

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця

на правах рукопису

**ГРУЗД ВЛАДИСЛАВА ВОЛОДИМИРІВНА**

УДК: 611.631:546.48'31:616-092.9-091.8-08(043.3/.5)

## **ДИСЕРТАЦІЯ**

**«ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ЯЄЧОК ЩУРІВ ЗА  
УМОВ ХРОНІЧНОГО ВПЛИВУ ХЛОРИДУ КАДМІЮ ТА КОРЕКЦІЇ  
СУКЦИНАТАМИ ЗАЛІЗА І ЦИНКУ  
(АНАТОМО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)»**

дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії  
галузь знань – 22 «охорона здоров'я»,  
спеціальність – 222 «медицина»

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело  
\_\_\_\_\_ В.В.Грузд

Науковий керівник - Нефьодова Олена Олександрівна, доктор медичних  
наук, професор

*Дніпро – 2024*

## АНОТАЦІЯ

*Грузд В.В.* «Особливості структурної організації яєчок щурів за умов хронічного впливу хлориду кадмію та корекції сукцинатами заліза і цинку (анатомо-експериментальне дослідження)» — кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з медицини ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, м. Дніпро, 2024.

Дисертація є завершеною кваліфікаційною науковою роботою, виконаною на сучасному методичному рівні, в якій вирішено актуальне наукове завдання - визначення морфологічних змін яєчок щурів в експерименті під впливом кадмію хлориду та за умов корекції сукцинатами цинку/заліза та визначення рівня накопичення кадмію при хронічному ізольованому впливі хлориду кадмію та в комбінації з сукцинатами металів. За результатами поліелементного аналізу порівнювали вміст кадмію, цинку та заліза в яєчках та визначали взаємозв'язок між рівнем накопичення статевою залозою кадмію, заліза та цинку та морфологічними змінами структур паренхіми яєчка за умов ізольованого введення хлориду кадмію, та комбінованого впливу кадмію з сукцинатом цинку або заліза для виявлення потенційних біоантагоністичних властивостей сукцинатів металів щодо гонадотоксичності хлориду кадмію в експерименті.

Експериментальне дослідження проведено на білих статевозрілих дорослих самцях щурів, введення розчинів проводили внутрішньошлунково щоденно впродовж 30-ти діб. Морфологічним матеріалом дослідження було яєчко щурів на 14-ту, 20-ту і 30-ту добу експерименту. Застосування гістологічних, морфометричних та статистичних методів дозволило дослідити зміни морфогенезу яєчка щурів після хронічного впливу хлориду кадмію при ізольованому введенні та при комбінованому введенні кадмію з сукцинатом цинку, або сукцинатом заліза. Визначення і порівняння рівня накопичення кадмію, цинку та кальцію в статевій залозі проводилось з

використанням методу поліелементного аналізу з атомною емісією на трьох термінах, що дозволило виявити динаміку змін накопичення мікроелементів в умовах експерименту.

Аналіз та порівняння результатів накопичення мікроелементів статевою залозою самців щурів групи впливу хлоридом кадмію та в групах комбінованого впливу виявили зміни мікроелементного складу органу за вмістом усіх досліджуваних металів – кадмію, цинку та заліза. Ізольоване внутрішньошлункове щоденне введення щурам розчину кадмію хлориду у дозі 2,0 мг/кг призводило до накопичення кадмію в яєчках дослідних тварин на трьох досліджуваних термінах порівняно з контролем. Комбіноване введення аналогічної дози кадмію з сукцинатами цинку або заліза призводило до достовірного зниження рівня накопичення кадмію статевою залозою порівняно з групою ізольованого впливу. Сукцинат цинку та сукцинат заліза проявляють біоантагоністичні властивості щодо накопичення кадмію в яєчках тварин при їх комбінованому введенні в зазначених дозах в експерименті на щурах.

Експериментально доведено, що хронічний вплив хлориду кадмію викликає достовірне підвищення масометричних показників яєчка дослідних тварин на 12-13% порівняно з контролем на всіх термінах дослідження. Обрахування індексу маси яєчка продемонструвало, що при ізольованому введенні кадмію на всіх досліджуваних термінах цей показник у 1,4 рази перевищував значення контрольної групи. Експериментальні дані підтверджуються результатами кореляційного та регресійного аналізів, які свідчать, що морфологічні зміни статевих залоз експериментальних тварин – потовщення сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка та збільшення діаметра звивистих каналців тісно пов'язані з рівнем накопичення кадмію в органах репродуктивної системи дослідних щурів. Зокрема, встановлено наявність прямого, сильного кореляційного зв'язку між накопиченням кадмію (мкг/г) на 14-ту, 20-ту, 30-ту добу експерименту та товщиною (мкм) сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка

( $r=0,72 - r=0,92$ ;  $p<0,05$ ), діаметром (мкм) звивистих каналців яєчка щурів ( $r=0,89 - r=0,94$ ;  $p<0,05$ ). Побудовані нами математичні моделі дають можливість прогнозувати ймовірність виникнення морфологічних змін у яєчках щурів на різних термінах залежно від рівня накопичення кадмію статевою залозою.

Введення сукцинату заліза знижує негативний вплив хлориду кадмію на вагові показники яєчка щурів. Індекс маси яєчка на 30-ту добу експерименту в групі комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатом заліза становив 0,64 (група ізольованого впливу кадмієм – 0,72). Комбіноване введення хлориду кадмію з сукцинатом цинку з 14-тої доби експерименту суттєво і стабільно знижує показник індексу маси яєчка до кінця експерименту (0,54), наближаючи показник до контрольних значень (0,52). При комбінованому введенні хлориду кадмію з сукцинатами біометалів показники довжини та товщини яєчка також наближались до значень контрольної групи.

Хронічний вплив хлориду кадмію призводив до достовірного потовщення білкової оболонки яєчка щурів, її розшарування та збільшення діаметра кровоносних судин і високого рівня кровонаповнення. На 30-ту добу експерименту в групі комбінованого впливу кадмію з сукцинатом заліза показник товщини білкової оболонки яєчка відновлювався до  $54,12 \pm 3,44$  мкм та наближався до контрольних значень ( $50,24 \pm 3,87$  мкм), що було достовірно нижче за групу ізольованого введення хлориду кадмію -  $59,22 \pm 3,21$  мкм. У групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку товщина білкової оболонки яєчка наприкінці експерименту не мала достовірної різниці з контролем і становила  $51,47 \pm 3,19$  мкм. Таким чином, визначався позитивний вплив сукцинату заліза та сукцинату цинку на показники гістологічних структур яєчка щурів при комбінованому введенні з хлоридом кадмію. В обох групах комбінованого введення зберігалось збільшення діаметра кровоносних судин і високого рівня кровонаповнення в паренхімі яєчка щурів.

Вплив хлориду кадмію на всіх термінах дослідження призводив до зростання середніх показників діаметра сім'яних трубочок яєчка від 13% до 15% порівняно з контролем, ( $p=0,05$ ) та значного набряку інтерстиціального простору строми яєчка в хронічному експерименті на щурах. Не зважаючи на зростання середніх показників діаметра сім'яних трубочок яєчка в групі ізольованого впливу хлоридом кадмію ( $348,29 \pm 21,61$  мкм), при комбінованому введенні з сукцинатом заліза ( $324,74 \pm 18,92$  мкм) та сукцинатом цинку ( $308,13 \pm 15,41$  мкм) визначалось відновлення досліджуваних параметрів гістологічної будови яєчка у напрямку контрольних показників ( $301,71 \pm 15,81$  мкм). На гістологічних зрізах паренхіми яєчка в групах комбінованого введення не визначався набряк інтерстиціального простору строми яєчка та витончення внутрішнього шару оболонки трубочки, які визначались при ізольованому впливі хлоридом кадмію в експерименті на щурах.

Таким чином, експериментально доведено, що сукцинат заліза та сукцинат цинку мають позитивний модифікуючий вплив по відношенню до гонадотоксичності хлориду кадмію при комбінованому введенні в зазначених дозах в експерименті на щурах.

Проведений порівняльний аналіз довів, що сукцинат цинку та сукцинат заліза мають біоантагоністичні властивості по відношенню до гонадотоксичності хлориду кадмію. Сукцинат цинку має більш виражені біоантагоністичні властивості порівняно з сукцинатом заліза за дослідженими параметрами масометричних показників, гістологічної будови та мікроелементного складу яєчок щурів в експериментальних умовах.

**Ключові слова:** щури, експеримент, важкі метали, хлорид кадмію, статева система, яєчко, промислова територія, інтоксикація, мікроелементи, кадмій, цинк, залізо, морфометрія, накопичення.

## ANNOTATION

*Gruzd V.V.* "Morphological features of the structural organization of rat testicles under conditions of chronic exposure to cadmium chloride and correction with iron and zinc succinates (anatomical-experimental study)" – qualifying scientific work with manuscript rights.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in Medicine DNIPRO STATE MEDICAL UNIVERSITY, Dnipro, 2024.

The dissertation is a completed qualifying scientific work, performed at the modern methodological level, in which the actual scientific task is solved - the determination of morphological changes in the testicles of rats in an experiment under the influence of cadmium chloride and under the conditions of correction with zinc/iron succinates and the determination of the level of cadmium accumulation in chronic isolated exposure to cadmium chloride and in combination with metal succinates. According to the results of polyelement analysis, the content of cadmium, zinc and iron in the testes was compared and the relationship between the level of accumulation of cadmium, iron and zinc by the gonad and morphological changes in the structures of the testis parenchyma under conditions of isolated administration of cadmium chloride and combined exposure to cadmium with zinc or iron succinate was determined to reveal the potential bioantagonistic properties of metal succinates in relation to the gonadotoxicity of cadmium chloride in an experiment.

The experimental study was carried out on white sexually mature adult male rats, the solutions were administered intragastrically daily for 30 days. The morphological material of the study was the testicle of rats on the 14th, 20th and 30th days of the experiment. The use of histological, morphometric and statistical methods made it possible to study the changes in the morphogenesis of the rat testis after chronic exposure to cadmium chloride in isolated administration and in

the combined administration of cadmium with zinc succinate or iron succinate. Determination and comparison of the level of accumulation of cadmium, zinc and calcium in the gonad was carried out using the method of polyelement analysis with atomic emission on three terms, which made it possible to reveal the dynamics of changes in the accumulation of microelements under experimental conditions.

Analysis and comparison of the results of the accumulation of microelements in the gonads of male rats in the group exposed to cadmium chloride and in the groups of combined exposure revealed changes in the microelement composition of the organ in terms of the content of all studied metals - cadmium, zinc, and iron. Isolated intragastric daily administration of cadmium chloride solution to rats at a dose of 2.0 mg/kg led to the accumulation of cadmium in the testicles of the experimental animals at the three time points compared to the control. The combined administration of a similar dose of cadmium with zinc or iron succinates led to a significant decrease in the level of cadmium accumulation in the gonad compared to the isolated exposure group. Zinc succinate and iron succinate show bioantagonistic properties in relation to the accumulation of cadmium in the testicles of animals when they are combined in the indicated doses in an experiment on rats.

It has been experimentally proven that chronic exposure to cadmium chloride causes a significant increase in massometric indicators of the testicles of experimental animals by 12-13% compared to the control at all times of the study. Calculation of the testis mass index showed that with the isolated introduction of cadmium, this indicator was 1.4 times higher than the value of the control group at all studied periods. The experimental data are confirmed by the results of the correlation analysis, which shows that the morphological changes of the gonads of the experimental animals - the thickening of the connective tissue membrane of the lateral surface of the testis and the increase in the diameter of the convoluted tubules are closely related to the level of cadmium accumulation in the organs of the reproductive system of the experimental rats. In particular, a direct, strong

correlation was established between the accumulation of cadmium ( $\mu\text{g/g}$ ) on the 14th, 20th, and 30th days of the experiment and the thickness ( $\mu\text{m}$ ) of the connective tissue membrane of the lateral surface of the testicle ( $r=0.72 - r=0.92$ ;  $p<0.05$ ), the diameter ( $\mu\text{m}$ ) of convoluted tubules of rats ( $r=0.89 - r=0.94$ ;  $p<0.05$ ).

The introduction of iron succinate reduces the negative effect of cadmium chloride on weight parameters of the testis of rats. The testicular mass index on the 30th day of the experiment in the group of combined administration of cadmium chloride with iron succinate was 0.64 (group of isolated exposure to cadmium – 0.72). The combined administration of cadmium chloride with zinc succinate from the 14th day of the experiment significantly and stably reduces the testicle mass index until the end of the experiment (0.54), bringing the indicator closer to the control values (0.52). With the combined administration of cadmium chloride with succinates of biometals, the length and thickness of the testis also approached the values of the control group.

Chronic exposure to cadmium chloride led to a significant thickening of the protein membrane of the rat testis, its stratification and an increase in the diameter of blood vessels and a high level of blood filling. On the 30th day of the experiment, in the group of combined exposure to cadmium with iron succinate, the index of the thickness of the testicular protein membrane was restored to  $54.12\pm 3.44 \mu\text{m}$  and approached the control values ( $50.24\pm 3.87 \mu\text{m}$ ), which was significantly lower than in the group isolated introduction of cadmium chloride -  $59.22\pm 3.21 \mu\text{m}$ . In the group of combined administration of cadmium with zinc succinate, the thickness of the protein membrane of the testis at the end of the experiment had no significant difference from the control and was  $51.47\pm 3.19 \mu\text{m}$ . Thus, the positive effect of iron succinate and zinc succinate on the indicators of the histological structures of the testis of rats when combined with cadmium chloride was determined. In both groups of combined administration, an increase in the diameter of blood vessels and a high level of blood filling in the parenchyma of the testis of rats remained.



Exposure to cadmium chloride at all time points of the study led to an increase in the average diameter of the seminiferous tubules of the testis from 13% to 15% compared to the control, ( $p=0.05$ ) and significant swelling of the interstitial space of the testis stroma in a chronic experiment on rats. Despite the increase in the average diameter of the testicular seminiferous tubules in the group exposed to cadmium chloride alone ( $348.29\pm 21.61 \mu\text{m}$ ), when combined with iron succinate ( $324.74\pm 18.92 \mu\text{m}$ ) and zinc succinate ( $308.13\pm 15.41 \mu\text{m}$ ) the restoration of the studied parameters of the histological structure of the testis in the direction of the control indicators ( $301.71\pm 15.81 \mu\text{m}$ ) was determined. On the histological sections of the testicular parenchyma in the groups of combined administration, swelling of the interstitial space of the testicular stroma and thinning of the inner layer of the tubule shell, which were determined during isolated exposure to cadmium chloride in the experiment on rats, were not determined.

Thus, it has been experimentally proven that iron succinate and zinc succinate have a positive modifying effect in relation to the gonadotoxicity of cadmium chloride when administered in the indicated doses in an experiment on rats.

The conducted comparative analysis proved that zinc succinate and iron succinate have bioantagonistic properties in relation to the gonadotoxicity of cadmium chloride. Zinc succinate has more pronounced bioantagonistic properties compared to iron succinate according to the studied parameters of massometric indicators, histological structure and microelement composition of testicles of rats under experimental conditions.

**Key words:** rats, experiment, heavy metals, cadmium chloride, reproductive system, testicle, industrial territory, intoxication, trace elements, cadmium, zinc, iron, morphometry, accumulation.

## Список публікацій за темою дисертації

1. Нефьодова ОО, Грузд ВВ, Гальперин ОІ, Бойко ОВ. Кадмій-індуковані зміни яєчок: актуальний погляд на сучасний стан проблеми. Вісник проблем біології та медицини. 2021;1 (159): 297-301. *(Особистий внесок –аналіз наукової літератури, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті).*
2. Vlada Gruzd, Hanna Frolova, Zoya Alekseyenko Testicular changes under the influence of cadmium in combination with metal succinates: modern view of the problem (literature review). Modern Science - Moderni veda. 2021; 3:108-115. *(Особистий внесок –аналіз даних експериментальних робіт у науковій літературі, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті).*
3. Нефьодова ОО, Грузд ВВ. Зміни мікроелементного складу статевих залоз самців щурів під впливом кадмієвої інтоксикації та коректорів за даними поліелементного аналізу. Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2023; 15(33): 1192-1204. *(Особистий внесок –аналіз отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті).*
4. Nefodova ОО, Hruzd VV. [Experimental study of the dynamics of morphological changes in the rat testum under chronic influence of cadmium chloride]. Morphologia. 2023;17(4):34-40. Ukrainian. *(Особистий внесок – організація та проведення експериментальної частини, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)*
5. . Нефьодова ОО, Грузд ВВ. Експериментальний аналіз комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатами цинку та заліза на морфогенез яєчка щура // Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2024; 4(38): 1363-1375. *(Особистий внесок – організація та проведення гістологічного дослідження, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)*

6. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Вивчення кадмієвої інтоксикації статевих залоз самців щурів під впливом коректорів за даними поліелементного аналізу. Abstracts of XIII International Scientific and Practical Conference. Madrid, Spain. Pp. 209-210. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/modern-ways-of-development-of-science-and-the-latest-theories/> (*Особистий внесок – проведення гістологічного та біохімічного дослідження, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті*)
7. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Експериментальний аналіз змін мікроелементного складу статевих залоз самців щурів під впливом інтоксикації кадмієм та його коректорів. Abstracts of XIV International Scientific and Practical Conference. Prague, Czech Republic. Pp. 146-150. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/people-and-the-world-global-problems-of-human-development/> (*Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез*)
8. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Морфогенетичні зміни яєчка щура при хронічному введенні полютанта. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. Pp. 168-171. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/distance-learning-problems-ways-of-development-and-the-latest-technologies/> (*Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез*)
9. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Особливості корекції сукцинатом заліза інтоксикаційного впливу солей кадмію на статеву систему щура // Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції "Наука, освіта, технології та суспільство в XXI столітті: наукові ідеї та механізми реалізації", 30 січня 2024 року, Полтава – С.18-20./ (*Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез*)

## ЗМІСТ

<b>АНОТАЦІЯ</b> .....	2
<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ</b> .....	14
<b>ВСТУП</b> .....	15
<b>РОЗДІЛ 1.</b> Сучасний погляд на особливості впливу кадмію на організм та роль біологічних антагоністів у зниженні токсичних проявів його дії . . .	23
<b>1.1.</b> Екзогенна інтоксикація ксенобіотиками з групи важких металів: сучасний стан проблеми та загальні принципи їх токсичного впливу на організм.. .	23
<b>1.2.</b> Клінічні, морфологічні та біохімічні аспекти токсичного впливу кадмію на організм... ..	30
<b>1.3.</b> Оцінка кадмій-індукованих змін чоловічої гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної системи та потенційні напрямки їх корекції. ....	39
<b>РОЗДІЛ 2.</b> Матеріали та методи дослідження. ....	50
<b>РОЗДІЛ 3.</b> Зміни мікроелементного складу статевих залоз самців щурів за даними поліелементного аналізу. ....	61
<b>РОЗДІЛ 4.</b> Вплив ізольованого введення хлориду кадмію на морфогенетичний стан яєчка щура в експерименті .....	74
4.1 Вплив хлориду кадмію на морфогенез яєчка щура в експерименті.	74
<b>РОЗДІЛ 5.</b> Результати комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатами цинку та заліза на морфогенез яєчка щура в експерименті. .	91
5.1. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатом заліза на морфогенез яєчка щура в експерименті. ....	91.
5.2. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатом цинку на морфогенез яєчка щура в експерименті. ....	98
<b>РОЗДІЛ 6.</b> Аналіз та узагальнення отриманих результатів .....	113

<b>ВИСНОВКИ</b> .....	129
<b>ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ</b> .....	132
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b> .....	133
<b>ДОДАТКИ</b> .....	162

## **ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

АФК – активні форми кисню

ІМЯ – індекс маси яєчка

ВМ – важкі метали

ВТВ – гематотестикулярний бар'єр (blood-testis barrier)

LCs – клітини Лейдіга (Leydig cells)

SCs – клітини Сертолі (Sertoli cells)

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми.** Демографічна ситуація в Україні постійно погіршується, а в останні роки в державі спостерігається значне збільшення безпліддя серед чоловіків [1]. Основними причинами його є погіршення екологічної ситуації, порушення гормонального фону, запалення статевих залоз, розширення вен сім'яного канатика, перенесена травма та епідемічний паротит, ятрогенне безпліддя [2-4]. Численні наукові дослідження показали, що досить часто причиною безпліддя є несприятлива екологічна ситуація [2,3]. Значне місце у забрудненні навколишнього середовища відводиться важким металам та їх сполукам, які утворюють велику групу токсикантів і відносяться до важливих забруднювачів виробничого та оточуючого середовищ, тому першочерговість досліджень у цьому напрямку неодноразово відмічалась у наукових роботах [4,5,6]. Важкі метали в останні роки розглядаються дослідниками як репродуктивні токсиканти, а їх гострий та хронічний вплив зумовлює розвиток патологічних змін в органах репродуктивної системи, призводить до порушення гормонального балансу та розвитку диселементозів.

Разом з тим, залишається малодослідженим вплив на сім'яники та передміхурову залозу комбінації солей токсичних важких металів з біогенними мікроелементами з метою виявлення можливого біоантагонізму. Механізми розвитку чоловічого безпліддя за умов формування гіпо- та гіпермікроелементозних станів все ще недостатньо вивчені. Малодослідженими є також і аспекти хронічного впливу солей кадмію на морфологічну структуру яєчка, на рівень накопичення металу в різних системах та органах та порушення мікроелементного балансу організму у цілому.

Відомо, що рівень накопичення важких металів також має залежність від дози, способу і терміну введення [6]. Для вирішення представленої комплексної проблеми бракує інформації щодо ефектів хронічного впливу

хімічних забруднювачів навколишнього середовища на стан чоловічої репродуктивної системи та рівні накопичення токсичних важких металів в окремих органах, розвитку порушень мікроелементного гомеостазу організму в цілому.

Доведено, що тестикули ссавців надто чутливі до токсичного впливу кадмію, який ініціює розвиток кадмійіндукованих пошкоджень яєчка [5,6,7]. У людини та інших ссавців кадмій викликає ушкодження репродуктивних органів, серед яких – серйозні структурні порушення сім'яних трубочок, клітин Сертолі та гемато-тестикулярного бар'єру, що призводить до втрати якості сперми, перешкоджає розвитку клітин Лейдіга, пригнічує їх функцію та викликає пухлинну трансформацію, порушує роботу судинної системи яєчок [8,9].

Токсикокінетика кадмію має певні особливості, що зумовлює його високі кумулятивні властивості та токсичні ефекти. Кадмій порівняно легко засвоюється та розподіляється в організмі, накопичуючись із найвищими концентраціями не лише в кістках, печінці та нирках, але й в нервовій тканині, залозах внутрішньої секреції та ін. Доведено, що можливість депонування кадмію в різних органах обумовлена тим, що іони металу мають хімічну спорідненість до структур їх мембран, утворюючи хелатні комплекси з досить міцними зв'язками, тому його виведення відбувається дуже повільно [9, 10].

Поширення частоти виявлення токсичних ефектів ксенобіотиків з групи важких металів на організм людини є причиною пошуку ефективних засобів профілактики патологічної їх дії. Пошук нових потенційних біологічних антагоністів кадмію серед мікроелементів, що можуть зменшувати або нівелювати токсичний вплив сполук кадмію на ембріогенез, репродуктивний потенціал, розвиток та функціональний стан організму дозволить створити теоретичне підґрунтя для розробки біоантагоністів токсичності кадмію [11, 12, 13]. У сучасних експериментальних дослідженнях медичного та екологічного спрямування активно



досліджуються як можливі нові біоантогоністи токсичним важким металам біогенні елементи у нанорозмірній формі. На теперішній час доведено фармакологічними та біохімічними дослідженнями високий рівень безпечності цитратів та сукцинатів біогенних металів, визначені їх антиоксидантні та радіопротекторні властивості для організму, позитивний вплив на серцево-судинну та імунну системи організму. Зниження рівня накопичення токсичних важких металів експериментально визначалось в різних органах при комбінованому впливі з цитратами та сукцинатами біогенних елементів [14].

Суттєвим потенціалом нівелювання гіпоксичного стану, який провокує в організмі вплив абіотичних важких металів, володіють солі бурштинової кислоти - сукцинати. Для підтримки енергетичного балансу клітин та тканин в умовах кисневого голодування при гіпоксії, що виникає при надходженні в організм ксенобіотиків, доцільно використовувати субстрати, здатні приймати участь у регуляції роботи мітохондрій, в підтримці циклу Кребса, а саме такими властивостями володіють сукцинати [13, 14].

Таким чином, важливим напрямком морфологічних експериментальних досліджень є визначення особливостей впливу абіотичних важких металів, зокрема кадмію, на морфогенез та мікроелементний склад репродуктивних органів ссавців, пошук нових можливих біоантагоністів токсичності кадмію серед сукцинатів біогенних металів, що здатні нівелювати або зменшувати негативний вплив ксенобіотика на органи репродуктивної системи, підтримуючи елементний гомеостаз організму у цілому. Отже, враховуючи вищезазначене, актуальним є проведення експериментальних досліджень впливу сполук кадмію на статеві залози дослідних тварин та рівень накопичення металу, а також виявлення спектру морфологічних змін будови яєчка та порушень елементного гомеостазу органу.

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

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Дніпровського державного медичного університету на тему: "Морфофункціональні особливості органів і тканин під впливом зовнішніх та внутрішніх чинників", № державної реєстрації 0120U105219. Автор є співвиконавцем цієї науково-дослідної роботи.

**Мета дослідження:** визначити особливості формування змін структурної організації та мікроелементного складу яєчок щурів за ізольованої дії хлориду кадмію та корекції сукцинатами цинку і заліза, а також встановити зв'язок між рівнем накопичення кадмію та спектром морфологічних змін статевих залоз в умовах хронічного експерименту.

### **Завдання дослідження:**

1. Встановити особливості та провести порівняльну оцінку рівня накопичення кадмію, цинку та заліза паренхімою яєчка експериментальних тварин при ізольованому впливі хлориду кадмію та в комбінації з сукцинатами металів.
2. Дослідити морфометричні та морфологічні зміни, що відбуваються в яєчках щурів після хронічного ізольованого впливу кадмію хлориду.
3. Встановити спектр морфометричних та морфологічних змін в яєчках щурів після комбінованого впливу кадмію хлориду з сукцинатом заліза.
4. Визначити спектр морфометричних та морфологічних змін в яєчках щурів після комбінованого впливу кадмію хлориду з сукцинатом цинку.
5. Встановити ступінь зв'язку між вмістом кадмію та спектром морфологічних змін органів репродуктивної системи щурів під впливом хлориду кадмію ізольовано та за умов корекції сукцинатами біогенних металів.

*Об'єкт дослідження:* порушення морфологічної структури та мікроелементного складу статевих залоз щурів при ізольованому впливі хлориду кадмію та в комбінації з сукцинатами біогенних металів.

*Предмет дослідження:* : морфометричні, гістологічні зміни паренхіми яєчок щурів, зміни мікроелементного складу статевих залоз при ізольованому введенні хлориду кадмію та в комбінації з сукцинатами цинку та заліза.

**Основні методи дослідження:**

1. Експериментальні. Моделювання хронічного внутрішньошлункового впливу на плацентарних тварин (щури) хлориду кадмію та сукцинатів заліза та цинку.

2. Гістологічні – виготовлення серійних гістологічних зрізів яєчка щурів з використанням світлової мікроскопії для просторового аналізу для визначення змін тканинних структур та проведення кількісного морфологічного аналізу.

3. Поліелементний аналіз за методом атомної емісії з електродуговою атомізацією для виявлення рівня накопичення кадмію, заліза та цинку в яєчках щурів при хронічному впливі.

4. Морфометричні – для кількісної оцінки окремих структур паренхіми яєчка щурів;

5. Статистичні – для аналізу кількісних даних і оцінки отриманих результатів.

**Наукова новизна:** Вперше проведені експериментальні дослідження з хронічного комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатами металів на яєчки щура та виявлені особливості змін структурної організації статевих залоз тварин в різні терміни впливу, що підтверджується результатами кореляційного та регресійного аналізів.

Отримано нові анатомо-експериментальні дані ступеня гонадотоксичності хлориду кадмію, рівня біонакопичення кадмію у яєчках щурів, порушення елементного гомеостазу статевих залоз щурів за вмістом

есенціальних мікроелементів цинку та заліза за умов хронічного впливу хлориду кадмію. Вперше виявлені відмінності у градієнті накопичення кадмію у яєчках щура при ізольованому введенні хлориду кадмію та за умов корекції сукцинатами металів (залізо, цинк), як потенційних біоантагоністів.

Вперше експериментально виявлені біоантагоністичні властивості сукцинатів заліза та цинку відносно токсичного впливу на структуру паренхіми яєчка хлориду кадмію в зазначеній дозі та способі введення. При цьому якісні зміни репродуктивних органів самців щурів підтверджуються кількісними гістометричними методами дослідження.

Уперше доведено, що використання сукцинатів цинку та заліза на фоні хронічної кадмієвої інтоксикації сприяють зменшенню проявів гонадотоксичного впливу хлориду кадмію за всіма показниками (рівень накопичення металу в яєчках щурів та баланс есенціальних мікроелементів, гістологічні показники структури тестикул, вагові показники яєчок) як на 14-ту добу, 20-ту добу так і на 30 добу експерименту.

Отримані результати можуть стати підґрунтям для можливих розробок препаратів з біоантагоністичними або протекторними властивостями при кадмієвій інтоксикації.

### **Практичне значення отриманих результатів.**

Результати дослідження поглиблюють та розширюють сучасні знання про патогенетичні основи гонадотоксичності кадмію, розкривають характер гістоструктурної перебудови статевих залоз щурів залежно від тривалості кадмієвої інтоксикації. Побудовані математичні моделі, що дозволяють прогнозувати ймовірність виникнення морфологічних змін у яєчках щурів залежно від рівня накопичення кадмію статевою залозою.

Результати впливу хлориду кадмію на стан паренхіми яєчка дозволяють пояснювати механізм та терміни патологічних змін або прогнозувати виникнення порушень сперматогенезу при проживанні людей в зоні кадмієвого впливу.

Отримані дані є підґрунтям для подальшого дослідження впливу сукцинатів біогенних металів як речовин з біоантагоністичними властивостями по відношенню до хлориду кадмію для можливих розробок фармакологічних лікувальних та профілактичних засобів, що можуть зменшувати негативний токсичний ефект сполук кадмію на морфофункціональний стан репродуктивної системи чоловіків, що мешкають або працюють у екологічно несприятливому середовищі.

Нові морфологічні дані стосовно змін структурної організації статевих залоз щурів внаслідок впливу хлориду кадмію та корекції сукцинатами цинку і заліза будуть корисні студентам в лекційних курсах з анатомії людини, гістології, патологічної анатомії, гігієни, урології.

**Впровадження результатів дослідження.** Результати наукової роботи впроваджені в навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри анатомії людини Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова, кафедри анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету, кафедри анатомії з клінічною анатомією та оперативною хірургією Полтавського державного медичного університету, кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Харківського національного медичного університету, кафедри анатомії людини ТНМУ ім. І.Я. Горбачевського, кафедри клінічної медицини ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету ім. Т. Шевченка.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом самостійно виконаний патентно-інформаційний пошук, визначені мета та завдання дослідження. Аналіз наукової літератури, експеримент, забір матеріалу, морфологічні дослідження, морфометричний та статистичний аналіз, розділи дисертаційної роботи, їх обговорення та узагальнення, оформлення дисертації виконані автором самостійно. Основною є участь автора в підготованні статей до опублікування. В актах впровадження наводяться дані, що особисто отримані автором у процесі виконання роботи. Висновки

та практичні рекомендації сформульовано разом із науковим керівником. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, участь здобувача є визначальною.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи представлені на: XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany, XIV International Scientific and Practical Conference. Prague, Czech Republic, XIII International Scientific and Practical Conference. Madrid, Spain, Міжнародній науково-практичній конференції "Наука, освіта, технології та суспільство в XXI столітті: наукові ідеї та механізми реалізації", Полтава, Україна. Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 9 наукових праць, серед яких 5 статей, у тому числі 4 – у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 стаття – у міжнародному виданні, 4 тез доповідей у матеріалах міжнародних конгресів та науковопрактичних конференцій.

**Структура і обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 170 сторінках друкованого тексту, складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, узагальнення та аналізу одержаних результатів, висновків, практичних рекомендацій. Містить 5 таблиць та 42 рисунки. Список використаної літератури складається з 249 джерел (69 кирилицею, 180 латиною).

## РОЗДІЛ 1

### СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ КАДМІЮ НА ОРГАНІЗМ ТА РОЛЬ БІОЛОГІЧНИХ АНТАГОНІСТІВ У ЗНИЖЕННІ ТОКСИЧНИХ ПРОЯВІВ ЙОГО ДІЇ

#### **1.1. Екзогенна інтоксикація ксенобіотиками з групи важких металів: сучасний стан проблеми та загальні принципи їх токсичного впливу на організм.**

На шляху впровадження Програми комплексної хімічної безпеки та захисту (ICSSP) в Україні важливим кроком став Український форум Ukraine Chemical Security Forum (UCSF), який відбувся в рамках Міжнародного саміту Global Chemical Safety and Security Summit (CHEMSS) і сприяв обміну кращим практичним досвідом спеціалістів, що мають справу з питаннями обігу токсичних хімічних речовин [7, 8]. Однією з найбільш актуальних і злободенних задач форуму було формування комплексного підходу в питаннях досягнення раціонального управління хімічними речовинами протягом повного циклу їх розробки, виготовлення, використання та утилізації таким чином, щоб виробництво та застосування хімікатів, здатних індукувати розвиток екзогенних інтоксикацій, набуло мінімального негативного впливу на навколишнє середовище та здоров'я людей [9].

Проблема екзогенних інтоксикацій особливої актуальності набула останніми роками, коли в цивілізованих країнах склалася «токсична ситуація» – накопичення в навколишньому середовищі великої кількості хімічних речовин, що застосовуються для виробничих, побутових, медичних

та інших цілей. Серед найбільш небезпечних техногенних токсикантів пріоритетне положення займають важкі метали [10, 11].

Терміном «важкі метали» позиціонують ряд елементів періодичної системи Д.І. Менделєєва з молекулярною масою понад 50 атомних одиниць. В численних наукових публікаціях поняття «важкі метали» інтерпретується по-різному, проте хімічні елементи для включення їх до зазначеної генерації повинні бути порівняними по ряду критеріїв, зокрема, атомній масі, густині, параметрах токсичності, поширеності в навколишньому середовищі, ступеню залучення в природні та техногенні цикли. Вищевикладеним показникам відповідають і, відповідно, відносяться до групи важких металів свинець, кадмій, кобальт, ртуть, мідь, цинк, нікель, сурма, олово і вісмут [12 – 16].

Забруднення навколишнього середовища важкими металами носить антропогенно-техногенний характер, який обумовлений активною діяльністю людини і сягнув піку в останні століття за рахунок бурхливої урбанізації у всьому світі. Основний внесок в насичення атмосфери планети ксенобіотиками вносять численні галузі промисловості, перш за все металургія, нафтопереробні комплекси, виробництво кераміки та скла [17, 18].

У дослідженнях А.Н. Небольсина і співавт. визначене процентне співвідношення забруднення промисловими підприємствами навколишнього середовища важкими металами. Так, питома вага гірничодобувних і металургійних заводів складає в середньому 35% від загального об'єму забруднень, теплових електростанцій - 27%, нафтопереробних підприємств - 15% і будівельних організацій - 8% [19]. Активна 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. Внаслідок цього, концентрація важких металів на



територіях, прилеглих до промислових підприємств, значно перевищує гранично допустимі нормативи [20].

Значиму роль в забрудненні атмосферного повітря ксенобіотиками відіграє й автомобільний транспорт, причому надходження важких металів в навколишнє середовище здійснюється не тільки з вихлопами автотранспорту, але відбувається і при зносі автомобільних шин і колодок. Активна утилізація побутових відходів на сміттєспалювальних заводах супроводжується надходженням в атмосферу токсичних викидів, в яких концентрація важких металів в тисячі разів перевершує показники звичайного повітря [21, 22]. Згоряння твердого та рідкого палива в котельнях також супроводжується надходженням в навколишнє середовище хімічних полютантів.

Певний внесок у зростання концентрації важких металів у навколишньому середовищі вносять також природні забруднювачі – виверження вулканів, вивітрювання гірських порід, явища ерозії, метеоритні дими і кислотні дощі, що додатково призводить до збільшення їх вмісту та поширеності порівняно з фоновим рівнем [23, 24].

Розвиток сільськогосподарської галузі, забруднені підземні води та дощі призвели до антропогенної деградації ґрунтів з накопиченням важких металів, час виведення яких може тривати декілька сотень років [25]. Разом з органічними речовинами ґрунту солі важких металів здатні утворювати складні комплексні сполуки, а висока вологість сприяє їх переходу у нижчі ступені окиснення і в розчинні форми, що підвищує міграційні характеристики цих субстанцій [26, 27]. Негативна дія солей важких металів у ґрунті проявляється погіршенням родючості ґрунтів, якості, росту та розвитку рослинних продуктів, а також пригніченням мікробіологічної діяльності [28, 29].

Здатність важких металів циркулювати та мігрувати у гідро- та атмосфері призводить до їх кругообігу в природі, виснаження її захисних і

регулюючих механізмів, що несе за собою небезпеку всебічного впливу цих полютантів на живі організми [30, 31].

Надходження важких металів у організм відбувається в основному через органи дихання, шлунково-кишковий тракт і шляхом абсорбції через шкіру. Найбільш несприятливим способом проникнення є потрапляння полютантів в організм через дихальні шляхи у вигляді пилових аерозолів, що забезпечує моментальне надходження важких металів в кров. Прогресуюче погіршення екологічної обстановки призводить до збільшення концентрації важких металів у питній воді і продуктах харчування, що свідчить про значну роль аліментарного фактора в потрапленні ксенобіотиків в організм [32, 33].

У більшості випадків важкі метали як токсиканти представляють велику загрозу для дисбалансу різноманітних фізіологічних процесів на макро-, мікро- та ультраструктурних рівнях. За сучасними уявленнями, токсична реакція розвивається внаслідок взаємодії токсикантів з організмом на молекулярному рівні, що приводить до розвитку токсичного процесу. Основою механізму токсичної дії можуть слугувати як фізико-хімічні, так і хімічні реакції взаємодії токсикантів з біологічним субстратом. Токсичний процес, ініційований фізико-хімічними ефектами, як правило, обумовлений розчиненням токсикантів в певних компартментах клітини, тканинах, організмах. При цьому істотно змінюються їх фізико-хімічні властивості [34].

Взаємодія токсикантів з молекулярними мішенями у випадку, коли в основі токсичності лежать їх хімічні реакції з певними субстратами – компонентами живої системи, відбувається по ліганд-рецепторному механізму. Спектр енергетичних характеристик рецептор-лігандної взаємодії досить широкий – від утворення слабких зв'язків, які легко руйнуються, до формування незворотних комплексів. Взаємодія токсикантів зі структурами-мішенями підпорядковується тим самим

закономірностям, що і будь-яка хімічна реакція, що протікає поза організмом, і саме тому є залежною від властивостей речовини [34].

Натепер ключовими механізмами розладів клітинного метаболізму при експонуванні біологічних об'єктів важкими металами вважають ферментотоксичну, мембранотоксичну дію та окислювальний стрес [35].

Одним з найбільш поширених негативних ефектів важких металів є інактивація ферментів, яка супроводжується порушенням клітинного метаболізму і фізіологічних процесів. Ферментотоксична активність важких металів обумовлена заміщенням в складі ферменту необхідного металу і його взаємодією з сульфгідрильними групами (-SH) білкових молекул, які характеризуються високою біологічною активністю в плані реалізації біокаталітичної, біосинтетичної і енергетичної функцій [35, 36].

В основі мембранотоксичної дії важких металів, нарівні зі зміною властивостей і функціональної активності мембранозв'язаних білкових молекул, лежать порушення в роботі іонних каналів, а також електродинамічних характеристик збудливих біологічних мембран.

Зовнішня поверхня клітинної мембрани першою взаємодіє з металом. Іони важких металів змінюють конформацію мембранних білків і суттєво збільшують проникність мембрани для іонів натрію, калію, хлору, кальцію і магнію, що призводить до швидкого набухання клітин, розпаду їх цитоскелету. У мембранах утворюються прогалини, що знижує їх опір і значно збільшує проникність [37].

Важкі метали можуть взаємодіяти з будь-якими мембранними утвореннями: мітохондріями, ендоплазматичним ретикуломом, лізосомами [38]. Приєднання металів до лігандів мембранних структур призводить до порушення процесів активного або пасивного трансмембранного транспорту.

Важкі метали відносяться до групи мітохондріальних ядів, що ушкоджують різні ланки процесів біоенергетики, речовин, що діють на шорсткий (порушення процесів синтезу білка) і гладкий ендоплазматичний

ретикулум (індукція або пригнічення метаболізму ксенобіотиків), лізосомальні мембрани (провокують автоліз клітин) тощо [39].

До відносно недавно розкритих закономірностей в реалізації токсичності важких металів слід віднести окислювальний стрес, в механізмах розвитку якого провідну роль відіграє порушення балансу активності про- та антиоксидантних систем, генерування вільних радикалів кисню, посилення процесів перекисного окислення ліпідів на тлі пригнічення енергопродукції мітохондріями і зниження енергетичного потенціалу клітини [39, 40, 41]. З цими вихідними змінами метаболізму клітини пов'язані численні морфо-функціональні порушення в органах і тканинах, які в сукупності відтворюють патогенетичну картину інтоксикацій, що розвиваються.

Хімічну основу токсичності важких металів становить їх здатність зв'язувати функціональні групи біологічно важливих субстанцій організму (перш за все, сульфгідрильні групи ферментів), витіснити есенціальні метали з металомістких комплексів, а також генерувати активні форми кисню. Механізми токсичності не взаємовиключають один одного і можуть проявлятися одночасно [40, 41, 42, 43].

Автори численних публікацій у світовій літературі зазначають, що негативний вплив солей важких металів на організм характеризується розвитком мікроелементозу: підвищуються концентрації токсичних мікроелементів (миш'яку, кадмію, ртуті, свинцю) нарівні зі значним зниженням рівня тих, які забезпечують життєво важливі процеси в організмі (міді, марганцю, селену, цинку, заліза), що індукує цілий ряд патологічних процесів [44, 45]. Так, інтоксикація організму сполуками важких металів ініціює, насамперед, ослаблення імунної відповіді [46]. Вважається, що імуносупресорна активність зазначених полютантів опосередковується порушенням функції В-лімфоцитів і продукцією антитіл, пригніченням секреції інтерлейкінів та інтерферону, дисбалансом процесів клітинної біоенергетики, інактивацією білків системи комплементу, трансформацією

молекулярної структури мембранних рецепторів та антигенів, лімфоцитів і фагоцитів, мутацією генів імунокомпетентних клітин [ 47, 48].

Також вважається, що надлишок солей важких металів в організмі спонукає зростання схильності до розвитку запальних процесів. Зокрема, в регіонах, де спостерігається значне забруднення довкілля, дисбаланс окисно-відновних систем організму, який посідає провідне місце в патогенезі запалення, викликає підвищення частоти вірусних, грибкових, бактеріальних, алергічних та автоімунних захворювань [49, 50].

На думку О.І. Сметаніної (2014) і А.О. Горобець (2019), існує тісний кореляційний зв'язок між несприятливою екологічною обстановкою, спричиненою сполуками важких металів, та авітамінозом або гіповітамінозом. Порушення рівноваги вітамінів є індуктором підвищення чутливості організмів до мінімального несприятливого впливу, що загрожує серйозними патологічними станами в органах та системах [51, 52].

А.М. Романюк і співавт. (2014, 2017) повідомляють про можливість іонів металів імітувати дію естрогену, що ініціює порушення гормонального статусу жіночої популяції та може призвести до розвитку численних гормональнозалежних патологій [51, 52]. Особливої уваги заслуговують дані цих же авторів про суттєву роль важких металів у процесах патологічної біомінералізації деяких органів з подальшим розвитком в них дистрофічних і дегенеративних змін [53].

Доведеною є участь іонів металів у процесах стабілізації ДНК та активації ферментативних реакцій із залученням нуклеїнових кислот. Порушення рівноваги мікроелементного складу потенційно спонукає розлади структури нуклеїнових кислот, викликаючи одно- та двониткові розриви в ДНК, що порушує передачу генетичної інформації (реплікацію, транскрипцію, трансляцію) та, як наслідок, може індукувати генетичні аномалії і стимулювати пухлинний ріст [54, 55, 56]. При цьому навіть незначні концентрації деяких важких металів, зокрема, ртуті чи кадмію, призводять до локальних ушкоджень ДНК: руйнації подвійної спіралі, зміни

її форми, хромосомних аберацій, ініціюючи в ряді випадків неензимопатичний розрив хімічних зв'язків у нуклеїновій послідовності [56, 57, 58].

J. Ochieng et al. (2015) і M. Seneviratne et al. (2019) вважають, що мікроелементи набувають токсичної здатності та індукують розвиток онкопатології лише в надлишкових концентраціях [59], коли під впливом іонів важких металів зростає пул вільних радикалів [60]. При цьому ушкоджується структура клітин, білків, ліпідів, мембран і нуклеотидів, що обумовлює мутацію генів, які ініціюють синтез антионкогенних та протиметастатичних субстанцій, а також змінюється активність онкогенів через пероксидзалежні фактори транскрипції, зокрема, NF- $\kappa$ B [60-63]. Паралельно до цього іони металів, утворюючи зв'язки з сульфгідрильними групами відновлених тіолів, глутатіону та ліпоевої кислоти, інактивують їх, внаслідок чого гальмується регенерація і відновлення антиоксидантів та виснажується система антиоксидантного захисту організму [61-63].

Генотоксичність надлишкових концентрацій важких металів може опосередковуватися також через синтез мутантного білка p53, який блокує регуляторні ефекти клітин та призводить до їх апоптозу, пухлинної прогресії і дестабілізації геному, зокрема, посиленню фрагментації дезоксирибонуклеїнової кислоти [64].

Зважаючи на вищевикладене, роль як окремих важких металів, так і їх комбінацій в екологічно зумовлених захворюваннях молочної залози, кісткового мозку, нирок, органів травної, репродуктивної системи тощо є незаперечним і доведеним фактом.

## **1.2. Клінічні, морфологічні та біохімічні аспекти токсичного впливу кадмію на організм**

1.2.1. Оцінка ролі кадмію в розвитку мітохондріальної дисфункції, процесів апоптозу, генотоксичності і канцерогенезу.

Кадмій (Cd, атомна маса 112,41) належить до групи XII періодичної таблиці хімічних елементів та є одним з найбільш рідкісних елементів

земної кори. В природі Cd у вільному вигляді не зустрічається і не утворює специфічних руд, тому його отримують як супутній продукт при рафінуванні цинку і міді [65].

Кадмій, нарівні із миш'яком, свинцем та ртуттю, є представником класу важких металів, який вважається одним із найпоширеніших токсикантів навколишнього середовища [66, 67, 68]. Постійні джерела забруднення кадмієм пов'язані з його промисловим виробництвом, продукцією нікель-кадмієвих батарей, пігментів, пластика та інших синтетичних продуктів [69]. Крім того, антропогенні джерела Cd у навколишньому середовищі також формуються при виплавці та переробці міді та нікелю, спаленні викопного палива та використанні фосфорних добрив. Вулканічна активність, поступовий процес ерозії та вивітрювання гірських порід та ґрунту, лісові пожежі також є одними з причин збільшення концентрації кадмію у середовищі проживання – атмосфері, ґрунтах та воді. До того ж, навіть робота шахт з видобутку цинку, свинцю та міді сприяє викиду цього металу в атмосферу, внаслідок чого відбувається забруднення ґрунту [70].

Надходження кадмію в організм відбувається в основному через дихальні шляхи і, меншою мірою, через шлунково-кишковий тракт, тоді як трансдермальний шлях абсорбції Cd зустрічається відносно рідко. Потрапивши в організм, вільно циркулюючі в крові іони кадмію утворюють міцні комплекси з низькомолекулярними білками – металотіонеїни, які, фільтруючись в канальцевому апараті нирок, кумулюють в них [71 – 77]. Рівень накопичення ксенобіотика безпосередньо залежить від інтенсивності регіонарного кровопостачання і тропності тканин органів до металу, тому, надійшовши в організм, кадмій, окрім нирок, кумулює також в печінці та кишечнику [78].

Накопичення кадмію в організмі людини може спричинити численні несприятливі ефекти, зокрема, порушення функції нирок та печінки, набряк

легенів, остеомалюцію, ушкодження яєчок, надниркових залоз та системи кровотворення [79].

Патофізіологічна дія кадмію як політоксичної отрути опосередковується його здатністю знижувати активність ферментів шляхом інгібування карбоксильних і сульфгідрильних груп їх активних центрів. Крім того, Cd має подібну з цинком хімічну спрямованість дії, тому витісняє і займає його місце в цинк-асоційованих ферментах, приводячи до зниження їх активності. Результатом токсичного впливу кадмію на ензиматичну систему є дисфункція ферментів і порушення численних обмінних процесів, формування мітохондріальних пошкоджень і, як наслідок, деструкція клітинних мембран [79, 80]. Вважають, що Cd-індукована мітохондріальна дисфункція обумовлена блокуванням мітохондріального ланцюга передачі електронів шляхом гальмування їх потоку через комплекс III (цитохром- $bc_1$ -комплекс, або убіхінол-цитохром с-оксидоредуктаза). Кадмій пригнічує АДФ-стимульоване дихання та індукує збільшення трансмембранного потоку іонів через внутрішню мембрану мітохондрії за рахунок створення отвору перехідної пори мітохондріальної проникності [81, 82, 83]. До того ж, кадмій безпосередньо може зменшувати потенціал мембран мітохондрій з активацією каспазного шляху, а також інгібує АТФазу, лактатдегідрогеназу, супероксиддисмутазу та пригнічує активність глутатіонпероксидази, підвищуючи рівні активних форм кисню (АФК) та перекисного окислення ліпідів [83, 84, 85, 86, 87]. Надмірне утворення АФК призводить до окислення макромолекул з атакою вільних радикалів на фосфоліпіди, що порушує цілісність мембран мітохондрій та ініціює мутацію ДНК [88, 89].

Встановлено здатність кадмію впливати на функціональний стан ендокринної системи шляхом безпосередньої дії на гіпоталамо-гіпофізарну вісь, змінюючи при цьому плазмову концентрацію адренкортикотропіну, лютропіну, фолітропіну і пролактину [89, 90, 91].

Продемонстровано, що утворення активних форм кисню, накопичення іонів  $Ca^{2+}$ , гіперактивність каспази-3, дефіцит антиапоптотичного протеїну



bcl-2 за умов Cd-індукованого апоптозу, ймовірно, бере активну участь в патогенезі нейродегенеративних захворювань, зокрема, хвороби Альцгеймера та Паркінсона, а також вікових розладів [92, 93, 94, 95, 96].

Експериментальні дослідження, проведені вченими різних країн, дозволили встановити наявність у кадмію вираженого діабетогенного ефекту, який проявлявся у вигляді пошкодження  $\beta$ -клітин острівкового апарату підшлункової залози з одночасним гальмуванням секреції інсуліну [94 – 96].

Результатами досліджень N. Pant et al. (2014) встановлена наявність у кадмію потужної токсичної дії на репродуктивну систему, що пов'язують з розвитком змін процесів обміну речовин, зокрема, зниженням концентрації селену в репродуктивних органах. Оскільки селен є природним антиоксидантом, то, очевидно, в основі розвитку патології лежить утворення активних форм кисню і окислювальний стрес [97, 98].

У роботах Wan L. et al. (2012) та Pizzaia D. et al. (2019) встановлено цитостатичну дію кадмію, обумовлену зниженням концентрації кальцію в клітинах за умов інтоксикації ксенобіотиком. Порушення гомеостазу кальцію, в свою чергу, призводило до ушкодження актинових фрагментів цитоскелету клітин і гальмування їх росту [98, 99].

На додаток до цитотоксичних ефектів, які можуть індукувати розвиток апоптичних або некротичних змін, кадмій вважається «перевіраним» канцерогеном для людини (група I Міжнародного агентства з вивчення класифікації раку) [100]. Основні механізми Cd-індукованого канцерогенезу включають індукцію запальних процесів, окисного стресу, АФК, епігенетичні ефекти, ушкодження ДНК, зниження здатності до відновлення ДНК, зміни експресії генів та аберантне метилювання ДНК [100 – 105].

Окислювальний стрес, який є важливим фактором токсичності кадмію, сприяє пухлинному росту внаслідок мутагенного впливу на клітинний цикл. Функціональна система відновлення ДНК в організмі

усуває помилки, спричинені канцерогенами навколишнього середовища. Однак «неадекватний» ремонт сприяє накопиченню «дефективної» ДНК, що індукує розвиток раку. Кадмій, інгібуючи відновлення ДНК, дестабілізує геном, зокрема, внаслідок посилення фрагментації дезоксирибонуклеїнової кислоти [68, 106 – 108]. Деякі автори припускають, що короткочасний вплив Cd інгібує ДНК-метилтрансферазу 1, індукуючи гіпометилування ДНК, в той час як хронічна інтоксикація кадмієм може активувати ДНК-метилтрансферазу 1, ініціюючи гіперметилування [109 – 111]. Насправді, якщо клітини протягом короткого часу піддавались дії високих доз Cd (гострий вплив), вони можуть апоптотично змінитися і знизити метастатичний потенціал, тоді як хронічний вплив ксенобіотика призводить до злоякісної трансформації клітин [112].

Останні епідеміологічні дані вказують на те, що вплив цього поллютанта може бути пов'язаний з розвитком раку передміхурової залози [113, 114], молочних залоз [115, 116], носоглотки [117], сечового міхура [118, 119], підшлункової залози [120, 121] та нирки [122].

1.2.2. Механізми розвитку функціональних порушень і морфологічних змін у тканині нирок за умов токсичного впливу кадмію.

Нефротоксичність кадмію безпосередньо залежить від дози токсичної речовини, що надійшла в організм, а перші патологічні зміни в тканинах формуються при концентрації Cd в кірковій речовині нирок 150-200 мкг/г. Ренальні прояви на ранніх етапах токсичної дії кадмію характеризуються зниженням реабсорбції в каналцевому апараті нирок мікропротеїнів з молекулярною масою менше 40 кДа ( $\beta_2$ -мікроглобулін, ретинол-зв'язуючий білок і альфа-1-мікроглобулін) і появою їх у сечі. Зазначені зміни за умови повного припинення надходження кадмію в організм є оборотними. Навпаки, тривала експозиція кадмію сприяє не тільки збільшенню концентрації мікропротеїнів в сечі, але і викликає зниження швидкості клуб очкової фільтрації. Ініціюючи порушення процесів метаболізму кальцію

шляхом блокування ендокринних ефектів паратгормону і змін процесів активації кальцитріолу в нирках, кадмій призводить до демінералізації кісткової тканини, накопичення іонів кальцію в нирках, викликаючи тим самим активацію процесів утворення каменів [123 – 125].

Незалежно від способу надходження в організм, кадмій вибірково накопичується в клітинах епітелію проксимальних каналців, викликаючи їх ушкодження внаслідок активації апоптозу, некротичних процесів і змін механізмів аутофагії [126 – 128].

Порушуючи процеси метаболізму оксиду азоту, кадмій призводить до дисфункції ендотелію клубочків і розвитку їх ушкодження. Основними проявами сформованої клубочкової дисфункції за умов інтоксикації кадмієм є збільшення екскреції альбуміну та зміна концентрації плазмового і сечового креатиніну [129 – 131]. Також встановлена здатність кадмію негативно впливати на механізми клітинної сигналізації в нирковій тканині шляхом зміни активності протеїнкінази C, цАМФ, оксиду азоту і  $\beta$ -катеніну [132].

Поряд з функціональними порушеннями, що формуються при хронічній інтоксикації ксенобіотиком, кадмій також призводить до розвитку необоротних морфологічних змін у нирковій тканині. В роботі Гонохової М.Н. (2007) було продемонстровано, що гістологічна картина ниркової тканини в умовах кадмієвої інтоксикації характеризувалася наявністю атрофії клубочка з одночасною гіпертрофією капсули Шумлянського-Боумена, генералізованою гідропічною дистрофією переважно дистального відділу каналців і ділянками некробіозу епітеліальних клітин [133].

1.2.3. Характеристика кардіотоксичної дії кадмію та його роль в розвитку уражень судинного русла.

Кадмій виявляє виражену кардіо- і ангіотоксичну дію. Свої деструктивні впливи ксенобіотик реалізує різними шляхами, проте всі вони спрямовані на підвищення артеріального тиску і формування структурних

змін в міокарді і ендотелії судинного русла. Один з численних механізмів вазоконстрикторної дії кадмію пов'язаний з його здатністю змінювати активність кальцієвих каналів, блокувати ефекти оксиду азоту та інших судинорозширювальних речовин [134]. Однак в роботі Angeli J.K. (2013), присвяченій зміні судинної реактивності за умов впливу кадмію, зазначається, що першочерговою причиною системної вазоконстрикторної дії полютанта є пошкодження ендотеліальних клітин продуктами перекисного окислення ліпідів, тоді як біодоступність оксиду азоту при цьому залишається незмінною [132].

На думку Lee M.S. (2011), існує гендерна залежність виразності токсичних ефектів кадмію на серцево-судинну систему. Так, автор вважає, що чоловіки є більш сприйнятливими до деструктивного впливу кадмію на серцево-судинну систему [133]. За повідомленням Gay F. (2013), за умов хронічного отруєння кадмієм змінює функціональний стан надниркових залоз, що виражається в систематичному збільшенні секреції адреналіну, надходження якого в кров є пусковим механізмом розвитку аритмії, яка є вкрай небезпечним для життя станом [133].

Питання про безпосередню кардіотоксичність кадмію, яка приводить до змін основних властивостей серцевого м'яза, залишається вельми дискусійним [134]. Однак в сучасній літературі наявні роботи, якими експериментально доводиться негативний вплив ксенобіотика на скоротливу здатність міокарда за умов інтоксикації кадмієм [135, 136]. Будучи потужним метаболічним токсикантом, кадмієм шляхом зміни обмінних процесів в міокарді і ендотелії судин призводить до розвитку атеросклеротичного ураження судинного русла [137, 138]. Як свідчать дані огляду Tellez-Plaza M. і співавт. (2013), токсичний вплив кадмію збільшує шанси виникнення інсульту на 35%, а хронічної серцевої недостатності – на 48% [139]. Також повідомляється про зв'язок між маркерами впливу Cd (кров та сеча) та ішемічною хворобою серця і захворюваннями периферичних артерій [140].

Крім того, відомо про здатність кадмію впливати на вегетативну нервову систему, що змінює циркадні показники регуляції серцевого ритму та призводить до формування десинхронозу, який відіграє не останню роль у розвитку патологічних станів серцево-судинної системи.

#### 1.2.4. Оцінка механізмів гепатотоксичного впливу кадмію.

Механізм токсичної дії кадмію на печінку здійснюється двома шляхами. Прямий вплив Cd на структури печінки обумовлює розвиток першого механізму токсичної дії, пов'язаного із здатністю токсиканту взаємодіяти з сульфгідрильними групами молекул білкових структур в мітохондріях, приводячи до розвитку мітохондріальної дисфункції. Розвиток ішемічних явищ, що виникають внаслідок пошкодження ендотеліальних клітин судин печінки, також є одним з компонентів прямої токсичної дії кадмію, який приводить до формування гепатоцелюлярної травми. Формування вогнищ запалення в печінці з подальшим пошкодженням гепатобіліарних структур обумовлює розвиток другого механізму токсичної дії ксенобіотика, пов'язаного з активацією діяльності клітин Купфера, надлишковим утворенням цитотоксичних і прозапальних речовин, а також з вираженою інфільтрацією тканин печінки нейтрофілами [141, 142, 143].

Як свідчать результати досліджень Каменова К. і співавт. (2018) та Baskaran R. і співавт. (2018), гепатотоксичний вплив кадмію призводить до формування значних змін в біохімічних показниках крові. Автори вважають, що виражені відхилення в показниках основних біохімічних маркерів печінкової травми (аланінамінотрансфераза, лужна фосфатаза і гаммаглутамілтрансфераза) слугують достовірним аргументом, який характеризує кадмій як виражений гепатотоксикант [144 – 145].

Виразність гепатотоксичних ефектів кадмію безпосередньо залежить від кількості ксенобіотика, який надійшов в організм. Достовірно встановлено, що експозиція низькими дозами кадмію призводить до морфо-

функціонального ремоделювання печінкової тканини, що проявляється змінами ядерно-цитоплазматичного співвідношення, зменшенням синусоїдальних капілярів і підвищенням вмісту глікогену в гепатоцитах. Збільшення гепатосоматичного індексу і наявність виражених некротичних змін в печінці є основним проявом впливу високих доз Cd [146, 147].

В експериментальному дослідженні було встановлено, що максимальну чутливість до токсичного впливу кадмію виявляють мітохондрії і ендоплазматичний ретикулум гепатоцитів. Хронічний вплив ксенобіотика призводить до формування структурних змін в клітинах печінкової тканини, що проявляється набуханням і змінами форми мітохондрій, а також в розвитку ознак їх біодеградації. Токсична дія кадмію сприяє розвитку тотальної гідропічної дистрофії гепатоцитів, яка місцями переходить в балонну дистрофію [146].

Результатами досліджень авторського колективу під керівництвом Fouad A.A. (2013) доведено, що деструктивна дія кадмію на печінку призводить до масивного утворення фактора некрозу пухлини- $\alpha$ , циклооксигенази-2 і субстанцій сімейства цистеїнових протеаз, які, в свою чергу, посилюють патологічні процеси в тканині печінки [148].

Накопичуючись в печінкової тканині, кадмій призводить до активації процесів апоптозу гепатоцитів, що пов'язано з потужною стимуляцією ксенобіотиком утворення апоптоз-індукуючого фактора і значним викидом цитохрому C в клітинний цитозоль [148 – 151]. У процесі експериментальних досліджень також було встановлено, що кадмій за умов інтоксикації призводить до активації експресії генів раннього реагування c-fos і c-myc, які є протоонкогенами, в тканині печінки експериментальних тварин [149].

Токсична дія кадмію на печінку призводить до зниження активності в плазмі крові церулоплазміну – одного з основних компонентів системи антиоксидантного захисту організму, який, до того ж, регулює концентрацію катехоламінів в плазмі крові. У дослідженні Шорнікової Н.І. і

співавт. (2013) було встановлено, що хронічний вплив кадмію сприяє вираженому зниженню активності церулоплазмину в плазмі крові. Автори пояснюють дане явище тим, що токсичні речовини індукують надлишкове утворення біогенних амінів, які блокують активні центри церулоплазмину, що й призводить до інактивації зазначеного ферменту [152, 153].

### **1.3. Оцінка кадмій-індукованих змін чоловічої гіпоталамо-гіпофізарно-гонадальної системи та потенційні напрямки їх корекції**

Кадмій-асоційовані розлади функціональної активності гіпоталамо-гіпофізо-гонадальної системи у чоловіків проявляються порушенням як гормональної регуляції репродуктивної системи, так і функціонування епітеліосперматогенного шару сім'яних залоз, спричиняючи патологічні зміни і кількісного, і якісного складу сперми [154, 155, 156].

Результати численних ретроспективних і описових досліджень свідчать, що за останні десятиліття не лише значно знизилися показники еякуляту [157, 158], але й суттєво скоротилася кількість сперматозоїдів з нормальною рухливістю і морфологією [159]. За останні 50 років відзначено зменшення кількості сперматозоїдів і обсягу сперми в середньому на 2% в рік, а також зниження вмісту в крові основного статевого гормону чоловіків – тестостерону – в 1,5-2 рази відносно показників фізіологічної норми. У багатьох промислово розвинених країнах спостерігається неухильне зростання частоти чоловічого ідіопатичного безпліддя [160, 161], що з урахуванням паралельного збільшення ступеня забруднення навколишнього середовища свідчить про наявність тісних кореляційних зв'язків між зростанням рівня поллютантів (в т.ч. кадмію) в повітрі, ґрунтах, воді, продуктах харчування тощо та погіршенням чоловічої репродуктивної функції.

Згідно результатам досліджень, виконаних ще на рубежі ХХ – ХХІ століття, кадмій виявляє пряму токсичну дію як на центральну, так і на

периферичну ланку гормональної регуляції сперматогенезу в системі гіпофіз-гіпоталамус-сім'яники [162, 163].

Тестикули (сім'яники) – чоловічі статеві залози, особливістю гістологічної будови яких є анатомічна і фізіологічна компартменталізація їх паренхіми, в якій виділяють звивисті сім'яні каналці, окреслені власною оболонкою, та інтерстицій, розташований між ними (сперматогенний і стероїдогенний компартменти). Представниками сперматогенного епітелію є клітини Сертолі (Sertoli cells – SCs, суспендоцити, підтримувальні клітини), які виконують опорну, бар'єрну, трофічну, фагоцитарну, секреторну, координуючу функцію та беруть участь в ендокринних взаємовідношеннях. Інтерстиційні ендокриноцити, або ж клітини Лейдіга (Leydig cells – LCs) у складі стероїдогенного компартменту паренхіми продукують чоловічі статеві гормони (тестостерон і його похідні) і пептидний гормон – інсуліноподібний фактор 3 (INSL3), який впливає на диференціацію ембріональних клітин Лейдіга, діє на специфічні рецептори зв'язування яєчка в паховій області черевної порожнини і викликає їх початкове опущення [164, 165].

Суспендоцити відіграють важливу роль у формуванні структури звивистих сім'яних каналців яєчка у внутрішньоутробному та неонатальному періодів [165]. При усуненні впливу клітин Сертолі у яєчках новонароджених мишей структура каналців втрачається, що ініціює значне уповільнення розвитку клітин Лейдіга у «дорослому» яєчку, де SCs необхідні для підтримки сперматогенезу, а їх «деактивація» може призвести до втрати статевих клітин [166]. Крім того, у внутрішньоутробному періоді у плода суспендоцити виділяють антимюллерівський гормон, який спричиняє регрес мюллерової протоки [167]. Рівень SCs у внутрішньоутробному періоді гризунів і ссавців зростає експоненціально, сповільнюється після народження і досягає рівня дорослого в період статевого дозрівання [168].

Кадмій впливає на розвиток клітин Сертолі як у внутрішньоутробному, так і неонатальному періоді. Так, одноразова



внутрішньочеревна ін'єкція навіть низьких доз Cd самкам щурів на 12 день вагітності ослабляє регуляцію експресії генів DHH та FSHR суспендоцитів, хоча це не впливає на їх кількість [169]. Вплив кадмію (1-2 мг/кг) у вагітних самок гризунів може спричинити вакуолізацію клітин Сертолі та втрату статевих клітин у сперматогенному епітелії дорослих особин, пригнічує проліферацію, індукує апоптоз та пошкодження ДНК незрілих SCs в яєчках поросят [170].

У «дорослих» яєчках клітини Сертолі відіграють ключову роль у підтримці самовідновлення та диференціації сперматогоній у зрілі сперматозоїди, забезпечуючи основний зв'язок між інтерстицієм та сперматогенним епітелієм звивистих сім'яних каналців [171]. Суспендоцити дорослих особин є «мішенню» кадмію: так, у щурів, які зазнали одноразової дози токсиканта 3 мкмоль/кг, виявляють вакуолізацію в цитоплазмі SCs та фрагментарну конденсацію хроматину в пізніх сперматидях [172]. Результати досліджень в галузі молекулярної біології вказують на те, що кадмій викликає зміни цитоскелету SCs-актину, порушуючи організацію F-актину в клітинах Сертолі шляхом впливу на експресію актинових регуляторних білків Arp3 та Eps8 *in vitro* [173].

«Мішенню» токсичного впливу кадмію є також гематотестикулярний бар'єр (blood-testis barrier ВТВ), який у яєчках ссавців розмежовує область спеціалізованого контакту між сусідніми клітинами Сертолі базальної мембрани в звивистих сім'яних каналцях [174]. Кадмій «атакує» ВТВ, викликаючи дефрагментацію актинових ниток суспендоцитів у гризунів та людини [175], порушує його функції в яєчках щурів *in vivo*, впливаючи на активність трансформуючого фактора росту  $\beta 3$  (TGF- $\beta 3$ ), який, у свою чергу, індукує передачу сигналів кінази p38 MAPK – важливого компоненту каскаду мітогенактивуючих протеїнкіназ (МАРК) [177].

Токсична дія кадмію на гематотестикулярний бар'єр реалізується також внаслідок його впливу на фокальну адгезійну кіназу (Focal adhesion kinase FAK) – нерцепторну білкову тирозинкіназу регуляції ВТВ [177], яка

змінює активність білків, зокрема, окклюдину та ZO-1, у яєчках щурів [178]. Кадмій гальмує зниження експресії FAK, тому її «нокдаун» в суспензіях з функціонально щільним контактом може захистити клітини Сертолі від Cd-індукованого ушкодження [179].

Кадмій негативно впливає і на сперматогенез. Результатами досліджень авторського колективу під керівництвом Cupertino M.C. і співавт. (2017) доведено, що гризуни, які зазнавали одноразового прийому (0,67–1,1 мг/кг) кадмію протягом 7 днів, демонстрували дезорганізацію сперматогенного епітелію звивистих сім'яних каналців [178]. За свідченням Nna V.U. і співавт. (2017), після чотирьохтижневого перорального введення Cd дозою 5 мг/кг кількість сперматозоїдів, їх рухливість та життєздатність протягом 28 днів значно знижувалися [179]. Результатами, отриманими Rajendar et al. (2012), показано, що чотирьохтижневий вплив кадмію (3 мг/кг, раз на тиждень) також індукував ушкодження сім'яних каналців та виснажував статеві клітини [180].

Токсична дія кадмію проявляється і по відношенню активності зрілих сперматозоїдів. Як зазначають Zhao et al. (2017), після обробки сперми людини та миші *in vitro* цим токсикантом надзвичайно зменшувалася її рухливість. При цьому короткочасна експозиція Cd (30 хв.) не впливала на рухливість сперми, однак суттєво знижувала швидкість запліднення яйцеклітини *in vitro* та затримувала ранній ембріональний розвиток у мишей, що припускає епігенетичну дію кадмію [181].

Результатами низки наукових робіт продемонстровано негативний вплив кадмію на фертильність людини і підтверджено позитивну кореляцію між цим токсикантом та чоловічим безпліддям [182, 183]. Зокрема, доведено, що концентрація кадмію у сироватці крові у хлопчиків з гіпоспадією значно вища, ніж у їх здорових однолітків [184]. Аналізом причин безпліддя (501 випадок) у Роквіллі, Сполучені Штати, також показано наявність аномально високого рівня Cd у сироватці крові дорослих чоловіків цих подружніх пар [185]. Ще більш вагомі докази кореляційного

зв'язку між високим рівнем кадмію у спермі та чоловічим безпліддям були надані результатами мета-аналізу Zhang Y. et al. (2019) [169]. Оцінка рівня сечових маркерів окисного стресу, якості сперми та вмісту миш'яку, кадмію та свинцю в сечі 1020 чоловіків, проведена He Y. et al. (2020) вказує на те, що більш високі концентрації зазначених токсикантів негативно впливають на якість сперми, однак виявляють позитивну кореляцію з підвищеними маркерами окисного стресу [186].

Кадмій також спричиняє розвиток патологічних змін ендокринної системи чоловіків. Так, Chen C. et al. (2016) повідомляли, що існує позитивний кореляційний зв'язок між концентрацією Cd у крові з рівнем SHBG (Sex hormone-binding globulin) – глобуліну, який зв'язує статеві гормони [187]. Kresovich J.K. et al. (2015) на підставі результатів аналізу чоловічої популяції (за даними національного обстеження здоров'я та харчування (NHANES) 1999-2004 рр. щодо вмісту кадмію та SHBG у крові) також виявили, що концентрація Cd у крові позитивно асоціюється з рівнем SHBG [188].

Авторами низки експериментальних досліджень встановлені механізми Cd-індукованих ендокриноцито-ушкоджуючих ефектів, пов'язаних з токсичним впливом кадмію на інтерстиційні клітини Лейдіга (Leydig cells – LCs) у складі стероїдогенного компартменту паренхіми.

Відомо про існування двох популяцій LCs у гризунів: фетальні клітини Лейдіга (fetal Leydig cells, FLCs) та клітини Лейдіга статевозрілих особин (adult Leydig cells, ALCs). Shima Y. et al. (2015) зазначають, що FLCs з часом піддаються апоптозу і поступово зникають, хоча деякі з них зберігаються і в «дорослому» яєчку [189]. FLCs відіграють важливу роль у розвитку репродуктивного тракту чоловіків, продукуючи чоловічі статеві гормони (тестостерон і його похідні) і пептидний гормон – інсуліноподібний фактор 3 (INSL3). Тестостерон сприяє розвитку як внутрішніх, так і зовнішніх статевих органів плода чоловічої статі, розвитку протоки Вольфа

та сім'явивідної протоки [190], а INSL3 викликає початкове опущення яєчок, регулюючи вкорочення gubernaculum [191].

ALCs з'являються в кінці другого тижня після народження у мишей і щурів і підвищують експресію деяких LCs-стероїдогенних ензимів, зокрема, фермента розщеплення бічного ланцюга цитохрому P450 (Cyp11a1) і 3 $\beta$ -гідроксистероїддегідрогенази (Hsd3b, Hsd3b6 у мишей та щурів). Крім того, ALCs також підвищують експресію рецептора лютеїнізуючого гормону (Luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor, LHCGR), ліпопротеїнового рецептора високої щільності (Scavenger receptor class B type 1, SRB1) і стероїдогенного гострого регуляторного білка (Steroidogenic acute regulatory protein, StAR) [192].

На думку Wang Y. et al. (2019), перинатальний вплив поллютантів навколишнього середовища може спричинити розвиток синдрому дисгенезії яєчок (testicular dysgenesis syndrome, TDS) [193]. Так, у чоловічого потомства вагітних самок щурів, які отримували внутрішньовенну разову дозу кадмію 0,25, 0,5 та 1,0 мг/кг, значно зменшувалась кількість фетальних клітин Лейдіга, знижалась регуляція експресії генів FLCs (LHCGR, SRB1, StAR, Cyp11a1, Hsd3b1 і Cyp17a1), а також скорочувалась аногенітальна відстань [170].

Кадмій також виявляє несприятливий вплив на розвиток і функцію ALCs. Зокрема, у статевозрілих самців мишей, які протягом півроку вживали їжу, що містила Cd (близько 1-2 г на тварину), спостерігалася недостатня секреція тестостерону і низька експресія StAR, Cyp11a1 та Cyp17a1 [193]. В сироватці крові щурів після семиденного впливу одноразової дози кадмію 0,67–1,1 мг/кг рівень чоловічого статевого гормону також значно знижувався [185]. Результатами досліджень авторського колективу під керівництвом Wu X. і співавт. (2017) доведено, що у статевозрілих самців щурів, які зазнали дії кадмію 0,5 або 1,0 мг/кг, спостерігалася суттєва затримка регенерації LCs, нижчі рівні тестостерону і регульована знижена експресія LHCGR, SRB1, StAR, Cyp11a1, Hsd3b1,

Cyp17a1 та Hsd17b3 [194]. Подальші дослідження *in vitro* показали, що кадмій також знижує синтез чоловічого статевого гормону і цілісність ДНК клітин Лейдіга [195].

Результатами досліджень Zhang Q. et al. (2011) встановлено залежність зменшення вмісту цАМФ і зниження експресії дигідроліпоаміддегідрогенази в пухлинних клітинах R2C, що походять з лейдіговських клітин, від концентрації кадмію [196]. Крім того, за свідченням Leite R. et al. (2015), Cd також індукував розвиток пухлинного росту LCs і ушкоджував клітини судин [197].

З'являється все більше доказів того, що механізм, яким опосередковується Cd-індуковані порушення фертильності чоловіків, пов'язаний з продукцією активних форм кисню (АФК) у яєчках. Гомеостаз АФК підтримується продукуванням гідроксильних, пероксильних та гідропероксильних радикалів тощо та системою антиоксидантного захисту. Порушення цього гомеостазу і призводить до окислювального стресу, який перешкоджає розвитку та функціонуванню сперми і соматичних клітин або індукує їх апоптоз [198].

Кадмій індукує генерацію АФК в яєчку. Вплив Cd дозою 6,5 мг/кг на статевозрілих щурів протягом 5 днів ініціює окислювальний стрес, викликаючи посилення процесів перекисного окислення ліпідів та зниження рівня каталази, супероксиддисмутази (SOD), глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази, тим самим активуючи експресію про-апоптотичного BCL-2-асоційованого-X-білка (Bax) та фактора некрозу пухлини- $\alpha$  і ослаблюючи експресію антиапоптотичного гена Bcl2 в яєчку [199]. Mahmoudi R. et al. (2018) зазначають, що у щурів, які піддавалися впливу кадмію дозою 1,5 мг/кг протягом 13, 25 та 39 днів, спостерігалось збільшення продукції АФК, звуження звивистих сім'яних каналців, зменшення кількості сперматогоній, суспендоцитів та клітин Лейдіга, а також зменшення рухливості та кількості сперми і пригнічення синтезу тестостерону [200].

Вплив кадмію на статевозрілих щурів-самців після введення одноразової дози 2 мг/кг протягом доби індукує генерування АФК і зменшує активність SOD і каталази в яєчку, тим самим дестабілізуючи гематотестикулярний бар'єр і аскорбінову кислоту, яка може антагонізувати Cd-асоційованому ушкодженню ВТВ за рахунок пригнічення активації TGF- $\beta$ 3 та фосфорилування кінази p38 MAPK [201]. За свідченням Pandya C. et al. (2012), після внутрішньовенних ін'єкцій кадмію дозою 0,025 мг/кг/добу протягом 15 днів збільшувалася продукція АФК і знижувалась активність SOD, каталази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази та глутатіон-S-трансферази в мітохондріях, що спричиняло значне ослаблення експресії LCs-стероїдогенних ферментів (Hsd3b1 та Hsd17b3) та синтезу тестостерону [202]. Продемонстровано також, що у щурів, які піддавалися дії Cd 3 мг/кг один раз на тиждень, протягом 28 діб розвивалося звуження звивистих сім'яних каналців та виснаження ресурсу сперматозоїдів, збільшення багатоядерних гігантських клітин та дегенерація LCs на тлі аномально низької активності СОД, каталази і глутатіона GSH [203].

Результатами експериментальних досліджень авторського колективу під керівництвом Ганусової Г.В. (2016) було виявлено підвищення вмісту ТБК-реагуючих продуктів (121%) у сім'яниках щурів на тлі хронічного введення хлориду кадмію, що також свідчить про порушення балансу в системі прооксиданти-антиоксиданти [204].

Система *in vitro* також достовірно демонструє здатність кадмію індукувати продукцію АФК у різних клітинах яєчка. Вивченням субкультури SCs-зародкових клітин *in vitro* показано, що Cd-індуковане утворення активних форм кисню зменшує рівень GSH, викликаючи вивільнення цитохрому C, активацію каспази-3 та апоптоз клітин Сертолї [205]. Вплив 10–160  $\mu$ M кадмію на пухлинні клітини R2C щурів, які є похідними лейдіговських клітин, протягом 24 годин також спричиняв пошкодження мітохондрій та знижував рівень експресії StAR, після чого

гальмував секрецію стероїдів, ймовірно, шляхом підвищення рівня АФК та зниження активності SOD<sub>2</sub> [206].

Експозиція кадмію до клітин Лейдіга мишей лінії TM3 також знижувала життєздатність LCs і посилювала їх апоптоз, обумовлений збільшенням продукції АФК, фосфорилуванням JNK (с-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase) по N-кінцевих доменах та експресією с-Jun, активуючи в подальшому розщеплену форму каспази-3 і полі(ADP-рибозил)полімерази PARP, в той же час ослаблюючи експресію антиапоптотичного гена Bcl2 [207]. До того ж, вплив кадмію на клітини Лейдіга мишей лінії TM3 проявлявся зниженням активності SOD<sub>2</sub> та GSH в редокс-чутливій сигнальній системі Nrf2/ARE, яка відіграє провідну роль у підтримці внутрішньоклітинного гомеостазу при окислювальному стресі, гальмуючи тим самим продукцію тестостерону [208].

Хоча цікаві епігенетичні ефекти після експозиції кадмію спостерігаються, насамперед, на зародковій лінії [209], індуковані навколишнім середовищем епігенетичні зміни, пов'язані з безпліддям, описуються і в соматичних клітинах (зокрема, клітинах Сертолі та клітинах Лейдіга), які підтримують сперматогенез. Так, кадмій в дозах 1, 2 або 4 мг/кг/день у щурят на 3–7 добу після народження спричиняв аномальне метилювання ДНК, посилюючи апоптоз сперми та виявляючи деградацію сім'яних каналців через на 70 днів [210]. За свідченням Nakayama S.M. et al. (2019), вплив на щурів забрудненого кадмієм ґрунту протягом 1 року призводив до накопичення токсиканта і підвищував як статус метилювання в усьому геномі, так і експресію ДНК-метилтрансферази (DNA methyltransferases A/3B, DNMT 3A/3B) в яєчках [210].

Натепер загально визнано, що тестикули ссавців надто чутливі до токсичного впливу кадмію, який призводить до змін біохімічної функції чоловічих статевих залоз, Cd-індукованої травми яєчка. Кадмій індукує вироблення АФК і зменшує активність антиоксидантних ферментів, викликає вакуолізацію та руйнування сперматогенного епітелію, аномальні

зміни ультраструктури клітин Сертолі, тим самим створюючи передумови для порушень морфо-функціональної організації гематотестикулярного бар'єра і сперматогенезу. Кадмій порушує розвиток і функцію клітин Лейдіга, викликаючи ушкодження їх ДНК та апоптоз, а також ослаблюючи регуляцію експресії генів, пов'язаних зі стероїдогенезом, що призводить до зниження секреції тестостерону [211].

Зважаючи, що ключовий механізм розвитку Cd-індукованої травми яєчка пов'язаний з продукцією активних форм кисню, всі антиоксиданти, зокрема, вітамін С, вітамін Е [212], селен [213], цинк [214], екстракт *Fragaria ananassa* [215], *Ficus religiosa* [216], *Paullinia cupana*, ціанідин-3-О-глюкозид, N-ацетил-L-цистеїн, сульфорафан, кверцетин та зелений чай повинні частково чи повністю усувати гонадотоксичні ефекти, опосередковані негативним впливом кадмію.

Перспективним напрямком попередження та корекції проявів Cd-індукованої травми яєчка можна вважати пошук та подальше застосування біоантогоністів кадмію. Передумовою такого припущення є результати робіт низки українських учених-дослідників, якими доведено модифікуючу дію сукцинату цинку (Шамелашвілі К.Л. і співавт., 2020) [217], сукцинату міді (Руденко К.М., 2020) [218], цитрату селену та германію (Нефьодов О.О. і співавт., 2019) [219], цитрату церію (Шаторна В.Ф. і співавт., 2020) [220], нанокompозиту йод + сірка (Шаторна В.Ф. і співавт., 2019) [221] на ембріотоксичність хлориду кадмію та модифікуючий вплив цитратів церію, германію і нанокompозиту йод + сірка (Нефьодова О.О. і співавт., 2020) [222] на кардіотоксичність солей кадмію в експерименті.

Отже, зв'язок між накопиченням кадмію в організмі та станом репродуктивної функції чоловіків заслуговує особливої уваги, оскільки проблема чоловічого безпліддя з кожним роком набуває особливої медико-соціальної значимості у всьому світі. Накопичення токсиканта в яєчках та передміхуровій залозі проявляється порушенням як гормональної регуляції репродуктивної системи, так і функціонування епітеліосперматогенного



шару сім'яних залоз, спричиняючи погіршення продукції кількості та якості сперми. Враховуючи вищевикладене, експериментальне вивчення, аналіз та оцінку спектру морфологічних змін яєчок, індукованих накопиченням кадмію, та пошук його нових біоантагоністів з метою попередження та корекції проявів Cd-індукованої травми сім'яників ми вважали актуальним та перспективним напрямком подальших досліджень.

**Представлені результати аналізу світової наукової літератури оприлюднені у публікаціях:**

1. Нефьодова ОО, Грузд ВВ, Гальперин ОІ, Бойко ОВ. Кадмій-індуковані зміни яєчок: актуальний погляд на сучасний стан проблеми. Вісник проблем біології та медицини. 2021;1 (159): 297-301.

2. Vlada Gruzd, Hanna Frolova, Zoya Alekseyenko Testicular changes under the influence of cadmium in combination with metal succinates: modern view of the problem (literature review). Modern Science - Moderni veda. 2021;3: 108-115.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Експериментальне дослідження планували та проводили відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого положення» № 3447-IV, 2006 р., Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах»; Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та в інших наукових цілях (Страсбург, 18 березня 1986 г.); Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes; Положення Всесвітньої медичної асамблеї про використання тварин в біомедичних дослідженнях (Гонконг, вересень 1989 р.). Комісією з біоетики ДДМУ (Протокол № 16 від 21.02.2024), встановлено, що проведені наукові дослідження з використанням експериментальних тварин відповідають етичним вимогам.

Експериментальні дослідження проведені на 111 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar (розплідник «Далі-2001» місто Київ, Україна). Відповідно до санітарно-гігієнічних норм, утримання експериментальних тварин здійснювалося у віварію Дніпровського державного медичного університету (ДДМУ), м. Дніпро відповідно до стандартів: температурний режим повітря  $22 \pm 2$  °C, вологість не менш 50%, світлий / темний цикл 12 / 12 годин, їжа та пиття *ad libitum*. Молоді щури після транспортування та карантину (2 тижні) не мали ушкоджень на шкіряних покривах та вухах, були здорові, активні, добре споживали їжу. Під час утримання, експерименту та оперативного вилучення тварин з експерименту ми дотримувались усіх етичних норм поведінки з лабораторними тваринами.

**Постановка експерименту.** Експеримент планувався і проводився як хронічний зі щоденним впливом досліджуваних речовин впродовж 30 діб. Моделювання впливу хлоридом кадмію та розчинами сукцинатів металів на організм самців і морфогенез яєчка у щурів проводили за наступним планом. Усі дослідні тварини були нами розділені на 4 групи, окрім контрольної групи– щури, яким вводили фізіологічний розчин, створювались 3 групи дослідних:

дослідна група ізольованого введення розчину хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг;

дослідна група комбінованого введення розчину хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг та розчину сукцинату цинку в дозі 5 мг/кг;

дослідна група комбінованого введення розчину хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг та розчину сукцинату заліза в дозі 10 мг/кг;

Таблиця 2.1

Кількісний розподіл тварин за групами і термінами експерименту

Група	Термін експерименту			усього
	14-та доба	20-та доба	30-та доба	
Контроль	7	7	7	21
Вплив хлориду кадмію	10	10	10	30
Вплив хлориду кадмію + сукцинату цинку	10	10	10	30
Вплив хлориду кадмію + сукцинату заліза	10	10	10	30

Введення досліджуваних розчинів проходило внутрішньошлунково, зондуванням, щоденно в один той самий час зранку. Нами враховувалось обмеження об'єму речовини, що вводиться згідно з правилами

експериментальних введень на щурах. І при ізольованому впливі ксенобіотика, і при впливі в комбінації з сукцинатами заліза або цинку, об'єм введення не перевищував 0,5 мл, що не призводить до розтягування шлунку дослідної тварини і не привносить побічного впливу механічного ефекту.

Для вирішення поставлених завдань в експериментальних моделях використовували іонний розчин хлориду кадмію, а також розчини сукцинату цинку та сукцинату заліза, отриманих із застосуванням аквананотехнології. Сукцинат заліза та сукцинат цинку були наноаквахелатними з'єднаннями з межою розмірів від 20 нм до 50 нм. Розробником є Київський науково-дослідний інститут Нанобіотехнологій та ресурсозбереження України (м. Київ), дослідники якого створили пріоритетний нанотехнологічний напрямок, завдяки чому були отримані надчисті сукцинати та цитрати основних харчових кислот біогенних металів (заліза, цинку, міді, магнію, та ін.). Дана технологія є запатентованою «Спосіб Каплуненка-Косінова отримання карбоксилатів з використанням нанотехнології» патент 49050 від 12.04.2010 року. Експериментальне дослідження виконувалось згідно з договором про наукову співпрацю з Науково-дослідним інститутом Нанобіотехнологій та ресурсозбереження України (НДІНРУ).

Нами обрано саме іонну форму хлориду кадмію, як агенту впливу, для моделювання хронічної інтоксикації дослідних тварин через широке його розповсюдження в довколишньому середовищі промислових регіонів, при цьому кадмій має політропну токсичну дію, впливає на морфофізіологічний і біохімічний стан, має здатність накопичуватись в організмі, зокрема в паренхімних органах. У сучасних умовах важливого значення набуває розробка принципово нових ефективних профілактичних заходів, спрямованих на підвищення резистентності організму до дії несприятливих чинників шляхом використання екологічно безпечних препаратів, природних метаболітів. Вони не створюють ксенобіотичних ефектів, мають

адаптогенні властивості, їхня дія на організм відрізняється високою фізіологічністю. До таких препаратів відноситься бурштинова кислота, яка є метаболітом циклу Кребса. В останні роки солі бурштинової кислоти лужних і лужноземельних металів почали інтенсивно застосовуватися в медицині як лікарські засоби, що активують процеси обміну речовин і працездатність людини, протипухлинні, протівірусні, антиалергічні тощо. Відомо застосування їх і у ветеринарії як кормові добавки в птахівництві, свинарстві і т.д. Але на теперішній час недостатньо вивчено фізико-хімічні властивості, розчинність сукцинатів та їх фармако-токсикологічні властивості. Відомостей, наукових повідомлень щодо експериментального вивчення антагоністичних характеристик сукцинатів щодо дії важких металів вкрай мало, вони є розрізненими і суперечливими, а також відрізняються за дозою впливу і способом введення. Тому нами обрано саме сукцинати заліза та цинку для виявлення потенційних можливостей знижувати гонадотоксичність кадмію при одночасному введенні в хронічному експерименті на щурах.

**Методи дослідження.** Результати хронічного впливу досліджуваних чинників оцінювали на 14-ту, 20-ту і 30-ту доби дослідження, тварин виводили з експерименту способом передозування ефірним наркозом, вилучали яєчка, відсікали над'яєчко, проводили вимірювання, зважування, протоколювання (рис.2.1). Для того, щоб знайти видимі морфологічні зміни органи оглядали, потім фотографували і фіксували відібраний матеріал у нейтральному 10 % розчині формаліну для подальшого гістологічного та морфогістометричного дослідження. Для поліелементного аналізу зразки залоз без фіксації підлягали заморожуванню.

Враховуючи специфіку поставлених завдань, у цьому дослідженні була проведена кількісна оцінка наступних морфологічних показників:

- вагові показники щура в цілому (г),  $M \pm m$ ;
- вагові показники яєчка (волога вага) (мг),  $M \pm m$ ;
- індекс маси яєчка щура (%),  $M \pm m$ , який розраховувався за формулою:

$$\text{ІМЯ} = \frac{m}{M} \times 100\%$$

де: ІМЯ – індекс маси яєчка;

$m$  – маса яєчка (г);

$M$  – маса щура (г).

Морфометричні вимірювання яєчка:

- ширина (см),  $M \pm m$ ;
- довжина (см)  $M \pm m$ ;



**Рис. 2.1.** Вилучення яєчка під час оперативного забою самця щура контрольної групи на 14-й добі експерименту. Фото яєчка зроблено на лінійці для співставлення розмірів.

Для виконання гістологічного дослідження фіксовані у нейтральному формаліні залози зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації та заливали в парафінові блоки для виготовлення серійних гістологічних зрізів, які забарвлювались оглядовими гістологічними барвниками. Відповідно до мети та завдань гістологічними дослідженнями визначались зміни

паренхіми яєчка під мікроскопом, фотографували та проводили виміри гістологічних структур для порівняння з контролем. Для отримання цифрових зображень з подальшим обчисленням розмірів структур паренхіми яєчка нами використовувалася камера для світлової мікроскопії фірми ZEISS AxioCam ERc 5s з адаптером P95-C 1/2" 0,5x, приєднана до мікроскопу Primo Star компанії ZEISS. Визначення розмірів структур паренхіми яєчка 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 обчислення площі структур.

Морфолого-математичний аналіз виявлених структурно-функціональних зсувів є складовою частиною комплексного морфологічного дослідження. Аналіз складається з декількох етапів, кожний з них вирішує певні специфічні завдання. Для визначення необхідного об'єму вибірки заздалегідь визначали наближене значення середньої арифметичної і середнього квадратичного відхилення:

$$x = \frac{x_{\max} + x_{\min}}{2} ;$$

$$s_x = \frac{x_{\max} + x_{\min}}{K} ,$$

де:  $x$  – середня арифметична;

$x_{\min}$  і  $x_{\max}$  – ліміти значень параметра;

$s_x$  – середнє квадратичне відхилення;

$K$  – коефіцієнт, що встановлюється в залежності від об'єму вибірки.

Визначення необхідного об'єму вибірки встановлювали за формулою:

$$n = \frac{t^2 s_x^2}{\Delta^2} ,$$

де:  $n$  – чисельність вибірки;  
 $t$  – нормоване відхилення, з яким пов'язаний той чи інший рівень значущості;

$s_x$  – вибіркова дисперсія;

$\Delta$  - величина, що визначає межі довірчого інтервалу.

У тому випадку, якщо отримане в роботі статистичне розподілення відповідало нормальному розподіленню Гауса, стереологічні дані зазнавали статистичної обробки, що включала визначення наступних характеристик:  $\bar{x}$  - середня арифметична;  $s_x^2$  - дисперсія;  $s_x$  - середнє квадратичне відхилення;  $C_v$  - коефіцієнт варіації;  $s_s$  - помилка середнього квадратичного відхилення. Для обчислення вказаних характеристик використовували стандартні формули:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i ;$$

$$s_x^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n} ;$$

$$s_x = \sqrt{s_x^2} ;$$

$$C_v = \frac{s_x}{\bar{x}} \cdot 100 ;$$

$$s_s = \frac{s_x}{\sqrt{2n}} ,$$

де  $n$  – об'єм вибірки;

$x_i$  – варіанти вибірки.

Визначення достовірності відмінностей між вибірками проводили з урахуванням критерію  $t$  Стюдента, що розраховувався за формулою:

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_{s1}^2 + m_{s2}^2}} ,$$

де  $M_1$  та  $M_2$  - середні арифметичні вибірок, що порівнюються;



$m_{s1}$  та  $m_{s2}$  – помилки відповідних квадратичних відхилень.

Нульова гіпотеза відкидалася за умови, що критерій  $t$  Стьюдента перевищував табличні значення для відповідних ступенів свободи і 5%-го рівня значущості.

Статистичне опрацювання та аналіз результатів виконані за загальноприйнятими методиками з використанням ліцензійних програм статистичного аналізу Statistica v.6.1 (StatSoft Inc., серійний №AGAR909E415822FA) та Microsoft Excel. Оцінку вірогідності статистичних досліджень проводили за допомогою  $t$ -критерію Стьюдента. Відмінності між групами вважалися достовірними при значенні  $p < 0,05$ .

Пакет Statistica – це універсальний пакет статистичного аналізу, в якому реалізовані основні математичні методи аналізу даних. Розробником пакету є фірма StatSoft, Inc (США). Statistica дозволяє проводити різні процедури обробки статистичних даних: розрахунок описових статистик, регресія, факторний аналіз. За допомогою вбудованої мови програмування Statistica Basic можна створювати рішення, які просто інтегруються до інших додатків. В свою чергу Microsoft Excel також є програмним продуктом, який широко використовується в медицині для обробки та аналізу даних. Являється електронною таблицею, яка надає медичним фахівцям, дослідникам та іншим медичним працівникам зручні інструменти для маніпулювання, організації та аналізу медичних даних. Excel дозволяє виконувати різноманітні обчислення, створювати графіки та діаграми, виконувати статистичний аналіз даних, а також візуалізувати медичні дані для кращого розуміння. Вона має широкий набір вбудованих функцій та формул, що дозволяють виконувати складні обчислення та статистичний аналіз без необхідності писати програми або скрипти. Заслуговує уваги той факт, що Microsoft Excel має опції для спільної роботи в інтерфейсі SPSS Statistics, що значно полегшує роботу та обчислення результатів дослідження, а також надає більше можливостей при цьому. Нормальність

розподілу (Normal distribution) перевіряли через визначення основних характеристик, а саме три міри центральної тенденції (середнє, медіану і моду), якщо вони збігаються – тобто середнє дорівнює медіані і дорівнює моді, розподіл називається нормальним. Кореляційний аналіз проводили за допомогою лінійної регресії Пірсона. Трактували коефіцієнт кореляції Пірсона значеннями від -1 до 1. Значення близькі до 1 вказували на позитивну лінійну залежність, де зі зростанням однієї змінної зростає інша. У результатах дослідження вважали достовірними тільки ті висновки, для яких значення  $p$  (рівень значущості) були менші за 0,05.

Математичне та комп'ютерне моделювання в сучасній медицині стали невід'ємними інструментами для дослідження. Створення спрощених математичних моделей реальних систем дозволяє нам отримувати часові залежності, які в свою чергу допомагають прогнозувати розвиток подій в цих системах. Це надає можливість передбачати поведінку організму чи медичного процесу, а також ідентифікувати потенційні шляхи подальшого розвитку досліджуваних процесів. Такий підхід дозволяє ефективніше планувати та впроваджувати стратегії лікування, а також досліджувати нові можливості для медичної практики. Для вивчення статистичних залежностей та розуміння взаємозв'язків між змінними в наукових дослідженнях та аналізі даних використовуються регресійний та кореляційний аналіз. Регресійний аналіз вивчає вплив однієї або декількох незалежних змінних (причинники або прогностичні змінні) на залежну змінну (результат або змінна, яку ми намагаємося передбачити). Він допомагає встановити наскільки сильно змінюється залежна змінна при зміні незалежної змінної, а також визначити форму і напрямок цього впливу. Кореляційний аналіз, з іншого боку, вивчає ступінь взаємозв'язку між двома або більше змінними без визначення причинно-наслідкових зв'язків. Він вказує на те, наскільки схожі або протилежні змінні між собою. Кореляційний аналіз допомагає встановити, чи існує статистично значимий зв'язок між змінними, а також оцінити силу та напрямок цього зв'язку.

## Метод атомної емісії з електродуговою атомізацією

Частина отриманого матеріалу досліджувалась шляхом поліелементного спектрального аналізу. Для визначення рівня накопичення яєчком щурів кадмію, як маркера хронічної інтоксикації та розповсюдженого екотоксиканта, а також можливих зсувів мікроелементів цинку і заліза при порівнянні до контролю ми проводили пробопідготовку зразків. Зразки відпрепарованого яєчка, звільнені від сполучної тканини не підлягали фіксації формаліном, згідно з вимогами пробопідготовки, а відразу заморожувались і вже в замороженому стані доставлялись до Українського науково-дослідного інституту медицини транспорту для визначення їх мікроелементного статусу.

Для аналізу динаміки накопичення ми використовували яєчка самців щура всіх піддослідних груп на 14-й, 20-тій та 30-й добі експерименту. Визначення особливостей накопичення кадмію, цинку та заліза в паренхімі яєчка щурів при ізольованому введенні та за умов корекції сукцинатами цинку та заліза проводили за допомогою поліелементного аналізу біологічних об'єктів методом атомної емісії з електродуговою атомізацією. Всі необхідні вимірювання проводилися в Державному підприємстві «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України (м. Одеса) згідно з договором про науково-творче співробітництво. Атомно-емісійний аналіз із дуговою атомізацією дозволяє проводити якісний та кількісний елементний аналіз проб практично будь-якої природи.

Суть атомно-емісійного методу аналізу полягає в наступному. Спеціально підготовлена проба міститься в лунку на одному з двох графітових електродів. Електрична дуга між електродами призводить до випаровування та атомізації проби, атоми, з яких складалася аналізована проба, під дією високої температури поглинають енергію та переходять у збуджений стан. У збудженому стані кожен атом знаходиться приблизно 1

мкс, після чого знову повертається до основного стану, виділяючи один або кілька квантів енергії (фотонів). Кожен хімічний елемент виділяє фотони з певною довжиною хвилі. Спектрометр уловлює світло, що походить від вольтової дуги, і розкладає його за допомогою дифракційних ґрат. У цьому фотони з різними довжинами хвиль відокремлюються друг від друга. З'являється можливість виміряти, скільки випромінюється фотонів із довжиною хвилі, що відповідає кожному хімічному елементу. Як наслідок, можна зробити висновок про кількість того чи іншого хімічного елемента аналізованої пробі.

Підготовка зразків і вимірювання вмісту металів в яєчках проводилося відповідно до ДСТУ 30823-2002. В якості розчинника використовувалася стандартна спектральна буферізуюча суміш по ДСТУ 30823-2002. Кількісне вимірювання вмісту металів в зразках проведено на атомно-емісійному спектрометрі Емас-200 CCD (повірений 30.11.2021, свідоцтво про перевірку 4707-ФГ). Атомно-емісійний спектрометр ЕМАС-200 CCD є сучасним аналітичним приладом, управляється комп'ютером і всі необхідні розрахунки виробляє самостійно за мінімальної участі оператора. Кількісне визначення в аналізованих об'єктах проводилось на довжині хвилі: кадмію 228,802 нм, цинку, - 213,856 нм, заліза - 238,204 нм. Оцінку вірогідності статистичних досліджень проводили за допомогою t-критерію Стьюдента. Відмінності між групами вважалися достовірними при значенні  $p < 0,05$

## РОЗДІЛ 3

### ЗМІНИ МІКРОЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ СТАТЕВИХ ЗАЛОЗ САМЦІВ ЩУРІВ ЗА ДАНИМИ ПОЛІЕЛЕМЕНТНОГО АНАЛІЗУ

Загальновідомо, що токсичність кадмію стосується репродуктивної функції та морфогенезу статевих залоз. Проблема екологічної детермінованості здоров'я населення є однією з найактуальніших проблем сучасності. В нашій країні на сьогоднішній день, як і в інших країнах, спостерігаються виражені процеси депопуляції населення, основними причинами яких є зниження народжуваності та підвищення смертності, обумовлені як соціальними, так і екологічними факторами. При цьому вченими та практичними лікарями, як правило, аналізуються лише клінічні аспекти проблеми, тоді як її екологічним та морфологічним складовим приділяється недостатньо уваги.

Недостатньо вивчено вплив солей кадмію на репродуктивну систему чоловіків, зокрема не визначено ступінь накопичення яєчком кадмію та не виявлені мікроелементні зміни в паренхімі яєчка при довготривалому впливі солями кадмію. Також актуальним аспектом новітніх наукових розробок є пошук нових біоантагоністів ксенобіотикам.

Для виконання поставлених завдань дослідження методом поліелементного аналізу визначався рівень накопичення яєчком щура кадмію, цинку та заліза на трьох зазначених термінах для порівняння з контрольною групою. Метою аналізу було виявлення можливого дисбалансу при ізольованому впливі хлоридом кадмію та визначення потенційних біоантагоністичних властивостей сукцинатів цинку та заліза при комбінованому введенні з кадмієм.

У цьому розділі нами представлено дані з накопичення досліджуваних мікроелементів, отримані поліелементним методом на 14-ту, 20-ту та 30-ту добу хронічного експерименту.

Як показав аналіз та порівняння отриманих даних, вже на 14-ту добу експерименту щоденного внутрішньошлункового введення дослідних речовин, рівень кадмію в паренхімі яєчка групи ізольованого введення кадмію достовірно зростав ( $p \leq 0,001$ ) у 1,9 разів (рис.3.1), тобто, паренхіма статевої залози щура досить активно накопичує в собі кадмій. А в групах комбінованого введення кадмію з сукцинатами металів аналіз і порівняння вже на 14-ту добу продемонстрували зниження рівня накопичення кадмію яєчком дослідних тварин (рис.3.1).

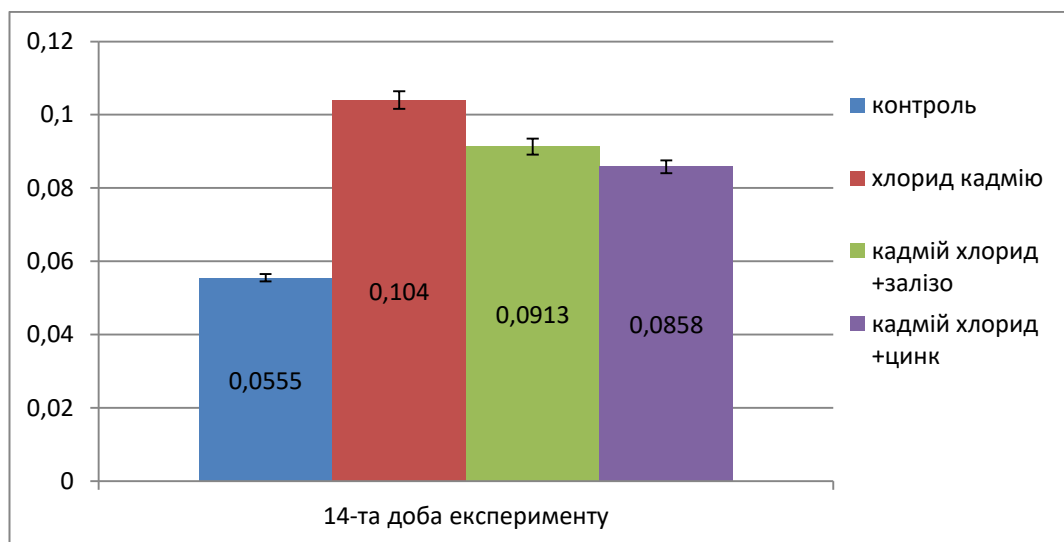


Рис.3.1. Накопичення кадмію (мкг/г) в яєчках щурів у всіх піддослідних групах на 14-ту добу експерименту.

Незважаючи на той факт, що всі тварини окрім контрольної групи отримували щоденно одну і ту саму дозу кадмію, рівень накопичення кадмію в яєчках в групах комбінованого введення мав тенденцію до зниження. Показник в групі комбінації кадмію з залізом був достовірно вищий за контроль ( $p \leq 0,001$ ), але достовірно нижчий ( $p \leq 0,05$ ) за показник кадмію в групі ізольованого введення. Така ж тенденція визначалась і у групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку.

На 20-ту добу експерименту спостерігалось підвищення рівня кадмію в зразках контрольної групи, хоча різниця не була достовірною. В групі ізолюваного введення хлориду кадмію зберігалась тенденція до накопичення паренхімою яєчка цього мікроелемента і показник був найвищим -  $0,1656 \pm 0,00446$  мкг/г (рис.3.2). Рівень цього мікроелемента у 2,4 рази перевищував контрольний показник, що свідчить про затримку кадмію паренхімою статевої залози.

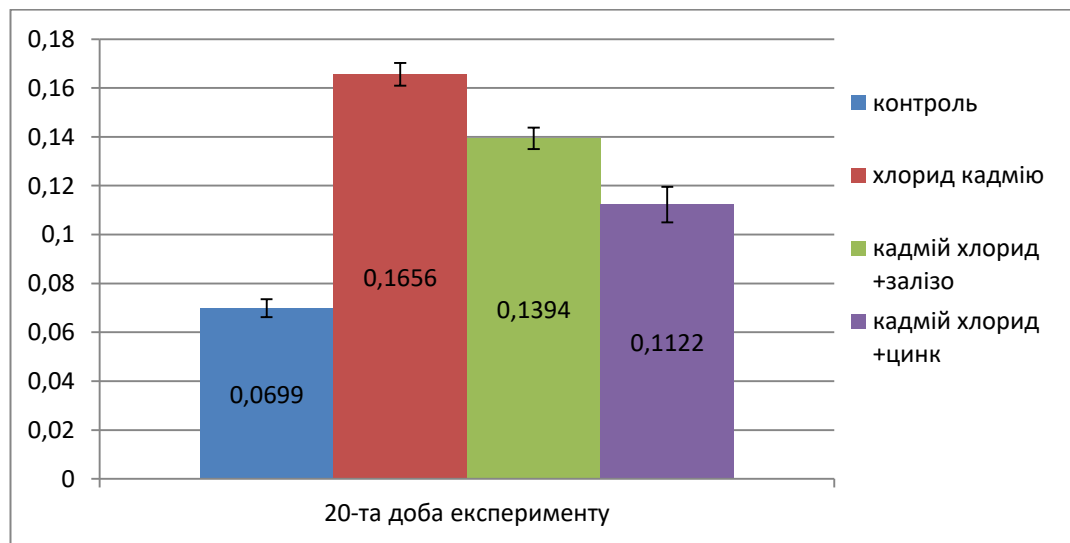


Рис.3.2. Накопичення кадмію (мкг/г) в яєчках щурів в піддослідних групах на 20-ту добу експерименту.

Відповідно в групах комбінованого введення рівень кадмію в статевій залозі був вищим за контрольні показники, але нижчим ніж в групі ізолюваного впливу кадмієм. При впливі кадмієм з сукцинатом заліза показник був на 19% нижче групи ізолюваного впливу, а в групі комбінації кадмію з сукцинатом цинку – на 32,3%. Такі показники вже склались у виражену тенденцію: комбіноване введення сукцинатів цинку або заліза з хлоридом кадмію знижує рівень накопичення кадмію статевою залозою експериментальних тварин. Більш активно знижує рівень кадмію у паренхімі яєчка сукцинат цинку в порівнянні до сукцинату заліза. Проте обидва розчини виражають біоантагоністичні властивості, щодо

накопичення кадмію в яєчках щура при їх комбінованому введенні в зазначених дозах в експерименті на щурах.

Наприкінці експерименту, тобто на 30-ту добу введення досліджуваних речовин нами отримані наступні результати з накопичення паренхімою яєчка кадмію в усіх групах (рис.3.3).

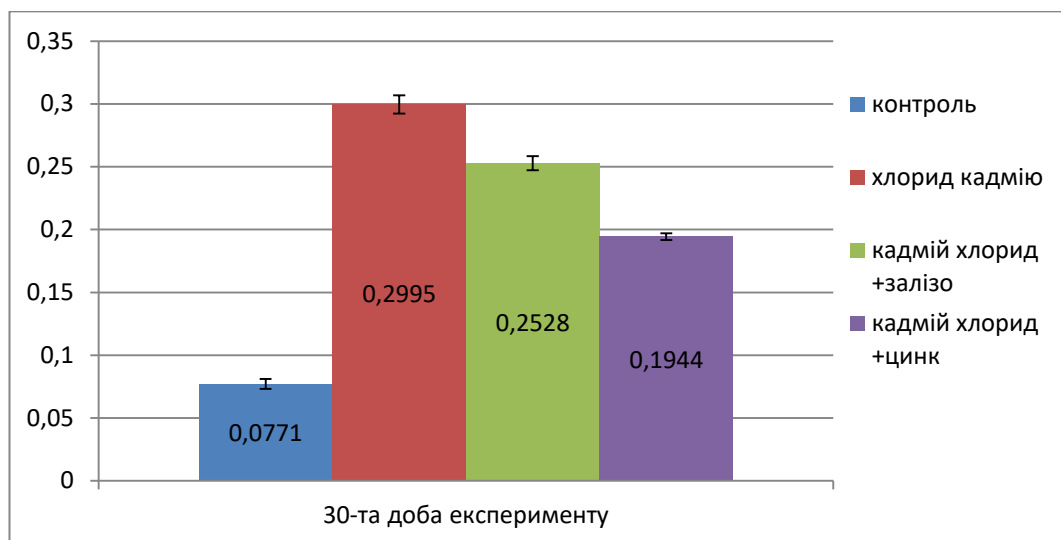


Рис.3.3. Накопичення кадмію (мкг/г) в яєчках щурів в піддослідних групах на 30-ту добу експерименту.

Рівень кадмію в зразках контрольної групи продовжував недостовірно зростати, ми пояснюємо такий факт тим, що сам експеримент проводився в кадмійнавантаженому промисловому регіоні. Разом з тим зростав і показник накопичення кадмію в групі ізольованого впливу кадмієм. Яєчко на 30-ту добу експериментального введення містило  $0,2995 \pm 0,0722$  мкг/г кадмію, цей показник в нашому експерименті був найвищий. В групах комбінованого введення зберігалась тенденція до зниження рівня затримки кадмію статевою залозою порівняно з групою ізольованого впливу. При цьому різниця зменшення вмісту кадмію в зразках була достовірною ( $p \leq 0,05$ ), тобто комбіноване введення сукцинатів цинку або заліза з хлоридом кадмію знижувало рівень накопичення кадмію.

Для виконання поставленої мети дослідження, нами також визначався рівень накопичення цинку в яєчках щурів та динаміка змін цих показників впродовж 30-ти діб хронічного експерименту. Цинк відіграє значну роль у



біохімічних та фізіологічних процесах організму, проявляючи імуномодельючу, протизапальну, гемопоетичну, антимікробну, сперматогенну та антиоксидантну функції. Оскільки цинк має важливе значення для росту і диференціації клітин, він відіграє важливу роль в період статевого розвитку, а нестача цинку в період статевого дозрівання призводить до уповільнення росту і розвитку вторинних статевих ознак. Тому показник рівня цинку може слугувати маркером нормального фізіологічного функціонування статевої залози.

Як показало порівняння отриманих даних поліелементного аналізу, в контролі на 14-ту добу експерименту статеві залози самців щура містили  $40,70 \pm 3,7$  мкг/г цинку, а в групі ізольованого введення хлориду кадмію даний показник достовірно ( $p \leq 0,001$ ) зростав у 1,9 разів і становив  $77,9 \pm 8,3$  мкг/г (рис.3.4).

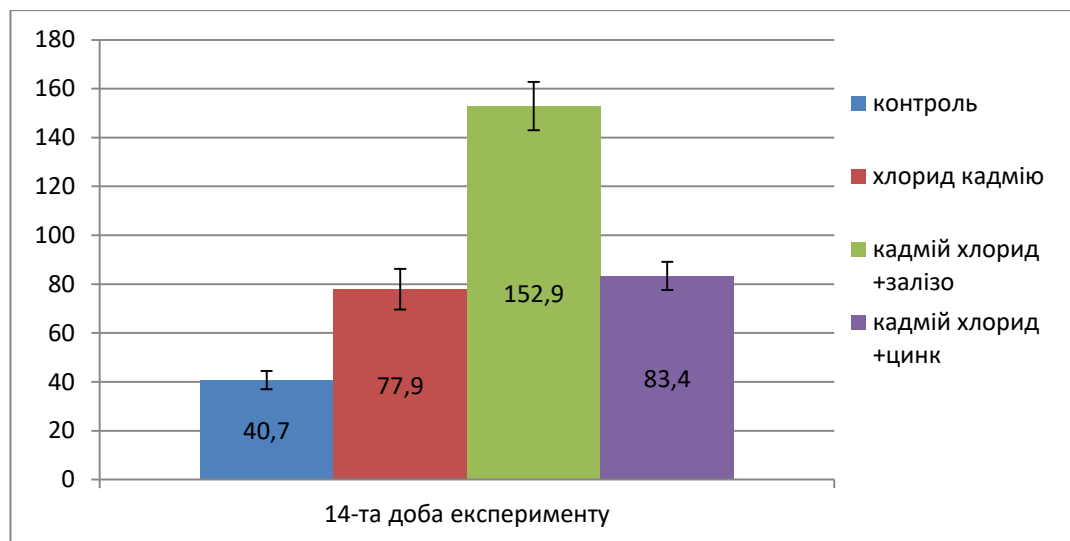


Рис.3.4. Накопичення цинку (мкг/г) в яєчках щурів в дослідних групах на 14-ту добу експерименту.

При цьому найвищий рівень цинку виявився в зразках групи комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатом заліза -  $152,9 \pm 9,90$  мкг/г. Такі показники стали неочікуваними, тому що накопичення цинку перевищувало не лише контрольні показники, але і дані групи ізольованого введення кадмію. Вищезазначені зміни вмісту цинку на

у яєчках тварин за ізолюваного введення кадмію, на наш погляд, можуть бути зумовлені активацією компенсаторних механізмів на ранніх термінах кадмієвої інтоксикації з підвищенням проникності гематотестикулярного бар'єру для забезпечення сталості концентрації цинку, як одного з найбільш важливих для процесу сперматогенезу мікроелементу в репродуктивних органах тварин.

Показник рівня утримання цинку статевією залозою щурів в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку не мав достовірної різниці з показником групи ізолюваного впливу кадмієм, але вдвічі перевищував контрольні показники (рис. 3.4).

На 20-ту добу експерименту визначалась наступна динаміка змін накопичення цинку в зразках яєчка експериментальних тварин (рис. 3.5).

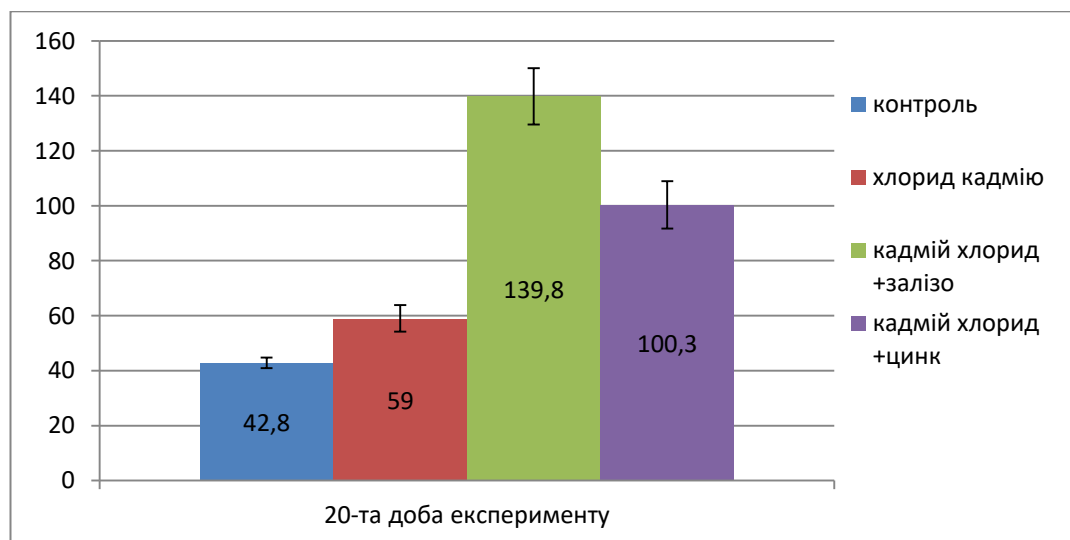


Рис.3.5. Накопичення цинку (мкг/г) в статевих залозах (яєчко) щурів в дослідних групах на 20-ту добу експерименту.

Показник рівня цинку в контрольній групі не мав достовірної різниці з таким 14-тої доби. Подальше ізолюване введення хлориду кадмію призводило до підвищення показника кількості цинку ( $59,0 \pm 4,8$  мкг/г), але порівняння з показниками за 14-ту добу визначає тенденцію до зниження цього мікроелемента в паренхімі яєчка щурів. Найвищий рівень цинку знову визначався нами в групі комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатом заліза, який становив  $139,8 \pm 10,3$  мкг/г. Порівняно з 14-тою

добою цей показник також знижувався, хоча і без достовірної різниці. В групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку показник накопичення цинку очікувано зростав ( $100,3 \pm 8,6$  мкг/г), бо цинк щоденно потрапляв в організм дослідних тварин по плану експерименту.

Таким чином, на 20-ту добу експерименту показники рівня цинку в зразках мали тенденцію до зниження у групах: ізолюване введення хлориду кадмію та комбіноване введення хлориду кадмію з сукцинатом заліза. А в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку накопичення цинку очікувано зростало.

На 30-ту добу дослідження, тобто наприкінці експерименту, нами отримані наступні дані (рис.3.6). Рівень цинку в контрольній групі зростав і становив  $54,6 \pm 4,9$  мкг/г, а при ізолюваному введенні на цьому терміні знижувався в порівнянні до контролю ( $34,4 \pm 2,9$  мкг/г) і дана різниця була достовірною ( $p \leq 0,05$ ). Тобто, в групі ізолюваного впливу кадмієм рівень накопичення паренхімою яєчка цинку підвищувався на 14-ту та 20-ту добу, а на 30-ту добу експерименту знижувався, що цілком закономірно характеризує порушення компенсаторних механізмів гематотестикулярного бар'єру для забезпечення стабільності вмісту цинку у статевих залозах щурів в умовах надмірного і тривалого впливу кадмію.

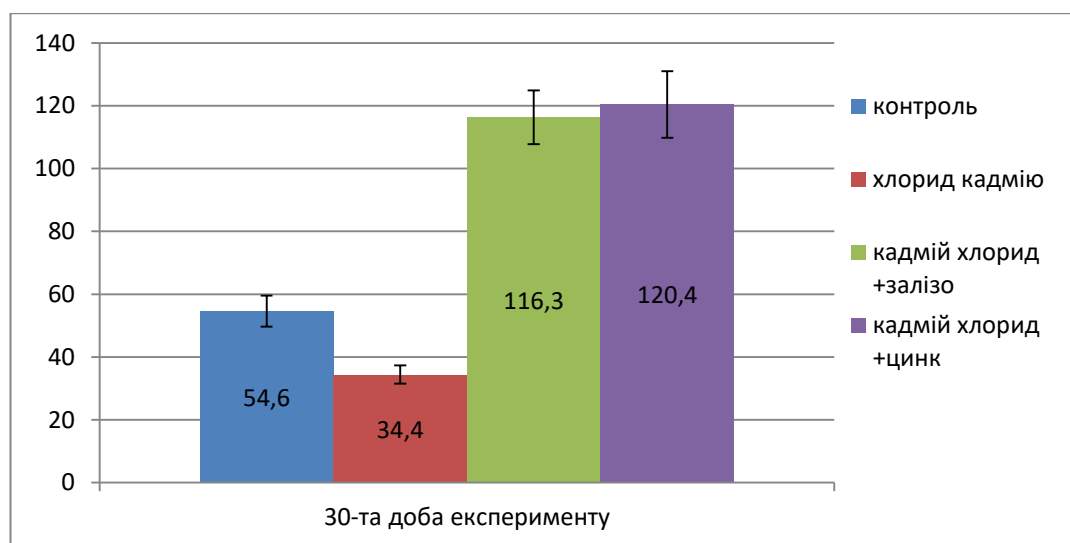


Рис.3.6. Накопичення цинку (мкг/г) в яєчках щурів в дослідних групах на 30-ту добу експерименту.

На 30-ту добу проведення експерименту в групах комбінованого введення кадмію з сукцинатами металів, рівень цинку в паренхімі яєчка зростав у порівнянні до групи ізольованого введення. При комбінації з сукцинатом заліза до  $116,3 \pm 9,8$  мкг/г, а в групі комбінованого введення з цинком до  $120,4 \pm 10,6$  мкг/г.

Якщо визначати основний напрямок змін мікроелементного складу по рівню накопичення цинку впродовж всього експерименту, то виявляються наступні тенденції. Рівень цинку в яєчку щурів контрольної групи зростав з 14-тої доби до 30 доби. Рівень цинку в групі ізольованого введення мав найвищий показник на 14-ту добу, а потім знижувався нижче контрольних показників. Зниження рівня цинку визначалось і в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза, а в групі комбінації кадмію з цинком показник демонстрував тенденцію до збільшення, що було очікуваним.

Загальновідомо, що кадмій є антагоністом кобальту та селену, інгібуючи активність ферментів, що містять ці елементи, а також має здатність порушувати обмін заліза та кальцію. Але даних про вплив кадмію на рівень накопичення заліза в тканинах та органах при ізольованому впливі кадмієм або в комбінації з іншими мікроелементами вкрай недостатньо. Тому одним з завдань дослідження нами було обрано саме виявлення можливих зсувів рівня мікроелементів саме рівня заліза в зразках статевих залоз самців щура в хронічному експерименті (рис.3.7).

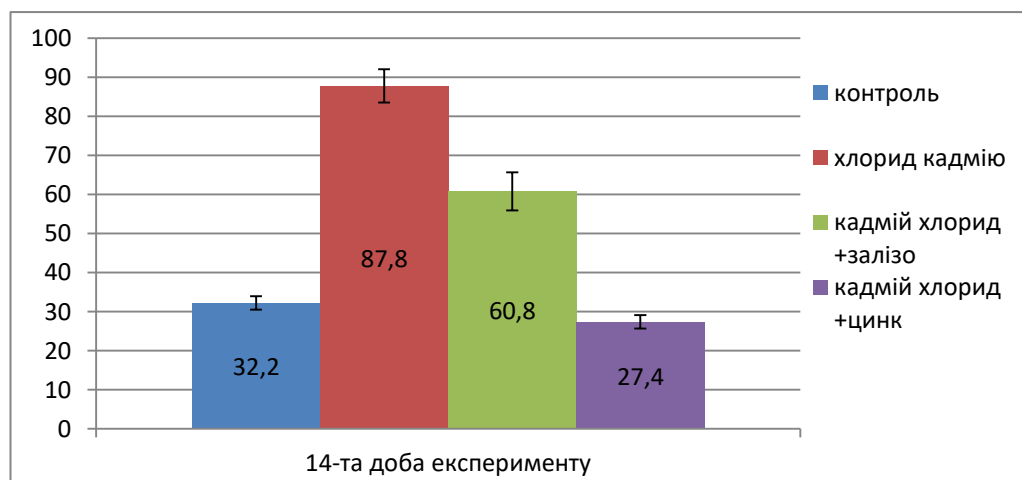


Рис.3.7. Накопичення заліза (мкг/г) в яєчках щурів в дослідних групах на 14-ту добу експерименту.

Рівень заліза в зразках статевої залози в контролі на 14-ту добу експерименту становив  $32,2 \pm 1,73$  мкг/г. А ізольоване хронічне введення хлориду кадмію призводить до підвищення кількості заліза в 2,7 рази -  $87,8 \pm 4,3$  мкг/г. Така різниця мала високу достовірність -  $p \leq 0,001$ . Кількість заліза в зразках групи комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза була досить висока -  $60,8 \pm 4,90$  мкг/г, що було очікуваним, бо тварини приймали щодня залізо, але рівень накопичення все ж був нижчим за показник групи ізольованого впливу кадмієм (рис.3.7). А в групі комбінації кадмію з сукцинатом цинку показник рівня заліза не лише не збільшувався, а й був нижчим за контроль -  $27,4 \pm 1,7$  мкг/г. Таким чином, на 14-ту добу експерименту, найвищий рівень накопичення заліза паренхімою яєчка щурів визначався в групі ізольованого введення хлориду кадмію.

На 20-ту добу експерименту показники накопичення заліза мали наступні тенденції (рис.3.8). Досить неочікувано в зразках групи ізольованого введення хлориду кадмію рівень заліза зменшується у 3 рази і становить  $28,8 \pm 1,8$  мкг/г, що достовірно ( $p \leq 0,05$ ) нижче навіть контрольних показників на цей термін дослідження -  $41,7 \pm 3,9$  мкг/г (рис.3.8).

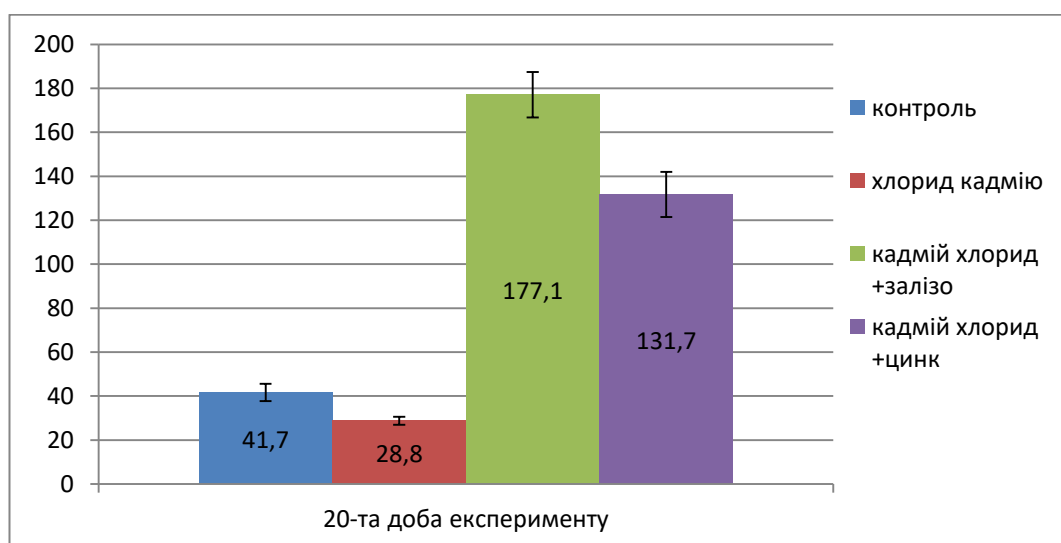


Рис.3.8. Накопичення заліза (мкг/г) в статевих залозах (яєчко) щурів в дослідних групах на 20-ту добу експерименту.

У групах комбінованого введення рівень кількості заліза в яєчках щура продовжує збільшуватись у порівнянні до 14-тої доби експерименту. При цьому рівень збільшення заліза в зразках статевих залоз щурів в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза легко пояснити додатковим надходженням цього мікроелементу згідно умов дослідження. А в групі комбінації кадмію з сукцинатом цинку високий рівень заліза в яєчках щурів залишається неочікуваним фактом.

Наприкінці експерименту, тобто на 30-ту добу введення досліджуваних речовин рівень накопичення заліза в зразках всіх груп знову змінюється (рис.3.9).

Ізольований вплив кадмію хлориду у 2,7 разів перевищує контрольні показники і в 3,5 перевищує показник своєї групи на 20-ту добу дослідження. Тобто, в даній групі рівень заліза підвищувався на 14-ту добу експерименту, на 20-ту добу різко знижувався, а на 30-тій добі знову підвищувався до максимальних значень -  $101,2 \pm 6,9$  мкг/г.

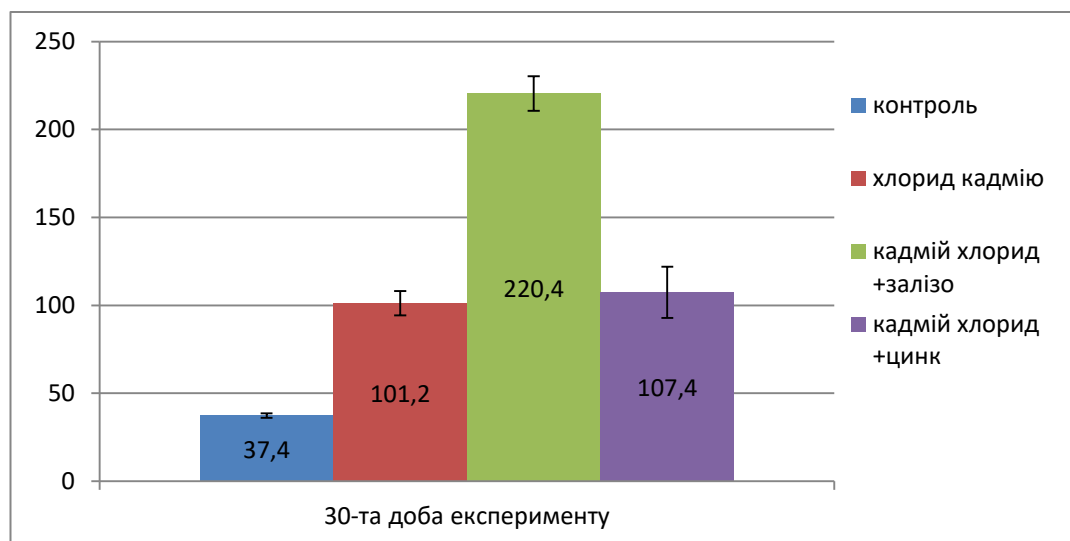


Рис.3.9. Накопичення заліза (мкг/г) в яєчках щурів в піддослідних групах на 30-ту добу експерименту.

У групі комбінованого впливу кадмію з сукцинатом заліза зберігалась тенденція до збільшення рівня заліза в яєчках, що пояснюється продовженням потрапляння заліза в організм експериментальних тварин. А

в групі комбінації кадмію з цинком рівень заліза становив  $107,4 \pm 14,6$  мкг/г і цей показник не мав достовірної різниці з показником рівня заліза в групі ізолюваного введення хлориду кадмію на даному терміні -  $101,2 \pm 6,9$  мкг/г.

Таким чином, аналіз отриманих даних з накопичення паренхімою яєчка кадмію, цинку та заліза продемонстрував наявність дисбалансу по цим мікроелементам та зсуви показників порівняно до контролю на всіх трьох термінах дослідження.

### **Висновки за розділом.**

Ізолюване внутрішньошлункове щоденне введення щурам розчину кадмію хлориду у дозі 2,0 мг/кг призводить до накопичення кадмію в яєчках дослідних тварин порівняно з контролем. В експерименті найвищий цей показник визначається на 30-ту добу експериментального введення і становить  $0,2995 \pm 0,0722$  мкг/г кадмію.

У групах комбінованого введення аналогічної дози кадмію з сукцинатами цинку або заліза визначалась тенденція до достовірного зниження ( $p \leq 0,05$ ) рівня накопичення кадмію статевою залозою порівняно з групою ізолюваного впливу в експериментальних тварин. Сукцинат цинку та сукцинат заліза проявляють біоантагоністичні властивості щодо накопичення кадмію в яєчках тварин при їх комбінованому введенні в зазначених дозах в експерименті на щурах.

Аналіз накопичення цинку у зразках статевої залози показав, що при ізолюваному введенні хлориду кадмію рівень цинку підвищувався на 14-ту та 20-ту добу, а на 30-ту добу знижувався порівняно з контролем ( $p \leq 0,05$ ), що може бути зумовлене підвищенням прониклості гематотестикулярного бар'єру на ранніх термінах кадмієвої інтоксикації як прояв активації компенсаторних механізмів для забезпечення стабільності вмісту есенціальних мікроелементів, зокрема цинку, у репродуктивних органах тварин та вистаженням компенсаторних можливостей у більш пізні терміни дослідження.

У групах комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами металів рівень цинку зростав порівняно з групою ізолюваного введення кадмію: в комбінації з сукцинатом заліза – до  $116,3 \pm 9,8$  мкг/г, а в групі комбінованого введення з цинком – до  $120,4 \pm 10,6$  мкг/г. Найвищий рівень цинку визначався в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза

Рівень накопичення заліза в тканинах яєчка щурів в групі ізолюваного впливу кадмію хлориду підвищувався на 14-ту добу експерименту, на 20-ту добу різко знижувався, а на 30-тій добі знову підвищувався до максимальних значень -  $101,2 \pm 6,9$  мкг/г.

У групі комбінованого введення кадмію хлориду з сукцинатом заліза рівень накопичення заліза зростав на всіх трьох термінах дослідження. Комбіноване хронічне введення сукцинату цинку з кадмієм з 20-тої доби підвищує і утримує високий рівень заліза в зразках.

### **Результати дослідження за розділом представлені у публікаціях:**

1. Нефьодова ОО, Грузд ВВ. Зміни мікроелементного складу статевих залоз самців щурів під впливом кадмієвої інтоксикації та коректорів за даними поліелементного аналізу. Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2023; 15(33): 1192-1204.

2. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Вивчення кадмієвої інтоксикації статевих залоз самців щурів під впливом коректорів за даними поліелементного аналізу. Abstracts of XIII International Scientific and Practical Conference. Madrid, Spain. Pp. 209-210. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/modern-ways-of-development-of-science-and-the-latest-theories/>



3.Грузд В.В., Нефьодова О.О. Експериментальний аналіз змін мікроелементного складу статевих залоз самців щурів під впливом інтоксикації кадмієм та його коректорів. Abstracts of XIV International Scientific and Practical Conference. Prague, Czech Republic. Pp. 146-150. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/people-and-the-world-global-problems-ofhuman-development/>

## РОЗДІЛ 4

### **ВПЛИВ ІЗОЛЬОВАНОГО ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ НА МОРФОГЕНЕТИЧНИЙ СТАН ЯЄЧКА ЩУРА В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

У цьому розділі представлені результати та аналіз показників ступеню гонадотоксичності хронічного ізольованого впливу хлориду кадмію та морфологічні зміни в структурі паренхіми яєчка щура на 14-ту, 20-ту та 30-ту добу експериментального дослідження. Кадмій належить до токсикантів із високою здатністю акумулюватися в тканинах і органах, а при досягненні певної концентрації кадмій здатний викликати важкі дисфункції. Органомішенями при інтоксикації кадмієм є нирки, кістковий мозок, сперма, печінка, яєчка, трубчасті кістки та частково селезінка. Кадмій належить до імунотоксичних елементів, під час хронічного кадміозу найчастіше уражаються сечостатева, дихальна системи, розвивається анемія, пов'язана зі зниженням всмоктування заліза, порушується сперматогенез.

У нашому експерименті всі самці вижили, залишались активними і добре споживали їжу.

#### **4.1. Вплив хлориду кадмію на морфогенез яєчка щура в експерименті.**

Яєчка є парним органом, в яких відбувається утворення і дозрівання сперматозоїдів та виробляється основний чоловічий статевий гормон – тестостерон. Сперматозоїди виробляються в них особливими клітинами – клітинами Сертолі, крім яких у яєчках є і клітини Лейдіга, це гормон-активні клітини, які виробляють тестостерон.

Макроскопічно яєчка самців лабораторних щурів мають овоїдну бобовидну форму, блідо рожевого кольору з дещо асиметричною локалізацією. Під час оперативного вилучення у тварин контрольної групи

на всіх термінах при зовнішньому огляді яєчок поверхня їх була гладкою, блискучою. Через зовнішню білкову оболонку визначалися контури звивистих трубочок та кровоносних судин. В порівнянні до контрольних зразків, в яких визначались судини з помірною звивистістю, вплив кадмію призводив до більшого кровонаповнення судин оболонки яєчка та високої звивистості судин (рис. 4.1). Дані зміни ставали більш виразними наприкінці експерименту, тобто на 30-ту добу дослідження.

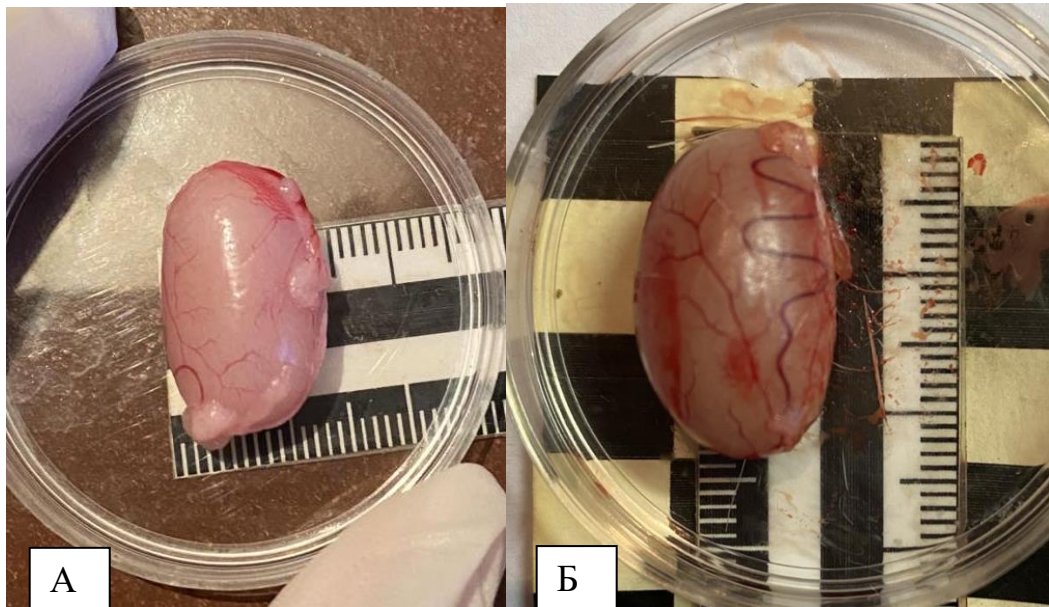


Рисунок 4.1. Фото яєчка щура 14-тої доби після видалення: А - групи контролю; Б – групи ізольованого впливу хлоридом кадмію. Добре помітні судини та білкова оболонка. Фото зроблене на калібрувальній поверхні для співставлення розмірів. Сторона квадрату калібровки – 10мм.

Довжина яєчка в середньому становила  $19,59 \pm 0,60$  мм, ширина –  $13,24 \pm 0,63$  мм. Щоб прослідкувати динаміку і встановити характер морфологічних змін усіх досліджуваних параметрів дані експериментальної групи ізольованого введення хлориду кадмію порівнювали з даними контрольної групи. Масометричні показники вимірювались та протоколювались під час оперативного вилучення гонад. Маса яєчка в контрольній групі дорівнювала  $1,48 \pm 0,05$  г. На 20-ту добу дослідження маса недостовірно зростала до  $1,53 \pm 0,047$  г, а довжина і ширина не мали статистично значущої різниці з показником попереднього терміну

експерименту. Наприкінці експерименту, тобто на 30-ту добу, в контрольній групі яєчко мало масу  $1,62 \pm 0,056$  г, довжина становила  $21,32 \pm 0,43$  мм, а ширина –  $14,46 \pm 0,36$  мм. У групі ізольованого впливу хлоридом кадмію вже на 14-ту добу впливу в яєчках визначались зміни морфометричних показників у бік збільшення: середній показник маси яєчка сягав  $1,68 \pm 0,037$  г, тобто перевищував контрольний показник на 13% (достовірність різниці становила  $p \leq 0,05$ ). На 20-ту добу дослідження показник в групі кадмієвої інтоксикації зростав до  $1,72 \pm 0,067$  г та наприкінці експериментального введення кадмію дорівнював  $1,82 \pm 0,071$  г, що перевищувало контрольні вагові показника на 12% на відповідних термінах. Параметри довжини та ширини яєчка в групі впливу кадмієм підвищувались з 20-тої доби і становили: довжина -  $22,62 \pm 1,13$  мм, а ширина –  $16,35 \pm 1,06$  мм. Ця різниця була достовірною по відношенню до показників контрольної групи ( $p \leq 0,05$ ). Також в експериментальній групі впливу хлоридом кадмію визначалась втрати ваги дослідними тваринами. Нами обраховувався індекс маси яєчка (ІМЯ) для визначення ступеню гонадотоксичності хлориду кадмію у зазначеній дозі та способі введення. Індекс маси органу – важливий показник потерпання органу від впливу ксенобіотиків, який показник демонструє співвідношення маси органу до маси тварини і при динамічній зміні обох показників є високодоказовим. Уже на 14-ту добу введення кадмію ІМЯ дорівнював 0,63, в той час як в контролі становив 0,44, тобто у 1,4 рази перевищував контрольний індекс. На 20-ту добу дослідження в контрольній групі індекс маси яєчка визначався на рівні 0,49, а при впливі кадмію - 0,69. Наприкінці експерименту ІМЯ контрольної групи становив 0,52, а в групі впливу кадмієм 0,72, тобто на всіх досліджуваних термінах індекс маси яєчка у 1,4 рази перевищував контрольні показники. На формування таких показників при зростанні маси яєчка вплинув факт втрати вагових показників самців щурів в експериментальній групі.

Яєчка є парними паренхіматозними часточковими органами, що поєднують у собі ознаки будови складної трубчастої екзокринної та ендокринної залоз. Кожне яєчко складається з часточок, заповнених звивистими сім'яними трубочками, на кожному яєчку зверху розташований над'яєчко, яке переходить у сім'явивідну протоку. Функції яєчка перебувають під контролем гормонів передньої частки гіпофіза. Окрім генеративної функції, тобто вироблення чоловічих статевих клітин – сперматозоїдів, яєчко є також залозою внутрішньої секреції і виконує ендокринну функцію - синтез статевих гормонів та ряду інших гормонів та біологічно активних речовин. Виділяють також депонуючу функцію яєчка: у звивистих, прямих сім'яних трубочках та трубочках мережі депонуються сперматозоїди. Секретом екзокринної частини яєчка є насіннева рідина - сперма, а чоловічі статеві гормони, ряд інших гормонів та біологічно активних речовин – продукти ендокринної частини. Яєчко вкрито білковою оболонкою, яка є неоднорідною з різних поверхонь статевої залози (рис.4.2).

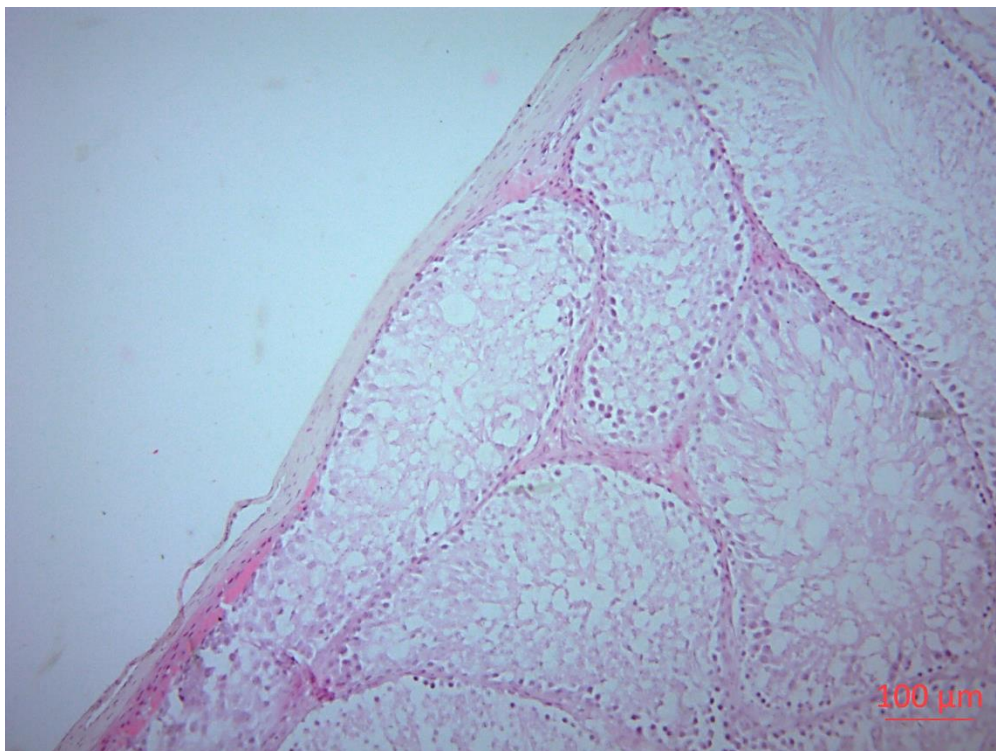


Рисунок 4.2. Фото гістологічного зрізу яєчка щура групи контролю 14-тої доби. Білкова оболонка та септи. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Внутрішній шар білкової оболонки який містить в собі значну кількість кровоносних судин і виконує функції судинної оболонки. Від судин білкової оболонки відходять судини, що кровопостачають паренхіму яєчка артеріальною кров'ю та відводять венозну кров (рис.4.3).

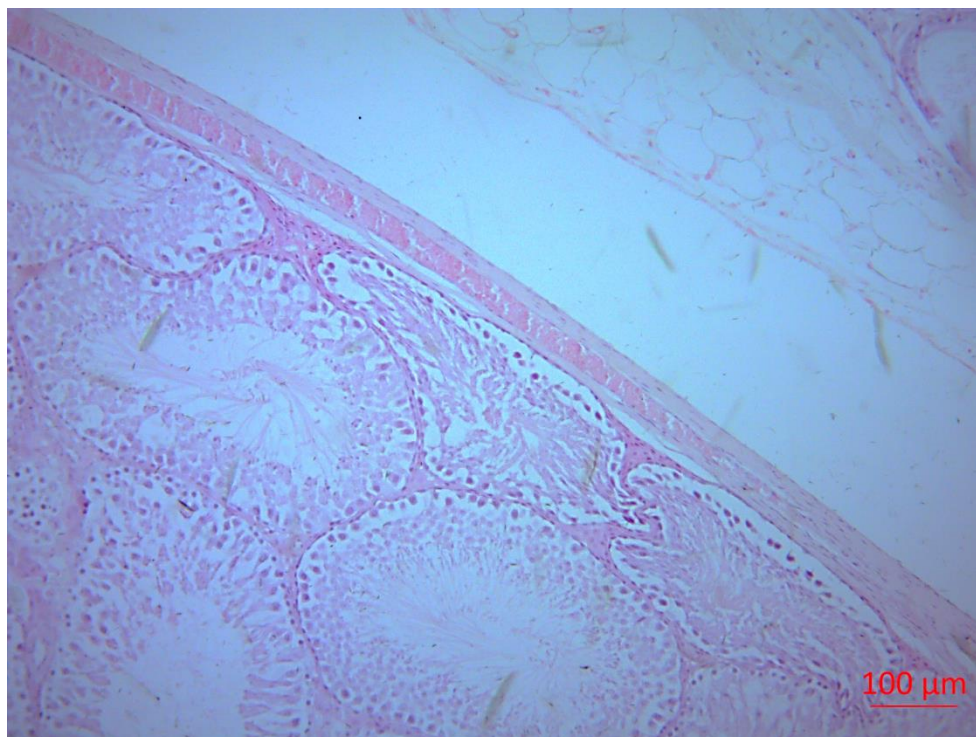


Рисунок 4.3. Фото гістологічного зрізу яєчка щура групи контролю 20-тої доби. Білкова оболонка та судини, що в ній проходять. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

При впливі хлоридом кадмію ми спостерігали потовщення білкової оболонки з 14-тої доби експерименту та ділянки розшарування самої оболонки. Потовщення оболонки відбувалось також нерівномірно і відповідно до зони поверхні яєчка.

Найбільше потовщення спостерігалось на задньому краї залози і дорівнювало на 14-ту добу експерименту  $71,46 \pm 5,13$  мкм, а на 30-ту добу показник збільшувався до  $74,52 \pm 4,85$  мкм. Таке збільшення товщини було достовірним з різницею  $p=0,05$  (рис.4.4). При цьому збільшення товщини білкової оболонки на передньому краї не мало достовірної різниці з

контрольними показниками -  $38,61 \pm 4,25$  мкм, а на бічних поверхнях потовщення мало різницю лише наприкінці експериментального введення хлориду кадмію -  $59,22 \pm 3,21$  мкм.

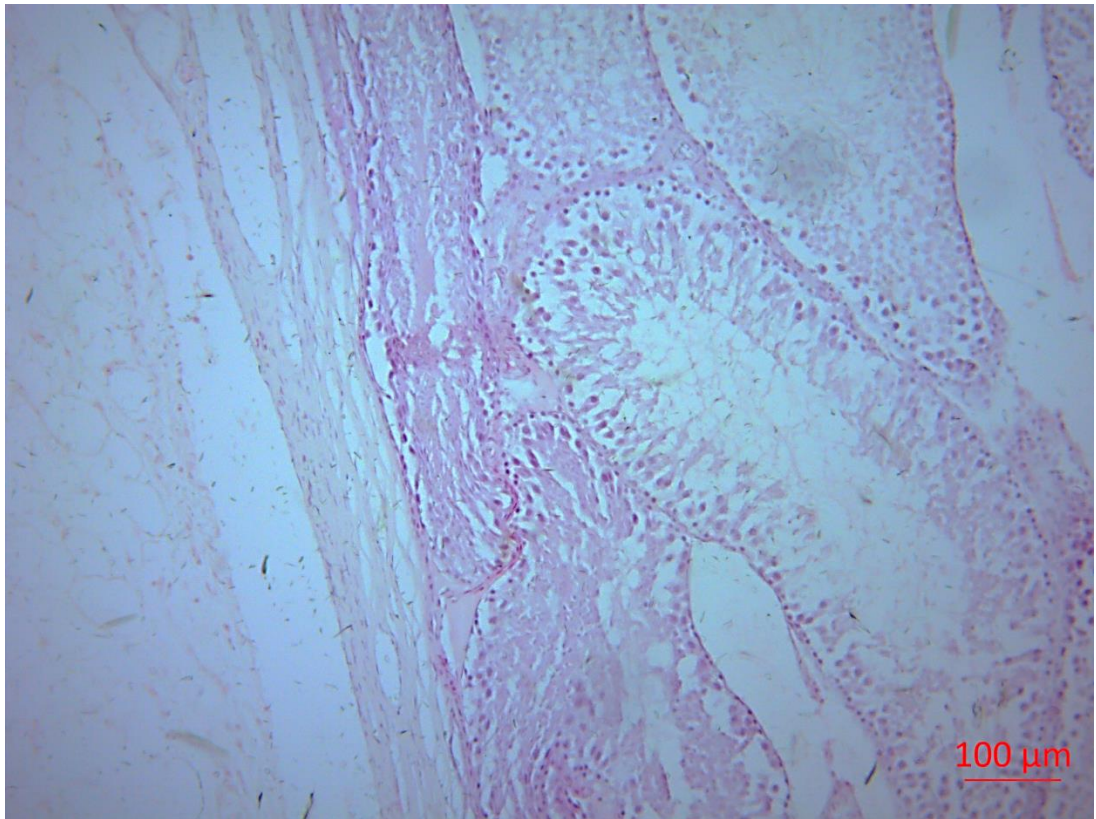


Рисунок 4.4. Фото гістологічного зрізу яєчка щура групи впливу хлоридом кадмію 14-тої доби експерименту. Білкова оболонка має ділянки вираженого розшарування. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Розшарування білкової оболонки досить часто супроводжувалось розширенням судин, які містяться в ній. Одним з вагомих механізмів токсичного впливу кадмію є формування гіпоксичного стану органів, який супроводжується розширенням судин. Вже на 14-ту добу експериментального впливу хлоридом кадмію визначався високий рівень наповнення судин яєчка і це ставало більш вираженим явищем до 30-тої доби експерименту (рис.4.5).

Таким чином, хронічний вплив хлориду кадмію призводив до достовірного потовщення білкової оболонки яєчка, її розшарування та збільшення діаметра кровоносних судин і високого рівня кровонаповнення.

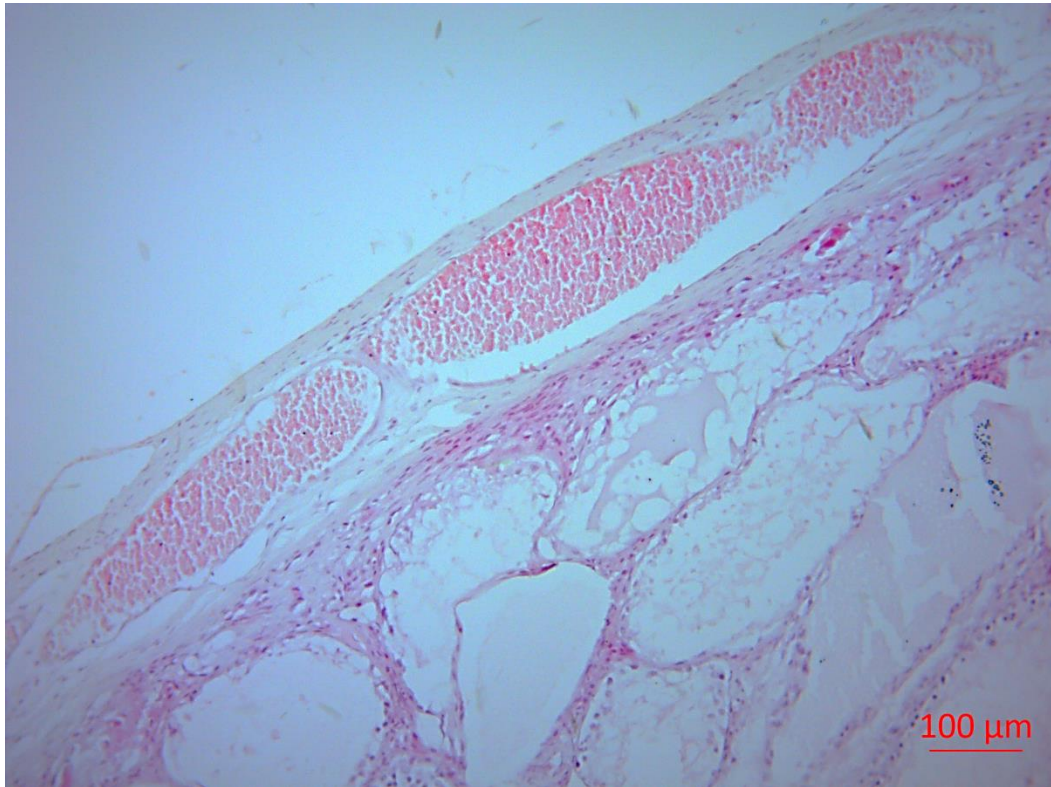


Рисунок 4.5. Фото гістологічного зрізу яєчка щура групи впливу хлоридом кадмію 30-тої доби експерименту. Розширення діаметра судин білкової оболонки з високим рівнем кровонаповнення. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

На задньому краю яєчка білкова оболонка формує середостіння, від якого в паренхіму залози відходять прошарки сполучної тканини, що розподіляють залозу на часточки, яка є структурно-функціональною одиницею яєчка. Кожна часточка містить від 2 до 5 звивистих сім'яних трубочок (каналців), які прилягають один до одного. Звивисті сім'яні трубочки переходять в прямі сім'яні трубочки, які є початком сім'яносних шляхів. Наближаючись до середостіння, звивисті трубочки зливаються і стають прямими, а в товщі середостіння вони з'єднуються з трубочками сітки яєчка. З цієї сітки виходить 6–9 виносних проточок, що впадають до протоки над'яєчка. Паренхіма яєчка утворена сукупністю звивистих сім'яних, прямих сім'яних трубочок та каналців мережі яєчка. У сполучній тканині, розміщеній між сім'яними трубочками розташовані гемо- і



лімфокапіляри, які забезпечують обмін речовин між кров'ю і сперматогенним епітелієм.

Таким чином, структурно-функціональною одиницею яєчка є звивистий сім'яний каналець (трубочка). Зовні він вкритий власною оболонкою, що складається з трьох шарів: базального (внутрішнього волокнистого), міоїдного та зовнішнього волокнистого. Внутрішній волокнистий шар утворений мережею колагенових волокон. Міоїдний шар представлений міоїдними клітинами, що викликають скорочення звивистого каналця. Зовнішній волокнистий шар складається з двох частин: базальної мембрани міоїдних клітин та мережі колагенових волокон з фіброцитами. До внутрішнього шару оболонки трубочки зсередини прилягає базальна мембрана епітеліосперматогенного шару. Цей шар поділяється на 2 частини: суспендоцити (клітини Сертолі), що формують вистилку трубочки і лежать безпосередньо на базальній мембрані, і статеві клітини, що поділяються та розвиваються, які представлені стовбуровими клітинами, сперматогоніями, сперматоцитами, сперматидами і сперматозоїдами. Обидві популяції перебувають у тісному морфофункціональному зв'язку.

Сперматогенез чоловічих статевих клітин відбувається в звивистих сім'яних трубочках і складається з чотирьох послідовних стадій або фаз. Перша фаза - розмноження сперматогоній. Друга фаза росту: сперматогонії припиняють ділитися і диференціюються в сперматоцити 1-го порядку з поступовим переміщенням їх до адлюменальної поверхні звивистої трубочки, де вступають до першого поділу мейозу. Третя фаза дозрівання в результаті чого утворюється сперматίδα — клітина з гаплоїдним набором хромосом. Четверта фаза формування в якій сперматиди перетворюються на сперматозоїди. На початку свого формування гаплоїдні ранні сперматиди виглядають схожими на інші клітини на ранніх стадіях сперматогенезу, мають круглу форму, центральне ядро і велику кількість цитоплазми. У процесі сперматогенезу ранні сперматиди зменшують кількість цитоплазми та формують частини справжнього сперматозоїда (рис.4.6).

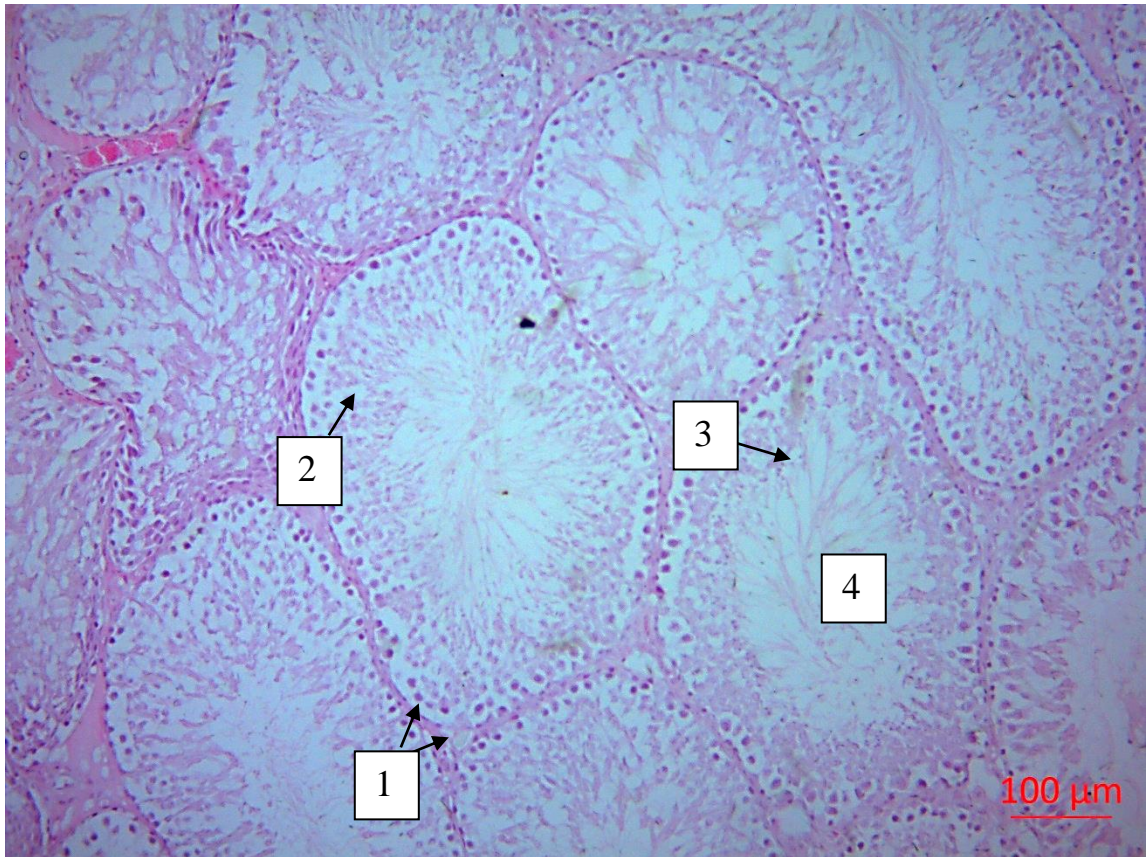


Рисунок 4.6. Фото гістологічного зрізу яєчка щура групи контролю 20-тої доби експерименту. Звивисті сім'яні трубочки паренхіми яєчка. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10. Позначення: 1- первинні сперматоцити (вказано стрілками); 2 – вторинні сперматоцити; 3 – сперматиди; 4 – сперматозоїди в просвіті трубочки.

На гістологічних препаратах яєчок щурів ми вимірювали для порівняння діаметр звивистих та прямих сім'яних трубочок в групі впливу кадмієм та групі контролю. Як показало обрахування середніх показників та їх аналіз, вже з 14-тої доби експерименту визначалось збільшення діаметра звивистих сім'яних трубочок при впливі хлоридом кадмію. Так, в контролі даний показник в середньому становив на цьому терміні дослідження  $284,29 \pm 12,13$  мкм, на 20-ту добу недостовірно збільшувався до  $292,31 \pm 13,48$  мкм, а наприкінці експерименту визначався на рівні  $301,71 \pm 15,81$  мкм. А в групі ізольованого впливу кадмієм на 14-ту добу середній показник діаметра збільшувався до  $327,36 \pm 18,06$  мкм, на 20-ту добу становив до  $331,52 \pm 17,83$  мкм а наприкінці експерименту -  $348,29 \pm 21,61$  мкм. Таким чином, на всіх термінах дослідження зростання

середніх показників діаметра сім'яних трубочок яєчка щурів при впливі хлоридом кадмію становило від 13% до 15%, така різниця мала достовірність  $p=0,05$ .

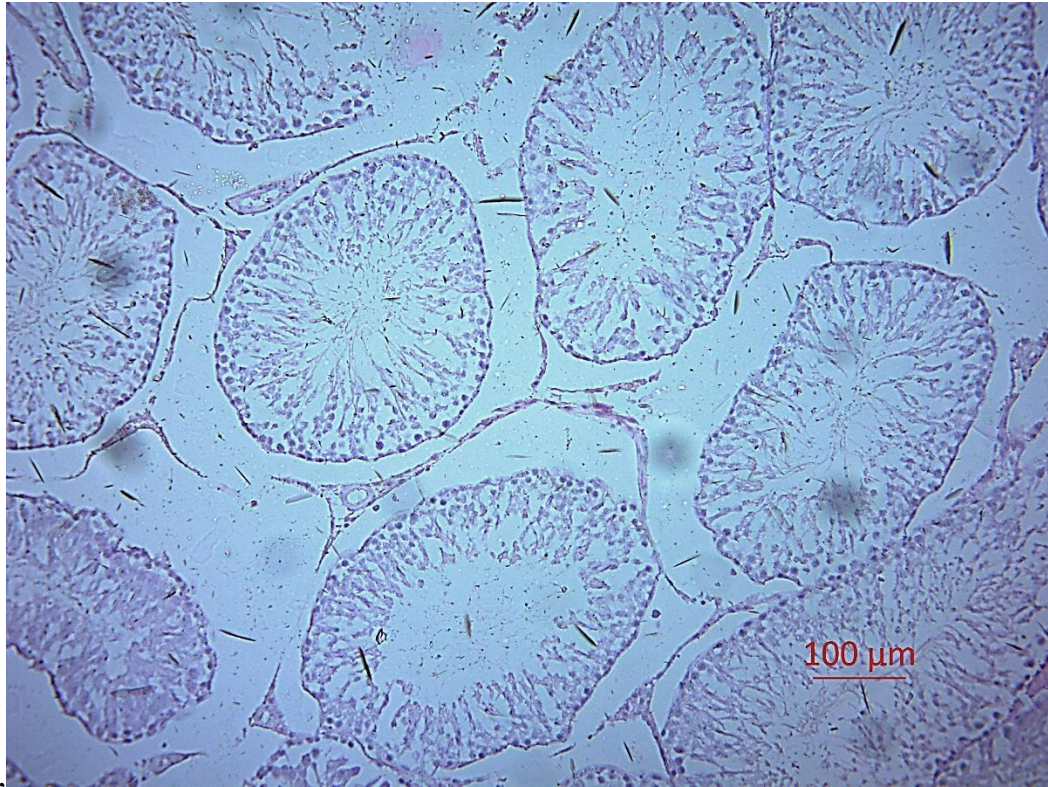


Рисунок 4.7. Фото гістологічного зрізу яєчка щура групи впливу хлоридом кадмію 20-тої доби експерименту. набряк строми яєчка. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Поряд зі збільшенням діаметра звивистих сім'яних трубочок на гістологічних препаратах визначався набряк строми яєчка вже на 14-тій добі. На 20-ту та 30-ту добу набряк виявлявся вже у 21-26% препаратів (рис.4.7). Таким чином, хронічне введення хлориду кадмію в досліджуваній дозі викликає значний набряк інтерстиціального простору строми яєчка в експерименті на щурах.

Гістологічні дослідження змін морфологічної будови яєчка при впливі кадмієм визначались і на рівні внутрішнього шару структурно-функціональної одиниці яєчка - звивистої сім'яної трубочки. Майже в 68% досліджених зрізів паренхіми яєчка спостерігалось витончення

внутрішнього шару оболонки трубочки та розшарування його на окремі тяжі із розширенням внутрішнього простору трубочки (рис.4.7). Кількість сперматогоній внутрішнього шару на 14-ту добу відповідала контрольним показникам, але кількість первинних сперматоцитів зменшувалась як і архітектура всього внутрішнього шару. Даний напрямок змін мав більш виражений характер наприкінці експерименту (рис.4.7, 4.8).

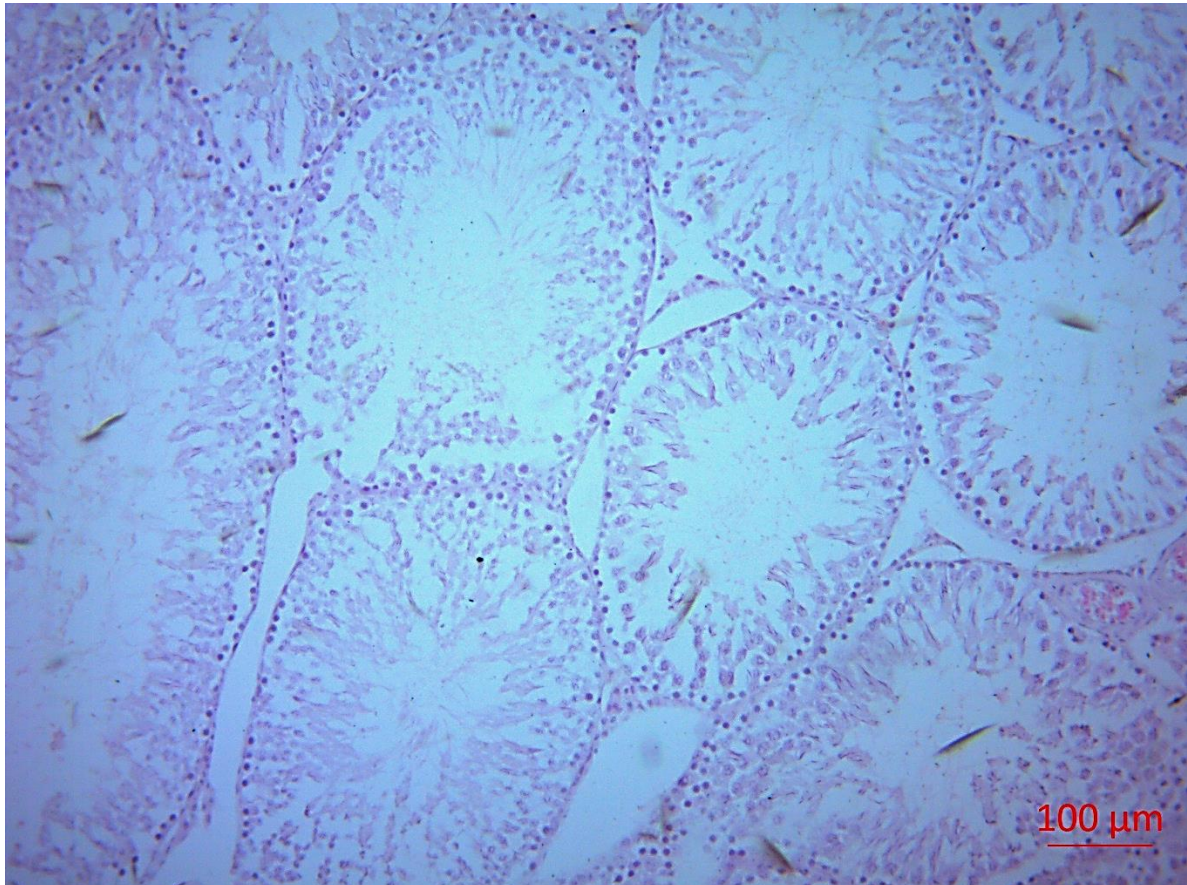


Рисунок 4.7. Фото гістологічного зрізу яєчка щура групи впливу хлоридом кадмію 20-тої доби експерименту. Порушення структури сперматогенного епітелію. Цифрове фото. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. 10 x 10.

Починаючи з 20-тої доби і до кінця введення хлориду кадмію визначались зміни в паренхімі яєчка, пов'язані з загибеллю клітин внутрішнього шару оболонки трубочки. Загибель сперматоцитів першого та другого порядку призводила до формування безклітинних лакун на місці у

внутрішньому шарі сперматогенного епітелію звивистої сім'яної трубочки (рис. 4.8).

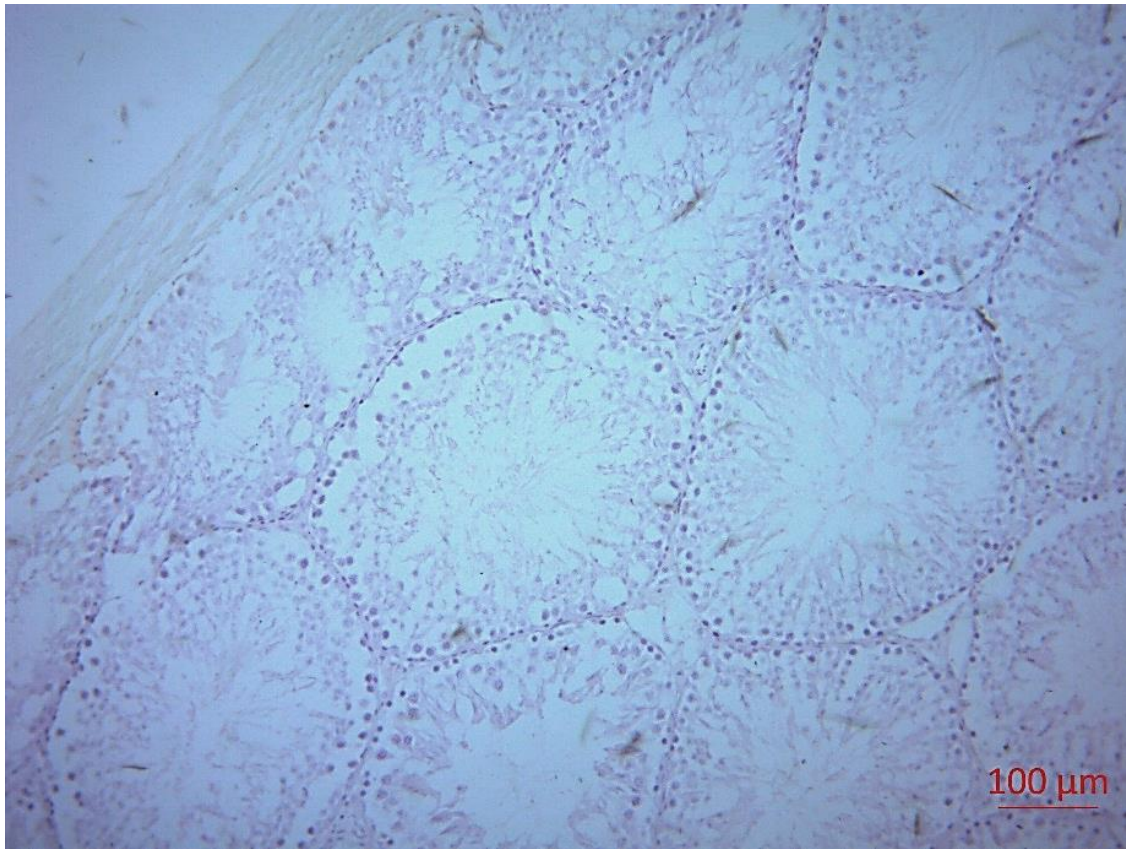


Рисунок 4.8. Фото гістологічного зрізу яєчка щура групи впливу хлоридом кадмію 30-тої доби експерименту. Формування вільних безклітинних лакун сперматогенного епітелію. Цифрове фото. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. 10 x 10.

Такі зміни сперматогенного епітелію безумовно впливають процес сперматогенезу. В адлюмінальному шарі епітелію зменшується кількість сперматоцитів другого порядку і, відповідно, сперматид, що, в свою чергу, призводить до зменшення кількості сперматозоїдів (рис.4.9). Розшарування адлюменального шару сперматогенного епітелію сім'яних звивистих трубочок також утворює порожні лакуни і свідчить про кількісні втрати клітин під час мейотичних поділів сперматоцитів.

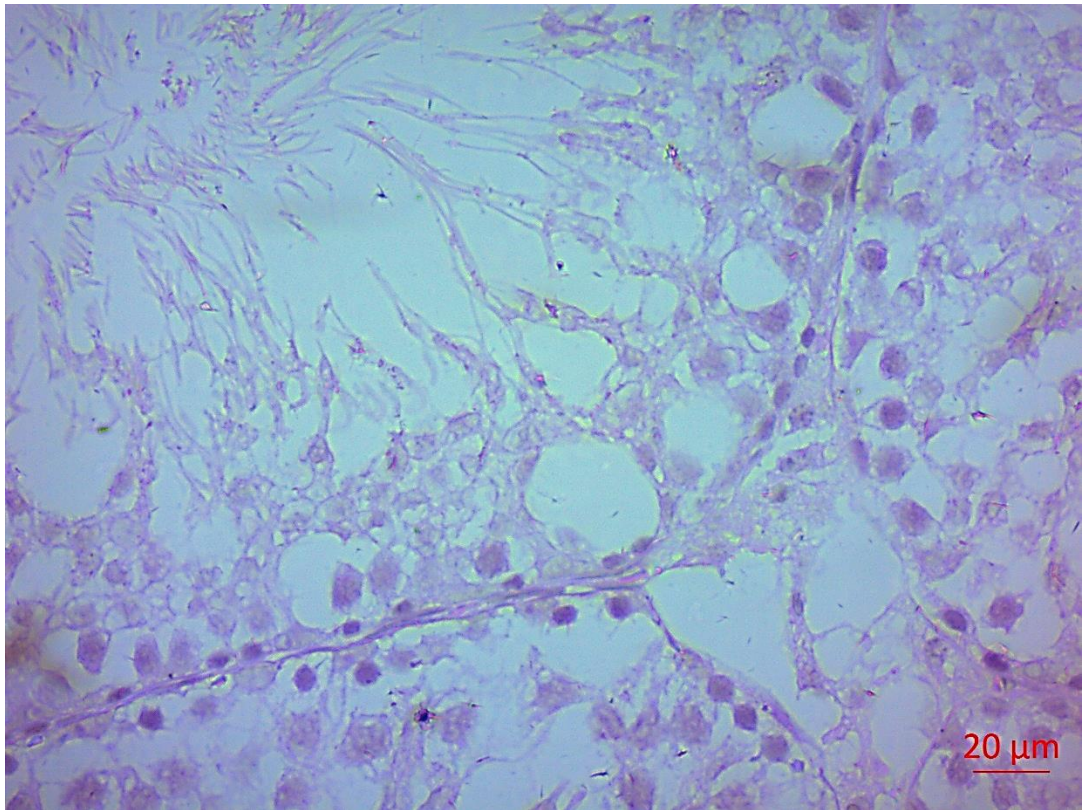


Рисунок 4.9. Фото гістологічного зрізу яєчка щура групи впливу хлоридом кадмію 30-тої доби експерименту. Лакуни після загибелі сперматоцитів першого порядку. Цифрове фото. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. 10 x 40.

В деяких сім'яних трубочках залишались ділянки, що зберігали загальну архітектуру будови сперматогенного епітелію поряд з ділянками, які мають лакуни. В більшості сім'яних звивистих трубочок визначались сперматозоїди. На сперматозоїди перетворюються сперматиди, які поступово вступають у період формування. У ході формування змінюються ядро та цитоплазма сперматид: ядра набувають витягнутої форми і стають щільними через різку конденсацію хроматину та заміщення, такі сперматиди називаються вторинними сперматидами або пізніми сперматидами. Сперматозоїди, що формуються, відокремлюються від основної маси цитоплазми, поступово формують акросому, цитоскелет і починають рухатися по просвіту сім'яної трубочки (люмен) (рис.4.10).

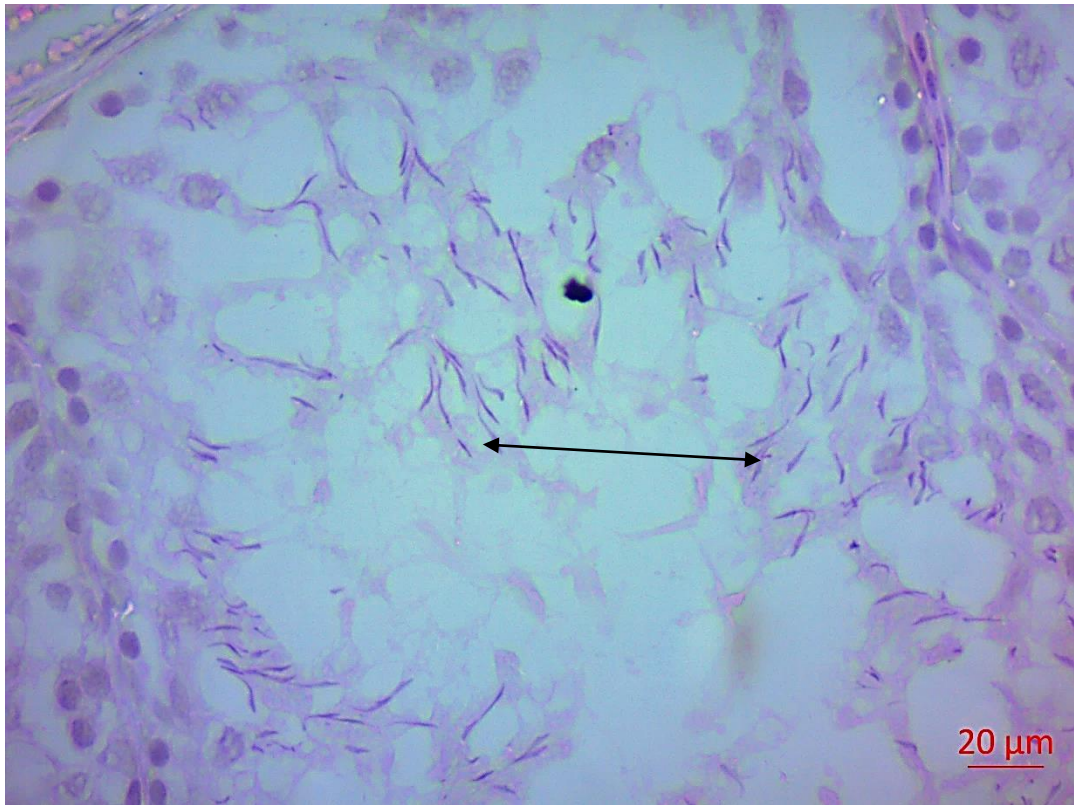


Рисунок 4.10. Фото гістологічного зрізу яєчка щура групи впливу хлоридом кадмію 30-тої доби експерименту. Сперматозоїди у просвіті сім'яної трубочки (вказано стрілками). Цифрове фото. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. 10 x 40.

Підтвердженням кадмій-індукованих змін морфологічної структури яєчок експериментальних тварин є результати проведеного нами кореляційного аналізу між рівнем накопичення кадмію паренхімою органу та спектром змін структурної організації органу. Було проведено аналіз кореляційних матриць, побудованих для усіх факторів дослідних щурів на 14, 20 і 30 добу та кореляційних матриць досліджуваних нами величин товщина сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка, діаметр звивистих каналців яєчка щурів.

## Кореляційна матриця досліджуваних величин.

	Накопичення кадмію (мкг/г) на 14-ту добу експерименту.	Накопичення кадмію (мкг/г) на 20-ту добу експерименту.	Накопичення кадмію (мкг/г) на 30-ту добу експерименту.
Товщина (мкм) сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка	0,720783190989864	0,894002075151945	0,920570101236641
Діаметр (мкм) звивистих каналців яєчка щурів	0,917858175717303	0,949611735629395	0,895063447472686

Відповідно до кореляційної матриці, виявлено прямий, сильний кореляційний зв'язок між накопиченням кадмію (мкг/г) на 14-ту, 20-ту, 30-ту добу експерименту та товщиною (мкм) сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка ( $r=0,72$ ;  $p<0,05$ ), ( $r=0,89$ ;  $p<0,05$ ), ( $r=0,92$ ;  $p<0,05$ ) відповідно; виявлено також прямий, сильний кореляційний зв'язок між накопиченням кадмію (мкг/г) на 14-ту, 20-ту, 30-ту добу експерименту та діаметром (мкм) звивистих каналців яєчка щурів ( $r=0,91$ ;  $p<0,05$ ), ( $r=0,94$ ;  $p<0,05$ ), ( $r=0,89$ ;  $p<0,05$ ) відповідно. Таким чином потовщення сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка та збільшення діаметра звивистих каналців яєчка щурів тісно пов'язано з накопиченням кадмію в організмі дослідних щурів.

Загальновідомо, що процес сперматогенезу дуже чутливий до дії різних шкідливих чинників довкілля. Негативний вплив на нього мають стресреакції, куріння, алкоголізм, іонізуюча радіація та інші фактори. Хронічний вплив ксенобіотиками безумовно викликає морфологічні та морфофізіологічні зміни в структурі паренхіми яєчка і будові сперматозоїдів. Нами досліджувалися морфологічні зміни паренхіми яєчка дослідних тварин під хронічним впливом хлориду кадмію. В нашому дослідженні визначалось збільшення розмірів і вагових показників яєчка при ізольованому впливі хлоридом кадмію, що є проявом інтоксикації за рахунок набряку його структурних компонентів, збільшення



кровонаповнення, отже формується гіпоксія органу, що призводить до порушення сперматогенезу.

### **Висновки за розділом.**

Експериментально доведено, що хронічний вплив хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг викликає підвищення масометричних показників яєчка дослідних тварин на 12-13% порівняно з контролем (достовірність різниці  $p \leq 0,05$ ) на всіх термінах дослідження. При цьому в експериментальній групі впливу хлоридом кадмію визначалась втрата ваги дослідними тваринами.

Обрахування індексу маси яєчка продемонструвало, що на всіх досліджуваних термінах індекс маси яєчка у 1,4 рази перевищував контрольні показники.

Хронічний вплив хлориду кадмію призводив до достовірного потовщення білкової оболонки яєчка щурів, її розшарування та збільшення діаметра кровоносних судин і високого рівня кровонаповнення.

Вплив хлориду кадмію на всіх термінах дослідження призводив до зростання середніх показників діаметра сім'яних трубочок яєчка від 13% до 15% порівняно з контролем ( $p=0,05$ ) та значного набряку інтерстиціального простору стромы яєчка в експерименті на щурах.

Ізольований вплив кадмієм в зазначеній дозі призводить до зміни гістологічної будови паренхіми яєчка, а саме структурно-функціональної одиниці яєчка - звивистої сім'яної трубочки. В 68% досліджених зрізів паренхіми яєчка визначалось витончення внутрішнього шару оболонки трубочки та розшарування його на окремі тяжі із розширенням внутрішнього простору трубочки, зменшенням кількості первинних сперматоцитів.

Підтвердженням кадмій-індукованих змін морфологічної структури яєчок експериментальних тварин є результати проведеного нами кореляційного аналізу, який свідчить про наявність прямого, сильного кореляційного зв'язку між накопиченням кадмію (мкг/г) на 14-ту, 20-ту, 30-ту добу експерименту та товщиною (мкм) сполучнотканинної оболонки

бокової поверхні яєчка ( $r=0,72$ ;  $p<0,05$ ), ( $r=0,89$ ;  $p<0,05$ ), ( $r=0,92$ ;  $p<0,05$ ) відповідно; виявлено також прямий, сильний кореляційний зв'язок між накопиченням кадмію (мкг/г) на 14-ту, 20-ту, 30-ту добу експерименту та діаметром (мкм) звивистих каналців яєчка щурів ( $r=0,91$ ;  $p<0,05$ ), ( $r=0,94$ ;  $p<0,05$ ), ( $r=0,89$ ;  $p<0,05$ ) відповідно. Таким чином потовщення сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка та збільшення діаметра звивистих каналців яєчка щурів тісно пов'язано з накопиченням кадмію в організмі дослідних щурів.

**Представлені в розділі результати експериментального дослідження оприлюднені у наступних публікаціях:**

1.Nefodova OO, Hruzd VV. [Experimental study of the dynamics of morphological changes in the rat testum under chronic influence of cadmium chloride]. Morphologia. 2023;17(4):34-40. Ukrainian.

2.Грузд В.В., Нефьодова О.О. Морфогенетичний зміни яєчка щура при хронічному введенні поллютанта. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. Pp. 168-171. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/distance-learning-problems-ways-ofdevelopment-and-the-latest-technologies/>

## РОЗДІЛ 5

### **РЕЗУЛЬТАТИ КОМБІНОВАНОГО ВПЛИВУ ХЛОРИДУ КАДМІЮ З СУКЦИНАТАМИ ЦИНКУ ТА ЗАЛІЗА НА МОРФОГЕНЕЗ ЯЄЧКА ЩУРА В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

У цьому розділі представлені результати та аналіз змін в морфологічних структурах яєчок щурів за умов комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатами цинку/заліза на 14-ту, 20-ту та 30-ту добу експериментального дослідження.

#### **5.1. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатом заліза на морфогенез яєчка щура в експерименті.**

У групі комбінованого введення кадмію та сукцинату заліза нами визначались можливі потенційні біоантагоністичні характеристики заліза по відношенню до кадмію. В організмі залізо, як есенціальний мікроелемент, входить до складу гемоглобіну, міоглобіну, цитохромів, активно використовується для транспортування кисню і бере участь в окиснювальних процесах. Більша частина заліза в організмі міститься в еритроцитах, багато заліза знаходиться в клітинах мозку, а насичення клітин і тканин залізом відбувається за допомогою білка трансферину. Всі властивості мікроелементу заліза в межах організму здатні підвищувати захисні функції організму та підсилювати стійкість окислювано-відновлюваних систем, підтримувати гомеостаз. Саме ці властивості сполук заліза підсилюються в формі його солей бурштинової кислоти – в сукцинатах. Сукцинат заліза, який ми використовували в експерименті, мав хелатну наноформу, що збільшувало його біодоступність в організмі,

підвищувало хімічну активність завдяки нанорозміру та сприяло зниженню інтоксикації хлоридом кадмію.

Аналіз досліджуваних чинників в групі комбінованого впливу кадмію з сукцинатом заліза на яєчко показали наступне. Як і в групі ізольованого впливу, яєчка самців щурів групи комбінованого впливу макроскопічно мали овоїдну форму, рожевий колір, щільну оболонку з контурами судин, без видимих аномалій. Судини оболонки яєчка щурів мали високий ступінь кровонаповнення, виглядали рельєфно, мали виражений рівень звивистості (рис.5.1).



Рисунок 5.1. Фото яєчка щура групи комбінованого впливу хлоридом кадмію з сукцинатом заліза 20-тої доби під час оперативного видалення. Добре помітні судини та білкова оболонка статевої залози.

Під час оперативного вилучення у тварин групи комбінованого введення на всіх трьох термінах дослідження при зовнішньому огляді яєчок поверхня їх була гладкою, блискучою з вираженими судинами (рис. 5.1). Довжина яєчка у тварин цієї групи в середньому становила  $22,04 \pm 1,3$  мм, ширина –  $15,43 \pm 1,45$  мм. Такі показники перевищували контрольні, проте були нижчими за показники в групі ізольованого впливу кадмієм. Середній

показник маси яєчок в групі комбінованого введення перевищував контрольні на всіх трьох термінах експерименту, проте також був нижчий за групу ізольованого впливу хлоридом кадмію, що ми розцінювали як модифікуючий вплив сукцинату заліза на гонадотоксичність хлориду кадмію в хронічному експерименті на щурах (рис.5.2).

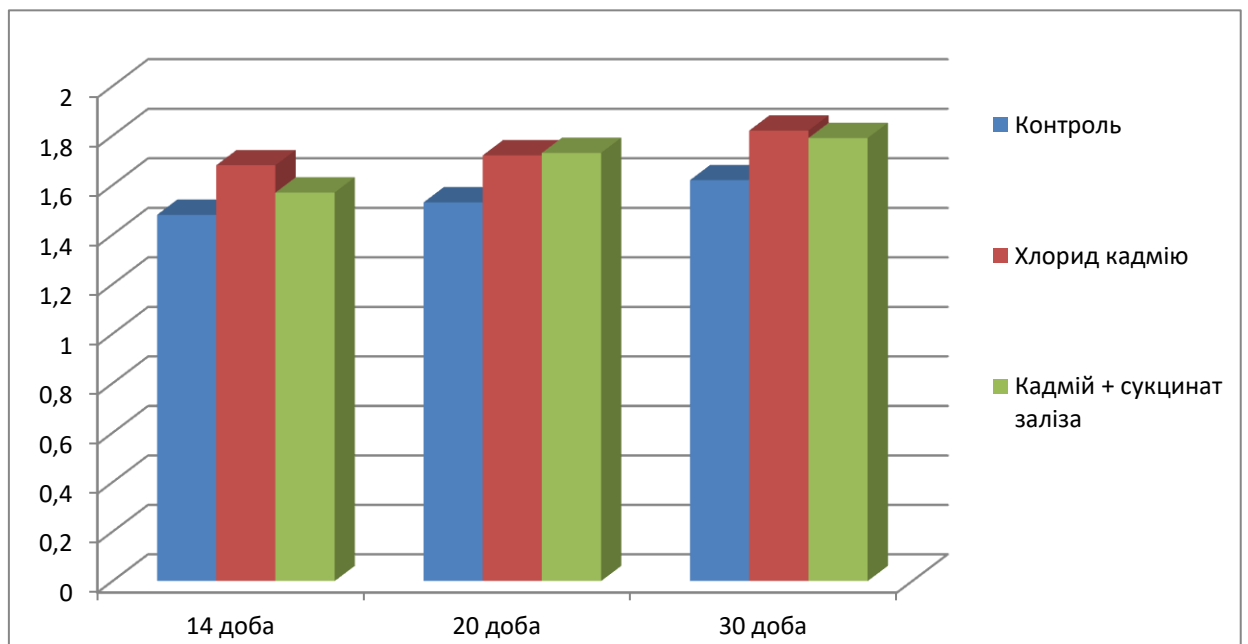
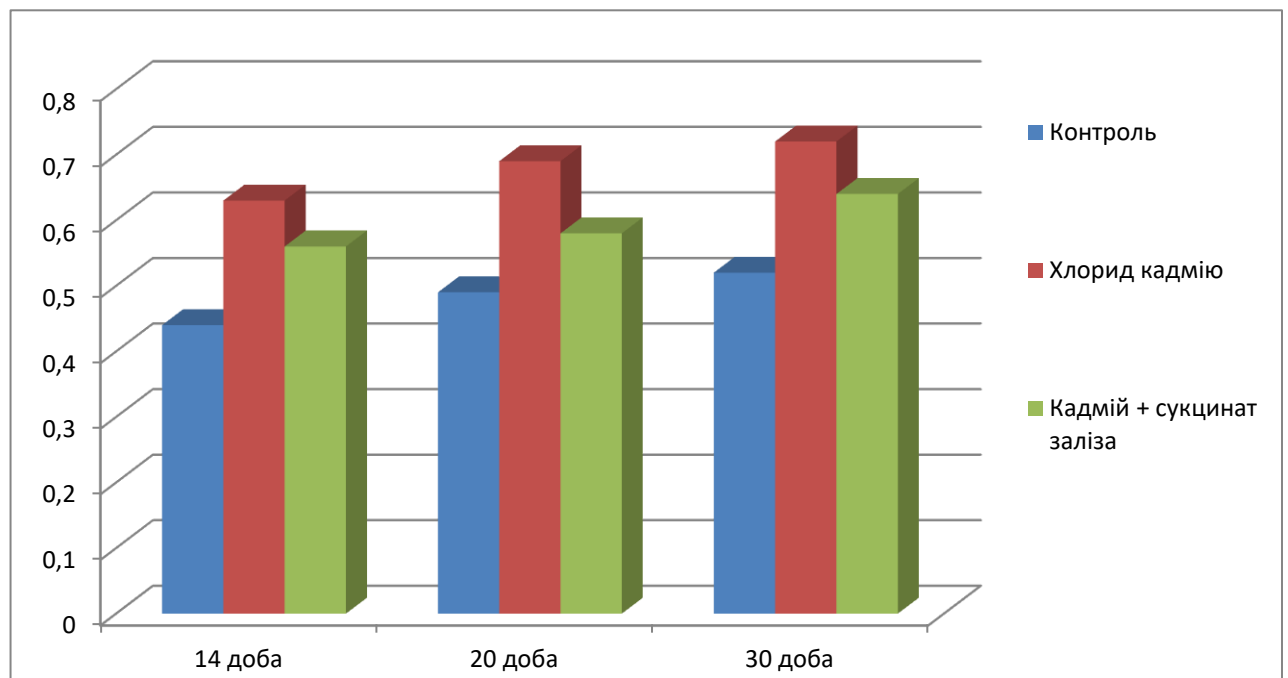


Рис.5.2. Динаміка змін середніх значень показників маси яєчка (г) дослідних тварин в контрольній групі, групі ізольованого впливу хлориду кадмію та комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатом заліза впродовж усього експерименту.

На 14-ту добу експериментального дослідження визначалось достовірне ( $p=0,05$ ) підвищення середнього показника маси яєчка в порівнянні до контрольних даних –  $1,57\pm 0,077$  г, на наступному терміні - 20-та доба показник не мав достовірної різниці з групою ізольованого впливу хлоридом кадмію –  $1,73\pm 0,045$  г.

Проте на 30-ту добу середній показник маси яєчка по групі комбінованого впливу недостовірно знижувався в порівнянні до показника в групі впливу кадмієм ізольовано. Як і в попередній групі ізольованого впливу хлоридом кадмію, в експериментальній групі комбінованого введення визначалась втрата ваги самцями щура. Обрахування індексу маси

яєчка (ІМЯ) як показника співвідношення маси органу до маси щура



продемонструвало наступне (рис. 5.3).

Рис.5.3. Динаміка змін індексу маси яєчка дослідних тварин в контрольній групі, групі ізолюваного впливу хлориду кадмію та комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатом заліза впродовж усього експерименту.

Отримані результати та їх співставлення свідчать про позитивний модифікуючий вплив сукцинату заліза на вагові показники статевих залоз та самих щурів. Вже на 14-ту добу введення сукцинату заліза з кадмієм ІМЯ дорівнював 0,61, що було достовірно вищим за контрольні показники (0,44), але нижчим за ІМЯ при впливі ізолюваного хлориду кадмію (0,63). На 20-ту добу дослідження в групі комбінованого введення індекс маси яєчка недостовірно зростав відносно попереднього терміну експерименту, проте наприкінці дослідження індекс маси яєчка становив 0,64, що було достовірно нижчим ( $p=0,05$ ) за групу ізолюваного впливу кадмієм – 0,72, але і достовірно перевищувало контрольні показники 30-тої доби експерименту (0,52).

Таким чином, вже з першого досліджуваного терміну експерименту, комбіноване введення сукцинату заліза стримувало негативний вплив хлориду кадмію на вагові показники яєчка та самих щурів.

Як показав аналіз та порівняння середніх показників довжини та ширини яєчка трьох дослідних термінах, дані показники збільшувались пропорційно до збільшення вагових даних яєчка при ізольованому впливі кадмієм, проте знижувались в групі комбінованого впливу кадмію з залізом. Різниця довжини і ширини яєчка не мала достовірності, проте визначалась тенденція до зниження розмірів у бік до контрольних даних: ширина становила  $15,43 \pm 1,47$  мкм, а довжина визначалась на рівні  $22,04 \pm 1,3$  мкм.

Як зазначалося вище, при гістологічних дослідженнях в групі ізольованого впливу кадмієм, визначалось потовщення оболонки яєчка на всіх трьох досліджуваних термінах. Білкова оболонка яєчка має градієнт товщини відповідно до локалізації. Передня поверхня найтонша, задня має найвищі показники, що пов'язано з формуванням сполучнотканинної оболонки для придатка яєчка, виносних протоків та середостіння, бічні поверхні мають середній розмір. В групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза на 14-тій добі показник знижувався без достовірної різниці у порівнянні до групи ізольованого впливу ( $50,42 \pm 3,21$  мкм) показник товщини білкової оболонки бічних поверхонь  $48,81 \pm 3,42$  мкм та передньої поверхні –  $38,17 \pm 3,19$  мкм, що ми розцінювали як позитивний вплив сукцинату при комбінованому введенні з кадмієм.

Наприкінці експерименту, тобто на 30-ту добу впливу найбільш достовірним було потовщення білкової оболонки яєчка бічної поверхні, яке в контролі становило  $50,24 \pm 3,87$  мкм, а при впливі кадмієм ізольовано –  $59,22 \pm 3,21$  мкм. В групі комбінованого впливу показник відновлювався до  $54,12 \pm 3,44$  мкм. Таким чином визначався позитивний вплив сукцинату заліза на гістологічні структури яєчка щурів при комбінованому введенні з хлоридом кадмію.

Як і при впливі хлоридом кадмію, в групі комбінованого введення спостерігалось розшарування білкової оболонки з розширенням судин, які локалізовані в ній. Прояв токсичного впливу кадмію з формуванням гіпоксичного стану яєчка, яке призводить до розшарувань білкової оболонки та розширенням судин зберігався при комбінованому впливі кадмію з сукцинатом заліза (рис.5.4).

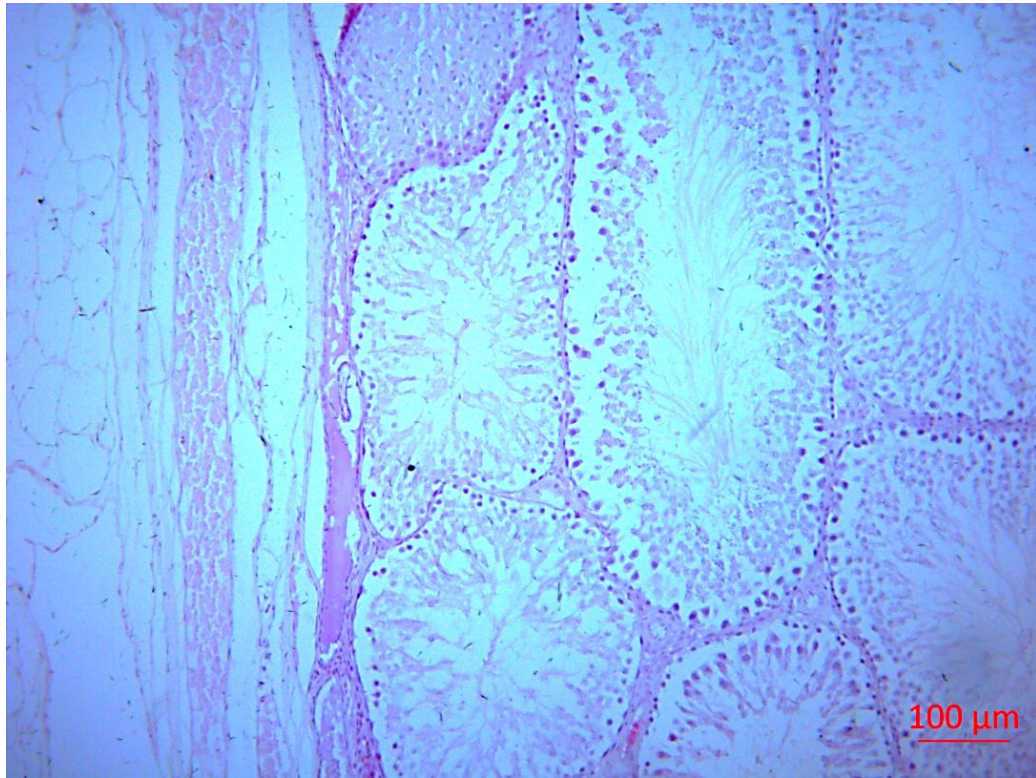


Рисунок 5.4. Фото гістологічного зрізу яєчка щура групи комбінованого впливу хлоридом кадмію з сукцинатом заліза 20-тої доби експерименту. Білкова оболонка має ділянки розшарування. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Наступним об'єктом гістологічного дослідження в групі комбінованого введення були звивисті сім'яні канальні, які є структурно-функціональною одиницею яєчка. Вимірювання діаметра звивистих канальців та порівняння отриманих результатів з контрольною групою і групою впливу кадмієм показали наступне. На 14-ту добу експерименту при комбінованому впливі визначалось розширення діаметра до  $309,44 \pm 19,46$  мкм у порівнянні до контрольних показників ( $284,29 \pm 12,13$  мкм). Але в порівнянні до групи ізольованого введення



кадмію на цей термін нами визначалось достовірне зменшення показника ( $p=0,05$ ). На 20-ту добу діаметр звивистих каналців при комбінованому впливі ( $320,83\pm 20,17$  мкм ) також перевищував контрольні дані, але не мав достовірної різниці з групою ізольованого впливу кадмієм. Наприкінці експерименту діаметр звивистих каналців в групі комбінації досліджуваних речовин становив  $324,71\pm 18,92$  мкм. Отримані дані свідчать про помірний позитивний вплив сукцинату заліза на гонадотоксичність хлориду кадмію в хронічному експерименті на щурах (рис.5.5).

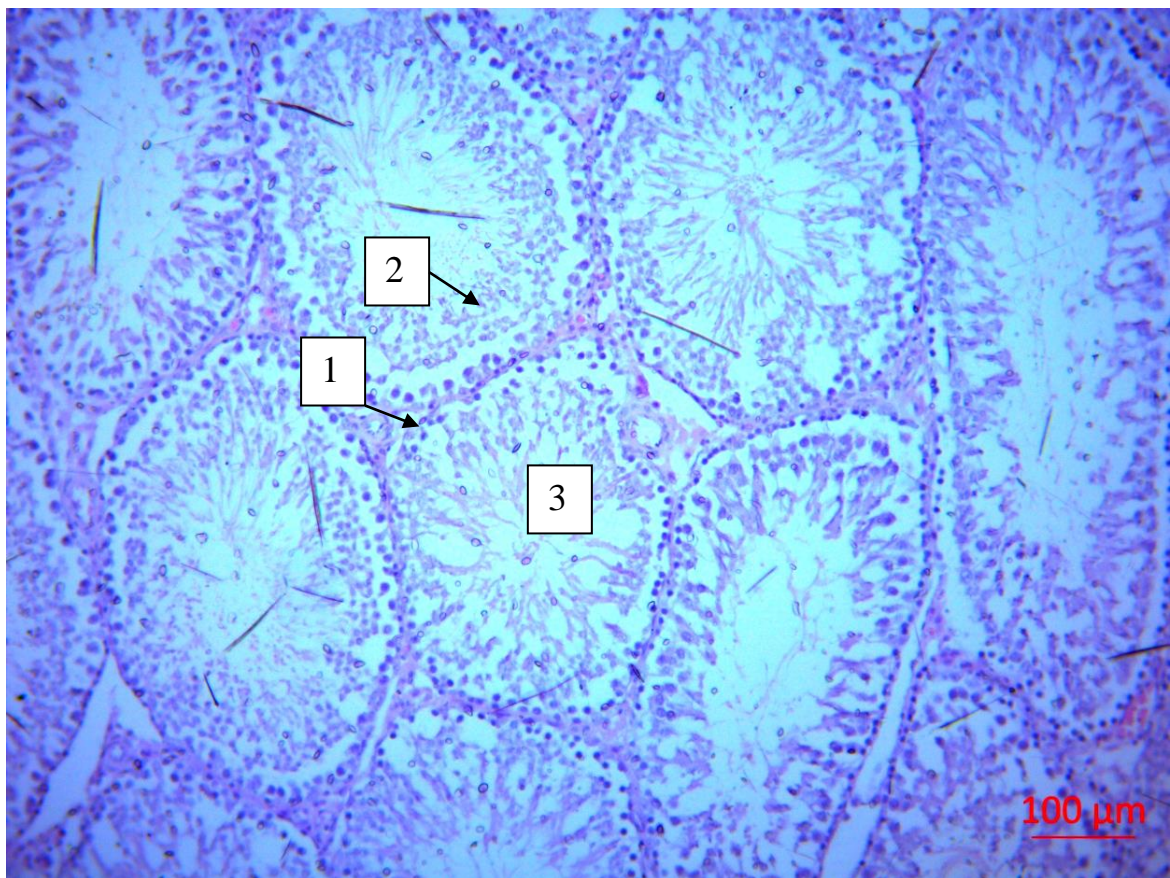


Рисунок 5.5. Фото гістологічного зрізу яєчка щура групи комбінованого впливу хлоридом кадмію та сукцинату заліза 20-тої доби експерименту. Звивисті сім'яні трубочки паренхіми яєчка. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10. Позначення: 1- первинні сперматоцити (вказано стрілками); 2 – вторинні сперматоцити; 3 – сперматозоїди в просвіті трубочки.

У зразках паренхіми яєчка групи комбінованого впливу кадмію з сукцинатом заліза не виявлялось набряку строми, який був вираженим в

гістологічних препаратах групи ізольованого впливу вже на 14-ту добу дослідження. В паренхімі яєчка кількість і щільність первинних сперматоцитів як і вся архітектура внутрішньої будови звивистих сім'яних каналців відповідали будові контрольної групи, що свідчить про позитивний вплив сукцинату заліза на токсичний вплив хлориду кадмію на сперматогенний епітелій та гістологічні структури статевої залози.

На 20-ту та 30-ту добу дослідження в зразках гістологічних препаратів не визначались гістологічні порушення будови паренхіми, які спостерігались при впливі кадмієм ізольовано, а значить не порушувались у такому ступені процеси сперматогенезу. Таким чином, отримані результати свідчать про те, що сукцинат заліза володіє біоантагоністичними властивостями щодо токсичності хлориду кадмію при їх одночасному надходженні в організм в зазначених дозах та способі введення в експериментах на щурах.

## **5.2. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатом цинку на морфогенез яєчка щура в експерименті.**

Сукцинат цинку в експерименті був обраний як мікроелемент, що відіграє важливу роль у функціонуванні організму, є потужним антиоксидантом та потрібен для росту та розвитку, статевого дозрівання. Цинк відіграє значну роль у біохімічних та фізіологічних процесах організму людини, проявляючи імуномодельючу, протизапальну, антимікробну, гемопоетичну, сперматогенетичну, антиоксидантну функції. Доведено, що відсутність цинку в період статевого дозрівання призводить до уповільнення росту і розвитку вторинних статевих ознак. А властивість цинку брати участь у процесах лігандоутворення з органічними молекулами пояснює надзвичайно широкий спектр його наявності у різних біологічних системах. Оскільки цинк має важливе значення для росту і диференціації клітин, то даний мікроелемент відіграє особливу роль в різні періоди життя,

а саме в ранньому дитинстві і в період статевого розвитку. Наночастинки солей цинку проявляють більшу біодоступність, володіють вираженою антимікробною властивістю, натепер активно досліджуються в різних галузях медицини, фармації, сільського господарства та в біології. Проте залишаються недослідженими біоантагоністичні властивості сукцинату цинку щодо негативного впливу ксенобіотиків на організм.

У групі комбінованого введення кадмію та сукцинату цинку нами експериментально визначались можливі потенційні біоантагоністичні характеристики цинку по відношенню до кадмію. Аналіз досліджуваних чинників в групі комбінованого впливу кадмію з сукцинатом цинку на яєчко показали як і в попередній групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза збереження високих показників індексу маси яєчка та високий ступінь кровонаповнення судин сполучнотканинної оболонки яєчка дослідних тварин.

Довжина яєчка у тварин цієї групи в середньому становила  $21,42 \pm 1,73$  мм, ширина –  $15,14 \pm 2,12$  мм. Такі показники недостовірно перевищували контрольні, проте були нижчими і за показники в групі ізольованого впливу кадмієм і за показники групи комбінованого впливу кадмію з сукцинатом заліза. Середній показник маси яєчок в групі комбінованого введення кадмію з цинком перевищував контрольні на всіх трьох термінах експерименту, проте також був нижчий за обидві експериментальні групи. Отриману динаміку масометричних показників ми розцінювали як модифікуючий вплив сукцинату цинку на токсичність хлориду кадмію в хронічному експерименті на щурах (рис.5.6). На 14-ту добу експериментального дослідження в групі комбінованого впливу кадмію з сукцинатом цинку визначалось недостовірне підвищення середнього показника маси яєчка в порівнянні до контрольних даних –  $1,51 \pm 0,045$  г, на 20-тій добі введення досліджуваних речовин показник також не мав достовірної різниці з групою контролю -  $1,66 \pm 0,068$  г як і з групою ізольованого впливу хлоридом кадмію. На 30-ту добу експерименту

середній показник маси яєчка по групі комбінованого впливу недостовірно знижувався в порівнянні до показника в групі ізольованого впливу хлоридом кадмію. Як і попередніх групах ізольованого та комбінованого з залізом впливу хлоридом кадмію, в експериментальній групі комбінованого введення з цинком визначалась втрата ваги самцями щура.

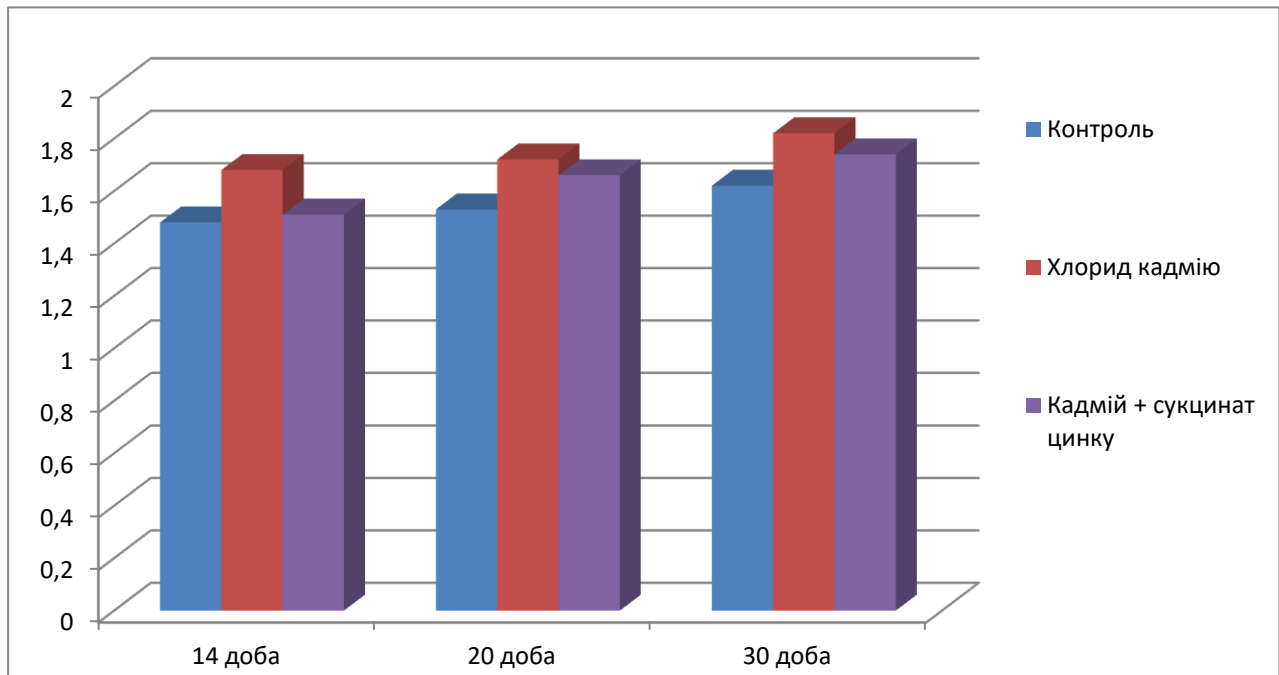


Рис.5.6. Динаміка змін середніх значень показників маси яєчка (г) дослідних тварин в контрольній групі, групі ізольованого впливу хлориду кадмію та комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатом цинку впродовж усього експерименту.

Як видно з діаграми, найвищі показники маси яєчка визначаються в групі ізольованого впливу хлоридом кадмію.

Обрахування індексу маси яєчка (ІМЯ) як показника співвідношення маси органу до маси щура в групі комбінованого впливу кадмію та сукцинату цинку продемонструвало наступне (рис. 5.7). Індекс маси яєчка збільшується впродовж всього терміну хронічного експерименту і в контрольній групі. Комбіноване введення хлориду кадмію з сукцинатом цинку на 14-ту та 20-добу експерименту суттєво і стабільно знижує показник індексу в порівнянні до групи ізольованого впливу кадмієм. В порівнянні до групи контролю на цих двох термінах існує достовірне

( $p=0,05$ ) збільшення ІМЯ. Проте на 30-тій добі експерименту індекс не мав достовірної різниці з контролем, що ми розцінюємо як високий рівень біоантагонізму сукцинату цинку по відношенню до хлориду кадмію при комбінованому введенні в зазначених дозах та способі в експерименті на щурах.

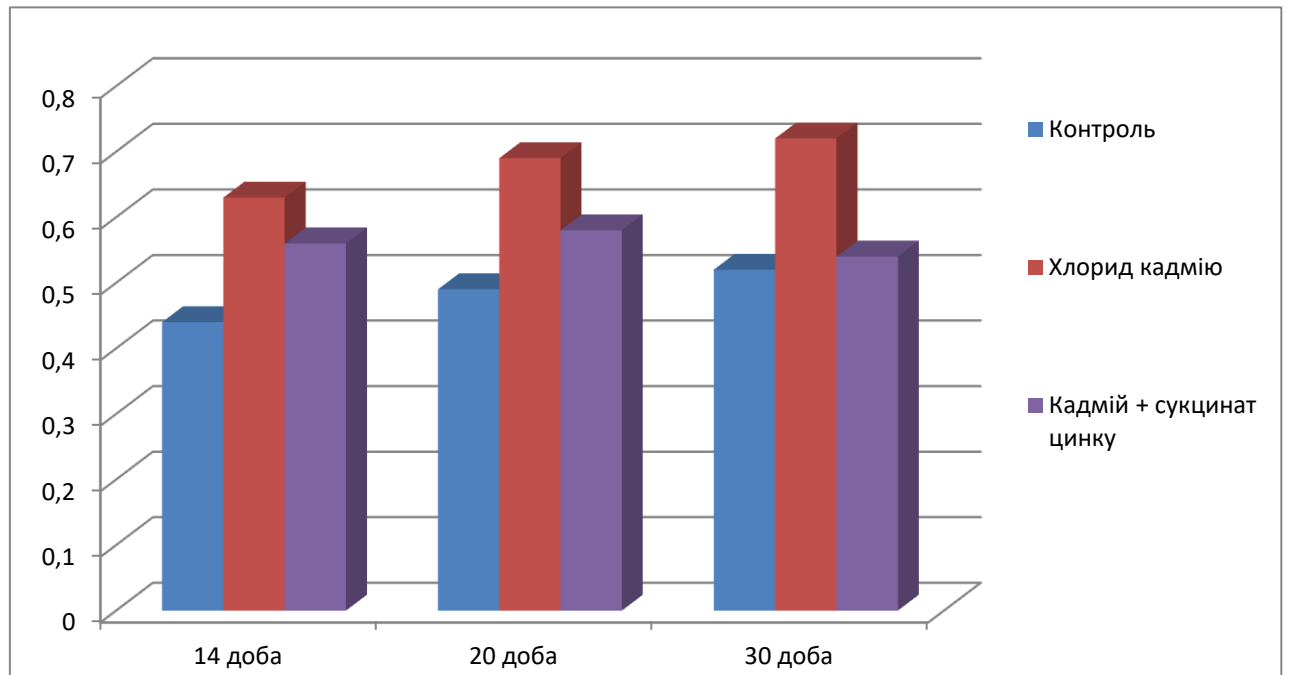


Рис.5.7. Динаміка змін індексу маси яєчка дослідних тварин в експериментальних групах ізольованого введення хлориду кадмію та в комбінації з сукцинатом цинку в порівнянні до контролю впродовж усього експерименту.

Аналіз та порівняння гістологічних структур яєчка в дослідній групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку продемонстрували відновлення показників у бік до контрольних. Так, товщина білкової оболонки бокових поверхонь статевої залози, яка вже на 14-тій добі при ізольованому впливі кадмієм достовірно збільшувалась до  $50,42 \pm 3,21$  мкм, в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку становила  $47,17 \pm 3,18$  мкм і не мала достовірної різниці у порівнянні до групи контролю на даному терміні. Товщина білкової оболонки передньої поверхні яєчка в усіх групах майже не змінювалась. Наприкінці хронічного

експерименту, тобто на 30-ту добу введення досліджуваних речовин товщина оболонки в групі комбінації з сукцинатом цинку не мала достовірної різниці з контролем і становила  $51,47 \pm 3,19$  мкм (контроль -  $50,24 \pm 3,87$  мкм) не зважаючи на суттєве потовщення цього параметру при впливі кадмієм ізольовано -  $59,22 \pm 3,21$  мкм. Таким чином, комбіноване введення сукцинату цинку з хлоридом кадмію відновлює до контрольних показників товщину білкової оболонки яєчка дослідних тварин на всіх досліджуваних термінах, що свідчить про його модифікуючий вплив на токсичність кадмію в хронічному експерименті на щурах.

Наступний об'єкт гістологічного дослідження в групі комбінованого введення - діаметр звивистих сім'яних трубочок, як структурно-функціональної одиниці яєчка. Порівняння динаміки змін діаметра звивистих трубочок яєчка в групі контролю впродовж всього терміну експерименту продемонструвало зростання цього показника. На 14-ту добу в контролі діаметр становив  $284,29 \pm 12,13$  мкм, на 20-тій добі зростав до  $292,31 \pm 13,48$  мкм, а наприкінці експериментального дослідження сягав  $301,71 \pm 15,81$  мкм. Порівняння змін діаметра звивистих трубочок яєчка між групами ізольованого введення кадмію та групою комбінації з сукцинатом цинку з контрольною групою продемонстрували наступне. На 14-ту добу експерименту при комбінованому впливі кадмію з сукцинатом цинку визначалось відновлення діаметра до  $295,34 \pm 16,27$  мкм, що наближало показник в бік до контрольних показників, не зважаючи на суттєве розширення діаметра при ізольованому впливі кадмієм. В порівнянні до групи ізольованого введення кадмію на цей термін нами визначалось достовірне зменшення показнику ( $p=0,05$ ). На 20-ту добу діаметр звивистих трубочок при комбінованому впливі ( $297,84 \pm 14,37$  мкм) також знижувався у порівнянні до ізольованого введення кадмію і не мав достовірної різниці з контрольними даними.

Наприкінці експерименту (30-та доба) діаметр звивистих трубочок в групі комбінації досліджуваних речовин становив  $308,13 \pm 15,41$  мкм, що

також не мав достовірної різниці з контролем. Отримані дані свідчать про модифікуючий позитивний вплив сукцинату цинку на гонадотоксичність хлориду кадмію в хронічному експерименті на щурах (рис.5.8). У зразках гістологічних препаратів групи комбінованого впливу на всіх термінах не виявлялось набряку паренхіми яєчка, який був присутнім в групі ізольованого впливу кадмієм.

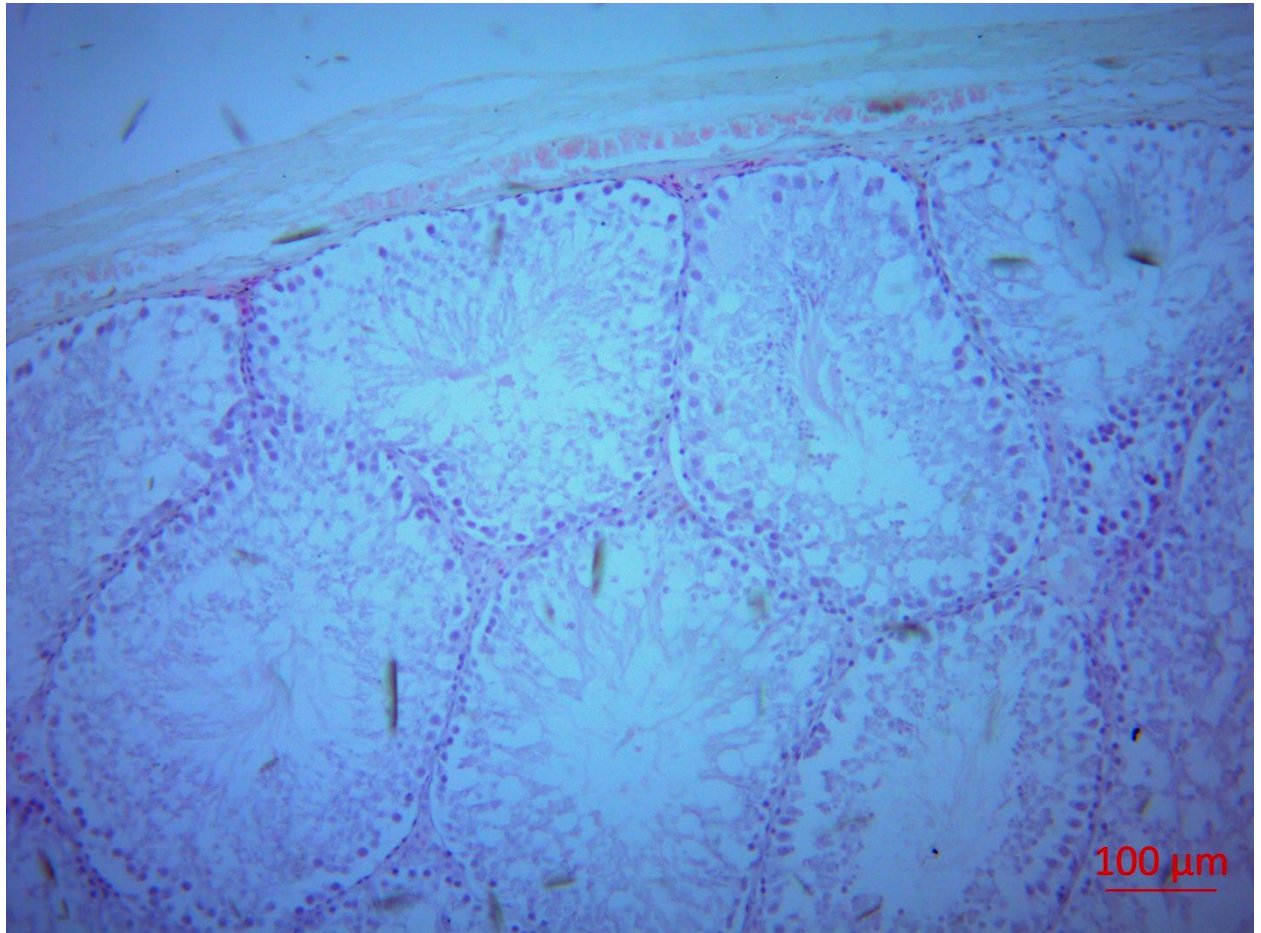


Рис.5.8. Фото гістологічного зрізу яєчка щура групи комбінованого впливу хлоридом кадмію з сукцинатом цинку 20-тої доби експерименту. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Не визначалось патологічних змін і в будові звивистих трубочок яєчка: кількість та щільність сперматогоній, кількість первинних сперматоцитів як і архітектура внутрішнього шару звивистих трубочок не мали достовірної різниці з контрольними зразками.

Відповідно до кореляційної матриці, виявлено, що потовщення сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка та збільшення діаметра звивистих каналців яєчка щурів тісно пов'язано з накопиченням кадмію в організмі дослідних щурів. Далі варто визначити, які з досліджуваних ознак є факторними (такими, що від них залежать інші), а які – результативними (такими, що самі залежать від інших). В нашому дослідженні це дані про товщину сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка та накопичення кадмію, а також аналогічно дані про діаметр звивистих каналців яєчка та накопичення кадмію. Очевидно, що коли між цими ознаками існує залежність, то саме товщина сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка, і діаметр звивистих каналців яєчка, залежить від накопичення кадмію а не навпаки. Тобто накопичення кадмію є факторною ознакою, а товщина сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка, і діаметр звивистих каналців яєчка – результативними відповідно. Кореляційний аналіз дає змогу встановити, чи існує зв'язок між явищами і наскільки цей зв'язок сильний. Зв'язок виявився суттєвим, далі доцільно було скористатися методами регресійного аналізу, основне завдання якого полягає у визначенні характеру зв'язку і побудові його математичної моделі. На основі моделі можна передбачити ту або іншу подію, спрогнозувати, як будуть розвиватися певні процеси у разі зміння характеристик об'єкта дослідження.

Таблиця 5.1.

Вплив накопичення кадмію (мкг/г) на 14-ту добу експерименту на товщину сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка та діаметр звивистих каналців яєчка щурів

Групи тварин	Накопичення кадмію (мкг/г) на 14-ту добу експерименту	Товщина (мкм) сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка	Діаметр (мкм) звивистих каналців яєчка щурів
Контроль	0,0555	47,97	284,29
Хлорид кадмію + залізо	0,0913	48,81	309,44
Хлорид кадмію + цинк	0,0858	48,95	295,34
Хлорид кадмію	0,104	56,38	327,18



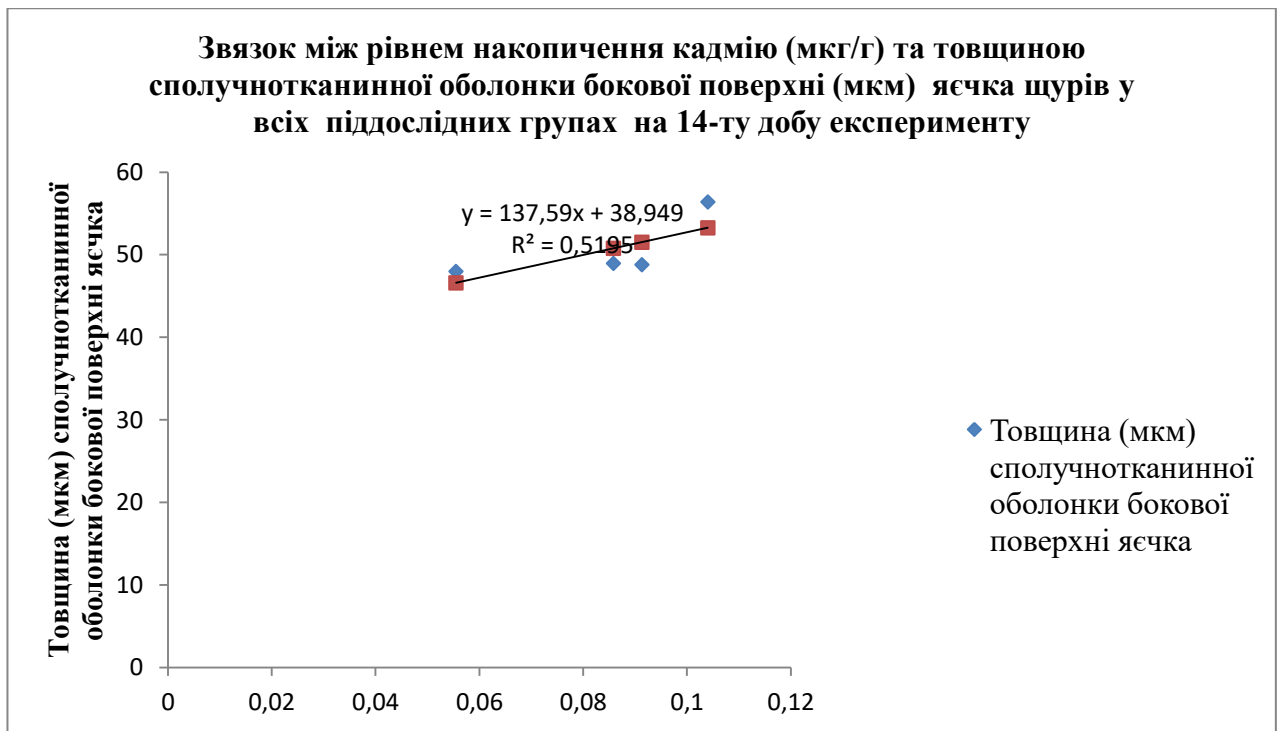


Рис. 5.9. Накопичення кадмію (мкг/г) в яєчках щурів у всіх піддослідних групах на 14-ту добу експерименту.

Близькість рівняння регресії та лінії тренду до вибірових даних характеризується величиною коефіцієнта детермінації  $R^2=0,5195$ .  $R^2$  має середнє значення і вказує наскільки отримані спостереження підтверджують математичну модель, отже, регресійна модель на 14 добу експерименту середньої якості (табл.5.1, рис.5.9).

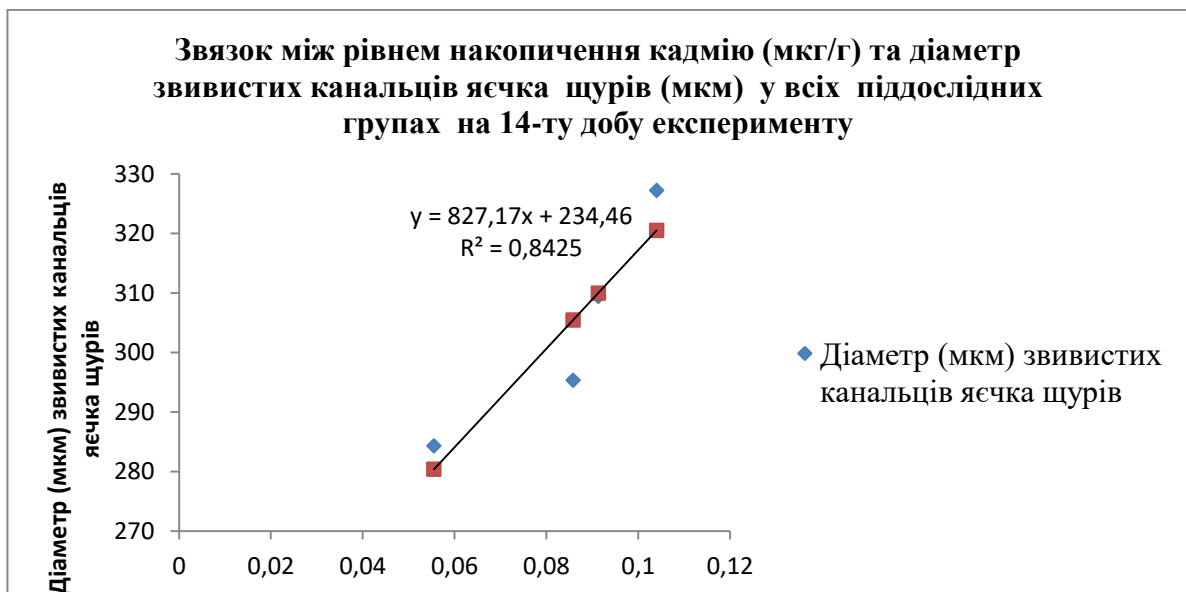


Рис.5.10. Накопичення кадмію (мкг/г) в яєчках щурів у всіх піддослідних групах на 14-ту добу експерименту.

Коефіцієнт детермінації має значення  $R^2=0,8425$  і вказує, що регресійна модель на 14 добу експерименту якісна (табл. 5.1, рис.5.10).

Таблиця 5.2.

Вплив накопичення кадмію (мкг/г) на 20-ту добу експерименту на товщину сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка та діаметр звивистих каналців яєчка щурів

Групи тварин	Накопичення кадмію (мкг/г) на 20-ту добу експерименту	Товщина (мкм) сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка	Діаметр (мкм) звивистих каналців яєчка щурів
Контроль	0,0699	48,81	292,31
Хлорид кадмію + цинк	0,1122	51,39	297,84
Хлорид кадмію + залізо	0,1394	51,39	320,83
Хлорид кадмію	0,1656	57,1	331,52

Коефіцієнт детермінації має значення  $R^2=0,7992$  і вказує, що регресійна модель зв'язку між рівнем накопичення кадмію та товщиною сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка щурів у всіх піддослідних групах на 20-ту добу експерименту більш якісна (Табл.5.2,

рис.5.11).

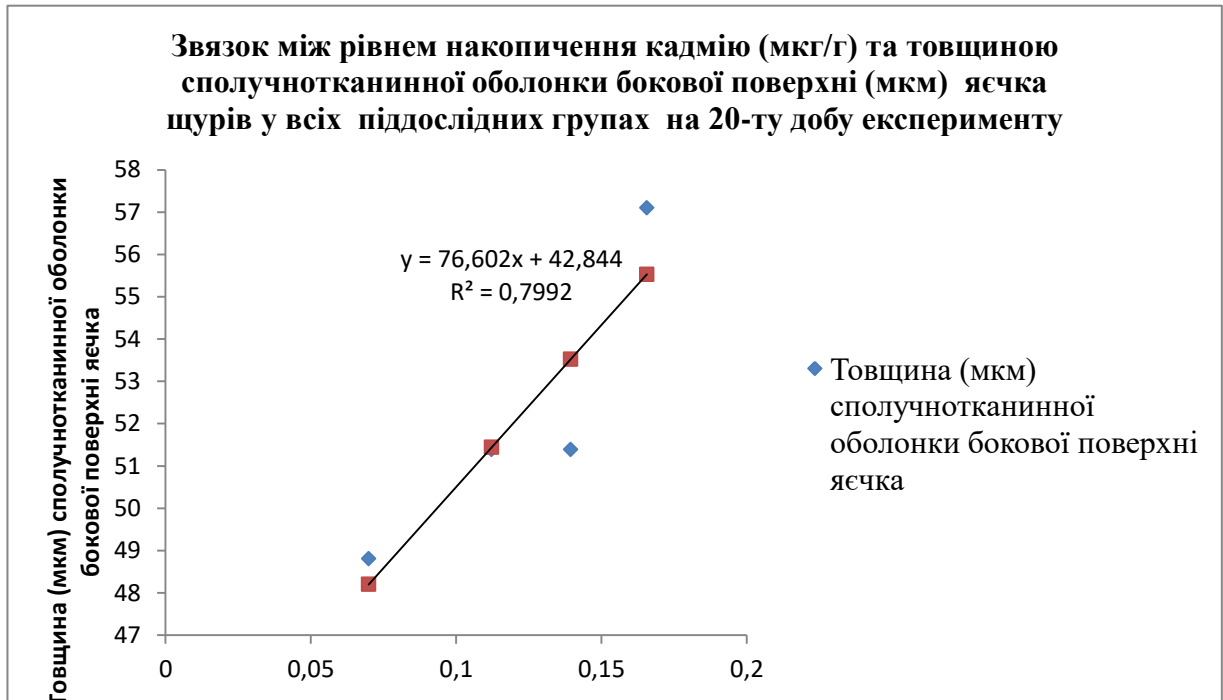


Рис.5.11. Накопичення кадмію (мкг/г) в яєчках щурів у всіх піддослідних групах на 20-ту добу експерименту.

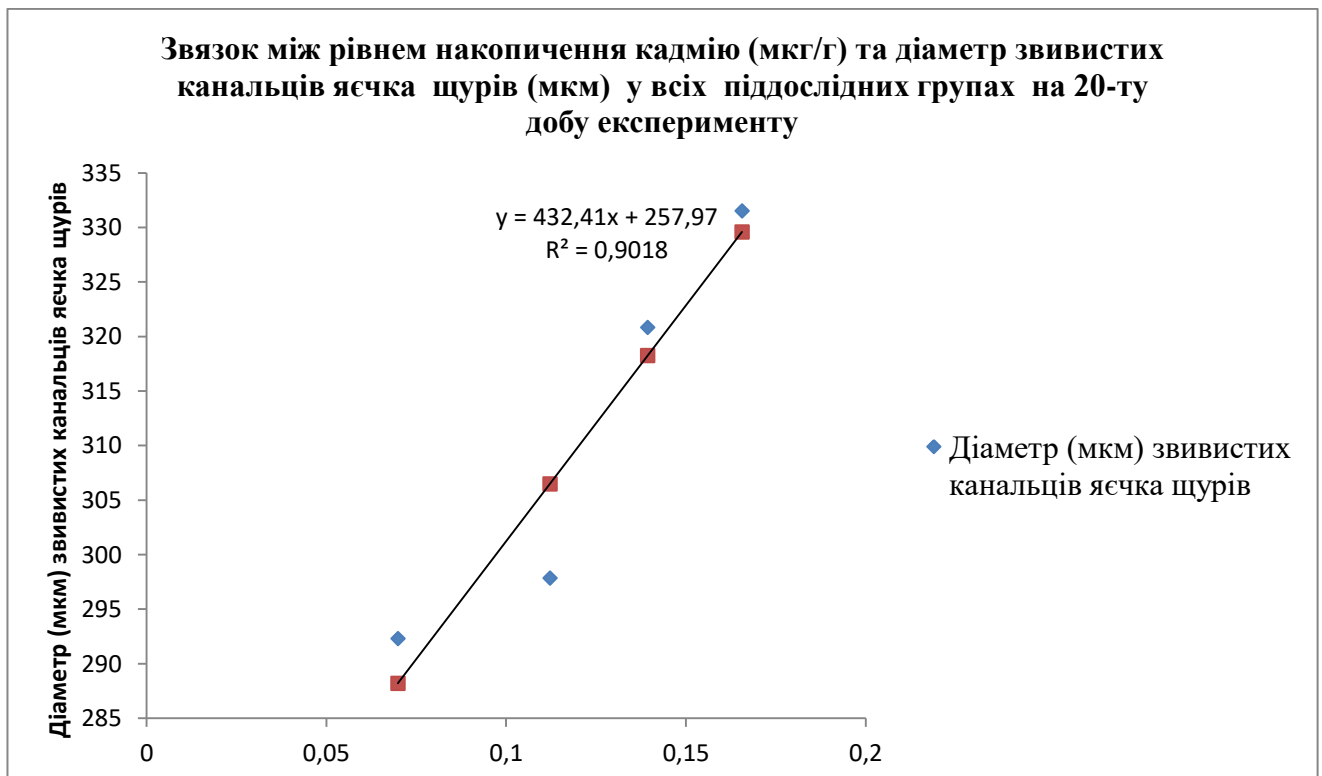


Рис. 5.12. Накопичення кадмію (мкг/г) в яєчках щурів у всіх піддослідних групах на 20-ту добу експерименту.

Аналізуючи зв'язок між рівнем накопичення та діаметром звивистих каналців яєчка щура на 20ту добу експерименту в усіх дослідних групах

бачимо, що коефіцієнт детермінації має значення  $R^2=0,9018$  наближається до одиниці і стає більш якісною (Табл.5.2, рис.5.12).

Таблиця 5.3.

Вплив накопичення кадмію (мкг/г) на 30-ту добу експерименту на товщину сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка та діаметр звивистих каналців яєчка щурів

Групи тварин	Накопичення кадмію (мкг/г) на 30-ту добу експерименту	Товщина (мкм) сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка	Діаметр (мкм) звивистих каналців яєчка щурів
Контроль	0,0771	50,24	301,71
Хлорид кадмію	0,2995	59,22	348,29
Хлорид кадмію + залізо	0,2528	54,12	324,71
Хлорид кадмію + цинк	0,1944	54,12	308,13

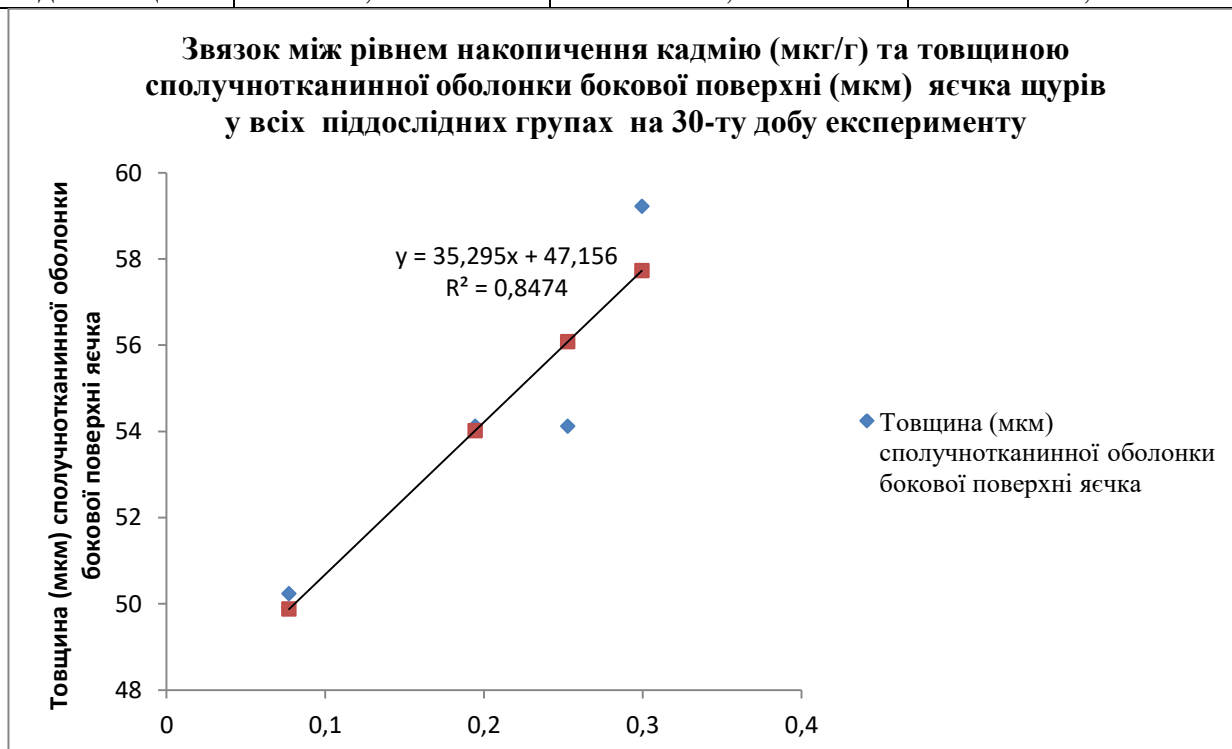


Рис.5.13. Накопичення кадмію (мкг/г) в яєчках щурів у всіх піддослідних групах на 30-ту добу експерименту.

Близькість рівняння регресії та лінії тренду до вибірових даних характеризується величиною коефіцієнта детермінації  $R^2=0,8474$ . Рівняння

регресії відповідає дійсності, так як  $R^2$  наближається до 1 (Табл.5.2, рис.5.13).

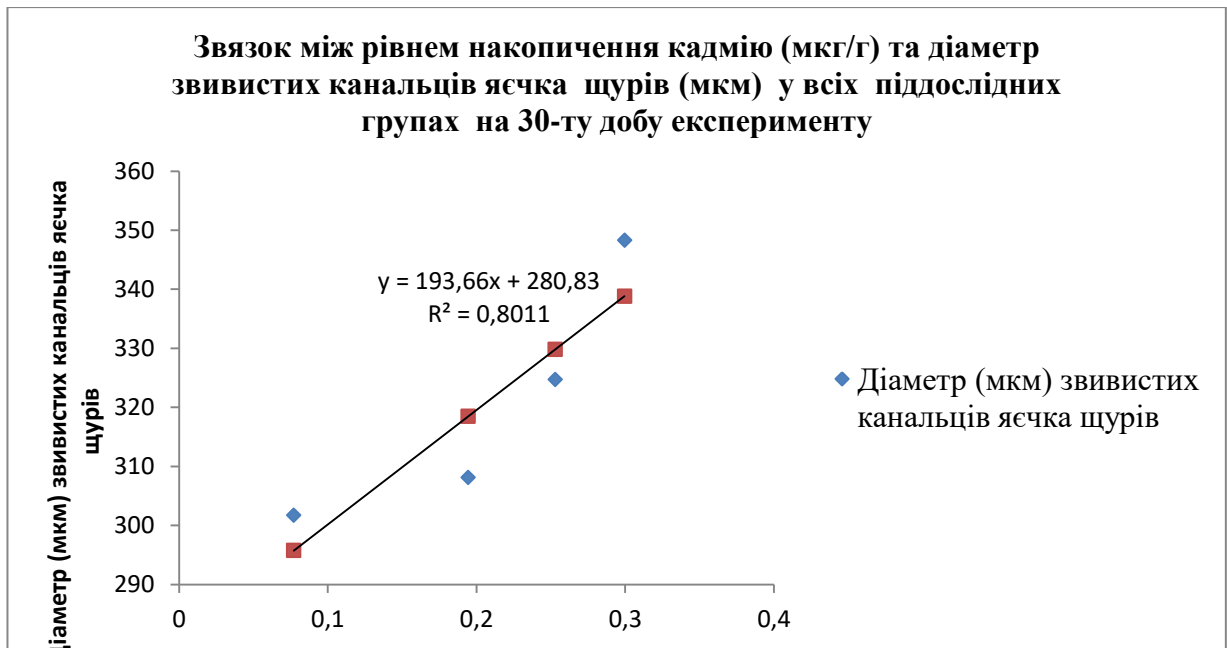


Рис. 5.14. Накопичення кадмію (мкг/г) в яєчках щурів у всіх піддослідних групах на 30-ту добу експерименту.

$R^2=0,8011$ . Рівняння регресії відповідає дійсності, так як  $R^2$  близько до 1. Разом з тим в порівнянні з відповідним рівнянням регресії а 20-ту добу експерименту модель стає менш якісною.

У ході кореляційно-регресійного аналізу ми вирішили дві основні задачі:

- визначили чи існує зв'язок між аналізованими ознаками;
- побудували рівняння регресії, тобто знайшли вид залежності між результатними показником і незалежними факторами.

З'ясували, що на відміну від кореляційного аналізу, який тільки відповідає на питання, чи існує зв'язок між аналізованими ознаками, регресійний аналіз дає і її формалізоване вираження. Крім того, якщо кореляційний аналіз вивчає будь-який взаємозв'язок факторів, то регресійний - односторонню залежність, тобто зв'язок, що показує, яким чином зміна факторних ознак впливає на результативну ознаку.

Таким чином, аналіз отриманих результатів та їх порівняння з групою ізольованого впливу кадмієм доводять позитивний модифікуючий вплив сукцинату цинку на гонадотоксичність кадмію при комбінованому введенні в експерименті на щурах в зазначеній дозі та способі введення в експерименті на щурах.

### **Висновки за розділом.**

Не зважаючи на підвищення масометричних показників яєчка дослідних тварин при ізольованому введенні хлориду кадмію на всіх термінах дослідження, комбіноване введення кадмію з сукцинатами цинку та заліза стримує зростання маси яєчка, що свідчить про їх позитивний модифікуючий вплив на токсичність кадмію.

Обрахування та порівняння індексу маси яєчка довело, що вже з 14-тої доби експерименту комбіноване введення сукцинату заліза стримувало негативний вплив хлориду кадмію на вагові показники яєчка та самих щурів. Індекс маси яєчка на 30-ту добу експерименту в групі комбінованого введення становив 0,64 (група ізольованого впливу кадмієм – 0,72). Комбіноване введення хлориду кадмію з сукцинатом цинку з 14-тої доби експерименту суттєво і стабільно знижує показник індексу маси яєчка до кінця експерименту (0,54), наближаючи показник до контрольних значень (0,52). При комбінованому введенні хлориду кадмію з сукцинатами біометалів відновлювались у напрямку до контрольних даних і показники довжини і товщини яєчка.

На 30-ту добу експерименту в групі комбінованого впливу кадмію з сукцинатом заліза показник товщини білкової оболонки яєчка відновлювався до  $54,12 \pm 3,44$  мкм у бік до контрольних значень ( $50,24 \pm 3,87$  мкм), що було достовірно нижче за групу ізольованого введення хлориду кадмію -  $59,22 \pm 3,21$  мкм. У групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку товщина білкової оболонки яєчка наприкінці

експерименту не мала достовірної різниці з контролем і становила  $51,47 \pm 3,19$  мкм. Таким чином, визначався позитивний вплив сукцинату заліза та сукцинату цинку на показники гістологічних структур яєчка щурів при комбінованому введенні з хлоридом кадмію, що підтверджується результатами кореляційного та регресійного аналізів. В обох групах комбінованого введення зберігалось збільшення діаметра кровоносних судин і високого рівня кровонаповнення в паренхімі яєчка щурів.

Не зважаючи на зростання середніх показників діаметра сім'яних трубочок яєчка в групі ізольованого впливу хлоридом кадмію ( $348,29 \pm 21,61$  мкм), при комбінованому введенні з сукцинатом заліза ( $224,74 \pm 18,92$  мкм) та сукцинатом цинку ( $308,13 \pm 15,41$  мкм) визначалось відновлення досліджуваних параметрів гістологічної будови яєчка у бік до контрольних показників ( $301,71 \pm 15,81$  мкм). На гістологічних зрізах паренхіми яєчка в групах комбінованого введення не визначався набряк інтерстиціального простору стромы яєчка та витончення внутрішнього шару оболонки трубочки, які визначались при ізольованому впливі хлоридом кадмію в експерименті на щурах.

Таким чином, експериментально доведено позитивний модифікуючий вплив сукцинату заліза та сукцинату цинку на гонадотоксичність хлориду кадмію при комбінованому введенні в зазначених дозах в експерименті на щурах.

Проведений порівняльний аналіз довів, що сукцинат цинку та сукцинат заліза мають біоантагоністичні властивості щодо токсичності хлориду кадмію по впливу на морфологічний стан статевої системи. Сукцинат цинку має більш виражені біоантагоністичні властивості порівняно з сукцинатом заліза за дослідженими параметрами масометричних показників та гістологічної будови яєчок щурів в експериментальних умовах.

**Представлені у розділі результати експериментального дослідження опубліковані у наступних роботах:**

1.Нефьодова ОО, Грузд ВВ. Експериментальний аналіз комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатами цинку та заліза на морфогенез яєчка щура // Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2024; 4(38): 1363-1375.

2.Грузд В.В., Нефьодова О.О. Особливості корекції сукцинатом заліза інтоксикаційного впливу солей кадмію на статеву систему щура // Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції "Наука, освіта, технології та суспільство в ХХІ столітті: наукові ідеї та механізми реалізації", 30 січня 2024 року, Полтава – С.18-20.



## РОЗДІЛ 6

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Аналіз сучасних відкритих наукових публікацій висвітлює актуальність проблеми чоловічого безпліддя, яке зберігає свої лідируючі позиції в якості пріоритетних напрямків в андрології і залишається суттєвою медико-соціальною проблемою, що потребує вирішення на державному рівні. За останні десятиліття чоловіча фертильність зменшується і, за оцінками іноземних дослідників, на чоловічий фактор припадає мінімум 15-20% випадків безпліддя [228]. У всьому світі кількість сперматозоїдів в еякуляті та якість сперми у чоловіків постійно знижується. Причини чоловічого безпліддя складні, тому його етіологія в 50% випадків залишається невідомою, при цьому збільшення забруднення навколишнього середовища сприяє постійному зниженню фертильного потенціалу чоловіків [229]. Дедалі більша кількість наукових аналізів проблеми та експериментальних досліджень свідчить про те, що на чоловічу фертильність, на сперматогенез і параметри еякуляту несприятливо впливає велика кількість екзогенних факторів, серед яких і збільшення забруднення навколишнього середовища. До забруднювачів навколишнього середовища належать важкі метали, одним з найтоксичніших серед яких є кадмій, дію якого пов'язують з чоловічим безпліддям [230, 231]. Потенційно небезпечні техногенні токсиканти, серед яких пріоритетне положення займають важкі метали, які мають здатність до акумуляції в навколишньому середовищі та включаються в різні ланки екологічних систем і потрапляють в організм з водою, їжею, повітрям [132]. Постійні джерела забруднення кадмієм тісно пов'язані зі зростанням його промислового виробництва, випуском нікель-кадмієвих батарей, різних пігментів та інших синтетичних продуктів. Як відомо, тестикули ссавців надто чутливі до токсичного впливу кадмію, який ініціює розвиток кадмійіндукованої травми яєчка [233]. У людини та інших

сваців кадмій викликає ушкодження репродуктивних органів, серед яких у чоловіків серйозні структурні ушкодження сім'яних трубочок, клітин Сертолі та гемато-тестикулярного бар'єру, що призводить до втрати якості сперми, перешкоджає розвитку клітин Лейдіга, пригнічує їх функцію та викликає пухлинну трансформацію, порушує роботу судинної системи яєчок [231, 234].

Сучасний комплексний погляд науковців-дослідників на морфофункціональний стан репродуктивної системи чоловіків доводить, що кадмій-асоційовані розлади функціональної активності гіпоталамо-гіпофізо-гонадної системи у чоловіків проявляються порушенням як гормональної регуляції репродуктивної системи, так і функціонування епітеліосперматогенного шару паренхіми яєчок, спричиняючи патологічні зміни і кількісного, і якісного складу сперми. Доведено, що кадмій індукує перекисне окислення ліпідів і знижує активність ферментів антиоксидантного захисту, викликає дегенеративні та деструктивні зміни сперматогенного епітелію, аномальні зміни морфологічної структури суспендоцитів, тим самим створюючи сприятливі передумови для порушень морфо-функціональної організації гематотестикулярного бар'єра і сперматогенезу [235]. Кадмій порушує розвиток і функцію інтерстиційних ендокриноцитів, індукує ушкодження їх геному, посилює апоптоз клітин Лейдіга та викликає деградацію сім'яних каналців, ослаблює експресію генів, пов'язаних з продукцією чоловічого статевого гормону [236, 237].

Таким чином, проведене вивчення експериментальних робіт, аналіз та оцінка спектру морфологічних змін яєчок, індукованих хронічним введенням і накопиченням кадмію, та пошук його нових біоантагоністів з метою попередження та корекції проявів кадмій-асоційованих розладів структурної організації та функції сім'яників є актуальним та перспективним напрямком сучасних експериментальних наукових досліджень.

Як показав аналіз та порівняння отриманих даних, паренхіма статевої залози щура досить активно накопичує в собі кадмій. В групі ізолюваного введення хлориду кадмію кількісні показники цього металу пропорційно зростали впродовж експерименту (рис.5.1). Наприкінці терміну введення (30-та доба) рівень кадмію був найвищий і у 3,9 разів перевищував контрольні дані. А в групах комбінованого введення кадмію з сукцинатами цинку або заліза аналіз і порівняння вже з 14-тої доби продемонстрували зниження рівня накопичення кадмію яєчком дослідних тварин, не зважаючи на той факт, що кількість щоденного введення хлориду кадмію була ідентичною групі ізолюваного впливу (рис.5.1).

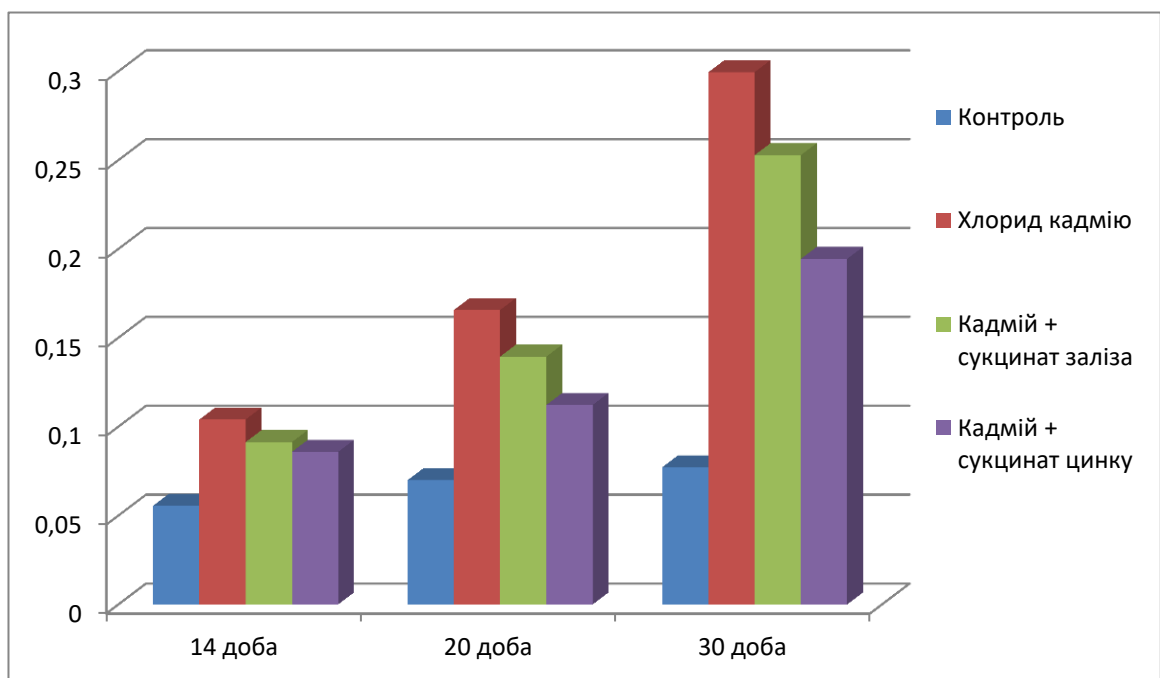


Рис.5.1. Накопичення кадмію (мкг/г) в яєчках щурів в піддослідних групах на всіх термінах експерименту.

Як демонструють отримані результати в усіх групах, найвищий рівень зниження накопичення кадмію виявлявся в групі комбінованого введення з сукцинатом цинку. В групі комбінації кадмію з сукцинатом заліза також визначалось зниження рівня накопичення кадмію на всіх трьох термінах експерименту, що доводить біоантагоністичні властивості заліза, проте меншою мірою порівняно з сукцинатом цинку.

На жаль, досліджень з порівнянням рівня накопичення важких металів при ізольованому введенні та при комбінації з біогенними металами вкрай мало. Хронічний експеримент на вагітних самицях, яким щодня впродовж 20-ти діб вводили хлорид кадмію аналогічним способом та у якості можливого біоантагоніста - цитрат цинку, цитрат церію, або цитрат заліза, вказував на зниження накопичення нирками 20-ти денних ембріонів рівня кадмію [238]. При цьому найвищий рівень накопичення кадмію визначався при ізольованому впливі хлориду кадмію ( $0,0084 \pm 0,000044$  мкг/г), що в 12 разів перевищувало контрольні значення ( $0,0007 \pm 0,000051$  мкг/г). Також показано, що при впливі солями кадмію підвищується рівень цинку, що свідчить про розвиток диселементозу в ембріонах наприкінці експерименту.

У групах комбінованого введення рівень накопичення кадмію був достовірно нижчий за групу ізольованого впливу кадмієм: у 1,8 разів при комбінації з цитратом церію та у 4 рази – з цитратом заліза, що свідчить про біоантогоністичні властивості цитратів церію та заліза стосовно кумуляції кадмію хлориду в нирках дослідних тварин при комбінованому введенні в експерименті на щурах [239]. У даних експериментальних дослідженнях доза введення кадмію була вдвічі нижча за ту, що обрана нами.

Вищезначені експериментальні дослідження були досить цікавими, оригінальними і перспективними з точки зору пошуку нових біоантагоністів токсичності абіотичним важким металам. Проте рівень накопичення кадмію власне органами самої самиці не досліджувався, не проводився такий експеримент і на самцях. В якості потенційних біоантагоністів використовувались цитрати біометалів. Цитрати, як і сукцинати, є ланкою енергетичного циклу Кребса, що проходить в мітохондріях, їх потенціал щодо підтримки енергетичного балансу в організмі є також досить вагомим, проте сукцинати вступають в ланцюг циклу біохімічних перетворень Кребса перед цитратами і їх вплив на енергетичний синтез вважається більш вагомим. Як вже вказувалося, важкі метали відносяться до групи мітохондріальних токсинів, які ушкоджують різні ланки процесів

біоенергетики та діють на ендоплазматичний ретикулум, пригнічують метаболізм, здатні провокувати аутоліз клітин [240, 241].

З огляду на таку дію кадмію в організмі, нами досліджувалися як можливі потенційні біоантагоністи сукцинати заліза та цинку. Залізо є одним із основних життєво-необхідних для людини мікроелементів, який впливає на перебіг багатьох процесів в організмі: кровотворення, функціонування шлунково-кишкового тракту та ін., а нестача цього елемента призводить до зниження гемоглобіну (залізодефіцитної анемії) та зниження імунітету.

Цинк – це ще один мікроелемент, який відіграє важливу роль у функціонуванні організму. Цинк є потужним антиоксидантом та потрібен для росту і розвитку, статевого дозрівання людини, приймає участь у біохімічних та фізіологічних процесах організму, проявляючи імуномодулюючу, протизапальну, антимікробну, гемопоетичну, сперматогенетичну функції. Відсутність цинку в період статевого дозрівання призводить до уповільнення розвитку вторинних статевих ознак.

Властивість цинку брати участь у процесах лігандоутворення з органічними молекулами пояснює надзвичайно широкий спектр його наявності у різних біологічних системах. Це супроводжується і відносною безпекою цього елемента, особливо відсутністю оксидантних властивостей (на відміну від заліза, срібла та міді), що покращує транспорт і метаболізм цинку в організмі та швидке біологічне засвоєння його клітинами. Цинк є незамінним для генної експресії і метаболізму нуклеїнових кислот, а, відповідно, і всіх процесів росту та диференціації клітин. Цинк також є структурним компонентом біологічних мембран, клітинних рецепторів, протеїнів, входить до складу понад 200 ензиматичних систем, які регулюють основні процеси обміну речовин. Оскільки цинк має важливе значення для росту та диференціації клітин, то даний мікроелемент відіграє особливу роль в різні періоди людського життя, а саме в ранньому дитинстві і в період статевого розвитку [242].

Вивчення унікальних характеристик наноматеріалів дає можливість розробляти нові підходи і технології у медицині, фармації, фармакології, сільському господарстві та інших сферах діяльності людини. Найбільш своєрідною особливістю наносистем є можливість регулювати фізичні характеристики матеріалів, змінюючи розмір і форми частинок на нанорівні, що може призвести до зміни властивостей раніше відомих сполук і відкрити нові можливості до їх застосування.

Найбільш дослідженим мікроелементом, який вивчається експериментально саме в наноформі є цинк та його оксиди. Наночастинки ZnO чинять сильну антибактеріальну дію відносно широкого спектра мікроорганізмів, тому антибактеріальний механізм ZnO знаходиться в стадії активного дослідження. Припускають, що фотокаталітичне утворення перекису водню є одним з основних механізмів антимікробної дії та гальмування росту мікроорганізмів. Саме можливість проникнення наночастинок у бактеріальну мембрану та подальше руйнування бактерії при контакті з наночастинками оксиду цинку призводять до загибелі прокаріотів. Антибактеріальна активність підвищується зі збільшенням концентрації наночастинок та зменшенням їх розміру. Проте можливі біоантагоністичні характеристики і властивості цинку та заліза, а саме їх нанорозмірних хелатних з'єднань, щодо протидії впливу важких металів на організм на сьогоднішній день залишаються невизначеними.

З огляду на важливість для організму таких біометалів як цинк та залізо, нами визначались рівні накопичення цих мікроелементів та можливі зсуви показників (мкг/г) цих металів.

Порівнюючи зміни в накопиченні цинку в яєчках дослідних тварин впродовж всього експерименту нами визначалась наступна динаміка (рис.6.2). До 20-тої доби в групі ізольованого введення хлориду кадмію рівень цинку перевищував контрольні показники. А на 30-ту добу хронічного щоденного введення кадмію, рівень цинку знижувався у порівнянні до контрольних показників. У групах комбінованого впливу

кадмію з сукцинатами заліза або цинку рівень накопичення статевозалозою цього мікроелементу достовірно перевищував як контрольні дані, так і показники групи ізольованого впливу.

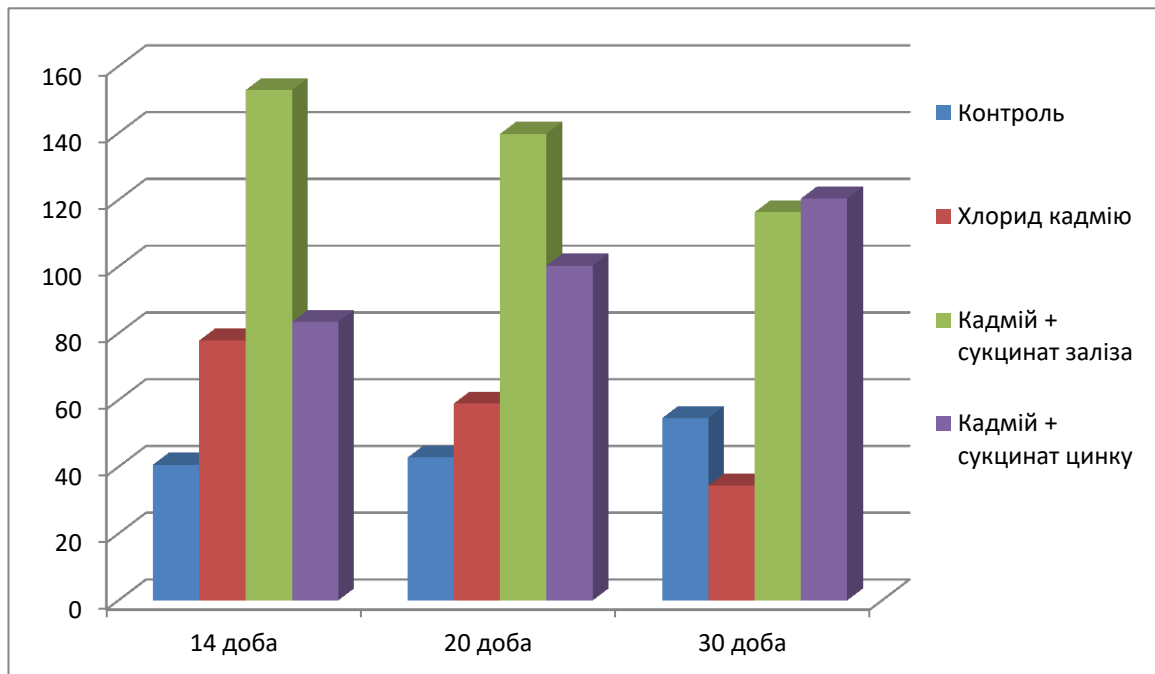


Рис.6.2. Накопичення цинку (мкг/г) в яєчках щурів в піддослідних групах на всіх термінах експерименту.

Аналогічні тенденції підвищення рівня цинку при ізольованому впливі кадмієм вже зустрічались в дослідженнях мікроелементного балансу печінки у дослідних тварин, не зважаючи на той факт, що доза хлориду кадмію в цих дослідженнях була вдвічі меншою за таку в нашому експерименті [243]. Отримані нами дані підтверджують визначену раніше закономірність в наукових експериментальних розробках, що при надлишковому вмісті в організмі сполук кадмію відбуваються зсуви рівня цинку [244, 245].

Важливо також в дослідженнях враховувати, що у накопиченні та перерозподілі іонів металів в організмі експериментальних тварин провідну роль відіграють окремі органи: для кадмію та цинку за умов хронічного впливу відзначається висока спорідненість до них у крупних травних

залозах, кістках, нирках. Така дія обох досліджених металів, ймовірно, пов'язана з первинним їх зв'язуванням специфічними і неспецифічними білками з наступним їх перерозподілом в інші депонуючі органи; роль крові та лімфи полягає у перенесенні та участі в перерозподілі іонів металів між органами і тканинами. У зв'язку з цим в крові відносний вміст металів порівняно з іншими досліджуваними органами і тканинами є найменшим.

Аналіз мікроелементного дисбалансу по рівню утримання заліза статевими залозами щурів при хронічному експерименті на щурах також продемонстрував, що вплив як хлориду кадмію при ізольованому введенні, так і при комбінації з сукцинатами біогенних металів призводить до суттєвих змін цього мікроелементу (рис.6.3).

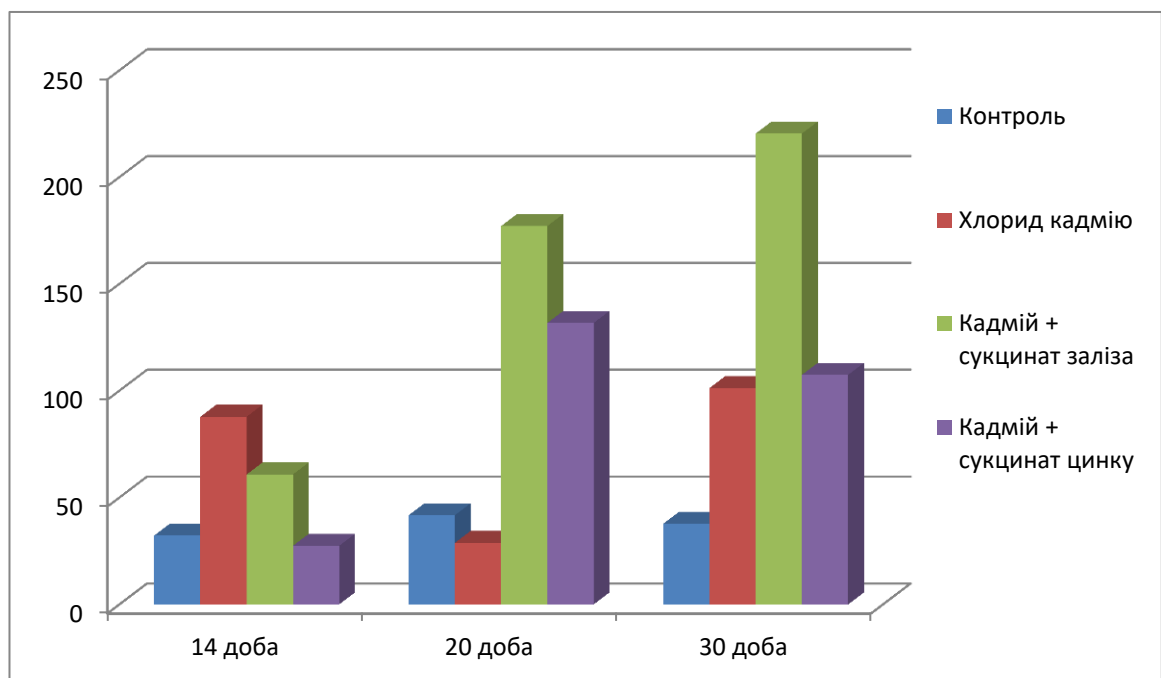


Рис.6.3. Накопичення заліза (мкг/г) в яєчках щурів в піддослідних групах на всіх термінах експерименту.

Досить цікавими є динаміка зміни накопичення заліза статевією залозою впродовж 30-ти денного експерименту. Ізольоване введення кадмію на початку експериментального введення призводило до підвищення рівня накопичення заліза яєчком майже в 2 рази порівняно до контрольних



значень, а на 20-ту добу рівень заліза знижувався нижче контролю. Наприкінці експерименту при ізольованому впливі кадмієм знову відзначалось підвищення кількості заліза в яєчках дослідних тварин.

У групах комбінованого введення кадмію з сукцинатами металів рівень заліза утримувався не нижче контрольних показників на першому досліджуваному терміні, а з 20-тої доби суттєво зростав порівняно з контролем. Результати накопичення заліза яєчком в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза не є об'єктом для порівняння, бо в даній групі залізо вводилось дослідним тваринам щодня (рис. 6.3).

Враховуючи виняткову роль заліза та цинку у життєдіяльності організму та їх необхідність для процесів функціонування тканин, доведено, що ці елементи кількісно реагують на надлишкове надходження кадмію. В науковій літературі є лише окремі дані щодо впливу екзогенного заліза та цинку на загоювання ран, на стан кровотворення, проте відсутні дані щодо зміни рівня накопичення заліза статевими залозами при кадмієвій інтоксикації.

Аналізуючи масометричні показники яєчка як результат впливу досліджуваних чинників в усіх групах, слід зазначити, що найвищий показник маси яєчка визначався в групі ізольованого введення хлориду кадмію (рис.6.4).

У групах комбінованого впливу такі показники перевищували контрольні, проте були нижчими за показники в групі ізольованого впливу кадмієм на всіх трьох термінах експерименту, що ми розцінювали як модифікуючий вплив сукцинатів заліза та цинку на гонадотоксичність хлориду кадмію в хронічному експерименті на щурах (рис.6.4).

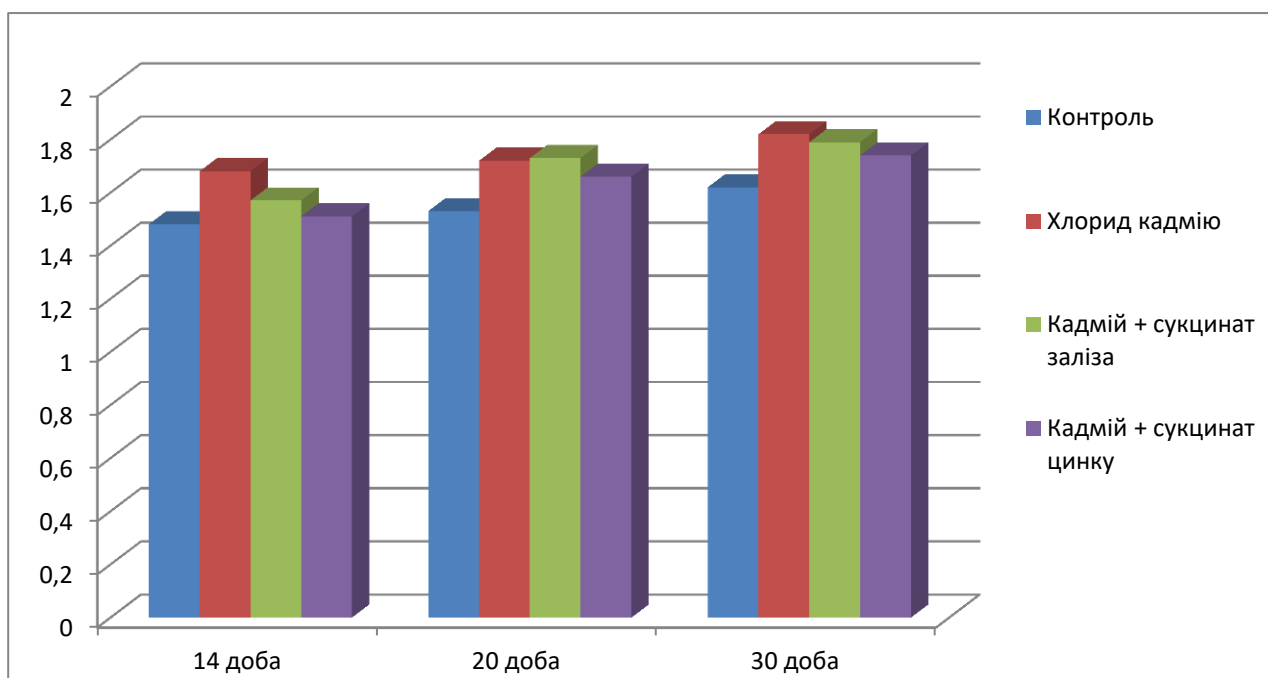


Рис.6.4. Динаміка змін середніх значень показників маси яєчка дослідних тварин в усіх експериментальних групах.

Про позитивний модифікуючий вплив сукцинату заліза та сукцинату цинку на вагові показники статевих залоз та вагові показники самих щурів свідчать і порівняння результатів розрахунків індексу маси яєчка. Отримані результати та їх співставлення свідчать, що вже з першого досліджуваного терміну експерименту, комбіноване введення сукцинату заліза або сукцинату цинку знижувало негативний вплив хлориду кадмію на вагові показники яєчка та масу самих щурів (рис. 6.5).

Відновлення показника індексу маси яєчка в групах комбінованого впливу хлоридом кадмію та сукцинатами металів мало суттєву різницю в результатах. На 14-ту та 20-ту добу експерименту сукцинат цинку стабільно стримував масометричні досліджувані показники, які мали достовірну різницю з групою ізольованого впливу хлоридом кадмію, проте були достовірно вищими за контрольні. Проте наприкінці експериментального введення, тобто на 30-ту добу ІМЯ в цій дослідній групі вже не мав достовірної різниці з контролем (рис.6.5).

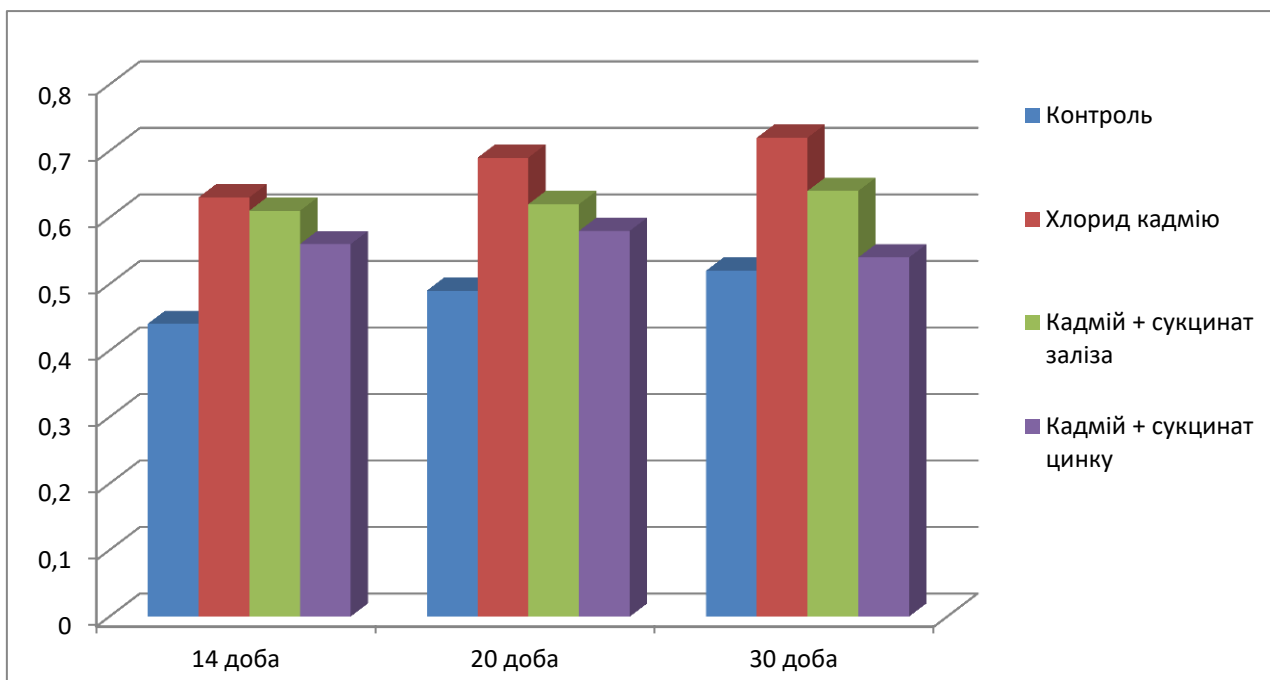


Рис.6.5. Динаміка змін індексу маси яєчка (ІМЯ) дослідних тварин в усіх експериментальних групах.

У той час як в групі комбінованого впливу кадмію з сукцинатом заліза ІМЯ на всіх трьох досліджуваних термінах достовірно перевищував контрольні дані, хоча був нижчим за групу ізольованого впливу хлоридом кадмію. З отриманих даних логічним є висновок, що сукцинат цинку більшою мірою володіє біоантагоністичними властивостями щодо гонадотоксичної дії хлориду кадмію порівняно з сукцинатом заліза.

Аналіз та порівняння результатів гістологічних досліджень в усіх дослідних групах продемонстрував потовщення оболонки яєчка на всіх трьох досліджуваних термінах порівняно з контролем. Найвищий рівень реакції з боку сполучнотканинних структур яєчка дослідних тварин визначався в групі ізольованого впливу хлоридом кадмію. Як зазначалося вище, білкова оболонка яєчка має градієнт товщини відповідно до своєї локалізації. Нами аналізувались зміни товщини оболонки яєчка щурів бічних поверхонь (рис.6.6).

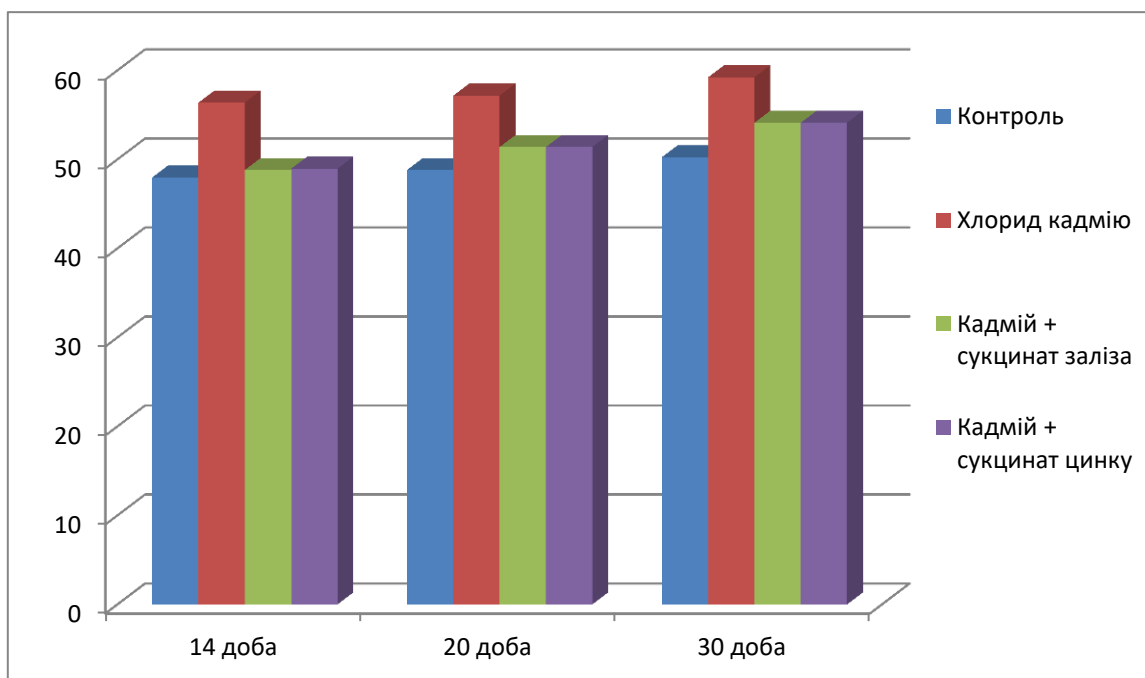


Рис.6.6. Динаміка змін товщини (мкм) сполучнотканинної оболонки бічної поверхні яєчка дослідних тварин в усіх експериментальних групах.

У групі ізольованого впливу досліджуваний показник вже з 14-тої доби достовірно перевищував контрольні дані. У групах комбінованого введення кадмію з сукцинатами заліза або цинку на 14-тій добі показник товщини білкової оболонки бічних поверхонь не мав достовірної різниці порівняно з контролем, що ми розцінювали як позитивний вплив сукцинатів на морфологічні структури статевої залози при комбінованому введенні з кадмієм. Наприкінці експерименту, тобто на 30-ту добу впливу, потовщення білкової оболонки яєчка бічної поверхні вже визначалось і в групах комбінованого впливу, проте параметри були нижчі за групу ізольованого впливу хлоридом кадмію. Таким чином, визначався позитивний вплив сукцинатів заліза та цинку на гістологічні структури яєчка щурів при комбінованому введенні з хлоридом кадмію в експерименті на щурах.

У науковій літературі вкрай мало даних щодо зміни товщини оболонки яєчка під впливом важких металів. Аналогічні зміни товщини

оболонки спостерігались в дослідженнях Романюк А. М. зі співавторами. [246, 247, 248]. У хронічному експерименті на щурах після 48 діб перорального отримання солей важких металів в статевих органах визначалось посилення склеротичних змін. Автори визначали, що оболонка яєчка потовщується, накопичуються фібриноїдні маси, судини оболонки стають повнокровними, з ознаками стазу. Автори відмічають також збільшення кількості грубоволокнистої стромы та склероз капілярів, крововиливи. Подібні перетворення характерні також для внутрішньоорганних судин статевої залози.

Можна провести певну аналогію з результатами дослідження впливу кадмію на стінку тонкого кишечника при ентеральному введенні досліджуваної речовини. Реакція з боку сполучнотканинної стромы стінки тонкої кишки включала зміни з боку сполучної тканини власної пластинки слизової оболонки і підслизової основи [249]. Експериментально визначено, що під впливом кадмію базальна мембрана місцями розширена і розпушена, у сполучній тканині стромы виявляються дрібні осміофільні включення і посилений малюнок колагенових волокон, які розташовуються неупорядковано, характерною є лімфоплазмоцитарна інфільтрація. В наших дослідженнях подібні зміни визначались на задній поверхні сполучнотканинної оболонки яєчка.

Одним з найважливіших структурних елементів паренхіми яєчка є звивисті сім'яні трубочки, де відбувається мейоз та власне сперматогенез. Не зважаючи на зростання середніх показників діаметра сім'яних трубочок яєчка в групі ізольованого впливу хлоридом кадмію на всіх трьох термінах, при комбінованому введенні з сукцинатами заліза або цинку визначалось відновлення досліджуваного параметра гістологічної структури яєчка у бік до контрольних показників (рис.6.7).

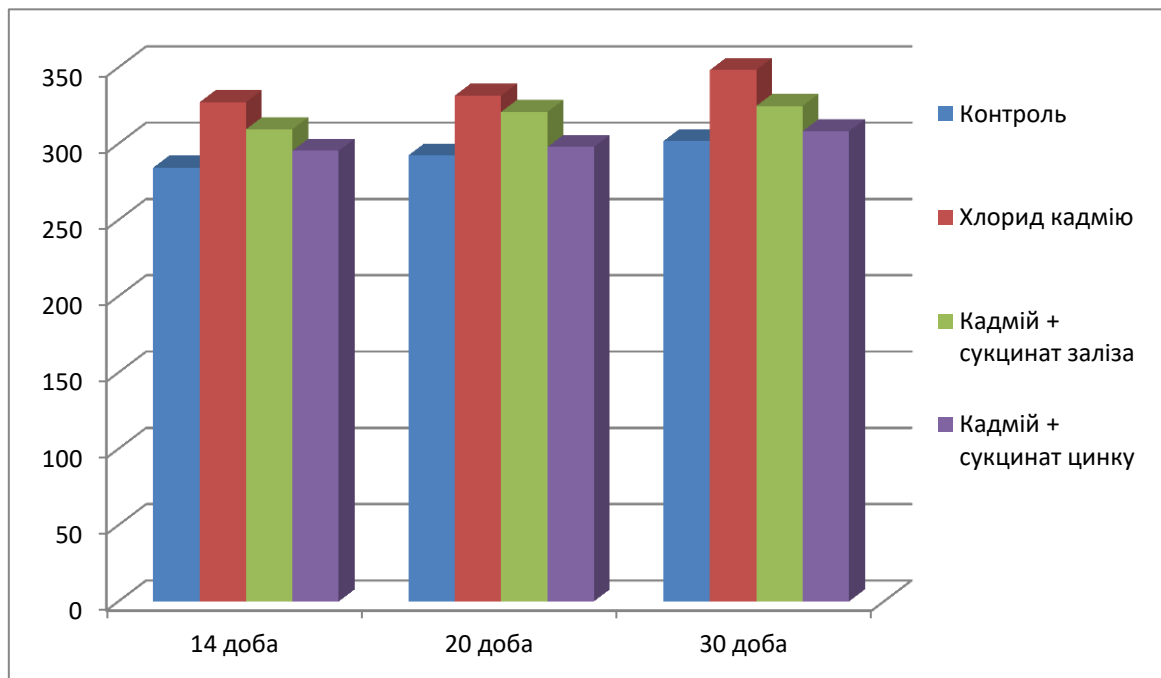


Рис.6.7.Динаміка зміни діаметра (мкм) звивистих каналців яєчка щурів усіх груп впродовж всього терміну експерименту.

Виявлені нами гістологічні зміни в структурах яєчок дослідних тварин призводять до порушень процесів сперматогенезу, що підтверджується науковими дослідженнями інших вчених. Експериментально у Сумському державному університеті доведено, що надходження підвищеної кількості важких металів в організм самців щурів призводить до порушення секреторної функції сім'яників, що проявляється у зменшенні концентрації сперматозоїдів в еякуляті, відсотка рухливих гамет, збільшенні частки морфологічно аномальних форм сперматозоїдів [246]. Встановлено, що морфологічні зміни мікроциркуляторного русла неспецифічні і призводять до вторинного ушкодження гематотестикулярного бар'єра та корелюють із змінами паренхіматозних структур сім'яників. Найбільш виражені ушкодження тестикулярної паренхіми спостерігаються в місцях інтенсивного кровопостачання, оскільки токсичні субстанції в цих ділянках мають більший час експозиції [247].

На гістологічних зрізах паренхіми яєчка в групах комбінованого введення нами не визначався набряк інтерстиціального простору строми яєчка та витончення внутрішнього шару оболонки трубочки, які спостерігались при ізольованому впливі хлоридом кадмію в експерименті на щурах. Таким чином, отримані результати свідчать про антагоністичні характеристики сукцинатів цинку та заліза на токсичні властивості хлориду кадмію при комбінованому введенні в зазначених дозах та способі введення в експерименті на щурах. Слід підкреслити, що сукцинат цинку має більш виражені біоантагоністичні властивості у порівнянні до сукцинату заліза за дослідженими параметрами масометричних показників та гістологічної будови яєчок щурів в експериментальних умовах.

Актуальним напрямом морфологічних експериментальних досліджень є пошук нових можливих біоантагоністів токсичності кадмію серед біогенних металів, здатних впливати на дисбаланс мікроелементів, підтримуючи гомеостаз організму. Такі дослідження проводились в морфологічних роботах ДДМУ, проте об'єктом дослідження не були статеві залози.

Підтвердженням кадмій-індукованих змін морфологічної структури яєчок експериментальних тварин є результати проведеного нами кореляційного та регресійного аналізів. Встановлено наявність прямого, сильного кореляційного зв'язку між накопиченням кадмію (мкг/г) на 14-ту, 20-ту, 30-ту добу експерименту та товщиною (мкм) сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка ( $r=0,72$ ;  $p<0,05$ ), ( $r=0,89$ ;  $p<0,05$ ), ( $r=0,92$ ;  $p<0,05$ ) відповідно; виявлено також прямий, сильний кореляційний зв'язок між накопиченням кадмію (мкг/г) на 14-ту, 20-ту, 30-ту добу експерименту та діаметром (мкм) звивистих каналців яєчка щурів ( $r=0,91$ ;  $p<0,05$ ), ( $r=0,94$ ;  $p<0,05$ ), ( $r=0,89$ ;  $p<0,05$ ) відповідно. Побудовані нами математичні моделі дають можливість прогнозувати зміни товщини сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка та діаметру звивистих каналців яєчка залежно від рівня накопичення кадмію у статевих органах щурів на усіх

термінах дослідження, що підтверджується величиною коефіцієнта детермінації  $R^2$ . Таким чином потовщення сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка та збільшення діаметра звивистих канальців яєчка щурів тісно пов'язано з накопиченням кадмію в організмі дослідних щурів.



## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено важливе наукове завдання: досліджено морфологічні зміни яєчок щурів в експерименті під впливом кадмію хлориду та за умов корекції сукцинатами цинку/заліза. Проведено порівняння вмісту кадмію, цинку та заліза в статевій залозі дослідних тварин залежно від терміну експерименту. Встановлено взаємозв'язок між рівнем накопичення кадмію яєчками щура та морфологічними змінами паренхіми яєчок тварин для виявлення потенційних біоантагоністичних властивостей сукцинатів металів щодо гонадотоксичної дії хлориду кадмію в експерименті.

1. Ізольоване введення щурам розчину кадмію хлориду у дозі 2,0 мг/кг призводить до збільшення рівня накопичення кадмію в яєчках дослідних тварин порівняно з контрольною групою, найвищий показник визначався на 30-ту добу експерименту і становив  $0,2995 \pm 0,0722$  мкг/г. У групах комбінованого введення з сукцинатами цинку або заліза визначалась тенденція до достовірного зниження ( $p \leq 0,05$ ) рівня накопичення кадмію статевою залозою порівняно з групою ізольованого впливу у експериментальних тварин.

2. Ізольоване введення хлориду кадмію призводило до різноспрямованих змін накопичення есенціальних мікроелементів статевою залозою щура залежно від терміну дослідження – підвищення рівня накопичення цинку на 14-ту та 20-ту добу експерименту та його зниження на 30-ту добу, підвищення вмісту заліза на 14-ту та 30-ту добу експерименту при зниженні вмісту на 20-ту добу. При комбінованому введенні хлориду кадмію з сукцинатами металів рівень цинку зростав порівняно з групою ізольованого введення кадмію: в комбінації з сукцинатом заліза – до  $116,3 \pm 9,8$  мкг/г, а в групі комбінованого введення з цинком – до

120,4±10,6 мкг/г. Найвищий рівень цинку визначався в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза. При комбінованому введенні кадмію хлориду з сукцинатом заліза рівень накопичення заліза зростав на всіх трьох термінах дослідження. Комбіноване введення сукцинату цинку з кадмієм з 20-тої доби підвищує і утримує високий рівень заліза в яєчках щурів.

3. Експериментально доведено, що хронічний вплив хлориду кадмію викликає підвищення масометричних показників яєчка та ІМЯ дослідних тварин на 12-39%, призводить до достовірного потовщення білкової оболонки яєчка щурів, її розшарування та збільшення діаметра кровоносних судин, зростання діаметра сім'яних трубочок яєчка на 13-15%, обумовлює розвиток значного набряку інтерстиціального простору строми яєчка, витончення внутрішнього шару оболонки трубочки із розширенням внутрішнього простору трубочки в 68% дослідних тварин, а також зменшення кількості первинних сперматоцитів порівняно з групою контролю на всіх термінах дослідження.

4. Комбіноване введення сукцинату заліза та сукцинату цинку з хлоридом кадмію знижує негативний вплив останнього на масометричні показники статевих залоз щурів, більш виражене для сукцинату цинку. ІМЯ на 30-ту добу експерименту в групі комбінованого введення з сукцинатом заліза становив 0,64, з сукцинатом цинку – 0,54, наближаючи показник до контрольних значень – 0,52. При комбінованому введенні хлориду кадмію з сукцинатами біометалів показники довжини і товщини яєчка також відновлювались до значень контрольної групи.

5. Комбінований вплив хлориду кадмію з сукцинатом заліза зумовлює зниження показника товщини білкової оболонки (54,12±3,44 мкм) та середніх показників діаметра сім'яних трубочок (224,74±18,92 мкм) яєчка порівняно з групою ізольованого впливу – 59,22±3,21 мкм та 348,29±21,61 мкм відповідно, у той час як введення хлориду кадмію з сукцинатом цинку зумовлював не тільки достовірне зниження порівняно з групою ізольованого впливу кадмієм, але й відповідність показників

товщини білкової оболонки ( $51,47 \pm 3,19$  мкм) та середніх показників діаметра сім'яних трубочок ( $308,13 \pm 15,41$  мкм) значенням контрольної групи –  $50,24 \pm 3,87$  мкм та  $301,71 \pm 15,81$  мкм відповідно. На гістологічних зрізах паренхіми яєчка в групах комбінованого введення не визначався набряк інтерстиціального простору стромы яєчка та витончення внутрішнього шару оболонки трубочки, які визначались при ізольованому впливі хлоридом кадмію в експерименті на щурах.

6. Морфологічні зміни статевих залоз експериментальних тварин – потовщення сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка та збільшення діаметра звивистих каналців тісно пов'язані з рівнем накопичення кадмію в органах репродуктивної системи дослідних щурів, підтвердженням чому є результати проведеного кореляційного та регресійного аналізів. Встановлено наявність прямого, сильного кореляційного зв'язку між накопиченням кадмію (мкг/г) на 14-ту, 20-ту, 30-ту добу експерименту та товщиною (мкм) сполучнотканинної оболонки бокової поверхні яєчка ( $r=0,72$  –  $r=0,92$ ;  $p<0,05$ ), діаметром (мкм) звивистих каналців яєчка щурів ( $r=0,89$  –  $r=0,94$ ;  $p<0,05$ ). Побудовані математичні моделі дають можливість прогнозувати ймовірність виникнення морфологічних змін у яєчках щурів на різних термінах залежно від рівня накопичення кадмію статевою залозою.

7. Проведений порівняльний аналіз довів, що сукцинат цинку та сукцинат заліза мають біоантагоністичні властивості по відношенню до гонадотоксичності хлориду кадмію при комбінованому введенні в зазначених дозах в експерименті на щурах. При цьому якісні зміни репродуктивних органів самців щурів підтверджуються кількісними гістометричними методами дослідження. Сукцинат цинку має більш виражені біоантагоністичні властивості порівняно з сукцинатом заліза за дослідженими параметрами масометричних показників, гістологічної будови та мікроелементного складу яєчок щурів в експериментальних умовах.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

У роботі поглиблені та розширені експериментальні дані про патогенетичні основи гонадотоксичності кадмію, розкрито особливості та ступінь гістоструктурної перебудови та змін мікроелементного складу статевих залоз щурів залежно від тривалості кадмієвої інтоксикації. Побудовані математичні моделі, що дозволяють прогнозувати ймовірність виникнення морфологічних змін у яєчках щурів на різних термінах залежно від рівня накопичення кадмію статевою залозою.

1. Результати впливу хлориду кадмію на стан паренхіми яєчка дозволяють пояснювати механізм та терміни патологічних змін або прогнозувати виникнення порушень сперматогенезу при проживанні чоловіків в зоні кадмієвого впливу.

2. Отримані дані є підґрунтям для подальшого дослідження впливу сукцинатів біогенних металів як речовин з біоантагоністичними властивостями по відношенню до хлориду кадмію для можливих розробок фармакологічних лікувальних та профілактичних засобів, що можуть зменшувати негативний токсичний ефект сполук кадмію на морфофункціональний стан репродуктивної системи чоловіків, що мешкають або працюють у екологічно несприятливому середовищі.

3. Нові морфологічні дані стосовно змін структурної організації статевих залоз щурів внаслідок впливу хлориду кадмію та корекції сукцинатами цинку і заліза будуть корисні студентам в лекційних курсах з анатомії людини, гістології, патологічної анатомії, гігієни, урології.

## Список використаної літератури

1. Гайдаєв ЮО. Дослідження демографічних процесів та проблем системи охорони здоров'я. Укр. мед. часопис. 2007;5:3-9.
2. Артюхин АА. Андрологические аспекты в охране репродуктивного здоровья. Медицина труда и промышленная экология. 1999;3:16-9.
3. Романюк АМ, Сауляк СВ, Москаленко РА, Москаленко ЮВ. Вплив солей важких металів на сперматогенну функцію і її корекція препаратом тивортин. Лікувальна справа. 2012;1-2:123-8. DOI: 10.31640/LS-2012-(1-2)-17
4. Авраменко НВ, Барковский ДЕ. Аспекты репродуктивного здоровья населения Украины. Запорож. мед. журн. 2010;12(3):71-3.
5. Артюхин АА. Техногенные причины мужской infertility и их профилактика. Медицина труда и промышленная экология. 2004;10:42-3.
6. Meeker JD, Rossano MG, Protas B, Diamond MP, Puscheck E, Daly D, et al. Cadmium, lead and other metals in relation to semen quality: human evidence for molybdenum as a male reproductive toxicant. Environ Health Perspect. 2008 Nov;116(11):1473-9. DOI: 10.1289/ehp.11490
7. Іщенко ІВ, Двуреченська ОС. Сучасний стан та перспективи міжнародних відносин України у сфері хімічної безпеки. Journal of Chemistry and Technologies. 2019;27(1):9-30.
8. Zhao LL, Ru YF, Liu M, Tang JN, Zheng JF, Wu B, et al. Reproductive effects of cadmium on sperm function and early embryonic development in vitro. PLoS ONE. 2017;12:e0186727. DOI: 10.1371/journal.pone.0186727
9. Островська СС, Абрамов СВ, Писаревська ІА, Трушенко ОС, Жержова ТА, Первишерст КЮ, та ін. Токсичний вплив кадмію на репродуктивну функцію чоловіків. Укр. журн. медицини, біології та спорту. 2021;6(34):275-81. DOI: 10.26693/jmbs06.06.275

10. Сталий розвиток – стан та перспективи. Матеріали Міжнар. наук. симпозиуму SDEV'2018; 2018 Лют 28 – Берез 3 2018; Львів-Славське, Україна. Львів: Львівська політехніка; 2018: 121-123.
11. Шаторна ВФ, Гарець ВІ, Байбаков ВМ, Кононова П, Слесаренко ОГ, Шамелашвілі КЛ. Визначення модифікуючої дії цитратів металів на ембріотоксичність кадмію у щурів. Вісн. пробл. біології і медицини. 2020;1(155):316-20.
12. Колосова П, Богомольна ЛЮ, Крісс ГЮ, Терещенко НМ, Давиденко ІВ, Руденко ТВ, та ін. Зміна ембріотоксичних впливів цитратів металів в залежності від тривалості їх введення. Укр. журн. медицини, біології та спорту. 2021;6(34):259-66. DOI: 10.26693/jmbs06.06.259
13. Шаторна ВФ, Гарець ВІ, Майор ВВ, Колосова П, Савенкова ОО. Пошук нових біоантогоністів ацетату свинцю в експерименті. Акт. пробл. сучасної медицини. Вісн. укр. мед. стоматол. академії. 2013;13,4(44):191-5.
14. Шаторна ВФ, Тимчук КМ. Динаміка накопичення кадмію в крові та тонкій кишці в хронічному експерименті на щурах. Вісн. пробл. біології і медицини. 2023;1(168):97-101. DOI: 10.29254/2077-4214-2023-1-168-97-101
15. United Nations program environment. SAICM Overview. Geneva, Switzerland: Strategic Approach to International Chemicals Management Secretariat [Internet]. 2019 [cited 2024 Mar 28]. Available from: <http://www.saicm.org/About/SAICMOverview/tabid/5522/language/en-US/Default.aspx>
16. Lamas GA, Navas-Acien A, Mark DB, Lee KL. Heavy metals, cardiovascular disease, and the unexpected benefits of edetate chelation therapy. J Am Coll Cardiol. 2016;67:2411-18. DOI: 10.1016/j.jacc.2016.02.066
17. Скальний АВ. Оцінка та корекція елементного статусу населення – перспективний напрямок вітчизняної охорони здоров'я та екологічного моніторингу. Мікроелементи в медицині. 2018;19(1):5-13.

18. Романюк АМ, Сікора ВВ, Линдіна ЮМ, Линдін МС. Поширеність важких металів у навколишньому середовищі та їх роль у життєдіяльності організму (огляд літератури). Буков. мед. вісник. 2017;21,2(82)(Ч. 1):163-8.
19. Кармазиненко СП, Кураєва ІВ, Самчук АІ, Войтюк ЮЮ, Манічев ВЙ. Важкі метали у компонентах навколишнього середовища м. Маріуполь (еколого-геохімічні аспекти). Київ: Інтерсервіс; 2014. 168 с.
20. Yuan W, Yang N, Li X. Advances in Understanding How Heavy Metal Pollution Triggers Gastric Cancer. Biomed Res Int. 2016;2016:7825432. DOI: 10.1155/2016/7825432
21. Sfakianakis DG, Renieri E, Kentouri M, et al. Effect of heavy metals on fish larvae deformities: a review. Environmental Research. 2015;137:246-55. DOI: 10.1016/j.envres.2014.12.014
22. Худоба В, Чикайло Ю. Екологія: навч.-метод. посіб. Львів: ЛДУФК; 2016. 92 с.
23. Некос АН, Семибратова ПВ. Вплив факторів природного середовища на хімічний склад рослинних продуктів харчування. Екологічна безпека та збалансоване ресурсокористування. 2013;1:81-4.
24. Jacobo-Estrada T, Santoyo-Sánchez M, Thévenod F, Barbier O. Cadmium Handling, Toxicity and Molecular Targets Involved during Pregnancy: Lessons from Experimental Models. Int J Molecular Sciences. 2017;18:136-55. DOI: 10.3390/ijms18071590
25. Яковишина ТФ. Порівняльний аналіз підходів до екологічної оцінки поліелементного забруднення ґрунтів урбоекосистеми важкими металами. Вісн. Придніпров. держ. акад. буд. та архітектури. 2016;6:25-31.
26. Чайка ОГ, Мацьків ОО, Стокалюк ОВ, Руда МВ. Дослідження вмісту важких металів у ґрунті на прилеглих територіях автозаправних станцій. Наук. вісн. НЛТУ України. 2018;28(10):62-5. DOI: 10.15421/40281013

27. Яковишина ТФ. Екологічна оцінка поліелементного забруднення важкими металами ґрунтів м. Дніпропетровська. Вісн. Криворіз. нац. унту: зб. наук. праць. 2016;41:78-83.
28. Галімова ВМ, Суровцев ІВ, Кравченко ОО, та ін. Екологічний моніторинг вмісту важких металів у ґрунтах. International scientific journal. 2016;1(1):110-1.
29. Янтурин СІ, Прошкина ОБ. Содержание тяжелых металлов в овощах, произрастающих в различных районах промышленного центра черной металлургии. Фундамент. исследования. Сер.: Биолог. науки. 2012;9:595-7.
30. Купчик ОЮ. Визначення кореляції між вмістом важких металів у продуктах рослинництва та ґрунті при екологічному моніторингу. Екологічна безпека та збалансоване ресурсокористування. 2016;1:85-91.
31. Кавецький ВМ, Риженко НО, Юрченко ТВ, Кавецький СВ. Екотоксична оцінка важких металів (Cd, Cu, Ni, Co, Pb, Zn) у системі ґрунт-рослина за полярністю їхніх дитизонатів. Наук. зап. НаУКМА. Біологія та екологія. 2012;132:63-8.
32. Осаул ЛП, Незгода ЛМ, Капітан ОВ. Хімічний склад антропогенного кругообігу. ScienceRise. 2016;5(2):81-90. DOI: 10.15587/2313-8416.2016.69746
33. Крижанівський ЄІ, Кошлак ГВ. Екологічні проблеми енергетики. Нафтогазова енергетика. 2016;1:80-90.
34. Ніженковська ІВ, Вельчинська ОВ, Кучер ММ. Токсикологічна хімія: підруч. 3-є вид. Київ: Медицина; 2020. 372 с.
35. Шафран ЛМ, Большой ДВ, Пыхтеева ЕГ, Третьякова ЕМ. Роль лизосом в механизме защиты и повреждения клеток при действии тяжёлых металлов. Современ. пробл. токсикологии, 2004;3:17-24.
36. Козловська ТФ, Никифорова ОО. Загальна токсикологія: теоретичні аспекти. Кременчук: КрНУ; 2016. 150 с.



37. Гулієва СВ, Керімова РД, Юсіфова МЮ. Вплив важких металів на біохімічні процеси в організмі людини. *Academy*. 2018;12(39):77-81.
38. Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*. 2011;283:65-87. DOI: 10.1016/j.tox.2011.03.001
39. Chen P, Bornhorst J, Diana Neely M, Avila DS. Mechanisms and Disease Pathogenesis Underlying Metal-Induced Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:7612172. DOI: 10.1155/2018/7612172
40. Valko M, Jomova K, Rhodes CJ, Kuča K, Musílek K. Redox- and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. *Arch Toxicol*. 2016;90(1):1-37. DOI: 10.1007/s00204-015-1579-5
41. Menon AV, Chang J, Kim J. Mechanisms of divalent metal toxicity in affective disorders. *Toxicology*. 2016;339:58-72. DOI: 10.1016/j.tox.2015.11.001
42. Kim HS, Kim YJ, Seo YR. An Overview of Carcinogenic Heavy Metal: Molecular Toxicity Mechanism and Prevention. *J Cancer Prev*. 2015;20(4):232-40. DOI: 10.15430/JCP.2015.20.4.232
43. Бабенко ГА. Микроэлементозы человека: патогенез, профилактика, лечение. Москва: Медицина; 2001. 316 с.
44. Кожин АА, Попова ВА, Даурбекова МА. Микроэлементозы как предикторы задержки полового развития у мальчиков-подростков. *Международ. журн. эксперимент. образования*. 2014;3:49-55.
45. Liu Y, Nguyen M, Robert A, Meunier B. Metal Ions in Alzheimer's Disease: A Key Role or Not? *Acc Chem Res*. 2019;52(7):2026-35. DOI: 10.1021/acs.accounts.9b00248
46. Beridze M, Shishniashvili T, Margvelashvili V, Suladze N, Manjavidze N. The role of essential macro- and microelements in the development of somatic and dental diseases. *Georgian Med News*. 2019;(297):63-7.

47. Wang C, Zhang R, Wei X, Lv M, Jiang Z. Metalloimmunology: The metal ion-controlled immunity. *Adv Immunol.* 2020;145:187-241. DOI: 10.1016/bs.ai.2019.11.007
48. Sanna A, Firinu D, Zavattari P, Valera P. Zinc Status and Autoimmunity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients.* 2018;10(1):68. DOI: 10.3390/nu10010068
49. Lehmann I, Sack U, Lehmann J. Metal ions affecting the immune system. *Met Ions Life Sci.* 2011;8:157-85. DOI: 10.1039/9781849732116-00157
50. Morais S, Costa FG, Pereira ML. Heavy metals and human health. In: Oosthuizen J, editor. *Environmental health – emerging issues and practice.* 2012. 1st Ed, p. 227-46. DOI: 10.5772/29869
51. Сметанина ЕИ. Особенности применения витаминов и минералов в пожилом и старческом возрасте. *Мистецтво лікування.* 2014;3-4:6-8.
52. Горобець АО. Вітаміни і мікроелементи як специфічні регулятори фізіологічних та метаболічних процесів в організмі дітей та підлітків. *Укр. журнал Перинатологія і педіатрія.* 2019;4:75-92.
53. Романюк АМ, Линдін МС, Москаленко РА, та ін. Дослідження рецепторів естрогену, прогестерону та her2/neu в тканині раку молочної залози в умовах впливу солей важких металів. *Журн. клініч. та експерим. мед. досліджень.* 2014;2(2):168-75.
54. Romaniuk A, Lyndin M, Sikora V, Lyndina Y, Romaniuk S, Sikora K. Heavy metals effect on breast cancer progression. *J Occup Med Toxicol.* 2017;12:32. DOI: 10.1186/s12995-017-0178-1
55. Romaniuk A, Lyndin M, Moskalenko R, et al. The Role of Heavy Metal Salts in Pathological Biomineralization of Breast Cancer Tissue. *Advances in Clinical and Experimental Medicine.* 2016;25(5):907-10.
56. Kocadal K, Alkas FB, Battal D, Saygi S. Cellular pathologies and genotoxic effects arising secondary to heavy metal exposure: A review. *Hum Exp Toxicol.* 2020;39(1):3-13. DOI: 10.1177/0960327119874439

57. Nejdil L, Kudr J, Moulick A, Hegerova D, Ruttkay-Nedecky B, Gumulec J, et al. Platinum nanoparticles induce damage to DNA and inhibit DNA replication. *PLoS One*. 2017;12(7):e0180798. DOI: 10.1371/journal.pone.0180798
58. Morales ME, Derbes RS, Ade CM, Ortego JC, Stark J, Deininger PL, et al. Heavy Metal Exposure Influences Double Strand Break DNA Repair Outcomes. *PLoS One*. 2016 Mar 11;11(3):e0151367. DOI: 10.1371/journal.pone.0151367
59. Ochieng J, Nangami GN, Ogunkua O, Miousse IR, Koturbash I, Odero-Marah V, et al. The impact of low-dose carcinogens and environmental disruptors on tissue invasion and metastasis. *Carcinogenesis*. 2015 Jun;36(Suppl 1):S128-59. DOI: 10.1093/carcin/bgv034
60. Seneviratne M, Rajakaruna N, Rizwan M, Madawala HMSP, Ok YS, Vithanage M. Heavy metal-induced oxidative stress on seed germination and seedling development: a critical review. *Environ Geochem Health*. 2019;41(4):1813-31. DOI: 10.1007/s10653-017-0005-8
61. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 2006;160(1):1-40. DOI: 10.1016/j.cbi.2005.12.009
62. Zwolak I. Protective Effects of Dietary Antioxidants against Vanadium-Induced Toxicity: A Review. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:1490316. DOI: 10.1155/2020/1490316
63. Kim JJ, Kim YS, Kumar V. Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies. *J Trace Elem Med Biol*. 2019;54:226-31. DOI: 10.1016/j.jtemb.2019.05.003
64. Feng L, Du J, Yao C, Jiang Z, Li T, Zhang Q, et al. Ribosomal DNA copy number is associated with P53 status and levels of heavy metals in gastrectomy specimens from gastric cancer patients. *Environ Int*. 2020;138:105593. DOI: 10.1016/j.envint.2020.105593

65. Нефьодова ОО, Кривошей ВВ. Сучасний погляд на вплив сполук важких металів на травну систему. Вісн. пробл. біології і медицини. 2015;4, 2(125):35-9.
66. Білецька ЕМ, Стусь ВП, Онул НМ, та ін. Вміст важких металів в індикаторних біосередовищах фертильних та інфертильних чоловіків, які мешкають на урбанізованих територіях. Мед. перспективи. 2015;20(1):111-6.
67. Jenardhanan P, Panneerselvam M, Mathur PP. Effect of environmental contaminants on spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol.* 2016;59:126-40. DOI: 10.1016/j.semcdb.2016.03.024
68. Kumar S, Sharma A. Cadmium toxicity: effects on human reproduction and fertility. *Rev Environ Health.* 2019;34(4):327-38. DOI: 10.1515/reveh-2019-0016
69. Genchi G, Sinicropi MS, Lauria G, Carocci A, Catalano A. The Effects of Cadmium Toxicity. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(11):3782. DOI: 10.3390/ijerph17113782
70. Арустамян ОМ, Ткачишин ВС, Алексейчук АЮ. Влияние соединений кадмия на организм человека. Медицина неотложных состояний. 2016;7(78):109-14.
71. Gustin K, Tofail F, Vahter M, Kippler M. Cadmium exposure and cognitive abilities and behavior at 10 years of age: A prospective cohort study. *Environ Int.* 2018;113:259-68. DOI: 10.1016/j.envint.2018.02.020
72. Rahimzadeh MR, Kazemi S, Moghadamnia AA. Cadmium toxicity and treatment: An update. *Caspian J Intern Med.* 2017;8:135-45.
73. Genchi G, Carocci A, Lauria G, Sinicropi MS, Catalano A. Cadmium: Human health and environmental toxicology. *Int Environ Res Public Health.* 2020;17:679. DOI: 10.3390/ijerph17030679
74. Kubier A, Wilkin RT, Pichler T. Cadmium in soils and groundwater: A review. *Appl Geochem.* 2019;108:1-16. DOI: 10.1016/j.apgeochem.2019.104388

75. Hölzle I. Contaminant patterns in soils from landfill mining. *Waste Manag.* 2019;83:151-60. DOI: 10.1016/j.wasman.2018.11.013
76. Satarug S. Dietary Cadmium Intake and Its Effects on Kidneys. *Toxics.* 2018;6(1):15. DOI: 10.3390/toxics6010015
77. Апихтіна ОЛ, Козлов КП. Динаміка накопичення кадмію у внутрішніх органах щурів після тривалого введення хлориду кадмію та наночастинок сульфідів кадмію різного розміру. *Мед. перспективи.* 2017;22(2):4-9. DOI: 10.33573/ujoh2017.02.022
78. Dai S, Yin Z, Yuan G, Lu H, Jia R, Xu J. Quantification of metallothionein on the liver and kidney of rats by subchronic lead and cadmium in combination. *Environmental toxicology and pharmacology journal.* 2013;36(3):1207-16. DOI: 10.1016/j.etap.2013.10.003
79. Tinkov AA, Gritsenko VA, Skalnaya MG, Cherkasov SV, Aaseth J, Skalny AV. Gut as a target for cadmium toxicity. *Environ Pollut.* 2018;235:429-34. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.12.114
80. Tinkov AA, Filippini T, Ajsuvakova OP, Skalnaya MG, Aaseth J, Bjørklund G, et al. Cadmium and atherosclerosis: A review of toxicological mechanisms and a meta-analysis of epidemiologic studies. *Environ Res.* 2018;162:240-60. DOI: 10.1016/j.envres.2018.01.008
81. Branca JJV, Pacini A, Gulisano M, Taddei N, Fiorillo C, Becatti M. Cadmium-Induced Cytotoxicity: Effects on Mitochondrial Electron Transport Chain. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:604377. DOI: 10.3389/fcell.2020.604377
82. Cannino G, Ferruggia E, Luparello C, Rinaldi AM. Cadmium and mitochondria. *Mitochondrion.* 2009;9(6):377-84. DOI: 10.1016/j.mito.2009.08.009
83. Zhang S, Che L, He C, Huang J, Guo N, Shi J, et al. Drp1 and RB interaction to mediate mitochondria-dependent necroptosis induced by cadmium in hepatocytes. *Cell Death Dis.* 2019;10(7):523. DOI: 10.1038/s41419-019-1730-y

84. Lee WK, Thévenod F. Cell organelles as targets of mammalian cadmium toxicity. *Arch Toxicol.* 2020;94(4):1017-49. DOI: 10.1007/s00204-020-02692-8
85. Okoye CN, MacDonald-Jay N, Kamunde C. Effects of bioenergetics, temperature and cadmium on liver mitochondria reactive oxygen species production and consumption. *Aquat Toxicol.* 2019;214:105264. DOI: 10.1016/j.aquatox.2019.105264
86. Thévenod F, Lee WK. Cadmium and cellular signaling cascades: interactions between cell death and survival pathways. *Arch Toxicol.* 2013;87(10):1743-86. DOI: 10.1007/s00204-013-1110-9
87. Cao X, Fu M, Bi R, Zheng X, Fu B, Tian S, et al. Cadmium induced BEAS-2B cells apoptosis and mitochondria damage via MAPK signaling pathway. *Chemosphere.* 2021;263:128346. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.128346
88. Ren X, Wang S, Zhang C, Hu X, Zhou L, Li Y, et al. Selenium ameliorates cadmium-induced mouse leydig TM3 cell apoptosis via inhibiting the ROS/JNK /c-jun signaling pathway. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2020;192:110266. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.110266
89. Lafuente A. The hypothalamic-pituitary-gonadal axis is target of cadmium toxicity. *Food and Chemical Toxicology.* 2013;59:395-404.
90. Lafuente A, Cano P, Esquifino A. Are cadmium effects on plasma gonadotropins, prolactin, ACTH, GH and TSH levels, dose-dependent? *Biometals.* 2003;16(2):243-50. DOI: 10.1023/a:1020658128413
91. Wang B, Du Y. Cadmium and its neurotoxic effects. *Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:898034. DOI: 10.1155/2013/898034
92. Tamás MJ, Fauvet B, Christen P, Goloubinoff P. Misfolding and aggregation of nascent proteins: a novel mode of toxic cadmium action in vivo. *Curr Genet.* 2018;64(1):177-81. DOI: 10.1007/s00294-017-0748-x
93. Saturnino C, Iacopetta D, Sinicropi MS, Rosano C, Caruso A, Caporale A, et al. N-alkyl carbazole derivatives as new tools for Alzheimer's

disease: preliminary studies. *Molecules*. 2014;19(7):9307-17. DOI: 10.3390/molecules19079307

94. Madrigal JM, Ricardo AC, Persky V, Turyk M. Associations between blood cadmium concentration and kidney function in the U.S. population: Impact of sex, diabetes and hypertension. *Environ Res*. 2019;169:180-8. DOI: 10.1016/j.envres.2018.11.009

95. Li Z, Xu Y, Huang Z, Wei Y, Hou J, Long T, et al. Association between exposure to arsenic, nickel, cadmium, selenium, and zinc and fasting blood glucose levels. *Environ Pollut*. 2019;255(Pt 2):113325. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.113325

96. Chang KC, Hsu CC, Liu SH, Su CC, Yen CC, Lee MJ, et al. Cadmium induces apoptosis in pancreatic  $\beta$ -cells through a mitochondria-dependent pathway: the role of oxidative stress-mediated c-Jun N-terminal kinase activation. *PLoS One*. 2013;8(2):e54374. DOI: 10.1371/journal.pone.0054374

97. Pant N, Kumar G, Upadhyay AD, Patel DK, Gupta YK, Chaturvedi PK. Reproductive toxicity of lead, cadmium, and phthalate exposure in men. *Environmental Science and Pollution Research*. 2014;21(18):11066-74.

98. Wan L, Zhang H. Cadmium toxicity: effects on cytoskeleton, vesicular trafficking and cell wall construction. *Toxicological Sciences*. 2012;129(1):200-12.

99. Pizzaia D, Nogueira ML, Mondin M, Carvalho MEA, Piotto FA, Rosario MF, et al. Cadmium toxicity and its relationship with disturbances in the cytoskeleton, cell cycle and chromosome stability. *Ecotoxicology*. 2019;28(9):1046-55. DOI: 10.1007/s10646-019-02096-0

100. Pizzino G, Bitto A, Interdonato M, Galfo F, Irrera N, Mecchio A, et al. Oxidative stress and DNA repair and detoxification gene expression in adolescents exposed to heavy metals living in the Milazzo-Valle del Mela area (Sicily, Italy). *Redox Biol*. 2014;2:686-93. DOI: 10.1016/j.redox.2014.05.003

101. Zhou Z, Wang C, Liu H, Huang Q, Wang M, Lei Y. Cadmium induced cell apoptosis, DNA damage, decreased DNA repair capacity, and

genomic instability during malignant transformation of human bronchial epithelial cells. *Int J Med Sci.* 2013;10(11):1485-96. DOI: 10.7150/ijms.6308. Retraction in: *Int J Med Sci.* 2014;11(3):246.

102. Buha A, Matovic V, Antonijevic B, Bulat Z, Curcic M, Renieri EA, et al. Overview of Cadmium Thyroid Disrupting Effects and Mechanisms. *Int J Mol Sci.* 2018;19(5):1501. DOI: 10.3390/ijms19051501

103. Rani A, Kumar A, Lal A, Pant M. Cellular mechanisms of cadmium-induced toxicity: a review. *Int J Environ Health Res.* 2014;24(4):378-99. DOI: 10.1080/09603123.2013.835032

104. Hartwig A. Cadmium and cancer. *Met Ions Life Sci.* 2013;11:491-507. DOI: 10.1007/978-94-007-5179-8\_15

105. Giaginis C, Gatzidou E, Theocharis S. DNA repair systems as targets of cadmium toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006;213(3):282-90. DOI: 10.1016/j.taap.2006.03.008

106. He L, Ma X, Li Z, Jiao Z, Li Y, Ow DW. Maize OXIDATIVE STRESS2 Homologs Enhance Cadmium Tolerance in Arabidopsis through Activation of a Putative SAM-Dependent Methyltransferase Gene. *Plant Physiol.* 2016;171(3):1675-85. DOI: 10.1104/pp.16.00220

107. Martinez-Zamudio R, Ha HC. Environmental epigenetics in metal exposure. *Epigenetics.* 2011;6(7):820-7. DOI: 10.4161/epi.6.7.16250

108. Suzuki M, Takeda S, Teraoka-Nishitani N, Yamagata A, Tanaka T, Sasaki M, et al. Cadmium-induced malignant transformation of rat liver cells: Potential key role and regulatory mechanism of altered apolipoprotein E expression in enhanced invasiveness. *Toxicology.* 2017;382:16-23. DOI: 10.1016/j.tox.2017.03.014

109. Zimta AA, Schitcu V, Gurzau E, Stavaru C, Manda G, Szedlacsek S, et al. Biological and molecular modifications induced by cadmium and arsenic during breast and prostate cancer development. *Environ Res.* 2019;178:108700. DOI: 10.1016/j.envres.2019.108700



110. Rapisarda V, Miozzi E, Loreto C, Matera S, Fenga C, Avola R, et al. Cadmium exposure and prostate cancer: insights, mechanisms and perspectives. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2018;23:1687-700. DOI: 10.2741/4667
111. Chandrasekaran B, Dahiya NR, Tyagi A, Kolluru V, Saran U, Baby BV, et al. Chronic exposure to cadmium induces a malignant transformation of benign prostate epithelial cells. *Oncogenesis*. 2020;9(2):23. DOI: 10.1038/s41389-020-0202-7
112. Filippini T, Torres D, Lopes C, Carvalho C, Moreira P, Naska A, et al. Cadmium exposure and risk of breast cancer: A dose-response meta-analysis of cohort studies. *Environ Int*. 2020;142:105879. DOI: 10.1016/j.envint.2020.105879
113. Wang Y, Shi L, Li J, Li L, Wang H, Yang H. Long-term cadmium exposure promoted breast cancer cell migration and invasion by up-regulating TGIF. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2019;175:110-7. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.03.046
114. Du T, Huang W, Zheng S, Bao M, Huang Y, Li A, et al. Blood Cadmium Level Is Associated with Short Progression-Free Survival in Nasopharyngeal Carcinoma. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(16):2952. DOI: 10.3390/ijerph16162952
115. Sciannameo V, Carta A, d'Errico A, Giraudo MT, Fasanelli F, Arici C, et al. New insights on occupational exposure and bladder cancer risk: a pooled analysis of two Italian case-control studies. *Int Arch Occup Environ Health*. 2019;92(3):347-59. DOI: 10.1007/s00420-018-1388-2
116. Chen YT, Ou Yang WT, Juang HH, Chen CL, Chen HW, Tsui KH, et al. Proteomic characterization of arsenic and cadmium exposure in bladder cells. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2020;34(Suppl 1):e8578. DOI: 10.1002/rcm.8578
117. Djordjevic VR, Wallace DR, Schweitzer A, Boricic N, Knezevic D, Matic S, et al. Environmental cadmium exposure and pancreatic cancer: Evidence

from case control, animal and in vitro studies. *Environ Int.* 2019;128:353-61. DOI: 10.1016/j.envint.2019.04.048

118. Buha A, Wallace D, Matovic V, Schweitzer A, Oluic B, Micic D, et al. Cadmium Exposure as a Putative Risk Factor for the Development of Pancreatic Cancer: Three Different Lines of Evidence. *Biomed Res Int.* 2017;2017:1981837. DOI: 10.1155/2017/1981837

119. Shi H, Sun X, Kong A, Ma H, Xie Y, Cheng D, et al. Cadmium induces epithelial-mesenchymal transition and migration of renal cancer cells by increasing PGE2 through a cAMP/PKA-COX2 dependent mechanism. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2021;207:111480. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111480

120. Ding X, Zhang Q, Wei H, Zhang Z. Cadmium-induced renal tubular dysfunction in a group of welders. *Occupational Medicine.* 2011;61(4):277-9.

121. Jain RB. Co-exposures to toxic metals cadmium, lead, and mercury and their impact on unhealthy kidney function. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2019;26(29):30112-8. DOI: 10.1007/s11356-019-06182-y

122. Jain RB. Cadmium and kidney function: Concentrations, variabilities, and associations across various stages of glomerular function. *Environ Pollut.* 2020;256:113361. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.113361

123. Wang C, Nie G, Zhuang Y, Hu R, Wu H, Xing C, et al. Inhibition of autophagy enhances cadmium-induced apoptosis in duck renal tubular epithelial cells. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2020;205:111188. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111188

124. Chargui A, Zekri S, Jacquillet G, Rubera I, Ilie M, Belaid A, et al. Cadmium-induced autophagy in rat kidney: an early biomarker of subtoxic exposure. *Toxicol Sci.* 2011;121(1):31-42. DOI: 10.1093/toxsci/kfr031

125. Tokumoto M, Lee JY, Fujiwara Y, Satoh M. Alteration of DNA binding activity of transcription factors in NRK-52E rat proximal tubular cells treated with cadmium. *The Journal of Toxicological Sciences.* 2014;39(5):735-8.

126. Wu CY, Wong CS, Chung CJ, Wu MY, Huang YL, Ao PL, et al. The association between plasma selenium and chronic kidney disease related to

lead, cadmium and arsenic exposure in a Taiwanese population. *J Hazard Mater.* 2019;375:224-32. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.04.082

127. Zhang XH, Xiao XB, Li Y, Li L. Analysis of clinical features of mild chronic cadmium poisoning induced by different causes. *Zhonghua lao dong wei sheng zhi ye bing za zhi.* 2013;31(10):763-5.

128. Grau-Perez M, Pichler G, Galan-Chilet I, Briongos-Figuero LS, Rentero-Garrido P, Lopez-Izquierdo R, et al. Urine cadmium levels and albuminuria in a general population from Spain: A gene-environment interaction analysis. *Environ Int.* 2017;106:27-36. DOI: 10.1016/j.envint.2017.05.008

129. Thévenod F. Cadmium and cellular signaling cascades: to be or not to be? *Toxicol App Pharmacol.* 2009;238(3):221-39. DOI: 10.1016/j.taap.2009.01.013

130. Колосова И, Руденко К М, Шаторна ВФ. Кадмій – загроза для живих організмів (огляд літератури). *Perspectives of world science and education Abstracts of V International Scientific and Practical Conference Osaka, Japan 29-31 January 2020;* 433-442.

131. Гонохова МН. Структурные изменения в почках животных при воздействии на организм кадмия. *Вестн. Алтай. гос. аграрного университета.* 2007;12:38-42.

132. Bernhoft RA. Cadmium toxicity and treatment. *Scientific World Journal.* 2013;2013:394652. DOI: 10.1155/2013/394652

133. Angeli JK, Cruz Pereira CA, de Oliveira Faria T, Stefanon I, Padilha AS, Vassallo DV. Cadmium exposure induces vascular injury due to endothelial oxidative stress: the role of local angiotensin II and COX-2. *Free Radic Biol Med.* 2013;65:838-48. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.167

134. Lee MS, Park SK, Hu H, Lee S. Cadmium exposure and cardiovascular disease in the 2005 Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *Environ Res.* 2011;111(1):171-6. DOI: 10.1016/j.envres.2010.10.006

135. Gay F, Laforgia V, Caputo I, Esposito C, Lepretti M, Capaldo A. Chronic exposure to cadmium disrupts the adrenal gland activity of the newt *Triturus carnifex* (Amphibia, Urodela). *Biomed Res Int*. 2013;2013:424358. DOI: 10.1155/2013/424358
136. Нефьодова ОО, Кузнєцова ОВ, Задесенець ІІ, Гальперін ОІ. Аналіз літературних даних щодо впливу сполук важких металів на серцево-судинну систему. *Вісн. пробл. біології і медицини*. 2017;4, 1(139):53-8.
137. Gimelli A, Liga R, Giorgetti A, Genovesi D, Marzullo P. Assessment of myocardial adrenergic innervation with a solid-state dedicated cardiac cadmium-zinc-telluride camera: first clinical experience. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2014;15(5):575-85. DOI: 10.1093/ehjci/jet258
138. Fagerberg B, Bergström G, Borén J, Barregard L. Cadmium exposure is accompanied by increased prevalence and future growth of atherosclerotic plaques in 64-year-old women. *J Intern Med*. 2012;272(6):601-10. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2012.02578.x
139. Tellez-Plaza M, Jones MR, Dominguez-Lucas A, Guallar E, Navas-Acien A. Cadmium exposure and clinical cardiovascular disease: a systematic review. *Curr Atheroscler Rep*. 2013;15(10):356. DOI: 10.1007/s11883-013-0356-2
140. Engbers EM, Timmer JR, Mouden M, Knollema S, Jager PL, Ottervanger JP. Prognostic Value of Myocardial Perfusion Imaging with a Cadmium-Zinc-Telluride SPECT Camera in Patients Suspected of Having Coronary Artery Disease. *J Nucl Med*. 2017;58(9):1459-63. DOI: 10.2967/jnumed.116.188516
141. Qi K, Ren L, Bai Z, Yan J, Deng X, Zhang J, et al. Detecting cadmium during ultrastructural characterization of hepatotoxicity. *J Trace Elem Med Biol*. 2020;62:126644. DOI: 10.1016/j.jtemb.2020.126644
142. Nguyen KC, Zhang Y, Todd J, Kittle K, Lalande M, Smith S, et al. Hepatotoxicity of Cadmium Telluride Quantum Dots Induced by Mitochondrial

Dysfunction. Chem Res Toxicol. 2020;33(9):2286-97. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.9b00526

143. Kang MY, Cho SH, Lim YH, Seo JC, Hong YC. Effects of environmental cadmium exposure on liver function in adults. Occup Environ Med. 2013;70(4):268-73. DOI: 10.1136/oemed-2012-101063

144. Kamenova K, Gluhcheva Y, Vladov I, Stoykova S, Ivanova J. Ameliorative effect of the anticancer agent salinomycin on cadmium-induced hepatotoxicity and renal dysfunction in mice. Environ Sci Pollut Res Int. 2018;25(4):3616-27. DOI: 10.1007/s11356-017-0755-y

145. Baskaran R, Priya LB, Sathish Kumar V, Padma VV. *Tinospora cordifolia* extract prevents cadmium-induced oxidative stress and hepatotoxicity in experimental rats. J Ayurveda Integr Med. 2018;9(4):252-7. DOI: 10.1016/j.jaim.2017.07.005

146. Cupertino MC, Costa KL, Santos DC, Novaes RD, Condessa SS, Neves AC, et al. Long-lasting morphofunctional remodelling of liver parenchyma and stroma after a single exposure to low and moderate doses of cadmium in rats. Int J Exp Pathol. 2013;94(5):343-51. DOI: 10.1111/iep.12046

147. Mazzei V, Longo G, Brundo MV, Sinatra F, Copat C, Oliveri Conti G, et al. Bioaccumulation of cadmium and lead and its effects on hepatopancreas morphology in *Mulhim AS*, three terrestrial isopod crustacean species. Ecotoxicol Environ Saf. 2014;110:269-79. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2014.09.015

148. Fouad AA, Al- Gomaa W. Protective effect of cannabidiol against cadmium hepatotoxicity in rats. J Trace Elem Med Biol. 2013;27(4):355-63. DOI: 10.1016/j.jtemb.2013.07.001

149. Zhang Y, Jiang N, Liu Q, Zhu Y, Huang X. Role of mitochondrial damage in cadmium-induced cell apoptosis and DNA damage of hepatocytes. Wei Sheng Yan Jiu. 2020;49(2):290-7. DOI: 10.19813/j.cnki.weishengyanjiu.2020.02.021

150. Skipper A, Sims JN, Yedjou CG, Tchounwou PB. Cadmium Chloride Induces DNA Damage and Apoptosis of Human Liver Carcinoma Cells

via Oxidative Stress. *Int J Environ Res Public Health*. 2016;13(1):88. DOI: 10.3390/ijerph13010088

151. Нефьодова ОО, Білишко ДВ. Вплив важких металів на морфофункціональний стан печінки (огляд літератури). *Вісн. пробл. біології і медицини*. 2018;2, 1(143):27-30.

152. Dai W, Chen H, Yu R, He L, Chen B, Chen X. Effects of cadmium on telomerase activity, expressions of TERT, c-myc and P53, and apoptosis of rat hepatocytes. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 2010;30(6):709-13. DOI: 10.1007/s11596-010-0645-8

153. Шорникова НИ, Судакова НН, Конопатов ЮВ, Васильева СВ. Влияние кадмия на активность церулоплазмينا и АСТ сыворотки крови крыс. *Международ. вестн. ветеринарии*. 2013;3:64-7.

154. Massányi P, Massányi M, Madeddu R, Stawarz R, Lukáč N. Effects of Cadmium, Lead, and Mercury on the Structure and Function of Reproductive Organs. *Toxics*. 2020;8(4):94. DOI: 10.3390/toxics8040094

155. Xu YR, Yang WX. Roles of three Es-Caspases during spermatogenesis and Cadmium-induced apoptosis in *Eriocheir sinensis*. *Aging (Albany NY)*. 2018;10(5):1146-65. DOI: 10.18632/aging.101454

156. Fang Y, Zhang L, Dong X, Wang H, He L, Zhong S. Downregulation of vdac2 inhibits spermatogenesis via JNK and P53 signalling in mice exposed to cadmium. *Toxicol Lett*. 2020;326:114-22. DOI: 10.1016/j.toxlet.2020.03.011

157. Irvine DS, Twigg JP, Gordon EL, et al. DNA integrity in human spermatozoa: relationships with semen quality. *J Androl*. 2010;21(1):33-44.

158. Rengaraj D, Kwon WS, Pang MG. Effects of motor vehicle exhaust on male reproductive function and associated proteins. *J Proteome Res*. 2014;14(1):22-37. DOI: 10.1021/pr500939c

159. Rolland M, Le Moal J, Wagner V, et al. Decline in semen concentration in a sample of 26,609 men close to general population between

1989 and 2005 in France. *Hum Reprod.* 2013;28(2):462-70. DOI: 10.1093/humrep/des415

160. Andersson AM, Jørgensen N, Main KM, et al. Adverse trends in male reproductive health: we may have reached a crucial “tipping point”. *Int J Androl.* 2008;31(2):74-80. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2007.00853.x

161. Telisman S, Cvitkovic P, Jurasovic J. Semen quality and reproductive endocrine function in relation to biomarkers of lead, cadmium, zinc, and copper in men. *Environ Health Perspect.* 2000;108(1):45-53.

162. Вільхова ОВ. Сучасні погляди на гістологічні особливості органів чоловічої статеві системи. *Світ медицини та біології.* 2017;1:186-91.

163. Facondo P, Delbarba A, Maffezzoni F, Cappelli C, Ferlin A. INSL3: A Marker of Leydig Cell Function and Testis-Bone-Skeletal Muscle Network. *Protein Pept Lett.* 2020;27(12):1246-52. DOI: 10.2174/0929866527666200925105739

164. Rebourcet D, Wu J, Cruickshanks L, Smith SE, Milne L, Fernando A. et al. Sertoli cells modulate testicular vascular network development, structure, and function to influence circulating testosterone concentrations in adult male mice. *Endocrinology.* 2016;157:2479-88. DOI: 10.1210/en.2016-1156

165. Rebourcet D, O'shaughnessy PJ, Monteiro A, Milne L, Cruickshanks L, Jeffrey N, et al. Sertoli cells maintain Leydig cell number and peritubular myoid cell activity in the adult mouse testis. *PLoS ONE.* 2014;9:e105687. DOI: 10.1371/journal.pone.0105687

166. Unal E, Yildirim R, Tekin S, Demir V, Onay H, Haspolat YK. A novel mutation of AMHR2 in two siblings with persistent Mullerian duct syndrome. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2018;10:387-90. DOI: 10.4274/jcrpe.0013

167. Tan K, Song HW, Wilkinson MF. Single-cell RNAseq analysis of testicular germ and somatic cell development during the perinatal period. *Development.* 2020;147:dev183251. DOI: 10.1242/dev.183251

168. Li X, Liu J, Wu S, Zheng W, Li H, Bao S, et al. *In utero* single low-dose exposure of cadmium induces rat fetal Leydig cell dysfunction. *Chemosphere*. 2018;194:57-66. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.11.159
169. Zhang Y, Li S. Relationship between cadmium content in semen and male infertility: a meta-analysis. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2019;26:1947-53. DOI: 10.1007/s11356-018-3748-6
170. Su DM, Feng Y, Wang L, Wu YL, Ge RS, Ma X. Influence of fetal Leydig cells on the development of adult Leydig cell population in rats. *J Reprod Dev*. 2018;64:223-31. DOI: 10.1262/jrd.2017-102
171. de Souza Predes F, Monteiro JC, Matta SL, Garcia MC, Dolder H. Testicular histomorphometry and ultrastructure of rats treated with cadmium and Ginkgo biloba. *Biol Trace Elem Res*. 2011;140:330-41. DOI: 10.1007/s12011-010-8702-5
172. Xiao X, Mruk DD, Tang EI, Wong CK, Lee WM, John CM, et al. Environmental toxicants perturb human Sertoli cell adhesive function via changes in F-actin organization mediated by actin regulatory proteins. *Hum Reprod*. 2014;29:1279-91. DOI: 10.1093/humrep/deu011
173. Wu S, Yan M, Ge R, Cheng CY. Crosstalk between sertoli and germ cells in male fertility. *Trends Mol Med*. 2019;26:215-31. DOI: 10.1016/j.molmed.2019.09.006
174. Wong CH, Mruk DD, Lui WY, Cheng CY. Regulation of blood-testis barrier dynamics: an in vivo study. *J Cell Sci*. 2004;117(Pt 5):783-98. DOI: 10.1242/jcs.00900
175. Wan HT, Mruk DD, Tang EI, Xiao X, Cheng YH, Wong EW, et al. Role of non-receptor protein tyrosine kinases in spermatid transport during spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol*. 2014;30:65-74. DOI: 10.1016/j.semcdb.2014.04.013



176. Siu ER, Wong EW, Mruk DD, Porto CS, Cheng CY. Focal adhesion kinase is a blood-testis barrier regulator. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(23):9298-303. DOI: 10.1073/pnas.0813113106

177. Siu ER, Wong EW, Mruk DD, Sze KL, Porto CS, Cheng CY. An occludin-focal adhesion kinase protein complex at the blood-testis barrier: a study using the cadmium model. *Endocrinology*. 2009;150(7):3336-44. DOI: 10.1210/en.2008-1741

178. Cupertino MC, Novaes RD, Santos EC, Neves AC, Silva E, Oliveira JA, et al. Differential Susceptibility of Germ and Leydig Cells to Cadmium-Mediated Toxicity: Impact on Testis Structure, Adiponectin Levels, and Steroidogenesis. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:3405089. DOI: 10.1155/2017/3405089

179. Nna VU, Ujah GA, Mohamed M, Etim KB, Igba BO, Augustine ER, et al. Cadmium chloride-induced testicular toxicity in male wistar rats; prophylactic effect of quercetin, and assessment of testicular recovery following cadmium chloride withdrawal. *Biomed Pharmacother*. 2017;94:109-23. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.07.087

180. Rajendar B, Bharavi K, Rao GS, Kishore PV, Kumar PR, Kumar CS, et al. Protective effect of alpha-tocopherol on biochemical and histological alterations induced by cadmium in rat testes. *Indian J Physiol Pharmacol*. 2011;55(3):213-20.

181. Zhao LL, Ru YF, Liu M, Tang JN, Zheng JF, Wu B, et al. Reproductive effects of cadmium on sperm function and early embryonic development in vitro. *PLoS One*. 2017;12(11):e0186727. DOI: 10.1371/journal.pone.0186727

182. de Angelis C, Galdiero M, Pivonello C, Salzano C, Gianfrilli D, Piscitelli P, et al. The environment and male reproduction: The effect of cadmium exposure on reproductive function and its implication in fertility. *Reprod Toxicol*. 2017;73:105-27. DOI: 10.1016/j.reprotox.2017.07.021

183. Kumar S, Sharma A. Cadmium toxicity: effects on human reproduction and fertility. *Rev Environ Health*. 2019;34(4):327-38. DOI: 10.1515/reveh-2019-0016
184. Sharma T, Banerjee BD, Yadav CS, Gupta P, Sharma S. Heavy metal levels in adolescent and maternal blood: association with risk of hypospadias. *ISRN Pediatr*. 2014;2014:714234. DOI: 10.1155/2014/714234
185. Buck Louis GM, Sundaram R, Schisterman EF, Sweeney AM, Lynch CD, Gore-Langton RE, et al. Heavy metals and couple fecundity, the LIFE Study. *Chemosphere*. 2012;87(11):1201-7. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.01.017
186. He Y, Zou L, Luo W, Yi Z, Yang P, Yu S, et al. Heavy metal exposure, oxidative stress and semen quality: Exploring associations and mediation effects in reproductive-aged men. *Chemosphere*. 2020;244:125498. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.125498
187. Chen C, Wang N, Nie X, Han B, Li Q, Chen Y, et al. Blood Cadmium Level Associates with Lower Testosterone and Sex Hormone-Binding Globulin in Chinese men: from SPECT-China Study, 2014. *Biol Trace Elem Res*. 2016;171(1):71-8. DOI: 10.1007/s12011-015-0526-x
188. Kresovich JK, Argos M, Turyk ME. Associations of lead and cadmium with sex hormones in adult males. *Environ Res*. 2015;142:25-33. DOI: 10.1016/j.envres.2015.05.026
189. Shima Y, Matsuzaki S, Miyabayashi K, Otake H, Baba T, Kato S, et al. Fetal Leydig Cells Persist as an Androgen-Independent Subpopulation in the Postnatal Testis. *Mol Endocrinol*. 2015;29(11):1581-93. DOI: 10.1210/me.2015-1200
190. Ye L, Li X, Li L, Chen H, Ge RS. Insights into the Development of the Adult Leydig Cell Lineage from Stem Leydig Cells. *Front Physiol*. 2017;8:430. DOI: 10.3389/fphys.2017.00430

191. Adham IM, Emmen JM, Engel W. The role of the testicular factor INSL3 in establishing the gonadal position. *Mol Cell Endocrinol.* 2000;160(1-2):11-6. DOI: 10.1016/s0303-7207(99)00188-4
192. Yokoyama C, Chigi Y, Baba T, Ohshitanai A, Harada Y, Takahashi F, et al. Three populations of adult Leydig cells in mouse testes revealed by a novel mouse HSD3B1-specific rat monoclonal antibody. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019;511(4):916-20. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.02.100
193. Wang Y, Ni C, Li X, Lin Z, Zhu Q, Li L, et al. Phthalate-Induced Fetal Leydig Cell Dysfunction Mediates Male Reproductive Tract Anomalies. *Front Pharmacol.* 2019;10:1309. DOI: 10.3389/fphar.2019.01309
194. Hu H, Lu X, Cen X, Chen X, Li F, Zhong S. RNA-Seq identifies key reproductive gene expression alterations in response to cadmium exposure. *Biomed Res Int.* 2014;2014:529271. DOI: 10.1155/2014/529271
195. Wu X, Guo X, Wang H, Zhou S, Li L, Chen X, et al. A brief exposure to cadmium impairs Leydig cell regeneration in the adult rat testis. *Sci Rep.* 2017;7(1):6337. DOI: 10.1038/s41598-017-06870-0
196. Liu Q, Gu JH, Yuan Y, Liu XZ, Wang YJ, Wang HD, et al. Effect of cadmium on rat Leydig cell testosterone production and DNA integrity in vitro. *Biomed Environ Sci.* 2013;26(9):769-73. DOI: 10.3967/0895-3988.2013.09.009
197. Zhang Q, Zou P, Zhan H, Zhang M, Zhang L, Ge RS, et al. Dihydroliipoamide dehydrogenase and cAMP are associated with cadmium-mediated Leydig cell damage. *Toxicol Lett.* 2011;205(2):183-9. DOI: 10.1016/j.toxlet.2011.06.003
198. Leite R, Peloso EF, Gadelha FR, Dolder MA. Environmentally Realistic Doses of Cadmium as a Possible Etiologic Agent for Idiopathic Pathologies. *Biol Trace Elem Res.* 2015;168(1):133-40. DOI: 10.1007/s12011-015-0322-7
199. Morielli T, O'Flaherty C. Oxidative stress impairs function and increases redox protein modifications in human spermatozoa. *Reproduction.* 2015;149(1):113-23. DOI: 10.1530/REP-14-0240

200. Elmallah MIY, Elkhadragy MF, Al-Olayan EM, Abdel Moneim AE. Protective Effect of *Fragaria ananassa* Crude Extract on Cadmium-Induced Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzymes Suppression, and Apoptosis in Rat Testes. *Int J Mol Sci*. 2017;18(5):957. DOI: 10.3390/ijms18050957
201. Mahmoudi R, Azizi A, Abedini S, Hemayatkhah Jahromi V, Abidi H, Jafari Barmak M. Green tea improves rat sperm quality and reduced cadmium chloride damage effect in spermatogenesis cycle. *J Med Life*. 2018;11(4):371-80. DOI: 10.25122/jml-2018-0005
202. Chen N, Su P, Wang M, Li YM. Ascorbic acid inhibits cadmium-induced disruption of the blood-testis barrier by regulating oxidative stress-mediated p38 MAPK pathways. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018;25(22):21713-20. DOI: 10.1007/s11356-018-2138-4
203. Pandya C, Pillai P, Nampoothiri LP, Bhatt N, Gupta S, Gupta S. Effect of lead and cadmium co-exposure on testicular steroid metabolism and antioxidant system of adult male rats. *Andrologia*. 2012;44(Suppl 1):813-22. DOI: 10.1111/j.1439-0272.2010.01137.x
204. Ганусова ГВ, Охріменко СМ. Вплив хлориду кадмію на деякі біохімічні показники печінки, сім'яників та надниркових залоз щурів. *Вісн. Харків. нац. університету ім. В.Н. Каразіна*. 2016;27:5-10.
205. Khanna S, Lakhera PC, Khandelwal S. Interplay of early biochemical manifestations by cadmium insult in sertoli-germ coculture: an in vitro study. *Toxicology*. 2011;287(1-3):46-53. DOI: 10.1016/j.tox.2011.05.013
206. Yan M, Li L, Mao B, Li H, Li SYT, Mruk D, et al. mTORC1/rpS6 signaling complex modifies BTB transport function: an in vivo study using the adjudin model. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2019;317(1):E121-E138. DOI: 10.1152/ajpendo.00553.2018
207. Lu H, Zhang H, Gao J, Li Z, Bao S, Chen X, et al. Effects of perfluorooctanoic acid on stem Leydig cell functions in the rat. *Environ Pollut*. 2019;250:206-15. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.03.120

208. Yang SH, Li P, Yu LH, Li L, Long M, Liu MD, et al. Sulforaphane Protect Against Cadmium-Induced Oxidative Damage in mouse Leydig's Cells by Activating Nrf2/ARE Signaling Pathway. *Int J Mol Sci.* 2019;20(3):630. DOI: 10.3390/ijms20030630
209. Zhu H, Li K, Liang J, Zhang J, Wu Q. Changes in the levels of DNA methylation in testis and liver of SD rats neonatally exposed to 5-aza-2'-deoxycytidine and cadmium. *J Appl Toxicol.* 2011;31(5):484-95. DOI: 10.1002/jat.1673
210. Nakayama SMM, Nakata H, Ikenaka Y, Yabe J, Oroszlany B, Yohannes YB, et al. One year exposure to Cd- and Pb-contaminated soil causes metal accumulation and alteration of global DNA methylation in rats. *Environ Pollut.* 2019;252(Pt B):1267-76. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.05.038
211. Zhu Q, Li X, Ge RS. Toxicological Effects of Cadmium on Mammalian Testis. *Front Genet.* 2020;11:527. DOI: 10.3389/fgene.2020.00527
212. Jahan S, Zahra A, Irum U, Iftikhar N, Ullah H. Protective effects of different antioxidants against cadmium induced oxidative damage in rat testis and prostate tissues. *Syst Biol Reprod Med.* 2014;60(4):199-205. DOI: 10.3109/19396368.2014.912363
213. Bekheet SH. Comparative effects of repeated administration of cadmium chloride during pregnancy and lactation and selenium protection against cadmium toxicity on some organs in immature rats' offsprings. *Biol Trace Elem Res.* 2011;144(1-3):1008-23. DOI: 10.1007/s12011-011-9084-z
214. Burukoğlu D, Bayçu C. Protective effects of zinc on testes of cadmium-treated rats. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2008;81(6):521-4. DOI: 10.1007/s00128-007-9211-x
215. Leite RP, Predes FS, Monteiro JC, Freitas KM, Wada RS, Dolder H. Advantage of Guaraná (*Paullinia cupana* Mart.) supplementation on cadmium-induced damages in testis of adult Wistar rats. *Toxicol Pathol.* 2013;41(1):73-9. DOI: 10.1177/0192623312447541

216. Khanna S, Mitra S, Lakhera PC, Khandelwal S. N-acetylcysteine effectively mitigates cadmium-induced oxidative damage and cell death in Leydig cells in vitro. *Drug Chem Toxicol.* 2016;39(1):74-80. DOI: 10.3109/01480545.2015.1028068

217. Шамелашвілі КЛ, Шаторна ВФ. Експериментальне визначення модифікуючого впливу сукцинату цинку на ембріотоксичність хлориду кадмію у щурів. *Вісн. пробл. біології і медицини.* 2020;3:58-61.

218. Руденко КМ. Зниження ступеню ембріотоксичності хлориду кадмію при комбінованому введенні з сукцинатом міді в експерименті на щурах. *Вісн. пробл. біології і медицини.* 2020;4(158):69-73.

219. Нефьодов ОО, Білишко ДВ, Земляний ОА, Шаторна ВФ, Демиденко ЮВ, Мальчугін РК, та ін. Модифікуючий вплив цитрату селену та цитрату германію на ембріотоксичність солей кадмію при комбінованому введенні у щурів. *Укр. журн. медицини, біології та спорту.* 2019;4(4):45-50. DOI: 10.26693/jmbs04.04.045

220. Шаторна ВФ, Гарець ВІ, Байбаков ВМ, Кононова ІІ, Слесаренко ОГ, Шамелашвілі КЛ. Визначення модифікуючої дії цитратів металів на ембріотоксичність кадмію у щурів. *Вісн. пробл. біології і медицини.* 2020;1:316-20.

221. Шаторна ВФ, Нефьодова ОО, Гарець ВІ, Гальперін ОІ, Дефорж ГВ, Грузд ВВ, та ін. Експериментальне визначення впливу цитратів металів на ембріотоксичність солей кадмію в ембріогенезі щура. *Світ медицини та біології.* 2019;2:210-4.

222. Нефьодова ОО, Гальперін ОІ, Шаторна ВФ, Шевченко ІВ, Деміденко ЮВ, Придиус ІО, та ін. Експериментальне визначення накопичення в серці ембріонів солей кадмію та їх впливу на кардіогенез щура. *Мед. перспективи.* 2020;25(3):8-16.

223. Нефьодова ОО, Грузд ВВ, Гальперін ОІ, Бойко ОВ. Кадмій-індуковані зміни яєчок: актуальний погляд на сучасний стан проблеми. *Вісн. пробл. біології та медицини.* 2021;1(159):297-301.

224. Gruzd V, Frolova H, Alekseyenko Z. Testicular changes under the influence of cadmium in combination with metal succinates: modern view of the problem (literature review). *Modern Science - Moderni veda*. 2021;3:108-15.

225. Нефьодова ОО, Грузд ВВ. Зміни мікроелементного складу статевих залоз самців щурів під впливом кадмієвої інтоксикації та коректорів за даними поліелементного аналізу. *Перспективи та інновації науки*. 2023;15(33):1192-204. DOI: 10.52058/2786-4952-2023-15(33)-1192-1204

226. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Вивчення кадмієвої інтоксикації статевих залоз самців щурів під впливом коректорів за даними поліелементного аналізу. В: *Modern ways of development of science and the latest theories. The XIII International Scientific and Practical Conference*; 2023 Dec 11-13; Madrid, Spain. 2023; p. 209-210.

227. Nefodova OO, Hruzd VV. Experimental study of the dynamics of morphological changes in the rat testum under chronic influence of cadmium chloride. *Morphologia*. 2023;17(4):34-40.

228. Choy JT, Eisenberg ML. Male infertile as a window to health. *Fertil Steril*. 2018;110(5):810-4. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.08.015

229. Gao Y, Mruk DD, Cheng CY. Sertoli cells are the target of environmental toxicants in the testis - a mechanistic and therapeutic insight. *Expert Opin Ther Targets*. 2015;19:1073-90. DOI: 10.1517/14728222.2015.1039513

230. Wirth JJ, Mijal RS. Adverse effects of low level heavy metal exposure on male reproductive function. *Syst Biol Reprod Med*. 2010;56:147-67. DOI: 10.3109/19396360903582216

231. Островська СС, Абрамов СВ, Писаревська ІА, Трушенко ОС, Жержова ТА, Первишерст КЮ, та ін. Токсичний вплив кадмію на репродуктивну функцію чоловіків. *Укр. журн. медицини, біології та спорту*. 2021;6(34):275-81.

232. Поліщук АА. Дослідження токсичності важких металів у свинарстві. Вісн. Полтав. держ. аграрної академії. 2009;1:52-6.

233. Zhang J, Cai Z, Ma C, Xiong J, Li H. Impacts of outdoor air pollution on human semen quality: a metaanalysis and systematic review. *Bio Med Res Int.* 2020;2020:7528901. DOI: 10.1155/2020/7528901

234. Zhao LL, Ru YF, Liu M, Tang JN, Zheng JF, Wu B, et al. Reproductive effects of cadmium on sperm function and early embryonic development in vitro. *PLoS ONE.* 2017;12:e0186727. DOI: 10.1371/journal.pone.0186727

235. Chen N, Su P, Wang M, Li YM. Ascorbic acid inhibits cadmium-induced disruption of the blood-testis barrier by regulating oxidative stressmediated p38 MAPK pathways. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018;25(22):21713-20. DOI: 10.1007/s11356-018-2138-4

236. Ганусова ХВ, Охріменко СМ. Вплив хлориду кадмію на деякі біохімічні показники печінки, сім'яників та надниркових залоз щурів. Вісн. Харків. нац. університету ім. В.Н. Каразіна. 2016;27:5-10.

237. Khanna S, Lakhera PC, Khandelwal S. Interplay of early biochemical manifestations by cadmium insult in sertoli-germ coculture: an in vitro study. *Toxicology.* 2011;287(3):46-53. DOI: 10.1016/j.tox.2011.05.013

238. Нефьодова ОО, Азаров ОІ. Порівняльна характеристика накопичення кадмію в ембріонах щура при впливі низьких доз на вагітну самицю. В: 36. тез доп. VII конгресу наук. т-ва анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України; 2019 Жовт 2-4; Одеса. 2019; с. 300-302.

239. Nefyodova OO, Azarov OI, Galperin OI, Solomenko MV, Zhitniy MI, Kononova II, et al. Effect of metal citrates on indicators of the embryotoxicity of cadmium salts in rats schuras with combined introduction. *Світ біології та медицини.* 2021;1(75):176-81.

240. Ніженковська ІВ, Вельчинська ОВ, Кучер ММ. Токсикологічна хімія: підр. 3-є вид. Київ: Медицина; 2020. 372 с.



241. Шафран ЛМ, Большой ДВ, Пыхтеева ЕГ, Третьякова ЕМ. Роль лизосом в механизме защиты и повреждения клеток при действии тяжёлых металлов. Сучасні проблеми токсикології. 2004;3:17-24.
242. Чекман ІС, Ульберг ЗР, Руденко АД, Марушко ЮВ, Грузіна ТГ, Резніченко ЛС, та ін. Цинк і наноцинк: властивості, застосування у клінічній практиці. Укр. мед. часопис. 2013;2(94):42-7.
243. Нефьодов ОО, Білишко ДВ, Кушнарьова КА, Шевченко ОС, Шаторна ВФ, Кефелі-Яновська ОІ, та ін. Визначення впливу кадмію на показники ембріогенезу при ізольованому введенні та вкомбінації з цитратами селену та германію. Мед. перспективи. 2020;20(1):24-31.
244. Гавалко ЮВ, Романенко МС, Синеок ЛЛ. Стан забезпеченості макро- і мікроелементами у практично здорових людей різного віку. Пробл. старения и долголетия. 2015;24(3-4):266-78.
245. Чужакин НЛ, Колесников ВА. Влияние цинка и меди на распределение кадмия в организме. В: Проблемы современной аграрной науки. Материалы междунар. науч. конф.; 2008; Красноярск. 2008; с. 91-3.
246. Романюк АМ, Сауляк СВ, Москаленко РА, Москаленко ЮВ. Вплив солей важких металів на сперматогенну функцію і її корекція препаратом тивортин®. Лікувальна справа. 2013;3:123-8. DOI: 10.31640/LS-2012-(1-2)-17
247. Романюк АМ, Москаленко ЮВ, Сауляк СВ, Бончев СД, Москаленко РА. Судинно-паренхіматозні співвідношення сім'яників при корекції впливу сполук важких металів. Лікувальна справа. 2013;4:122-7. DOI: 10.31640/LS-2013-4-23
248. Романюк АМ, Сауляк СВ, Москаленко ЮВ, Романюк ОК, Шкрьоба АО. Морфологічні зміни у статевих органах (сім'яники, передміхурова залоза) в умовах впливу на організм солей важких металів. Таврич. мед.-биолог. вестник. 2013;16(1)(Ч.1,61):210-1.
249. Грищук МІ. Структурні зміни слизової оболонки тонкої кишки за умов впливу кадмію та пестициду 2,4-Д. Шпитальна хірургія. 2012;3:80-2.

# ДОДАТОК А

## Акти впроваджень

ЗАТВЕРДЖУЮ

  
Проректор з наукової роботи  
Харківського національного  
медичного університету

проф. В.В. М'ясоєдов

«16» сі 2024 р.

### АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: «Динаміка морфологічних змін яєчок шурів при хронічному впливі кадмію хлориду та за умов корекції» (анатоμο-експериментальне дослідження).
2. Ким і коли запропонований: Дніпровський державний медичний університет (м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9); аспірант кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Грузд В.В., 2023 р.
3. Джерела інформації: наукові роботи у вітчизняних фахових виданнях:
  - 3.1 Nefodova O.O., Hruzd V.V. [Experimental study of the dynamics of morphological changes in the rat testis under chronic influence of cadmium chloride]. Morphologia. 2023;17(4):34-40. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.34-40>
  - 3.2 Нефьодова О.О., Грузд В.В. Зміни мікроелементного складу статевих залоз самців шурів під впливом кадмієвої інтоксикації та коректорів за даними поліелементного аналізу. - Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). - 2023. - 15(33). - С. 1192-1204.
4. Де і коли впроваджено: кафедра анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Харківського національного медичного університету, завідувач кафедри д. мед. наук, проф. Вовк О.Ю., жовтень-грудень 2023 року.
5. Результати застосування методу за період жовтень-грудень 2023 року. Впровадження у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії, а також у наукову роботу кафедри.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання здобувачів освіти про морфологічні зміни в структурі яєчок під впливом хімічних речовин.
7. Зауваження, пропозиції – немає.  
Обговорено та затверджено на засіданні кафедри (протокол 10 від «26» грудня 2023 р.)

#### Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри анатомії людини  
Харківського національного  
медичного університету,  
д. мед. н., проф. Вовк О.Ю.

06.12.23

(дата)



(підпис)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

доцент



Проректор Закладу вищої освіти  
з науково-педагогічної роботи  
Буковинського державного  
медичного університету,  
**Володимир ХОДОРОВСЬКИЙ**

20 24 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Пропозиція для впровадження:** динаміка морфологічних змін яєчок щурів при хронічному впливі кадмію хлориду та за умов корекції (анатомо-експериментальне дослідження).

**2. Установа-розробник:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044 Україна).

Розроблювач: аспірант кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Грузд Владислава Володимирівна.

**3. Джерела інформації:**

Nefodova OO, Hruzd VV. [Experimental study of the dynamics of morphological changes in the rat testum under chronic influence of cadmium chloride]. Morphologia. 2023;17(4):34-40. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.34-40>

Нефьодова ОО, Грузд ВВ. Зміни мікроелементного складу статевих залоз самців щурів під впливом кадмієвої інтоксикації та коректорів за даними поліелементного аналізу. - Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2023;15(33):1192-1204.

Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Морфогенетичний зміни яєчка щура при хронічному введенні полютанта. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. Pp. 168-171.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** Буковинський державний медичний університет, кафедра анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії.

**5. Термін впровадження:** січень 2024 року – лютий 2024 року та продовжує впроваджуватися.

**6. Форми впровадження:** у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії, а також у наукову роботу кафедри.

Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 10 від «18» грудня 2023 р.).

Завідувач кафедри  
анатомії, клінічної анатомії  
та оперативної хірургії  
Буковинського державного медичного університету,  
доктор медичних наук,  
професор

Олександр СЛОБОДЯН

«Затверджую»

Директор ННЦ

«Інститут біології та медицини»

Київського національного

університету імені Тараса Шевченка

Остапченко Л.І.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Назва пропозиції:** динаміка морфологічних змін яєчок щурів при хронічному впливі кадмію хлориду та за умов корекції (анатомо-експериментальне дослідження).

**2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044 Україна); аспірант кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Грузд Владислава Володимирівна.

**3. Джерело інформації:**

1. Nefodova O.O., Hruz V.V. [Experimental study of the dynamics of morphological changes in the rat testum under chronic influence of cadmium chloride]. *Morphologia*. 2023;17(4):34-40. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.34-40>

2. Нефьодова О.О., Грузд В.В. Зміни мікроелементного складу статевих залоз самців щурів під впливом кадмієвої інтоксикації та коректорів за даними поліелементного аналізу. - Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). - 2023. - 15(33). - С. 1192-1204.

3. Грузд В.В., Нефьодова О.О. Морфогенетичні зміни яєчка щура при хронічному введенні полютанта. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. Pp. 168-171.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра технологій медичної діагностики та лікування.

**5. Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри технологій медичної діагностики та лікування, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.

**6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань особливостей будови статевого апарату щурів та його реакції на вплив факторів інтоксикації.

**7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри технологій медичної діагностики та лікування, протокол № 4 від 23.05.2024 р.

**Відповідальний за впровадження:**

завідувач кафедри технологій медичної діагностики та лікування

ННЦ «Інститут біології та медицини»

КНУ імені Тараса Шевченка,

д.мед.н., професор

Олександр МАСВСЬКИЙ

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
Проректор з наукової роботи Тернопільського  
національного медичного університету  
ім.І.Я.Горбачевського, д.мед.н., професор  
Іван КЛІЩ

« 17 » лютого 2024 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Назва пропозиції:** динаміка морфологічних змін яєчок щурів при хронічному впливі кадмію хлориду та за умов корекції (анатомо-експериментальне дослідження).

**2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044 Україна); аспірант кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Грузд Владислава Володимирівна.

**3. Джерело інформації:**

1. Nefodova OO, Hruzd VV. [Experimental study of the dynamics of morphological changes in the rat testum under chronic influence of cadmium chloride]. *Morphologia*. 2023;17(4):34-40. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.34-40>
2. Нефьодова О.О., Грузд В.В. Зміни мікроелементного складу статевих залоз самців щурів під впливом кадмієвої інтоксикації та коректорів за даними поліелементного аналізу. - Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). - 2023. - 15(33). - С. 1192-1204.
3. Грузд В.В., Нефьодова О.О. Морфогенетичний зміни яєчка щура при хронічному введенні поллютанта. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. Pp. 168-171.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини ТНМУ ім. І.Я. Горбачевського.

**5. Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри анатомії людини, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.

**6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань особливостей будови статевого апарату щурів та його реакції на вплив факторів інтоксикації.

**7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри анатомії людини, протокол № 1 від 16 січня 2024 р.

**Відповідальний за впровадження:**

завідувач кафедри анатомії людини ТНМУ  
ім.І.Я.Горбачевського д.мед.н., професор



Ілля ГЕРАСИМЮК

ЗАТВЕРДЖУЮ  
Перший проректор  
з науково-педагогічної роботи  
Полтавського державного медичного університету

професор В.М. Дворник

2024р.

**АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ**  
результатів, отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу та  
навчальний процес

1. **Пропозиція для впровадження** динаміка морфологічних змін яєчок шурів при хронічному впливі кадмію хлориду та за умов корекції (анатоμο-експериментальне дослідження).
2. **Установа-розробник:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044 Україна); аспірант кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Грузд Владислава Володимирівна.
3. **Джерела інформації:**
  - Nefodova O.O., Hruzd V.V. Experimental study of the dynamics of morphological changes in the rat testis under chronic influence of cadmium chloride. *Morphologia*. 2023;17(4):34-40. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.34-40>
  - Нефьодова О.О., Грузд В.В. Зміни мікроелементного складу статевих залоз самців шурів під впливом кадмієвої інтоксикації та коректорів за даними поліелементного аналізу. - Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). - 2023. - 15(33). - С. 1192-1204.
  - Грузд В.В., Нефьодова О.О. Морфогенетичні зміни яєчка щура при хронічному введенні полотанта. Abstracts of XVI international Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. pp. 168-171.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії з клінічною анатомією та оперативною хірургією Полтавського державного медичного університету.
5. **Термін впровадження:** грудень 2023 року – січень 2024 року.
6. **Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри анатомії з клінічною анатомією та оперативною хірургією, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.
7. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелах інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання здобувачів щодо детального вивчення морфологічних особливостей яєчок при хронічному впливі кадмію хлориду та за умов корекції.
8. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.
9. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри, протокол № 2 від «25» 01 2024 року.

**Відповідальний за впровадження:**  
завідувач кафедри анатомії з  
клінічною анатомією та оперативною хірургією  
Полтавського державного  
медичного університету  
Бойко І.В., професор



ПІС ДПИС ЗАСВІДЧУЮ  
Головний начальник відділу кадрів  
Бойко

Сергій БІЛАШ

## ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор закладу вищої освіти з науково-педагогічної та лікувальної роботи  
Вінницького національного медичного університету  
ім. М.І. Пирогова, д.мед.н., професор

Василь ПОГОРІЛИЙ

« 11 лютого » 2024 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Назва пропозиції:** динаміка морфологічних змін яєчок шурів при хронічному впливі кадмію хлориду та за умов корекції (анатомо-експериментальне дослідження).

**2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044); аспірант кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Грузд Владислава Володимирівна.

**3. Джерело інформації:**

1. Nefodova O.O., Hruzd V.V. [Experimental study of the dynamics of morphological changes in the rat testum under chronic influence of cadmium chloride]. Morphologia. 2023;17(4):34-40. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.34-40>

2. Нефьодова О.О., Грузд В.В. Зміни мікроелементного складу статевих залоз самців шурів під впливом кадмієвої інтоксикації та коректорів за даними поліелементного аналізу. - Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). - 2023. - 15(33). - С. 1192-1204.

3. Грузд В.В., Нефьодова О.О. Морфогенетичні зміни яєчка щура при хронічному введенні полютанта. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. Pp. 168-171.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини ВНМУ ім. М.І. Пирогова.

**5. Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри анатомії людини, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.

**6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань особливостей будови статевого апарату шурів та його реакції на вплив факторів інтоксикації.

**7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри анатомії людини, протокол № 2 від 26 січня 2024 р.

**Відповідальний за впровадження:**

завідувач кафедри анатомії людини  
ВНМУ ім. М.І. Пирогова,  
д.мед.н., професор

Віталій ТИХОЛАЗ

## Додаток Б

### Список публікацій за темою дисертації

1. Нефьодова ОО, Грузд ВВ, Гальперин ОІ, Бойко ОВ. Кадмій-індуковані зміни яєчок: актуальний погляд на сучасний стан проблеми. Вісник проблем біології та медицини. 2021;1 (159): 297-301. *(Особистий внесок – аналіз наукової літератури, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті).*
2. Vlada Gruzd, Hanna Frolova, Zoya Alekseyenko Testicular changes under the influence of cadmium in combination with metal succinates: modern view of the problem (literature review). Modern Science - Moderni veda. 2021; 3:108-115. *(Особистий внесок –аналіз даних експериментальних робіт у науковій літературі, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті).*
3. Нефьодова ОО, Грузд ВВ. Зміни мікроелементного складу статевих залоз самців щурів під впливом кадмієвої інтоксикації та коректорів за даними поліелементного аналізу // Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2023; 15(33): 1192-1204. *(Особистий внесок –аналіз отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті).*
4. Nefodova ОО, Hruzd VV. [Experimental study of the dynamics of morphological changes in the rat testum under chronic influence of cadmium chloride]. Morphologia. 2023;17(4):34-40. Ukrainian. *(Особистий внесок – організація та проведення експериментальної частини, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)*
5. Нефьодова ОО, Грузд ВВ. Експериментальний аналіз комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатами цинку та заліза на морфогенез яєчка щура // Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2024; 4(38): 1363-1375 *(Особистий внесок – організація та проведення гістологічного дослідження, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)*



6. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Вивчення кадмієвої інтоксикації статевих залоз самців щурів під впливом коректорів за даними поліелементного аналізу. Abstracts of XIII International Scientific and Practical Conference. Madrid, Spain. Pp. 209-210. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/modern-ways-of-development-of-science-and-the-latest-theories/> (*Особистий внесок – проведення гістологічного дослідження, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті*)
7. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Експериментальний аналіз змін мікроелементного складу статевих залоз самців щурів під впливом інтоксикації кадмієм та його коректорів. Abstracts of XIV International Scientific and Practical Conference. Prague, Czech Republic. Pp. 146-150. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/people-and-the-world-global-problems-of-human-development/> (*Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез*)
8. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Морфогенетичні зміни яєчка щура при хронічному введенні полютанта. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. Pp. 168-171. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/distance-learning-problems-ways-of-development-and-the-latest-technologies/> (*Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез*)
9. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Особливості корекції сукцинатом заліза інтоксикаційного впливу солей кадмію на статеву систему щура // Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції "Наука, освіта, технології та суспільство в XXI столітті: наукові ідеї та механізми реалізації", 30 січня 2024 року, Полтава – С.18-20.  
(*Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез*)

## Додаток В

### Відомості про апробацію результатів дисертації

1. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Вивчення кадмієвої інтоксикації статевих залоз самців щурів під впливом коректорів за даними поліелементного аналізу. Abstracts of XIII International Scientific and Practical Conference. Madrid, Spain. Pp. 209-210. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/modern-ways-of-development-of-science-and-the-latest-theories/> (*Особистий внесок – проведення гістологічного дослідження, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті*)
2. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Експериментальний аналіз змін мікроелементного складу статевих залоз самців щурів під впливом інтоксикації кадмієм та його коректорів. Abstracts of XIV International Scientific and Practical Conference. Prague, Czech Republic. Pp. 146-150. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/people-and-the-world-global-problems-of-human-development/> (*Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез*)
3. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Морфогенетичні зміни яєчка щура при хронічному введенні полютанта. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. Pp. 168-171. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/distance-learning-problems-ways-of-development-and-the-latest-technologies/> (*Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез*)
4. Грузд ВВ, Нефьодова ОО. Особливості корекції сукцинатом заліза інтоксикаційного впливу солей кадмію на статеву систему щура // Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції "Наука, освіта, технології та суспільство в XXI столітті: наукові ідеї та механізми реалізації", 30 січня 2024 року, Полтава – С.18-20.