

bed vessels and endocrinocytes of the adrenal cortex and medulla. In the late period after the experimental thermal trauma (14-21 days of the experiment, which corresponds to the stage of late toxemia and septicotoxemia), irreversible destructive changes of all structural components, arteries, veins and hemocapillaries of the studied organ were noted. In further researches it is planned to investigate features of a structure of a microcirculatory bed and endocrinocytes of adrenal gland cortex and medulla at a thermal trauma and under the condition of correction.

Key words: adrenal gland; endocrinocytes; histological changes; thermal trauma.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 31.12.2020 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2021-1-159-224-230

УДК 616.61:591.3:546.48:612.6

*Нефьодова О. О., Азаров О. І., Гарець В. І., Кузнецова О. В.,
Житній М. І., Шевченко І. В., Мальчугін Р. К.*

ВПЛИВ СОЛЕЙ КАДМІЮ НА НЕФРОГЕНЕЗ У ЩУРІВ ПРИ ІЗОЛЬОВАНОМУ ВВЕДЕННІ ТА В КОМБІНАЦІЇ З ЦИТРАТАМИ МЕТАЛІВ

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

elenanefedova1803@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана відповідно до наукової теми кафедри анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії ДЗ «ДМА» «Морфофункціональні особливості органів і тканин під впливом зовнішніх та внутрішніх факторів», № державної реєстрації 0120U105219.

Вступ. На сьогодні сполуки кадмію і свинцю є основною часткою важких металів, що формують екологічну кризу планети. Україна – це країна з високим рівнем негативних екологічних наслідків виробничої діяльності, у зв'язку з чим проблема аналізу впливу навколишнього середовища на організм і піклування про стан здоров'я населення промислових регіонів потребує першочергового вирішення [1, 2, 3]. Найпоширенішими токсикантами промислових регіонів в Україні і у всьому світі є свинець, кадмій та їх сполуки, що широко застосовуються в металургійній, металообробній, машинобудівній, хімічній промисловості [4, 5, 6]. Вплив сполук кадмію призводить до серйозних негативних наслідків для здоров'я людини, які включають важкі захворювання репродуктивної системи, розвитку серцево-судинної системи, нирок і печінки [7, 8, 9]. У процесі обміну речовин в організмі людини і тварин утворюються кінцеві продукти, які, накопичуючись в організмі, здатні викликати його отруєння. У зв'язку з цим виведення їх є однією з фундаментальних і життєво важливих функцій організму, порушення якої веде до несумісних з життям наслідків. Основна частка цієї функції доводиться на сечову систему, яка, крім того, видаляє з організму надлишки води, солей та ксенобіотики.

Загальним механізмом в патогенезі захворювань нирок під впливом ксенобіотиків традиційно вважається пошкодження клубочків з подальшим зменшенням маси функціонуючої паренхіми нирок [10, 11, 12]. В той же час обов'язковим і провідним механізмом нефротоксичної дії важких металів, інших нефротропних сполук є ураження проксимальних каналців з пригніченням транспорту неорганічних і органічних речовин, води [13]. Але вплив солей кадмію на нефрогенез ембріонів при хронічній інтоксикації вагітних самиць є малодослідженою темою.

Тому **метою** представленого експериментального **дослідження** став аналіз результатів впливу солей

кадмію (хлориду/цитрату) на розвиток нирок ембріонів щура при хронічному впливі на вагітну самицю впродовж всього періоду вагітності.

Об'єкт і методи дослідження.

Для проведення досліджень обрано низькі дози солей кадмію, які можливо співставити з реальною концентрацією кадмію в добових раціонах людей, що проживають у промислових регіонах. В експерименті самиць щурів з датованим терміном вагітності розподілили на групи наступним чином: 1 – контрольна (кількість самиць n_s -16; кількість ембріонів n_e – 153); 2 – ізольоване введення хлориду кадмію в дозі 1,0 мг/кг маси тіла самиці (n_s -16; n_e – 127); 3 – ізольоване введення цитрату кадмію в дозі 1,0 мг/кг маси тіла самиці (n_s -16; n_e – 139); 4 – комбіноване введення хлориду кадмію в дозі 1,0 мг/кг + цитрат церію в дозі 1,3мг/кг (n_s -16; n_e – 146); 5 – комбіноване введення цитрату кадмію в дозі 1,0 мг/кг + цитрат церію в дозі 1,3мг/кг (n_s -16; n_e – 142); 6 – комбіноване введення кадмію хлориду в дозі 1,0 мг/кг та цитрату цинку в дозі 1,5 мг/кг (n_s -16; n_e – 148); 7 – комбіноване введення кадмію цитрату в дозі 1,0 мг/кг та цитрату цинку в дозі 1,5 мг/кг (n_s -16; n_e – 137); 8 – комбіноване введення кадмію хлориду в дозі 1,0 мг/кг та цитрату заліза в дозі 1,5 мг/кг (n_s -16; n_e – 149); 9 – комбіноване введення кадмію цитрату в дозі 1,0 мг/кг та цитрату заліза в дозі 1,5 мг/кг (n_s -16; n_e – 148).

Таким чином, окрім контрольної групи, були 2 групи ізольованого введення кадмію (хлориду/цитрату) та 6 груп комбінованого введення солей кадмію з цитратами металів (церій, цинк, залізо). Розчин хлориду кадмію мав іонну форму. В наших експериментальних моделях використовувались розчини цитратів кадмію, заліза, церію та цинку, отриманих за аквананотехнологічною методикою. На теперішній час цитратні форми біометалів досить широко використовуються в фармацевтичній галузі та харчовій промисловості, вони є безпечними, мають антиоксидантний і радіопротекторний вплив, чинять позитивну дію на імунну систему організму. Результати впливу досліджуваних речовин на ембріони оцінювали після евтаназії самиць під наркозом тіопенталу натрію на 13-й та 20-й день вагітності та на 10-ту добу постнатального розвитку щурят.

Дослідження гістологічних зрізів ембріонів 13-ї доби розвитку та нирок ембріонів 20-ї доби і щурят 10-ї доби постнатального періоду проводили після виготовлення серійних гістологічних препаратів за стандартними методиками [14]. Для забарвлення гістологічних зрізів нами використовувались оглядові барвники гематоксиліну. Метою світлової мікроскопії було виявлення на ранніх стадіях розвитку ембріонів порушень на гістологічному рівні структур нирок, що формуються після впливу важких металів та за умов корекції цитратами металів. Для отримання цифрових зображень з подальшим обчисленням розмірів структур використовувалася камера для світлової мікроскопії ZEISS AxioCam ERc 5s з адаптером P95-C 1/2» 0,5x, приєднана до мікроскопу Primo Star компанії ZEISS.

Для визначення можливої нефротоксичної дії досліджуваних агентів на гістологічних препаратах обраховували середні показники за наступними даними:

- маса нирок (мг), $M \pm m$;
- товщина кіркової речовини нирки (мкг), $M \pm m$;
- товщина мозкової речовини нирки (мкг), $M \pm m$;
- діаметр клубочки нефрону (мкм), $M \pm m$;
- площа клубочки нефрону, (мкм), $M \pm m$.

Визначення розмірів структур нирки плода проводили за допомогою програми ZEN 2.0, що є програмним забезпеченням для світлових мікроскопів серії Primo Star компанії ZEISS. Ми використовували програмні інструменти для вимірювання лінійних розмірів та сплайновий контур для обрахування площі клубочків нирки. Статистичну обробку отриманих даних проводили методом варіаційної статистики з використанням програми «Microsoft Excel». Достовірність відмінностей отриманих морфометричних параметрів визначали за допомогою критерію Стьюдента. Відмінності між групами вважалися достовірними при значенні $p < 0,05$.

При проведенні експериментальних досліджень ми дотримувались принципів Хельсінкської декларації, що була прийнята Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000 р.), Конвенції Ради Європи у правах людини та біомедицини (1997р.), відповідних положень ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983 р.), «Загальним етичним принципам експериментів над тваринами», що затверджені І Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.).

Результати дослідження та їх обговорення. Розвиток нирок щура починається на 10-11 добу ембріогенезу і триває після народження. Джерелом їх розвитку є проміжна мезодерма – нефротом. У зародка щура нефротом слабо сегментований тільки в головному і грудному відділах, а в каудальному відділі на сегменти не поділений зовсім. У розвитку нирок щура виділяють три стадії: пронефрос, мезонефрос, метанефрос, між якими визначаються проміжні стадії. Пронефрос є примітивним типом нирки, який функціонує як екскреторний орган лише у нижчих риб, починаючи з амфібій пронефрос після закладки швидко дегенерує, а його функцію приймає на себе мезонефрос. У зародків ссавців пронефрос не функціонує і редукується, але протонефрична протока, з'єднуючись з каналцями мезонефросу, пере-

ворюється на важливий зачаток – мезонефральну (Вольфову) протоку.

Наприкінці 12 доби і до початку 14 доби ембріогенезу щура з нефротому починає розвиватися первинна нирка – мезонефрос. З цих сегментів утворюються каналці метанефридії, які мають S-подібну форму. Одним (дорзальний) кінцем вони впадають в мезонефральну протоку, іншим, вентральним кінцем метанефридії формують капсулу, яка обростає судинними гілочками, що відходять від аорти, формуючи разом з ними ниркове тільце, завдяки яким починається фільтрація з плазми крові кінцевих продуктів обміну речовин. Мезонефрос функціонує протягом 3-4 днів, а потім редукується, проте в чоловічому організмі частина його каналців приймає участь в утворенні деяких структур яєчка і його придатка. У дорослому організмі як дефінітивний орган сечоутворення та сечовиділення мезонефрос існує тільки у представників вищих риб і амфібій. Метанефрос, або вторинна нирка, починає формуватися на 14-15-ту добу ембріогенезу щура. Вона утворюється з несегментованої частини нефротому – нефрогенної тканини – і мезонефральної протоки, утворюючи всі частини нефронів дефінітивної нирки. З мезонефральної протоки утворюється епітелій збірних протоків, сосочкових каналів, мисок, чашок, сечоводів.

На 13-й добі ембріогенезу щура нами проводилась фіксація ембріонів тотально та гістологічні зрізи для досліджень впливу кадмію на нефрогенез робились через всю черевну порожнину ембріону. Такі гістотопографічні зрізи дозволяли оцінити не тільки гістологічну будову нирок, що розвиваються, але і визначити можливі зсуви в розташуванні та структурі сечових органів ембріону.

На цей термін розвитку ми спостерігали залишки пронефросу ембріону та активний розвиток мезонефросу (**рис.1**). Мезонефрос є видільним органом впродовж раннього ембріогенезу, нами вимірювалася товщина мезонефросу, яка в контролі становила $186,50 \pm 13,74$ мкм. В групах впливу солями кадмію вже на ранніх етапах розвитку нирок, на стадії формування мезонефросу визначались зміни як в розвитку мезонефральних структур так і в самій нефрогенній тканині. Зміни в групах впливу хлоридом кадмію та цитратом кадмію були різноспрямовані.

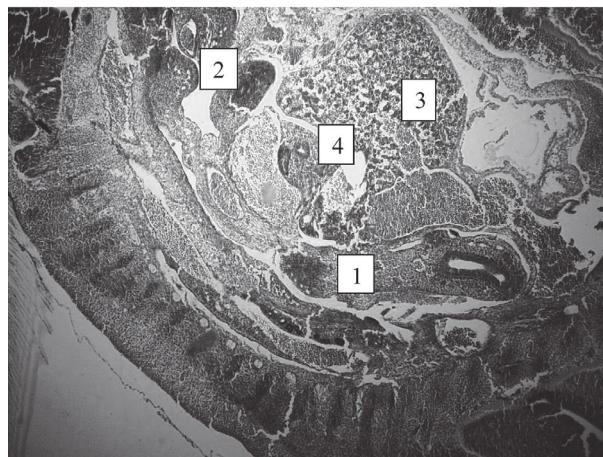


Рисунок 1 – Гістологічний зріз черевної порожнини ембріона щура 13-ї доби розвитку контрольної групи. Забарвлення: залізний гематоксилін. 36.10x4. Позначення: 1 – дорзальні соміти; 2 – аорта; 3 – печінка; 4 – мезонефрос.

При впливі хлоридом кадмію на вагітну самицю в нирках ембріонів 13-ї доби спостерігалось потовщення нефрогенного тяжку тканини до $248,68 \pm 26,31$ мкм та зменшення кількості метанефридій з розширенням їх діаметру. На цьому терміні нами також досліджувалась мезонефральна протока, яка в групі впливу хлоридом кадмію мала більш звивистий характер та локальні розширення.

В контрольній групі товщина протоки становила $29,54 \pm 1,16$ мкм, а при впливі кадмієм хлориду середнє значення товщини протоки збільшувалось до $38,76 \pm 2,44$ мкм. При впливі цитратом кадмію визначалось достовірне ($p \leq 0,05$) звуження мезонефральної протоки до $22,75 \pm 0,74$ мкм на тлі зменшення товщини самого мезонефросу до $139,94 \pm 14,12$ мкм. Таким чином, вплив солями кадмію не розвиток нирок ембріонів, що опосередковано отримували солі кадмію, був різним, незважаючи на однакові дози хлориду кадмію та цитрату кадмію. Вплив хлориду кадмію призводив до збільшення самого мезонефросу та мезонефральної протоки, а вплив цитратом кадмію знижував досліджувані показники. В групах комбінованого введення солей кадмію з цитратами заліза, цинку та церію нефротоксичні прояви кадмію на даному терміні достовірно знижувались, що проявлялось в відтворенні товщини мезонефросу та протоки до розмірів, що наближались до контрольних значень.

На 20-ту добу ембріогенезу ми спостерігали метанефрос як завершальний етап ембріонального розвитку нирки щура, визначали вагові показники нирок як результат впливу солей кадмію. В контрольній групі маса нирок ембріонів щура в середньому становила $9,88 \pm 0,43$ мг. В групі, що підлягала впливу хлориду кадмію даний показник становив $12,13 \pm 0,28$ мг, тобто вагові показники нирок зростали на $22,77\%$. При ізолюваному впливі цитратом кадмію маса нирок достовірно зменшувалась як у порівнянні до контрольних значень так і до групи впливу хлоридом кадмію і дорівнювала $7,98 \pm 0,41$ мг. Під час препарування ембріонів нирки не мали видимих вад топографії або розвитку (рис. 2).

Органи розміщувались ретроперітонеально, під діафрагмою на задній стінці черевної порожнини, на верхніх полюсах нирок розміщувались добре розвинені наднирники. Патології розвитку нирок візуального характеру в групах дослідження не визначалось. Сечоводи добре сформовані, впадають в сечовий міхур. Надалі нирки вилучали у ембріонів, зважували, фіксували та заливали в парапласт для

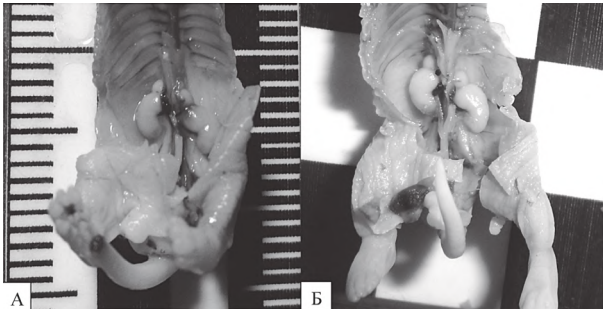


Рисунок 2 – Фото нирок ембріонів щура 20-ї доби ембріогенезу під час препарування. А – контрольна група, Б – група впливу хлоридом кадмію. Фото зроблено на лінійці та калібрувальній поверхні для співставлення розмірів (сторона калібрувального квадрату – 10 мм).

подальшого гістологічного дослідження. Гістологічні зрізи проводили в двох площинах: поперечній та поздовжній для дослідження як лінійних параметрів (діаметр клубочки) так і обрахування сплайнового контуру клубочки.

На 20-й добі ембріогенезу нирка щура не є повністю сформованим органом, її остаточне формування відбувається після народження. Але на цьому терміні розвитку нирки ембріонів несуть більшість ознак дефінітивного органу, при цьому топографічна особливість така, що права нирка розташована вище лівої (рис.2).

На гістологічних зрізах добре визначається паренхіматозна зональність нирок щура. Ззовні кожна нирка вкрита сполучнотканинною капсулою, від якої відходять у паренхіму сполучнотканинні волокна. Сама паренхіма складається з кіркового та мозкового шару, межа між якими не є рівною або чітко вираженою, на межі між цими речовинами зустрічаються дугові артерії (рис.3).

Нами проводились заміри товщини кіркової та мозкової речовини нирок ембріонів 20-ї доби в контролі та в групах впливу. В контрольній групі товщина кіркової речовини становила $312,49 \pm 19,05$ мкм, а мозкової – $811,56 \pm 9,13$ мкм. В групі впливу хлоридом кадмію аналогічні показники збільшувались, відповідно становили – кіркова речовина $418,75 \pm 18,48$ мкм, а мозкова – $927,89 \pm 21,13$ мкм. При впливі цитратом кадмію досліджувані показники демонстрували зменшення товщини мозкової речовини до $767,38 \pm 14,95$ мкм, в той час як кіркова речовина недостовірно перевищувала контрольні показники – $341,27 \pm 15,06$ мкм.

Таким чином, збільшення вагових показників органу в групі впливу хлоридом кадмію відбувались за рахунок збільшення товщини мозкової речовини та кіркового шару нирки ембріонів, в той час як при

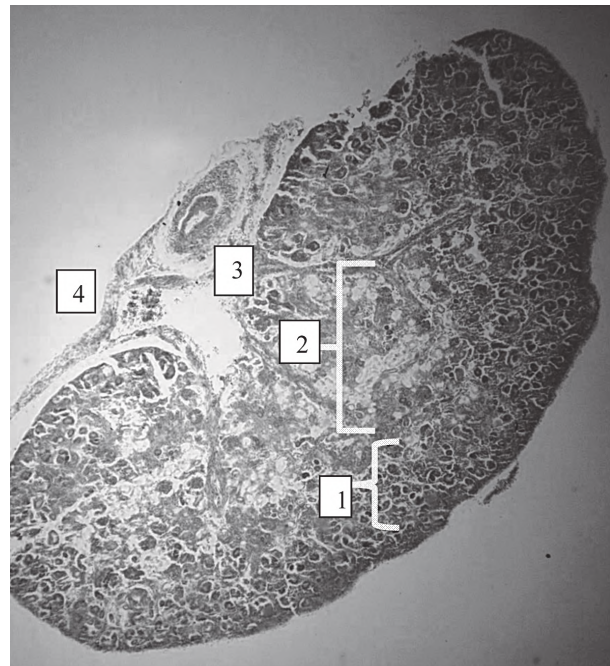


Рисунок 3 – Гістологічний поздовжній зріз нирки ембріона щура 20-ї доби розвитку контрольної групи. Забарвлення: гематоксилін Генденгайна. 36.4×10 . Позначення: 1 – кіркова речовина; 2 – мозкова речовина; 3 – ниркова лоханка; 4 – сечовід.

впливі цитратом кадмію показник товщини кіркової частини недостовірно збільшувався у порівнянні до контролю, а товщина мозкового шару недостовірно зменшувалась. Обрахування вище зазначених показників у вигляді співвідношення товщини мозкового шару до кіркового є наочним доказом ступеню порушення розвитку паренхіми нирок, що розвиваються. Обчислення вказаного співвідношення в контрольній групі становить – 2,59, в той час як вплив хлоридом кадмію зменшує співвідношення до 2,21, хоча маса нирки при цьому збільшується. При ізольованому введенні цитрату кадмію, незважаючи на зменшення середніх показників маси органу, співвідношення дорівнює – 2,26, тобто показник ближче до контрольних значень. Таким чином, отримані показники свідчать про різний ступінь потерпання нирок при впливі однаковими дозами різних солей кадмію. В групах комбінованого введення солей кадмію з цитратами досліджуваних металів визначалась наступна динаміка співвідношення. В групах комбінованого введення з хлоридом кадмію спостерігався найвищий ступінь відновлення зональності паренхіми нирки ембріона до 2,46 в групі з цитратом заліза, 2,42 – з цитратом церію та 2,37 з цитратом цинку. Тобто найвищими компенсаторними якостями нефротоксичності хлориду кадмію володіє цитрат заліза при комбінованому введенні в експерименті на щурах. В групах з комбінованого введення з цитратом кадмію найближчим до контролю став показник співвідношення шарів паренхіми нирок 20-ти денних ембріонів в групі з комбінацією цитратом церію – 2,44, а в групах з цитратом цинку та цитратом заліза даний показник сягав 2,39. Незважаючи на менший ступінь нефротоксичності цитрату кадмію, рівень компенсаторної реакції з досліджуваними біометалами був нижчий.

До складу кіркової речовини нирок входять наступні структури – ниркові тільця (тільця Мальпігі); проксимальні звивисті каналці всіх видів нефронів; дистальні звивисті відділи нефронів та компоненти юкстагломерулярного апарату. У мозковій речовині знаходяться: проксимальні прямі каналці; тонкі каналці (сегменти); дистальні прямі каналці та збірні протоки. З цих же структур складаються і мозкові промені. Ниркове тільце приймає участь у першій фазі сечоутворення – фільтрації первинної сечі, яка потім надходить в проксимальні каналці нефрону. В корі нирок ембріонів щура визначались наступні види нефронів, що вирізнялись за своєю топографією: суперфіціальні (поверхневі), кіркові (проміжні) та юкстамедулярні, що розташовувались в зовнішній зоні мозкової речовини нирок.

Капсула нефрона має вигляд двохстінної чаші, до якої входять капіляри первинної капілярної сітки та разом утворюють ниркове тільце (Мальпігієве тільце). В нирковому тільці виділяють два полюси: судинний та сечовий. Судинний полюс визначається в місці розташування приносячої та виносної артеріол, а сечовий полюс прилягає до початкового сегменту проксимального каналця. Первинна капілярна сітка утворюється між приносячою та виносною артеріолами і складається з петель, між яким знаходиться мезангій – сполучна тканина клубочку з особливими мезангіальними клітинами і міжклітинною речовиною. Мезангіальні клітини є багатофункціональними

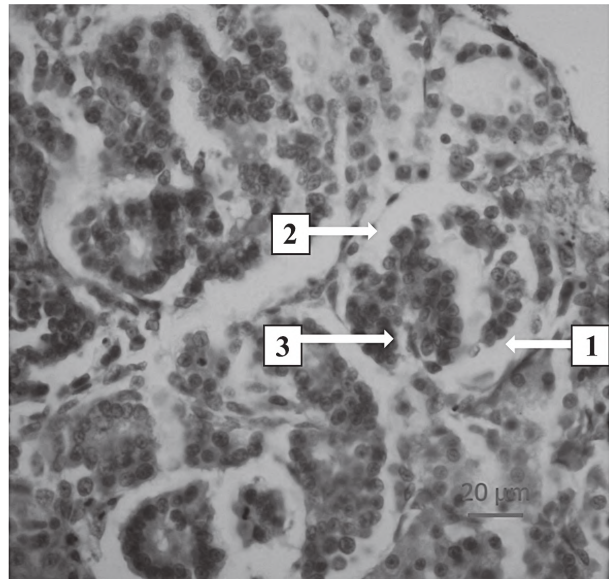


Рисунок 4 – Гістологічний зріз кіркової зони нирки ембріона щура 20-ї доби розвитку контрольної групи. Суперфіціальні нефрони. Забарвлення: гематоксилін Генденгайна. 36.40x10. Позначення: 1 – вісцеральний листок капсули ниркового тільця; 2 – парієтальний листок капсули ниркового тільця; 3 – судинний полюс з периполарними клітинами.

і виконують скоротливу функцію (зменшення площі поверхні первинної капілярної сітки під час фільтрації), фагоцитарну (фагоцитоз старих компонентів базальних мембран), синтетичну (біосинтез нових компонентів), ендокринну.

Сама капсула нефрона складається з двох листків: вісцерального внутрішнього, що вкриває судинний клубочок та складається з особливих клітин – подоцитів. Подоцити мають цитотрабекули та цитоподії, між якими містяться щілинні діафрагми – фільтраційні щілини. Таким чином подоцити виконують функцію фільтраційного бар'єру і приймають участь у фагоцитозі. Зовнішній парієтальний листок капсули нефрону утворюється плоскими епітеліоцитами, які в області судинного полюсу переходять у внутрішній листок. В зоні переходу зовнішнього листка капсули нефрону у внутрішній утворюється пасок з клітин, що мають секреторні гранули (периполарні клітини) для регуляції сечоутворення (**рис.4**).

Між листками нефрону знаходиться порожнина капсули, в яку надходить первинна сеча. Дана порожнина продовжується коло сечового полюсу в проксимальний каналець нефрону. Нами аналізувалися зміни як діаметру нефрону так і площі порожнини капсули нефрону в експериментальних групах. Як показали результати обрахувань середніх значень, в контролі діаметр нефрону становив $79,88 \pm 4,32$ мкм, а при впливі солей кадмію даний показник змінювався, а саме: вплив хлориду кадмію призводив до зменшення більш як у 2 рази діаметру нефрону до $38,33 \pm 5,14$ мкм. При впливі на вагітну самицю цитратом кадмію спостерігалось також зменшення діаметру нефрону ембріону, але в меншому ступені, а саме в 1,2 рази, що становило $63,14 \pm 4,57$ мкм.

Обрахування площі порожнини нефрону продемонструвало зниження у 2,6 разів середніх показників площі порожнини капсули нефрону в групі впливу хлоридом кадмію до $604,35 \pm 112,71$ мкм² по відношенню до контрольних середніх значень –

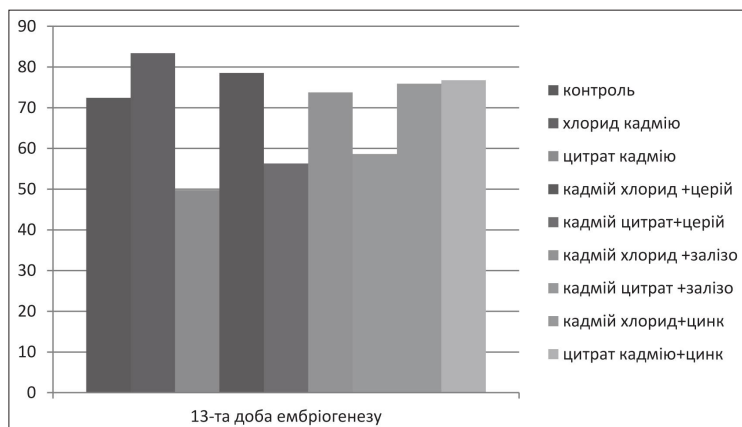


Рисунок 5 – Вагові показники середніх значень маси нирки щурят 10-ї доби постнатального розвитку контрольної та експериментальних груп.

1589,22±14,10 мкм², що свідчить про порушення нефрогенезу ембріонів при опосередкованому впливі досліджуваного чинника. При впливі цитратом кадмію також відмічалось зниження площі порожнини нефрону, але в 1,8 разів (882,01±14,48 мкм²), що свідчить про зменшення нефротоксичної дії цитрату кадмію у порівнянні до хлориду кадмію не зважаючи на тотожність дози впливу. В групах комбінованого введення кадмію з цитратами металів в експерименті визначались зсуви досліджуваних показників ближче до контрольних значень, що свідчить про модифікуючий вплив цитратів церію, цинку та заліза на нефротоксичність солей кадмію. Найвищий рівень модифікуючого впливу спостерігався в групі хлориду кадмію з цитратом заліза.

Дослідження морфологічних змін в нирках 10-ти денних щурят постнатального розвитку після припинення дії солей кадмію виявили різницю як на рівні вагових показників так і на рівні гістологічної будови нирки. Обрахування середніх значень вагових показників нирок щурят продемонструвало, що незважаючи на припинення впливу досліджуваних солей кадмію після народження зберігається тенденція, яка була визначена нами наприкінці ембріогенезу. В групі експериментальних тварин, що отримували хлорид кадмію маса нирок достовірно ($p < 0,05$) перевищувала контрольні показники, а в групі впливу цитратом кадмію маса нирок достовірно ($p < 0,05$) була меншою за контроль (рис.5). Таким чином, навіть після припинення введення солей кадмію, нирки проявляють порушення нефрогенезу до 10-ї доби постнатального розвитку при хронічній інтоксикації самиці під час вагітності.

Гістологічні дослідження нирок 10-ти денних щурят за досліджуваними параметрами (діаметр ниркового тільця, площа порожнини капсули нефрону) виявили наступне. Діаметр ниркового тільця в контролі становив 46,54±3,72 мкм, тобто ниркове тільце після народження зменшувалось у порівнянні до 20-ї доби ембріонального розвитку щура. В групі щурят, які під час вагітності самиці отримували хлорид кадмію, діаметр навпаки збільшувався ($p < 0,05$) і в середньому становив 59,86±7,13 мкм, а в групі впливу цитратом кадмію збільшення діаметру не мало достовірної різниці з контрольними показниками – 51,79±4,81 мкм.

Співставлення площі порожнини капсули ниркового тільця на даному терміні постнатального розвитку виявило наступну динаміку. Найбільша площа визначалась в групі впливу хлоридом кадмію і становила 654,37±19,18 мкм², що була достовірно більшою ($p < 0,01$) за контрольні показники – 490,24±17,12 мкм². В групі впливу цитрату кадмію досліджуваний показник становив 531,78±15,29 мкм², тобто не мав достовірної різниці з контролем. Отримані результати дозволяють зробити висновок про меншу нефротоксичну дію цитрату кадмію у порівнянні до хлориду кадмію при однакових дозах при хронічному експерименті на щурах.

Висновки.

1. На 13-й добі вплив солями кадмію не розвиток нирок ембріонів, що опосередковано отримували кадмій, був різноспрямований: вплив хлориду кадмію призводив до збільшення самого товщини мезонефросу та мезонефральної протоки, а вплив цитратом кадмію знижував досліджувані показники. В групах комбінованого введення показники товщини мезонефросу наближались до контрольних.

2. На 20-ту добу ембріогенезу щурів в групі, що підлягала впливу хлоридом кадмію вагові показники нирок зростали, а при ізолюваному впливі цитратом кадмію маса нирок достовірно зменшувалась ($p < 0,05$) як у порівнянні до контрольних значень так і до групи впливу хлоридом кадмію. В групах комбінованого введення кадмію з цитратами металів вагові показники нирок мали тенденцію до наближення до контрольних значень, що свідчить про компенсаторний вплив цитратів цинку, церію та заліза на токсичність солей кадмію. Вплив солями кадмію призводив до зміни товщини кіркової та мозкової речовини нирок ембріонів 20-ї доби. Вплив хлоридом збільшував розміри: кіркової та мозкової речовини, в той час як введення цитрату кадмію зменшувало товщину мозкової речовини, а кіркова речовина недостовірно перевищувала контрольні показники.

3. Вплив солей кадмію призводив до зменшення діаметру ниркового тільця та площі порожнини капсули нефронів, але за досліджуваними параметрами нефрогенезу визначено менший рівень нефротоксичної цитрату кадмію у порівнянні до хлориду кадмію не зважаючи на тотожність дози впливу. В групах комбінованого введення кадмію з цитратами церію, цинку та заліза визначалось зменшення нефротоксичного впливу кадмію на досліджувані показники, що дозволяє розглядати цитрати металів як біоантогоністи кадмію в зазначених дозах в експерименті на щурах.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним, на наш погляд, є вивчення морфологічних змін в нирках щурів під впливом сполук кадмію з цитратами металів з використанням імуногістохімічних маркерів для визначення перебігу базових гістогенетичних процесів.

Література

1. Shevchuk YUD, Shevchuk SM, Sviderko BD. Do pytannya ekolohichnoyi sytuatsiyi pry tekhnohennomu navantazhenni v umovakh L'vivs'koyi oblasti. *Visn. aharnoyinauky*. 2001;7:112-4. [in Ukrainian]
2. Bernhoft RA. Cadmium toxicity and treatment. *Scientif. World J*. 2013;4:1-7.
3. Gheorghescu AK, Tywoniuk B, Duess J, Buchete NV, Thompson J. Exposure of chick embryos to cadmium changes the extra-embryonic vascular branching pattern and alters expression of VEGF-A and VEGF-R2. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2015;289:79-88.
4. Geng HX, Wang L. Cadmium: Toxic effects on placental and embryonic development. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2019;67:102-7.
5. Avtsyn AP, Zhavoronkov AA, Rysh MA, Strochkova LS. *Микроэлементы человека: этиология, классификация, орханопатология*. М.: Медицина; 1991. 496 с. [in Russian]
6. Oberly D, Skal'nyy AV, Skal'naya MH. *Патологическая микрохимия*. Патология. 2016;14(2):20-7. [in Russian]
7. Pykhteyeva OH, Potapov YEA, Bol'shoy DV. Zalezhnist' vyzhyvanosti laboratornykh tvaryn pry diyi spolkuzhkykh metaliv vid poperedn'oy i induktsiyi metalotoneynu. *Akt. probl. transportnoyi medycyny*. 2013;2(32,2):77-80. [in Ukrainian]
8. Shatomayaya VF, LynnykVA, KaplunenkovH, SavenkovaEA, ChekmanYS. *Морфологическое исследование влияния некоторых микроэлементов на репродуктивную систему у эмбрионов*. *Микроэлементы в медицине*. 2014;15(1):34-9. [in Russian]
9. Tutel'yan VA, Spyrtychev VB, Sukhanov BP, Kudashva VA. *Микроэлементы в питании здорового и больного человека*. М.: Колос; 2002. 423 с. [in Russian]
10. Hozhenko AY, Dolomator SY, Romanyv LV. Znachenye vozrastnykh osobennostey v reaksyyi pochek krysa na odнократное vvedenye dykhlorida kadmyya. *Bukov. med. visnyk*. 2003;7(1-2):27-31. [in Russian]
11. Hozhenko AY. *Патология токсических нефропатий*. *Aktual. probl. transportnoyi medycyny*. 2006;2:9-15. [in Ukrainian]
12. Karchauskas VYU, Kotyuzhynskaya S-H. *О нефротоксических эффектах различных доз хлорида кадмия*. *Akt. probl. transportnoyi medycyny*. 2006;2:47-9. [in Russian]
13. Vozianov OF, Fedoruk OS, Hozhenko AI. *Hostra nyrkova nedostatnist'*. Odesa: Odes. derzh. med. un-t; 2003. 376 s. [in Ukrainian]
14. Bilash SM, Pronina OM, Koptev MM. *Comprehensive morphological studies as an intergal part of modern medical science. Literature review*. *Visnyk problem biolohiyi i medycyny*. 2019;2,2(151):20-3. DOI: 10.29254/2077-4214-2019-2-2-151-20-23

ВПЛИВ СОЛЕЙ КАДМІЮ НА НЕФРОГЕНЕЗ У ЩУРІВ ПРИ ІЗОЛЬОВАНОМУ ВВЕДЕННІ ТА В КОМБІНАЦІЇ З ЦИТРАТАМИ МЕТАЛІВ**Нефьодова О. О., Азаров О. І., Гарець В. І., Кузнецова О. В., Житній М. І., Шевченко І. В., Мальчугін Р. К.**

Резюме. Метою представлено експериментального дослідження є аналіз результатів хронічного впливу солей кадмію (хлориду/цитрату) на розвиток нирок ембріонів щура при внутрішньошлунковому введенні самицям впродовж всього періоду вагітності.

Окрім контрольної групи, були 2 групи ізольованого введення кадмію (хлориду/цитрату) в дозі 1,0 мг/кг маси тіла самиці та 6 груп комбінованого введення солей кадмію з цитратами металів: церію, цинку, заліза. Досліджувані розчини вводили вагітним самицям, починаючи з першого дня вагітності, щоденно внутрішньошлунково. Результати впливу досліджуваних речовин на ембріони оцінювали після евтаназії самиць під наркозом тіопенталу натрію на 13-й та 20-й день вагітності та на 10-ту добу постнатального розвитку щурят. Аналіз впливу солями кадмію на розвиток нирок 13-ти денних ембріонів, показав що, незважаючи на однакові дози хлориду кадмію та цитрату кадмію зміни нефрогенезу були виразно різноспрямованими. Вплив хлориду кадмію призводив до збільшення мезонефросу та мезонефральної протоки, а вплив цитратом кадмію знижував досліджувані показники. В групах комбінованого введення солей кадмію з цитратами заліза, цинку та церію нефротоксичні прояви кадмію на даному терміні достовірно знижувались, що проявлялось в відтворенні товщини мезонефросу та протоки до розмірів, що наближались до контрольних значень.

Вплив солей кадмію призводив до зменшення діаметру ниркового тільця та площі порожнини капсули нефронів, але за досліджуваними параметрами нефрогенезу визначено менший рівень нефротоксичної цитрату кадмію у порівнянні до хлориду. В групах комбінованого введення кадмію з цитратами церію, цинку та заліза визначалось зменшення нефротоксичного впливу кадмію на досліджувані показники, що дозволяє розглядати цитрати металів як біоантогоністи кадмію в зазначених дозах в експерименті на щурах.

Ключові слова: ембріон щура, нирки, кадмій, цитрат заліза, цитрат цинку, цитрат церію.

EFFECT OF CADMIUM SALTS ON NEPHROGENESIS IN RATS IN ISOLATED INTRODUCTION AND IN COMBINATION WITH METAL CITRATES**Nefodova O. O., Azarov O. I., Harets V. I., Kuznetsova O. V., Zhitniy M. I., Shevchenko I. V. Malchuhin R. K.**

Abstract. Exposure to cadmium compounds leads of serious adverse effects on human health, which include severe diseases of the reproductive system, the development of the cardiovascular system, kidneys and liver. In the process of metabolism in humans and animals, final products are formed, which, accumulating in the body, can cause poisoning. In this regard, their removal is one of the fundamental and vital functions of the body, violation of which leads to incompatible with life consequences. The main part of this function is accounted for by the urinary system, which, in addition, removes excess water, salts and xenobiotics from the body.

The purpose of the presented experimental study is an analysis of the results of chronic effects of cadmium salts (chloride/citrate) on the development of the kidneys of rat embryos when administered intragastrically to females throughout pregnancy.

In addition to the control group, there were 2 groups of isolated administration of cadmium (chloride/citrate) at a dose of 1.0 mg/kg of body weight of the female and 6 groups of combined administration of cadmium salts with metal citrates: cerium (1.3 mg/kg), zinc (1.5 mg/kg), iron (1.5 mg/kg). The cadmium chloride solution had an ionic form. In our experimental models we used solutions of cadmium, iron, cerium and zinc citrates obtained by aquananochemical methods. The test solutions were administered to pregnant females from the first day of pregnancy daily intragastrically (by probing). The results of the effect of the studied substances on embryos were evaluated after euthanasia of females under anesthesia of sodium thiopental on the 13th and 20th day of pregnancy and on the 10th day of postnatal development of rats. The kidneys of embryos and rats were subjected to histological

examination. A ZEISS Axiocam ERc 5s light microscopy camera with a P95-C 1/2 «0.5x adapter connected to a ZEISS Primo Star microscope was used to obtain digital images and then calculate the dimensions of the structures. To determine the possible nephrotoxic effect of the test agents on histological specimens, the average values were calculated according to the following data: renal mass (mg), $M \pm m$; the thickness of the renal cortex (μg), $M \pm m$; the thickness of the cerebral substance of the kidney (μg), $M \pm m$; diameter of the glomerulus of the nephron (μm), $M \pm m$; the area of the glomerulus of the nephron, (μm), $M \pm m$.

Analysis of the effect of cadmium salts on the development of the kidneys of 13-day-old embryos showed that, despite the same doses of cadmium chloride and cadmium citrate, the changes in nephrogenesis were clearly different. Exposure to cadmium chloride led to an increase in mesonephros and mesonephric duct, and exposure to cadmium citrate reduced the studied parameters. In the groups of combined administration of cadmium salts with iron, zinc and cerium citrates, the nephrotoxic manifestations of cadmium at this time were significantly reduced, which was manifested in the reproduction of mesonephros and duct thickness to sizes close to control values.

Examining the renal parenchymal zonation of 20-day-old embryos, we calculated the ratio of the cerebral cortex (thickness, μm) to the cortical to exclude errors associated with changes in weight in the experimental groups. It is proved that the increase in body weight in the group exposed to cadmium chloride was due to an increase in the thickness of the brain substance and the cortical layer of the kidney embryos, while when exposed to cadmium citrate, the thickness of the cortical part increased insignificantly compared to the control, and the thickness of the cerebral layer decreased insignificantly. The calculation of the above indicators in the form of the ratio of the thickness of the cerebral layer to the cortical is a clear proof of the degree of developmental disorders of the developing parenchyma of the developing kidneys. The calculation of this ratio in the control group is – 2.59, while the effect of cadmium chloride reduces the ratio to 2.21, although the weight of the kidney increases. At isolated introduction of cadmium citrate, despite decrease in average indicators of weight of body, the ratio is equal – 2.26, that is the indicator is closer to control values. Thus, the obtained indicators indicate a different degree of kidney damage when exposed to the same doses of different cadmium salts. The following dynamics of the ratio was determined in the groups of combined introduction of cadmium salts with citrates of the investigated metals. In the groups of combined administration with cadmium chloride, the highest degree of restoration of zonation of the embryonic kidney parenchyma was observed to 2.46 in the group with iron citrate, 2.42 – with cerium citrate and 2.37 with zinc citrate. That is, the highest compensatory qualities of nephrotoxicity of cadmium chloride has iron citrate when combined in an experiment on rats. In the groups of combined administration with cadmium citrate the closest to the control was the ratio of the layers of the renal parenchyma of 20-day-old embryos in the group with a combination of cerium citrate – 2.44, and in the groups with zinc citrate and iron citrate this figure reached 2.39. Despite the lower degree of nephrotoxicity of cadmium citrate, the level of compensatory reaction with the studied biometals was lower.

The effect of cadmium salts led to a decrease in the diameter of the renal corpuscle and the area of the cavity of the capsule of the nephrons, but the studied parameters of nephrogenesis determined a lower level of nephrotoxic cadmium citrate compared to cadmium chloride, despite the identity of the dose of exposure. In the groups of combined administration of cadmium with cerium, zinc and iron citrates, a decrease in the nephrotoxic effect of cadmium on the studied parameters was determined, which allows us to consider metal citrates as bioantagonists of cadmium in these doses in an experiment on rats.

Key words: rat embryo, kidney, cadmium, iron citrate, zinc citrate, cerium citrate.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 17.12.2020 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2021-1-159-230-235

УДК 616.36-008:546.48:591.3

Нефьодова О. О., Білишко Д. В., Шевченко І. В., Гарець В. І., Острецова С. С., Гальперін О. І.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ХРОНІЧНОГО ВПЛИВУ СОЛЕЙ КАДМІЮ НА ГЕПАТОГЕНЕЗ ЩУРІВ

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

elenanefedova1803@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана відповідно до теми «Морфофункціональні особливості органів і тканин під впливом зовнішніх та внутрішніх факторів», № державної реєстрації 0120U105219.

Вступ. Потужне антропогенне забруднення змінило основні процеси регулювання і метаболізму екосистем. Дуже важливою проблемою є те, що прогресуюче збільшення викидів екоотоксикантів значною мірою перевищує природні можливості навколишнього середовища до самоочищення. Забруднення навколишнього середовища важкими

металами носить антропогенний характер і обумовлено активною діяльністю людини. Діяльність промислових підприємств, що призводить до потужного викиду в навколишнє середовище важких металів, згодом призводить до осідання ксенобіотиків на поверхні землі, в безпосередній близькості від джерела забруднення [1, 2]. Внаслідок цього, концентрація металів на прилеглих територіях до промислових підприємств, значно перевищує гранично допустимі дози. Рівень їх високої токсичності залежить від того, що вони мають здатність накопичуватися в організмі, не піддаються хімічному розкладанню, втручаються