

ЕКСПРЕСІЯ ІМУНОГІСТОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ В ПЕРШИЙ ТИЖДЕНЬ ЖИТТЯ ПІСЛЯ ПРЕНАТАЛЬНОГО ВПЛИВУ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ

¹Державний заклад «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпро)

²Приватний заклад вищої освіти «Дніпровський інститут медицини та громадського здоров'я» (м. Дніпро)

³ТОВ «Дніпровський медичний інститут традиційної та нетрадиційної медицини» (м. Дніпро)

⁴Комунальне некомерційне підприємство «Клінічна лікарня швидкої медичної допомоги» Дніпровської міської ради (м. Дніпро)

dovgalgem@i.ua

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження виконано згідно теми наукової роботи кафедри анатомії людини державного закладу «Дніпропетровська медична академія 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 – один із найбільш шкідливих та найпоширеніших промислових токсикантів, який присутній у повітрі, воді та продуктах харчування. Сполуки свинцю викликають порушення метаболічних шляхів майже усіх видів обміну речовин завдяки блокуванню багатьох ферментів [1,2]. Вони також відомі як речовини, що долають плацентарний бар'єр та впливають на внутрішньоутробний розвиток органів та систем, також викликають різноманітні порушення у постнатальному житті [2,3,4]. У попередніх дослідженнях доведено, що вплив сполук свинцю до вагітності та під час вагітності призводить до різноманітних відхилень, а печінка виявилася одним із найбільш вразливих органів [2,3]. Вивчення експресії імуногістохімічних маркерів здебільшого стосувалися молекулярно-біологічних особливостей печінки в нормальному онтогенезі та впливу свинцю на зрілу печінку [2,5]. В наших попередніх роботах показані зміни в експресії деяких маркерів в печінці протягом пренатального періоду під впливом ацетату свинцю [6]. Додавання сорбентів, вітамінів, коферментів та деяких рослин з антиоксидантними властивостями до їжі [5,6,7,8] було запропоновано як способи профілактики та лікування хронічної інтоксикації свинцем. У наших попередніх дослідженнях ми показали градієнт структурних змін печінки плода щурів, а також пригнічення синтетичного потенціалу печінки плода в експериментах з впливом ацетату свинцю до настання вагітності та протягом вагітності [3,6]. На цей час не достатньо даних про морфологічні та молекулярні зміни в ранньому постнатальному онтогенезі печінки після впливу ацетату свинцю протягом вагітності та в умовах корекції.

Мета дослідження – визначення експресії спектру імуногістохімічних маркерів в печінці в ранньому постнатальному розвитку щурів після впливу ацетату свинцю протягом вагітності та за умов корекції.

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±2°C, вологість повітря 55±15%, 12-годинний світлий/темний цикл, вільний доступ до води та їжі. Матеріалом дослідження слугувала печінка інтактних щурят (група контролю) на 1-шу, 3-тю та 7-му добу постнатального розвитку; щурят, народжених матерями, що отримували ацетат свинцю протягом вагітності та у комбінації з лікопеном (Hubei Pharmaceutical). Самицям з першого дня встановлення вагітності вводили ацетат свинцю в водному розчині у дозі 20 мг/кг per os щодня; в групі, що піддавалася корекції, вводили таку ж дозу ацетату свинцю та лікопен (500 мг/кг). Після евтаназії щурят печінку фіксували 10% формаліном і заливали у парапласт. Гістологічні зрізи (товщиною 5 мкм) монтували на скельця SuperFrost Plus.

З метою відновлення антигенних властивостей тканини проводили термічну індукцію відновлення епітопу шляхом нагрівання скельця в цитратному буфері після депарафінізації зрізів. Інкубацію з первинними антитілами проводили у вологих камерах при температурі 23-25° С протягом 30 хв. Спектр антитіл включав маркери (поліклон, LabVision): αSMA (актин α гладкої мускулатури), eNOS (ендотеліальна або конститутивна синтаза оксиду азоту), епітеліальний маркер AE1/AE3 (AE1 виявляє кислі цитокератини, AE3 розпізнає всі відомі основні цитокератини), фактор росту судинного ендотелію), ядерний маркер WT1 (пухлинний ген Вільма), апоптотичний маркер каспаза-3, MMP-1, MMP-9 (матрична металопротеїназа-1 і матрична металопротеїназа-9). Титр антитіл був обраний індивідуально для кожного маркера. Наступний етап імуногістохімічного дослідження проводили за допомогою системи візуалізації UltraVision Quanto (LabVision). Ідентифікацію здійснювали шляхом застосування хромогену DAB під контролем мікроскопа від 20 сек до 3 хв до появи темно-коричневого забарвлення конкретних структур. Зрізи додатково фарбували гематоксином Майєра.

Експерименти проводилися відповідно до вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006 р.).

Результати дослідження та їх обговорення. Контрольна група. AE1/AE3 як епітеліальний маркер продемонстрував високу ступінь зв'язування в гепатоцитах у контрольній групі і чітко визначив ділянки

паренхіми печінки протягом 1-7 днів постнатального періоду. Експресії AE1/AE3 в гепатоцитах було однорідною в різних ділянках печінкових часточок та органу в цілому. Ядра гепатоцитів були негативними до каспази-3, в ядрах стромальних клітин реакція була слабкою протягом усього дослідженого періоду. Експресія маркерів MMP-1 та MMP-9 в клітинах печінкового інтерстицію була помірною. Протягом 1-7 днів пренатального розвитку ядра гепатоцитів були помірно WT1-позитивними, а клітини строми не демонстрували забарвлення. Позитивними на eNOS клітинами у печінці щурят були ендотеліальні клітини інтерстиціальних судин, центральних вен та інших судин. Синусоїдальний ендотелій не демонстрував забарвлення цим маркером. Клітини стінки судин – гладком'язові та періцити, а також зірчасті клітини (клітини Ito) були позитивними на α SMA. Гепатоцити були слабо позитивними на VEGF протягом всього дослідженого періоду.

У групі після вагітності з впливом ацетату свинцю зміни паренхіми печінки щурят протягом 1-7 днів включали дистрофію у вигляді грануляції та вакуолізації цитоплазми. Також спостерігався інтерстиціальний набряк та помірна інфільтрація інтерстицію лімфоїдними клітинами. Патоморфологічні зміни дещо посилювалися протягом 1-го тижня. Зниження експресії AE1/AE3 відповідало загальним дегенеративним явищам в паренхімі печінки; інтактні гепатоцити демонстрували меншу, ніж у нормі, інтенсивність імунозабарвлення (рис. 1). Деякі ядра клітин печінкової паренхіми набували позитивної реакції з маркером каспаза-3; протягом 1-7 доби життя у більшості стромальних клітин ядра були каспаза-3-позитивними. Не спостерігалось змін в експресії маркеру WT1. В клітинах міжчасточкової строми експресія MMP-1 та MMP-9 була значно пригніченою, що свідчило про глибокі порушення у стромальному компоненті печінки. Значний вплив токсиканта на ендотелій судин проявив себе при дослідженні експресії eNOS. На 1-шу добу постнатального життя ендотеліальні клітини демонстрували дуже слабке імунозабарвлення на eNOS у більшості судин. Подальші спостереження показали стабільне пригнічення синтезу цього ферменту. Найбільша кількість позитивних на α SMA інтерстиціальних клітин спостерігалась в периферичних відділах органу, що зазнали суттєвих фіброзних змін. α SMA-позитивні клітини

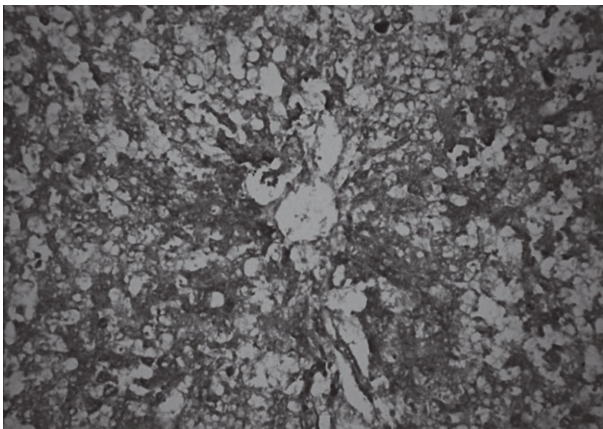


Рисунок 1 – Імуногістохімічна реакція на AE1/AE3 в печінці щура на 1 добу життя після впливу ацетату свинцю. Додаткове забарвлення гематоксином Майєра. Збільш.: ок. $\times 10$, об. $\times 40$.

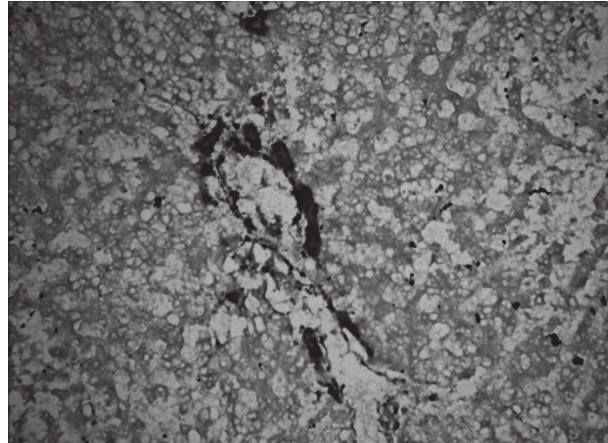


Рисунок 2 – Імуногістохімічна реакція на α SMA в печінці щура на 1 добу життя після впливу ацетату свинцю. Додаткове забарвлення гематоксином Майєра. Збільш.: ок. $\times 10$, об. $\times 40$.



Рисунок 3 – Імуногістохімічна реакція на eNOS в печінці щура на 1 добу життя після впливу ацетату свинцю при корекції лікопеном. Додаткове забарвлення гематоксином Майєра. Збільш.: ок. $\times 10$, об. $\times 10$.

в цих ділянках локалізувалися в стінці кровоносних судин, але ми не виявили клітин Ito (рис. 2). α SMA-позитивні клітини, що ми віднесли до клітин Ito, в часточках центральних ділянок, що виглядали більш збереженими, переважно були розташовані уздовж синусоїдів протягом 1-7 днів життя, але кількість їх була значно меншою, ніж у нормі. Цитоплазма гепатоцитів була слабопозитивною на маркер VEGF, експресія його вже не була неоднорідною, зустрічалися ділянки печінкових балок, що зовсім не мали забарвлення, вони також відрізнялися й найбільш виразними дистрофічними змінами. Стромальні клітини, як і в контрольній групі, демонстрували інтенсивну експресію VEGF. Така картина зберігалась протягом 1-7 днів постнатального періоду. Гепатоцити з ядрами, позитивними до каспази-3, були більш численні на 1-шу добу життя, порівняно до контролю. Кількість таких ядер зростала протягом першого постнатального тижня.

У групі після впливу ацетату свинцю та корекції лікопеном експресія AE1/AE3 була пригнічена у меншому ступені, ніж у групі без корекції, але ділянок з виразним забарвленням, як у нормі, ми не спостерігали. У цитоплазмі гепатоцитів розподіл цього маркеру не був рівномірним. Як і в групі без корекції, експресія WT1 не відрізнялась від норми. Експресія eNOS зменшилася протягом 1-7 днів життя, порівня-

но з контрольною групою, в судинах малого калібру, у більшості випадків, міжчасточкових, спостерігалось імунозбарвлення середньої інтенсивності (рис. 3). Найчастіше, ми відмічали таку тенденцію при достатньому рівні збереженості морфологічної структури печінкової паренхіми. Насиченість тканини клітинами, позитивними на α SMA, була дещо меншою, ніж в інтактній печінці, але патерн їх розподілу наближався до нормального. Це не стосувалося периферичних відділів та ділянок з виразними дистрофічними та фіброзними змінами, де кількість клітин Ito уздовж синусоїдів була меншою, ніж у нормі. В ділянках з розростанням сполучної тканини α SMA-позитивні клітини були наявні в великій кількості. Стромальні клітини демонстрували високий рівень експресії VEGF, особливо в ділянках з фіброзними змінами. Експресія VEGF в цитоплазмі гепатоцитів була аналогічною групі після обробки ацетатом свинцю без корекції. Каспаза-3-позитивні гепатоцити були більш численні в периферичних частинах органу, однак, їх було загалом менше, ніж у групі після впливу ацетату свинцю. Експресія MMP-1 і MMP-9 була на тому є рівні, що й в групі після обробки токсикантом.

В нормі імуногістохімічна картина печінки щурів в ранньому постнатальному періоді відрізняється від фетальної зменшенням експресії маркерів факторів росту та маркерів апоптозу. Так, гепатоцити протягом 1-7 доби життя демонстрували слабе імунозбарвлення до VEGF, і це відрізнялося від картини, що ми спостерігали у пренатальному періоді [6], коли печінкова паренхіма демонструвала високий рівень експресії цього маркера. На відміну від постнатального періоду, в пренатальний період ядра гепатоцитів були позитивні на каспазу-3, а деякі гепатоцити були позитивними до MMP-9 [6]. Після впливу ацетату свинцю зміни паренхіми печінки протягом 1-7 доби життя були більш виразними, ніж ті, що відбуваються протягом пренатального періоду, особливо, при використанні меншої дози ацетату свинцю [2]. Морфологічні та імуногістохімічні прояви патологічних процесів у паренхімі печінки мали ознаки наростання на протязі першого тижня життя, що співпадає з тим, відбувається у фетальний період під впливом токсиканту. Зниження синтезу конститутивної форми синтази оксиду азоту, особливо в судинах малого калібру, відповідало загальній токсичній дії шкідника, що спостерігалось і в зрілій печінці [5]. Протектор, використаний в нашому дослідженні, частково

маскував вплив ацетату свинцю на експресію eNOS. Придушення експресії епітеліального маркера як AE1/AE3 є свідченням глибокого пригнічення синтезу білка в печінці щурят, на що корекція лікопеном на мала суттєвого впливу. Ми помітили, що накопичення α SMA-позитивних клітин в печінці в групі після впливу токсиканту, обумовлено стимулюванням фіброзних змін в органі. Скупчення таких клітин, що, ймовірно, не були клітинами Ito, а періцитами або гладком'язовими клітинами, спостерігалось в ділянках з дистрофічними змінами. У наших попередніх дослідженнях, в кінці пренатального періоду ділянки печінки, де сполучна тканина замінила паренхіму печінки, не містили більше клітин Ito [6]. Ми вважаємо, що клітини Ito зазнають апоптотичних змін після утворення фіброзної тканини. З цим корелює її посилення експресії каспази-3, що відбувалося після впливу ацетату свинцю, інтенсивність імунозбарвлення для цього маркера також була пов'язана зі ступенем прояву патологічних змін. Експресія VEGF продемонструвала більшу вразливість до ацетату свинцю в епітелії печінки порівняно зі стромальним компонентом. Останні маркери не показали виразного позитивного ефекту з боку протектанта, так само, як й MMP-1 та MMP-9. Таким чином, стимуляція апоптозу та порушення синтетичних процесів, що викликані ацетатом свинцю, були суттєвими та слабо коригувалась лікопеном. Експресія WT1 стабільною у досліджений період в усіх групах, таким чином, на неї не впливав токсикант.

Висновки. Експресія імуногістохімічних маркерів у печінці щурят протягом 1-7 днів життя показала різну сприйнятливості до ацетату свинцю, що впливав в пренатальний період, та потенціал до корекції лікопеном. Найбільш вразливою була експресія VEGF, каспази-3, AE1/AE3, MMP-1 і MMP-9; щодо їх синтезу, лікопен продемонстрував незначний коригуючий потенціал. Маркер α SMA мав позитивну кореляцію з фіброзними змінами тканини в групах після впливу ацетату свинцю та разом з корекцією. Маркер eNOS виявив виражену вразливість малих судин до токсиканту та відносно більший потенціал для корекції, порівняно з іншими маркерами.

Перспективи подальших досліджень. Використати інші імуногістохімічні маркери для дослідження пренатального та постнатального розвитку печінки під впливом ацетату свинцю, а також продовжити пошуки протектантів.

Література

- Aleksichuk VD, Sokurenko LM, Omelchuk ST. Osoblyvosti vplyvu nanochastok sulfidu ta nitratu svyntsu na orhanizm eksperymentalnykh tvaryn u rizni periody doslidzhennia ta metody korektsii yikh nehatyvnoi dii. Svit medytsyny ta biolohii. 2015;54(4):97-100. [in Ukrainian].
- Vylegzhaniina TA. Vliyanie acetata svinca na razvitie pecheni krysa. Original'nye nauchnye publikatsii. 2015;44-8. [in Russian].
- Dovhal HV, Dovhal MA, Romanenko OA. Pathomorphology of fetal and mature liver under the lead intoxication and after the correction: the review of experimental data. Pathologia. 2019;1(45):139-44. DOI: 10.14739/2310-1237. 2019.1.166497
- Dovhal HV, Dovhal MA, Shevchenko IV. Porushennia morfohenezu sertsia shchuriv pid vplyvom atsetatu svyntsiu ta za umov korektsii. Visnyk problem biolohii i medytsyny. 2018;4(147):271-6. DOI: 10.29254/2077-4214-2018-4-2-147-271-276 [in Ukrainian].
- Liu CM, Ma JQ, Sun YZ. Puerarin protects the rat liver against oxidative stress-mediated DNA damage and apoptosis induced by lead. Exp Toxicol Pathol. 2012;64(6):575-82. DOI: 10.1016/j.etp.2010.11.016
- 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 Rewiew. 2017;7:17-9. Available from: <http://archive.ws-conference.com/wp-content/uploads/pw0567.pdf>
- Gargouri M, Ben Saad H, Ben Amara I, Magné C, El Feki A. Spirulina exhibits hepatoprotective effects against lead induced oxidative injury in newborn rats. Cell Mol Biol. 2016;62(10):85-93. DOI:10.14715/cmb/2016.62.10.14
- Gargouri M, Magné C, Ben Amara I, Ben Saad H, El Feki A. Dandelion-enriched diet of mothers alleviates lead-induced damages in liver of newborn rats. Cell Mol Biol. 2017;63(2):67-75. DOI: 10.14715/cmb/2017.63.2.10

ЕКСПРЕСІЯ ІМУНОГІСТОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ В ПЕРШИЙ ТИЖДЕНЬ ЖИТТЯ ПІСЛЯ ПРЕНАТАЛЬНОГО ВПЛИВУ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ**Довгаль Г. В., Довгаль М. А., Романенко О. А., Жаріков М. Ю., Романенко К. Л.**

Резюме. Метою дослідження було визначення експресії спектру імуногістохімічних маркерів в печінці щурів на 1, 3 та 7 добу життя після впливу ацетату свинцю протягом вагітності та за умов корекції. Саміцям щурів лінії Wistar з першого дня вагітності вводили ацетат свинцю в водному розчині у дозі 20 мг/кг per os щодня, в групі, що піддавалася корекції, вводили таку ж дозу ацетату свинцю та лікопен (500 мг/кг), контролем були інтактні щурята. Експресія маркерів у печінці щурят протягом 1-7 днів життя показала різну сприйнятливості до ацетату свинцю, що впливав в пренатальний період, та потенціал до корекції лікопеном. Найбільш вразливою була експресія VEGF, каспази-3, AE1/AE3, MMP-1 і MMP-9; щодо їх синтезу, лікопен продемонстрував незначний коригуючий потенціал. Маркер α SMA мав позитивну кореляцію з фіброзними змінами печінкової тканини в групах після впливу ацетату свинцю та разом з корекцією. Маркер eNOS виявив виражену вразливість малих судин до токсиканту та відносно більший потенціал для корекції, порівняно з іншими маркерами.

Ключові слова: печінка, постнатальний період, щури, ацетат свинцю, імуногістохімічні маркери.

ЭКСПРЕССИЯ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС В ПЕРВУЮ НЕДЕЛЮ ЖИЗНИ ПОСЛЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ АЦЕТАТА СВИНЦА И ПРИ КОРРЕКЦИИ**Довгаль Г. В., Довгаль М. А., Романенко А. А., Жариков Н. Ю., Романенко Е. Л.**

Резюме. Целью исследования было определение экспрессии спектра иммуногистохимических маркеров в печени крыс на 1, 3 и 7 сутки жизни после воздействия ацетата свинца в пренатальном периоде и в условиях коррекции. Самкам крыс линии Wistar с первого дня беременности вводили ацетат свинца в водном растворе в дозе 20 мг/кг per os ежедневно, в группе, подвергавшейся коррекции, вводили такую же дозу ацетата свинца и ликопен (500 мг/кг), контролем были интактные крысят. Экспрессия маркеров в печени крысят в течение 1-7 дней жизни показала разную восприимчивость к ацетату свинца, который воздействовал в пренатальный период, и корригирующий потенциал ликопена. Наиболее уязвимой была экспрессия VEGF, каспазы-3, AE1/AE3, MMP-1 и MMP-9; по отношению к ним ликопен продемонстрировал незначительную корригирующую способность. Маркер α SMA имел положительную корреляцию с фиброзными изменениями печеночной ткани в группах после воздействия ацетата свинца и с коррекцией. Маркер eNOS обнаружил выраженную чувствительность сосудов малого калибра к действию токсиканта и относительно больший потенциал для коррекции по сравнению с другими маркерами.

Ключевые слова: печень, постнатальный период, крысы, ацетат свинца, иммуногистохимические маркеры.

EXPRESSION OF IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS IN THE RAT LIVER DURING THE FIRST WEEK OF LIFE AFTER PRENATAL EXPOSURE TO LEAD ACETATE AND UNDER CORRECTION**Dovhal H. V., Dovhal M. A., Romanenko O. A., Zharikov M. Yu., Romanenko K. L.**

Abstract. The aim of the study was to determine the expression of the spectrum of immunohistochemical markers in the liver in the early postnatal period of rats after exposure to lead acetate during pregnancy and under correction. From the first day of pregnancy, female Wistar rats were exposed to lead acetate in an aqueous solution at a dose of 20 mg/kg per os daily; in the correction group, the same dose of lead acetate and lycopene (500 mg/kg) was administered. The liver of rat pups underwent the immunohistochemical analysis on the 1st, 3rd and 7th day of life; the control was the liver of intact rat pups.

In the group after exposure to lead acetate, changes in rat liver parenchyma within 1-7 days included dystrophy, particularly the granulations and vacuolation of the cytoplasm. Interstitial edema and moderate interstitial infiltration by lymphoid cells were also observed. Pathomorphological changes increased during the 1st week. The decrease of AE1/AE3 expression was corresponded to the common degenerative changes in the liver parenchyma. Some liver parenchyma nuclei were positive for the caspase-3 marker, and within 1-7 days, most of stromal nucleus cells were caspase-3-positive. No changes in WT1 expression were observed. MMP-1 and MMP-9 expression was significantly suppressed in the cells of the interlobular stroma. Endothelial cells showed weak immunostaining of eNOS in most vessels at day 1st. Subsequent observations showed the stable inhibition of the synthesis of this enzyme. The highest number of α SMA-positive interstitial cells was observed in the peripheral parts of organ, which underwent severe fibrotic changes. Hepatocyte cytoplasm was weakly positive for VEGF, its expression was no longer heterogeneous. There were areas of liver that had no staining at all, they also demonstrated the most pronounced dystrophic changes. Stromal cells, as in the control group, showed a clear expression of VEGF. This pattern persisted for 1-7 days postnatal period. Hepatocytes with caspase-3 positive nuclei were more abundant at day 1 compared to control. The number of such nuclei increased during the first postnatal week.

In the group after exposure to lead acetate and lycopene correction, AE1/AE3 expression was suppressed less than in the non-correction group, but we did not observe areas with clear staining as normal. In the cytoplasm of hepatocytes, the distribution of this marker was not uniform. As in the non-correction group, WT1 expression did not differ from normal. Expression of eNOS decreased within 1-7 days of life, compared to the control group, in small caliber vessels, in most cases of interlobular, there was a suppression of immunostaining. The number of cells positive for α SMA was slightly lower than in the intact liver, but their distribution pattern was similar to normal. Stromal cells showed the high level of VEGF expression, especially in areas with fibrotic changes. The expression of VEGF in the cytoplasm of hepatocytes was similar to the group after lead acetate treatment without correction.

Caspase-3-positive hepatocytes were more abundant in the peripheral parts of the organ, however, they were generally less in number than in the group after exposure to lead acetate. The expression of MMP-1 and MMP-9 was at the same level as in the group after treatment with the toxicant only.

We conclude that the expression of immunohistochemical markers in the liver of rat during 1-7 days of life showed the different susceptibility to lead acetate after maternal treatment during the whole pregnancy, and the corrective potential of lycopene. The most vulnerable was the expression of VEGF, caspase-3, AE1/AE3, MMP-1 and MMP-9; lycopene showed a slight corrective ability for their synthesis, but it was more beneficial for the eNOS expression.

Key words: liver, postnatal period, rats, lead acetate, immunohistochemical markers.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 23.02.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-1-155-301-303

УДК [611.631-612.616+616.981]: 612273.2

Коноваленко С. О., Татарчук Л. В., Гнатюк М. С.

**МОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ СТРУКТУР СІМ'ЯНИКІВ
ПІД ВПЛИВОМ РУБОМІЦИНУ ГІДРОХЛОРИДУ
Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (м. Тернопіль)**

hnatjuk@tdmu.edu.ua

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України «Структурно-функціональні основи адаптації серцево-судинної системи при дії на організм токсичних факторів» (№ державної реєстрації 01114 У 400 4522).

Вступ. Відомо, що дія на організм різних токсичних факторів призводить до порушення сперматогенної та гормональної функції сім'яників [1,2].

До медикаментозних токсичних лікарських середників відносять рубоміцин (дауноміцин) – антипухлинний антибіотик з вираженою цитостатичною дією, який широко використовується у клініці [3]. Застосування даного медикаментозного середника може призводити до різних порушень у функціонуванні серцево-судинної, дихальної, травної, кровоносної систем. У чоловіків під впливом рубоміцину гідрохлориду може погіршуватися функціонування репродуктивної системи та призводити до азооспермії [4,5]. Варто сказати, що морфометрично структури сім'яників при дії на організм рубоміцину гідрохлориду не вивчалися.

Мета дослідження – морфометрично вивчити морфологічні зміни структур сім'яників під впливом рубоміцину гідрохлориду.

Об'єкт і методи дослідження. Комплексом морфологічних методів досліджено сім'яники 30 лабораторних статевозрілих білих щурів-самців, які були розділені на 2-і групи. 1-а група включала 15 тварин, що знаходилися у звичайних умовах віварію, 2-а – 15 щурів, яким одноразово внутрішньоочередовно вводили рубоміцин гідрохлорид в дозі 30 мг/кг [2]. Евтаназію дослідних тварин здійснювали кровопусканням в умовах тіопенталового наркозу через місяць від початку експерименту. З сім'яників вирізали шматочки, які фіксували у 10 % розчині формаліну, проводили через етилові спирти зростаючої концентрації та поміщали у парафін. Мікротомні зрізи після депарафінізації забарвлювали гематоксилін-еозин-

ном, за методом Вейгерта, ван-Гізона, Маллорі, толуїдиновим синім [6].

Морфометрично на мікропрепаратах сім'яників визначали діаметри сім'яних каналців (ДСК), товщину їх стінки (ТС), кількість клітин епітеліо-сперматогенного шару (КЕС) в каналці, кількість клітин Сертолі (КС) на каналець, тубуло-інтерстиційний індекс – ТІ (відношення площі сім'яних каналців до інтерстиційної тканини), стромально-паренхіматозні відношення (СПВ), індекс Лейдіга (ІЛ) – відносне число клітин Лейдіга, що оточують сім'яний каналець, індекс інтенсивності сперматогенезу (ІС) – відношення клітин епітеліо-сперматогенного шару до клітин Лейдіга [4]. Морфометричні параметри обробляли статистично. Обробка кількісних морфологічних показників виконана у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України в програмному пакеті STATISTICA. Різницю між порівнювальними морфометричними параметрами визначали за критерієм Стьюдента та Манна-Уїтні [7,8].

Експерименти та евтаназію дослідних тварин проводили з дотриманням «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), відповідно до «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються у дослідних та інших цілях», закону України № 3447 «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006) [9].

Результати дослідження та їх обговорення. Отримані морфометричні показники представлені у таблиці. Усестороннім аналізом даних вказаної таблиці встановлено, що в умовах змодельованої патології вони суттєво змінювалися. Так, діаметр сім'яних каналців при цьому зменшився з $(316,6 \pm 2,7)$ мкм до $(287,5 \pm 2,4)$ мкм. Наведені морфометричні параметри між собою статистично достовірно ($p < 0,001$) відрізнялися. При цьому останній кількісний морфологічний показник виявився меншим за попередній на 9,2 %.