

## **МОДЕЛЮЮЧИЙ ВПЛИВ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА ЙОГО КОМБІНАЦІЇ З НАНОЗАЛІЗОМ НА ЕМБРІОГЕНЕЗ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН**

**ДУ «Дніпропетровська медична академія» (м. Дніпропетровськ)**

Робота виконана згідно запланованої кафедральної теми ДЗ ДМА МОЗ України «Розвиток та морфофункціональний стан органів і тканин експериментальних тварин та людини в нормі, в онтогенезі, під впливом зовнішніх чинників», № держ. реєстрації 0111U009598.

**Вступ.** Для промислових областей України особливо актуальна проблема забруднення важкими металами, при цьому пріоритетним токсикантом є свинець та його солі. Найбільш актуальною є проблема свинцевого забруднення внутрішнього середовища організму, оскільки внаслідок його здатності до кумуляції навіть вплив на рівні низьких концентрацій приводить до значного порушення роботи організму. Так, концентрація солей свинцю в крові дорослого населення, особливо вагітних, а також дітей суттєво перевищує гігієнічний норматив – до 3 разів [1, 3, 4, 7]. Свинець занесений до переліку пріоритетних забруднюючих речовин низкою міжнародних організацій, у тому числі ВООЗ і ЮНЕП тому дослідження впливу сполук свинцю на організм та ембріогенез є актуальною темою досліджень. Свинцева інтоксикація веде до підвищення ембріональної смертності, виникнення різних аномалій розвитку скелета та інших органів і систем організму [7, 14].

Стрімкий розвиток нанотехнологій – технологій направленої отримання та використання речовин і матеріалів в діапазоні розмірів менше 100 нанометрів, з одної сторони відкриває широкі перспективи в отриманні матеріалів з принципово новими корисними властивостями для використання в усіх сферах діяльності людини, з іншої – викликає велике занепокоєння в зв'язку з потенційним ризиком наноматеріалів і, насамперед, нанометалів для здоров'я людини та оточуючого середовища [12, 13, 15]. Інтенсивний розвиток виробництва та застосування наноматеріалів у різних галузях господарства призводить до того, що вже досить велика кількість наноматеріалів та нанометалів попадає до екологічних систем навколишнього середовища, тому дослідження їхнього впливу на організм – актуальна задача сьогодення.

Серед усього різноманіття існуючих наночастинок металів особливої уваги заслуговують наночастинок цинку, заліза та срібла. Такий значний

інтерес викликаний перспективністю використання наночастинок металів в медицині: загальновідома протимікробна властивість срібла, протианемічна дія заліза, загальна есенціальна дія цинку та ін. [8, 10, 11]. Вже досить широко використовується в сільському господарстві, тваринництві, медицині та фармакології нанорозмірні препарати металів та неметалів. Однак для практичної реалізації таких завдань необхідні детальні морфологічні дослідження, спрямовані на ретельний контроль за надходженням нанопродуктів до визначеного органа-мішені та вивільненням його із організму. Інформація про безпечність та потенційний ризик мікроелементів та їх наночастин вкрай потрібна як для забезпечення здоров'я дорослої людини так і для організму, що розвивається [2, 5, 6, 16]. На жаль, досить активні дослідження з впливу наноматеріалів на організм майже не торкаються досліджень з виявлення ступеню ембріотоксичності і можливої тератогенності нанопродуктів. Увага дослідників головним чином зосереджена на вивченні біологічних ефектів впливу нанометалів на клітинному рівні або в сільськогосподарському напрямку [9]. Однак, незважаючи на інтенсивні дослідження останніх років, відомості щодо ефектів впливу наночастинок металу на організм та на ембріон є досить обмеженими і суперечливими, тому експериментальні роботи з зазначеного напрямку актуальні сьогодні як ніколи. Розробка методів експериментальних ембріологічних моделей завжди привертала увагу дослідників, проте, дані результатів дослідження впливу важких металів або їх наночастин, які зустрічаються в літературі, у ряді випадків важко або неможливо співставити. Особливо це сьогодні стає актуальним у зв'язку з відсутністю даних про можливу ембріотоксичність та тератогенність наноструктур.

**Метою дослідження** було вивчення впливу ацетату свинцю окремо та в комбінації з нанозалізом для виявлення можливої токсичної або есенціальної дії заліза на ембріогенез та репродуктивну систему в експериментальних моделях.

**Об'єкт і методи дослідження.** Матеріалом експериментального дослідження було обрано шурів (24 білих статевозрілих самиць лінії Вістар вагою 180-200 грам у віці 95-110 днів). Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень

«Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

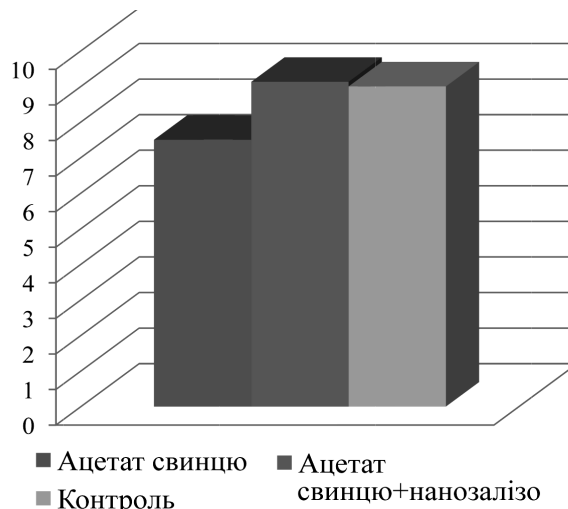
Перед початком експерименту всі тварини були оглянуті, зважені, враховувався їхній вік, рухова активність та стан шкіри. Під час спостереження лабораторні тварини утримувались в звичайних умовах віварію ДЗ «ДМА».

В експериментальних моделях використовували розчин цитрату заліза, отриманого за нанотехнологією. Цитрати біометалів безпечні, більше того, вони проявляють антиоксидантну і радіопротекторну дію, позитивно впливають на серцево-судинну і імунну системи організму [9, 12]. В якості токсиканта використовували розчин ацетату свинцю.

Серед задач, що стояли перед нами в даній експериментальній роботі, було визначення можливого ембріотоксичного впливу металів та впливу на репродуктивну систему тварин. Показниками ембріотоксичності слугують: передімплантаційна ембріональна смертність, морфологічні (анатомічні) вади розвитку, а так само загальна затримка розвитку плодів. Передімплантаційну смертність визначають за різницею між кількістю жовтих тіл в яєчниках і кількістю місць імплантації в матці; постімплантаційну смертність по різниці між кількістю місць імплантації і кількістю живих плодів.

Моделювання впливу розчинів нанометалів на організм самиці та на ембріогенез у щурів проводили за наступним планом: 1 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05мг/кг; 2 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05мг/кг та розчин нанозаліза у дозі 1,5 мкг/кг; 3 група – контрольна.

Досліджувану речовину (розчини металів (свинцю) та нанометалів (заліза)) вводили самкам через зонд один раз на добу, в один і той же час, з 1 по 19 день вагітності. Щурам контрольної групи в ці ж строки вводили розчинники, використовувані при приготуванні агенту впливу, тобто дистильовану воду. Тварин виводили з експерименту на 19-ту добу вагітності способом передозування ефірного наркозу після вилучення матки з ембріонами. В яєчниках підраховували кількість жовтих тіл, визначали розміри та вагу. Визначали кількість ембріонів в кожному відділі двороздільної матки. Для визначення можливої ембріотоксичної дії, вилучені з матки ембріони разом з плацентою, оглядали з метою виявлення видимих патоморфологічних змін, проводили фотографування, зважували, визначали краніокаудальний розмір. Після огляду відокремлювали плаценту та окремо зважували її, заміряли діаметр і фіксували матеріал у формаліні для подальших гістологічних досліджень. Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики. Оцінку вірогідності статистичних досліджень проводили за допомогою t-критерію Ст'юдента.



**Рис. 1. Кількість живих ембріонів (на 1 самицю) в експериментальних та контрольній групах.**

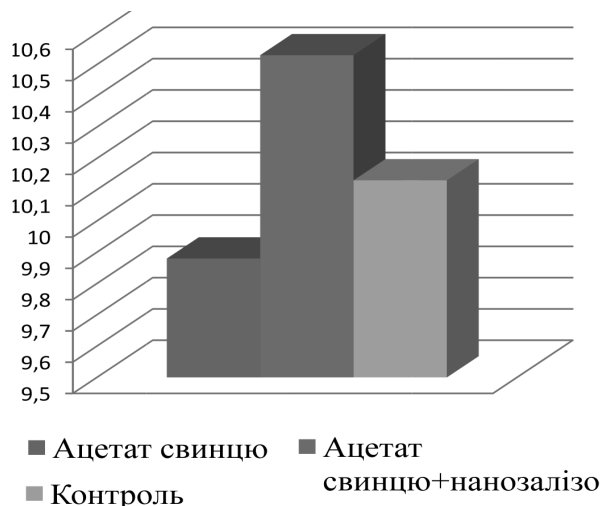
## Результати досліджень та їх обговорення.

Результати досліджень в групі, що підлягала впливу ацетатом свинцю у надмалих дозах, показали ембріотоксичну дію розчину ацетату свинцю порівняно з показниками контрольної групи. Так, при практично однаковій кількості жовтих тіл вагітності в цих двох групах, спостерігається достовірне зниження кількості живих плодів на 17% –  $7,5 \pm 0,53$  проти  $9,0 \pm 0,4$  у контрольній групі відповідно (рис. 1). При комбінованому введенні ацетату свинцю та цитрату заліза спостерігається незначне збільшення кількості живих ембріонів на 1 самицю навіть у порівнянні з контрольною групою, а саме –  $9,13 \pm 0,27$ , тобто можна зробити висновок про компенсаторну дію цитрату заліза на тлі інтоксикації свинцем. Аналіз всіх досліджуваних показників показав, що введення цитрату заліза на тлі інтоксикації ацетатом свинцю зменшує ембріотоксичну дію останнього. При подальшому вивченні ембріотропної дії ми не враховували 1 самицю з групи свинцевої інтоксикації, оскільки в даному випадку відбулась резорбція усіх ембріонів на ранніх стадіях.

Індекс плодовитості самиць (співвідношення чисельності отриманих послідів до кількості спарених маток) у дослідних та контрольній групах становить  $0,8-0,9$ , що збігається з даними літератури.

При свинцевій інтоксикації нами спостерігалось достовірне зниження кількості живих плодів та збільшення у 2,16 разів загальної ембріональної смертності. Показники маси та розмірів плаценти у експонованій свинцем групі дещо нижчі, а плодово-плацентарний коефіцієнт – вищий порівняно з групою контролю.

Аналіз загальних отриманих даних в групі, що отримувала комбінацію ацетату свинцю та нанозалізо виявив покращення показників репродуктивної системи, а саме збільшення кількості жовтих тіл вагітності в яєчниках дослідних тварин (рис. 2). В групі, що отримувала комбінацію ацетату свинцю та нанозаліза виявлено достовірним підвищенням



**Рис. 2.** Кількісні показники жовтих тіл вагітності в яєчниках в експериментальних та контрольній групах.

кількості живих ембріонів на 1 самицю, що обумовлено підвищенням кількості жовтих тіл вагітності майже на 9% –  $10,53 \pm 0,5$  (комбінований вплив) проти  $9,88 \pm 0,53$  (ацетат свинцю) ( $p < 0,05$ ) при практично однакових показниках загальної та доімплантаційної смертності. Кількість жовтих тіл вагітності в яєчниках групи тварин комбінованого впливу переважає над групою контролю, але різниця в кількості не є достовірною:  $10,53 \pm 0,5$  проти  $10,13 \pm 0,53$  (рис. 2).

Аналізуючи результати комбінованого впливу свинцю та нанозаліза на експериментальних тварин можна помітити більш виражений протекторний та

навіть ембріостимулюючий вплив препаратів цитрата заліза при свинцевій інтоксикації, що проявляється більш вираженим збільшенням кількості живих плодів, жовтих тіл вагітності, хоча дещо нижчим рівнем зниження загальної та доімплантаційної ембріональної смертності при дещо вищих показниках маси плодів.

Таким чином, дослідження показали, що при введенні цитрату заліза, отриманого за нанотехнологією на тлі свинцевої інтоксикації визначається збільшення кількості жовтих тіл вагітності, кількості живих плодів, що свідчить про корисний вплив цитрату заліза на хід ембріогенезу дослідних тварин.

**Висновки.** Аналіз показників ембріонального розвитку в групі, що отримувала комбінацію ацетату свинцю та цитрату заліза виявив покращення ембріонального розвитку порівняно з інтактною групою, що проявляється недостовірним підвищенням кількості жовтих тіл вагітності в яєчниках та кількості живих ембріонів на 1 самицю ( $9,13 \pm 0,27$  проти  $9,0 \pm 0,4$  контрольної групи). При порівнянні з групою свинцевої інтоксикації, різниця вже є достовірною:  $9,13 \pm 0,27$  проти  $7,5 \pm 0,53$  ( $p < 0,05$ ).

Вищенаведене дає підставу стверджувати, що введення розчину нанозаліза на фоні інтоксикації свинцем попереджує негативний вплив останнього на репродуктивну систему та процеси ембріонального розвитку плодів в експериментальних умовах та свідчить про їх біоантагонізм.

**В перспективі подальших досліджень** цікавим виглядає визначення можливих змін на гістологічному рівні в органах самиць та плодів дослідних груп.

## Література

- Білецька Е. М. Техногенне навантаження важкими металами та зміни глибокого кисневого статусу у вагітних в умовах інтенсивної промислової зони / Е. М. Білецька, К. В. Воронін, В. А. Потапов, Т. В. Лещева // Медичні перспективи. – 2000. – Т. 5, № 1. – С. 83-89.
- Борисевич В. Б. Нанотехнології мікронутрієнтів: проблеми, перспективи та шляхи ліквідації дефіциту макро- та мікроелементів / В. Б. Борисевич, В. Г. Каплуненко, М. В. Косінов, Б. В. Борисевич та ін.; за ред. В. Б. Борисевича, В. Г. Каплуненко. – 2010. – № 1. – С. 107-114.
- Динерман А. А. Роль загрязнителей окружающей среды в нарушении эмбрионального развития / А. А. Динерман. – М.: Медицина, 1980. – 191 с.
- Иваницкая Н. Ф. Сочетанное действие свинца и радиации на потомство в период предимплантации / Н. Ф. Иваницкая, Ю. Н. Талакин, Т. Ю. Бабиц // Гигиена и санитария. – 1991. – № 12. – С. 48-51.
- Картель М. Т. Концепція методології ідентифікації та токсикологічних досліджень наноматеріалів і оцінки ризику для людського організму та довкілля при їх виробництві і застосуванні / М. Т. Картель, В. П. Терещенко // Химия, физика и технология поверхности: Межвед. сб. науч. труд. – К.: Наукова Думка, 2008. – Вып. 14. – С. 565-583.
- Колесниченко А. В. Токсичность наноматериалов – 15 лет исследований / А. В. Колесниченко, М. А. Тимофеев, М. В. Протопопова // Российские нанотехнологии. – 2008. – Т. 3, № 3-4. – С. 54-61.
- Корбакова А. И. Свинец и его действие на организм / А. И. Корбакова, Н. С. Соркина, Н. Н. Молодкина [и др.] // Медицина труда и пром. экол. – 2001. – № 5. – С. 29-34.
- Мосин О. В. Физиологическое воздействие наночастиц меди на организм человека / О. В. Мосин // NanoWeek. – 2008. – № 22. – С. 86-94.
- Наноматеріали в біології. Основи нановетеринарії. Посіб. для студ. аграрн. закл. Освіти III-IV рівнів акредитації / [В. Б. Борисевич, В. Г. Каплуненко, М. В. Косінов, Б. В. Борисевич та ін.]; за ред. В. Б. Борисевича, В. Г. Каплуненко. – К.: ВД «Авіцена», 2010. – 416 с.
- Петренко О. Ф. Рекомендації щодо застосування наночасток Ag, Cu, Zn для лікування ран у собак та для профілактики гельмінтозів тварин / [О. Ф. Петренко, В. Б. Борисевич, О. О. Петренко, К. Г. Лопатко та ін.]. – К.: НУБіП України, 2009. – 40 с.
- Резніченко Л. С. Вплив металів-мікроелементів на функціональний стан бактерій-пробіотів / Л. С. Резніченко, Т. Г. Грузіна, В. В. Вембер, З. Р. Ульберг // Укр. біохім. журн. – 2008. – Т. 80, № 1. – С. 96-101.

12. Сердюк А. М. Нанотехнології мікронутрієнтів: питання безпечності та біотичності наноматеріалів при виробництві харчових продуктів / А. М. Сердюк, М. П. Гуліч, В. Г. Каплуненко, М. В. Косінов // Журнал Академії медичних наук України. – 2010. – № 3, Т. 16. – С. 467-471.
13. Сердюк А. М. Перспективы использования достижений нанотехнологии для решения проблемы дефицита микроэлементов в питании населения / А. М. Сердюк, М. П. Гулич, В. Г. Каплуненко, Н. В. Косинов / В Сб. : Матеріали VI Міжнар. наук. -практ. конф. «Актуальні питання та організаційно-правові засади співробітництва України та КНР у сфері високих технологій» ( Київ, 2 червня 2009 р.). – К. – 2009. – С. 135-140.
14. Сиакин З. В. Загрязнение биосферы свинцом: масштабы и перспективы для России / З. В. Сиакин // Медицина труда и промышленная экология. – 1999. – № 5. – С. 56-62.
15. Скальный А. В. Биоэлементы и показатели эмбриональной смертности лабораторных крыс / А. В. Скальный, С. В. Залавина, С. В. Ефимов // Вестник ОГУ. – 2006. – № 2. – С. 78-81.
16. Чекман І. С. Нанофармакологія / І. С. Чекман . – 2011. – 260 с.
17. Чекман І. С. Нанофармакологія: експериментально-клінічний аспект / І. С. Чекман // Лікарська справа. – 2008. – № 3-4. – С. 104-109.

УДК 611. 12-034:591. 33-092. 9

### **МОДЕЛЮЮЧИЙ ВПЛИВ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА ЙОГО КОМБІНАЦІЇ З НАНОЗАЛІЗОМ НА ЕМБРІОГЕНЕЗ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН**

**Савенкова О. О.**

**Резюме.** Досліджували вплив ацетату свинцю окремо та його комбінації з цитратом заліза, отриманого за нанотехнологіями на репродуктивну систему і хід ембріогенезу щурів. Визначали ембріотоксичність ацетату свинцю і нанозаліза, а саме – показники перед-і постімплантаційної смертності та кількість жовтих тіл яєчників. Результати експерименту показали, що при комбінованому введенні низьких доз свинцю + нанозалізо спостерігається збільшення кількості жовтих тіл вагітності, кількості живих плодів у порівнянні з групою зі свинцевою інтоксикацією при практично однаковій масі плодів. Дослідження показали, що введення розчинів нанозаліза на тлі інтоксикації свинцем попереджає негативний вплив останнього на процеси ембріонального розвитку плодів в експериментальних умовах та свідчить про їх біоантогонізм.

**Ключові слова:** ацетат свинцю, нанозалізо, жовті тіла вагітності, ембріогенез.

УДК 611. 12-034:591. 33-092. 9

### **МОДЕЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ АЦЕТАТА СВИНЦА И ЕГО КОМБИНАЦИЙ С НАНОЗОЛОТОМ НА ЭМБРИОГЕНЕЗ КРЫСЫ**

**Савенкова Е. А.**

**Резюме.** Исследовали влияние ацетата свинца и нанометаллов на репродуктивную систему и ход эмбриогенеза крыс. Определяли эмбриотоксичность ацетата свинца и нанометаллов, а именно – показатели пред-и постимплантационной смертности. Результаты эксперимента показали, что при комбинированном введении низких доз свинца + наносеребро наблюдается увеличение количества желтых тел беременности, количества живых плодов по сравнению с группой со свинцовой интоксикацией при практически одинаковой массе плодов. Исследования показали, что введение растворов нанозолота на фоне интоксикации свинцом предупреждает негативное влияние последнего на процессы эмбрионального развития плодов в экспериментальных условиях.

**Ключевые слова:** ацетат свинца, нанозолото, эмбриогенез.

UDC 611. 12-034:591. 33-092. 9

### **Modifying Effect of Lead Acetate and its Combination with Nanogold on Embryogenesis of Rats**

**Savenkova E. A.**

**Summary.** The aim of the study was to study the effects of lead acetate alone or in combination with nanoiron to identify possible toxic or essential of iron in embryogenesis and reproductive system in experimental models. The material was selected pilot study in rats (24 white mature female Wistar weighing 180-200 g at the age of 95 110days). Among the problems facing us in this experimental work was to determine the possible embryotoxic effects of metals and effects on the reproductive system of animals. Indicators embryo are: pre- and postimplantational embryonic mortality, morphological (anatomical) malformations, as well as overall growth retardation [18, 19]. Preimplantational mortality is determined by the difference between the number of corpora lutea in the ovaries and the number of implantation sites in the uterus; postimplantational mortality by the difference between the number of implantation sites and number of live fetuses.

Simulation of solutions of nanometals on the body and the female embryogenesis in rats was performed according to the following schedule: Group 1 – animals injected with a solution of lead acetate at a dose of 0. 05 mg / kg, Group 2 – animals injected with a solution of lead acetate at a dose of 0. 05 mg / kg and nanoiron solution at a dose of 1.5 mg / kg, group 3 – control .

Test substances (solutions of metals ( lead) and nanometals (iron )) females were injected through a tube once a day, at the same time 1 to 19 days of pregnancy. Rats of the control group at the same time introduced the solvents used in the preparation of agents of influence , on distilled water. Animals were taken out of the experiment at 19 th day of pregnancy means an overdose of ether anesthesia after removal of the uterus with embryos . In ovaries counted the number of corpora lutea was determined size and weight. We determined the number of embryos in each of two-horned uterus. To determine the possible embryotoxic action of embryos removed from the uterus with placenta examined to detect any visible pathological changes were carried out photographing, weighed, measured of kraniocaudal size.

The results in the group that was subject to the influence of lead acetate in micro-doses have shown embryotoxic effects of lead acetate compared with those of control group. So, at almost the same number of corpora lutea of pregnancy in the two groups, there is a significant reduction in the number of live fetuses at 17 % –  $7,5 \pm 0,53$  vs  $9,0 \pm 0,4$  in the control group, respectively.

Analysis of embryonic development in the group receiving combination acetate and lead citrate of iron showed improvement embryonic development compared with intact group that appears unreliable increase in the number of corpora lutea in the ovaries of pregnancy and number of live embryos per 1 female ( $9,13 \pm 0,27$  vs.  $9,0 \pm 0,4$  control group). When compared with a group of lead intoxication, the difference is true:  $9,13 \pm 0,27$  vs.  $7,5 \pm 0,53$  ( $p < 0,05$ ).

The above gives reason to believe that the introduction of the solution of nanoiron the background of lead intoxication prevents the negative influence of the latter on the reproductive system and processes of embryonic development of the fetus in experimental conditions and suggests their bioantagonism.

**Key words:** lead acetate, nanogold, embryogenesis.

*Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.*

*Стаття надійшла 9. 09. 2013 р.*