – медицина). – Государственное учреждение «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины», г. Днепр, 2019.

При воздействии ацетата свинца происходит нарушение морфогенеза стенки сердца, прежде всего правого желудочка, появляются бесклеточные участки в плотном слое миокарда желудочков, повреждается эндотелий кровеносных сосудов и наблюдается прямая и/или опосредованная индукция дистрофических изменений кардиомиоцитов. При этом выявлено увеличенную плотность ядер в различных фазах митоза, что является свидетельством проявления компенсаторных и регенеративных процессов. В то же время кардиотоксическое действие ацетата свинца вызывает деструктивные изменения на уровне миофибрилл, отёк и фрагментацию митохондрий.

Комбинированное введение ацетата свинца с ликопином и инулином способствует морфогенезу сердца, что проявляется в увеличении плотности мышечных волокон миокарда предсердий и желудочков, уменьшению

#

интерстициального пространства и дистрофических изменений в плотном слое миокарда. На основе иммуногистохимического метода выявлено уменьшение экспрессии  $\alpha$ -SMA, MMP-9 и VEGF. Коррекция в условиях комбинированного введения ацетата свинца с ликопином и инулином не повлияла на изменения экспрессии  $\alpha$ -SMA в пренатальном развитии, но способствовала восстановлению процессов морфогенеза в сердце в раннем постнатальном периоде при введении инулина. Увеличение синтеза VEGF в миокарде желудочков объясняет ускорение ангиогенеза и становления сосудисто-тканевых взаимоотношений в плотном слое миокарда. Увеличение уровня MMP-9 нами оценено как компенсаторную реакцию в ответ на интоксикацию и репаративные изменения, которые соединены с реорганизационными изменениями в миокарде.

**Ключевые слова:** сердце, морфогенез, ацетат свинца, токсическое действие, инулин, ликопин.

### ANNOTATION

**Shevchenko I. V. Heart morphogenesis of the rat under the influence of lead acetate and circumstances of correction (anatomical and experimental study).** – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for obtaining the degree of the candidate of medical sciences (doctor of philosophy) in specialty 14.03.01 - normal anatomy (222 – medicine). – State Institution «Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine», Dnipro, 2019.

The dissertation is devoted to the actual medical and social problem, namely the study of the morphological bases of cardiac development disorders under the influence of lead acetate in the stages of prenatal and postnatal ontogenesis and the ways of their pharmacological correction. An experimental study was carried out on laboratory rats, the morphological material of the study was the heart of embryos on the 14th, 16th and 18th day of gestation and heart rats on 1, 5 and 7 days of postnatal development. The use of histological, immunohistochemical and electron microscopic methods allowed to investigate basic vascular-tissue interactions under normal conditions and with the action of lead acetate solution.

According to histological and morphometric studies, a conclusion was made about the negative effect of lead acetate solution on myocardial morphogenesis in prenatal and early postnatal development. It was established that the toxic effect was manifested in disturbance of the morphogenesis of the wall of the heart, especially the right ventricle, occurrence without cellular sites, which is evidence of dystrophic changes in cardiomyocytes. In our own studies, we also discovered and proved morphological manifestations of dystrophic changes and initiation of inflammatory reactions, and lesions were nonspecific for the atrium and the ventricle and mainly consisted of interstitial edema. At the same time, the density of nuclei in different phases of mitosis is increased, we have been evaluated as a manifestation of compensatory and regenerative processes.

The described results of electron microscopy revealed ultrastructural changes in the microcirculatory channel of the ventricles of the heart and revealed signs of

#

dystrophic changes in the endothelium of hemocapillars and the development of perivascular edema for 1 day of postnatal development. Cytopathological changes of contractile cardiomyocytes consisted of edema of the cytoplasm, edema and fragmentation of mitochondria, disorganization of individual myofibrils. Newly formed mitochondria of small diameter with single crystals are found predominantly near the nucleus, interfibrillar mitochondria with signs of crystallosis. It was established that on the 7th day of postnatal development, ultrastructural signs of progressive dystrophic changes were revealed: increase of relative density of micromitochondria, expressive lysis and deorientation of myofibrils, the appearance of cardiomyocytes in the state of apoptosis. Cardiotoxic action caused destructive changes in the level of contractile myofibrils and edema and fragmentation of mitochondria, indicating a violation of the energy supply of cells and a violation of their contractile function.

The use of drugs with a potential cardioprotective effect made it possible to assess the restorative process in the heart for chronic toxic effects of lead acetate. The results obtained and described in the dissertation study for the first time allowed us to conclude that reducing the cardiotoxic action of lead acetate and promoting cardiac morphogenesis with the use of lycopene and inulin. At the macroscopic level, the heart rate has been quantitatively evaluated and proved, which at the histological level has affected the increase in the density of the muscle fibers of the atria and ventricles, reduction of interstitial space and dystrophic changes in the compact layer of the myocardium. At the prenatal developmental period, pharmacokorrection contributed to the accelerated morphogenesis of the papillary-trabecular layer and the formation of vascular-tissue interactions. The analysis of morphometric indices of nucleotides of cardiomyocytes quantitatively showed the cytoprotective effect of lycopene and inulin. For the determination of morphofunctional patterns of cardiotoxic action of lead acetate and its correction, the method of immunohistochemistry was used. The reduction of  $\alpha$ -SMA in myocardial ventricles against myocardial and aortic vessel vessels is assessed quantitatively, while VEGF and MMP-9 levels are chronologically reduced by the 18th day of gestation and in the postnatal period. In contrast, pharmacokinetic correction did not affect the changes in  $\alpha$ -SMA expression in prenatal development, but contributed to the recovery in postnatal inhalation of inulin. The use of drugs had little effect on the synthesis of VEGF, an increase in this growth factor in the ventricle myocardium explains accelerated angiogenesis and the formation of vascular-tissue interactions in a compact layer of myocardium.

**Key words:** heart, morphogenesis, lead acetate, toxic effect, inulin, lycopene.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ПШ – просвіт шлуночка

ІГХ – імуногістохімічне дослідження

$\alpha$ -SMA – маркер  $\alpha$ -ізоформи гладком'язового актину

VEGF – маркер васкулярного ендотеліального фактору росту

MMP-9 – маркер матриксної металопротеїнази-9

Підписано до друку 22.10.19 р. Формат 60×90/16.  
Ум. друк. арк. 0,9. Гарнітура Times. Друк ризографія. Папір офсетний.  
Наклад 100 прим. Зам. № \_\_\_\_.

Надруковано ВТК «Друкар» ДЗ «ДМА»  
м. Дніпро, пл. Жовтнева, 4