

Abstract. Using WGA lectin the morphogenesis of rat adrenal glands in physiological conditions and under maternal hypo- and hyperthyroidism was investigated. On the day 20th of prenatal ontogenesis in the central part of control group animals adrenal glands were identified islets of cells with large basophilic nuclei and light cytoplasm, which were considered as chromaffine cells precursors of adrenal medulla. Endothelium of microvascular bed showed marked affinity for WGA lectin, encompassing exposure of DGLcNAc and NeuNAc carbohydrate determinants. In progeny developed under maternal hypothyroidism it was detected the enlargement of vascular bed of the adrenal medulla accompanied with the lack of chromaffin cells, which apparently indicate a delay in the adrenal gland morphogenesis. On the postnatal day 1st adrenal medulla consisted of elongated clusters of chromaffin cells, subdivided with the blood vessels, whereas on the 10th postnatal day in all experimental groups medulla was clearly separated from cortex. On the background of complete lectin areactivity of adrenocorticoocytes, chromaffine cells demonstrated the accumulation of WGA lectin receptor sites: the degree of exposure was higher in offspring that developed under hypo- and hyperthyroidism, which could be regarded as certain violation of adrenal morphogenesis. Lectin reactivity of endothelial cells in zona glomerulosa and zona fasciculata reduced during postnatal development, while endothelium of zona reticularis, in parts, preserved affinity for it. On the postnatal day 40th and in the adult rats adrenal glands medulla consisted of two subpopulations of chromaffine cells: strong WGA-positive epinephrocytes, and less reactive norepinephrocytes. Maternal hyperthyroidism induced hypertrophy of adrenal gland cortical part. The obtained data makes it possible recommendation of WGA lectin as a selective histochemical marker of chromaffine cells with the possibility of differential detection of epinephrocytes and norepinephrocytes. Maternal hypothyroidism induced delay of adrenal gland maturation on early stages of postnatal development, whereas thickening of the adrenal cortex was the most characteristic sign for maternal hyperthyroidism.

Key words: rat adrenal gland, postnatal morphogenesis, maternal hypo- and hyperthyroidism, lectin histochemistry.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.
Стаття надійшла 07.05.2018 року

DOI 10.29254/2077-4214-2018-2-144-329-331

УДК 616.62-092.9:616.63:615.356:577.161.3

Сікора В. В., Ліндін М. С., Москаленко Р. А., Романюк А. М.

ВПЛИВ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ЦІЛІСНІСТЬ ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНОВОГО БАР'ЄРА СЕЧОВОГО МІХУРА ЩУРІВ

Сумський державний університет, Медичний інститут (м. Суми)

n.lyndin@med.sumdu.edu.ua

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дана робота є частиною науково-дослідної теми «Морфогенез загальнопатологічних процесів» (держбюджетна тема № 013U003315) та «Закономірності вікових і конституціональних морфологічних перетворень внутрішніх органів і кісткової системи за умов впливу ендо- і екзогенних чинників і шляхи їх корекції» (держбюджетна тема № 0113U001347).

Вступ. Однією з актуальних проблем нашого сьогодення є антропогенне забруднення навколишнього середовища потенційно небезпечними хімічними сполуками – солями важких металів (СВМ) [1]. Так, надлишкове поширення даних полутантів у всіх сферах нашої екосистеми супроводжується дисбалансом їх рівня в оточуючому довкіллі, що носить загрозливий характер для живих організмів та всієї планети [1-3]. Це обумовлює зростаючу кількість повідомлень щодо встановлення зв'язку між проживанням в екологічно забруднених регіонах з ризиком розвитку різноманітних патологічних станів в організмі. При цьому, наслідки екологічно обумовлених порушень, спровокованих дією важких металів (ВМ), різняться в залежності від їх комбінації, концентрації, шляхів та тривалості потрапляння до організму [1,2,4].

Доведено, що одним з органів, які піддаються дії екзогенних полутантів є сечовий міхур (СМ). Відомо, що саме тривалий вплив суміші ВМ на організм супроводжується глибокими патоморфологічними трансформаціями у стінці органа та розвитком неоплазій [5,6], однак механізми розвитку даної патології різносторонні та вивчені недостатньо. Ще менше інформації присвячено його поверхневим бар'єрам, до

яких відноситься шар глікозаміногліканів (ГАГ), що виступає перехідний епітелій СМ з середини та захищає його від дії агресивних компонентів сечі, мікроорганізмів та токсинів [7].

Враховуючи це, виникає необхідність встановлення стану бар'єрних механізмів органів сечовидільної системи у відповідь на дію ксенобіотиків та пошук коригуючих засобів для зменшення наслідків їх взаємодії.

Мета дослідження: встановлення особливостей змін ГАГ покриття епітелію СМ щурів за умов змодельованої дії СВМ на організм та корекції їх впливу за допомогою вітаміну Е.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальне дослідження було виконане на білих щурах-самцях (n=36). Упродовж експерименту тварини знаходились у стандартних умовах виварію з контролем температури, вологості, світлового режиму день/ніч та вільним доступом до води та харчів. Відповідно до поставленої мети моделі експерименту тварин було рандомно поділено на відповідні групи, а саме: I – контрольна; II – щури, які вживали питну воду з комбінацією СВМ; III – щури, які споживали ВМ на тлі коригуючої терапії. Експериментальна суміш ВМ була представлена потенційно небезпечними металами-мікроелементами розповсюдженими у навколишньому середовищі в наступних концентраціях: цинк ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) – 5 мг/л, мідь ($CuSO_4 \times 5H_2O$) – 1 мг/л, залізо ($FeSO_4$) – 10 мг/л, марганець ($MnSO_4 \times 5H_2O$) – 0,1 мг/л, свинець ($Pb(NO_3)_2$) – 0,1 мг/л, хром ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1 мг/л. У свою чергу, для корекції їх впливу на організм ми використовували вітамін Е (препарат «Альфа-токоферолу ацетат (вітамін Е)» 10%) з розрахунком видової витривалості

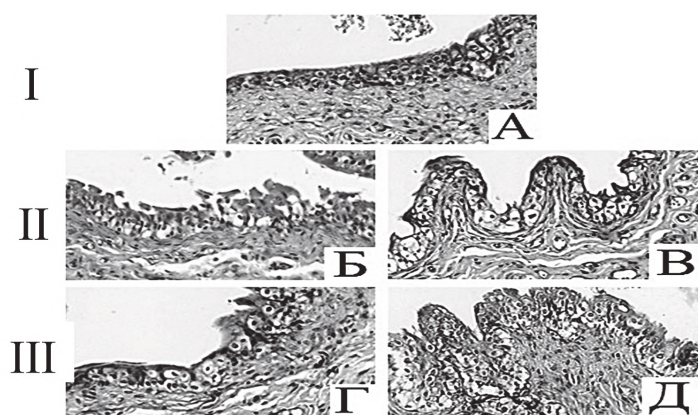


Рис. 1. Стінка СМ піддослідних тварин. I – контрольна група; II – тварини, які вживання CBM на 30 (Б) та 90 (В) добу; III – щури, які одночасно вживали CBM і вітамін Е на 30 (Г) та 90 (Д) добу. Забарвлення альціановим синім. Збільшення $\times 400$.

для щура (9,1мг/кг). Тварин виводили з експерименту на 30 та 90 добу експерименту шляхом їх декапітації на тлі медикаментозного сну з наступним забором СМ. Всі біомедичні дослідження проводилися згідно правила проведення експериментів з використанням тварин, прийнятих «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються в наукових цілях» (Страсбург, 1986 р.), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», схвалених I національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.), «Етичних принципів та вказівок для експериментів на тваринах: 3-є видання» (Швейцарія 2005 р.) та згідно закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006 р.).

СМ проходив етапи фіксації (10% розчин забуференого формаліну), дегідратації (у ксилолі та спиртах зростаючої концентрації) та парафінової заливки, з наступним отриманням серійних зрізів на ротаційному мікротомі товщиною 3-5 мкм. Для вивчення стану шару ГАГ, який вистилає просвіт СМ, гістологічні препарати забарвлювали альціановим синім. Світлооптичне дослідження ГАГ слизової оболонки СМ проводилися за допомогою мікроскопа «Carl Zeiss Primo Star» з цифровою камерою «Zeiss AxioCam ER5s» та програмним забезпеченням «ZEN 2 (blue edition)».

Результати досліджень та їх обговорення. При мікроскопічному вивченні СМ контрольної групи тварин за допомогою альціанового синього нами виявлено, що на апікальній мембрані парасолькових клітин розташовується тонкий безперервний шар ГАГ покриття, який простягається упродовж усього уротелію та повністю забезпечує його герметичність (рис. 1-І(А)). У той же час, полісахариди у достатній кількості візуалізувалися і серед стромальних компонентів органа.

На 30 добу експериментального дослідження у II групі ідентифікувалися виразні численні дефекти, глибокі провали та розриви ГАГ ланцюга, а також ділянки тотального оголення епітелію, що призводило до прямого контакту сечі та її компонентів з епітеліоцитами (рис. 1-ІІ(Б)). Однак, за умов пролонгації термінів тривалості досліді встановлено, що глибокі патоморфологічні трансформації протекторного бар'єру ГАГ чергувалися з ділянками компенсаторного його потовщення разом зі зменшенням вогнищ десквамації епітелію (рис. 1-ІІ(В)).

З іншого ж боку, за умов вживання коригуючого препарату протягом місяця дослідження у щурів III групи також виявлено заглибини, деградацію, де-

фекти та вогнища відсутності протекторної смужки ГАГ значної протяжності на поверхні епітеліального пласту (рис. 1-ІІІ(Г)), проте вже через 3 місяці експерименту відмічалися ознаки стабілізації товщини ГАГ вистилки, що характеризувалося зменшенням виразності ушкодження на тлі розростання та потовщення цього шару (рис. 1-ІІІ(Д)). Варто відмітити, що враження ГАГ шару СМ у III групі тварин були менш інтенсивними, ніж у II групі без коректора, з можливістю більш швидкого відновлення його нормального рівня для збереження уротеліальної цілісності.

Відомо, що проживання на екологічно несприятливих територіях може призвести до непередбачуваних наслідків, а специфіка їх впливу напряду залежить від забруднюючих чинників [1,4]. Інтоксикація екзогенними полутантами призводить до їх циркуляції в організмі з наступною акумуляцією та/або екскрецією. Все це супроводжується значними патологічними порушеннями та дисфункцією різноманітних органів і систем [2,3]. Серед таких органів варто виділити СМ, так як, враховуючи його структурно-фізіологічні особливості, він може піддаватися дії хімічних елементів через кров та сечу [5,8,9]. Відомо, що на захисті недоторканості епітелію СМ стоїть непроникливий шар ГАГ, а порушення його цілісності, як в умовах експерименту, так і під час захворювань, супроводжується різноманітними патологічними процесами в органі [7-9].

Результати наших досліджень демонструють, що за умов тривалого впливу на організм CBM відбувається порушення цілісності ГАГ бар'єру з одночасним збільшенням його проникливості. Отримані зміни залишаються і через 3 місяці експерименту, однак глибина та інтенсивність даних відхилень зменшується на тлі потовщення шару ГАГ. При одночасному вживанні BM та вітаміну Е відмічається зменшення виразності порушення герметичності ГАГ покриття, а компенсаторні механізми активуються швидше. У попередніх наших дослідженнях встановлено сильні кореляційні зв'язки між зростанням концентраційних рівнів BM у сечі з дисбалансом морфометричних показників висоти стояння епітеліоцитів ($r=-0,71$, $p<0,01$) та власної пластинки ($r=0,57$, $p<0,01$) [10]. Аналізуючи вищезазначене, ці зміни можна пояснити зростанням вмісту токсичних металів-мікроелементів у сечі, що викликано пошкодженням ГАГ бар'єру та безпосереднім контактом іонів BM з клітинами перехідного епітелію з подальшим розвитком їх патологічних змін. Саме тому, вивчення морфологічного стану ГАГ шару може слугувати маркером діагностики перебігу різних патологій міхура.

Висновки. За умов вживання суміші солей важких металів відбуваються глибокі морфологічні зміни стану глікозаміногліканового покриття, що призводить до зростання його проникності. Корекція впливу важких металів за допомогою вітаміну Е сприяє покращенню цілісності шару глікозаміногліканів на поверхні епітеліоцитів. Порушення герметичності глікозаміногліканового бар'єру залежить від тривалості дії металів-мікроелементів на організм з ознаками його компенсаторного відновлення під час пролонгації дослідження.

Перспективи подальших досліджень. Дослідити характер змін шару глікозаміногліканів після відміни вживання солей важких металів.

Література

1. Romaniuk AM, Sikora VV, Lyndina YuM, Lyndin MS. Poshyrenist vazhkykh metaliv u navkolyshnomu seredovyschi ta yikh rol u zhyttiedialnosti orhanizmu. Bukovynskiy medychny visnyk. 2017;21(82)ch.1:145-50. [in Ukrainian].
2. Jan AT, Azam M, Siddiqui K, Ali A, Choi I, Haq QM. Heavy metals and human health: mechanistic insight into toxicity and counter defense system of antioxidants. Int J Mol Sci. 2015 Dec;16(12):29592-630.
3. Izah SC, Inyang IR, Angaye TCN, Okowa IP. A Review of Heavy Metal Concentration and Potential Health Implications of Beverages Consumed in Nigeria. Toxics [Internet]. 2017 Mar [cited 2018 Jan 26];5(1):1. Available from: <http://www.mdpi.com/2305-6304/5/1/1>. DOI: 10.3390/toxics5010001
4. Wan D, Han Z, Yang J, Yang G, Liu X. Heavy Metal Pollution in Settled Dust Associated with Different Urban Functional Areas in a Heavily Air-Polluted City in North China. Int J Environ Res Public Health [Internet]. 2016 Nov [cited 2017 Nov 16];13(11):1119. Available from: <http://www.mdpi.com/1660-4601/13/11/1119>. DOI: 10.3390/ijerph13111119
5. Romaniuk A, Sikora V, Lyndin M, Smiyanov V, Sikora V, Lyndina Yu, et al. The features of morphological changes in the urinary bladder under combined effect of heavy metal salts. Interv Med Appl Sci. 2017;9(2):105-11.
6. Mao S, Huang S. Zinc and copper levels in bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. Biol Trace Elem Res. 2013 Jun;153(1-3):5-10.
7. Lazzeri M, Van Kerrebroeck P. New evidence for exogenous glycosaminoglycans treatment of 'cystitis': Is the future now? EMJ. 2016;1[3]:70-5.
8. Sobolev VE, Jenkins RO, Goncharov NV. Sulfated glycosaminoglycans in bladder tissue and urine of rats after acute exposure to paraoxon and cyclophosphamide. Exp Toxicol Pathol. 2017 Jul 5;69(6):339-47.
9. Cervigni M. Interstitial cystitis/bladder pain syndrome and glycosaminoglycans replacement therapy. Transl Androl Urol. 2015 Dec;4(6):638-42.
10. Sikora VV. Otsinka morfometrychnoho stanu slyzovoi obolonky sechovoho mikhura ta rivnia ekskretsii mikroelementiv z secheiu za umov vzhivannia sumishi vazhkykh metaliv. Visnyk morfologii. 2017;23(2):256-9. [in Ukrainian].

ВПЛИВ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛЛІВ НА ЦІЛІСНІСТЬ ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНОВОГО БАР'ЄРА СЕЧОВОГО МІХУРА ЩУРІВ

Сікора В. В., Линдін М. С., Москаленко Р. А., Романюк А. М.

Резюме. Перехідний епітелій сечового міхура (СМ) вкритий шаром глікозаміногліканів (ГАГ), який захищає уротеліоцити від агресивних компонентів сечі. В залежності від причин пошкодження цілісності даного шару значно різняться характер розвитку патології органа. Саме тому, встановлення особливостей змін ГАГ покриття уротелію СМ щурів за умов змодельованої дії солей важких металів (СВМ) на організм та корекції їх впливу за допомогою вітаміну Е. Нами встановлено, що за умов вживання СВМ відбуваються глибокі морфологічні зміни стану ГАГ покриття, що впливає на зростання його проникності. Застосування вітаміну Е на тлі вживання важких металів сприяє покращенню цілісності протекторного шару на поверхні епітеліоцитів. Порушення герметичності ГАГ бар'єру залежить від тривалості дії металів-мікроелементів на організм з ознаками його компенсаторного відновлення під час пролонгації дослідження.

Ключові слова: глікозаміноглікани, сечовий міхур, важкі метали.

ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ЦЕЛОСТНОСТЬ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВОГО БАРЬЕРА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ КРЫС

Сікора В. В., Линдін М. С., Москаленко Р. А., Романюк А. М.

Резюме. Переходный эпителий мочевого пузыря (СМ) покрыт слоем гликозаминогликанов (ГАГ), который защищает уротелиоциты от агрессивных компонентов мочи. В зависимости от причин повреждения целостности данного слоя значительно отличается характер развития патологии органа. Именно поэтому, установление особенностей изменений ГАГ покрытия уротелия СМ крыс в условиях смоделированной действия солей тяжелых металлов (СВМ) на организм и коррекции их влияния с помощью витамина Е. Нами установлено, что в условиях применения СВМ происходят глубокие морфологические изменения состояния ГАГ покрытие, что влияет на увеличение его проницаемости. Применение витамина Е на фоне употребления тяжелых металлов способствует улучшению целостности протекторного слоя на поверхности эпителиоцитов. Нарушение герметичности ГАГ барьера зависит от продолжительности действия металлов-микроэлементов на организм с признаками его компенсаторного восстановления при пролонгации исследования.

Ключевые слова: гликозаминогликаны, мочевого пузырь, тяжелые металлы.

THE INFLUENCE OF THE HEAVY METALS SALTS ON THE GAG LAYER OF THE URINARY BLADDER OF THE RATS

Sikora V., Lyndin M., Moskalenko R., Romaniuk A.

Abstract. The study of the connection between the environmental pollution with the heavy metal salts (HMS) and the development of the various pathologies in the body is one of the important problems of our time. It has been proved that the urinary bladder (UB) is among those organs that are affected by the various exogenous factors, which damage its protective barriers, such as the glycosaminoglycan (GAG) layer that protects the urothelial cells from the aggressive urinate components. The nature of the pathologies in the organ varies considerably, depending on the causes of the damage of the layer integrity.

Thus, the object of the research is to study the features of the changes in the GAG layer of the UB urothelium of the rats under the simulated effect of the heavy metals salts on the body and correction of their influence with vitamin E.

The experimental study was carried out on the UB of the albino male rats that were given the HMS mixture (II group) and HMS with vitamin E (III group) during 30 and 90 days. Histological samples were stained with the alcian blue.

The results of our study demonstrate that deep damages and gaps in the GAG layer that broke its tightness appeared in the 2nd and 3rd series on the 30th day of the experiment. However, when the experiment was extended up to 90 days, the depth and the intensity of these abnormalities decreased due to the thickening of the GAG layer. It should be mentioned that the damages of the GAG layer in the UB of the III group were less expressed and had the signs of the rapid restoration of its integrity compared to the group without corrector.

The intake of HMS damages the integrity of the GAG layer. However, the additional application of vitamin E helps to reduce the harmful effect of the pollutants and improves the tightness of the protective layer. The consequences of these changes depend on the duration of the experiment and have the signs of the compensatory restoration of the GAG layer in the period of the research extension.

Key words: glycosaminoglycans, urinary bladder, heavy metals.

**Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.
Стаття надійшла 07.05.2018 року**