

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця

на правах рукопису

КРАСНОВ ОЛЕКСАНДР ОЛЕКСАНДРОВИЧ

УДК 616.61:591.3:546.48:612.6

ДИСЕРТАЦІЯ

**«МОРФОГЕНЕЗ ЕФЕКТІВ ІЗОЛЬОВАНОГО ВПЛИВУ ХЛОРИДУ КАДМІЮ
ТА ЙОГО КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ З СУКЦИНАТАМИ МЕТАЛІВ НА
ЕМБРІОГЕНЕЗ ТА МОРФОГЕНЕЗ НИРОК ЩУРІВ (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
_____ Олександр КРАСНОВ

Науковий керівник - д.біол.н., професор Шаторна Віра Федорівна

Дніпро – 2025

АНОТАЦІЯ

Краснов О.О. Морфогенез ефектів ізольованого впливу хлориду кадмію та його комбінованої дії з сукцинатами металів на ембріогенез та морфогенез нирок щурів (анатомо-експериментальне дослідження) – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з медицини ДДМУ, м. Дніпро, 2025.

Дисертація є завершеною кваліфікаційною науковою роботою, виконаною на сучасному методичному рівні, в якій вирішено актуальне наукове завдання - визначення морфологічних змін нирок щурів в експерименті під впливом кадмію хлориду і за умов корекції сукцинатами цинку/міді та визначення рівня накопичення кадмію нирками при хронічному ізольованому впливі досліджуваних речовин. В роботі простежувались морфогенетичні закономірності формування ефектів ізольованого впливу кадмію та комбінованої дії кадмію з сукцинатами біометалів на морфогенез нирок дорослих щурів та на нефрогенез і загальний хід ембріогенезу щурів в експерименті. За результатами поліелементного аналізу порівнювали вміст кадмію, цинку та міді в нирках та визначали взаємозв'язок між рівнем накопичення нирками кадмію, міді та цинку та морфологічними змінами структур паренхіми нирок за умов ізольованого введення хлориду кадмію, та комбінованого впливу кадмію з сукцинатом цинку або міді для виявлення потенційних біоантагоністичних властивостей сукцинатів металів щодо нефротоксичності хлориду кадмію в експерименті.

Експериментальне дослідження проведено на вагітних самицях щурів за умов хронічного щоденного внутрішньошлункового впливу досліджуваних речовин в порівнянні до контролю. Застосування гістологічних, морфометричних та статистичних методів дозволило дослідити зміни морфогенезу нирок щурів після хронічного впливу хлориду кадмію при ізольованому введенні та при комбінованому введенні кадмію з сукцинатом цинку, або сукцинатом міді. Об'єктом дослідження були ембріони та нирки ембріонів на 13-ту і 19-ту добу

гестації та нирки вагітних самиць щурів. Для підтвердження впливу досліджуваних чинників на дослідних тварин проводили визначення рівню накопичення кадмію в нирках дорослих тварин та ембріонів, а також досліджувались морфометричні показники і морфологічні зміни будови нирок. Визначення рівня накопичення кадмію, міді та цинку методом поліелементного аналізу проводилось в нирках і крові самиць та ембріонах щурів згідно договору про наукову співпрацю з НДІ медицини транспорту (м.Одеса). Застосування гістологічних, морфометричних та статистичних методів дозволило дослідити морфологічні зміни нирок щурів після хронічного впливу хлориду кадмію при ізольованому введенні та при комбінованому введенні кадмію з сукцинатом цинку, або сукцинатом міді. Обрахування показників всіх видів ембріональної смертності дало можливість виявити рівень ембріотоксичності хлориду кадмію в зазначеній дозі та провести пошук можливих нових біоантогоністів ембріотоксичності кадмію серед сукцинатів досліджуваних біогенних металів в експерименті на щурах.

Експериментально доведено, що ізольований вплив хлориду призводив до зниження маси нирок, а на гістологічному рівні провокував розширення та набряк капсули нефронів нирок вагітних самиць щурів та формував вогнища фокально-сегментарного гломерулосклерозу в порівнянні до контролю, що демонструє високий рівень нефротоксичності хлориду кадмію в зазначеній дозі та способі введення. Комбіноване введення кадмію з сукцинатами міді або цинку відновлювало як масометричні показники нирок вагітних самиць, так і показники площі порожнини капсули нефрону у бік до контрольних даних і були достовірно нижчими за групу ізольованого впливу хлоридом кадмію. Отримані дані дозволяють розглядати сукцинат цинку та сукцинат міді як потенційні біоантагоністи нефротоксичності хлориду кадмію при комбінованому надходженні в організм в експерименті на щурах.

Аналіз показників ембріотоксичності в групах ізольованого введення хлориду кадмію продемонстрував виражений ембріотоксичний вплив на критерії ембріонального розвитку: зниження середньої кількості ембріонів, достовірне

підвищення всіх видів ембріональної смертності на тлі збільшення кількості резорбцій та зниження вагових показників ембріонів на обох термінах дослідження. Комбіноване введення кадмію з сукцинатами біогенних металів призводить до підвищення середнього показника кількості ембріонів у посліді за рахунок зниження показників ембріональної смертності та кількості резорбцій.

Негативний вплив хлориду кадмію на розвиток нирок ембріонів при ізольованому введенні проявлявся у потовщенні мезонефральної протоки та зменшенні кількості метанефридій на 13-тій добі ембріогенезу і у достовірному розширенні капсули нефронів у ембріонів 19-тої доби. При комбінованому введенні визначалось відновлення досліджуваних параметрів у бік до контрольних, що свідчить про компенсаторний вплив сукцинатів на нефротоксичність кадмію при їх одночасному надходженні.

Ізольоване введення хлориду кадмію вагітним самицям достовірно збільшувало рівень кадмію в нирках та крові вагітних самиць щурів і в ембріонах в межах досліджуваних термінів та викликало зниження рівню мікроелементу цинку в тканинах нирок. Комбіноване введення сукцинатів цинку або міді на тлі кадмієвої інтоксикації достовірно знижує рівень накопичення кадмію в нирках, крові та в ембріонах, що дозволяє розглядати сукцинати цинку та міді як можливі потенційні біоантагоністи хлориду кадмію, які сприяють виведенню цього мікроелемента з організму.

Таким чином, співставлення отриманих даних довело, що одночасне надходження хлориду кадмію з сукцинатами міді або цинку достовірно знижувало рівень накопичення кадмію органами самиць та ембріонами, що знижувало показники ембріотоксичності та нефротоксичності кадмію в зазначених дозах та способі введення. Аналіз та порівняння отриманих результатів демонструє біоантагоністичні властивості сукцинатів міді та цинку щодо ембріотоксичності та нефротоксичності хлориду кадмію в експерименті.

Ключові слова: щури, експеримент, сечостатева система, нирки, кадмій, мідь, цинк, нефрон, ембріони, ембріотоксичність, мікроелементний баланс.

ANNOTATION

Krasnov O.O. Morphogenesis of the effects of isolated of influence to cadmium chloride and its combined action with metal succinates on embryogenesis and morphogenesis of rat kidneys (anatomical and experimental study) – Qualification scientific work in the form of a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in Medicine, Dnipro State Medical University, 2025.

The dissertation is a completed qualification scientific work, performed at a modern methodological level, in which a relevant scientific task is solved - determination of morphological changes in rat kidneys in an experiment under the influence of cadmium chloride and under conditions of correction with zinc/copper succinates and determination of the level of cadmium accumulation in the kidneys during chronic exposure to the studied substances. The work traced the morphogenetic patterns of the formation effects isolated effect of cadmium and the combined effect of cadmium with succinates biometals on the morphogenesis of the kidneys of adult rats and on nephrogenesis and the general course of embryogenesis of rats in the experiment. According to the results of multielement analysis, the content of cadmium, zinc and copper in the kidneys was compared and the relationship between the level of accumulation of cadmium, copper and zinc by the kidneys and morphological changes in the structures of the kidney parenchyma was determined under the conditions of isolated administration of cadmium chloride and the combined effect of cadmium with succinate of zinc or copper to identify potential bioantagonistic properties of metal succinates in relation to the nephrotoxicity of cadmium chloride in the experiment.

The experimental study was conducted on pregnant female rats under the conditions of chronic daily intragastric exposure to the studied substances in comparison with the control. The use of histological, morphometric and statistical methods allowed us to study changes in the morphogenesis of rat kidneys after chronic exposure to cadmium chloride with isolated administration and with combined of

cadmium with zinc succinate or copper succinate. The object of the study was embryos and kidneys of embryos on the 13th and 19th days of gestation and kidneys of pregnant female rats. To confirm the influence of the studied factors on experimental animals, the level of cadmium accumulation in the kidneys of adult animals and embryos was determined, and morphometric indicators and morphological changes in the structure of the kidneys were also studied. The level of cadmium, copper and zinc accumulation was determined by polyelement analysis in the kidneys and blood of female rats and embryos according to the agreement on scientific cooperation with the Research Institute of Transport Medicine (Odessa). The use of histological, morphometric and statistical methods allowed us to study the morphological changes in the kidneys of rats after chronic exposure to cadmium chloride with isolated administration and with combined administration of cadmium with zinc succinate or copper succinate. Calculation of indicators of all types of embryonic mortality made it possible to identify the level of embryotoxicity of cadmium chloride in the specified dose and to search for possible new bioantagonists of embryotoxicity of cadmium among succinates of the studied biogenic metals in the experiment on rats.

It was experimentally proven that isolated exposure to chloride led to a decrease in kidney weight, and at the histological level provoked expansion and edema of the nephron capsule of the kidneys of pregnant female rats and formed foci of focal-segmental glomerulosclerosis compared to the control, which demonstrates a high level of nephrotoxicity of cadmium chloride in the specified dose and method of administration. Combined administration of cadmium with copper or zinc succinates restored both the massometric indicators of the kidneys of pregnant females and the indicators of the area of the nephron capsule cavity towards the control data and were significantly lower than in the group of isolated exposure to cadmium chloride. The obtained data allow us to consider zinc succinate and copper succinate as potential bioantagonists of cadmium chloride nephrotoxicity when combined into the body in an experiment on rats.

Analysis of embryotoxicity indicators in the groups of isolated administration of cadmium chloride demonstrated a pronounced embryotoxic effect on the criteria of

embryonic development: a decrease in the average number of embryos, a significant increase in all types of embryonic mortality against the background of an increase in the number of resorptions and a decrease in the weight of embryos at both terms of the study. Combined administration of cadmium with succinates of biogenic metals leads to an increase in the average number of embryos in the litter due to a decrease in embryonic mortality and the number of resorptions.

The negative effect of cadmium chloride on the development of the kidneys of embryos with isolated administration was manifested in thickening of the mesonephric duct and a decrease in the number of metanephridia on the 13th day of embryogenesis and in a significant expansion of the nephron capsule in embryos on the 19th day. With combined administration, the restoration of the studied parameters towards the control ones was determined, which indicates a compensatory effect of succinates on cadmium nephrotoxicity with their simultaneous administration.

Isolated administration of cadmium chloride to pregnant females significantly increased the level of cadmium in the kidneys and blood of pregnant female rats and in embryos within the studied terms and caused a decrease in the level of the trace element zinc in the kidney tissues. The combined administration of zinc or copper succinates against the background of cadmium intoxication significantly reduces the level of cadmium accumulation in the kidneys, blood and embryos, which allows us to consider zinc and copper succinates as possible potential bioantagonists of cadmium chloride, which contribute to the excretion of this trace element from the body.

Thus, a comparison of the obtained data proved that the simultaneous intake of cadmium chloride with copper or zinc succinates significantly reduced the level of cadmium accumulation in the organs of females and embryos, which reduced the indicators of embryotoxicity and nephrotoxicity of cadmium in the indicated doses and method of administration. Analysis and comparison of the obtained results demonstrates the bioantagonistic properties of copper and zinc succinates with respect to embryotoxicity and nephrotoxicity of cadmium chloride in the experiment.

Key words: rats, experiment, genitourinary system, kidneys, cadmium, copper, zinc, nephron, embryos, embryotoxicity, microelement balance.

Список публікацій здобувача за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Shatorna V. F., Krasnov O. O. Effect of cadmium chloride on kidney morphology in rats in isolated introduction and in combination with copper and zinc succinates. Вісник проблем біології і медицини. 2022; 1 (163): 97-102. DOI [10.29254/2077-4214-2022-1-163-97-102](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-1-163-97-102) 297-301. (Особистий внесок –аналіз наукової літератури, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті).

2. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Хронічний вплив хлориду кадмію на ембріогенез щурів при ізольованому та комбінованому з сукцинатами цинку та міді внутрішньошлунковому введенні в експерименті. Український журнал медицини, біології та спорту. 2022; 7, № 2 (36): 254-260. DOI: [10.26693/jmbs07.02.254](https://doi.org/10.26693/jmbs07.02.254) (Особистий внесок –аналіз та обрахування отриманих результатів, написання статті).

3. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Динаміка накопичення кадмію, цинку та міді в нирках та крові щурів при ізольованому та комбінованому з сукцинатами цинку та міді внутрішньошлунковому введенні кадмію. Вісник проблем біології і медицини. 2022;4 (167), 242-250. (Особистий внесок: підготовка зразків для дослідження, аналіз та обрахування отриманих результатів, написання статті).

4. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Аналіз хронічного впливу хлоридом кадмію на нефрогенез щура. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2024; 24, 1 (85): 154-158. DOI [10.29254/2077-4214-2022-4-167-242-250](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-4-167-242-250) (Особистий внесок – аналіз та обрахування отриманих результатів, написання статті).

5. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Морфологічні зміни паренхіми нирок щурів при хронічному впливі хлоридом кадмію в експерименті. Журнал «Перспективи та інновації науки» (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина») 2024; № 6(40):1355-1366. DOI [10.52058/2786-4952-2023-16\(34\)-1356-1366](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16(34)-1356-1366).

(Особистий внесок –аналіз літературних наукових даних та обрахування отриманих результатів, їх порівняння і написання статті).

6. Shatorna V.F., Krasnov O.O. Effect of cadmium chloride on morphogenesis of kidneys of rat embryos when isolated and its combined effect with metal succinate. Bulletin of problems in biology and medicine. 2024; 4, 175: 208-217. DOI 10.29254/2077-4214-2024-4-175-208-217 (Особистий внесок –аналіз та обрахування отриманих результатів, порівняння літературних наукових даних з отриманими і написання статті).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Накопичення кадмію в нирках вагітних самиць щурів та в ембріонах при ізольованому введенні хлориду кадмію та при комбінації з сукцинатами міді та цинку. XI Міжнародна науково-практична конференція «SCIENCE, INNOVATIONS AND EDUCATION: PROBLEMS AND PROSPECTS» 1-3 червня 2022 року. Токіо, Японія:196-201.

8. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Експериментальний вплив хлориду кадмію та сукцинатів міді і цинку на морфологію нирок щурів. Міжнародна науково-практична конференція «Наука, освіта, технології та суспільство: нові дослідження і перспективи». 22 липня 2022 року. Полтава: 54-55.

9. Шаторна В.Ф., Руденко К.М., Краснов О.О. Експериментальне визначення ступеню ембріотоксичності хлориду кадмію при хронічному ентеральному введенні вагітним самицям щурів. II регіональна студентська науково-практична конференція «Екобезпека людини в умовах глобальної екологічної кризи» 27 жовтня 2022р. Черкаси: 49-51.

10. Шаторна В.Ф., Краснов. Морфологічні зміни нефрогенезу щура за умов хронічного впливу хлоридом кадмію. Internacional Science Conference «Current methods of improving outdated technologies and methods» January 8-10, 2024. Bilbao, Spain:229-231.

11. Шаторна В. Ф., Краснов О. О., Стрижак О. В. Хронічний вплив хлориду кадмію на гістологічні показники нирок щура. The 1st International scientific and practical conference “Science in the modern world: innovations and

challenges” (September 27-29, 2024) Perfect Publishing, Toronto, Canada. 2024: 37-44.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	12
ВСТУП	13
 РОЗДІЛ 1. Огляд літературних даних щодо впливу солей кадмію та мікроелементів на морфофункціональний стан організму	21
1.1. Екзогенна поширеність сполук важких металів: сучасний стан проблеми та загальні принципи їх токсичного впливу на організм.. .	26
1.2 Токсикологічні та нефротоксичні властивості кадмію.. . . .	29
1.2. Вплив на морфофункціональний статус організму цинку та міді, взаємодія мікроелементів та пошук біоантагоністів кадмію	35
 РОЗДІЛ 2. Матеріали та методи дослідження.	46
2.1. Загальна характеристика матеріалу дослідження.	46
2.2. Методи дослідження.	47
 РОЗДІЛ 3. Аналіз результатів ізольованого хронічного впливу хлоридом кадмію на ембріогенез та нефрогенез щура.	61
3.1. Аналіз динаміки накопичення кадмію, цинку та міді нирками самиць щурів та ембріонів.	61
3.2. Аналіз динаміки змін показників ембріонального розвитку при ізольованому хронічному впливі хлоридом кадмію на вагітних самиць. .	69
3.3. Аналіз впливу хлориду кадмію на морфогенез нирок вагітних самиць щура.	77
3.4. Аналіз впливу хлориду кадмію на морфогенез нирок ембріонів щура	90
 РОЗДІЛ 4. Вплив сукцинатів міді та цинку на хід ембріогенезу та розвиток нирок щура на тлі хронічного впливу хлориду кадмію.	101
4.1. Аналіз динаміки накопичення кадмію, цинку та міді в нирках самиць та ембріонах щурів груп комбінованого введення кадмію з сукцинатами міді та цинку..	102
4.2. Результати впливу на хід ембріогенезу сукцинату цинку та міді при комбінованому введенні з хлоридом кадмію	113
4.3. Аналіз динаміки змін показників нефрогенезу при комбінованому впливі хлоридом кадмію з сукцинатами міді або цинку..	120
4.4. Аналіз комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатами металів на морфогенез нирок вагітних самиць щура..	123
 РОЗДІЛ 5. Аналіз та узагальнення отриманих результатів	130

ВИСНОВКИ	142
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	144
ДОДАТКИ	162

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ДІС – доімплантаційна ембріональна смертність

ЗЕС – загальна ембріональна смертність

ІПН – індекс площі нефрону

МЕ - мікроелементи

НН (Hamburger and Hamilton) - відповідність ембріонів стадії розвитку за міжнародною таблицею розвитку за Гамбургером та Гамільтоном

НФІ – нефрофетальний індекс

ПІС – післяімплантаційна ембріональна смертність

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми. Численні промислові, побутові, сільськогосподарські, медичні та технологічні проекти призводять до поширення у навколишньому середовищі сполук важких металів, що викликає у медиків занепокоєння з приводу їхнього потенційного впливу на здоров'я людини та навколишнє середовище [1, 2, 3]. Їх токсичність залежить від кількох факторів, включаючи дозу, шлях впливу та види хімічних речовин, а також вік, стать, генетику та стан харчування людей, що зазнали впливу [4, 5, 6]. Більшість важких металів докільля вважаються системними токсикантами, які здатні викликати множинне ураження органів навіть за найнижчих рівнів впливу. Такі патологічні стани організму в сучасній медицині відносять до неінфекційних хвороб. Особливістю шкідливої дії кадмію є швидке його засвоєння організмом і повільне виведення, що призводить до кумуляції цього металу в тканинах.

Нирки є основним органом, що екскретує токсини, які надійшли в організм. Велика кількість нефронів забезпечує велику поверхню ендотеліальних клітин клубочків та епітелію ниркових каналців для контактів з ними. Фізіологічна роль нирок визначає їх здатність підтримувати гомеостаз організму, у тому числі за рахунок виведення токсичних речовин з організму. Поверхня капілярного ендотелію піддається прямій дії токсинів у процесі ультрафільтрації. Токсини, що циркулюють у крові, викликають порушення обміну речовин в нирках, розвивається токсична нефропатія. При довготривалих впливах солями важких металів формуються хронічні хвороби нирок, які мають досить високий відсоток смертності в популяції. [7, 8, 9]. Ще у 2020 році Всесвітня організація охорони здоров'я ([ВООЗ](#)) визначила, що хвороби нирок входять до 10 головних причин смерті в світі, а голова ВООЗ Тедрос Гебрейесус зазначив, що нові дані - ще одне нагадування про те, що "ми повинні зосередитися на запобіганні, діагностиці та лікуванні неінфекційних захворювань".

Серед розроблюваних в сучасній морфології проблем фундаментального і прикладного характеру увагу дослідників привертає вивчення закономірностей

протікання базисних процесів морфогенезу під впливом несприятливих факторів зовнішнього середовища, серед яких найбільш шкідливими є сполуки важких металів. Малодослідженими є аспекти хронічного впливу на хід ембріогенезу солей кадмію в комбінації з мікроелементами, які мають біоантагоністичні властивості відносно токсичності важких металів [10, 11, 12]. Перспективними мало досліджуваними антагоністами негативного впливу солей важких металів на організм є солі бурштинової кислоти які є універсальними клітинними метаболітами. Сама бурштинова кислота є проміжним метаболітом, продуктом п'ятої реакції циклу Кребса, та стає субстратом для шостої реакції циклу Кребса. Доведено, що аніони бурштинової кислоти виявляються у всіх клітинах, які здатні до аеробного дихання, а сукцинат є потужним донором електронів та підвищує енергетику клітин і тканин [13, 14, 15]. Фактично бурштинова кислота виконує каталітичну функцію в циклі Кребса та регулює концентрацію інтермедіаторів цього циклу, здатна виправляти мітохондріальні дисфункції [16,17].

Таким чином, з'ясування впливу на морфогенез нирок ізольованого введення солей кадмію та комбінованого введення кадмію з сукцинатами мікроелементів з метою визначення можливого біоантогонізму є нагальним та актуальним.

Мета дослідження: визначити спектр морфологічних змін нирок і показників ембріонального розвитку щурів за умов ізольованого впливу хлориду кадмію та корекції сукцинатами цинку і міді, а також встановити зв'язок між рівнем накопичення кадмію та розвитком нирок щурів в умовах хронічного експерименту з метою пошуку нових можливих біоантагоністичних властивостей сукцинатів біогенних металів.

Завдання дослідження:

1. Дослідити морфометричні та морфологічні зміни, що відбуваються в нирках вагітних самиць щурів після хронічного ізольованого впливу кадмію хлориду.

2. Встановити спектр морфометричних та морфологічних змін в нирках щурів після комбінованого впливу кадмію хлориду з сукцинатом міді або сукцинатом цинку.
3. Визначити ступінь ембріотоксичності хлориду кадмію при ізольованому введенні та в комбінації з сукцинатами цинку і міді експериментальних тварин всіх груп.
4. Встановити вплив хлориду кадмію на розвиток нирок ембріонів щурів при ізольованому введенні та в комбінації з сукцинатами металів.
5. Визначити динаміку змін накопичення кадмію в нирках дослідних тварин при ізольованому та комбінованому з сукцинатами металів введенні.
6. Співставити отримані дані для визначення можливих нових біоантагоністів ембріотоксичності та нефротоксичності хлориду кадмію в експерименті.

Об'єкт дослідження: ембріони та дорослі щури при ізольованому введенні хлориду кадмію та в поєднанні з сукцинатами міді та цинку.

Предмет дослідження: вплив хлориду кадмію на морфологічні зміни нирок дорослих самиць щурів і ембріонів при ізольованому введенні та в поєднанні з сукцинатами міді та цинку.

Методи дослідження:

1. Експериментальні. Моделювання хронічного впливу на ембріони та дорослих щурів хлориду кадмію ізольовано та в комбінації з сукцинатами цинку або міді.
2. Гістологічні – виготовлення серійних гістологічних зрізів цілих ембріонів та нирок дорослих щурів з використанням світлової мікроскопії для просторового аналізу та гістометрії.
3. Ембріологічні. Отримання самиць з датованим терміном вагітності шляхом визначення естрального циклу та аналізу вагінальних мазків. На ранніх етапах ембріогенезу дослідження ембріона в цілому з використанням

гістотопографічних зрізів. Даний метод дозволяє порівнювати відхилення в топографії структур органів, крупних судин та ін.

4. Поліелементний метод з дуговою атомізацією для визначення мікроелементного статусу ембріонів та нирок дорослих щурів після впливу хлориду кадмію ізолювано та в комбінації з сукцинатами міді та цинку.

7. Морфометричні – для кількісної оцінки окремих структур; статистичні – для аналізу кількісних даних і оцінки отриманих результатів.

Новизна дослідження та одержаних результатів. Отримано нові анатомо-експериментальні дані про хронічний вплив ізолюваного хлориду кадмію в досліджуваній дозі на вагові показники та гістологічну структуру нирок самиць щурів, на загальний хід ембріонального розвитку, визначено ступінь ембріотоксичності хлориду кадмію та динаміка змін накопичення кадмію, міді та цинку в організмі ембріонів, нирках і крові дорослих самиць за умов впливу впродовж всього періоду вагітності. Вперше показано, що хлорид кадмію у дозі 2,0 мг/кг при ентеральному хронічному введенні виявляє високий рівень ембріотоксичності, який проявляється в достовірному зменшенні середніх показників чисельності ембріонів у посліді, зростанні загальної ембріональної смертності як на 13-ту так і на 19-ту добу ембріонального розвитку щура в експерименті.

Вперше проведено паралелі між морфологічними змінами, які виникають в структурі нирок самиць щурів за умов впливу кадмію та нирок ембріонів щура, які опосередковано отримували кадмій через материнську інтоксикацію. Вперше розглянуті сукцинат цинку та сукцинат міді як потенційні біоантагоністи нефротоксичності хлориду кадмію при комбінованому надходженні в організм в експерименті на щурах. Доведено, що комбіноване введення кадмію з сукцинатами міді або цинку відновлювало як масометричні показники нирок вагітних самиць, так і структури нефрону у бік до контрольних даних як у самиць, так і у ембріонів.

Вперше проведено аналіз та порівняння накопичення кадмію, міді та цинку в нирках і крові самиць та плодів щура 19-ї доби розвитку з використанням

поліелементного методу. Визначено, що при опосередкованому через материнський організм впливі на ембріонів щура найвищий рівень накопичення кадмію визначався при ізольованому впливі хлоридом кадмію а в групах комбінованого введення рівень накопичення кадмію був достовірно нижчий, що свідчить про біоантогоністичні властивості сукцинатів міді та цинку стосовно кумуляції кадмію в хронічному експерименті на щурах.

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів.

Отримані експериментальні дані є підґрунтям для подальшого вивчення впливу сукцинатів мікроелементів (цинк, мідь) як речовин з біоантагоністичними властивостями по відношенню до нефротоксичного та ембріотоксичного впливу хлориду кадмію та можливою в подальшому розробкою профілактичних, лікувальних та фармакологічних засобів, які здатні зменшувати негативний вплив хлориду кадмію на хід ембріогенезу та морфогенез нирок людей, які мешкають або працюють у техногенно-забруднених регіонах. Результати впливу хлориду кадмію на ембріональний розвиток нирки дозволяють пояснювати або прогнозувати виникнення спектру порушень нефрогенезу плоду при проживанні вагітної жінки в зоні кадмієвої інтоксикації, якими є розвинені промислові регіони.

Результати наукової роботи впроваджені в навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини Запорізького національного університету, кафедри медичної біології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, та кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Основні наукові положення дисертації ґрунтуються на результатах комплексного морфологічного експериментального дослідження, що полягали у розрахунках змін стандартних

критеріїв ембріотоксичності та рівня накопичення кадмію, міді і цинку в нирках, крові самиць щурів та в ембріонах. Дисертаційна робота включає як класичні морфологічні методи (ембріологічний, макро- і мікроскопічний, анатомічне препарування), так і сучасні морфометричні (сплайновий контур з використанням сучасних сертифікованої програми ZEN 2.0), поліелементний аналіз та статистичні методи. В роботі представлені результати впливу досліджуваних речовин на показники загального ходу ембріогенезу щура для визначення ступеню ембріотоксичності хлориду кадмію в групах та проведено макро- і мікроскопічний аналіз структурних компонентів нирок дорослих самиць і ембріональної нирки, проаналізовано рівень акумуляції кадмію, міді та цинку при хронічному впливі хлоридом кадмію та за умов корекції сукцинатами мікроелементів. Дисертант здійснював статистичну обробку отриманих результатів, визначав масу і морфометричні параметри нефронів нирок (сплайновий контур капсули нефрона, діаметр клубочку, товщину мезонефросу) в експериментальних групах на 13-й та 19-й добі пренатального онтогенезу та у дорослих самиць щура.

Основні положення дисертації, її висновки та рекомендації є обґрунтованими та достовірними, базуються на достатньому за обсягом морфологічному матеріалі. Всі дослідження узгоджені Комісією з питань біоетики ДДМУ (протокол засідання №24 від 15.01.2025р.), не містять даних, які суперечать сучасним вимогам біоетики та морально-етичних норм

Всі документи оформлені відповідно до існуючих вимог, результати досліджень оброблені сучасними статистичними методами аналізу на персональному комп'ютері. Первинна документація за обсягом та характером досліджень повністю відповідає даним, наведеним у дисертаційній роботі. Робота виконана на метрологічно повіреній дослідницькій апаратурі.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях. Краснов О.О. за результатами дисертації опублікував 11 наукових праць, серед яких 6 статей у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 5 тез доповідей у матеріалах конгресів та науково-практичних конференцій.

Конкретний особистий внесок дисертанта в одержання наукових результатів, що виносяться на захист. Дисертація є самостійно виконаним дослідженням автора, науковим керівником визначені тема і завдання та складено дизайн дисертаційного дослідження. Автором особисто проведено інформативно-патентний пошук, аналіз наукової літератури за темою дисертаційної роботи, спільно з науковим керівником розроблені мета та завдання дослідження. Дисертантом самостійно проведено експеримент, забір матеріалу (ембріони щура 13-ї та 19-ї доби пренатального розвитку та нирки дорослих самиць щура), підготовку мікропрепаратів, отримання та аналіз вагових показників, морфометричні дослідження.

Дисертантом самостійно створена база морфометричних даних, проведена математична обробка та статистичний аналіз результатів дослідження, сформульовані висновки, підготовлені до друку наукові праці, написані всі розділи дисертації. Матеріали та ідеї співавторів не використовувались.

Апробація результатів дисертації.

Результати дослідження доповідались на: XI Міжнародній науково-практичній конференції «SCIENCE, INNOVATIONS AND EDUCATION: PROBLEMS AND PROSPECTS» 1-3 червня 2022 року. Токіо, Японія; Міжнародній науково-практичній конференції «Наука, освіта, технології та суспільство: нові дослідження і перспективи». 22 липня 2022 року. Полтава; II регіональній студентській науково-практичній конференції «Екобезпека людини в умовах глобальної екологічної кризи» 27 жовтня 2022р. Черкаси; Internacional Science Conference «Current methods of improving outdated technologies and methods» January 8-10, 2024. Bilbao, Spain, The 1st International scientific and practical conference “Science in the modern world: innovations and challenges” (September 27-29, 2024) Perfect Publishing, Toronto, Canada.

Структура і обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 169 сторінках друкованого тексту (163 сторінок основного тексту), складається із анотації, переліку публікацій, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 2 розділів власних досліджень, узагальнення та аналізу

одержаних результатів, висновків, практичних рекомендацій. Містить 2 таблиці і 52 рисунків. Список використаної літератури складається з 155 джерел (113 кирилицею, 42 латиною).

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ПОШИРЕНІСТЬ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ТА ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ КАДМІЮ НА ОРГАНІЗМ І ПЕРСПЕКТИВИ ПОШУКУ ЙОГО БІОЛОГІЧНИХ АНТАГОНІСТІВ

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДАНИХ

За даними сучасних досліджень, Україна – це одна з країн з високим рівнем екологічних негативних наслідків розвитку промисловості [18, 19, 20]. Проблема якості довкілля на теперішній час перетворилася на життєво важливу проблему, тому що в промислових регіонах антропогенне навантаження наближається або досягло критичного рівня. На шляху впровадження Програми комплексної хімічної безпеки та захисту (ICSSP) з 2016 року в Україні важливим кроком став Український форум Ukraine Chemical Security Forum (UCSF), що відбувся в рамках Міжнародного саміту Global Chemical Safety and Security Summit (CHEMSS), який сприяв обміну кращим практичним досвідом спеціалістів, що мають справу з питаннями обігу токсичних хімічних речовин [21, 22, 23]. Однією з найбільш актуальних і злободенних задач форуму було формування комплексного підходу в питаннях досягнення раціонального управління хімічними речовинами впродовж 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 [24].

Водночас зростає насиченість навколишнього середовища сполуками важких металів, що, в свою чергу, призводить до накопичення цих сполук в біологічних системах та в організмах людей, які проживають на забруднених територіях, починаючи вже з дитячого віку. До важких металів належать більше

ніж 40 елементів з атомною масою понад 50 атомних одиниць. Відповідно до класифікації М. Реймерса, важкими металами слід називати метали з густиною більше ніж 5 г/см³: Cu, Zn, Ni, Pb, Cd, Co, Sb, Sn, Bi, Hg. Деякі з них належать до мікроелементів, тобто хімічних елементів, які вкрай важливі для зростання та розвитку рослин і тварин (Cu, Zn, Co). Згідно з деякими прогнозами, в майбутньому сполуки важких металів як загроза екологічному станові довкілля можуть вийти на перше місце, випереджаючи в цьому відношенні відходи атомних станцій та органічні антропогенні забруднення [25, 26, 27]. Такі загрозливі перспективи забруднення біосфери важкими металами обумовлені їхньою стійкістю в навколишньому середовищі та включенням у кругообіг речовин, яка складається з розчинення їх в атмосферних опадах, проникненням до ґрунтів, донними відкладеннями, засвоєння рослинами та поступового накопичення в ареалах проживання людини [26, 27]. Найбільше зацікавлення викликають метали, що широко застосовуються у виробничій діяльності людини, такі, як свинець, ртуть, нікель, хром, кадмій, цинк, кобальт, мідь тощо.

Вплив кадмію на організм людини має місце на виробництві, при забрудненні повітря в шахтах, при плавці металів, занятті фотографією, а як побічний продукт одержується при виплавці міді, свинцю або цинку. Кадмій активно використовується як складова при виробництві гальванічних елементів, виготовленні кераміки, як пігмент у виготовленні фарб і пластмас, при виробництві акумуляторів і батарейок, добрива, цигарок, рентгенівських екранів, кінескопів [28]. Кадмій та його сполуки використовують також в автомобільній промисловості та при будівництві літаків, тому що велика частина промислового споживання кадмію припадає на кадмієві захисні покриття, запобіжники корозії. Ці покриття мають значну перевагу перед нікелевими, цинковими або олов'яними, тому що захищають вироби від морської води, від надмірної вологості, мають захисні властивості для електроконтактів. Провід із міді з додаванням лише 1 % кадмію у два рази міцніший, при цьому його електропровідність знижується незначно, а мідно-кадмієвий сплав із добавкою цирконію має ще більшу міцність і використовується для ліній високовольтних

передач. Сплави кадмію сріблясто-білі, пластичні, добре піддаються механічній обробці, з невеликими добавками нікелю, міді і срібла вони використовуються для виготовлення підшипників потужних суднових, авіаційних та автомобільних двигунів. Кадмій у чистому вигляді завдяки високій здатності до захвату теплових нейтронів використовується для виготовлення регулюючих та аварійних стрижнів ядерних реакторів на повільних нейтронах. У ювелірній справі використовують сплави золота з кадмієм, а амальгама кадмію використовується в стоматології для виготовлення пломб [29, 30, 31, 32].

Хімічні елементи різними шляхами і в різних дозах потрапляють в організм людини, приносячи йому і шкоду і користь. Їх міграція в екосистемах відбувається за участю організмів, повітря, води, колоїдних розчинів і внаслідок техногенних процесів. На міграцію мікроелементів в екосистемах впливають внутрішні і зовнішні фактори. До внутрішніх факторів переміщення хімічних елементів належать їх властивість утворювати сполуки різної розчинності, летючості, твердості, а також поглинання людським організмом, відчутно впливає на міграцію форма перебування хімічного елемента. Зовнішніми факторами міграції хімічних елементів є умови, в яких вони мігрують. Залежно від середовища і форм перебігу міграційних процесів виокремлюють біогенну, водну, колоїдну, повітряну, техногенну міграції. Біогенна міграція хімічних елементів полягає у переміщенні їх з допомогою мікроорганізмів, рослин і тварин [32, 33]. Прикладом біогенної міграції є геохімія фотосинтезу. Утворення живої речовини з неорганічних сполук навколишнього середовища відбувається переважно в результаті фотосинтезу зелених рослин. Вихідними речовинами фотосинтезу є вуглекислий газ і вода, які в умовах земної поверхні без залучення організмів є нейтральними. У процесі фотосинтезу виникає сильний окислювач (вільний кисень), а також сильний відновник (органічні сполуки). Атоми вуглецю, водню і кисню заряджаються енергією і стають геохімічними акумуляторами. В утворенні вільного кисню і поглинанні вуглекислого газу полягає киснево-вуглекислотна біогеохімічна функція живої речовини, якщо вона пов'язана з процесами, що відбуваються всередині організмів (наприклад,

розмноження, в результаті якого жива речовина швидко поширюється у просторі). Більшість хімічних елементів мігрують в іонних, молекулярних або колоїдних (утворених з рівномірно розподілених дуже дрібних частин) водних розчинах. Значна кількість розчинених речовин перебуває у формі іонів у водах більшості ландшафтів і водна міграція здійснюється дифузією або фільтрацією. Найважливіші складові ландшафту, що визначають його своєрідність, знаходяться в колоїдному стані, які є менш стійкі, ніж іонні. З них елементи випадають в осаді, утворюючи збагачені водою драглеподібні осаді-гелі. При подальшій трансформації колоїдних розчинів відбуваються сорбційно-адсорбційні процеси. У ландшафтах шляхом дифузії відбувається також міграція газів. Атмосферні опади переносять солі різних хімічних елементів, таким чином, техногенна міграція хімічних елементів є найскладнішим процесом, оскільки він пов'язаний з діяльністю людини, яка постійно ускладнюється й урізноманітнюється з метою якомога глибшого і повнішого оволодіння природними ресурсами і середовищем життя, внаслідок чого змінюється біосферна оболонка планети [33, 34]. Нерідко техногенна міграція пов'язана з руйнівними процесами в екосистемі, тобто, елементи забруднювачі постійно проникають у живі організми, які заселяють нашу планету. У зв'язку з цим, одним з основних завдань екологічної діяльності людини є розроблення заходів, спрямованих на обмеження їх шкідливої дії.

Антропогенні джерела надходження сполук (солей) кадмію в навколишнє середовище умовно можна розділити на дві групи: локальні викиди комплексів, що виробляють чи використовують сполуки кадмію, та дифузного розсіювання по землі джерелами різного ступеню потужності, починаючи від теплових енергетичних установок, моторів, промислових об'єктів і закінчуючи мінеральними добривами та сигаретним димом.

Важливою особливістю важких металів, до яких відноситься і кадмій, є здатність до біоаккумуляції в організмі та здатність призводити до тяжких уражень репродуктивної, серцево-судинної, сечовидільної та дихальної систем [35, 36]. За даними науково-експериментальної літератури досліджено летальні

та терапевтичні дози багатьох сполук, але наразі недостатньо вивчені дози, які чинять дію на ембріони, а також недостатньо вивчені шляхи можливої протидії впливу важких металів [37, 38, 39].

На сьогоднішній день кадмій та його сполуки є одним з найбільш поширених екополютантів, кумуляція яких призводить до екологічної кризи планети. В біологічних системах, особливо в промислово забруднених регіонах, спостерігається міграція важких металів, тому на даний час дослідження здатності акумуляції та впливу цих сполук на біологічні системи та організм актуальна, як ніколи.

Більшість хімічних речовин, які попадають у водойми з промисловими стічними водами, можуть потрапляти в організм людей і стати причиною патології. Деякі важкі метали (Cd, Hg, Pb) не впливають істотно на ріст рослин, оскільки не мають певних фізіологічних функцій у життєвому циклі рослини. Але такі метали, як Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn є життєво важливими елементами для рослин, а надлишок цих елементів може призвести до значного отруєння рослинного організму. Поглинання важких металів рослинами і подальше накопичення вздовж харчового ланцюга є потенційною загрозою для здоров'я людини і тварин. В живих організмах важкі метали відіграють двояку роль: в малих концентраціях вони входять до складу біологічно активних речовин, які регулюють нормальний перебіг процесів життєдіяльності [39, 40, 41, 42]. А зростання концентрації важких металів в результаті техногенного забруднення призводить до негативних і навіть катастрофічних наслідків для живих організмів. Є дані про тератогенну, мутагенну та канцерогенну дію кадмію. Цей метал здатний заміщувати цинк в системах організмів ссавців, необхідних для формування кісткових тканин, що супроводжується важкими захворюваннями, кадмій є антагоністом кобальту та селену, інгібуючи активність ферментів, що містять ці елементи. Відома також здатність кадмію порушувати обмін заліза та кальцію, спричиняючи цілу низку захворювань: гіпертонічну хворобу, анемію, зниження імунітету та ін. Цей мікроелемент, за припущеннями дослідників, спричиняє онкологічні захворювання.

1.1. Екзогенна поширеність сполук важких металів: сучасний стан проблеми та загальні принципи їх токсичного впливу на організм.

Кадмій (Cadmium, Cd) — хімічний елемент II групи періодичної системи елементів Менделєєва, порядковий номер — 48, атомна маса — 112,40. Кадмій — м'який, ковкий метал, температура плавлення — 321 °С, температура кипіння — 767 °С. Кадмію сульфат — безбарвні кристали, окис кадмію — коричневий порошок, свою назву цей небезпечний елемент отримав від грецького слова, що означає цинкову руду. Чистий кадмій являє собою сріблясто-білий м'який метал, що використовується в легкоплавких та інших сплавах, для створення захисних покриттів, в атомній енергетиці, в кадмієвих електродах. Це побічний продукт, що отримують при переробці цинкових руд, а велика кількість кадмію дуже небезпечна для здоров'я [1, 2, 43].

Наразі визначаються наступні найпоширеніші сполуки кадмію: оксид кадмію (CdO); хлорид кадмію — неорганічна сполука, сіль металу кадмію та соляної кислоти з формулою CdCl_2 , добре розчинна у воді; гідроксид кадмію ($\text{Cd}(\text{OH})_2$) у вигляді драглистого білого осаду виділяється з розчинів його солей при дії лугів; сульфід кадмію (CdS) — одна з найважливіших сполук кадмію; галогеніти кадмію; карбонат кадмію (CdCO_3); кадмію каприлат, кадмію стеарат — порошки жовтуватого кольору, використовують як стабілізатори полімерів.

Кадмій вважається одним із найбільш токсичних важких металів, його відносять до другого класу небезпеки — високонебезпечні речовини. Відомо, що кадмій активно взаємодіє з рідкісноземельними та двовалентними металами. Як і багато інших важких металів, кадмій має виражену тенденцію до накопичення в організмі: період його напіввиведення становить 10–35 років. До 50 років його загальна кількість в організмі людини може досягати 30–50 мг [44, 45]. Кадмій в організмі накопичується у нирках (30–60 % від усієї кількості) і печінці (20–25 %). Також кадмій знаходять у підшлунковій залозі, селезінці, трубчастих кістках, інших органах і тканинах [44, 45], а отруєння кадмієм відбувається при потраплянні його в травну систему, або при інгаляції через дихальні шляхи.

Нормальний щоденний рівень надходження кадмію в організм перорально становить 2–200 мкг, з цієї кількості абсорбується лише 5–10 %, хоча, абсорбція може зростати при наявності дефіциту кальцію і заліза. Аналогічно абсорбується близько 5 % інгальованого кадмію залежно від розміру частинок: невеликі, добре розчинні частинки кадмію абсорбуються краще — близько 25–50 % [18, 46, 47].

В науковій літературі є повідомлення і про життєву необхідність кадмію в нетоксичних концентраціях - він регулює рівень цукру в крові, стимулює зростання тварин, дефіцит кадмію в раціоні викликає затримку росту та статевого дозрівання. Токсична доза кадмію для людини коливається від 3 до 330 міліграм, а летальна 1,5-9 г. Цей метал має також онкогенні властивості [48, 49]. При цьому, даний елемент - кадмій присутній в організмі практично будь-якої живої істоти: на 1 кг маси тіла морського мешканця припадає до 3 мг кадмію, у інших тварин і птахів нашої планети цей показник близько 0,5 мг. У тілі здорової дорослої людини міститься від 30 до 50 мг кадмію. Органи основного накопичення металу - нирки та печінка, найбільше речовини міститься у організмі людей похилого віку. У природних умовах кадмій потрапляє в підземні води внаслідок вилуговування руд кольорових металів, а також внаслідок розкладання водних рослин та організмів, здатних його накопичувати [50, 51].

Кадмій присутній у воді у розчиненому вигляді (сульфат, хлорид, нітрат кадмію) та у зв'язаному вигляді у складі орґано-мінеральних комплексів. На вміст кадмію у воді істотно впливає рН середовища (у лужному середовищі кадмій випадає в осад у вигляді гідроксиду), а також сорбційні процеси. Що стосується впливу сполук кадмію, то постає і таке важливе питання як дозозалежність для дорослого та для ембріона. Прийнято було вважати, що кадмій не проходить плацентарний бар'єр, але останнім часом з'явилися публікації з результатами експериментальних досліджень, що спростували дане твердження [51, 52, 53]. Виявити вплив солей кадмію при введенні у різних дозах на морфогенез паренхіматозних органів тварин та на загальний хід ембріогенезу — задача актуальна та малодосліджена.

Кадмій та його сполуки виконують важливі функції ферментації білків. Дослідження довели, що кадмій є інгібітором дії деяких ферментів, зв'язуючи тіольну групу в білках, у ферментах, що містять цинк, кадмій замінює його. Також завдяки своїм фізико-хімічним властивостям може замінити кальцій у кістках [54]. Для людини нормою (добова потреба) є споживання 0,01-0,035 мг на добу. Дефіцит елемента розвивається у тому випадку, коли рівень добового надходження падає нижче 0,005 мг. У тонкому кишечнику засвоюється більше 4% кадмію, що потрапив туди з їжею, проте ступінь засвоювання мікроелементу, впливає вміст в організмі кальцію, міді, цинку [55, 56, 57].

Виводиться метал із організму дуже повільно. Вважається, що звичайна швидкість виведення становить приблизно 0,01% на добу від загальної маси речовини. Жіночий статевий гормон естроген сприяє виведенню завдяки посиленню деяких ендокринних процесів. Існують дослідження, про здатність цинку та міді сприяти виведенню кадмію з організму.

Велике практичне значення в експериментальній морфології має проблема ембріотоксичності та фетотоксичності мікроелементів, тому що значна кількість жінок працює в промисловості та в умовах виробництва і нерідко стикається з дією важких металів, що дуже небезпечно для плода та взагалі для потомства. Особливо небезпечний контакт матерів не з одним, а з декількома хімічними агентами. Загибель ембріона може бути пов'язана як з надлишком деяких елементів, і їх дефіцитом [57, 58]. Захворювання, синдроми, патологічні стани, спричинені надлишком, дефіцитом або дисбалансом мікроелементів в організмі, отримали назву диселементози. В даний час встановлено вплив мікроелементозів матері на розвиток ембріона та плода, а тератогенна дія на потомство може мати будь-який вид мікроелементозу материнського організму. Надлишок кадмію може провокувати хромосомні аномалії, викликати ембріотоксичну дію, аномалії будови обличчя та нервової трубки, зміну скелета. Серед розроблюваних в сучасній морфології проблем фундаментального і прикладного характеру увагу дослідників привертає вивчення закономірностей протікання базисних процесів

морфогенезу під впливом несприятливих факторів зовнішнього середовища, серед яких найбільш шкідливими є сполуки важких металів [58, 59, 60].

Створено і успішно розвивається новий напрямок в медицині та екології – медична мікроелементологія, що вивчає особливості елементного складу організму людини при різних функціональних станах і захворюваннях, лабільність хімічного складу в залежності від віку. В науковій літературі малочисельні відомості про виявлення морфологічних порушень у потомства при впливі сполук кадмію в період вагітності і лактації. Експериментально встановлено, що введення кадмію з 1 по 16 добу вагітності щура призводить до збільшення загальної ембріональної смертності за рахунок 10-кратного зростання доімплантаційної і в 4 рази – постімплантаційної смертності плодів. Відомо також, що кадмій уповільнює дроблення зиготи, знижує васкуляризацію ендометрію, порушує процеси імплантації яйцеклітини, формує фето-плацентарну недостатність [60, 61, 62]. Доведено, що зниження маси тіла і органів плода поєднується зі збільшенням маси плаценти, вагітність супроводжується формуванням в організмі матері «гестаційної домінанти», однією з основних рис якої є метаболічні перетворення і створення нового стану кислотно-лужного гомеостазу [63]. Малодослідженими є аспекти впливу на хід ембріогенезу деяких мікроелементів, серед яких є есенціальні мікроелементи та їх сполуки [64, 65]. Таким чином, актуальним напрямком морфологічних експериментальних досліджень є пошук нових можливих біоантагоністів токсичності кадмію серед мікроелементів, що здатні впливати на диселементози, підтримуючи гомеостаз організму в тому числі і під час вагітності.

1.2 Токсикологічні та нефротоксичні властивості кадмію.

При впливі ксенобіотиків загальним механізмом впливу на нирки вважається пошкодження клубочків з подальшим зменшенням маси функціональної паренхіми нирок та розвиток нефротичного синдрому [66, 67]. Одночасно з цим одним з механізмів нефротоксичної дії багатьох сполук

вважається ураження проксимальних каналців нирок з пригніченням транспорту іонів та води. Також, доведено, що дія важких металів супроводжується активацією механізму перекисного окислення ліпідів, яке саме по собі відповідальне за пошкодження тканини нирок [68]. У вільному стані кадмій токсичний. Кадмій зв'язується з сульфгідрильними групами білків, що веде до їх денатурації і до інактивації ферментів [69]. Це пригнічує діяльність мітохондрій, підвищуючи чутливість клітин до вільнорадикального окислення, порушує міжклітинні контакти і механізми транспорту кальцію, що може підвищити внутрішньоклітинну концентрацію кальцію і в кінцевому підсумку викликати апоптоз. При одноразовому впливі кадмію у великій концентрації відбувається перенасичення білка металотіонеїну і зниження його захисних властивостей. Кадмій поступово накопичується в організмі з віком. Біологічний період напіввиведення кадмію оцінений більше ніж у 20 років, за винятком випадків порушення функції нирок, коли збільшується обсяг екскреції сечі [70]. У нирках зв'язаний із металотіонеїном кадмій фільтрується в клубочках і потім реабсорбується в проксимальних каналцях у корі нирок. Його щоденна екскреція з сечею рідко перевищує 0,5 мкг. Також кадмій хімічно дуже близький до цинку і здатний заміщати його в біохімічних реакціях (наприклад, виступати як псевдоактиватор або, навпаки, інгібітор ферментів, що містять цинк).

Кадмій ($\text{Cd}(2+)$) є несуттєвим іоном двовалентного металу, проте викликає токсичність у багатьох органах людини. Для виникнення токсичності $\text{Cd}(2+)$ повинен спочатку проникнути у клітини, використовуючи шляхи транспорту незамінних металів. У роботах Thévenod F. основна увага приділяється дослідженням, в яких транспорт кадмію безпосередньо продемонстрували за допомогою електрофізіологічних методів, радіофармпрепаратів або $\text{Cd}(2+)$ -чутливих флуоресцентних барвників. Хімія іонів кадмію і важких металів загалом розглядається у контексті властивостей, важливих для транспорту через мембранні білки, таких як енергія гідратація. Крім транспорту ZIP-транспортерами SLC39A8 та SLC39A14, поглинання вільного $\text{Cd}(2+)$ було продемонстровано котранспортером $\text{Fe}(2+)/\text{H}(+)$ -переносником двовалентних

металів. Доведено, що мультилігандні ендоцитарні рецептори поглинають комплекси кадмій-металотіонеїн за допомогою рецептор-опосередкованого ендоцитозу. Досліджується також роль переносників АТФ-зв'язуючих касет у відтоку $\text{Cd}(2+)$ із клітин, а транспорт вільного кадмію за допомогою Р-глікопротеїну залишається спірним. В роботах цих авторів представлені аргументи за і проти транспорту $\text{Cd}(2+)$ каналами $\text{Ca}(2+)$ [33].

Накопичуючись у нирках, кадмій прискорює деградацію ниркових каналців. За отриманими науковими даними, якщо з сечею виділяється 2-4 мкг кадмію за добу, ймовірність деградації нирок становить 10%; згідно з іншими, коли міряють не добове виділення, а концентрацію в досліджуваному зразку, небезпечний вміст кадмію в сечі 0,67 мкг/г. Якщо вважати, що за добу з сечею виділяється 1-2 грами креатиніну, то виходить, що небезпечна добова доза виділення кадмію - близько 1 мкг. В результаті деградації каналців послаблюється здатність нирок повертати в організм вітаміни, мінерали та інші корисні речовини, наприклад пов'язані з металотіонеїнами цинк та мідь, кальцій, фосфати, глюкозу, амінокислоти. Дворазове підвищення рівня кадмію в сечі підвищує вміст кальцію на 2 мг на день. Логічним виглядає, що втрата кальцію збільшує ризик остеопорозу. Дійсно, у групі жінок старше 50 років з понад 1 мкг/г кадмію в сечі ризик остеопорозу на 43% вищий, ніж у тих, хто мав менше 0,5 мкг/г. При вмісті кадмію між 1 і 2 мкг/г ризик підвищеного вмісту глюкози та розвитку діабету другого типу – відповідно 1,48 та 1,24 у порівнянні з тими, у кого його менше 1 мкг/г. Обстеження корейців, чверть яких страждала від високого тиску, показало, що ризик цього нездужання у людей з високим вмістом кадмію у півтора рази вищий, ніж із низьким [50, 67]. Ризик інфаркту у жінок із вмістом понад 0,88 мкг/г кадмію в сечі в 1,8 разів вищий у порівнянні з тими, у кого менше 0,43 мкг/г. Імовірність смерті від раку у чоловіків з менше 0,22 та більше 0,48 мкг/г кадмію в сечі відрізняється у 4,3 рази. Автори припускають, що кадмій знижує плодючість у чоловіків [67].

Особливе занепокоєння викликає питання здатності накопичення важких металів в паренхіматозних органах. Зокрема, органами-мішенями дії та

накопичення кадмію вважаються нирки, в тканині яких акумулюється і чинить найбільшу біологічну негативну дію кадмій. В зв'язку з такими даними постає питання про здатність накопичення нирками та дії кадмію при введенні наднизьких доз, а також пошук потенціальних біоантагоністів кадмію, які послаблюють засвоєння кадмію і знижують рівень накопичення в організмі. Встановлено, що введення ксенобіотиків, супроводжується розвитком дисмікроелементозу, який характеризується накопиченням кадмію і різнонаправленими змінами есенціальних макроелементів (Ca, Mg) та мікроелементів (Cu та Zn). Відмічено істотне зниження остеотропних елементів: Ca, Cu та Zn у кістковій тканині. Поряд з цим спостерігався високий рівень Ca на тлі зниження Mg у нирках та печінці, динаміка змін Cu та Zn мала різнонаправлений характер в печінці та нирках у різні періоди експерименту [70, 71].

Антропогенний внесок у надходження кадмію в атмосферу втричі перевищує його природні надходження. В Україні щорічно близько 400т кадмію потрапляє в ґрунт із фосфорними добривами, вапняковими матеріалами та викидами автотранспорту. Кадмій - метал майбутнього, бо він все більш активно застосовується у ракетній техніці, автоматичі, виробництві напівпровідників, полімерів, колекторів сонячних батарей, а найінтенсивнішим джерелом забруднення атмосфери кадмієм є металургійний процес, гальванопокриття, виробництво люмінофорів для кольорових телевізорів і рентгенівських екранів, антикорозійних покриттів [70].

В наукових дослідженнях українських вчених Буковинського державного медичного університету доведено, що за природних умов та експериментально створеного тривалим уведенням низьких доз кадмію хлориду (0,03 мг/кг, per os, 30 діб) металотоксикозу встановлено вікові і тканинні особливості розподілу і накопичення кадмію в організмі щурів різного віку. Аналіз та порівняння рівней накопичення кадмію в різних органах дослідних тварин виявив, що найбільшими "схованками" для депонування металу в молодих статевонезрілих і дорослих статевозрілих тварин є паренхіматозні органи з градієнтом розподілу:

нирки>печінка>серце>скелетний м'яз=мозок [71]. За умов експериментального металотоксикозу в організмі статевонезрілих тварин найінтенсивніше зростає вміст кадмію в нирках - у 17 разів ($P<0,001$) проти контролю, у печінці - у 8,6 рази ($P<0,001$). У статевозрілих тварин на тлі вищого, ніж у молодих вмісту кадмію в органах, за умов інтоксикації низькими дозами кадмію хлориду інтенсивність накопичення металу в органах-мішенях менша: вміст кадмію в нирках збільшується в 4,3 рази, у печінці - в 3,5 рази ($P<0,001$). Накопичення кадмію в печінці дорослих тварин втричі вище ($P<0,001$), ніж за аналогічних умов у молодих. Висока накопичувальна здатність нирок і печінки до кадмію провокує нефро-і гепатотоксичну дію металу, особливо в молодому віці [72]. Дослідження накопичення рівню кадмію в ембріональних органах в даних наукових школах не проводилося.

За останніми дослідженнями доведено, що близько 50 % абсорбованого кадмію накопичується в печінці та нирках, а в еритроцитах і м'яких тканинах кадмій зв'язується з $\alpha 2$ -макроглобуліном та альбуміном, після чого швидко перерозподіляється, головним чином у печінці і нирках. Там він накопичується у вигляді комплексу з металотіонеїном. Кадмій в організмі зв'язується з сульфгідрильними групами білків, що веде до їх денатурації і до інактивації ферментів [73]. Це пригнічує діяльність мітохондрій, підвищуючи чутливість клітин до вільнорадикального окислення. Кадмій, що надійшов з легень та шлунково-кишкового тракту, транспортується кров'ю в печінку та нирки. При тривалому впливі кадмію у людини та експериментальних тварин розвивається дисфункція ниркових каналців. Дані експериментів на тваринах показують, що спочатку після впливу кадмій у крові зв'язується з альбуміном та білками з вищою молекулярною масою. Такий кадмій переважно поглинається печінкою. Протягом кількох днів після дії кадмій існує у вигляді металотіонеїну в плазмі та клітинах крові. Як після одноразового, так і тривалого введення кадмію, пов'язаного з металотіонеїном, кадмій поглинається нирками. Концентрація пов'язаного з металотіонеїном кадмію в плазмі досить низька через постійний нирковий кліренс. При впливі кадмію у великій концентрації одноразово

відбувається перенасичення білка металотіонеїну і зниження його захисних властивостей. У нирках зв'язаний із металотіонеїном кадмій фільтрується в клубочках і потім реабсорбується в проксимальних канальцях у кірковій зоні нирок. Кадмій з металотіонеїном поглинається в ниркових канальцях шляхом піноцитозу і згодом розщеплюється в лізосомах, тим самим вивільняючи кадмій, який стимулює синтез металотіонеїну *de novo*, але також зв'язується з реабсорбованим металотіонеїном. Катаболізм та повторне зв'язування відбуваються безперервно і запобігають виведенню кадмію [73, 74, 75]. Через відмінності в транспортуванні форми кадмію, що метаболізуються в нирках, також відрізняються для різних форм кадмію, що вводиться, і швидкості введення. Одноразова доза пов'язаного з металотіонеїном кадмію, введена внутрішньовенно, майже відразу і повністю поглинається в ниркових канальцях. У таких умовах процеси ресинтезу та повторного зв'язування недостатні для секвестрації кадмію з чутливих тканинних рецепторів, і пошкодження нирок відбувається при загальній концентрації кадмію в тканинах, набагато нижчій, ніж при повільному підвищенні концентрації кадмію в нирках. Це пояснює широкий діапазон (10-200 мкг Cd/г сирової маси) вмісту кадмію в кірковій речовині нирок, що пов'язане з дисфункцією ниркових канальців у експериментальних тварин. Також кадмій хімічно дуже близький до цинку і здатний заміщати його в біохімічних реакціях, наприклад, виступати як псевдоактиватор або, навпаки, інгібітор ферментів, що містять цинк [73, 74].

Кадмій — токсичний метал, що має схильність до накопичення в клітинах проксимальних канальців нирок, де може призвести до дисфункції канальців і, зрештою, до ниркової недостатності. Хоча нефротоксичність, індукована Cd(2+), активно досліджується, досі залишається незрозумілим, яким чином цей метал проникає в ниркові клітини та який клітинний механізм нефротоксичності. Вважається, що за це відповідальні швидше за все транспортні білки, або канали, що використовуються незамінними металами (залізом, цинком, кальцієм). Коли цих незамінних у харчуванні металів не вистачає та розвивається дефіцит, абсорбція та токсичність кадмію посилюються [74].

Доведено, що визначати концентрацію кадмію в крові непоказово, оскільки переважне місце його накопичення — це нирки. Екскреція кадмію з сечею понад 10 мг/л пов'язана з пошкодженням ниркових каналців, особливо якщо при цьому виявляють підвищений уміст у сечі β 2-мікроглобуліну й металотіонеїну. Концентрацію кадмію в нирках можна оцінити, досліджуючи нейтронно-активаційним методом отриманий субстрат сечі. При хронічному отруєнні кадмієм підвищується його концентрація в сечі, що відображає повільне вивільнення з печінки комплексу з металотіонеїном, краще характеризує загальний уміст в організмі, ніж концентрація в крові [75,76, 77].

Важливе значення для фізіологічних процесів в організмі та метаболізмі тварин, включаючи відтворення, мають мікроелементи. Останні дані наукової літератури доводять, що нестача або дисбаланс (диселементоз) мінеральних речовин в організмі тварин негативно впливає на фізіологічні процеси всіх органів і систем, а використання у якості біоантагоністів органічних солей есенціальних мікроелементів є перспективним напрямком досліджень як в мікроелементології так і в морфології. З розвитком нанотехнології стало можливим створення мікроелементів у нових формах, які мають ширший спектр дії та нові властивості, що не притаманні солям мікроелементів. Оскільки, що нанокарбоксилати створені не хімічним, а фізичним способом, то вони повністю засвоюються організмом і проявляють високий стимулювальний ефект на біологічні процеси в організмі. Нами в якості потенційних мікроелементів досліджувались сукцинати міді та цинку.

1.3 Вплив на морфофункціональний статус організму цинку та міді, взаємодія мікроелементів та пошук біоантагоністів кадмію.

Купрум має велике біологічне значення, він є компонентом низки ферментів, необхідних для нормального метаболізму, в організмі тварин його міститься близько 0,00015 %. Загальновідомо, що купрум входить до складу червоного кісткового мозку, плаценти, багатьох білків печінки, пігментів та

металоензимів [78, 79, 80]. Однією з найважливіших функцій мікроелементу міді є участь у кровотворенні: він посилює перетворення заліза в органічно зв'язану форму, чим прискорює синтез гемоглобіну при цьому він не входить до його складу. Тобто, мідь сприяє надходженню заліза в кістковий мозок, де спільно бере участь у дозріванні еритроцитів, а також, мідь бере участь у біосинтезі еластину, ферментів каталази і пероксидази. В організмі тварин Купрум перебуває як у зв'язаному з білками так і вільному іонному станах. Іони цього мікроелемента порівняно з іонами інших металів активніше взаємодіють з білками, утворюючи стійкі хелатні комплекси. Купрум являє собою виключно ефективний каталізатор і може бути як донором, так і акцептором електронів а участь Купруму у метаболічних процесах організму пов'язана, головним чином, з функціональною активністю купрумівмісних ферментів: цитохромоксидази (виконують функцію окиснення субстратів циклу Кребса), церулоплазміну (здійснюють окиснення Fe^{2+} у Fe^{3+} та передача їх на сидерофілін), поліфенолоксидази (регулює синтез меланіну), серамідгалактозилтрансферази (відповідає за синтез цереброзидів та мієліну), амінооксидази (здійснює окиснення амінів та лізину) [80, 81, 82, 83]. Мідь виконує важливу роль у біосинтезі гормонів і вітамінів, бере участь у регулюванні водного і газоенергетичного обміну, підвищує детоксикацію функції печінки. Також Купрум прискорює процеси окиснення глюкози, стримує розпад глікогену, сприяє накопиченню його в печінці, стимулює утворення остеїну і нормалізує відкладання солей кальцію і фосфору. Мідь є незамінним мікроелементом для росту і розвитку організму тварин під час ембріонального та постнатального періодів онтогенезу, а також під час вагітності та лактації. Досліджено, що Купрум, призначений для плоду, доставляється в основному церулоплазміном [84]. Було доведено, що концентрації Купруму і церулоплазміну (міднозв'язуючий білок) значно зростає під час вагітності, а дефіцит цього мікроелемента під час вагітності призводить до загибелі плодів, високого проценту випадків утробних аномалій внутрішніх органів (вади серця, аномалії кровоносних судин), порушенню росту і гемопоезу плоду [84, 85]. Всмоктування

Купруму відбувається в тонкому відділі кишечника. Інтенсивність всмоктування залежить від форми отримання та від складу кормів. Солі Купруму з амінокислотами і жирними кислотами всмоктуються краще, ніж солі мінеральних кислот. Транспортується мікроелемент білками крові, переважно альбумінами, у купферівські клітини печінки, де і депонується. З печінки Купрум надходить в інші органи і тканини [85, 86]. На інтенсивність засвоєння мікроелемента впливає низка факторів, серед яких рівень в організмі інших мікроелементів та вітамінів. Наприклад Цинк, Молібден, Сульфур, Кадмій та Аргентум підвищують рівень всмоктування Купруму, а аскорбінова кислота і фітин, навпаки, знижують. Рівень використання Купруму залежить значною мірою від того, до яких хімічних сполук він входить. Розчинні форми міді добре засвоюються організмом і відкладаються в тканинах [87], а надлишок цього мікроелементу виділяється з організму з жовчю, а також нирками, шкірою, слизовими оболонками дихального апарату, з калом і сечею. Це досить важливий аспект метаболізму, бо надлишок міді може призводити до отруєнь (метгемоглобінемії, жовтяниці, гемоглобінурії). Підвищений уміст Купруму у сироватці крові спостерігається за умов виникнення інфекційних хвороб у гострій стадії, гепатитів, цирозів та лейкозів. Даний елемент відіграє і дуже важливу функцію у розвитку ембріонів та протіканні вагітності [86, 87].

Отже, підсумовуючи наведені дані літератури, можна дійти висновку, що мідь є незамінним мікроелементом, який відіграє важливу біологічну роль в обмінних процесах організму, а також впливає на відтворювальну здатність тварин.

Цинк – оцінюється як найважливіший мікроелемент в людському організмі, однаково необхідний дорослим і дітям. Найбільш висока його концентрація міститься в м'язах (60%) і в кістках (30%). Zinc потрібен дітям і підліткам для нормального розвитку і формування внутрішніх органів. У складі людського тіла цинк є найпоширенішим металом після заліза. У нормі в тілі дорослої людини міститься приблизно 2-3 грами цього мікроелементу, який здатен активувати понад 200 ферментів, що використовуються організмом для

перетравлення і якісного всмоктування їжі [88, 89]. Цинк - хімічний елемент побічної підгрупи другої групи періодичної системи, - один із незамінних мікроелементів, який посідає друге місце після заліза за розповсюдженням в організмі людини і тварин та участю в метаболічних процесах. У клітинах цинк, здебільшого, присутній у складі стійких біокомплексів, у яких він координаційно міцно зв'язаний з ендogenousними органічними лігандами [90, 91]. Це зумовлюється високою здатністю мікроелемента утворювати хелатні структури, які утворюються в тих випадках, коли метал розташований між атомами-донорами електронів, якими найчастіше є атоми азоту, кисню, сірки. Утворенням таких сполук опосередковується роль цинку в функціонуванні різних біологічних систем. Необхідно зазначити, що здатність цинку до утворення біокомплексів супроводжується відносною безпечністю цього мікроелемента для біомолекул. Значною мірою це зумовлюється відсутністю прооксидантних властивостей, притаманних металам із змінною валентністю (залізо, мідь та інші). Водночас такі властивості сприяють транспорту і метаболізму цинку в організмі та здійсненню його біологічних функцій у клітинах [92, 93]. Особливо важливу роль цей мікроелемент відіграє в складі молекул білків.

Цинк є структурним компонентом або необхідний для каталітичної активності понад 200 металоферментів, задіяних у різних метаболічних шляхах, біологічна роль цинку в організмі значною мірою реалізується через участь у синтезі та стабілізації нуклеїнових кислот і білків, процесах енергетичного обміну, проліферації та диференціювання клітин, підтриманні антиоксидантного статусу. У молекулах металоферментів цинк може входити до складу активного центру і брати участь в утворенні фермент-цинк-субстратних комплексів [93, 94, 95]. За таких умов взаємодія ферменту і субстрату неможлива без катіонів цинку. У деяких випадках за допомогою Zn^{2+} підтримується необхідна для активності ферменту конформація активного центру. Це інший тип металоферментів, у яких від'єднання Zn^{2+} спричиняє порушення структури активного центру, що ускладнює взаємодію з субстратом. Крім того, цинк входить до складу великої групи неферментних металопротейнів, у молекулах яких катіони мікроелемента

беруть участь у стабілізації вторинної та третинної структур. Утворення таких комплексів з катіонами цинку необхідне для здійснення специфічних функцій низки білків. Роль цинку в розвитку, формуванні та функціональній активності організму неможливо переоцінити: цей мікроелемент приймає участь в метаболізмі, підвищує імунні сили, має виражені антиоксидантні властивості. Цинк істотно знижує ризик розвитку запальних процесів, а його антиоксидантні властивості попереджають розвиток або загострення хронічних хвороб. Регулярне вживання цинку допомагає очищати судини від холестерину і тригліцеридів, стабілізувати систолічний тиск [95, 96]. Добавки з цинком стимулюють мозкову діяльність, покращують пам'ять, розумові здібності і загальне самопочуття. Металотіонеїни також беруть участь у регуляції гомеостазу іонів металів, захищеності клітин від окисного стресу та детоксикації важких металів.

Враховуючи той факт, що у виробничій сфері зайнята переважна більшість людей репродуктивного віку, а галузі, пов'язані в той чи інший спосіб із важкими металами як фактором професійного ризику, посідають у ній значне місце дослідження ембріотоксичності та нефротоксичності важких металів і пошук потенційних біоантагоністів для важких металів – нагальна наукова медична проблема, що потребує експериментальних морфологічних даних.

За даними літератури в організмі живих істот, в тому числі людини, налічується не менш як 75 елементів. Проте, не зважаючи на більш ніж 300-річний досвід наукових досліджень, проблема життєвої необхідності (біогенності, есенціальності) хімічних елементів залишається до кінця не вирішеною. Більш-менш однозначно основні питання біологічної та фізіологічної значущості стосуються не більш як 40 елементів. Але, навіть з урахуванням наявних далеко не повних даних, світова наукова спільнота, виходячи переважно з потреб промисловості, бізнесу і ринку, включилася до реформації методології досліджень [97]. Потребують подальшого дослідження та всебічного вивчення також і критеріальна база гігієнічного нормування хімічних речовин, а також обґрунтування та впровадження концепції сучасних

технологічних експертиз взаємодії мікроелементів в організмах [98]. Має місце неправомірне розширення або надмірне звуження прийнятих раніше конвенціональних понять, що принципово змінює патогенетичну сутність функціональних змін, загрожує недостатньою ефективністю і навіть небезпекою запропонованих превентивних заходів і терапевтичних засобів [99].

Хронічний вплив кадмію викликає переважне накопичення кадмію у нирках, що призводить до нефротоксичності, бо в процесі накопичення цього металу в нирках кадмій, пов'язаний з низькомолекулярним металозв'язуючим білком металотіонеїном, відіграє важливу роль в реабсорбції епітеліальними клітинами проксимальних каналців нирок. Однак роль і механізм транспорту іонів кадмію клітинами проксимальних каналців нефронів нирок залишаються неясними. Доводиться, що транспортери цинку мають спорідненість до кадмію і марганцю і треба вивчати роль цих переносників металів в абсорбції цих мікроелементів у клітинах проксимальних каналців нефронів нирок. Дослідники використовували систему клітинної культури, в якій апікальний та базолатеральний транспорт металів можна досліджувати окремо та довели, що процеси активного трансмембранного транспорту навіть в межах однієї клітини можуть мати виражений градієнт [100].

Доведено, що у щурів остаточне формування структур нирок і становлення їх функцій відбувається в перші місяці життя [101, 102], дослідники довели, що за умов експерименту інтоксикація потомства в системі «мати-плід» значно вплинула на одну із основних гомеостатичних функцій нирок – іонорегулювальну. Концентрація іонів натрію в сечі токсикованих щурів зросла в 3,3 раза, натрійурез перевищив контрольний показник у 2,8 рази, що доводить, що інтоксикація потомства в системі «мати-плід» відбувалася в пренатальний період і під час лактації. У тварин виявлено типові ознаки токсичної нефропатії з порушенням показників екскреторної, іонорегулювальної та кислотнорегулювальної функцій нирок [103, 104, 105].

Враховуючи той факт, що у виробничій сфері зайнята переважна більшість людей репродуктивного віку, а галузі, пов'язані в той чи інший спосіб із важкими

металами як фактором професійного ризику посідають у ній значне місце, дослідження ембріотоксичності та гонадотоксичності важких металів – нагальна наукова морфологічна та медична проблема, що потребує експериментального вирішення. Накопичено досить значну кількість даних з біологічної дії важких металів на еукаріотичні клітини та організми. Така ситуація зумовила потребу в аналізі та узагальненні наявних у літературі відомостей щодо токсичної і особливо ембріотоксичної та нефротоксичної дії важких металів на організм у цілому та окремі клітини людського та інших організмів.

Бурштин – один з найдавніших дорогоцінних каменів, відомих людству. У 17 столітті шляхом перегонки бурштину було отримано бурштинову кислоту, що дозволило розпочати пошукове дослідження з вивчення її властивостей та впливу на організм людини. У ході подальших наукових досліджень встановлено, що кислота, яка отримала від бурштину свою назву, міститься у всьому живому: клітинах людини, тварин, рослин та відповідає за енергетичний обмін в мітохондріях [106, 107]. Саме в мітохондріях під час циклу Кребса відбувається вироблення бурштинової кислоти та її використання для наступних енергетичних реакцій при утворенні АТФ. Додаткове надходження бурштинової кислоти може суттєво допомогти життєдіяльності організму у разі розвитку гіпоксичного стану. Біологічне значення даного явища полягає у швидкому ресинтезі клітинами АТФ та у підвищенні їх антиоксидантної резистентності. Відомо, що поза клітиною в кровотоку бурштинової кислоти практично немає, але вона з'являється поза мітохондріями під час важкого анаеробіозу або при глибокій гіпоксії в якійсь ділянці тканини. У таких випадках рецепторні керуючі системи організму оцінюють появу в кровотоку бурштинової кислоти як сигнал про те, що в якійсь ділянці тіла не вистачає енергетичних ресурсів або є кисневе голодування [108]. Відповідно, організм реагує на цей сигнал зрушеннями в нейроендокринній, гормональній регуляції, поліпшенням периферичного кровотоку, підвищенням сили серцевих скорочень, полегшенням віддачі кисню оксигемоглобіном та іншими фізіологічними та біохімічними компенсаторними реакціями. Це реакції мобілізації енергетичного обміну. Аналогічна реакція

організму проявляється при екзогенному введенні бурштинової кислоти. І відбувається вона не у відповідь на реальний гіпоксичний енергетичний дефіцит, а на сигнал про те, що, можливо, він має місце [109, 110].

Бурштинова кислота активно виробляється у клітинах живого організму і здоровому організму вистачає сукцинатів, які він синтезує чи засвоює із їжі. Проте внаслідок впливу несприятливих факторів, зокрема при інтенсивному фізичному навантаженні, інтоксикації, отруєнні, з'являється напруга у метаболічних процесах, а витрати янтарної кислоти збільшуються, розвивається її дефіцит. Як відомо, стійкість організму до впливу різних несприятливих факторів багато в чому залежить від швидкості та своєчасності утворення мітохондріями АТФ. У випадках екзогенного надходження янтарної кислоти можна суттєво допомогти відновленню життєдіяльності організму. Окисно-відновні реакції є основою отримання енергії та підтримання життєдіяльності. Однак у результаті цих реакцій з'являються вільні радикали - нестабільні молекули високої реакційної здатності, які прагнуть зв'язування з молекулами ліпідів, білків, вуглеводів, нуклеїнових кислот, що порушують їх структуру, функції та запускають каскад реакцій, званих вільнорадикальним окисненням. У результаті надмірної появи вільних радикалів в організмі відбувається руйнація фосфоліпідів мембрани клітини, порушення її проникності, іонного транспорту та функції мембранозв'язаних ферментів, що в результаті призводить до загибелі клітини [108, 111]. Наслідки окисного стресу - це насамперед нездатність клітини виконувати свої функції з одночасним пригніченням синтезу енергії, результатом чого є збільшення тяжкості перебігу патологічних процесів. Одним з таких процесів є ініціювання окислення залишків ненасичених жирних кислот у ліпідах клітинних мембран – процес перекисного окислення ліпідів, що призводить до порушення структурно-функціонального стану мембрани. Ці процеси є базисними при стресах, різних патофізіологічних станах та патобіохімічних процесах, імунодефіцитах, інтоксикації або отруєнні. Бурштинова кислота є інгібітором вільнорадикальних процесів перекисного окиснення ліпідів, активує супероксиддисмутазу, впливає на фізико-хімічні властивості мембрани,

підвищує вміст полярних фракцій ліпідів в мембрані, покращує енергетичний обмін у клітині [111].

Механізм дії бурштинової кислоти визначає насамперед її антиоксидантні властивості, здатність стабілізувати біомембрани клітин, модулювати роботу рецепторних комплексів та відновлювати мембранний транспорт в клітинах. Завдяки своєму механізму дії бурштинова кислота має широкий спектр фармакологічних ефектів та впливає на ключові базисні ланки патогенезу різних захворювань, пов'язаних із процесами вільнорадикального окиснення. Бурштинова кислота знижує виробництво основного медіатора запалень та алергічних реакцій – гістаміну, а значить, зменшує симптоми запальних та алергічних реакцій. Завдяки своїй антиоксидантній дії, сукцинати інгібують ріст та розвиток пухлин, попереджають поділ злоякісних клітин [111].

У численних дослідженнях доведено, що бурштинова кислота та сукцинати є активними адаптогенами, збільшуючи опірність організму до несприятливих впливів факторів зовнішнього середовища. Унікальність дії бурштинової кислоти полягає в тому, що вона активна в тканинах та клітинах, що перебувають у стані збудження або патологічно змінених. В організмі бурштинова кислота безпосередньо впливає на такі процеси: обмін речовин у клітинах; доставку вільного кисню до тканин; функціонування нервової та ендокринної систем; засвоюваність поживних речовин [14, 15, 16, 17].

Особливий інтерес викликають публікації результатів впливу в експериментах на ембріони та на хід ембріогенезу. Ембріопротекторна дія бурштинової кислоти на потомство тварин з гіпоксією та герпетичною інфекцією досліджувалась з 1996 року, але ембріопротекторна дія сукцинатів при впливі важкими металами на організм вагітної самиці мало досліджувалась [15, 112, 113].

В організмі бурштинова кислота активна у вигляді аніонів та солей, званих сукцинатами - натуральні регулятори роботи організму. Активність сукцинатів пов'язана з виробництвом енергії, витрачається на життєдіяльність всіх тканин живого організму. Механізм виробництва енергії, що використовує сукцинати,

працює в сотні разів ефективніше, ніж решта механізмів виробництва енергії в організмі. Саме завдяки цьому бурштинова кислота має високий неспецифічний лікувальний ефект при цілій низці захворювань, пов'язаних з патобіохімічними процесами. Тому показаннями для застосування бурштинової кислоти є захворювання, у яких розвивається дисбаланс в обмінних процесах, регулюють окиснення ліпідів, знижують рівень холестерину [114, 115, 116].

Таким чином, встановлення меж біологічної значущості ряду металів та її обмежень складало мету багатьох проведених досліджень. На основі проаналізованих нами результатів проведених епідеміологічних, експериментальних та клінічних досліджень, які узгоджуються з матеріалами інших робіт українських та закордонних вчених, доведено, що поняття токсичності та есенціальності передбачає і розкриває лише факт участі конкретного біоеlementу (металу) та їх комбінацій у структурі і функціях біосистем (клітин, організмів, популяції). Механізми морфогенезу в нормі та механізми патологічної дії екополютантів розкриті не в повній мірі на теперішній час. Експериментальні дані з пошуку нових потенційних біоантагоністів токсичності важких металів серед сукцинатів мікроелементів є уривчасті та не охоплюють аналіз рівня накопичення того чи іншого важкого металу з рівнем його ембріотоксичності та органотоксичності.

Таким чином, однією з найбільш актуальних і малодосліджених задач сучасної морфології та медицини є формування комплексного підходу в дослідженнях негативного впливу важких металів на органи дорослих дослідних тварин та на ембріон і ембріогенез. Такі дослідження повинні включати аналіз та порівняння між рівнем накопичення важких металів та ступенем порушення органо- та ембріогенезу. Питання регулювання негативної токсичної дії важких металів на організм з урахуванням вікових особливостей потребує чисельних експериментальних даних щодо пошуку можливих потенційних біоантагоністів різноспрямованої дії. Хімічні речовини нанорозміру мають більш високий потенціал у плані біохімічної активності та транспортування у клітину і сукцинати біогенних металів, а саме їх наноаквахелати, ми розглядаємо в

нашому експериментальному дослідженні як високо потенційні малодосліджені біоантагоністи негативному впливу хлориду кадмію на організм.

Зростання насиченості навколишнього середовища сполуками важких металів, що, в свою чергу, призводить до накопичення цих сполук в біологічних системах та в організмах людей, які проживають на забруднених територіях, починаючи вже з дитячого віку, потенціює таку важливу наукову тематику, як пошук нових речовин, що знижують інтоксикацію та зменшують рівень накопичення в організмі самих важких металів.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Загальна характеристика матеріалу дослідження

Експериментальна частина дослідження проводилась на молодих самицях щурів віком 2,5-3 місяці лінії Wistar, яких отримували з розплідника «Далі 2001» (м. Київ). Вибір об'єктом дослідження саме щурів обумовлений тим фактом, що рівень непередбачуваних або спонтанних вад ембріонального розвитку є більш низьким порівняно з мишами та кролями, що мало особливе значення для виконання поставлених ембріологічних задач дослідження. Під час проведення експерименту всі щури знаходились у віварії ДДМУ при температурі 20-25°C, вологості не менш 50%, у регулярно провітрюваних приміщеннях та світловому режимі день/ніч в стандартних пластикових клітках не більш 3-4 осіб в кожній, на стандартному раціоні харчування. Тобто, умови утримання тварин відповідали вимогам положення про поводження з тваринами у наукових дослідженнях, яке розроблене у відповідності із Законом України «Про захист тварин від жорстокого положення», про що є витяг з засідання комісії з біоетики ДДМУ №24 від 15.01.2025р

Всі експериментальні тварини мали здоровий вигляд і були активні, добре споживали їжу, пройшли 2-х тижневий карантин після доставки до віварію ДДМУ, де проводилось експериментальне дослідження. Карантин та адаптацію експериментальні тварини перенесли добре, не виявлено хворих, або малорухомих особин, ектопаразитів також не виявлено. Під час утримання, експерименту та оперативного вилучення тварин з експерименту ми дотримувались усіх етичних норм поводження з лабораторними тваринами. Дослідження виконувались у відповідності до принципів Хельсінкської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000р.), Конвенції Ради Європи у правах людини та біомедицини (1997р.),

відповідних положень ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983р.), «Загальним етичним принципам експериментів над тваринами», що затверджені I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001р.) згідно з положеннями «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших навчальних цілях» (Страсбург, 18.03.1986р.).

2.2. Методи дослідження.

Дослідження проведено на 90 самицях щурів лінії Wistar (розплідник «Далі 2000» м.Київ), масою 180-300 г. Для виконання ембріологічної складової експериментального дослідження необхідно було отримання вагітних самиць з датованим терміном вагітності. Методика отримання є стандартною і добре відпрацьована, вона включає визначення естрального циклу та функціонального стану яєчників самиць методом піхвових мазків. Дослідження нефіксованих і нефарбованих мазків дозволило визначити у кожної самки наявність та тривалість окремих фаз циклу, а також ритмічність їх чергування. У самиці щура естральний цикл яєчників триває 4-5 днів, бо щури поліестральні тварини, а впродовж циклу змінюється склад клітин піхвового мазка, що дозволяє проводити діагностику стадії навіть на невеликих збільшеннях під біокулярною лупою чи мікроскопом. Стадія дієструс (стадія статевого спокою) характеризується наявністю в вагінальних мазках в переважній більшості лейкоцитів (дрібних клітин), а передтічкова стадія (проєструс) маркується різким появою овальних клітин з ядрами і великих зроговілих естральних лусочок - без'ядерних клітин на тлі зменшення числа лейкоцитів. (рис.2.1). саме на цій фазі проводили спарювання тварин за стандартною схемою і визначивши наявність сперматозоїдів у вагінальних мазках самиць, переводили їх у експериментальні групи з позначенням дати першого дня вагітності. Таким чином, використовуючи метод піхвових мазків отримували самиць з датованим терміном вагітності, що дозволило отримати ембріони з певною датою розвитку.

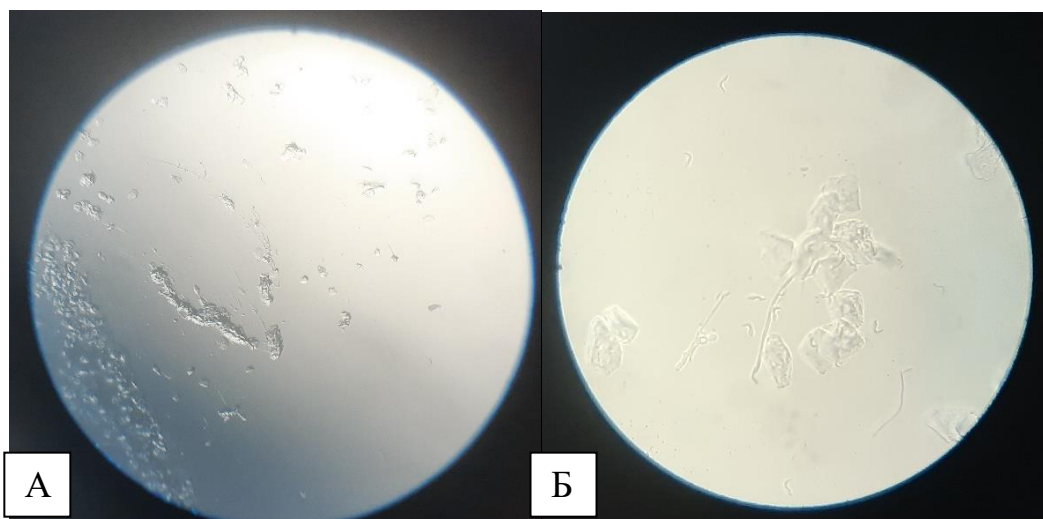


Рис. 2.1. Мікрофотографія нефіксованого незабарвленого вагінального мазка самиці щура на стадіях дієструс (А) та еструс (Б). Зб. 7х8.

Дизайн експерименту. Експеримент проводився як хронічний. Всі вагітні самиці розподілялись на такі експериментальні групи:

перша група – контрольна, введення фізіологічного розчину 0,5 мл;

друга група - ізольованого введення розчину хлориду кадмію у дозі 2,0 мг/кг;

третья група - комбінованого введення розчину хлориду кадмію у дозі 2,0 мг/кг + сукцинат цинку в дозі 5 мг/кг;

четверта група - комбінованого введення розчину хлориду кадмію у дозі 2,0 мг/кг + сукцинат міді 0,1мг/кг.

По 16 самиць в кожній групі, на 13-й і 19-й день вагітності самиць проводили оперативний забій.

Таким чином, окрім контрольної групи, формувалась група ізольованого впливу кадмієм та 2 групи комбінованого введення кадмію з сукцинатами біогенних металів. Як при ізольованому впливі важких металів, так і при впливі в комбінації з сукцинатами цинку або міді, обсяг введення не перевищував 0,5 мл, що не призводить до розтягування шлунку експериментальної тварини (щура) і не привносить побічного ефекту механічного впливу.

Вплив досліджуваних чинників самиць щурів проводили щоденно з 1-го по 19-й день вагітності введенням розчину внутрішньошлунково, через зонд один

раз на добу (зранку). При проведенні експерименту реєстрували стан і поведінку самок щурів, ректальну температуру, динаміку маси тіла, тривалість вагітності.

Характеристика досліджуваних речовин. В якості хронічного токсиканту використовувався іонний розчин хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг. Така доза є $1/20$ напівлетальної дози LD_{50} по кадмію для щурів. Вибір іонної форми кадмію (кадмію хлорид) як досліджуваної речовини для моделювання хронічної інтоксикації обґрунтовується широким його розповсюдженням в об'єктах довкілля промислових регіонів, при цьому кадмій, його сполуки чинять політропну токсичну дію та впливають на морфофізіологічний стан і здатні накопичуватись в організмі, зокрема в нирках.

В якості потенційних біоантагоністів кадмію, для виявлення їх можливої протекторної дії використовували сукцинат цинку або сукцинат міді, які були хелатними з'єднаннями, що широко використовуються в фармації, хімії та медицині. Розчини сукцинатів мали нанорозмір, тобто нами використовувались наноаквахелати сукцинатів міді та цинку, які отримували згідно договору про науково-технічну співпрацю в Науково-дослідному інституті Нанобіотехнологій та ресурсозбереження України (м.Київ). Вітчизняні вчені науково-дослідного інституту Нанобіотехнологій та ресурсозбереження України запатентували власну нову технологію та створили пріоритетний нанотехнологічний напрямок, завдяки якому були отримані надчисті сукцинати основних харчових кислот біогенних металів (цинку, магнію, заліза, міді, та ін.). Дози експериментального введення сукцинатів міді або цинку відповідали щоденним добовим дозам потреб організму щурів.

Визначення ступеню накопичення кадмію проводилось з використанням поліелементного аналізу.

Одним з критеріїв хронічного впливу на організм солей кадмію є визначення рівня накопичення в організмі даного елемента та порушення кількісних показників інших мікроелементів в досліджуваних зразках (ембріони, нирки, кров) для встановлення можливих диселементозів. Вимірювання проб проводилися в Державному підприємстві «Український науково-дослідний

інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України (м. Одеса) згідно договору про науково-технічне співробітництво. Пробопідготовка і вимірювання вмісту металів проводилося відповідно до ГОСТ 30823-2002. Кількісне вимірювання вмісту металів в зразках проведено на атомно-емісійному спектрометрі Емас-200 CCD, який є сучасним аналітичним приладом, управляється комп'ютером і всі необхідні розрахунки виробляє самостійно за мінімальної участі оператора. Для проведення даного дослідження під час експерименту вилучались нирки і кров самиць на 13-ту та 19 добу та ембріони 13-тої та 19-тої доби ембріогенезу, які піддавалися заморожуванню без фіксації.

В якості розчинника використовувалася стандартна спектральна буферіруюча суміш по ГОСТ 30823-2002. Кількісне визначення кадмію в аналізованих об'єктах вироблялося на довжині хвилі 228,802 нм, цинку - 213,856 нм, міді - 324,754 нм. Сила струму в дузі у всіх випадках становила 15 А, величина оптичної щілини приладу при вимірюванні кадмію та цинку дорівнювала 0,4, свинцю - 0,2, міді - 0,1.

Атомно-емісійний аналіз з дугового атомізацією дозволяє проводити якісний і кількісний елементний аналіз проб практично будь-якої природи. Суть атомно-емісійного методу аналізу полягає в наступному. Спеціально підготовлена проба поміщається в лунку на одному з двох графітових електродів. Електрична дуга між електродами призводить до випаровування і атомізації проби. Атоми, з яких складалася проба, що підлягає аналізу, під дією високої температури поглинають енергію і переходять в збуджений стан. У збудженому стані кожен атом знаходиться приблизно 1 мкс, після чого знову повертається в основний стан, виділяючи один або кілька квантів енергії (фотонів). Кожен хімічний елемент виділяє фотони зі строго певною довжиною хвилі. Наприклад, атоми кадмію випромінюють фотони з довжиною хвилі 228,802 нм, а атоми міді - 324,754 нм. Спектрометр вловлює світло, що виходить від вольтової дуги, і розкладає його за допомогою дифракційної решітки. При цьому фотони з різними довжинами хвиль відокремлюються одна від одної.

З'являється можливість виміряти, скільки випромінюється фотонів з довжиною хвилі, що відповідає кожному хімічному елементу. Як наслідок, можна зробити висновок про кількість того чи іншого хімічного елемента в аналізованій пробі.

В наших експериментах проводився аналіз накопичення кадмію, як маркера кадмієвої інтоксикації та рівень мікроелементів цинку та міді, як біогенних металів, що володіють вираженими біоантагоністичними властивостями по відношенню до сполук кадмію і за даними літератури їх баланс в першу чергу порушується при кадмієвій інтоксикації [117]. Для аналізу накопичення досліджуваних елементів, ми використовували зразки крові, нирки вагітних самиць та нирки 19-денних плодів щура всіх піддослідних груп і контрольної. Термін ембріогенезу – 19-та доба, обрано нами не випадково: саме цей термін демонструє результат довготривалого впливу як окремої кадмієвої інтоксикації, так і виражає динаміку змін мікроелементного складу в групах комбінованого впливу.

Процес вимірювання рівня накопичення металів враховував особливості пробопідготовки зразків для дослідження. Відповідно до ДСТУ 30823-2002 проби не підлягають фіксації, тому кров, нирки самиць та ембріони вилучені з матки заморожували в морозильній камері. Дана методика дозволила виконати одне з поставлених завдань дослідження у відповідності до мети експерименту, а саме - визначити динаміку зсувів мікроелементного балансу як самиць, так і ембріонів впродовж всього експерименту у порівнянні до контролю.

Досліджуючи можливу негативну дію кадмію при ізолюваному та комбінованому введенні на ембріональний розвиток визначали рівень ембріотоксичності за здатністю підвищувати рівень ембріональної смертності (ембріолетальний ефект) та викликати зовнішні та структурні вади розвитку внутрішніх органів (тератогенний ефект); загальний розвиток плодів оцінювали за показниками кількості та маси ембріонів, кількості жовтих тіл вагітності яєчників самиць, відповідності ембріону стадії розвитку за загальноприйнятими критеріями ембріонального розвитку щурів за Гамбургером і Гамільтоном (НН).

Ембріотоксичну дію досліджуваних речовин оцінювали за наступними стандартними показниками:

$$1. \quad \text{Загальна ембріональна смертність} = \text{ЗСЕ} = \frac{B-A}{B}$$

де А – кількість живих плодів, В – кількість жовтих тіл вагітності

$$2. \quad \text{Передімплантаційна смертність} = \text{ПІС} = \frac{B-(A+B)}{B}$$

де А – кількість живих плодів, Б – кількість загиблих (резорбованих) плодів, В – кількість жовтих тіл вагітності

$$3. \quad \text{Постімплантаційна смертність} = \text{ПостІС} = \frac{B}{A+B}$$

де А – кількість живих плодів, Б – кількість загиблих (резорбованих) плодів

4. Кількість плодів на 1 самку (середній показник)

5. Маса 1 плода (середній показник)

Щури є поліестральними та багатоплідними тваринами. Під час оперування ми підраховували і протоколювали кількість плодів в кожному розі дворогої матки самиці щура та відповідність кількості жовтих тіл в яєчнику з відповідного боку (рис.2.2, 2.3). Підрахування для протоколу жовтих тіл яєчників самиць проводили під бінокулярною лупою. Отримані дані використовували для обрахування вищезазначених показників ембріотоксичності. При цьому протоколювали кількість резорбованих ембріонів, якщо такі зустрічались.

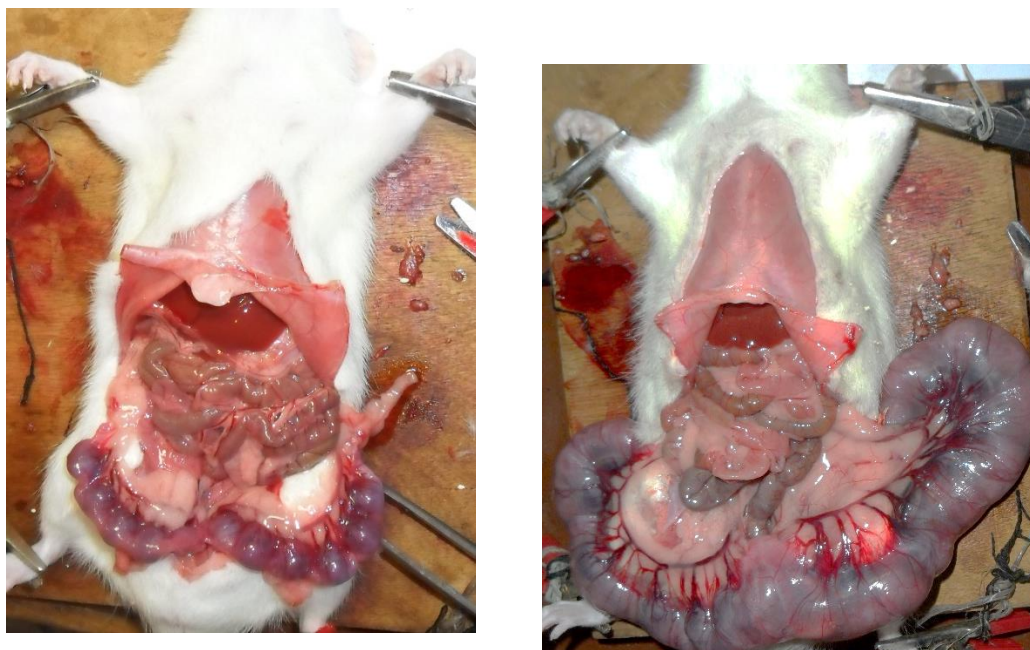


Рис. 2.2. Дворога матка з ембріонами самиці щура контрольної групи на 13-й добі та 19-тій вагітності під час оперативного вилучення.

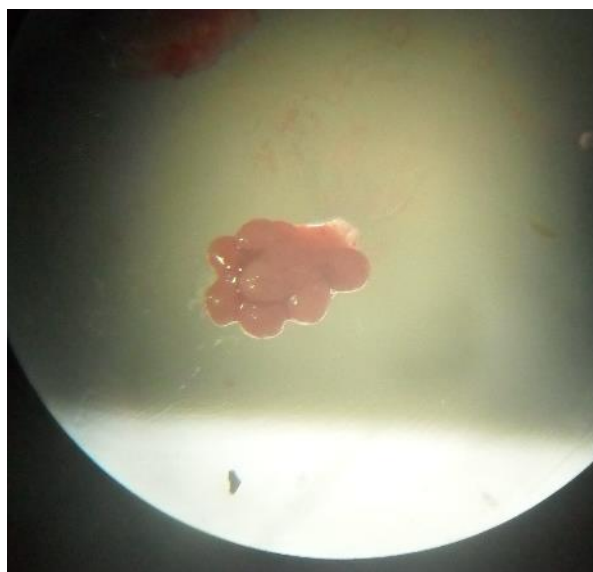


Рис. 2.3. Жовті тіла яєчників самиці щура контрольної групи на 13-й добі вагітності під час оперативного вилучення. Нефіксовані яєчники під бінокулярною лупою. 7X2.

Таким чином, визначали доімплантаційну смертність ембріонів: якщо кількість жовтих тіл вагітності в яєчниках самиці перевищувала кількість ембріонів у відповідному розі матки, що свідчило про ембріотоксичний вплив досліджуваного чинника на процес імплантації та наступну загибель ембріона щура. Післяімплантаційну смертність обраховували за наявності місць резорбції

в рогах матки, тобто коли загибель ембріона відбулася після імплантації та формування плаценти.

Фіксація отриманого матеріалу нейтральним формаліном, заливка в парафін та виготовлення гістологічних зрізів виконувались у відповідності до вимог організації сучасних методик експериментальних морфологічних досліджень [118].

Дослідження ембріонального матеріалу.

Під час проведення оперативного вилучення на терміні 13-тої доби вагітності матка з ембріонами вилучалась повністю та фіксувалась нейтральним формаліном для подальшого гістологічного дослідження фіксованих ембріонів цілими після вилучення з фіксованої матки (рис.2.4). Фіксовані ембріони 13-тої доби оглядались, зважувались і цілими заливались в парапласт для гістологічного та гістотопографічного дослідження нефрогенезу. На цьому етапі визначали відповідність ембріонів стадії розвитку за Гамбургером та Гамільтоном (Hamburger and Hamilton) (НН) за загальноприйнятими критеріями: кут згинання - флексії, скручування - торсія, зовнішній розвиток бруньок передніх та задніх кінцівок, формування ока, мозкових пухирів, зовнішні вади розвитку та ін. (Астауров).

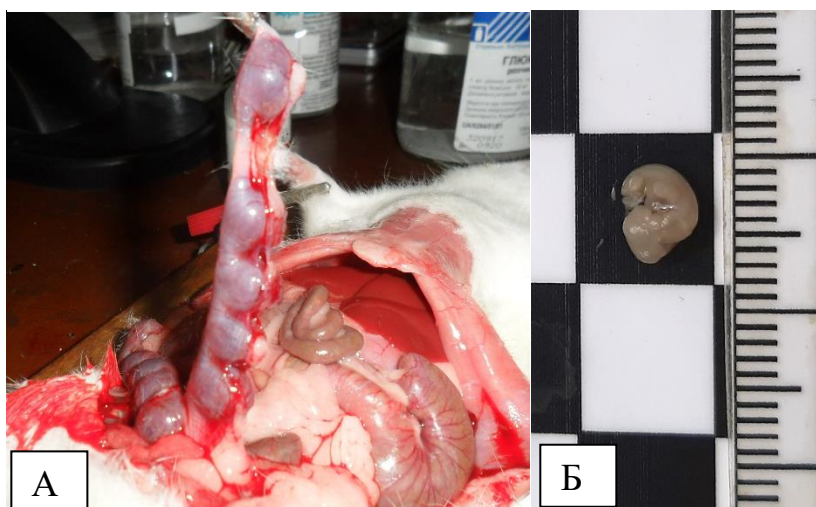


Рис. 2.4. Вилучення матки з ембріонами для фіксації самиці щура контрольної групи на 13-й добі під час оперативного вилучення (А) та фіксований ембріон, який вилучений з матки (Б). Фото ембріона зроблено на калібрувальній основі (довжина стінки квадрату 1см) для співставлення розмірів.

Дев'ятнадцяти денні ембріони вилучались з матки під час оперативного забою та аналізувались на предмет відповідності їх стадії розвитку НН за наступними критеріями: розвиток повік ока, закладка вібрис, формування вушної раковини, ступінь зморшкуватості шкіри, розділення пальців на кінцівках та ін.(рис.2.5).



Рис. 2.5. Фото цілого нефіксованого ембріона щура з плацентою 19-ї доби ембріогенезу контрольної групи. Фото зроблено на калібрувальній поверхні (довжина сторони квадрату 1см) для співставлення розміру

Для 19-тиденних плодів щура проводилось також обрахування наступних морфометричних параметрів:

- вагові показники ембріона в цілому (волога вага) (мг), $M \pm m$;
- вагові показники ізольованої нирки ембріона (волога вага) (мг), $M \pm m$;
- нефрофетальний індекс (%), $M \pm m$, який розраховувався нами – за формулою:

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

де НФІ – нефрофетальний індекс; m – маса нирки ембріону (мг); M – маса ембріона щура (мг).

Дослідження впливу кадмію та сукцинатів міді і цинку на морфогенез нирок.

Для оцінювання впливу досліджуваних чинників на морфогенез нирок дослідних тварин нами обраховувались наступні показники:

1. Вагові показники нирок (г) в кожній групі на досліджуваних термінах ($M \pm m$);
2. Індекс площі ниркового тільця нефрона (площа капсули/площа клубочка*100);

Для визначення змін в морфогенезі нирок під впливом досліджуваних речовин, ми вилучали нирки самиць та ембріонів, зважували їх, вимірювали, фотографували і фіксували у 10% розчині формаліну для подальшої заливки в парапласт і виготовлення гістологічних та гістотопографічних (ембріони 13-тої доби) зрізів. На гістологічних препаратах досліджувались елементи нефронів: діаметр ниркового тільця, площа капсули нефрону. Дані параметри вимірювались на мікрофотографіях. Для отримання цифрових зображень з подальшим обчисленням розмірів структур нирок використовувалася камера для світлової мікроскопії ZEISS Axioscam ERc 5s. Заміри проводили на гістологічних фотографіях з використанням програми світлової мікроскопії ZEISS Axioscam ERc 5s з адаптером P95-C 1/2" 0,5x, приєднаного до мікроскопу Primo Star компанії ZEISS. Зазначена програма ZEN 2.0 є ліцензованою для гістологічних вимірювань та дозволяє проводити морфометричні дослідження як лінійних параметрів (діаметр клубочку) так і проводити обрахунки сплайнового контуру (площа капсули клубочку та ін.). Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики. Оцінку вірогідності статистичних досліджень проводили за допомогою t-критерію Стюдента.

Під час операції у самиць для подальшого аналізу впливу хлориду кадмію на морфологію нирок вилучались нирки (рис.2.6), які також зважувались, вимірювались для протоколу та підлягали подальшій фіксації для гістологічного аналізу.

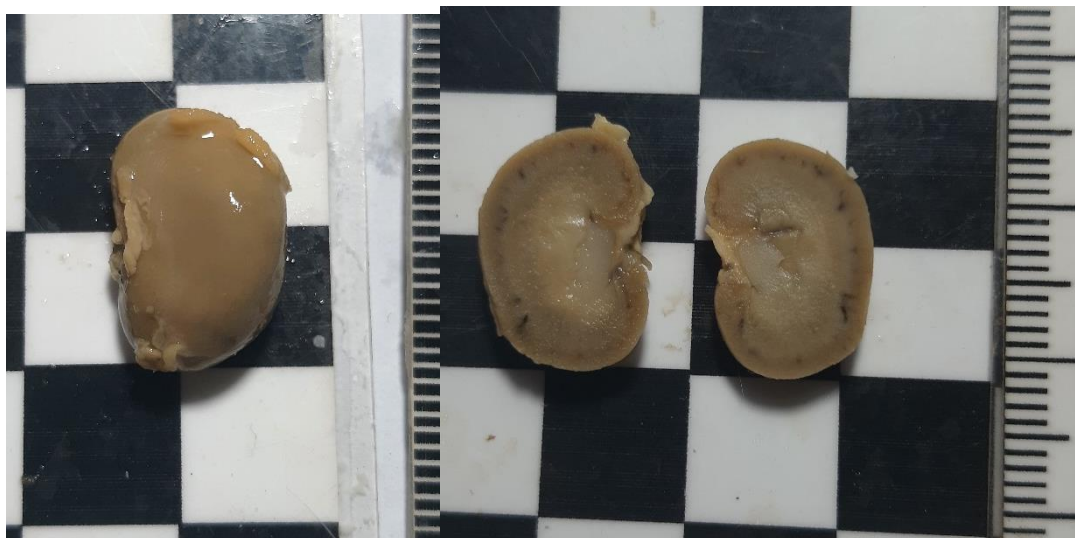


Рис. 2.6. Вилучені нирки самиці щура контрольної групи. Ціла нирка та фронтально розсічена нирка. Фото зроблено на калібрувальній основі (довжина стінки квадрату 1см) для співставлення розмірів.

Нирки уважно оглядали аби виключити зовнішні вади, розрізали у двох площинах: фронтальній та горизонтальній, для співставлення товщини кіркового та мозкового шарів, а також виявлення візуально видимих порушень.

Ембріони 19-тої доби також уважно оглядались, зважувались, дані заносились у протокол і приступали до вилучення нирок. Розсічення черевної порожнини та видалення кишечника і печінки дозволяло дослідити топографію нирок на задній стінці черевної порожнини (рис.2.7).



Рис. 2.7. Вилучення нирок ембріона щура контрольної групи (19-та доба). Вилучені нирки з наднирниками. Фото зроблено на калібрувальній основі (довжина стінки квадрату 1см) для співставлення розмірів.

Зважування нирок, вилучених у плодів щура дозволило обрахувати нефрофетальний індекс (НФІ) для наступного порівняльного аналізу між групами впливу.

Дослідження виконувались у відповідності до принципів Хельсінкської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000р.), Конвенції Ради Європи з прав людини та біомедицини (1997р.), відповідних положень ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983р.), «Загальним етичним принципам експериментів над тваринами», що затверджені I Національним конгресом з

біоетики (Київ, 2001р.) згідно з положеннями «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших навчальних цілях» (Страсбург, 18.03.1986р.).

Статистичний аналіз отриманих результатів

Отримані дані порівнювались і аналізувались морфолого-математичним аналізом виявлених структурно-функціональних зсувів, що є складовою частиною комплексного морфологічного дослідження. Стандартно, аналіз складався з декількох етапів, кожний з яких вирішує певні специфічні задачі. 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;

Δ - 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: 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:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_{s1}^2}{n_1} + \frac{s_{s2}^2}{n_2}}} ,$$

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 Стюдента перевищував табличні значення для відповідних ступенів свободи і 5%-го рівня значущості.

Статистичне опрацювання та аналіз результатів між групами дослідних тварин 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 Стюдента. Відмінності між групами вважалися достовірними при значенні $p < 0,05$

РОЗДІЛ 3

АНАЛІЗ ІЗОЛЬОВАНОГО ХРОНІЧНОГО ВПЛИВУ ХЛОРИДОМ КАДМІЮ НА ЕМБРІОГЕНЕЗ ТА НЕФРОГЕНЕЗ ЩУРА

Виконуючи поставлену задачу щодо визначення впливу ізольованого введення хлориду кадмію в хронічному експерименті на ембріональний розвиток та морфогенез нирок дослідних тварин, нами виконувалось у якості підтвердження експериментальних даних аналіз та порівняння накопичення досліджуваних мікроелементів (агентів впливу). Відправною точкою слугували дані контрольної групи. Загалом в даному розділі представлені дані з накопичення кадмію, цинку та міді нирками тварин та результати впливу хронічного введення хлориду кадмію на морфологію нирок самиці, нирок ембріона, хід ембріогенезу.

3.1. Аналіз динаміки накопичення кадмію, цинку та міді нирками самиць щурів та ембріонів.

Відповідно до мети проводили визначення ступеню накопичення кадмію, цинку та міді в нирках і крові дорослих самиць та в ембріонах щурів при ізольованому внутрішньошлунковому введенні хлориду кадмію в хронічному експерименті на вагітних самицях щурів. Визначення ступеню накопичення кадмію, цинку та міді проводилось з використанням поліелементного аналізу. Одне з перших місць серед екополютантів довколишнього середовища індустриальних регіонів посідає кадмій та його сполуки, які мають здатність до накопичення. В організмі кадмій накопичується, в основному, в нирках, печінці, кістках та дванадцятипалій кишці, з віком вміст кадмію в організмі збільшується, особливо у чоловіків. Кадмій є широко поширеним забрудником довкілля, важко піддається біологічному розкладу та становить серйозну проблему здоров'я людини. Токсикокінетика кадмію має певні особливості, що зумовлює його високі кумулятивні властивості та токсичні ефекти. Кадмій порівняно легко засвоюється з їжі, води та потрапляючи до організму, розподіляється по ньому,

накопичуючись із найвищими концентраціями в печінці та нирках. Переважне депонування кадмію в цих органах обумовлено тим, що іони металу мають спорідненість до структур їх клітинних мембран, утворюючи хелатні комплекси з досить міцними зв'язками, тому його виведення відбувається дуже повільно. Для вирішення поставлених завдань визначення рівню затримки кадмію, нами частина зразків заморожувалась без фіксації у відповідності до вимог пробопідготовки об'єктів дослідження.

Аналіз визначення рівню накопичення мікроелементів проводився на 13-ту та 19-ту добу експерименту за двома напрямками. Перший напрямок – це накопичення кадмію, цинку та міді в нирках та крові вагітних самиць. Другий напрямок дослідження – це накопичення кадмію, цинку та міді в ембріонах. Порівняння отриманих даних дозволило виявити зсуви мікроелементного балансу (диселементози) в крові та нирках дорослих самиць щурів та ембріонів в межах досліджуваних термінів після хронічного щоденного впливу.

В контрольній групі рівень накопичення кадмію 13-ту добу експерименту в нирках самиць-щурів становив $0,1990 \pm 0,0321$ мкг/г, а на 19-ту добу $0,1750 \pm 0,0622$ мкг/г, тобто не мав достовірної різниці з попереднім терміном. Як і слід було очікувати рівень накопичення кадмію на 13-ту добу при ізольованому введенні був вищим майже у 29 разів за контроль і становив $5,7280 \pm 0,8341$ мкг/г, що було логічним та очікуваним. Аналіз та порівняння отриманих даних на 19-й добі експерименту з хронічного впливу хлориду кадмію показали наступне. При ізольованому введенні хлориду кадмію досліджуваний показник збільшився у 65 разів за контроль - $11,3810 \pm 1,3999$ мкг/г та майже вдвічі проти показника 13-ї доби групи ізольованого впливу хлоридом кадмію. Такий високий рівень кадмію в нирках вагітних самиць ми пояснюємо фактом внутрішньошлункового введення розчину хлориду кадмію, який всмоктувався в кров та активно затримувався нирками, де відбувалась його елімінація.

На тлі підвищення рівню кадмію в тканинах нирок самиць визначалось зниження рівню важливого для життєдіяльності мікроелементу цинку. В

контрольній групі рівень накопичення цинку в паренхімі нирок становив $63,8 \pm 13,5$ мкг/г на 13-ту добу експерименту та на 19-ту добу недостовірно збільшувався до $70,8 \pm 18,3$ мкг/г. Хронічне введення хлориду кадмію знижувало (в 1,3 рази) рівень цинку в нирках вагітних самиць, особливо в першій половині вагітності до $48,2 \pm 8,6$ мкг/г в порівнянні до контролю ($p=0,05$). Наприкінці експерименту (19-та доба) рівень цинку при впливі хлоридом кадмію визначався вже на рівні контрольних показників і становив $69,3 \pm 20,2$ мкг/г, тобто не мав достовірної різниці.

Рівень накопичення міді в нирках вагітних самиць в контрольній групі змінювався впродовж періоду вагітності, збільшуючись вдвічі. На 13-тій добі рівень становив $1,741 \pm 0,239$ мкг/г, а на 19-тій добі дорівнював $2,404 \pm 0,333$ мкг/г. А в групі впливу хлоридом кадмію рівень міді достовірно не змінювався і тримався на рівні $1,803 \pm 0,098$ мкг/г - $1,836 \pm 0,312$ мкг/г.

Аналіз накопичення кадмію в крові вагітних самиць продемонстрував збільшення показника в групі ізольованого введення хлориду кадмію ($0,0792 \pm 0,005$ мкг/г) на 13-ту добу дослідження у 3,2 рази відносно контролю ($0,0263 \pm 0,003$ мкг/г) та на 19-ту добу у 3,3 рази ($0,1158 \pm 0,06$ мкг/г), при цьому, як показав аналіз отриманих даних, і показники накопичення кадмію в контролі також зростали ($0,0379 \pm 0,004$ мкг/г), хоча без достовірної різниці (рис.3.1). Досить високий рівень кадмію в крові пояснюємо тим фактом, що введення хлориду кадмію відбувалось внутрішньошлунковим способом, де відразу відбувалось всмоктування кадмію у кров.

Аналізуючи динаміку змін накопичення мікроелементу цинку в крові вагітних самиць на досліджуваних термінах, визначили наступне. В контрольній групі рівень цинку становив на 13-ту $6,6 \pm 1,9$ мкг/г та 19-ту добу експерименту відповідно $7,1 \pm 1,3$ мкг/г, тобто не мав достовірної різниці впродовж експерименту. Ізольоване введення хлориду кадмію не впливало на 13-ту добу на рівень накопичення цього елементу в крові і становило $6,2 \pm 1,3$ мкг/г, тобто не мало статистично значущої різниці з контролем. А наприкінці експерименту (19-

та доба) рівень цинку підвищувався у 1,4 рази при введенні хлориду кадмію до $9,6 \pm 1,4$ мкг/г. Така різниця мала статистично значущу різницю $p=0,05$.

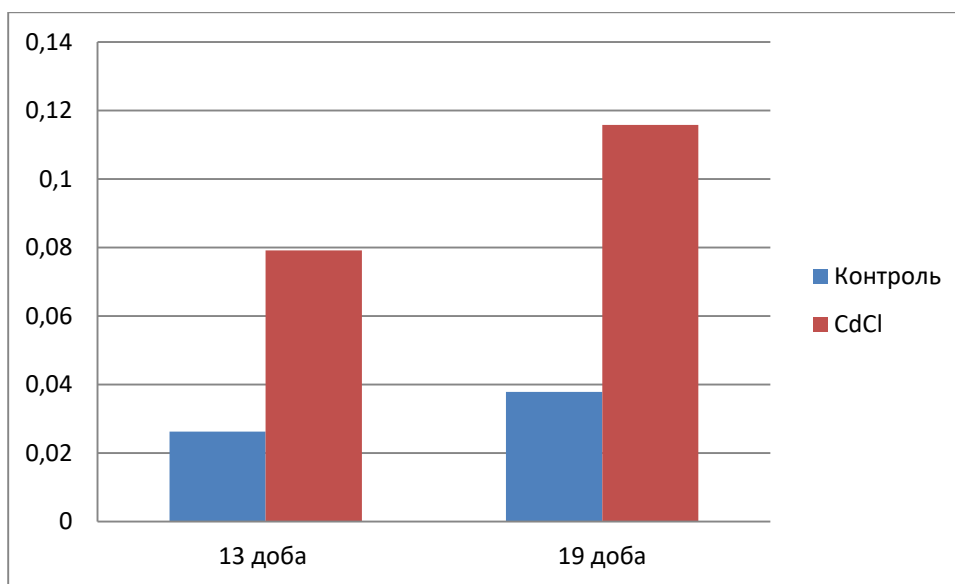


Рисунок 3.1. Динаміка змін накопичення кадмію (мкг/г) в крові вагітних самиць групи ізольованого введення хлориду кадмію і в контрольній групі впродовж експерименту.

Введення хлориду кадмію вагітним самицям призводило до виникнення в крові диселементозу і по міді (рис.3.2). В контролі на 13-ту добу показник накопичення міді в крові вагітних самиць становив $0,880 \pm 0,083$ мкг/г, а в групі введення хлориду кадмію вже на цьому терміні відбувалось достовірне збільшення у 1,4 рази до $1,236 \pm 0,229$ мкг/г. Цікавим виглядає факт збільшення рівню міді в крові самиць в контрольній групі на 19-ту добу - $1,042 \pm 0,311$ мкг/г, що можливо пояснюється фізіологічними процесами вагітної самиці, які пов'язані з завершенням ембріонального розвитку плодів щура. В групі ізольованого ведення хлориду кадмію на 19-тій добі рівень міді в крові самиць становив $1,180 \pm 0,160$ мкг/г, тобто знижувався у порівнянні до показника 13-тої доби по цій самій групі (рис.3.2).

Таким чином, введення хлориду кадмію викликає диселементози крові не лише по кадмію, але і по цинку та міді. Можна зробити висновок, що надлишок

кадмію в організмі призводить до перерозподілу інших мікроелементів в крові та в нирках.

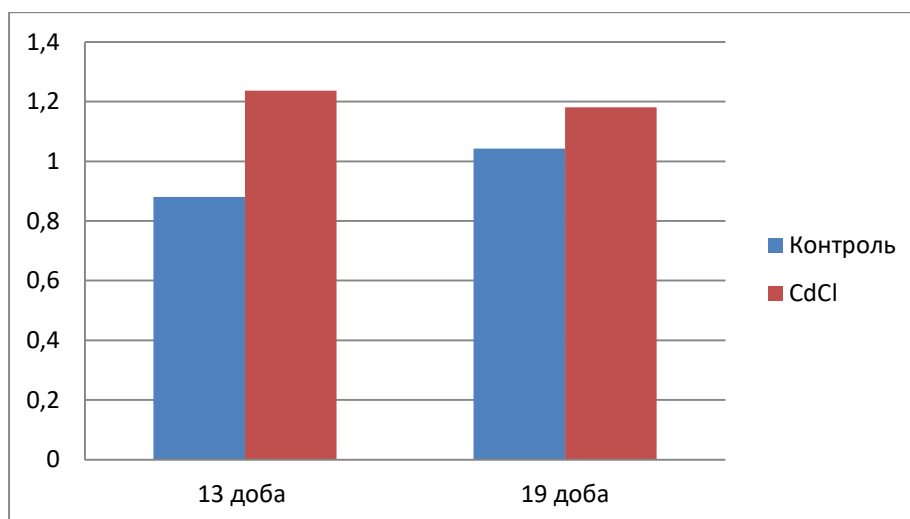


Рисунок 3.2. Динаміка змін накопичення міді (мкг/г) в крові вагітних самиць групи ізольованого введення хлориду кадмію і в контрольній групі впродовж експерименту.

Наступне спрямування досліджень поліелементним способом стосувалось визначень мікроелементного статусу ембріонів, які опосередковано через материнський організм підлягали впливу хлоридом кадмію. Ступінь накопичення мікроелементів ембріонами досліджувався на 13-тій добі експерименту та наприкінці ембріогенезу, тобто на 19-й добі пренатального розвитку. Накопичення ембріонами кадмію на 13-ту добу в групі контролю становить $0,0184 \pm 0,0045$, а на 19-ту добу $0,01515 \pm 0,0029$ мкг/г. Введення хлориду кадмію вагітним самицям збільшує рівень кадмію в ембріонах: на 13-ту добу накопичення становить $0,15413 \pm 0,0243$ мкг/г, а на 19-ту добу - $0,168 \pm 0,0269$ мкг/г

Використання атомно-абсорбційного аналізу дозволило довести, що у ембріонів кількісні показники по кадмію збільшувалися в середньому у 10,2 разів. Середній показник рівню кадмію в контрольній групі становив $0,01645 \pm 0,0013$ мкг/г, а в групі ізольованого введення хлориду кадмію зростав до $0,1680 \pm 0,0269$ мкг/г. Дана різниця була достовірною ($p \leq 0,001$) (рис.3.3). Такі

дані свідчать про високу здатність хлориду кадмію долати плацентарний бар'єр і накопичуватись в організмі ембріона.

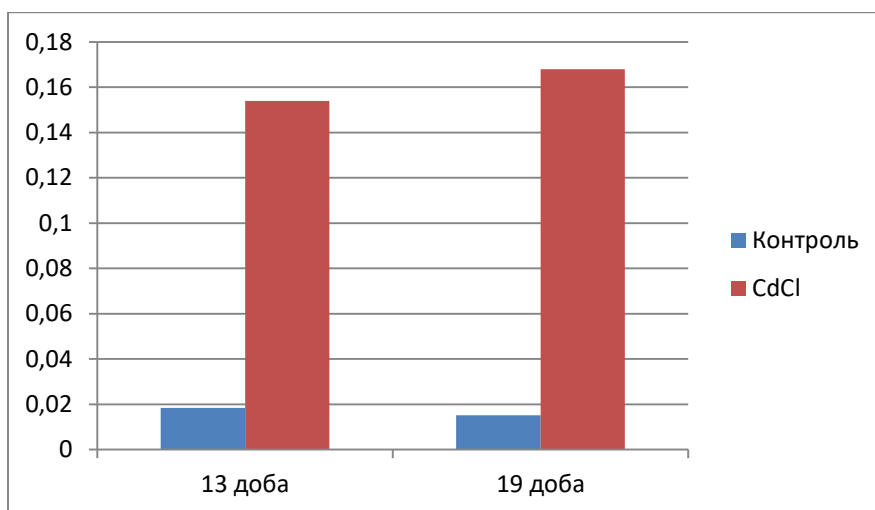


Рисунок 3.3. Динаміка показників накопичення кадмію (мкг/г) в ембріонах групи ізольованого введення хлориду кадмію і в контрольній групі на 13-ту та 19-ту добу ембріогенезу.

Дослідження та порівняння рівню накопичення цинку показало, що введення в організм самиці хлориду кадмію достовірно підвищує рівень цинку в організмі ембріонів (рис.3.4). Рівень цинку в групі контролю на 13-ту добу становить $15,3 \pm 4,1$ мкг/г, а на 19-ту добу зростає до $21,15 \pm 7,3$ мкг/г. Кадмієва інтоксикація вагітних самиць призводить до збільшення рівню цинку в ембріонах на 13-ту добу $30,1 \pm 2,42$ мкг/г, а на 19-ту добу $34,0 \pm 3,31$ мкг/г.

Таким чином, хронічне введення хлориду кадмію в організм вагітної самиці зазначеним способом та в зазначеній дозі викликає не лише підвищення рівню кадмію в організмі ембріонів, але і підвищення рівню цинку в ембріонах на обох досліджуваних термінах в експерименті на щурах (рис.3.4).

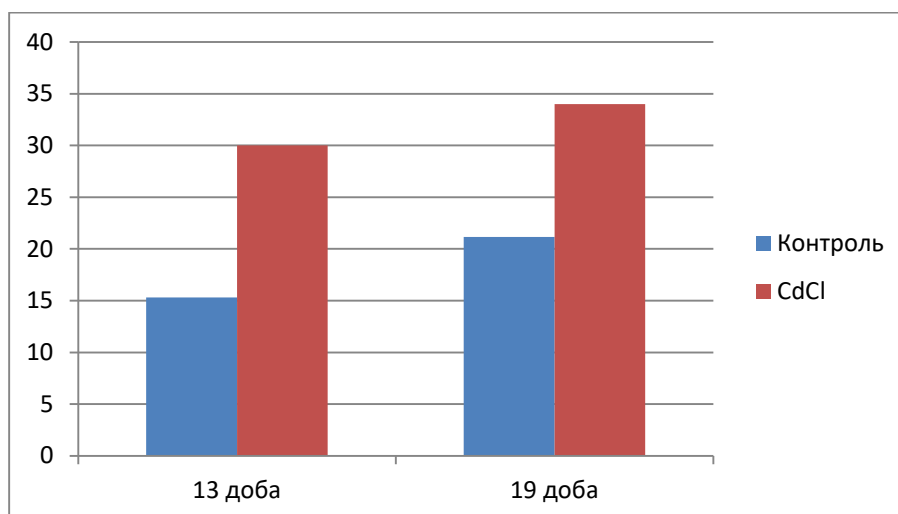


Рисунок 3.4. Динаміка показників накопичення цинку (мкг/г) в ембріонах групи ізольованого введення хлориду кадмію і в контрольній групі на 13-ту та 19-ту добу ембріогенезу.

Аналіз показників накопичення міді в організмі ембріонів, які опосередковано через материнський організм отримували кадмій показав наступне. В контрольній групі рівень накопичення міді в ембріонах на 13-ту добу становить $0,925 \pm 0,134$ мкг/г, а на 19-ту добу $0,9815 \pm 0,095$ мкг/г, тобто не має достовірної різниці на досліджуваних термінах. В групі введення хлориду кадмію рівень міді знижується в порівнянні до контролю і становить на 13-ту добу $0,8 \pm 0,034$ мкг/г, а на 19-ту добу $0,832 \pm 0,038$ мкг/г (рис.3.5).

Таким чином, хронічне введення хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг призводить до перерозподілу інших мікроелементів, таких як цинк та мідь не лише в організмі вагітної самиці, а і в організмі ембріона в експерименті на щурах. Фактично, введення хлориду кадмію провокує виникнення диселементозів (мікроелементозів) в організмі дорослої вагітної самиці та в організмі ембріона. Мікроелементоз — це захворювання, або синдроми, у генезі розвитку яких лежать недостатність або надлишок мікроелементів, їх дисбаланс, аномальне співвідношення макро- і мікроелементів.

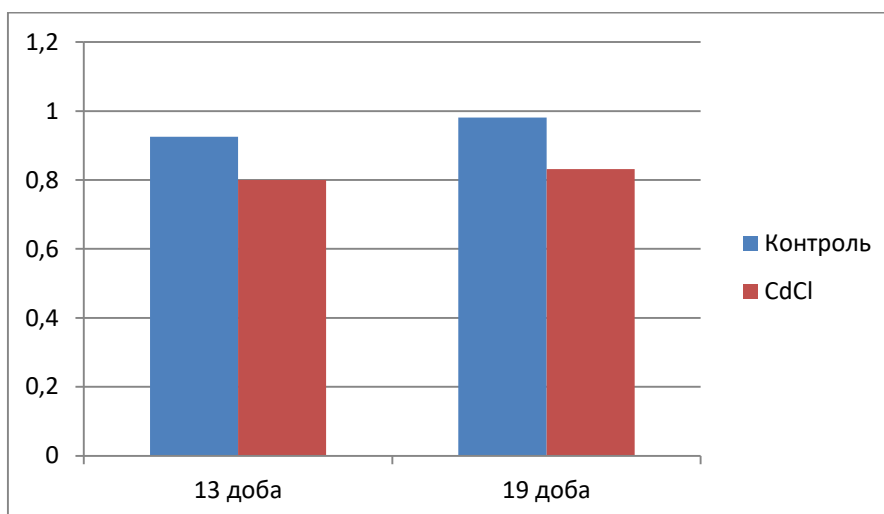


Рисунок 3.5. Динаміка показників накопичення міді (мкг/г) в ембріонах групи ізольованого введення хлориду кадмію і в контрольній групі на 13-ту та 19-ту добу ембріогенезу.

Використання поліелементного аналізу продемонструвало, що ізольоване хронічне внутрішньошлункове введення розчину кадмію хлориду у дозі 2,0 мг/кг призводить до достовірного зростання рівню кадмію ($p \leq 0,05$) в нирках самиць на обох досліджуваних термінах. Цей факт ми пояснюємо функціональними особливостями нирок як органу екскреції, а саме - кадмій затримувався нирками для подальшого виведення. Але експериментально доведено, що введення кадмію хлориду призводить до змін рівню цинку та міді як в організмі вагітної самиці, так і в організмі ембріонів. Таким чином, ми експериментально визначили, що ступінь накопичення кадмію, цинку та міді в нирках і крові дорослих самиць та в ембріонах щурів при ізольованому внутрішньошлунковому введенні хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг призводить до диселементозу по дослідженим металам, а кадмій має виражену ембріотропну дію.

3.2. Аналіз динаміки змін показників ембріонального розвитку при ізольованому хронічному впливі хлоридом кадмію на вагітних самиць

Зростання інтересу у всьому світі до вивчення впливу факторів середовища проживання на зростання так званої неінфекційної патології та масових захворювань людини та тварин пов'язаних з техногенними геохімічними аномаліями в навколишньому середовищі є важливим підґрунтям для дослідницьких морфологічних експериментальних розробок. Важкі метали, як і раніше, залишаються однією з пріоритетних груп забруднюючих речовин, що мають як локальне, регіональне, і глобальне поширення, а токсична дія хімічних елементів пов'язана з їхньою всмоктуваністю у шлунково-кишковому тракті. Токсичність важких металів залежить від концентрації, тривалості дії, температури, насиченості води киснем та багатьох інших чинників. Однією з головних причин цього прийнято вважати надмірний вміст в організмі мікроелементів, які надають ембріотоксичну дію. На жаль, досить активні дослідження з впливу важких матеріалів на організм майже не торкаються досліджень з виявлення ступеню їх ембріотоксичності і можливої їх тератогенності. Увага дослідників головним чином зосереджена на вивченні біологічних ефектів впливу важких металів на клітинному рівні або в сільськогосподарському напрямку.

Можливу негативну дію досліджуваних речовин на ембріональний розвиток ми визначали за здатністю підвищувати рівень ембріональної смертності, загальний розвиток плодів оцінювали за відповідності таблицям нормального ембріонального розвитку за Гамбургером та Гамільтоном (НН – Hamburger end Hamilton) [Астауров]. Окрім біохімічних показників ураження організму, що підлягає впливу шкідливих ксенобіотиків в ембріологічних дослідження використовується багато критеріїв для встановлення ступеню ембріотоксичності того чи іншого чинника. Дані критерії базуються на дослідженні самих ембріонів. В різні періоди ембріогенезу критерії нормального розвитку є різними.

На початкових стадіях ембріонального розвитку такими критеріями є торсія та флексія ембріону. Саме ці фактори згинання (флексія) та скручування (торсія) забезпечують нормальне протікання органогенезу в організмі, що розвивається. Тому на 13-ту добу експериментального дослідження нами визначались наступні показники ембріотоксичності ізолюваного впливу хлоридом кадмію: вагові показники ембріонів, торсія, флексія, зовнішні вади розвитку, що визначались візуально. Наприкінці ембріогенезу критерії ембріотоксичності змінюються, а саме - тепер в нормі відбулося випрямлення ембріону і збереження флексії шийного відділу свідчить про відставання розвитку ембріону, а також з'являються ряд критеріїв таких як складки шкіри, закладки вібрис, відокремлення вушної раковини, формування повік, розподіл пальців на кінцівках та ін.

В експерименті всі самиці вижили, були активні і добре споживали їжу і воду. Вилучення ембріонів згідно задачам проводили на 13-ту та 19-ту добу ембріогенезу оперативно під тіопенталовим наркозом самиць. Обрахування та аналіз отриманих даних показників ембріотоксичності показав наступне.

Вже під час оперативного вилучення ембріонів звернув на себе увагу той факт, що в групі ізолюваного введення хлориду кадмію спостерігалось зменшення кількості ембріонів та їх асиметричне розташування в рогах матки самиць (рис.3.6).

Така ситуація свідчить про негативний вплив хлориду кадмію на морфофункціональний стан яєчників самиці та регуляцію імплантації і ембріогенезу в експерименті на щурах. Як відомо, сполуки кадмію мають високий рівень гонадотоксичності і викликають порушення їх функціонального стану. В нашому експерименті таке порушення призводило до асиметричного розташування ембріонів зі значною перевагою кількості ембріонів в одному розі матки у 34,2% самиць групи ізолюваного впливу хлоридом кадмію.

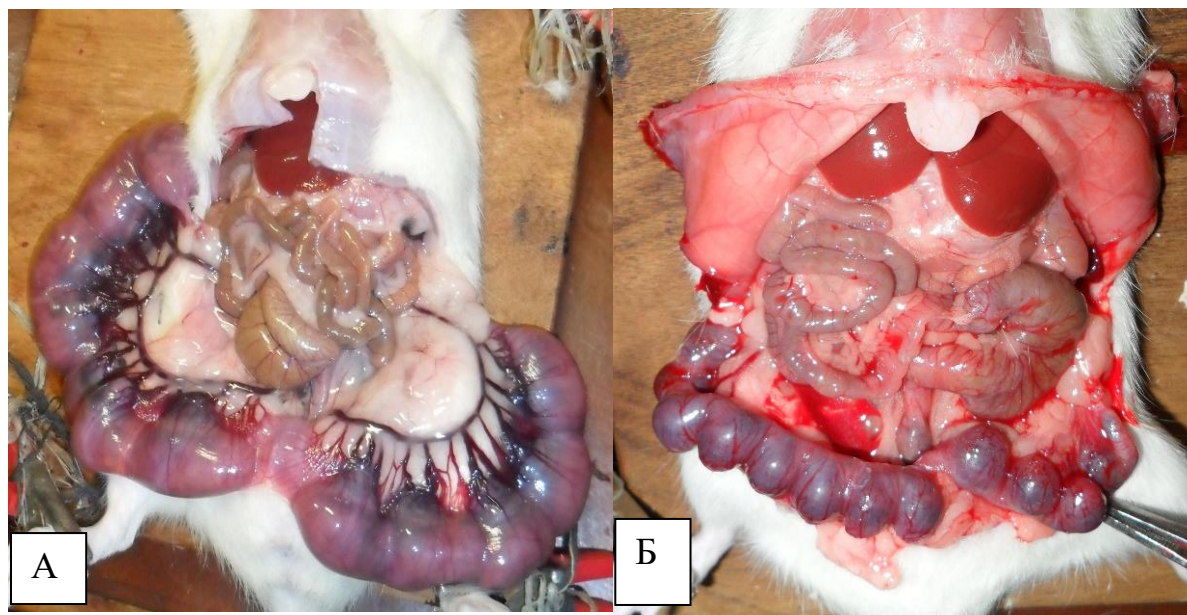


Рисунок 3.6 – Симетричне розташування ембріонів в рогах матки самиці щура контрольної групи (А) та асиметричне розташування ембріонів у рогах матки в групі ізольованого введення хлориду кадмію (Б).

Для виконання поставленої мети нами обраховувались кількісні показники чисельності ембріонів у групах на двох термінах ембріонального розвитку, кількість резорбцій в рогах матки та усі види ембріональної смертності, які є стандартними показниками ембріотоксичності. Підрахування жовтих тіл вагітності в яєчниках самиць надало можливість розрахувати показники смертності ембріонів. Ембріональну смертність пов'язують як із розвитком самого ембріона так і з впливом ендогенних і екзогенних факторів на організм, тому розрахування показників доімплантаційної, післяімплантаційної та загальної ембріональних смертностей разом з показниками кількості ембріонів у посліді та ваговими показниками ембріонів є важливими критеріями ембріотоксичності для дослідників.

Загальна ембріональна смертність (ЗЕС) розраховується з різниці кількості жовтих тіл в яєчниках самиць та кількості живих ембріонів в маткових трубах. Показники ЗЕС корелюють з доімплантаційною (ДІС) та післяімплантаційною (ПІС) ембріональними смертностями. В розрахуванні показника ДІС

враховуються як кількість живих ембріонів так і кількість резорбцій ембріонів в маткових трубах та їх різниця з кількістю жовтих тіл вагітності. А розрахунок ПС визначає співвідношення мертвих та резорбованих ембріонів до загальної кількості з живими. Фактично, загальна ембріональна смертність залежить від рівня ДІС та ПС в експериментальній групі. Загалом всі отримані дані характеризують як загальний хід ембріонального розвитку так і репродуктивний стан яєчників самої самиці щура в експерименті.

Обрахування та аналіз отриманих даних показників ембріотоксичності кадмію показав наступне. На 13-ту добу ембріонального розвитку в контрольній групі середній показник кількості ембріонів в посліді становив $13,25 \pm 0,25$. В групі ізольованого впливу хлоридом кадмію спостерігалось суттєве зниження кількості ембріонів, а саме - $9,0 \pm 0,53$ (рис. 3.7). Зниження кількості ембріонів супроводжувалось збільшенням резорбцій.

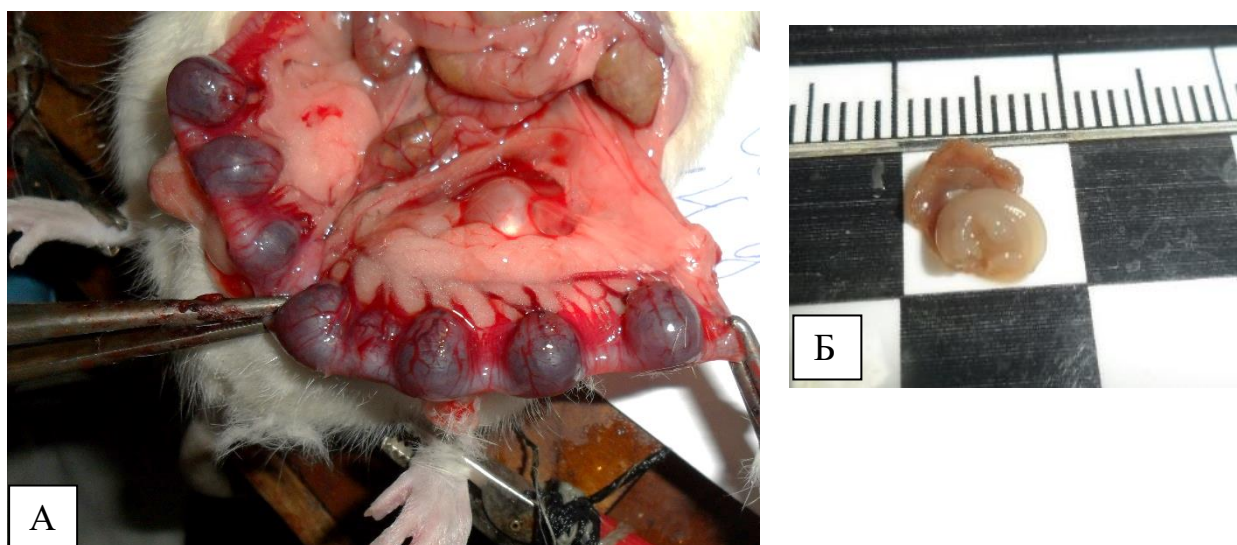


Рис.3.7. Матка з ембріонами самиці щура 13-ї доби вагітності під час оперативного вилучення (група ізольованого введення хлориду кадмію) - А. Б — ембріон щура з плацентою 13-ї доби ембріогенезу, вилучений з матки. Фото зроблено на калібрувальній поверхні для співставлення розмірів (довжина стінки квадрату 10мм).

Загальна ембріональна смертність в контрольній групі становила $0,03 \pm 0,01$, тоді як в групі ізольованого введення хлориду кадмію збільшувалась (з достовірністю $p=0,001$) до $0,25 \pm 0,03$. ДІС присутня і в контролі - $0,03 \pm 0,01$, але вплив кадмію підвищував даний показник до $0,09 \pm 0,02$. Показники ПС

відповідно становили: $0,01 \pm 0,01$ в контролі та $0,17 \pm 0,03$ при хронічному впливі кадмієм. Відзначалось також і зниження вагових показників ембріонів в групі впливу хлоридом кадмію, хоча і без достовірної різниці з контрольною групою.

Порівняння зовнішніх критеріїв розвитку ембріонів 13-тої доби ембріогенезу експериментальної групи до контролю відповідності стадіям розвитку за НН показало наступне. У 26,4% були зменшеними кут флексії та торсія, а також досить часто спостерігалось збільшення середнього мозкового пухиря на тлі зменшення шийного вигину (рис.3.8). Бруньки кінцівок відповідали стадії розвитку, формування структур голови та ступеню редукції видимих сомітів також не мали відхилень від норми.

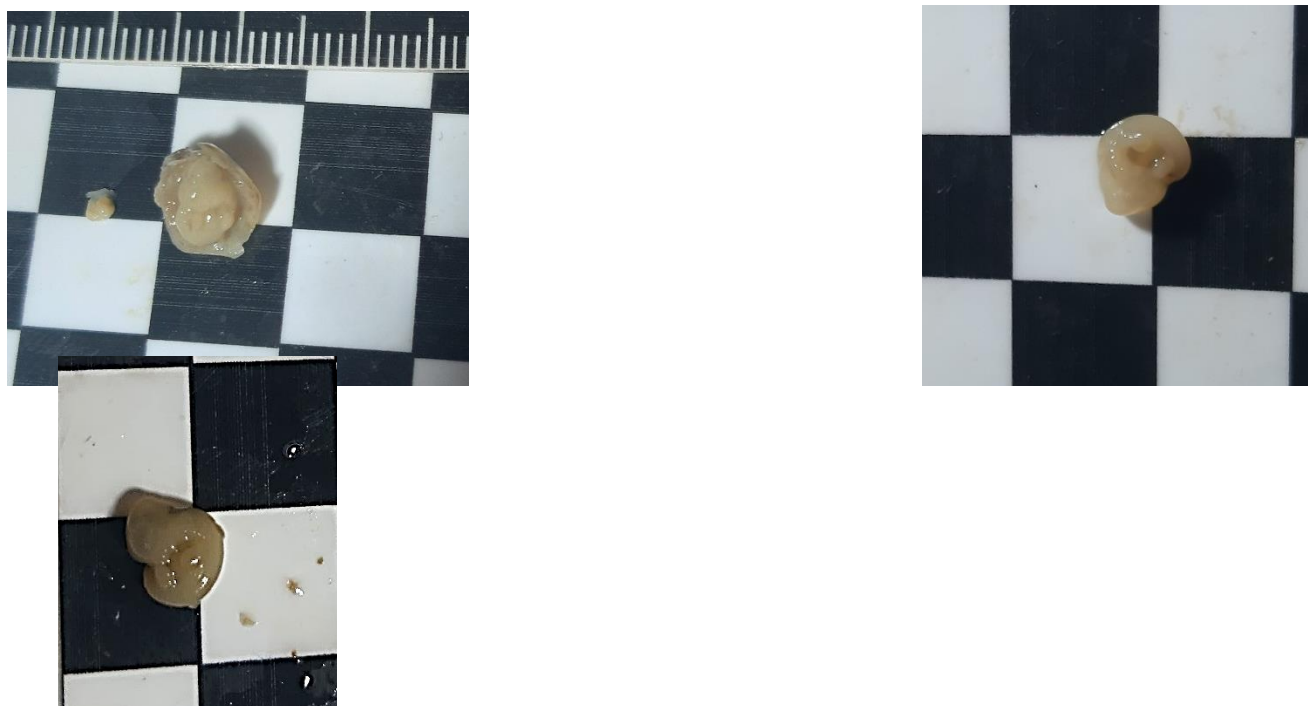


Рис.3.8. Ембріон щура 13-ї доби в розрізаній матки (А) та вилучений з матки ембріон (Б) (контроль). В - ембріон щура 13-ї доби ембріогенезу, групи ізольованого впливу хлоридом кадмію. Добре помітний набряк середнього мозкового пухиря. Фото зроблено на калібрувальній поверхні для співставлення розмірів ембріону. Довжина стінки квадрату – 10мм.

Таким чином, за всіма критеріями ембріотоксичності, ізольоване введення хлориду кадмію на 13-ту добу ембріогенезу має виражену ембріотоксичну дію на даному етапі ембріонального розвитку, що виражається в зниженні кількості

ембріонів у посліді, зниженні вагових показників ембріонів та підвищенні всіх видів ембріональної смертності.

Наступним часовим пунктом дослідження була 19-та доба вагітності, тобто закінчення ембріогенезу щура, бо народження щурят відбувається на 20-21 добу ембріогенезу. І на цьому терміні вагітності в групі ізольованого впливу визначались випадки асиметричного розташування ембріонів в рогах матки (рис.3.9) та резорбції ембріонів. Поряд з частковою асиметрією розташування ембріонів в рогах матки, спостерігались приклади повної асиметрії розташування, коли всі ембріони містилися лише у одному розі матки і були відсутні в протилежному - контрлатеральному (рис.3.9). Така ситуація безумовно свідчить про порушення функціонального стану яєчників самиці під впливом хлориду кадмію.

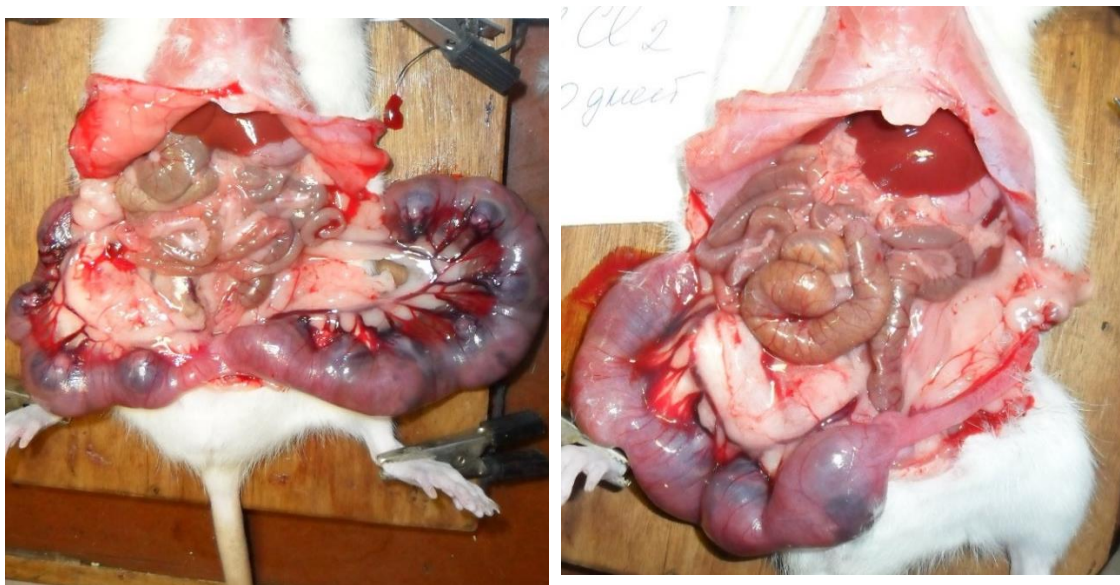


Рис.3.9. Асиметричне розташування ембріонів у рогах матки самиці щура 19-ї доби вагітності групи ізольованого введення хлориду кадмію: А – часткова асиметрія. Б – повна асиметрія.

Під час оперативного вилучення ембріонів та нирок самиць звертав на себе увагу високий рівень кровонаповнення маткових судин з підвищеним рівнем звивистості судин, високим рівнем кровонаповнення вирізнялись плаценти в групі впливу хлоридом кадмію, а ембріони мали темний колір покривів.

Аналізуючи самі ембріони, вперше в 2 випадках у самиць, які підлягали впливу хлоридом кадмію нами були виявлені артефакти серед вилучених ембріонів (рис.3.10). Виявлено 1 ембріон з відсутністю розвитку головного відділу та резорбований ембріон на пізніх етапах розвитку з нормально розвинутою плацентою. Представлені артефакти заносились до протоколу, але в подальшому не досліджувались гістологічно.

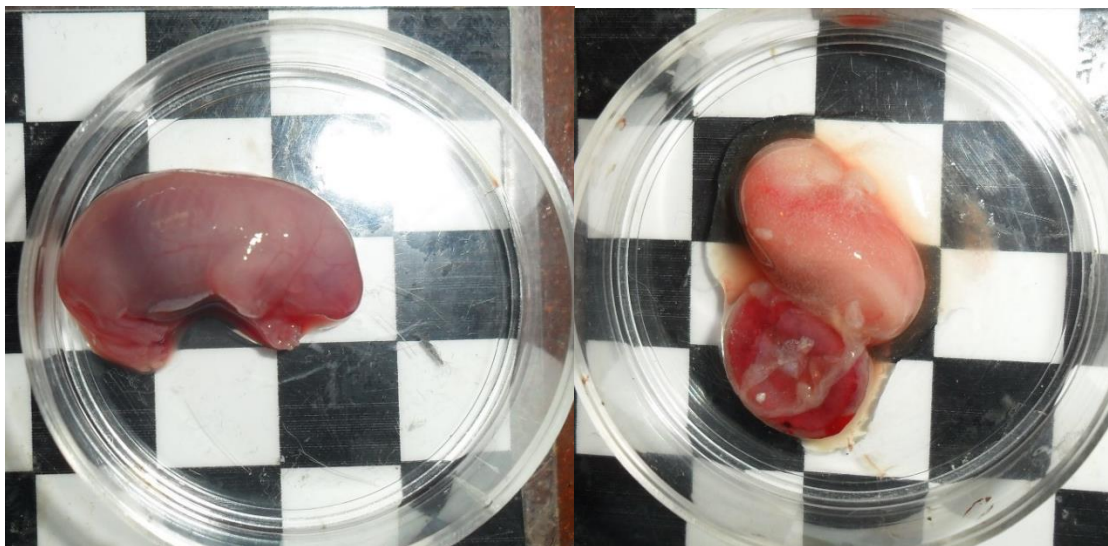


Рис.3.10. Артефакти розвитку ембріонів щура 19-ї доби вагітності групи ізольованого введення хлориду кадмію: А – відсутність головного відділу. Б – неповна резорбція ембріону. Фото зроблено на калібрувальній поверхні для співставлення розмірів ембріону. Довжина стінки квадрату – 10мм.

Ембріони на цьому терміні експерименту також вилучались, зважувались, перевірялись на тест «живі-мертві», уважно оглядались і у них вилучали нирки з метою отримання масометричних показників та подальшого гістологічного дослідження (див. вище рис.2.7).

Вагові показники ембріонів є беззаперечним фактом шкідливого впливу ксенобіотиків на нормальний хід ембріогенезу. Показники середніх значень вагових показників ембріонів 19-тої доби розвитку у самиць, що підлягали впливу хлоридом кадмію був нижчим за контрольний і становив $2,51 \pm 0,62$ г (контроль - $2,84 \pm 0,53$ г).

В групі ізольованого впливу кадмію на 19-тій добі ембріонального розвитку спостерігалась та ж сама тенденція до зниження кількості ембріонів - $9,20 \pm 0,76$ (контроль - $13,75 \pm 0,31$), що є логічним, тому що опосередкований вплив розчином кадмію тривав. Маса ембріонів на цьому терміні була достовірно нижча ($p=0,05$) за контрольні показники, але загальних візуальних ознак відставання у розвитку у виживших ембріонів за загальноприйнятими критеріями не визначалось (рис.3.11).

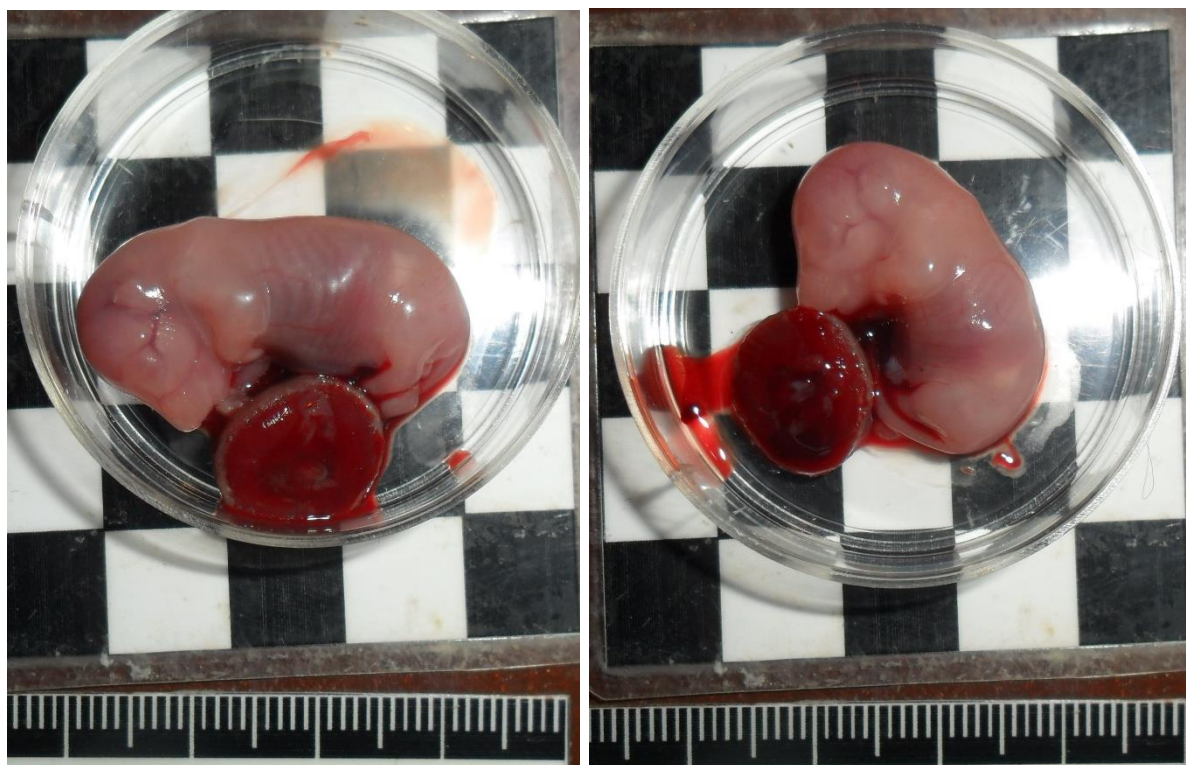


Рис.3.11. Ембріони щура з плацентою 19-ї доби розвитку вилучені з матки, нефіксовані: А. – контроль; Б — ембріон групи ізольованого введення хлориду кадмію. Фото зроблено на калібрувальній поверхні для співставлення розмірів об'єкту. Довжина стінки квадрату 10мм.

Обрахування показників ембріотоксичності хронічного ізольованого впливу хлоридом кадмію наприкінці ембріогенезу продемонструвало наступне. Показник загальної ембріональної смертності (ЗЕС) визначався як і на рівні 13-ї доби - $0,25 \pm 0,05$ (контроль $0,07 \pm 0,01$), але рівень доімплантаційної смертності ембріонів (ДІС) перевищував такий на 13-ту добу ізольованого введення кадмію і становив - $0,13 \pm 0,03$. Постімплантаційна смертність ($0,14 \pm 0,03$) на даному

терміні дослідження не мала достовірної різниці з терміном 13-ї доби, але достовірно перевищувала ($p=0,05$) контрольні показники ($0,03\pm0,01$).

Таким чином, аналіз отриманих числових показників продемонстрував високий ступінь ембріотоксичності ізольованого введення хлориду кадмію в досліджуваній дозі та способу введення в експерименті на щурах. Отримані показники середніх значень кількості ембріонів, загальної ембріональної смертності, доімплантаційної та післяімплантаційної ембріональних смертностей демонструють негативний вплив ізольованого впливу хлориду кадмію на перебіг вагітності та розвиток ембріонів в хронічному експерименті на щурах.

3.3. Аналіз впливу хлориду кадмію на морфогенез нирок вагітних самиць щура

Сечоутворювальна та сечовидільна (екскреторна) функції нирок полягають в утворенні сечі шляхом фільтрації плазми крові та реабсорбції назад у кров корисних для організму продуктів обміну речовин. З сечею, що утворюється в нирках, виділяються кінцеві продукти азотистого обміну речовин (сечовина, сечова кислота, аміак, креатин, креатинін), токсичні, лікарські речовини та ін. Нирки беруть участь у підтримці загального кислотно-лужного гомеостазу та регуляції водно-сольового обміну, вони регулюють обсяг рідин організму, у тому числі і тканинної рідини, та вміст у них мінеральних речовин. Особливо важливою є роль нирок у підтримці гомеостазу натрію, зміна екскреції натрію навіть менш ніж на 1% може спричинити великі зрушення обсягом позаклітинної рідини, а потім - і обсягом циркулюючої крові. Крім натрію, нирки виводять із організму калій, кальцій, магній, хлор, неорганічні аніони та підтримують в організмі постійний рівень цих речовин. При порушенні зазначеної функції можуть виникати або зневоднення організму, або набряки (ниркові набряки). Регулювання артеріального тиску здійснюється шляхом регуляції вмісту натрію та води у внутрішньому середовищі організму та участі нирок у роботі ренін-ангіотензин-альдостеронової системи.

Важлива також ендокринна функція нирок - це синтез біологічно активних речовин: реніну, еритропоєтину, еритрогеніну, простагландинів, біогенних амінів, вітамінів кальцитріолу, кініногеніну, ряду інтерлейкінів. Ренін бере участь у роботі ренін-ангіотензинальдостеронової системи, що регулює водно-сольовий обмін та артеріальний тиск. Еритропоєтин стимулює в еритропоезі утворення проеритробластів та вивільнення ретикулоцитів з кісткового мозку. Крім того, в нирках секретується еритрогенін, який стимулює перетворення в плазмі крові еритропоєтиногену в еритропоєтин. Простагландини мають судинорозширювальну дію і регулюють мікроциркуляцію, таку ж дію мають біогенні аміни. Кініногенін каталізує перетворення кініногенів на кініни, які мають судинорозширювальну дію. Кальцитріол сприяє всмоктуванню кальцію в кишечнику та мінералізації кісток. Нирки грають всеосяжну роль обміні речовин. Особливо важливе їх значення не лише у водно-сольовому обміні, а і в обміні білків та вуглеводів. Нирки поряд з печінкою є основними органами глюконеогенезу, який відіграє особливу роль в адаптивних процесах організму. Участь нирок у роботі системи згортання/протизгортання крові полягає у виробленні урокінази (активатора плазміногену, фактора фібринолізу) та фактора активації тромбоцитів. В ембріональному періоді у мезенхімі нирок протягом певного часу здійснюється кровотворення. Тому порушення морфологічних структур нирок під впливом негативних чинників буде мати дуже широкі наслідки для організму.

Нирки щура розташовуються на дорзальній поверхні черевної порожнини, ретроперітонеально, на верхньому полюсі нирок розташовані залози внутрішньої секреції – наднирники. Для визначення впливу досліджуваних сполук на морфологію нирок вагітних самиць, нами на 13-тій та 19-тій добі оперативно вилучались нирки, зважувались та фіксувались для подальшого виготовлення гістологічних зрізів. Фіксовані нирки візуально досліджувались на виявлення потенційних морфологічних змін, розрізи за поперечною та фронтальною площинами дозволяли дослідити мозковий та корковий шари і стан ниркових мисок (рис.3.12).



Рис. 3.12. Нирки самиці щура 19-ї доби вагітності, фіксовані групи ізольованого введення хлориду кадмію: А – ціла нирка; Б — поперечний зріз; В – фронтальний зріз. Фото зроблено на калібрувальній поверхні для співставлення розмірів об'єкту. Довжина стінки квадрату 10мм.

Макроскопічний аналіз показав, що нирка самиць щурів має бобоподібну форму, щільно-еластичної консистенції, поверхня її гладенька, верхній та нижній полюси мають округлу форму, внутрішні шари диференціюються на мозкову речовину та кіркову. Присередній край нирки щура містить ниркові ворота, які ведуть у ниркову пазуху, де містяться малі та великі чашечки, ниркова миска, починається сечовід, а також проходять судини та нерви (рис.3.13). Ззовні кожна нирка вкрита сполучнотканинною капсулою, від якої відходять у паренхіму сполучнотканинні волокна. На подовжніх та поперечних зрізах добре визначається зональність паренхіми нирок. Сама паренхіма складається з кіркового та мозкового шару, межа між якими не є чіткою і рівною (рис.3.13).

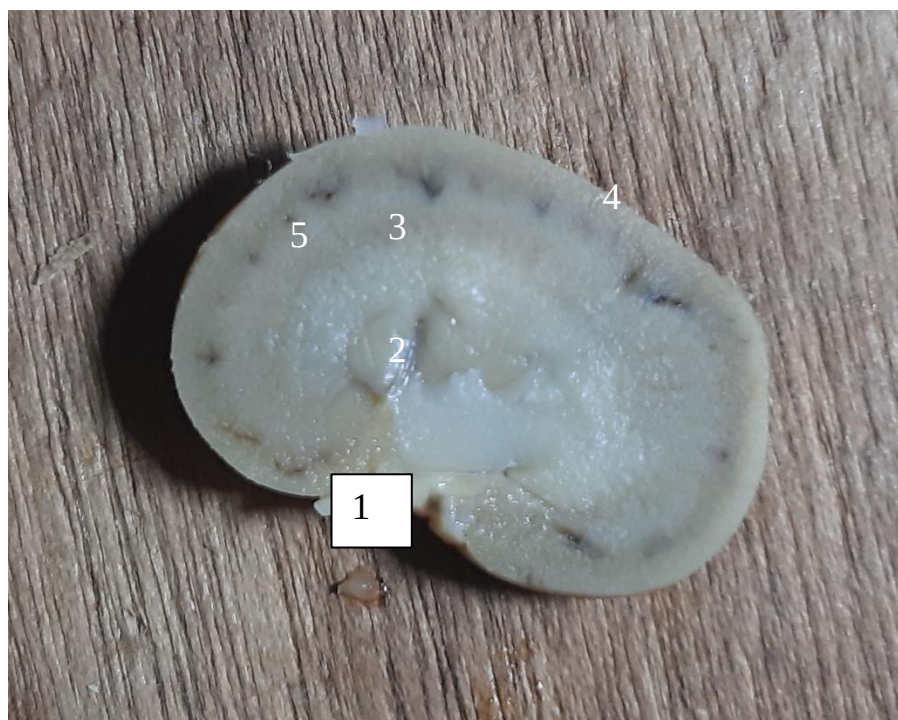


Рис.3.13. Фронтальний зріз фіксованої нирки самиці щура 19-ї доби групи ізольованого введення хлориду кадмію:

1. Ниркові ворота.
2. Ниркова миска.
3. Великі чашки.
4. Кіркова речовина.
5. Мозкова речовина.

Кіркова речовина займає зовнішню поверхню нирки, містить найбільшу частину нефронів, мозкова речовина розташована у внутрішній частині органу, утворює ниркові піраміди, які своїми верхівками обернені до ниркової миски. Широкі основи пірамід повернуті у бік кіркової речовини, вершини пірамід називаються сосочками, що звернені до початкового відділу сечовивідних шляхів до ниркової миски. На поверхні сосочків відкриваються сосочкові канали, які збирають сечу із збірних проток і переходять у малі чашечки. Останні продовжуються у великі чашечки і далі у ниркову миску. Мозкова піраміда і прилегла до неї зовні частина кіркової речовини називається нирковою часткою. У щурів нирка складається лише з однієї-трьох пірамід.

Обрахування масометричних показників виявило наступне: права нирка має більшу масу у порівнянні до лівої у всіх групах. Тому нами розраховувався середній ваговий показник обох нирок. Середня маса обох нирок самиць в контрольній групі становила на 13-ту добу експерименту $0,737 \pm 0,019$ г, а на 19-ту добу - $0,790 \pm 0,03$ г. Тобто, наприкінці ембріогенезу маса нирки вагітної самиці в контролі недостовірно збільшувалася, а в групі ізольованого введення хлориду кадмію середня маса нирок на 13-тій добі ембріогенезу становила $0,730 \pm 0,015$ г, а на 19-ту добу - $0,751 \pm 0,014$ г, що було недостовірно нижче контрольних показників.

Нирки морфологічно і фізіологічно є надзвичайно складним органом, основні функції якого - екскреція продуктів метаболізму з організму та регуляція водного та електролітного балансу і синтез ферментів метаболізму реніну, який бере участь в утворенні ангіотензину, альдостерону. Кров по нирковим судинам доставляється до нефронів. Нефрон – це функціонально-морфологічна одиниця нирки, яка складається з судинної частини та боуменової капсули (рис.3.14). Судинна частина містить приносну артеріолу, капілярний клубочок, виносну артеріолу. Боуменова капсула оточує судинний клубочок та здійснює фільтрацію первинної сечі та переходить до системи звивистих і прямих каналців, що зв'язують боуменову капсулу з збиральною трубкою, по якій сеча виділяється з органу. Капілярний клубочок нефрону - складно організований молекулярний фільтр, який є проникний для більшості ксенобіотиків та продуктів метаболізму власне ендогенних речовин. Завдяки наявності процесів фільтрації в структурах нефрону, токсиканти, які виділяються з сечею підлягають процесу високої концентрації, головним чином в проксимальних відділах ниркових каналців і в інтерстиціальній тканині нирок.

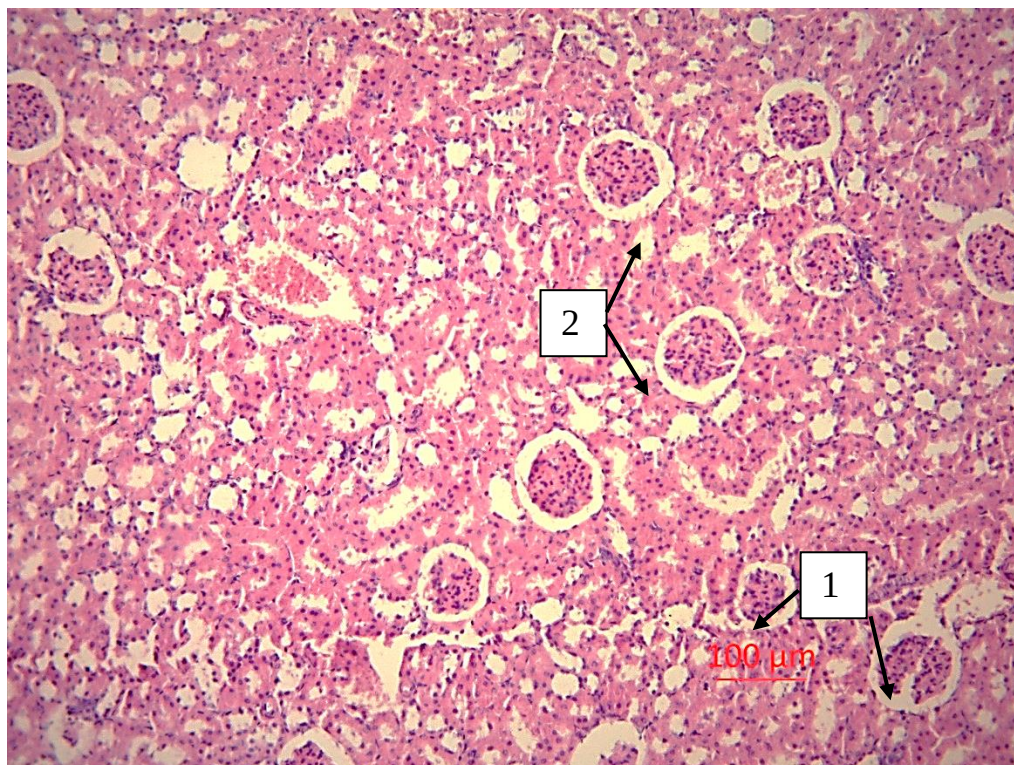


Рис.3.14. Гістологічний зріз кіркової зони нирки самиці щура 13-ї доби експерименту контрольної групи. Забарвлення: гематоксилін Генденгайна. 36.10x10. Позначення: 1. Судинний клубочок. 2. Капсула нефрону. Вказано стрілками.

Структурно-функціональною одиницею нирки є нефрон. Він являє собою систему структур, що складається з капсули нефрону і каналців, які переходять один в одного: проксимальних звивистого і прямого, тонкого сегмента, дистальних звивистого та прямого. Сам нефрон має судинний та сечовий полюси (рис.3.15). Судинний полюс ниркового клубочка розташований в місці входження в нього приносячої артеріоли, де формується навколочлубочковий (юктагломерулярний) комплекс. В даний комплекс входять скупчення епітеліоїдних клітин, які утворюють манжету довкола приносячої артеріоли, спеціалізованих клітин "щільної плями" дистального відділу ниркового каналця і мезангіальних клітин, що заповнюють простір між капілярами. Функцією цього комплексу є контроль артеріального тиску і водно-сольового обміну в організмі, шляхом регуляції секреції реніну (регуляція артеріального тиску) і швидкості кровотоку по приносячій нирковій артеріолі.



Рис.3.15. Мікрофото гістологічного зрізу паренхіми нирки самиці контрольної групи. Ниркове тільце. Забарвлення гематоксилін еозин. 36.40x10. Позначення :1 – судинний полюс. 2 – сечовий полюс. 3 – судинний клубочок. 4 – капсула нефрону..

Таким чином, нефрон приймає участь в патогенезі токсичних уражень нирок. В петлі Генле (тонкий сегмент) відбувається подальша концентрація сечі завдяки механізму контротоку. Деякі речовини, наприклад анальгетики, сечовина, що не реабсорбуються в проксимальних канальцях, інтенсивно концентруються в петлі Генле. Найвища концентрація таких речовин відзначається в мозковому шарі нирок. Сечовий полюс нирки прилеглий до початкового сегменту проксимального канальця нефрону, в якому виділяють звивисту та пряму частини.

Важливою функцією нирок, що позначається на нефротоксичності ряду речовин, є їх здатність до метаболізму ксенобіотиків. Спорідненість метаболічних процесів, що протікають в нирках та печінці, обумовлює практично однакову чутливість цих органів до дії багатьох ксенобіотиків, у тому

числі і важких металів. Капсула нефрону має структуру двохстінної чаші, до якої входить принося артеріола, утворює капілярну первинну сітку, яка є важливою функціональною структурою ниркового тільця (Мальпігієве тільце). Сама капсула нефрону складається з двох листків: вісцерального внутрішнього та парієтального зовнішнього, між листками знаходиться порожнина капсули, в яку надходить первинна сеча (рис.3.16).

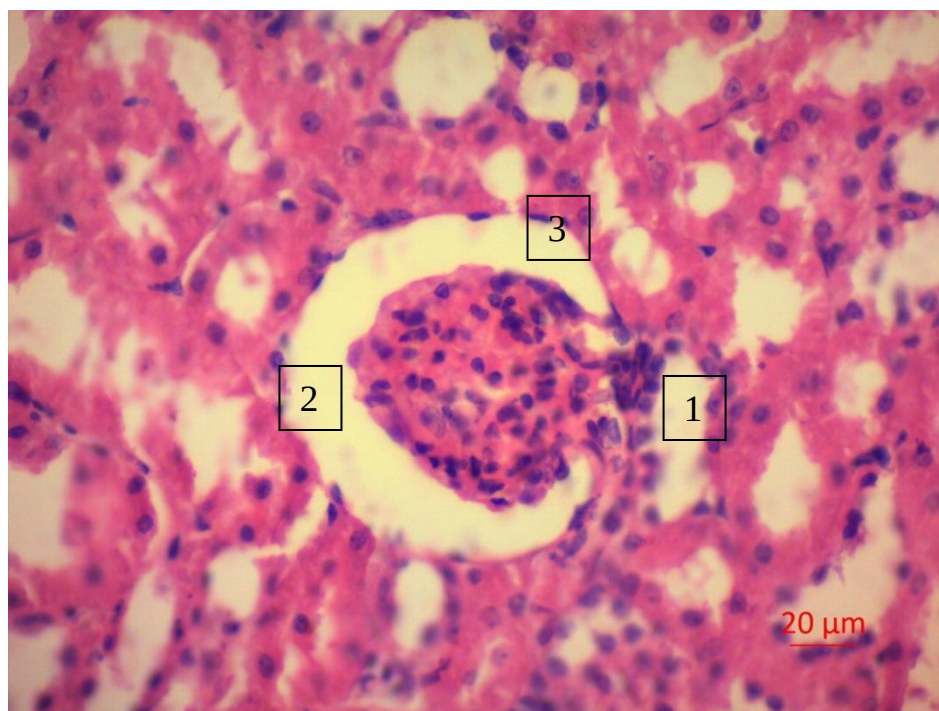


Рис.3.16. Мікрофото гістологічного зрізу паренхіми нирки самиці групи ізольованого введення хлориду кадмію на 13-ту добу експерименту. Капсула ниркового тільця. Забарвлення гематоксилін еозин. 36.40x10. Позначення :1 – судинний полюс та щільна пляма. 2 – збільшена порожнина капсули нефрону. 3 – парієтальний листок капсули нефрону.

Вісцеральний листок капсули нефрону вкриває судинний клубочок та складається зі специфічних клітин – подоцитів. Подоцити – це особливі спеціалізовані клітини, що мають цитотрабекули та цитоподії, між якими розташовані так звані щілинні діафрагми – фільтраційні щілини, завдяки яким подоцити виконують функцію фільтраційного бар'єру та здатні приймати участь у фагоцитозі. Зовнішній парієтальний листок капсули нефрону утворений

епітеліоцитами, які в області судинного полюса переходять у внутрішній (вісцеральний) листок (рис.3.17).

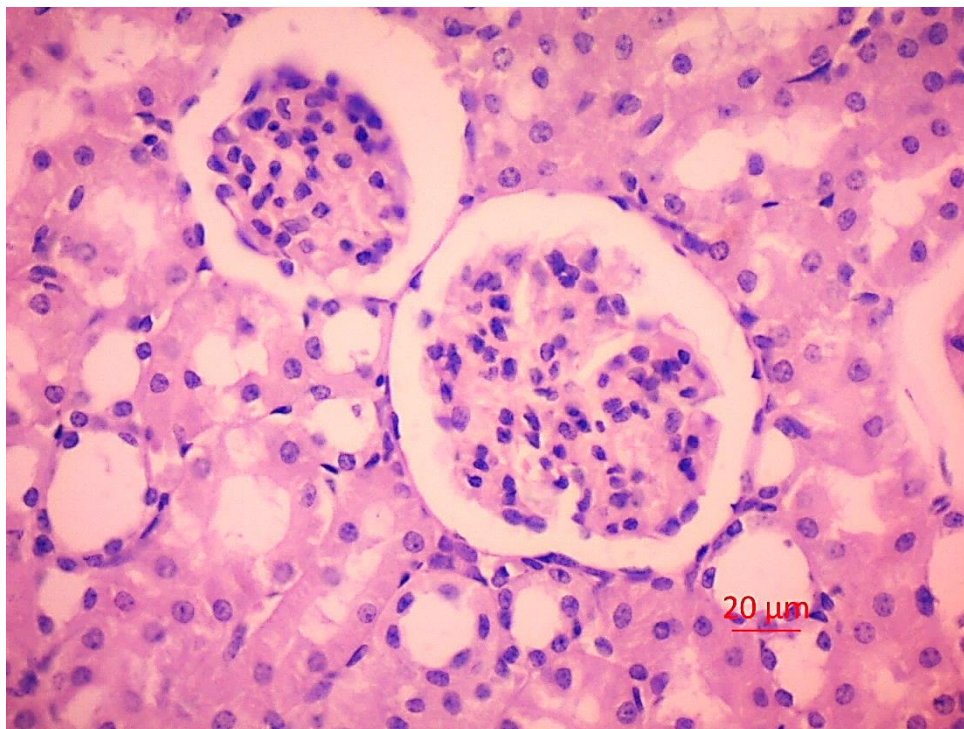


Рис.3.17. Фото гістологічного зрізу паренхіми нирки самиці щура групи введення хлориду кадмію на 13-ту добу експерименту. Забарвлення гематоксилін-еозин.36.10x40.

На гістологічних цифрових фото ми проводили вимірювання методом сплайнового контуру площі капсули нефрона та площі клубочка, що дозволило розрахувати індекс площі ниркового тільця нефрона. Даний показник дає змогу оцінити ступінь ураження структурно-функціональної одиниці нирки – нефрону. Під час вагітності відбуваються морфофункціональні зміни в нирках самиці: наприкінці вагітності в контролі спостерігається зменшення співвідношення площі капсули до площі клубочка нефрону. Такі зміни є фізіологічними і пов'язані зі збільшенням морфо-фізіологічного навантаження на нирки вагітної самиці.

Виконуючи поставлені завдання для досягнення мети експериментального дослідження, на гістологічних зрізах нирок дорослих вагітних самиць методом

сплайнового контурінгу обраховували площу усього нефрону, площу судинного клубочку, що за різницею надало можливість вирахувати площу капсули нефрону та за формулою обрахувати індекс площі нефрону. В контрольній групі на 13-ту добу індекс площі нефрону нирок самиць щура становив $76,6005 \pm 3,5$, а в групі ізолюваного впливу кадмієм визначалось зменшення індексу площі капсули нефрону $50,0481 \pm 1,8$ (рис.3.18).

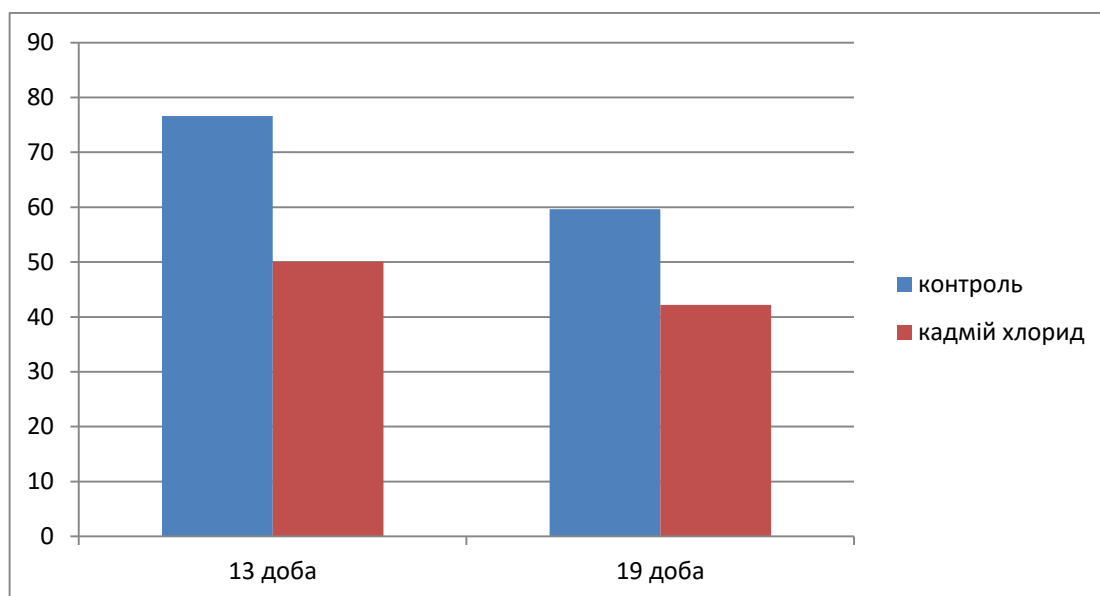


Рис. 3.18. Індекс площі судинного клубочку нефрону нирок самиць щура в контрольній групі та групі ізолюваного введення хлориду кадмію на обох термінах вагітності.

На 19-тій добі експерименту досліджувані параметри становили $59,6469 \pm 4,5$ у контролі, тобто в порівнянні до терміну 13-тої доби вагітності визначалось в нормі ущільнення капсул нефронів вагітних самиць. В групі ізолюваного впливу хлоридом кадмію показники також продовжували зменшуватись до $42,1633 \pm 2,8$. Така різниця була достовірною ($p < 0,001$) (рис.3.17). У 63,4% досліджень в групі ізолюваного введення хлориду кадмію визначалось розширення капсули нефрону. Отримані дані свідчать про формування та наростання набряку в капсулі нефрону нирок вагітних самиць щурів під хронічним впливом хлориду кадмію.

Окрім збільшення площі капсули нефрону в нашій експериментальній групі визначались наступні зміни гістологічного рівня в нефронах. У 42,7% досліджень гістологічних зрізів паренхіми нирок дослідних тварин спостерігалися ознаки проявів фокально-сегментарного гломерулосклерозу, коли до патологічного процесу залучались окремі клубочки (фокальні зміни), в яких можливі прояви склерозу деяких сегментів судинного клубочка (сегментарні зміни) (рис. 3.19).

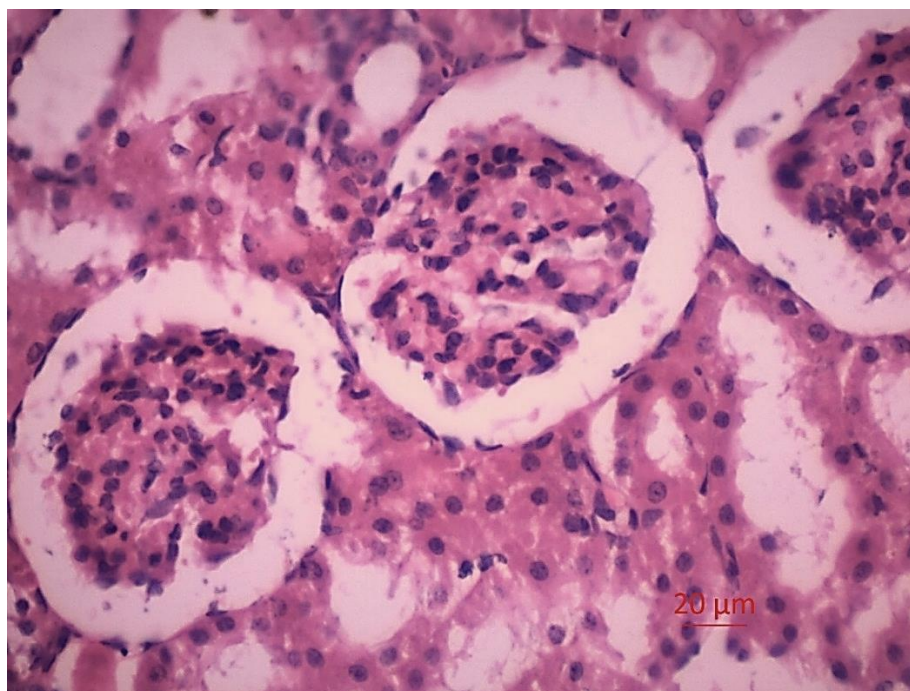


Рис.3.19 Мікрофото гістологічного зрізу паренхіми нирки самиці щура групи ізольованого введення хлориду кадмію на 19-ту добу експерименту. Збільшення порожнини капсули ниркових тілець. Забарвлення гематоксилін еозин.36.40x10.

Гістологічні зміни які можуть свідчити про ознаки склерозу структур клубочку виявлявся не у всіх нефронах одночасно та мав частковий характер. Таким чином, ми спостерігали зміни на гістологічному рівні паренхіми нирок, що формуються при хронічному введенні хлориду кадмію у вагітних самиць. Отримані результати беззаперечно доводять нефротоксичність хлориду кадмію в зазначеній дозі та способі введення в хронічному експерименті на вагітних самицях щурів.

Зміни в клубочках нефронів виявлялися в різних його частинах, проте найчастіше зустрічались в області, ближче розташованій до судинного полюсу, тобто до входу і виходу артеріол з клубочка, а також в місці виходу з капсули клубочка проксимального канальця.

Спочатку вражаються юстагломерулярні клубочки, потім ушкодження стає більш генералізоване. У сегментах з проявами ознак склерозу спостерігаються зміни базальних мембран, збільшення мезангіального матриксу і накопичення гіалінових мас (гіаліноз), іноді з ліпідними краплями. Ми спостерігали впродовж впливу хлоридом кадмію зміни юстамедулярних нефронів, що проявлялись у збільшенні самих нефронів поєднаних з розширенням капсули та ознаками склерозу судин клубочку. Визначалось також вже з 13-тої доби експерименту збільшення діаметру проксимальних канальців нефронів у нирках дослідних тварин при впливі хлоридом кадмію. В контрольній групі на 13-ту добу експерименту даний показник становив в середньому $17,24 \pm 1,32$ мкм, а в групі впливу кадмієм діаметр достовірно ($p=0,001$) збільшувався до $25,67 \pm 2,58$ мкм. Хронічний вплив хлоридом кадмію на 19-ту добу викликав достовірне збільшення діаметру проксимальних канальців нефронів нирок до $29,62 \pm 2,91$ мкм (контрольний показник на цьому терміні дослідження дорівнював $19,19 \pm 2,48$ мкм). Таким чином, наприкінці експерименту, тобто на 19-ту добу дослідження прояви вищезазначених гістологічних змін ставали виразнішими (рис.3.19, 3.20)).

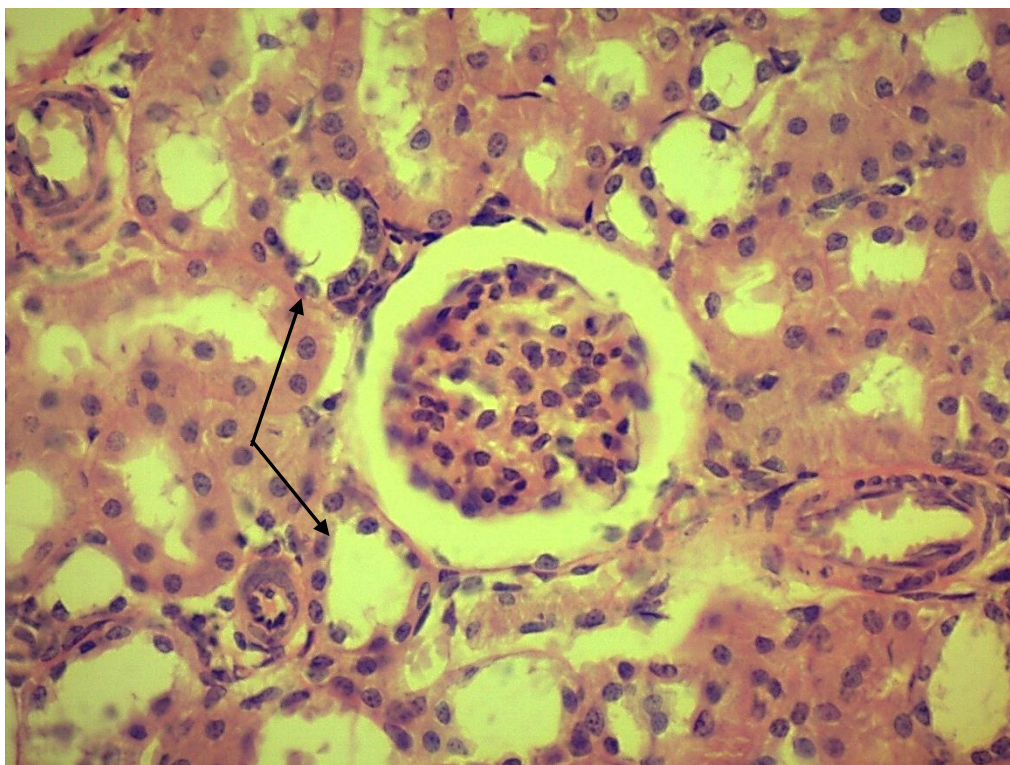


Рис. 3.20 Мікрофото гістологічного зрізу паренхіми нирки самиці щура групи введення хлориду кадмію на 19-ту добу експерименту. Збільшення діаметру проксимальних канальців (вказано стрілками), ущільнення та ознаки фрагментарного склерозування судинного клубочку нефрону. Забарвлення гематоксилін еозин.36.40x10.

На гістологічних зрізах також визначалось збільшення діаметру проксимальних канальців нефрону, ущільнення та ознаки фрагментарного склерозування судинного клубочку різного ступеню (рис.3.20).

Таким чином, будучи основним органом виведення з організму ксенобіотиків взагалі і кадмію зокрема, нирки служать мішенню для їх токсичної дії. Хронічний вплив хлориду кадмію на вагітну самицю щура призводить до морфологічних змін в нирках самиці. Такі зміни визначаються як на вагових показниках нирок, так і на морфологічній структурі паренхіми нирок. В нашій експериментальній роботі визначались наступні зміни вже з 13-тої доби введення хлориду кадмію у порівнянні до контролю: зниження вагових показників нирок, збільшення площі капсули нефрону, ущільнення судинного клубочку нефрону, ознаки виникнення фокального гломерусклерозу, збільшення діаметру проксимальних канальців нефрону.

3.4. Аналіз впливу хлориду кадмію на морфогенез нирок ембріонів щура

Нами також досліджувались морфологічні зміни нефрогенезу у ембріонів щура, які опосередковано через материнський організм підлягали впливу хлоридом кадмію.

Початок органогенезу нирок щура стартує на 13-тій стадії пренатального розвитку за Hamburger and Hamilton (HH), що відповідає 10-11 добі ембріогенезу, а джерелом закладки та розвитку є проміжна мезодерма - нефротом. Каудальний відділ нефротому не сегментований і називається нефрогенною тканиною. Загальновідомо, що у розвитку нирок виділяють три послідовні базові стадії: пронефрос, мезонефрос, метанефрос, між якими можуть визначатися і проміжні перехідні стадії. Пронефрос є примітивним типом нирки, який функціонує як екскреторний орган лише у нижчих риб, починаючи з амфібій пронефрос після ембріональної закладки швидко підлягає редукції, а функцію фільтрації і виділення приймає на себе мезонефрос. У ембріонів ссавців пронефрос не функціонує і редукується відразу після закладки, але сама протонефрична протока з'єднується з каналцями мезонефросу та перетворюється на важливий ембріональний зачаток – мезонефральну (Вольфову) протоку.

Формування стадії ембріонального розвитку нирки мезонефрос (первинна нирка) проходить за рахунок злиття дорзальних сегментів нефротому з паралельним утворенням метанефридій (рис.3.21).

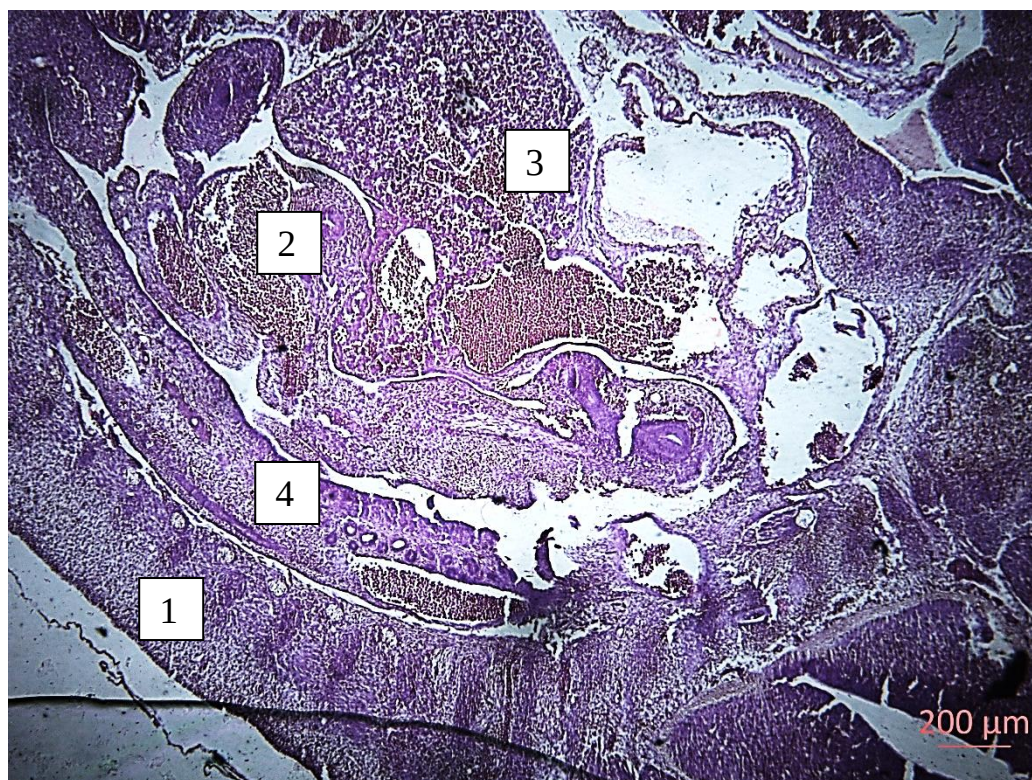


Рис. 3.21. Мікрофото гістологічного зрізу ембріона щура групи введення хлориду кадмію на 13-ту добу експерименту. Забарвлення гематоксилін еозин.36.4x10. Позначення: 1. Дорзальні соміти; 2. Серце ембріона; 3. Печінка ембріона; 4. Мезонефральна тканина з метанефрідами та протоками.

Метанефрідії мають трубчасту вигнуту S-подібну форму та з'єднують мезонефральну протоку з закладкою судинного клубочку, формуючи капсулу нефрону. Капсула обростає судинними гілочками, що відходять від аорти та приймають участь у формуванні ниркового тільця, в якому починається фільтрація з плазми крові кінцевих продуктів обміну речовин. Мезонефрос у ссавців також функціонує короткий час, а далі підлягає редукції, проте в чоловічому організмі частина його каналців приймає участь в утворенні статевих органів (структур яєчка і придатка) на етапах раннього ембріонального розвитку. Як дефінітивний орган сечоутворення та сечовиділення в дорослому організмі мезонефрос існує тільки у амфібій і вищих риб.

Метанефрос, або вторинна нирка у ссавців, починає формуватися на 14-15-ту доби ембріогенезу щура, що відповідає 17-18 стадії нормального розвитку ембріона за НН. Вона утворюється з несегментованої частини нефротому -

нефрогенної тканини (нефрогенна бластема) і мезонефральної протоки, утворюючи всі частини нефронів майбутньої дефінітивної нирки. З мезонефральної протоки, а саме з вип'ячувань (метанефральних дивертикулів) утворюється епітелій збірних протоків, сосочкових каналів, мисок, чашок, сечоводів (рис. 3.21; 3.22).

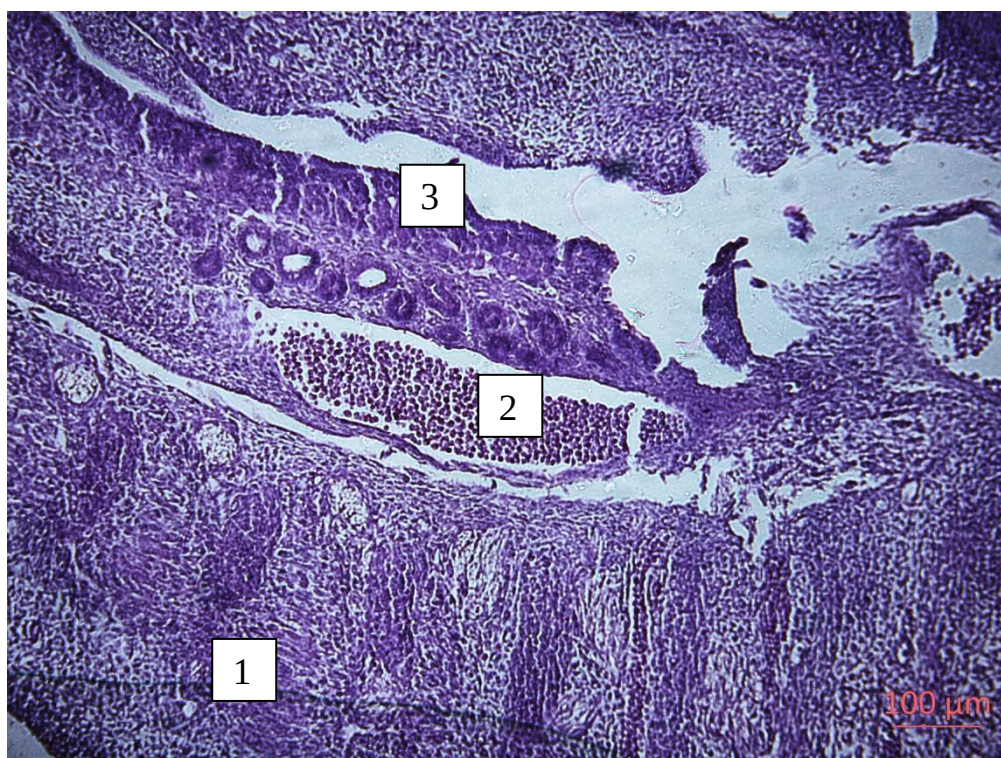


Рис. 3.22. Мікрофото гістологічного зрізу мезонефральної тканини ембріона щура групи введення хлориду кадмію на 13-ту добу експерименту. Забарвлення гематоксилін еозин. 36.10×10 . Позначення: 1. Дорзальні соміти; 2. Дорзальна аорта; 3. Мезонефральні протоки.

У каудальному відділі мезонефральної тканини шляхом диференціювання відбувається закладка та формування простих первинних гломерулонефронів, які на відміну від нефрону пронефросу мезонефральні гломерули містять судини, які утворені артеріальними гілками, що відходять від аорти, та формують систему звивистих каналців. Формування у мезонефросі мезонефральних клубочків, розмежованих прошарками ущільнених мезенхімальних клітин, відбувається досить стрімко. Вже на 13-14-тій добі ембріогенезу щура визначаються закладки гломерулонефронів, які здатні до вибіркової фільтрації, а

також реабсорбції солей, глюкози, води (рис.3.23). Проте видільна функція мезонефросу несуттєва, а основна ембріональна полягає в утворенні провізорної мезонефральної протоки та формуванні сечовивідного тяжу, з якого в подальшому утворюється сечовидільна система вторинної нирки.

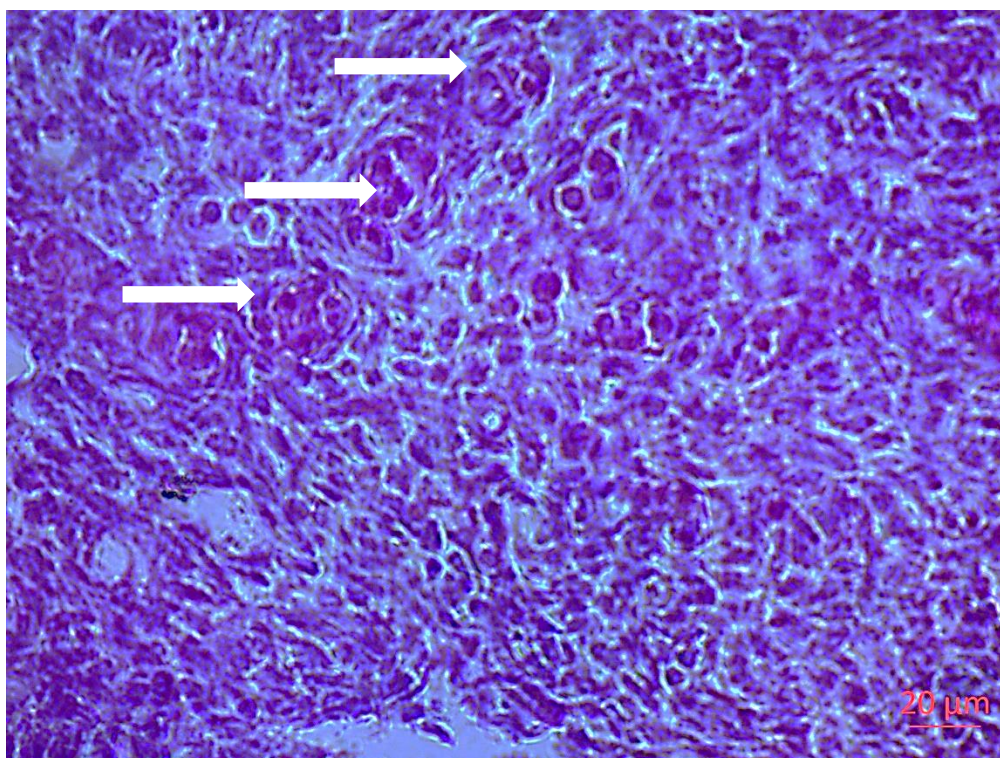


Рис. 3.23. Мікрофото гістологічного зрізу мезонефральної тканини ембріона щура групи введення хлориду кадмію на 13-ту добу експерименту. Стадія формування простих гломерулонефронів (вказано стрілками). Забарвлення гематоксилін еозин. 36.40x10.

В наших дослідженнях на 13-тій добі ембріогенезу на гістологічних препаратах визначався активний розвиток мезонефросу ембріона щура у вигляді протоки, товщина якої в контролі становила $174,72 \pm 11,54 \mu\text{m}$. Ембріональний розвиток мезонефросу відбувається паралельно з утворенням метанефридій, які відкриваються у мезонефричну (вольфову) протоку. При впливі хлоридом кадмію на вагітну самицю в нирках ембріонів 13-ї доби спостерігалось потовщення мезонефральної протоки до $253,41 \pm 18,75 \mu\text{m}$ та зменшення кількості метанефридій з розширенням їх діаметру.

Загальновідомим є той факт, що причинами багатьох захворювань новонароджених і дітей грудного віку є порушення процесів пренатального

морфогенезу. Саме тому, останнім часом питання закладки, становлення та розвитку майбутніх органів і систем все частіше стають об'єктом підвищеної уваги серед науковців усього світу. Також, слід зауважити, що ретельне вивчення процесів формування певних патологічних станів дозволить краще зрозуміти патогенез майбутніх захворювань та надасть змогу вибрати оптимальний план лікування природженої патології, дозволить удосконалити існуючі методи хірургічних втручань та полегшить розробку нових способів хірургічної корекції уроджених вад розвитку сечо-статевої системи.

Відповідно до завдань дослідження, наступним часовим пунктом нами визначалась 19-та доба ембріогенезу. На цей термін експерименту нирки вилучались у ембріонів під час оперативного забою самиць, ембріони рахувались, зважувались, дані вносили до протоколу. У ембріонів видалялись нирки (рис. 3.24), які оглядались та зважувались для обрахування нефрофетального індексу. В наших експериментальних дослідженнях всі нирки у пізніх ембріонів локалізувались в дорзальній поверхні черевної порожнини, ретроперітонеально, без видимих патологій. На 19-ту добу ембріогенезу ми спостерігали метанефрос як завершальний етап розвитку нирки щура, основні функції якого - екскреція продуктів метаболізму з організму, регуляція водного та електролітного балансу, синтез реніну, деяких простагландинів. На верхньому полюсі нирок вже сформовані наднирники.



Рис. 3.24. Макрофото ембріона щура групи введення хлориду кадмію на 19-ту добу експерименту під час вилучення нирок оперативним шляхом.

Таким чином, у переживших негативний вплив хлориду кадмію ембріонів нирки мали бобоподібну форму та класичний колір, нормальну топографію (рис. 3.25). Аномалій розвитку нирок та видимих вад нефрогенезу в нашому експериментальному дослідженні не зустрічалось. В подальшому після фіксації та виготовлення гістологічних зрізів, нирки досліджували гістологічно.

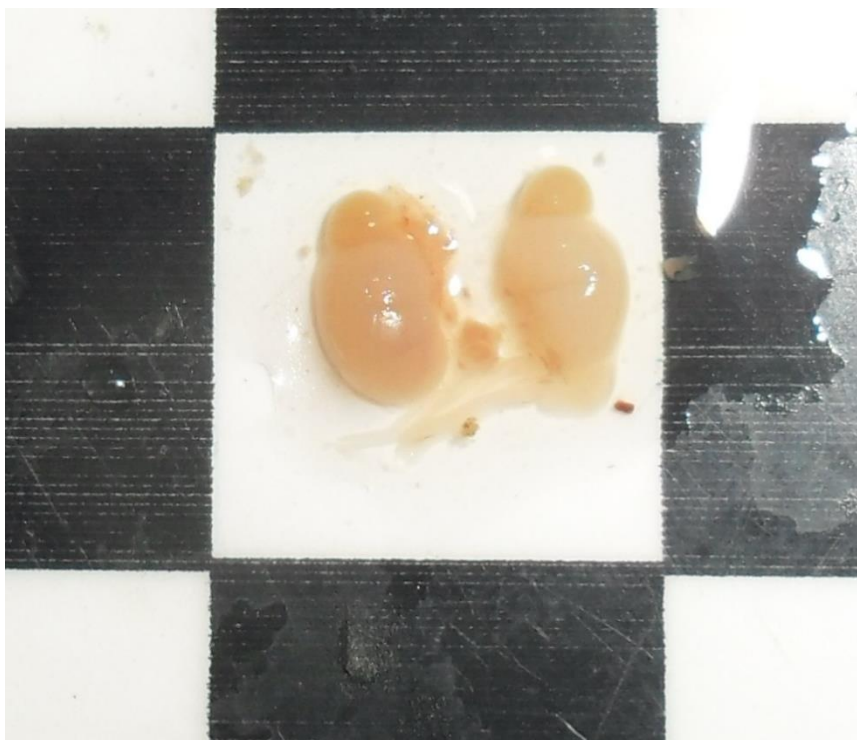


Рис. 3.25. Макрофото вилучених нирок з наднирниками ембріона щура групи введення хлориду кадмію на 19-ту добу експерименту. Фото зроблене на калібрувальній поверхні (довжина стінки квадрату – 10мм).

Для визначення впливу хлориду на кадмію на нефрогенез ембріонів щура наприкінці ембріогенезу на гістологічних препаратах досліджували етапи формування структур паренхіми нирок. На 19-ту добу пренатального розвитку щура ми також досліджували структуру та розміри нефронів та визначали обрахуванням зміни числових показників в порівнянні до контролю.

Обрахування площі порожнини капсули нефрону методом сплайнового контуру продемонструвало зниження середніх показників площі в групі впливу хлоридом кадмію до $635,9844 \pm 57,82 \text{ мкм}^2$ по відношенню до контрольних середніх значень – $1471,59 \pm 19,18$, що свідчить про порушення нефрогенезу та фільтраційної здатності нирок у ембріонів, що опосередковано через інтоксикацію материнського організму пережили хронічний вплив ксенобіотику (рис. 3.26).

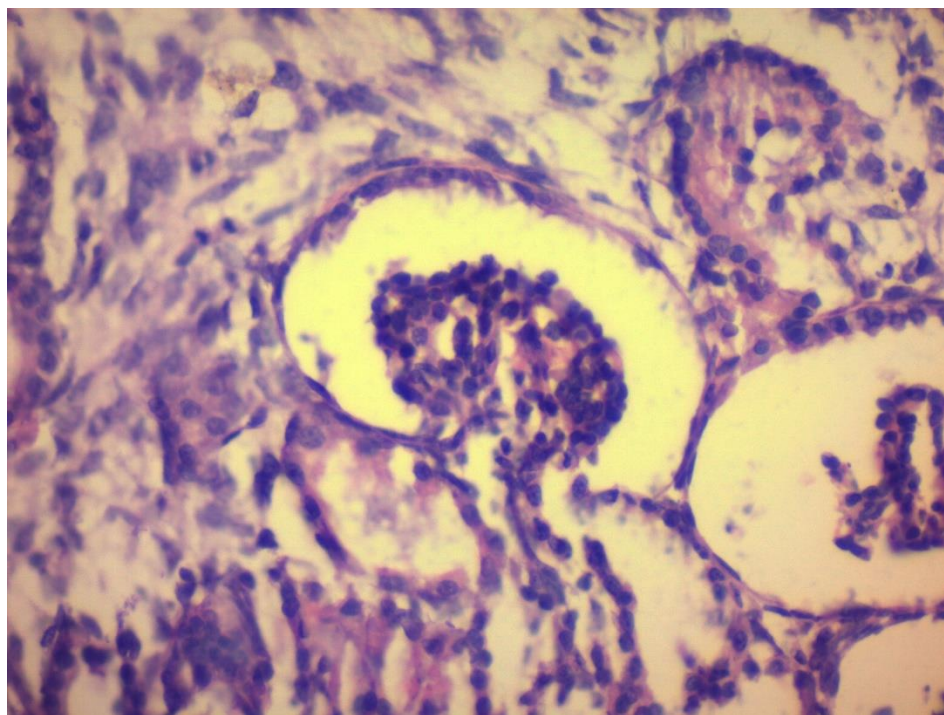


Рис.3. 26. Мікрофото гістологічного зрізу паренхіми нирки ембріона щура групи введення хлориду кадмію на 19-ту добу експерименту. Ниркові тільця мають збільшення порожнини капсули нефрону. Забарвлення гематоксилін еозин.36.40x10.

Таким чином, узагальнюючи всі отримані результати, можна провести певні паралелі між рівнем накопичення кадмію нирками і морфологічними змінами паренхіми нирок не лише дорослих щурів, а й ембріонів як на 13-ту, так і на 19-ту добу ембріогенезу.

ВИСНОВКИ ЗА РОЗДІЛОМ

1. Ізольоване введення хлориду кадмію призводить до зсувів мікроелементного балансу (диселементозів) в крові і нирках дорослих самиць щурів та ембріонів в межах досліджуваних термінів, що проявляється достовірним зростанням рівню кадмію ($p \leq 0,05$) в нирках самиць на обох досліджуваних термінах на тлі зниження маси нирок вагітних самиць в порівнянні до контролю. Хронічне введення кадмію викликало достовірне зниження рівню мікроелементу цинку в тканинах нирок самиць, в той же час рівень накопичення міді достовірно не змінювався і тримався на рівні контрольних показників.

2. Ізольоване введення хлориду кадмію вагітним самицям достовірно збільшує рівень кадмію та знижує рівень цинку в ембріонах як на 13-ту так і на 19-ту добу експерименту. Таким чином, хронічне введення хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг призводить до перерозподілу інших мікроелементів, таких як цинк та мідь не лише в організмі вагітної самиці, а і в організмі ембріона в експерименті на щурах.

3. Хронічне введення хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг має виражений ембріотоксичний вплив на показники ембріонального розвитку: кількість ембріонів, загальна ембріональна смертність, доімплантаційна та постімплантаційна ембріональні смертності в експерименті на щурах. На 13-ту добу ембріонального розвитку вплив хлоридом кадмію призводить до достовірного зниження показників кількості ембріонів ($9,0 \pm 0,53$) в порівнянні до контрольної групи ($13,25 \pm 0,25$). На 19-тій добі ембріогенезу визначалась та ж сама тенденція до зниження кількості ембріонів - $9,20 \pm 0,76$ (контроль - $13,75 \pm 0,31$). Зниження кількості ембріонів супроводжувалось збільшенням резорбцій та зниженням вагових показників ембріонів.

4. Вплив хлоридом кадмію призводив до підвищення показників загальної, доімплантаційної та післяімплантаційної ембріональної смертності в експерименті. Таким чином, аналіз отриманих показників продемонстрував високий ступінь ембріотоксичності хлориду кадмію в досліджуваній дозі та способу введення в експерименті на щурах.

5. Нефротоксичність хлориду кадмію в зазначеній дозі проявлялась на гістологічному рівні у розширенні капсули нефрону (63,4%), що відбувалось за рахунок формування та наростання набряку в капсулі нефрону нирок вагітних самиць щурів та ознак формування фокально-сегментарного гломерулосклерозу (42,7%). При впливі кадмієм на 13-ту добу експерименту визначалось достовірне зменшення площі капсули нефрону $50,0481 \pm 1,8$ (контрольна група $76,6005 \pm 3,5$), а на 19-тій добі до $42,1633 \pm 2,8$ (контроль $59,6469 \pm 4,5$) (достовірність різниці $p < 0,001$).

6. Індекс площі нефрону нирок самиць щура при хронічному впливі кадмієм мав чітко виражену тенденцію до зменшення з достовірною різницею ($p < 0,001$) на обох досліджуваних термінах. На 13-ту добу в контрольній групі індекс площі нефрону нирок самиць щура становив $76,6005 \pm 3,5$, а в групі впливу кадмієм визначалось зменшення показника до $50,0481 \pm 1,8$. На 19-тій добі експерименту досліджувані параметри становили $59,6469 \pm 4,5$ у контролі, та продовжували зменшуватись в групі ізолюваного впливу до $42,1633 \pm 2,8$.

7. При впливі хлоридом кадмію в нирках ембріонів 13-ї доби спостерігалось потовщення мезонефральної протоки до $253,41 \pm 18,75$ мкм та зменшення кількості метанефридій з розширенням їх діаметру. На 19-тій добі експерименту ізолюване введення хлориду кадмію провокує суттєве розширення капсули нефрону у ембріонів дослідних тварин, що відбувається за рахунок формування набряку та зменшенням площі судинного тільця нефронів нирок ембріонів наприкінці ембріогенезу.

8. Отримані результати беззаперечно доводять нефротоксичність хлориду кадмію в зазначеній дозі та способі введення в хронічному експерименті на вагітних самицях щурів.

Представлені результати опубліковані в наступних роботах:

1. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Морфологічні зміни паренхіми нирок щурів при хронічному впливі хлоридом кадмію в експерименті. Журнал «Перспективи та інновації науки» (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина») 2024; № 6(40):1355-1366.[119]
2. Шаторна В.Ф., Краснов. Морфологічні зміни нефрогенезу щура за умов хронічного впливу хлоридом кадмію. Internacional Science Conference «Current methods of improving outdated technologies and methods» January 8-10, 2024. Bilbao, Spain:229-231. [120]
3. Шаторна В. Ф., Краснов О. О., Стрижак О. В. Хронічний вплив хлориду кадмію на гістологічні показники нирок щура. The 1st International scientific and practical conference “Science in the modern world: innovations and challenges” (September 27-29, 2024) Perfect Publishing, Toronto, Canada. 2024: 37-44. [121]
4. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Аналіз хронічного впливу хлоридом кадмію на нефрогенез щура. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2024; 24, 1 (85): 154-158. DOI 10.29254/2077-4214-2022-4-167-242-250 . [122]

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ СУКЦИНАТІВ МІДІ ТА ЦИНКУ НА ХІД ЕМБРІОГЕНЕЗУ ТА РОЗВИТОК НИРОК ЩУРА ТА МІКРОЕЛЕМЕНТНИЙ БАЛАНС НА ТЛІ ХРОНІЧНОГО ВПЛИВУ ХЛОРИДУ КАДМІЮ

Серед розроблюваних в сучасній морфології проблем фундаментального і прикладного характеру увагу дослідників привертає вивчення закономірностей протікання базисних процесів морфогенезу під впливом несприятливих факторів зовнішнього середовища, серед яких найбільш шкідливими є сполуки важких металів. Малодослідженими є аспекти хронічного впливу на хід ембріогенезу солей кадмію в комбінації з мікроелементами, які мають біоантагоністичні властивості відносно токсичності важких металів. Перспективними мало досліджуваними антагоністами негативного впливу солей важких металів на організм є солі бурштинової кислоти які є універсальними клітинними метаболітами. Сама бурштинова кислота є проміжним метаболітом, продуктом п'ятої реакції циклу Кребса, та стає субстратом для шостої реакції циклу Кребса. Доведено, що аніони бурштинової кислоти виявляються у всіх клітинах, які здатні до аеробного дихання, а сукцинат є потужним донором електронів та підвищує енергетику клітин і тканин. Фактично бурштинова кислота виконує каталітичну функцію в циклі Кребса та регулює концентрацію інтермедіаторів цього циклу, здатна виправляти мітохондріальні дисфункції. Таким чином, актуальним напрямком морфологічних експериментальних досліджень є пошук нових можливих біоантагоністів токсичності кадмію серед мікроелементів, що здатні впливати на диселементози, підтримуючи гомеостаз організму в тому числі і під час вагітності. В даному розділі представлені результати та обрахування показників за досліджуваними напрямками в групах комбінованого введення сукцинатів міді або цинку з хлоридом кадмію.

4. 1. Аналіз динаміки накопичення кадмію, цинку та міді в нирках самиць та ембріонах щурів груп комбінованого введення кадмію з сукцинатами міді та цинку.

Як і в попередньому розділі, аналіз змін накопичення мікроелементів проводився за двома напрямками: накопичення кадмію, цинку та міді в нирках та крові самиць і в ембріонах всіх експериментальних груп. Порівняння отриманих даних дозволило визначити позитивний або негативний вплив сукцинатів міді або цинку на зсуви мікроелементного балансу в крові та нирках дорослих самиць щурів та ембріонів впродовж ембріогенезу при комбінованому введенні кадмію з сукцинатами. Як показали результати використання поліелементного аналізу рівень накопичення кадмію в нирках самиць-щурів різних груп експерименту був вищим за контрольні показники (рис.4.1).

Кількість кадмію в нирках самиць достовірно ($p \leq 0,05$) зростала в групах ізольованого впливу кадмієм на обох досліджуваних термінах, що було логічним і прогнозованим і про ці результати наведені дані в розділі 3. Але в групах комбінованого впливу кількість кадмію в нирках самиць зростала ще більше і це зростання було достовірно вищим ($p \leq 0,001$) за контрольні показники і недостовірно перевищувало показники ізольованого впливу кадмієм. Найвищий рівень накопичення визначався в групі комбінації кадмію з сукцинатом міді. В контрольній групі рівень кадмію становив на 13-ту добу ембріогенезу $0,1990 \pm 0,0321$ мкг/г, а на 19-ту добу недостовірно знижувався до $0,1750 \pm 0,0622$ мкг/г. Така ситуація виникає за рахунок розвитку ембріонів в організмі самиці, ймовірно певна частина кадмію надходить в ембріони. В групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку рівень накопичення кадмію нирками самиць становив на 13-ту добу $5,5250 \pm 1,5131$ мкг/г, що не мало достовірної різниці з групою ізольованого введення хлориду кадмію. А на 19-ту добу експерименту рівень кадмію в нирках перевищував показник групи ізольованого впливу і становив $16,8540 \pm 4,2956$ мкг/г. Аналогічна тенденція затримки кадмію нирками визначалась і в групі комбінованого впливу кадмію з сукцинатом міді, навіть у більшому ступені. Показник накопичення кадмію

нирками на 13-ту добу становив $8,0830 \pm 1,7216$ мкг/г, а на 19-ту - $26,5180 \pm 7,1950$ мкг/г, що було найвищим показником усього експерименту (рис.4.1).

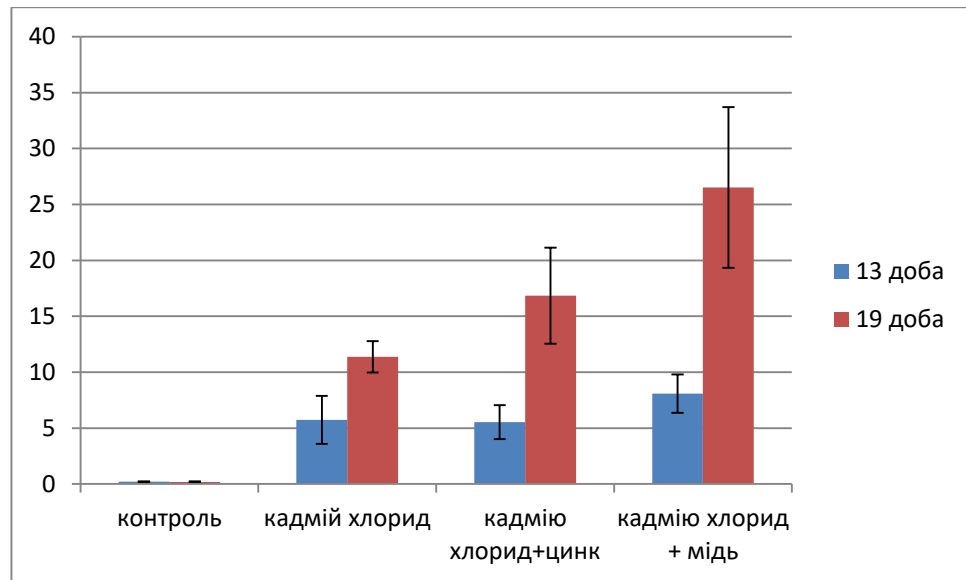


Рис.4.1. Показники накопичення кадмію (мкг/г) в нирках самиць щурів експериментальних груп на 13 та 19 добу ембріогенезу при щоденному хронічному ентеральному введенні.

Можливо такі дані свідчать про більш активні процеси затримки кадмію нирками і активізацію виведення цього токсиканту з організму, про що свідчить рівень накопичення кадмію самим ембріоном.

Аналіз результатів накопичення кадмію ембріонах експериментальних груп в порівняльному аспекті показав наступне. При хронічному щоденному впливі на вагітну самицю в групі ізольованого введення хлориду кадмію ембріони наприкінці ембріогенезу ($0,168$ мкг/г) накопичують кадмію у 10,2 рази більше за контрольні показники ($0,01645$ мкг/г). А при комбінованому введенні хлориду кадмію з сукцинатами міді/цинку рівень накопичення кадмію достовірно зменшується ($p \leq 0,05$) у порівнянні до групи ізольованого впливу кадмієм. В групі комбінації кадмію з сукцинатом цинку у 1,8 разів рівень накопичення нижчий ($0,09515$ мкг/г) в порівнянні до ізольованого введення

кадмію. А при комбінації кадмію з міддю аналогічний показник зменшується у 1,7 разів (0,1002 мкг/г) (рис. 4.2).

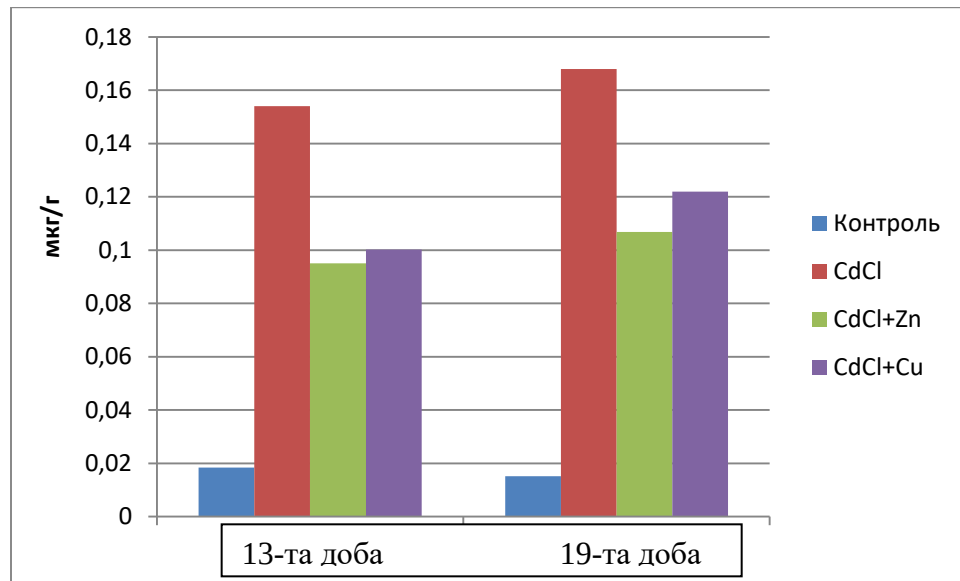


Рис.4.2. Показники накопичення кадмію (мкг/г) ембріонами щурів на 13-ту та 19-ту добу експерименту в усіх експериментальних групах.

Таким чином, комбіноване введення сукцинатів цинку або міді на тлі кадмієвої інтоксикації вагітних самиць достовірно знижує рівень накопичення кадмію в ембріонах щура в експерименті хронічного ентерального введення досліджуваних чинників в зазначених дозах. Отримані результати демонструють, що сукцинати цинку та міді можуть розглядатися як можливі потенційні біоантагоністи хлориду кадмію, що сприяють виведенню цього мікроелемента з організму ембріона при його комбінованому введенні з сукцинатами металів в експерименті на щурах.

Аналіз накопичення кадмію в крові вагітних самиць всіх експериментальних груп показав наступне. В контрольній групі досліджуваний показник був нижчий за такий в нирках самиць. Ми пояснюємо такий факт тим, що кров виконує лише транспортну функцію рознесення мікроелементів по органам і системам, а накопичення відбувається вже в певних органах, які є мішенями. Тому в крові самиць як на 13-ту так і на 19 добу рівень накопичення кадмію набагато нижчий.

Аналіз накопичення кадмію в крові вагітних самиць продемонстрував збільшення рівню в групах ізолюваного введення хлориду кадмію в порівнянні як до контрольної групи так і між групами в різні терміни дослідження. Спостерігалось збільшення рівню кадмію в крові на 13-ту добу дослідження у 3,2 рази (відносно контролю) та на 19-ту добу у 3,3 рази, при цьому, як показав аналіз отриманих даних, і показники накопичення кадмію в контролі також зростали, хоча без достовірної різниці (рис.4.3).

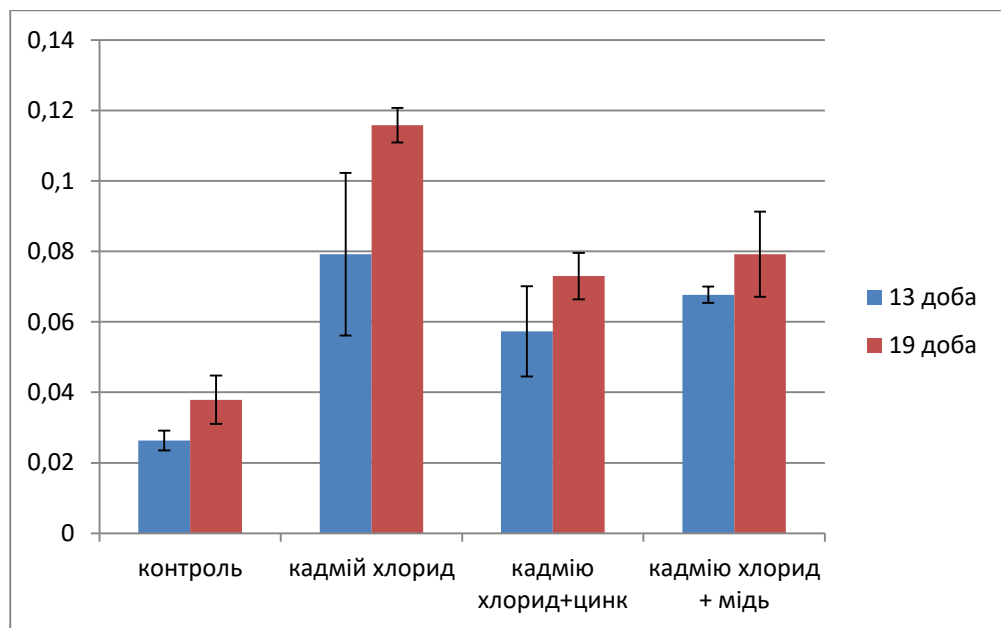


Рис.4.3. Динаміка змін накопичення рівню кадмію (мкг/г) в крові самиць щурів на 13-ту та 19-ту добу експерименту в усіх експериментальних групах.

При цьому рівень кадмію в крові самиць груп комбінованого введення був достовірно ($p \leq 0,05$) нижчим у порівнянні до групи ізолюваного введення кадмію. За отриманими даними найбільше знижувався рівень кадмію в крові в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку на обох досліджуваних термінах (рис.4.3.).

Таким чином, рівень накопичення кадмію в нирках та крові самиць на 13-ту та 19-ту добу експерименту при хронічному введенні хлориду кадмію ізолювано та в комбінації з сукцинатами міді та цинку продемонстрував, що комбіноване введення призводить до підсилення накопичення нирками самиць кадмію та до зниження рівня цього ж металу в крові дослідних тварин. Така

ситуація розподілу кадмію доводить, що сукцинати цинку та міді прискорюють процеси зв'язування кадмію в організмі саме в нирках.

Кількісні показники рівню цинку в нирках самиць достовірно ($p \leq 0,05$) знижувались в групі ізолюваного впливу кадмієм на терміні 13-тої доби введення ($48,2 \pm 8,6$ мкг/г) в порівнянні до контролю ($63,8 \pm 13,5$ мкг/г). Тобто в першій половині експерименту показники рівню цинку в нирках самиць при ізолюваному введенні кадмію знижувались у 1,3 рази. А наприкінці експерименту рівень цинку в нирках самиць не мав достовірної різниці з контрольними показниками. Слід зауважити, що в контролі відбувалось недостовірне підвищення рівню цинку впродовж всього терміну дослідження ($70,8 \pm 18,3$ мкг/г на 19-ту добу), що пояснюється потребою самиці в есенціальних мікроелементах під час вагітності. В групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку рівень цього мікроелементу в нирках самиць був найбільший ($82,4 \pm 22,4$ мкг/г на 13-ту добу та $110,8 \pm 9,2$ мкг/г на 19-ту добу), що не є показовим фактором, тому що даний мікроелемент вводився щоденно. В групі комбінованого введення кадмію з міддю рівень цинку був недостовірно нижчий за контрольні показники ($51,1 \pm 6,6$ мкг/г на 13-ту добу та $59,0 \pm 14,7$ мкг/г на 19-ту добу) і корелював з показниками в групі ізолюваного введення кадмію (рис.4.4).

Таким чином, визначався диселементоз по цинку в нирках самиць групи ізолюваного впливу хлоридом кадмію в першій половині експерименту, а наприкінці введення рівень цинку відновлювався до контрольних даних.

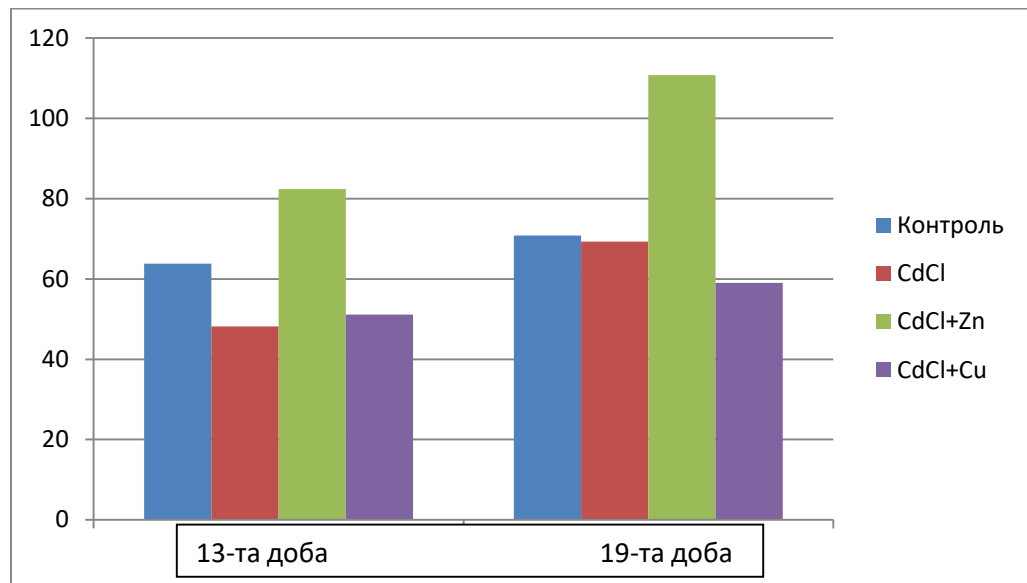


Рис.4.4. Показники накопичення цинку (мкг/г) в нирках самиць щурів експериментальних груп на 13-ту та 19-ту добу експерименту при щоденному хронічному ентеральному введенні.

Порівняння результатів накопичення цинку в ембріонах експериментальних груп показало наступне. Ембріони в групі ізолюваного введення хлориду кадмію мають рівень цинку, який майже вдвічі вищий за контроль (рис. 4.5) на обох термінах дослідження. В групі комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатом міді рівень накопичення цинку достовірно зменшується ($p \leq 0,05$) у порівнянні до групи ізолюваного впливу кадмієм і не має достовірної різниці з контрольними показниками. В групі комбінації кадмію з сукцинатом цинку рівень накопичення не має показового значення, він є найбільшим.

Таким чином, аналіз отриманих числових показників доводить, що хронічне надходження кадмію в організм вагітної самиці провокує диселементоз по цинку у ембріонів, а комбіноване введення кадмію з сукцинатом міді має позитивний нівелюючий вплив на даний процес, бо відновлює рівень накопичення цинку.

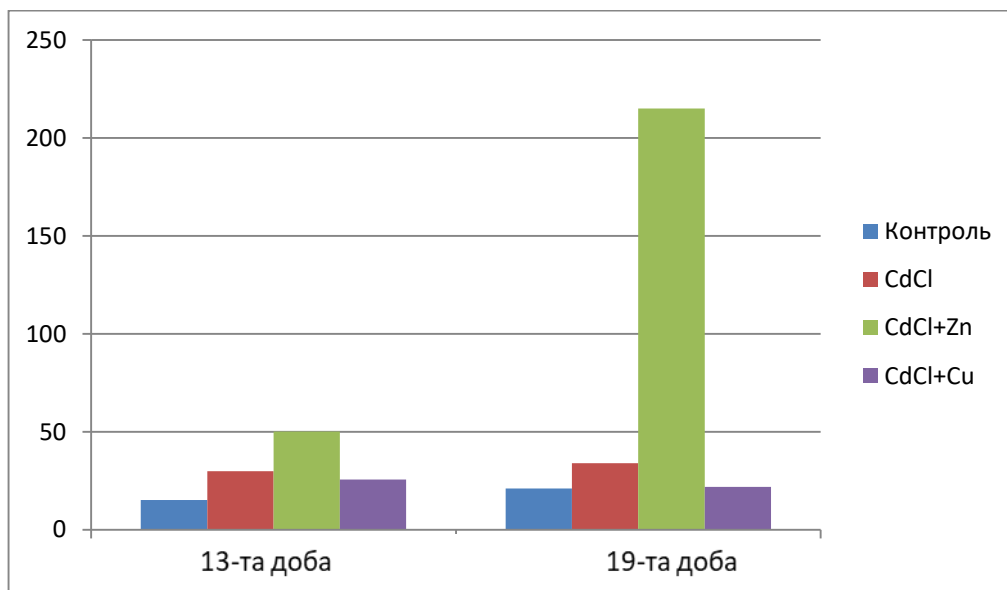


Рис.4.5. Показники накопичення цинку (мкг/г) в ембріонах експериментальних груп на 13-ту та 19-ту добу експерименту при щоденному хронічному ентеральному введенні.

В той же час аналіз рівню утримання цинку в крові вагітних самиць дав наступні результати (рис. 4.6). Як зазначалося вище, ізольоване введення кадмію в першій половині експерименту не призводило до достовірної різниці цинку в порівнянні до контролю. А в другій половині вагітності рівень цинку в крові самиць щурів вже достовірно ($p \leq 0,05$) підвищувався. Логічно, що в групі комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатом цинку рівень цинку підвищувався на обох термінах, для порівняння такий результат не є показовим. Проте цікавими виявились результати групи комбінованого впливу кадмію з сукцинатом міді. Саме в цій групі визначалось підвищення рівню цинку в крові вагітних самиць дослідних тварин на обох термінах дослідження. В контрольній групі в крові самиць визначалися наступні показники рівню цинку: $6,6 \pm 0,9$ мкг/г на 13-ту добу та $7,1 \pm 1,2$ мкг/г на 19-ту добу, тобто спостерігалось недостовірне зростання рівню есенціального цинку наприкінці ембріогенезу. При ізольованому впливі кадмієм в крові самиць на 13-тій добі рівень цинку становив $6,2 \pm 1,1$ мкг/г, а на 19-тій добі $9,6 \pm 1,3$ мкг/г. В групі комбінації кадмію з сукцинатом міді рівень цинку перевищував і контрольні дані і показники групи ізольованого впливу: 13-тій добі - $7,7 \pm 1,3$ мкг/г, а на 19-тій добі $9,9 \pm 1,3$ мкг/г.

Результати накопичення цинку в групі комбінованого впливу кадмію та сукцинату цинку не є показовими, бо високий рівень цинку є логічним і порівняльному аналізу не піддавався.

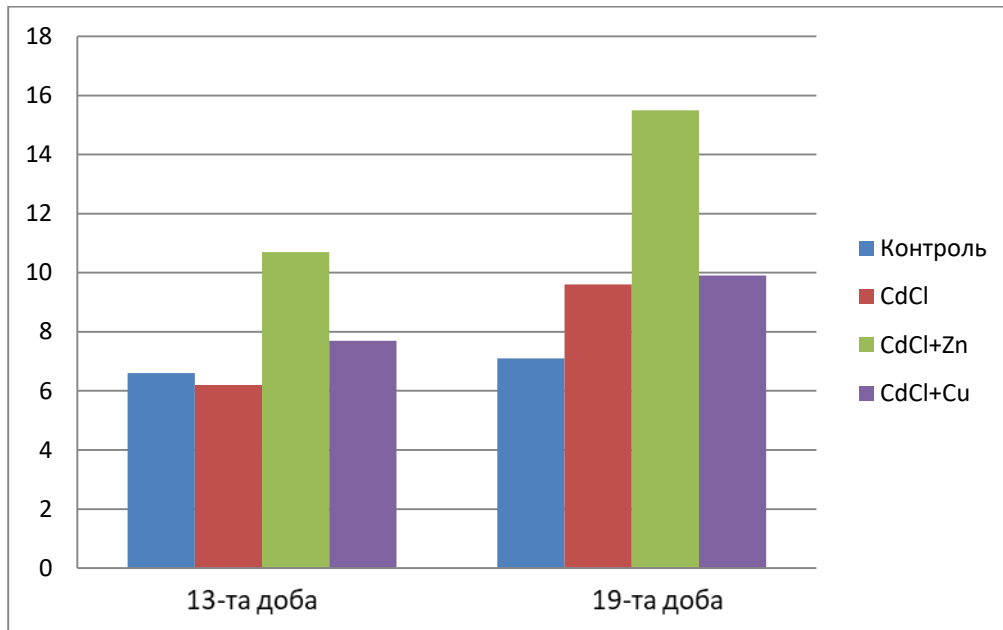


Рис.4.6. Показники накопичення цинку (мкг/г) в крові вагітних самиць щурів експериментальних груп на 13-ту та 19-ту добу експерименту при щоденному хронічному ентеральному введенні

Аналізуючи динаміку накопичення цинку в крові вагітних самиць на досліджуваних термінах, визначили наступне. В контрольній групі рівень цинку на 13-ту та 19-ту добу експерименту не мав достовірної різниці. Ізольоване введення хлориду кадмію рівень цинку недостовірно підвищувався на 19-ту добу експерименту, як і в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом міді. Значне підвищення рівню цинку в групі комбінованого введення кадмію з цинком було очікуваним. Аналогічна тенденція показників міді в крові визначалась і при комбінації кадмію з сукцинатом міді.

При визначенні ступеню накопичення міді в нирках щурів було виявлено, що в контролі на 13-ту добу рівень міді в нирках дорослих самиць становив $1,74 \pm 0,24$ мкг/г, а на 19-ту підвищувався до $2,4 \pm 0,33$ мкг/г. Ізольоване введення хлориду кадмію не призводило до достовірної різниці з контролем, а введення кадмію з цинком достовірно знижувало рівень міді в нирках: 13-та доба -

1,28±0,41 мкг/г, 19-та доба - 1,22±0,20 мкг/г. В групі комбінованого впливу кадмію з міддю вдвічі підвищувався рівень міді відносно контролю (13-та доба - 3,105±1,29 мкг/г, 19-та доба - 5,37±1,23 мкг/г), що було логічним та прогнозованим (рис.4.7).

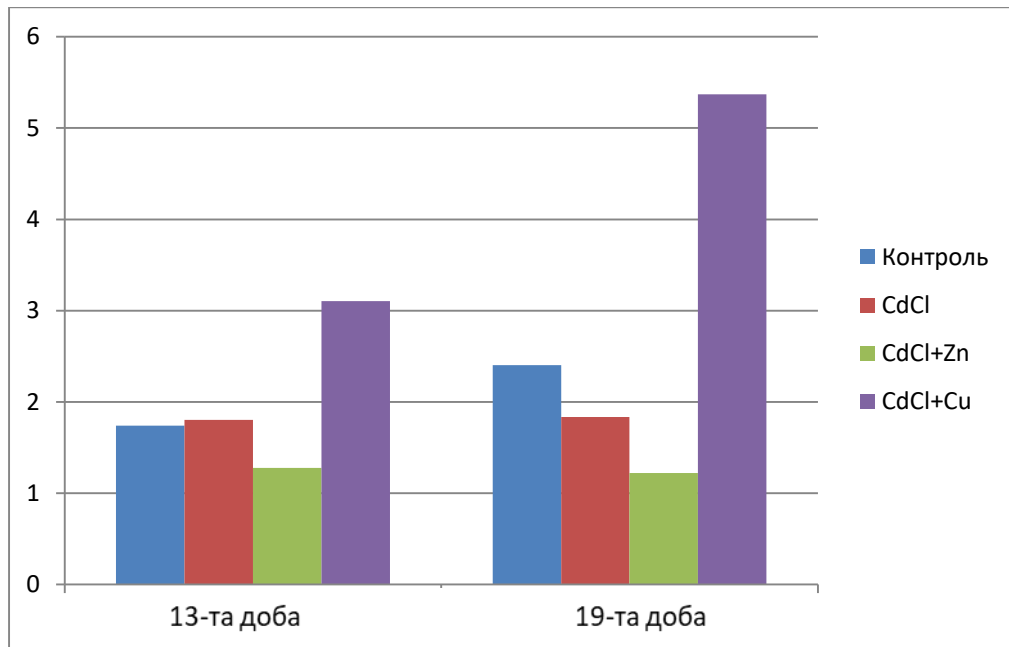


Рис.4.7. Показники накопичення міді (мкг/г) в нирках вагітних самиць щурів експериментальних груп на 13-ту та 19-ту добу експерименту при щоденному хронічному ентеральному введенні

Аналіз динаміки та порівняння рівню накопичення міді в нирках вагітних самиць впродовж всього експерименту показав наступне: ізольований вплив хлоридом кадмію не призводить до достовірних змін рівню міді в паренхімі нирок дослідних тварин в порівнянні до контролю. А введення з кадмієм сукцинату цинку достовірно знижує рівень міді в тканинах нирок самиць щурів.

Аналізуючи динаміку накопичення міді в ембріонах щурів на досліджуваних термінах, визначили наступне. В контрольній групі рівень міді на 13-ту (0,9256±0,0531 мкг/г) та 19-ту добу (0,9815±0,0361 мкг/г) експерименту не мав достовірної різниці. При ізольованому впливі хлоридом кадмію рівень міді в ембріонах недостовірно зменшувався у порівнянні до контролю (рис.4.8). Водночас, комбіноване введення цинку з кадмієм призводило до збільшення рівня накопичення ембріонами міді. На 13-ту рівень становив 1,837±0,161 мкг/г,

що було вдвічі більше за контроль, а на 19-ту добу експерименту - $1,661 \pm 0,203$ мкг/г, що було у 1,5 разів вище контролю та групи ізольованого впливу кадмієм (рис.4.8).

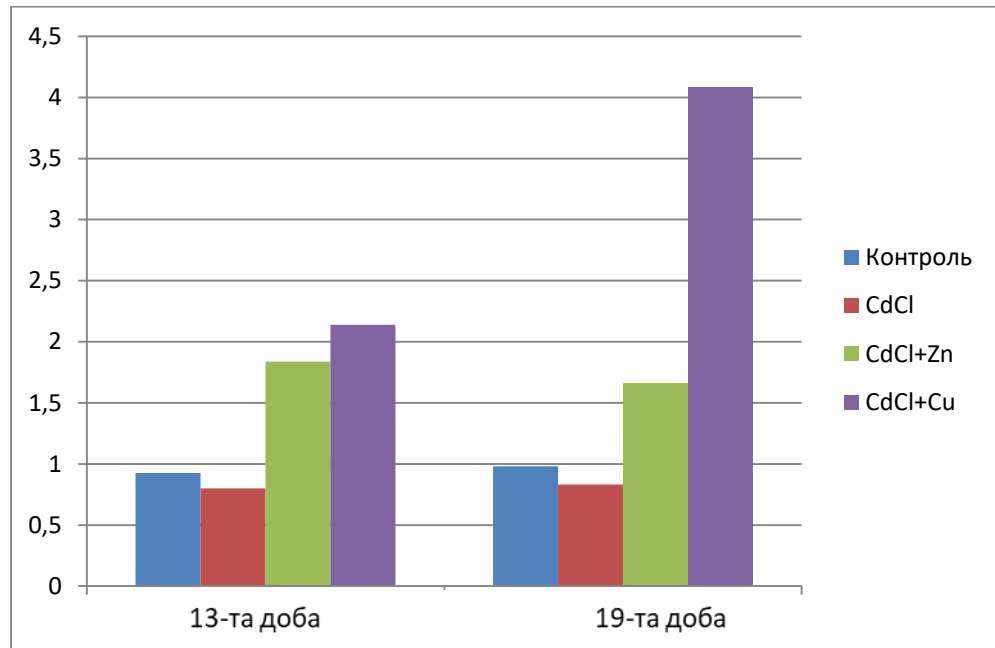


Рис.4.8. Показники накопичення міді (мкг/г) в ембріонах щурів експериментальних груп на 13-ту та 19-ту добу експерименту при щоденному хронічному ентеральному введенні

Таким чином, ізольоване введення хлориду кадмію знижує рівень міді в ембріонах щура при хронічній інтоксикації самиць. А комбіноване введення кадмію з сукцинатом цинку підвищує рівень міді в ембріонах щура в експерименті. Рівень міді в ембріонах групи комбінованого впливу кадмію з сукцинатом міді у даному аспекті не розглядається як дані для порівняння.

Аналізуючи динаміку накопичення міді в крові вагітних самиць на досліджуваних термінах, визначили наступні тенденції. В контрольній групі рівень міді на 13-ту ($0,8803 \pm 0,0639$ мкг/г) та 19-ту добу ($1,4251 \pm 0,0951$ мкг/г) експерименту не мав достовірної різниці, хоча визначалась тенденція до зростання. Ізольоване введення хлориду кадмію рівень міді недостовірно підвищувало на обох термінах експерименту, як і в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом міді. Значне підвищення рівню міді в групі комбінованого введення кадмію з міддю було очікуваним (рис.4.9). Комбіноване

введення кадмію з сукцинатом цинку відновлювало показник рівню міді в крові самиць у бік до контрольних: на 13-ту ($1,1313 \pm 0,0573$ мкг/г) та 19-ту добу ($0,8996 \pm 0,06371$ мкг/г).

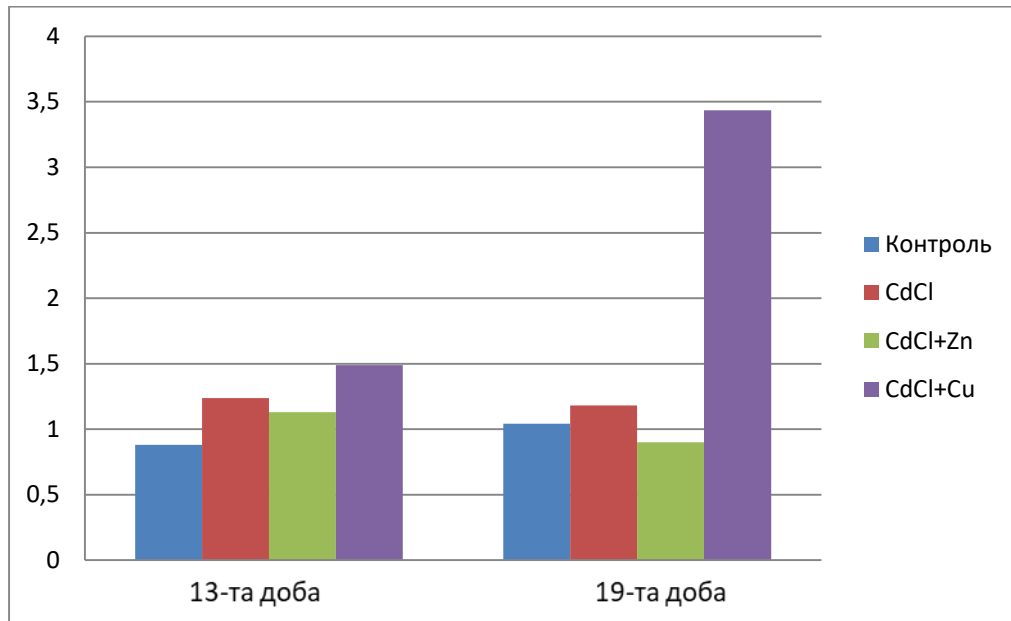


Рис.4.9. Показники накопичення міді (мкг/г) в крові вагітних самиць щурів експериментальних груп на 13-ту та 19-ту добу експерименту при щоденному хронічному ентеральному введенні

Таким чином, комбіноване введення кадмію з цинком нормалізує рівень міді в крові вагітних самиць, незважаючи на той факт, що доза кадмію продовжує надходити в організм як і при ізольованому впливі.

Отримані результати демонструють, що сукцинати цинку та міді можуть розглядатися як можливі біоантагоністи хлориду кадмію, що сприяють зв'язуванню цього мікроелемента в організмі вагітної самиці та суттєво зменшують його рівень накопичення в ембріонах, нирках та крові самиць щурів при комбінованому введенні з сукцинатами міді або цинку.

4.2. Результати впливу на хід ембріогенезу сукцинату цинку та міді при комбінованому введенні з хлоридом кадмію

Як і попередньому розділі, можливу негативну дію досліджуваних речовин на хід ембріонального розвитку ми визначали за здатністю підвищувати рівень ембріональної смертності, негативно впливати на розвиток плодів з використанням класичних критеріїв встановлення ступеню ембріотоксичності того чи іншого чинника. На початкових стадіях ембріонального розвитку (на 13-ту добу ембріогенезу) нами визначались кількісні показники ембріонів та жовтих тіл вагітності в яєчниках самиць, торсія і флексія ембріонів, а наприкінці ембріогенезу: складчастість шкіри, формування вібрис, відокремлення вушної раковини, формування повік, розділення пальців на кінцівках та ін.

В експерименті з комбінованого впливу кадмієм з сукцинатами цинку або міді всі самиці вижили, були активні і добре споживали їжу і воду. Вилучення ембріонів та яєчників також проводили на 13-ту та 19-ту добу ембріогенезу оперативно під тіопенталовим наркозом самиць. Обрахування та аналіз отриманих даних показників ембріотоксичності показав наступне.

Аналіз динаміки змін показників ембріонального розвитку при комбінованому впливі хлоридом кадмію з сукцинатами міді або цинку проводився за двома критеріями: в порівнянні до контрольних показників і в порівнянні до групи ізольованого впливу хлоридом кадмію.

Незважаючи на той факт, що в групі ізольованого введення хлориду кадмію вже на 13-тій добі експерименту спостерігалось зменшення кількості ембріонів та їх асиметричне розташування в рогах матки самиць, в групах комбінованого введення ці процеси не мали такого вираженого характеру (рис.4.10).

Як і в попередніх аналізах впливу хлориду кадмію, ми вилучали яєчники самиць для підрахування кількості жовтих тіл вагітності, аби визначити морфофункціональний стан яєчників і їх регуляцію процесами імплантації і ходу ембріогенезу. Як довели результати в групі ізольованого впливу, сполуки кадмію

мають високий рівень гонадотоксичності і суттєво порушують хід ембріогенезу в експерименті на щурах. Як один з проявів такого порушення – це було асиметричне розташування ембріонів в рогах матки (в групі ізолюваного впливу хлоридом кадмію 34,2%). В групах комбінованого впливу асиметричне розташування ембріонів зустрічалось також, але значно рідше, а саме: в групі комбінації кадмію з цинком – 12,3%, а в комбінації з міддю – 14,7% (рис.4.10).

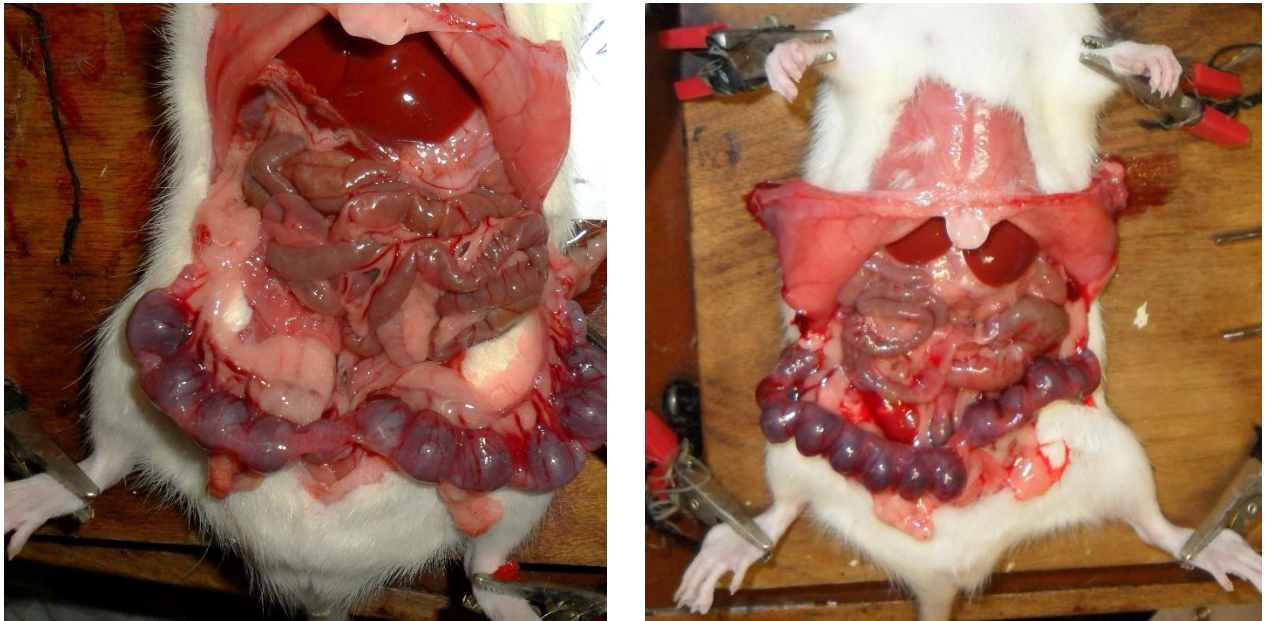


Рисунок 4.10. – Розташування ембріонів в рогах матки самиці щура групи впливу хлориду кадмію з сукцинатом міді (А) та в групі комбінованого впливу кадмію з сукцинатом цинку (Б) на 13-ту добу ембріогенезу. .

Наступним етапом було визначення відповідності зовнішніх критеріїв розвитку ембріонів 13-тої доби розвитку експериментальних груп комбінованого впливу до контрольних та до групи ізолюваного впливу хлоридом кадмію. Відповідність стадіям розвитку за Гамбургером і Гамільтоном (НН) продемонструвала наступні порушення в ембріонах груп комбінованого впливу: в групі комбінованого введення кадмію з цинком у 9,7% ембріонів були зменшеними кут флексії та торсії, а в групі комбінованого введення кадмію з міддю - у 13,6%. Для порівняння - у групі ізолюваного впливу хлоридом кадмію даний показник становив 26,4%. Як і в попередніх дослідженнях

ембріонів, найчастіше порушення зовнішнього вишляду - збільшення середнього мозкового пухиря та зменшення шийного вигину (рис.4.11).

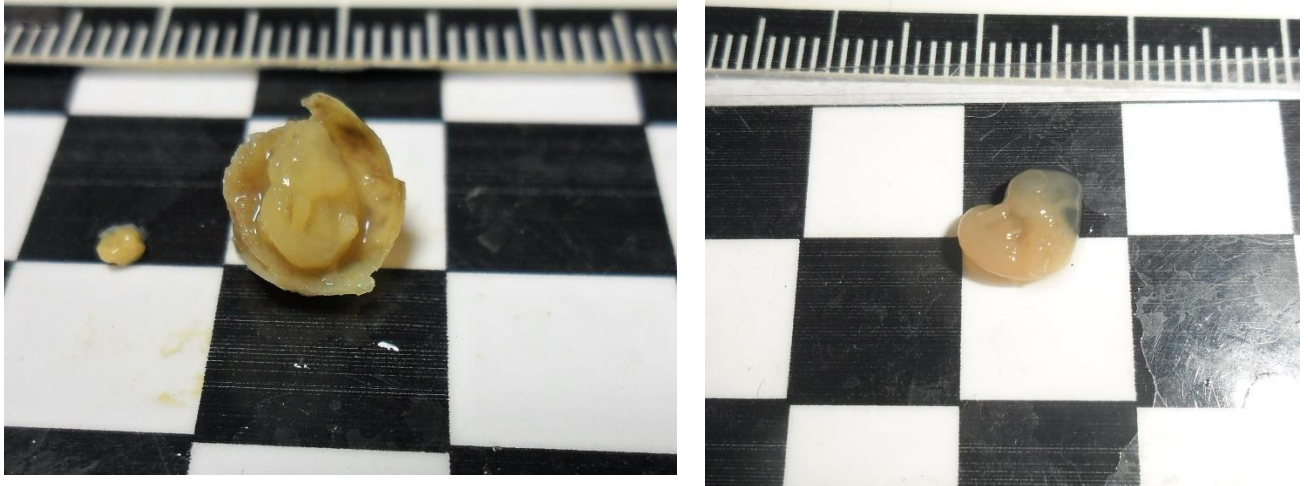


Рисунок 4.11. – Ембріони щура з плацентою групи впливу хлориду кадмію з сукцинатом міді (А) та групи комбінованого впливу кадмію з сукцинатом цинку (Б) на 13-ту добу експерименту. Фото зроблено на калібрувальній поверхні для співставлення розмірів (довжина стінки квадрату 10мм)

Закладка та формоутворюючі процеси розвитку бруньок кінцівок відповідають стадії розвитку 13-тої доби ембріогенезу, формування мозкових пухирів головного відділу та ступінь редукції зовнішньо видимих сомітів також не мали відхилень від норми.

Одним з найважливіших критеріїв ембріотоксичності є середній показник кількості ембріонів у посліді. При впливі негативних чинників на організм вагітних тварин відбувається часткове або повне резорбування ембріонів. Обрахування та співставлення показників кількості ембріонів в усіх групах продемонструвало наступне (табл.4.1). не зважаючи на достовірне зменшення кількості ембріонів на 13-ту добу експерименту в групі ізольованого впливу хлоридом кадмію (у 1,5 разів), в групах комбінованого впливу сукцинатів міді або цинку з тою самою дозою по кадмію, кількість ембріонів була вищою за групу ізольованого введення.

Таблиця 4.1.

**Показники ембріонального розвитку в усіх групах
експериментального дослідження на 13-ту добу ембріогенезу щура**

Групи	Контроль	Хлорид кадмію	Кадмій хлорид+цинк	Кадмій хлорид+мідь
Кількість ембріонів	13,25±0,25	9,0±0,53*	11,25±0,62#	11,25±0,25#
Загальна ембріональна смертність	0,03±0,01	0,25±0,03*	0,10±0,03*#	0,14±0,02*#
Доімплантаційна смертність	0,03±0,01	0,09±0,02*	0,04±0,02#	0,07±0,02*
Післяімплантаційна смертність	0,01±0,01	0,17±0,03*	0,06±0,01*#	0,07±0,0*#

Примітка: * - достовірність різниці з групою контролю ($p \leq 0,05$),
- достовірність різниці з групою впливу хлоридом кадмію ($p \leq 0,05$).

В групі контролю показники кількості ембріонів є найвищими, а показники різних видів ембріональної смертності найнижчими. Проте треба враховувати той факт, що ембріональна смертність все ж таки присутня в контрольній групі. Порівняння отриманих показників проводилось також до двох груп: контрольна та група ізольованого впливу хлоридом кадмію. В групах комбінованого введення кадмію з сукцинатами металів досліджувані показники демонструють модифікуючий вплив сукцинатів цинку та міді на ембріотоксичний вплив хлориду кадмію (табл. 4.1). На 13-ту добу ембріогенезу ми визначали достовірне ($p=0,05$) підвищення кількості ембріонів в групі комбінованого введення з сукцинатом цинку в порівнянні до групи ізольованого введення кадмію, а показник загальної ембріональної смертності зменшувався більше ніж вдвічі, що відповідно і пропорційно призводило до зниження доімплантаційної та післяімплантаційної ембріональної смертності. Обрахування показників різного виду ембріональної смертності проводилось з урахуванням показників не лише кількості ембріонів, але й середніх значень кількості резорбцій, кількості жовтих

тіл вагітності в яєчниках самиць, що дозволяє отримати більш широку картину показників ембріотоксичності.

Дослідження наступного терміну ембріогенезу (19-та доба вагітності самиць) у групах комбінованого введення продемонструвало Нормальне розташування ембріонів в рогах матки з мінімальними показниками асиметричного розташування ембріонів та резорбції ембріонів близьких по значенню до контрольних (рис.4.12). Ембріони мали добре сформовані плаценти, кількість місць резорбцій недостовірно перевищувала контроль, хоча зберігався у високий рівень кровонаповнення маткових судин.

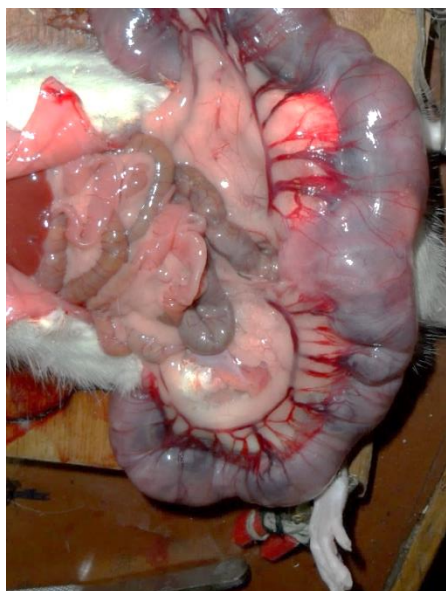


Рисунок 4.12. – Розташування ембріонів в рогах матки самиці щура групи впливу хлориду кадмію з сукцинатом міді (А) та в групі комбінованого впливу кадмію з сукцинатом цинку (Б) на 19-ту добу ембріогенезу.

Така ситуація свідчить про можливу потенційну біоантагоністичну дію сукцинатів міді або цинку на ембріотоксичність хлориду кадмію при їх одночасному надходженні в організм в зазначених дозах та способі введення в експерименті на щурах.

Ембріони щурів груп комбінованого введення дослідних речовин на цьому терміні експерименту також вилучались, зважувались, перевірялись на тест

«живі-мертві», уважно оглядались і у них вилучали нирки з метою отримання масометричних показників та подальшого гістологічного дослідження (рис.4.13).

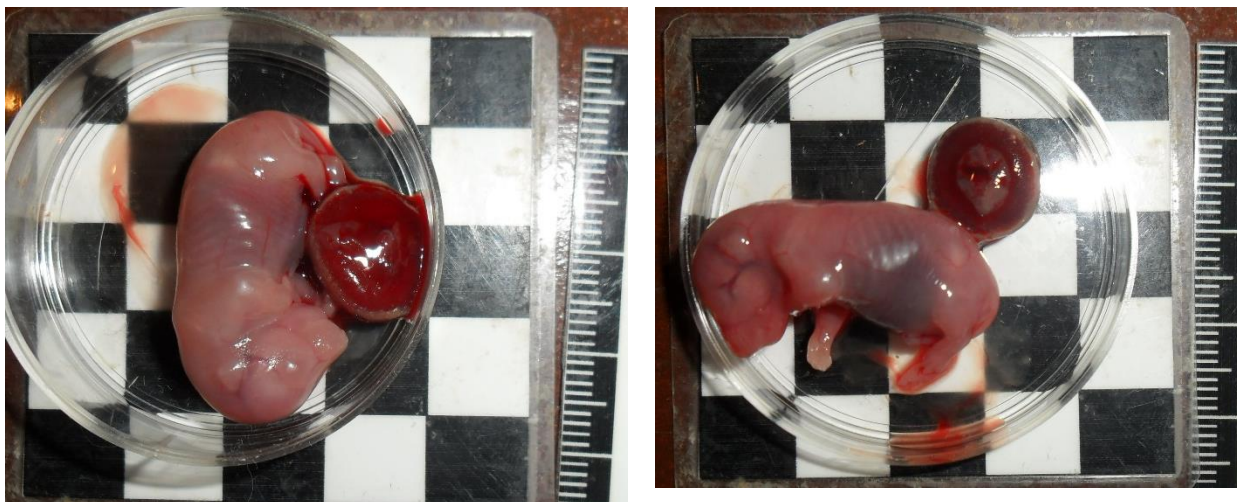


Рисунок 4.13. – Ембріони щура з плацентою групи впливу хлориду кадмію з сукцинатом міді (А) та групи комбінованого впливу кадмію з сукцинатом цинку (Б) на 19-ту добу ембріогенезу. Фото зроблено на калібрувальній поверхні для співставлення розмірів (довжина стінки квадрату 10мм)

Аналіз середніх показників кількості ембріонів є важливим критерієм ембріотоксичності, проте неочікуваним були результати обрахунків на 19-ту добу в цій групі. Показник кількості ембріонів в групі комбінованого впливу кадмію та сукцинату цинку був найменшим серед усіх груп, становив $7,75 \pm 0,24$, а загальна ембріональна смертність підвищувалась і становила $0,16 \pm 0,02$, що в свою чергу підвищувало показники доімплантаційної та післяімплантаційної ембріональних смертностей у підгрупі. Тобто, отримані результати можна трактувати таким чином, що в першій половині вагітності щура введення сукцинату цинку з кадмієм позитивно впливає на ембріогенез, модифікуючи негативний вплив хлориду кадмію, а в другій половині вагітності погіршує хід ембріогенезу за всіма досліджуваними показниками (табл.4.2).

Таблиця 4.2.

**Динаміка показників ембріонального розвитку в усіх групах
експериментального дослідження на 19 добу ембріогенезу щура**

Групи	Контроль	Хлорид кадмію	Кадмій хлорид+цинк	Кадмій хлорид+мідь
Кількість ембріонів	13,75±0,31	9,20±0,76*	7,75±0,24*#	10,50±0,73#
Загальна ембріональна смертність	0,07±0,01	0,25±0,05*	0,16±0,02#	0,15±0,04#
Доімплантаційна смертність	0,05±0,02	0,13±0,03	0,07±0,04#	0,09±0,03
Післяімплантаційна смертність	0,03±0,01	0,14±0,04*	0,09±0,02#	0,06±0,03#

Примітка: * - достовірність різниці з групою контролю ($p \leq 0,05$),
- достовірність різниці з групою впливу хлоридом кадмію ($p \leq 0,05$).

На 19-ту добу експерименту показники кількості ембріонів в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом міді не мали достовірної різниці з контролем, а показник післяімплантаційної смертності був найнижчим серед експериментальних груп як і показник загальної ембріональної смертності. Таким чином, комбіноване введення сукцинату міді з хлоридом кадмію має модифікуючий вплив на ембріотоксичність хлориду кадмію, який проявляється при його ізольованому введенні, що свідчить про наявність біоантагоністичних властивостей сукцинату міді в експерименті на щурах.

Отримані дані доводять, що комбіноване введення сукцинатів цинку та міді мають модифікуючий вплив на ембріотоксичність хлориду кадмію в експерименті на щурах, а самі сукцинати можуть розглядатися як потенційні біоантагоністи хлориду кадмію в організмі дослідних тварин при комбінованому внутрішньошлунковому введенні.

4.3. Аналіз комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатами металів на морфогенез нирок вагітних самиць щура

Як і в попередніх дослідженнях, для визначення впливу комбінованого введення досліджуваних сполук на морфологію нирок вагітних самиць, нами на 13-тій та 19-тій добі оперативно вилучались нирки, зважувались та фіксувались для подальшого виготовлення гістологічних зрізів. Візуальне дослідження розрізів за поперечною та фронтальною площинами не виявило морфологічних змін зональності нирок (мозковий та корковий шари) і стан ниркових мисок (рис.4.14)

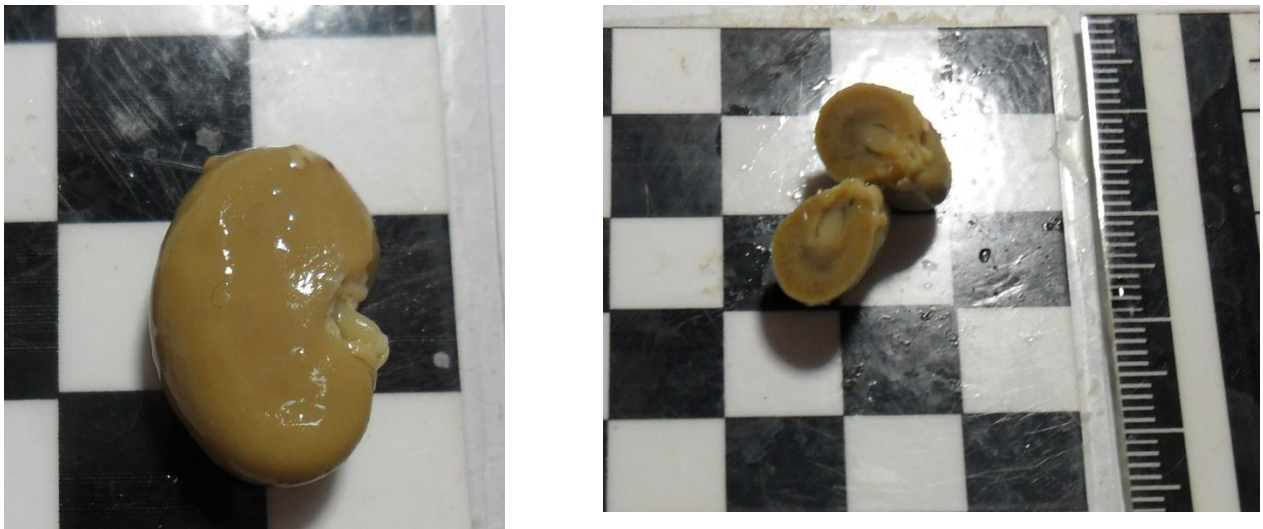


Рис.4. 14 Нирки самиць щурів (фіксовані) групи впливу хлориду кадмію з сукцинатом міді (А) та групи комбінованого впливу кадмію з сукцинатом цинку (Б) на 19-ту добу ембріогенезу. Фото зроблено на калібрувальній поверхні для співставлення розмірів (довжина стінки квадрату 10мм)

Обрахування та порівняння масометричних показників продемонструвало, що права нирка має більшу масу у порівнянні до лівої у всіх групах. Тому нами, як і в групі ізольованого впливу кадмієм, розраховувався середній ваговий показник обох нирок. Як повідомлялося раніше, середня маса обох нирок самиць в контрольній групі становила на 13-ту добу експерименту $0,737 \pm 0,019$ г, а на 19-ту добу - $0,790 \pm 0,03$ г. Тобто, наприкінці ембріогенезу маса нирки вагітної самиці в контролі недостовірно збільшувалася, а в групі ізольованого введення

хлориду кадмію середня маса нирок на 13-тій добі ембріогенезу становила $0,730 \pm 0,015$ г, а на 19-ту добу - $0,751 \pm 0,014$ г, що було недостовірно нижче контрольних показників. В групах комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами металів достовірної різниці в масометричних показниках нирок не виявлено; комбінація кадмію з сукцинатом цинку - на 13-ту добу експерименту становила $0,734 \pm 0,021$ г, а на 19-ту добу - $0,782 \pm 0,043$ г. А при комбінації кадмію з сукцинатом міді - на 13-ту добу експерименту $0,742 \pm 0,021$ г, а на 19-ту добу - $0,789 \pm 0,037$ г. Таким чином, впродовж всього терміну експериментального дослідження достовірної різниці показнику маси нирок у дослідних тварин не виявлено.

Подальше дослідження виявлення морфологічних змін в паренхімі нирки проводилось на гістологічному рівні. Вимірювання мікроструктур з використанням програми ZEN 2.0 дозволило провести обрахування як діаметру судинного клубочку так і сплайнного контуру площі капсули клубочку, що дозволило розрахувати індекс площі ниркового тільця нефрону. Аналіз та порівняння до контрольних гістологічних серійних зрізів нирки в групі ізольованого впливу хлоридом кадмію продемонстрували наступні морфологічні зсуви в будові паренхіми нирок: збільшення площі капсули нефрону, та набряк каналців нефрону, що призводило до ущільнення паренхіми нирок.

Нами обраховувався індекс площі нефрону (ІПН)- показник, який дає змогу оцінити ступінь ураження структурно-функціональної одиниці нирки – нефрону. Під час вагітності відбуваються морфофункціональні зміни в нирках самиці: наприкінці вагітності, наприклад в контролі спостерігається зменшення співвідношення площі капсули до площі клубочка нефрону. Такі зміни є фізіологічними і пов'язані зі збільшенням морфо-фізіологічного навантаження на нирки вагітної самиці. Аналіз та порівняння індексу площі нефрону між всіма експериментальними групами показав наступне. В контрольній групі на 13-ту добу ІПН нирок самиць щура становив $76,60047 \pm 3,5$, а в групі ізольованого впливу кадмієм визначалось зменшення показника $50,0481 \pm 1,8$ (рис.4.15). На 19-тій добі експерименту ІПН у контролі становив $59,64693 \pm 4,5$, та продовжував

зменшуватись в групі ізолюваного впливу до $42,16393 \pm 2,8$, така різниця була достовірною ($p < 0,001$).

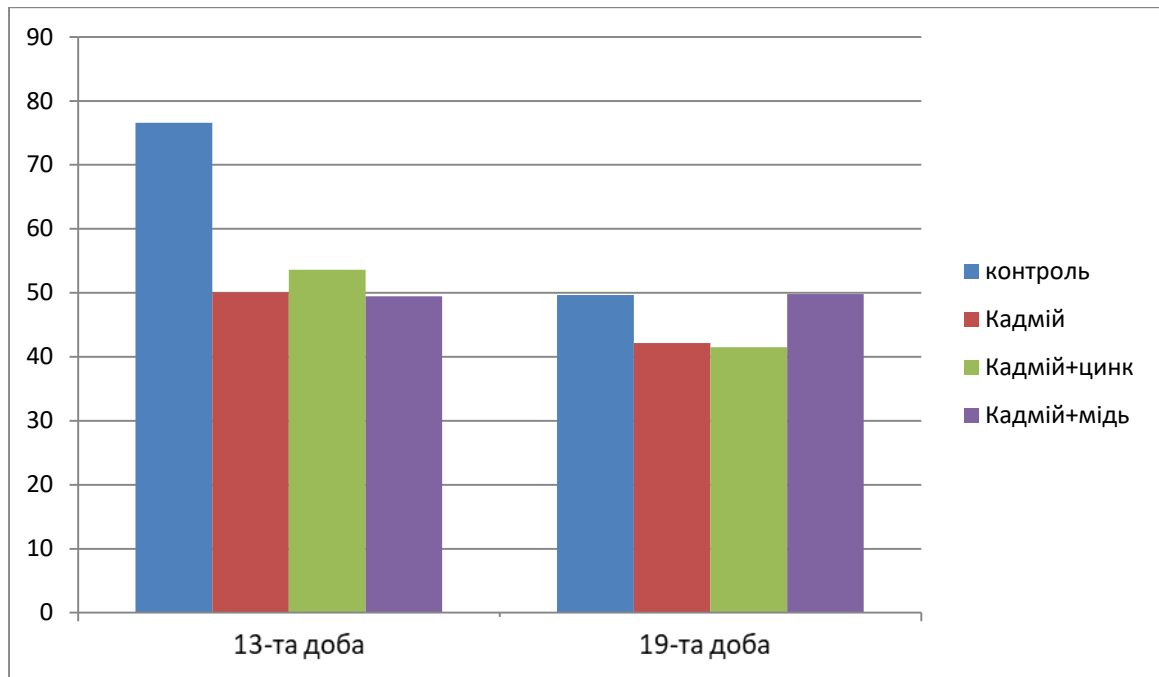


Рис.4.15. Динаміка змін індексу площі нефрону нирок дорослих вагітних самиць усіх груп впродовж експерименту.

В групах комбінованого впливу зміна цього показника відбувалась різноспрямовано. В групі комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатом цинку ІПН на 13-ту добу вагітності ($53,5266 \pm 3,61$) недостовірно перевищував рівень групи ізолюваного впливу кадмієм в напрямку до контрольних даних, то на 19-ту добу ($41,4804 \pm 2,38$) недостовірно зменшувався в порівнянні до групи кадмієвої інтоксикації. В групі комбінації кадмію з сукцинатом міді визначалась тенденція відновлення досліджуваного показника у бік до контрольних значень (рис.4.15). Якщо на 13-ту добу в цій групі ІПН не мав достовірної різниці з групою ізолюваного впливу кадмієм, то на 19-тій добі експерименту недостовірно перевищував контрольні дані.

Окрім зміни ІПН в експериментальній групі ізолюваного впливу хлоридом кадмію визначались на гістологічних зрізах паренхіми нирок дорослих самиць ознаки фокально-сегментарного гломерулосклерозу. В групах комбінованого

впливу ні на 13-ту ні на 19-ту добу експерименту склероз структур клубочку не визначався на гістологічних препаратах нирок вагітних самиць (рис. 4.16).

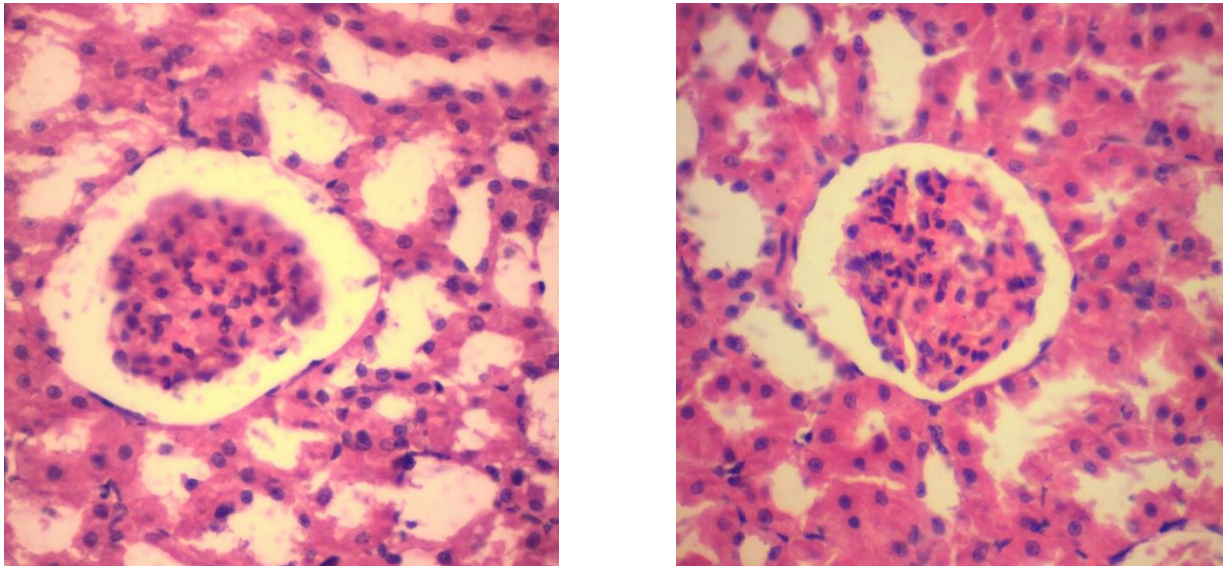


Рис.4. 16 Мікрофото. Гістологічний зріз нирки самиць щурів групи впливу хлориду кадмію з сукцинатом міді (А) та групи комбінованого впливу кадмію з сукцинатом цинку (Б) на 19-ту добу ембріогенезу. Забарвлення гематоксилін еозин.36.40x10.

В препаратах групи впливу кадмію з сукцинатом міді зберігався виражений набряк капсули нефрону впродовж всього експерименту (рис.4.16). А в групі комбінації кадмію з сукцинатом міді даний показник не мав достовірної різниці з контролем (рис.4.16 та 4.15). Такі результати гістологічних обрахувань свідчать про потенційний біоанатагонізм сукцинатів щодо нефротоксичності хлориду кадмію в зазначеній дозі та способі введення в експериментах на щурах.

4.4. Аналіз комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатами металів на морфогенез нирок вагітних самиць щура

Вплив досліджуваних агентів на розвиток і формування ембріональної нирки визначався як на 13-тій, так і на 19-тій добі експерименту. Негативний вплив хлориду кадмію на нефрогенез ембріонів 13-ї доби проявлявся у потовщенні мезонефральної протоки до $253,41 \pm 18,75$ мкм (контроль -

174,72±11,54 мкм) та зменшенні кількості метанефридій з розширенням їх діаметру. В групах комбінованого впливу визначалось відновлення досліджуваного показника у бік до контрольних: комбінація хлориду кадмію з сукцинатом цинку: 187, 73±11,37 мкм, в групі комбінації кадмію та сукцинату міді до 198,73±12,87 мкм (рис.4.17).

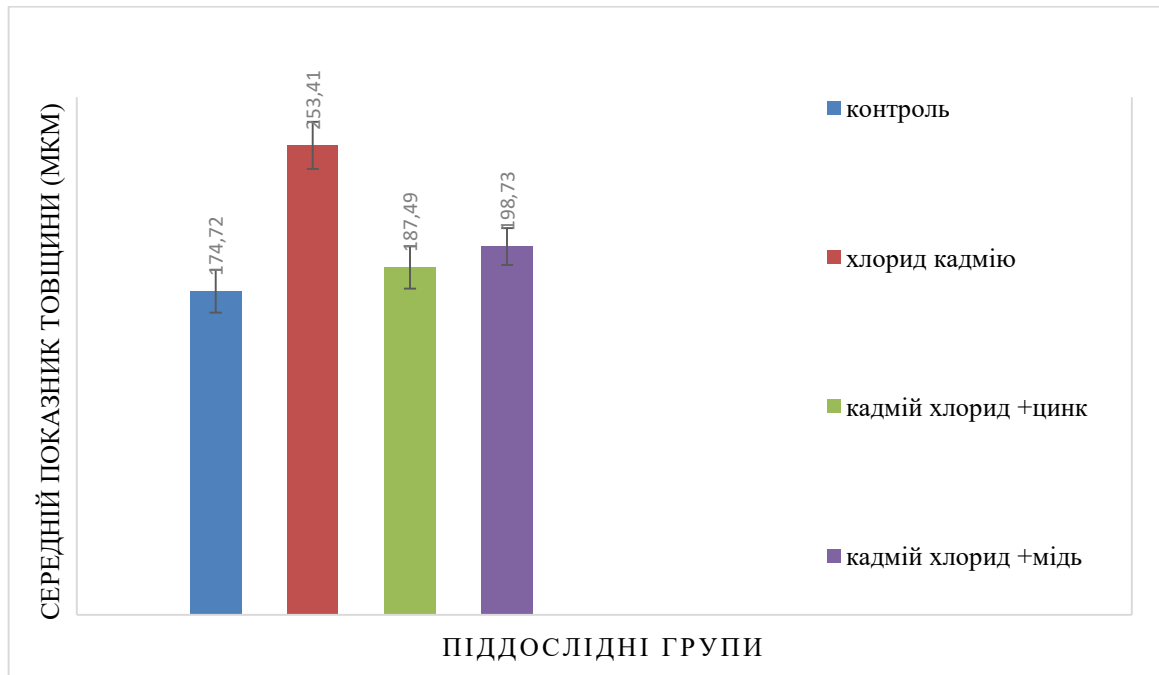


Рис.4.17. Показники товщини (мкм) мезонефральної протоки ембріонів щура усіх експериментальних груп на 13-ту добу експерименту.

Такі результати свідчать про протекторний вплив сукцинатів міді та цинку на нефротоксичність хлориду кадмію в експерименті на щурах при їх одночасному надходженні.

На терміні експерименту 19-тої доби ембріогенезу нирки вилучались у ембріонів під час оперативного забою самиць, у ембріонів видалялись нирки, які оглядались та зважувались для обрахування нефрофетального індексу (рис.4.18). В наших експериментальних дослідженнях всі нирки у пізніх ембріонів локалізувались в дорзальній поверхні черевної порожнини, ретроперітонеально, без видимих патологій. На верхньому полюсі нирок вже сформовані наднирники, аномалій розвитку нирок та видимих вад нефрогенезу в нашому експериментальному дослідженні не зустрічалося.



Рис. 4.18. Показники нефрофетального індексу ембріонів щура усіх експериментальних груп на 19-ту добу експерименту.

В порівнянні до контрольних значень рівень співвідношення вагових показників маси ембріона та маси нирки, тобто нефрофетального індексу, при ізольованому впливі хлоридом кадмію достовірно знижується, а в групах комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку або міді має тенденцію до відновлення. Особливо вираженим було відновлення у групі комбінації кадмію з сукцинатом цинку (рис.4.18).

В подальшому після фіксації та виготовлення гістологічних зрізів, нирки досліджували гістологічно. На 19-ту добу пренатального розвитку щура ми також досліджували структуру та розміри нефронів та визначали обрахуванням зміни числових показників в порівнянні до контролю (рис.4.19).

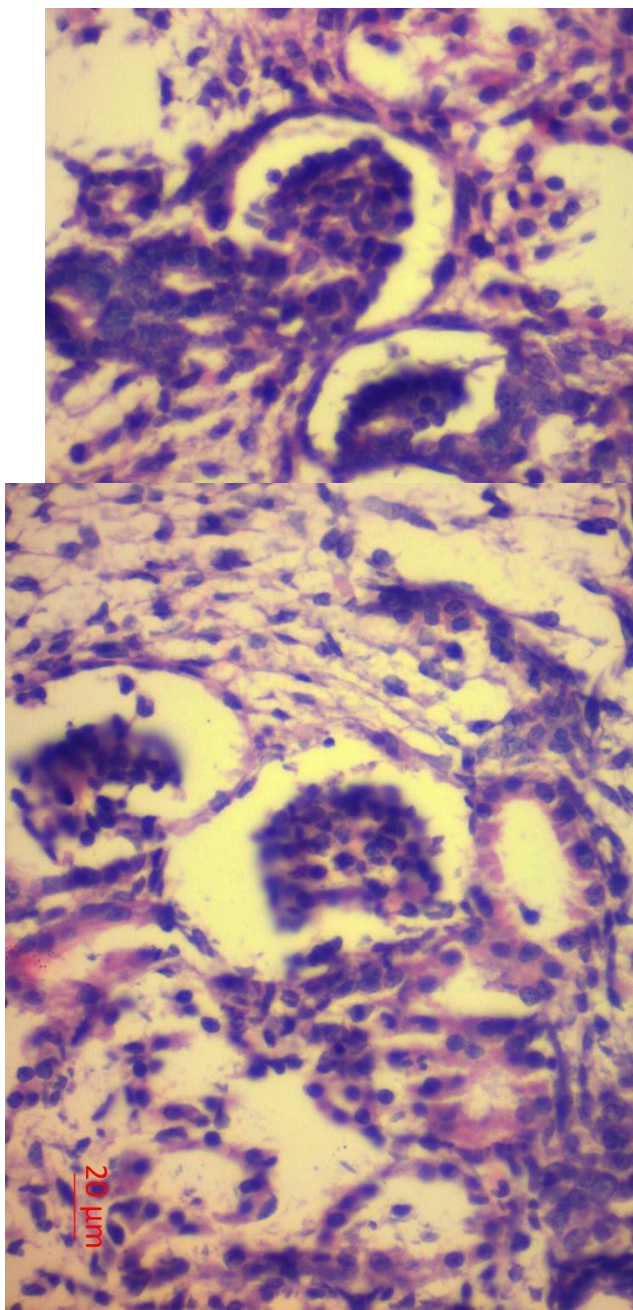


Рис.4.19. Мікрофото гістологічного зрізу паренхіми нирки ембріонів щура групи введення хлориду кадмію+сукцинат міді (А) та кадмію+ сукцинат цинку (Б) на 19-ту добу експерименту.. Забарвлення гематоксилін еозин.36.40x10.

Обрахування площі порожнини капсули нефрону методом сплайнного контуру продемонструвало підвищення середніх показників площі в групі впливу хлоридом кадмію до $6844 \pm 57,82 \text{ мкм}^2$, по відношенню до контрольних середніх значень – $1471,59 \pm 19,18 \text{ мкм}^2$, що розцінювалось як порушення нефрогенезу та фільтраційної здатності нирок у ембріонів. В групах

комбінованого впливу даний показник відновлювався у бік до контрольних значень: при комбінації з сукцинатом цинку становив – $3267 \pm 16,21 \text{ мкм}^2$, а при комбінації з сукцинатом міді – $4767 \pm 19,41 \text{ мкм}^2$. Таке відновлення показника площі капсули нефрону відбувалось за рахунок зменшення набряку та збільшення площі судинного тільця самих нефронів (рис.4.17). Тобто, наприкінці експерименту, тобто на 19-ту добу дослідження визначались гістологічні зміни в паренхімі нирок ембріонів, що свідчили про позитивний вплив сукцинатів цинку та міді на нефротоксичність хлориду кадмію при їх одночасному надходженні в організм в зазначених дозах та способі введення в експерименті на щурах.

Таким чином, узагальнюючи всі отримані результати, можна стверджувати, що сукцинат цинку та сукцинат міді володіють біоантагоністичними властивостями щодо нефротоксичності хлориду кадмію при хронічному введенні в зазначених дозах та способі введення в експериментах на щурах.

ВИСНОВКИ.

1. Накопичення кадмію в нирках самиць щурів на 13-ту та 19-ту добу експерименту достовірно зростає як в групі ізольованого впливу хлоридом кадмію так і в групах комбінованого впливу. Найвищий рівень накопичення визначався в групі комбінації кадмію з сукцинатом міді. Такий розподіл кадмію доводить, що сукцинати цинку та міді прискорюють процеси зв'язування кадмію в організмі саме в нирках.

2. Введення сукцинатів цинку або міді на тлі кадмієвої інтоксикації вагітних самиць достовірно знижує рівень накопичення кадмію в ембріонах щура у порівнянні до групи ізольованого впливу. Сукцинати цинку та міді можуть розглядатися як можливі потенційні біоантагоністи хлориду кадмію, що сприяють виведенню цього мікроелемента з організму ембріона при його комбінованому введенні з сукцинатами металів в експерименті на щурах.

3. Комбіноване введення сукцинатів цинку/міді з хлоридом кадмію має модифікуючий вплив на ембріотоксичність хлориду кадмію за основними критеріями ембріотоксичності: підвищується кількість ембріонів, знижуються показники загальної, доімплантаційної та постімплантаційної ембріональних смертностей на 13-ту та 19-ту добу ембріогенезу в експерименті на щурах.

4. В групах комбінованого впливу кадмію з сукцинатами міді або цинку показники площі порожнини капсули нефрону нирок самиць відновлювались у бік до контрольних даних і були достовірно нижчими за групу ізольованого впливу хлоридом кадмію. Не виявлено на гістологічному рівні в нирках самиць груп комбінованого введення ознак фокально-сегментарного гломерулосклерозу, що свідчить що сукцинат цинку та сукцинат міді мають модифікуючий вплив на нефротоксичність хлориду кадмію при комбінованому надходженні в експерименті на щурах.

5. В групах комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами міді або цинку в паренхімі нирок ембріонів на гістологічному рівні не визначалося збільшення площі капсули нефрону та ущільнення клубочків нефрону, що було характерним для ізольованого впливу хлоридом кадмію. що розцінювались нами як компенсаторний вплив сукцинатів на нефротоксичність кадмію. Отримані результати дозволяють розглядати сукцинати цинку та міді як потенційні біоантагоністи хлориду кадмію в хронічному експерименті на щурах.

Отримані дані доводять, що комбіноване введення сукцинатів цинку та міді мають модифікуючий вплив на ембріотоксичність, нефротоксичність хлориду кадмію в експерименті на щурах, а самі сукцинати можуть розглядатися як потенційні біоантагоністи хлориду кадмію в організмі дослідних тварин при комбінованому внутрішньошлунковому введенні.

Результати дослідження за розділом представлені у публікаціях:

1. Shatorna V. F., Krasnov O. O. Effect of cadmium chloride on kidney morphology in rats in isolated introduction and in combination with copper and

zinc succinates. Вісник проблем біології і медицини. 2022; 1 (163): 97-102. DOI [10.29254/2077-4214-2022-1-163-97-102](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-1-163-97-102) 297-301. [123].

2. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Хронічний вплив хлориду кадмію на ембріогенез щурів при ізольованому та комбінованому з сукцинатами цинку та міді внутрішньошлунковому введенні в експерименті. Український журнал медицини, біології та спорту. 2022; 7, № 2 (36): 254-260. DOI: [10.26693/jmbs07.02.254](https://doi.org/10.26693/jmbs07.02.254) [124] .

3. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Динаміка накопичення кадмію, цинку та міді в нирках та крові щурів при ізольованому та комбінованому з сукцинатами цинку та міді внутрішньошлунковому введенні кадмію. Вісник проблем біології і медицини. 2022;4 (167), 242-250. [125]

4. Shatorna V.F., Krasnov O.O. Effect of cadmium chloride on morphogenesis of kidneys of rat embryos when isolated and its combined effect with metal succinate. Bulletin of problems in biology and medicine. 2024; 4, 175: 208-217. DOI [10.29254/2077-4214-2024-4-175-208-217](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2024-4-175-208-217) [126]

5. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Накопичення кадмію в нирках вагітних самиць щурів та в ембріонах при ізольованому введенні хлориду кадмію та при комбінації з сукцинатами міді та цинку. XI Міжнародна науково-практична конференція «SCIENCE, INNOVATIONS AND EDUCATION: PROBLEMS AND PROSPECTS» 1-3 червня 2022 року. Токіо, Японія:196-201. [127]

6. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Експериментальний вплив хлориду кадмію та сукцинатів міді і цинку на морфологію нирок щурів. Міжнародна науково-практична конференція «Наука, освіта, технології та суспільство: нові дослідження і перспективи». 22 липня 2022 року. Полтава: 54-55. [128]

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Узагальнення результатів динаміки змін накопичення мікроелементів проводилось за двома напрямками впродовж всього експерименту. Перший напрямок – це динаміка накопичення кадмію, цинку та міді в нирках та крові самиць. Другий напрямок дослідження – це зміни накопичення кадмію, цинку та міді в ембріонах всіх експериментальних груп. Порівняння отриманих даних дозволило виявити зсуви мікроелементного балансу (диселементоз) в крові та нирках дорослих самиць щурів та ембріонів в межах досліджуваних термінів після хронічного впливу всіх експериментальних груп. Комбіноване введення сукцинатів цинку або міді на тлі хронічної кадмієвої інтоксикації вагітних самиць достовірно знижує рівень накопичення кадмію в ембріонах щура в експерименті при ентеральному введенні досліджуваних чинників в зазначених дозах. Проте рівень накопичення кадмію нирками самих самиць у групах комбінованого введення збільшувався. Такі дані ми розцінюємо як результат затримки важких металів нирками самиць, можливо також і плацентою, для нормального забезпечення розвитку ембріонів.

В той же час порівняння рівню накопичення кадмію в крові вагітних самиць груп комбінованого введення продемонструвало достовірне зменшення ($p \leq 0,05$) у порівнянні до групи ізольованого введення кадмію. А найбільше знижувався рівень кадмію в крові в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку на обох досліджуваних термінах.

Аналогічні дослідження з впливу хлориду кадмію та пошук можливих біоантагоністів кадмію проводились в Дніпровському державному університеті [129, 130]. В дослідженнях співробітників кафедри анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії доведено, що хронічне внутрішньошлункове введення хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг призводить до зниження рівня цинку в кістковій

тканині нижньої щелепи самців щурів порівняно з контрольними значеннями як на 20-ту, так і на 30-ту добу дослідження. В даних експериментах, як і в наших, сукцинат цинку знижує рівень кадмію в кістковій тканині нижньої щелепи при одночасному внутрішньошлунковому введенні в хронічному експерименті на щурах [131]. Серед потенційних біоантагоністів також розглядались сукцинати, але дані дослідження проводились на самцях щурів і аналізу підлягали статеві залози та кісткова система. Проте сукцинати цинку та міді також проявили свої модифікаційні властивості щодо накопичення кадмію в досліджуваних органах, а саме: в групах комбінованого введення рівень накопичення в органах-мішенях був достовірно нижчим. В даному випадку визначались і нами враховувались тенденції прояву компенсаторної дії сукцинатів. Ми вважаємо, що в організмі вагітних тварин відбуваються зміни біохімічних процесів, мікроелементного балансу та гормонального фону. Досліджень в даному спрямуванні при даному способі та дозі введення не зустрічалось.

Вважається, що непрямий механізм кадмій-індукованої остеотоксичності опосередковується розвитком ниркової недостатності, асоційованої з посиленням ренальної екскреції кальцію та фосфору, пригніченням продукції активних метаболітів вітаміну D, а також ослабленням абсорбції кальцію в травному каналі. Прямий механізм передбачає безпосередній вплив токсиканта, що викликає порушення функціонування клітин кісткової тканини і спричиняє посилену резорбцію кістки та ослаблення її кальцифікації. Доведено, що провідним механізмом, який лежить в основі кадмій-індукованої цитотоксичності, є окислювальний стрес. В сучасних дослідженнях визначено, що сукцинати виявляють інгібуючу дію на перекисне окислення ліпідів у мітохондріях, гальмують індукований перенос електронів до кисню в мітохондріальному дихальному комплексі, що значно зменшує продукцію супероксиду, порушуючи перенос електронів. Сприяючи відновленню балансу активності про- та антиоксидантних систем, сукцинати потенційно можуть нівелювати або ж значно ослабити прояви кадмій-індукованої токсичності [132]. Отримані дані дозволяють розглядати сукцинати есенціальних мікроелементів

як потужні біоантагоністи токсичності кадмію. Аналогічні спрямування висновків з отриманих результатів експериментального дослідження отримані були і в нашій роботі.

Аналізуючи динаміку накопичення цинку в крові вагітних самиць на досліджуваних термінах, визначили наступне: ізолюване введення хлориду кадмію змінювало рівень цинку та рівень міді. Значне підвищення рівню цинку в групі комбінованого введення кадмію з цинком було очікуваним. Аналогічна тенденція показників накопичення міді в крові визначалась і при комбінації кадмію з сукцинатом міді. Наявні в літературі дані вказують на той факт, що на токсичність, всмоктування та розподіл кадмію в організмі може впливати вміст цинку, міді та інших есенціальних мікроелементів у харчовому раціоні, а мідь і цинк інгібують процеси всмоктування та депонування кадмію. В наших дослідженнях доведено, що при хронічному щоденному впливі на вагітну самицю в групі ізолюваного введення хлориду кадмію ембріони наприкінці ембріогенезу накопичують кадмію у 10,2 рази більше за контрольні показники, а при комбінованому введенні хлориду кадмію з сукцинатами міді або цинку рівень накопичення кадмію достовірно зменшується ($p \leq 0,05$) у порівнянні до групи ізолюваного впливу кадмієм.

Отримані результати демонструють, що сукцинати цинку та міді можуть розглядатися як можливі біоантагоністи хлориду кадмію, що сприяють зв'язуванню та виведення з організму цього мікроелемента в організмі вагітної самиці та суттєво зменшують його рівень накопичення в ембріонах при комбінованому введенні з сукцинатами міді або цинку в зазначеній дозі та способі введення в експериментах на щурах.

Вітчизняні дослідники доводять, що причинами багатьох захворювань новонароджених і дітей грудного віку є порушення процесів пренатального морфогенезу. Саме тому, останнім часом питання закладки, становлення та розвитку майбутніх органів і систем все частіше стають об'єктом підвищеної уваги серед науковців усього світу. Ретельне вивчення процесів формування певних патологічних станів дозволить краще зрозуміти патогенез майбутніх

захворювань та надасть змогу вибрати оптимальний план лікування природженої патології, дозволить удосконалити існуючі методи хірургічних втручань та полегшить розробку нових способів хірургічної корекції уроджених вад розвитку. Отримані результати експериментальних морфологічних досліджень пренатального органогенезу значно підвищують якість інтерпретації результатів діагностичних маніпуляцій [133]. В сучасних умовах спостерігається підвищення малюкової смертності. З огляду на вищенаведене уряд України затвердив низку державних програм, зокрема: "Репродуктивне здоров'я нації" та "Глобальні цілі сталого розвитку", план розробки яких розраховано до 2030 року [134, 135]. Недостатньо дослідженими є аспекти хронічного впливу солей кадмію на перебіг ембріогенезу як при ізольованому впливі так і з мікроелементами, що мають біоантагоністичну властивість щодо токсичності важких металів. Таким чином, актуальним напрямом морфологічних експериментальних досліджень є пошук нових можливих біоантагоністів токсичності кадмію серед мікроелементів, здатних впливати на диселементози, підтримуючи гомеостаз організму, у тому числі під час вагітності. Наступне спрямування нашого експерименту стосувалось визначення впливу досліджуваних речовин на показники ембріонального розвитку в хронічних експериментах на щурах. Ізольоване введення хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг має виражений ембріотоксичний вплив на показники ембріонального розвитку: знижується середня кількість ембріонів, достовірно підвищуються всі види ембріональної смертності на тлі збільшення кількості резорбцій та зниження вагових показників ембріонів на обох термінах дослідження – як на 13-ту, так і на 19-ту добу.

В той же час у групах комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами металів критерії ембріотоксичності демонстрували модифікуючий вплив сукцинатів на ембріотоксичність хлориду кадмію [136]. Нами визначались та порівнювалась поміж групами показники ходу ембріогенезу, що є критеріями для ембріологічних робіт: середній показник кількості ембріонів в посліді, кількість резорбцій, кількість жовтих тіл вагітності у яєчниках самиці, доїмплантаційна, післяїмплантаційна та загальна ембріональна смертність.

Наукових відомостей щодо впливу важких металів на загальний хід ембріогенезу та органогенезу вкрай недостатньо, а висвітлені результати досліджень є суперечливими та не підлягають співставленню через велику різницю в дозах, способах введення. Дослідники поставили за мету експериментально визначити вплив однакових низьких доз різних солей кадмію (цитрату кадмію та кадмію хлориду) на загальний хід ембріогенезу та визначення рівню накопичення кадмію в органах ембріонів щурів при внутрішньошлунковому введенні досліджуваних солей в дозі 1,0 мг/кг вагітним самицям впродовж всього періоду вагітності. Виявилось, що не зважаючи на однаковість доз по кадмію результат накопичення та рівень ембріотоксичності в експериментальних групах був різним.

Аналіз накопичення кадмію, міді та цинку в нирках і крові самиць та плодів щура з використанням поліелементного методу проведено вперше і порівняти отримані дані з результатами інших дослідників досить складно. Визначено, що при опосередкованому через материнський організм впливі на ембріонів щура найвищий рівень накопичення кадмію визначався при ізольованому впливі хлоридом кадмію. Співставлення отриманих даних довело, що одночасне надходження хлориду кадмію з сукцинатами міді або цинку достовірно знижувало рівень накопичення кадмію органами самиць та ембріонами, що знижувало показники ембріотоксичності та нефротоксичності кадмію в зазначених дозах та способі введення.

Аналіз отриманих результатів продемонстрував, що в групах впливу кадмію цитрату та кадмію хлориду спостерігається досить різний ембріотоксичний ефект. В обох групах ізольованого кадмієвого впливу визначається достовірне зниження кількості живих плодів як на 13-тій добі так і на 20-тій добі вагітності та збільшення загальної ембріональної смертності в порівнянні до контрольної групи. Ембріотоксичність хлориду кадмію достовірно більша за такий показник цитрату кадмію, що проявляється в зниженні кількості живих плодів на одну самицю та в збільшенні загальної ембріональної

смертності за рахунок переважної смертності ембріонів в післяімплантаційний період [138].

Проте, використання поліелементного аналізу довело, що накопичення кадмію в нирках 20-ти денних ембріонів більше відбувається при впливі цитрату кадмію, який долає плацентарний бар'єр та затримується в тканинах організму більше ніж хлорид кадмію [138]. Такі результати були для нашого дослідження досить цікавими, хоча доза введення кадмію була вдвічі менша за ту, яку обрали для експерименту ми. Пошук можливих біоантагоністів ембріотоксичності кадмію на проводився в даній серії експериментів.

Пошук шляхів захисту від негативного впливу важких металів на організм в цілому та репродуктивну систему і ембріогенез зокрема був актуальною задачею для дослідників Дніпровського державного медичного університету в останнє десятиліття. Метою серії проведених досліджень стало визначення впливу ацетату свинцю, а згодом і солей кадмію на репродуктивну систему та хід ембріогенезу дослідних тварин з пошуком можливих біоантагоністів. В експериментальних моделях в якості потенційних біоантагоністів використовували розчини цитратів срібла, золота та заліза отриманих за аквананотехнологією. Цитрати були обрані для експерименту у зв'язку з їх участю в циклі Кребса і підтримці мітохондріальної енергетичної стабільності, а вплив важкими металами завжди супроводжується гіпоксичним станом організму. Дослідження показали, що при введенні розчинів цитрату заліза, золота, срібла на тлі інтоксикації свинцем спостерігається збільшення кількості жовтих тіл вагітності, кількості живих плодів, що обумовлено зниженням загальної та доімплантаційної ембріональної смертності. Отримані дані дають підставу дослідникам стверджувати, що введення розчинів цитрату золота, цитрату заліза, цитрату срібла попереджує негативний вплив ацетату свинцю на репродуктивну систему та процеси ембріонального розвитку плодів в експериментальних умовах та свідчить про їх біоантагонізм [136, 137].

Нами в якості потенційних біоантагоністів були обрані сукцинати цинку та міді. При обранні саме цих сполук ми спирались як на наші попередні

дослідження так і на інформацію з наукової світової літератури. Доведено, що механізм токсичного впливу кадмію на організм пов'язаний з утворенням білків металотіонеїнів та взаємодії з багатьма іншими мікроелементами: нестача кальцію і міді значно збільшує всмоктування і акумуляцію важкого металу в організмі людини, а при достатньому надходженні цинку і селену депонування кадмію внутрішніми органами різко зменшується. Залізо також є антагоністом кадмію. Відомо, що кадмій при потраплянні в організм порушує метаболізм білків, обмежує засвоєння заліза, збільшує видалення кальцію [139]. Такий вплив обумовлено здатністю кадмію до витіснення цинку і міді із з'єднань з металотіонеїном – білком, що містить 30% цистеїну, з групами -SH якого кадмій утворює дуже стійкі сполуки. Різниця міцності гідрат-іонів, а також сильна схожість з сіркою пояснює той факт, що кадмій утворює хімічне з'єднання з групами -SH ензимів стабільніше, ніж цинк. Кадмій в організмі людини піддається біоаккумуляції з періодом напіврозпаду, який триває 20-30 років (за іншими даними – 40 років) [140]. Звідси випливає також обмеження вмісту кадмію в раціоні – згідно ВООЗ цей вміст не повинен перевищувати 0,4 – 0,5 мг. [141, 142, 143]. Виведення кадмію з організму здійснюється нирками, шкірою та травною системою. Малодослідженим є і морфофізіологічний стан нирок при впливі важких металів.

Нирки є основним органом, що екскретує токсини з організму. Відомо, що токсичні метали накопичуються переважно у клітинах проксимальних каналців, викликаючи структурні та функціональні ушкодження, внаслідок яких порушуються процеси реабсорбції та секреції. Внутрішньоорганні та внутрішньоклітинні механізми токсичності елементів недостатньо вивчені. Найбільш загальними проявами їх нефротоксичності є оксидативний стрес, пов'язаний з накопиченням вільних радикалів, активізацією механізмів апоптозу та некрозу.

Основними механізмами розвитку патології нирок при дії різних нефротоксинів є прямий їх вплив на ендотелій клубочків, на мезангіальні клітини, тубулярний епітелій та на базальні мембрани, як гломерулярні, так і

тубулярні. Можливе відкладення важких металів та інших сполук у вигляді депозитів у мезангії клубочків, в інтерстиціальній тканини, де в залежності від їх хімічних властивостей вони можуть сприяти розвитку запального процесу через активацію медіаторів запалення та алергії [144]. Вразливість каналців для нефротоксинів пов'язана з їхньою природною нормальною функцією. Хімічні агенти, абсорбовані при піноцитозі, концентруються в лізосомах, де піддаються гідролітичному розщепленню, однак деякі токсиканти пригнічують протеолітичний процес, що призводить до їх акумуляції та пошкодження тубулярного епітелію. При цьому можливе поєднання пошкодження епітелію каналців, особливо проксимальних, з гломерулярним ушкодженням, а при тривалому впливі - розвиток тубулоінтерстиціальної нефропатії. Внаслідок впливу нефротоксинів-гаптенів можливий розвиток імунологічно індукованої гломерулярної хвороби [144, 145]. При цьому токсичні агенти входять до складу циркулюючих імунних комплексів та відкладаються на гломерулярній базальній мембрані, розвивається мембранозний гломерулонефрит. Вплив іонів важких металів на клітинні регуляторні процеси різноманітний, і залишається невизначеним єдиний механізм взаємодії їх із клітиною. Спектр негативних впливів на молекулярному, тканинному, клітинному та системному рівнях багато в чому залежить від концентрації та тривалості експозиції токсичної речовини, комбінації його з іншими факторами.

За умов тривалого впливу на організм людини і тварин кадмій вражає, перш за все, видільну систему з порушенням функцій нирок [145] незалежно від способу надходження катіонів металу (пероральний, інгаляційний, введення ін'єкцією) [146]. У працівників, які на робочому місці впродовж тривалого часу вдихають забруднене Кадмієм повітря, порушення діяльності нирок виявляють раніше, ніж пошкодження легень [147]. З'ясовано, що в основі зумовленої Кадмієм нефропатії лежить порушення діяльності проксимальних звивистих каналців, яке спершу проявляється виділенням зі сечею низькомолекулярних білків, ферментів та ін. Зі збільшенням тривалості впливу металу пошкодження каналців зростає, супроводжуючись ураженням інших відділів нефрона. У

важких випадках виявляють некроз канальців нирок, порушення реабсорбції білків, амінокислот, глюкози, бікарбонату, фосфату кальцію [148].

Згідно з останньою інформацією щодо вроджених вад розвитку, на чинники спадкового генезу припадає 23–40% випадків, 50–51 % мають мультифакторне походження, а 2–5 % зумовлені тератогенним впливом. У загальній структурі вродженої патології вади сечової системи становлять від 30 до 50 % і займають провідні місця залежно від територіальних особливостей [149,150]. В роботах розглянуто ембріональний розвиток нирок та коротко проаналізована класифікація аномалій сечової системи. Механізми тонких процесів нефрогенезу на молекулярному рівні підпорядковані роботі структурних генів, чинників транскрипції, росту та інших активних речовин. Являючись основним органом виведення з організму багатьох металів, нирки самі служать мішенню їх токсичної дії, причому для деяких металів (наприклад, кадмію, свинцю, ртуті) нирки є одним із критичних органів розвитку інтоксикації в цілому. Тому дослідникам актуальним виглядає визначення під впливом кадмію дисциркуляторні порушення у клубочках та в інтерстиції нирки. Експериментально доведено, що ниркові клубочки нефронів значно збільшені у розмірах за рахунок різкого повнокров'я та набряку з накопиченням ШПК–позитивного матриксу, що призводить до звуження або до повного закриття сечових просвітів. Сама міжканальцева строма паренхіми нирок пухка за рахунок набряку, з дрібними лімфогістіоцитарними інфільтратами. Дослідники визначили в епітелії звивистих канальців осередкову гіаліново-краплинну дистрофію та порушенням ШПК-позитивної облямівки апікальної частини епітеліоцитів, частковий каріоліз [150].

Представлені результати експериментальної роботи відповідають і нашим отриманим результатам у групі ізольованого введення хлориду кадмію. Вплив хлориду кадмію в зазначеній дозі проявлявся на гістологічному рівні у розширенні та набряку капсули нефронів нирок вагітних самиць щурів та виявленні морфологічних ознак початку фокально-сегментарного гломерулосклерозу на тлі зниження маси нирок в порівнянні до контролю

наприкінці досліджуваного терміну впливу. Отримані дані відповідають розглянутим експериментальним роботам, і ми розцінювали їх як високий рівень нефротоксичності кадмію при даній дозі та способі введення. Проте, в усіх розглянутих наукових джерелах не проводилось порівняння уражень паренхіми нирок дорослих вагітних самиць та нирок їх ембріонів з урахуванням рівню накопичення важких металів нирками.

Специфічна нефротоксичність важких металів підтверджуються і низкою епідеміологічних досліджень, однак вони відносяться майже виключно до працюючих у промисловості в умовах впливу цих токсикантів на дорослий організм [150-151]. Зустрічаються результати досліджень впливу на стан сечової системи і у дітей, які проживають у екологічно несприятливих регіонах і мають постійний контакт з важкими металами у довкіллі. В дослідженнях виявлено до клінічні ознаки пошкодження ниркових каналців, які пов'язують з екологічно обумовленим токсичним навантаженням на нирки, що оцінюється за концентрацією кадмію та свинцю в сечі [152, 153]. Саме на цій ранній стадії розвитку ниркової патології очікується ефект біологічної профілактики спрямованої на застосування нешкідливих засобів для виведення токсичних металів з організму, або послаблення їх токсичних ефектів. В нашій частині ембріологічних досліджень, вже на 13-ту добу ембріогенезу на стадії мезонефросу під впливом хлориду кадмію визначались зміни нефрогенезу у вигляді потовщення мезонефральної протоки та зменшенні кількості метанефридій. Наприкінці ембріогенезу (19-та доба) визначали суттєве розширення капсули нефронів у ембріонів. В той же час, в групах комбінованого введення визначалось відновлення досліджуваних параметрів у бік до контрольних на обох термінах дослідження. Отримані дані демонструють спектр морфологічних зрушень процесу формування нирок при хронічному впливі важких металів та можливості зниження зменшення рівню патологічних змін присутністю сукцинатів цинку та міді.

Таким чином, пошук нових потенційних біоантагоністів токсичного впливу важких металів взагалі і кадмію зокрема потребує всебічного аналізу і

подальших експериментальних робіт для створення ефективних біопрофілактичних комплексів з їх подальшою апробацією для впровадження широкої біопрофілактики на екологічно неблагополучних територіях.

В наших дослідженнях комбіноване введення кадмію з сукцинатами міді або цинку відновлювало як масометричні показники нирок вагітних самиць, так і показники площі порожнини капсули нефрону у бік до контрольних даних і були достовірно нижчими за групу ізольованого впливу хлоридом кадмію, що дозволяє розглядати сукцинат цинку та сукцинат міді як потенційні біоантагоністи нефротоксичності хлориду кадмію при комбінованому надходженні в організм (через травну систему) в експерименті на щурах.

За даними більшості дослідників, нирки – орган-мішень для важких металів. Накопичення кадмію в нирках відбувається через порушення реабсорбції кадмію та його виведення з організму. Субхронічна інтоксикація кадмієм або свинцем супроводжується функціональними та структурними порушеннями з переважним пошкодженням каналцевого епітелію при впливі свинцем та гломеруло-інтерстиціальних змін при впливі кадмієм. Найбільш поширена теорія нефротоксичності важких металів і кадмію в тому числі полягає в тому, що металотіонеїн з кадмієм завдяки своїй малій молекулярній масі проходить через ниркову клубочкову мембрану і реабсорбується клітинами каналцевого епітелію, де згодом розпадається в лізосомах [155]. Саме тому при кадмієвій інтоксикації уражаються в більшому ступені клубочки нефронів нирок. Ці тенденції ми спостерігали у власних дослідженнях, коли на 19-ту добу експерименту в нирках дорослих самиць визначались перші морфологічні ознаки гломерулосклерозу нефронів нирок при ізольованому впливі хлоридом кадмію. В тій же групі на 13-ту добу характер патологічних перебудов паренхіми нирок у самиць був зовсім іншим, а саме визначались лише набряк капсули нефрону та ущільнення судинного клубочку, що відображалось у зміні індексу площі нефрону.

Звертає на себе увагу той факт, що в групах комбінованого впливу у самиць на обох досліджуваних термінах паренхіма нирок не мала таких

зрушень, що свідчить на користь модифікаційного впливу сукцинатів міді та цинку на нефротоксичність хлориду кадмію.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено важливе наукове завдання: досліджено хронічний вплив хлориду кадмію на хід ембріогенезу, структурно-функціональну організацію нирок дорослих щурів та ембріонів. Встановлено взаємозв'язок між рівнем накопичення кадмію, міді і цинку та морфологічними змінами нирок за умов ізольованого введення хлориду кадмію та комбінованого впливу кадмію з сукцинатом міді або цинку для виявлення потенційних біоантагоністичних властивостей сукцинатів щодо токсичності хлориду кадмію.

1. Вплив хлориду кадмію в зазначеній дозі проявлявся на гістологічному рівні у розширенні та набряку капсули нефронів нирок вагітних самиць щурів та формуванні морфологічних ознак вогнищ фокально-сегментарного гломерулосклерозу на тлі зниження маси нирок в порівнянні до контролю на 19-тій добі експерименту, що демонструє високий рівень нефротоксичності кадмію.

2. Комбіноване введення кадмію з сукцинатами міді або цинку відновлювало як масометричні показники нирок вагітних самиць, так і показники площі порожнини капсули нефрону у бік до контрольних даних і були достовірно нижчими за групу ізольованого впливу хлоридом кадмію, що дозволяє розглядати сукцинат цинку та сукцинат міді як потенційні біоантагоністи нефротоксичності хлориду кадмію при комбінованому надходженні в експерименті на щурах.

3. Ізольоване введення хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг має виражений ембріотоксичний вплив на показники ембріонального розвитку: знижується середня кількість ембріонів, достовірно підвищуються всі види ембріональної смертності на тлі збільшення кількості резорбцій та зниження вагових показників ембріонів на обох термінах дослідження.

4. Комбіноване введення хлориду кадмію з сукцинатами біогенних металів призводить до підвищення середнього показника кількості ембріонів у посліді за рахунок зниження показників ембріональної смертності.

5. Незважаючи на негативний вплив хлориду кадмію при ізольованому введенні на розвиток нирок ембріонів, який проявлявся у потовщенні мезонефральної протоки до $253,41 \pm 18,75$ мкм (контроль - $174,72 \pm 11,54$ мкм) та зменшенні кількості метанефридій на 13-тій добі ембріогенезу, в групах комбінованого введення визначалось відновлення досліджуваних параметрів у бік до контрольних (комбінація хлориду кадмію з сукцинатом цинку: $187,73 \pm 11,37$ мкм, в групі комбінації кадмію та сукцинату міді до $198,73 \pm 12,87$ мкм). Вплив хлориду кадмію на 19-ту добу ембріогенезу призводив до підвищення середніх показників площі порожнини капсули нефрону до $6844 \pm 57,82$ мкм², (контроль – $1471,59 \pm 19,18$ мкм²), що свідчило про порушення фільтраційної здатності нирок у ембріонів. В групах комбінованого впливу даний показник відновлювався у бік до контрольних значень: при комбінації з сукцинатом цинку становив – $3267 \pm 16,21$ мкм², а при комбінації з сукцинатом міді – $4767 \pm 19,41$ мкм², що свідчить про компенсаторний вплив сукцинатів на нефротоксичність кадмію при їх одночасному надходженні в організм.

6. Ізольоване введення хлориду кадмію вагітним самицям достовірно збільшувало рівень кадмію в нирках та крові вагітних самиць щурів і в ембріонах в межах досліджуваних термінів та викликало зниження рівню мікроелементу цинку в тканинах нирок. Комбіноване введення сукцинатів цинку або міді на тлі кадмієвої інтоксикації достовірно знижує рівень накопичення кадмію в нирках, крові та в ембріонах, що дозволяє розглядати сукцинати цинку та міді як можливі потенційні біоантагоністи хлориду кадмію, які сприяють виведенню цього мікроелемента з організму.

7. Співставлення отриманих даних довело одночасне надходження хлориду кадмію з сукцинатами міді або цинку достовірно знижувало рівень накопичення кадмію органами самиць та ембріонами, що знижувало показники ембріотоксичності та нефротоксичності кадмію в зазначених дозах та способі введення. Аналіз та порівняння отриманих результатів демонструє біоантагоністичні властивості сукцинатів міді та цинку щодо ембріотоксичності та нефротоксичності хлориду кадмію в експерименті.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Трахтенберг ИМ, Колесников СВ, Луковенко ВП. Тяжелые металлы во внешней среде: современные гигиенические и токсикологические аспекты. Минск; 1994. 123 с.
2. Рибалова О, Коробкова Г, Гудзевич А. Оцінка ризику для здоров'я населення від забруднення повітря в промислових регіонах України. Вісн. Харк. Нац. ун-ту ім. В.Н. Каразіна. Сер.: Геологія. Географія. Екологія. 2022;56:240-54. DOI: 10.26565/2410-7360-2022-56-18
3. Андрусишина ІМ, Лампека ОГ. Особливості вікової зміни вмісту важких металів і мікроелементів в органах експериментальних тварин. В: Нариси вікової токсикології. Київ: Авіцена; 2019, с. 63-70.
4. Долецький СП. Мінеральне живлення тварин та уміст мікроелементів і важких металів у кормах різних регіонів України за сучасних екологічних умов. Наук. вісн. Нац. ун-ту біоресурсів і природокористування України. 2019;172(4):94-9.
5. Антоняк ГЛ, Панас НЄ, Жиліщич ЮВ, Білецька ПП. Екотоксикологічні аспекти впливу кадмію на організм людини і тварин. Мед. хімія. 2017;9(3):112-9.
6. Арустамян ОМ, Ткачишин ВС, Алексійчук ОЮ. Вплив сполук кадмію на організм людини. Мед. неотложных состояний. 2019;7,(78):109-14. DOI: 10.221412224-0586.7.78.2016.86103
7. Щорічний звіт про стан здоров'я населення України та епідемічну ситуацію за 2022 рік [Інтернет]. Київ; 2023 [цитовано 2024 Груд 20]. 39 с. Доступно: <https://moz.gov.ua/uploads/ckeditor.pdf>
8. Бабюк АВ, Щотка ОО. Вплив хімічних забруднювачів навколишнього середовища на стан здоров'я населення. Гігієна та епідеміологія. 2019:144-65.

9. ВОЗ. Десять самых опасных химических веществ [Интернет]. 2014 [цитировано 2024 Дек 20]. Доступно: https://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/chemicals_phc/ru/
10. Фатеева НЮ. Токсична дія важких металів на живі організми та шляхи її зменшення. Акт. питання сьогодення. 2019;7:107-10.
11. Гриньова ЯГ, Криштор ЄА. Проблеми забруднення навколишнього середовища важкими металами та шляхи їх подолання. Інженерія природокористування. 2021;1(19):111-9. DOI: 10.5281/zenodo.6904034
12. Агропромислове виробництво України в 2020 році [Интернет]. [цитовано 2024 Груд 20]. Доступно: <http://agroreview.com/statistics/ukrainian-agriculturalindustry-2020/>
13. Аналіз екологічного стану ґрунтів в Україні [Интернет]. [цитовано 2024 Груд 20]. Доступно: <http://www.menr.gov.ua/content/anliz-ekologichnogo-stanu-gruntivv-ukrayini>
14. Кондрашова МН. Бурштинова кислота – джерело енергії в організмі. Норма – прес. 1991;9:17-9.
15. Кондрашова ММ, Ананенко АА, Федюшкіна НА, Відіта ОД, Клейменова НВ, Пасинков ІВ. Ембріопротекторна дія бурштинової кислоти на потомство тварин з гіпоксією та герпетичною інфекцією. В: Бурштинова кислота у медицині, харчової промисловості, сільському господарстві. 1997, с. 120-8.
16. Костюк ІО. Особливості використання сукцинату як енергетичного субстрату тканинного дихання за умов накопичення вітаміну Е в печінці курей. Вісн. Полтав. держ. аграрної академії. 2014;1:68-74.
17. Чекман ИС, Сыровая АО, Макаров ВА, Макаров ВВ, Лапшин ВВ. Янтарь, янтарная кислота, сукцинаты. Киев: Харьков: ТОВ «Планета- принт»; 2017. 107 с.
18. Куш ОГ, Земляний ОА, Стрижак ОВ. *Динаміка накопичення кадмію в ембріонах дослідних тварин та його вплив на травну систему*. Перспективи та інновації науки. Сер.: Психологія, Сер.: Педагогіка, Сер.: Медицина. 2024;37(3):1324-35. DOI: 10.52058/2786-4952-2024-3(37)-1324-1335

19. Kolosova I, Shatorna V. Toxicity of cadmium salts on indicators of embryogenesis of rats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2022;13(4):331-8. DOI: 10.15421/022243
20. Шаторна ВФ, Ломига ЛЛ. Аналіз змін мікроелементного статусу серця щурів при хронічній інтоксикації кадмієм. *Вісн. пробл. біології і медицини*. 2023;4(171):107-16. DOI: 10.29254/2077-4214-2023-4-171-107-116
21. Зміцнення хімічної безпеки в Україні відповідно до реалізації резолюції Ради Безпеки ООН 1540 про нерозповсюдження зброї масової поразки та засобів її доставки. *Ukraine Chemical Security Forum [Інтернет]*. [цитовано 2024 Груд 20]. Доступно: <https://www.osce.org/projects/ukraine-chemical-safety-security>
22. 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. DOI: 10.15421/081902
23. 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
24. Сталій розвиток – стан та перспективи. В: Матеріали Міжнар. наук. симп. SDEV'2018; 2018 Лют 28 – 2018 Бер 03; Львів-Славське, Україна. Львів; 2018. 343 с.
25. Трахтенберг ІМ, Дмитруха НМ, Козлов КП, Апихтіна ОЛ, Короленко ТК, Краснокутська ЛМ. Сучасні підходи щодо профілактики інтоксикацій важкими металами. *Таврич. медико-біологічний вестник*. 2012;15,1(57):253-7.
26. Balali-Mood M, Naseri K, Tahergorabi Z, Khazdair MR, Sadeghi M. Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic. *Front Pharmacol*. 2021 Apr 13;12:643972. DOI: 10.3389/fphar.2021.643972
27. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy metal toxicity and the environment. *Exp Suppl*. 2022;101:133-64. DOI: 10.1007/978-3-7643-8340-4_6
28. 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

29. Arustamian O, Tkachyshyn V, Aleksiichuk O. Influence of Cadmium Compounds on the Human Body. *Emergency medicine*. 2022;7(78):109-14. DOI: 10.22141/2224-0586.7.78.2016.86103

30. Сибірний АВ. Екологічні фактори надходження елементів-забруднювачів у організм людини. В: Наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Бабенківські читання», присвяч. пам'яті акад. Г.О. Бабенка; Івано-Франківськ; 2021 Жовт 18-19. 2021, с. 41-3.

31. Kaninga BK, Chishala BH, Maseka KK, Sakala GM, Lark MR, Tye A, et al. Review: mine tailings in an African tropical environment-mechanisms for the bioavailability of heavy metals in soils. *Environ Geochem Health*. 2020;42(4):1069-94. DOI: 10.1007/s10653-019-00326-2

32. 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

33. 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

34. Glicklich D, Frishman WH. The Case For Cadmium and Lead Heavy Metal Screening. *The American Journal of the Medical Sciences*. 2021;362(Iss 4):344-54. DOI: 10.1016/j.amjms.2021.05.019

35. Мельничук ДО, Мельникова НМ, Деркач ЄА. Вікові особливості кумуляції кадмію в органах отруєних щурів і зміни показників кислотно-лужного стану крові за різних умов антиоксидантного захисту організму. *Укр. біохім. журнал*. 2004;76(6):95-9.

36. Антоняк ГЛ, Панас НЄ, Жиліщич ЮВ. Екотоксикологічні аспекти впливу кадмію на організм людини і тварин. *Мед. хімія*. 2017;9(1):112-9.

37. Трахтенберг ІМ, редактор. Нариси вікової токсикології. Київ: Авіценна; 2005. 256 с.

38. Шаторна ВФ, Ломига ЛЛ. Зміни показників ембріотоксичності хлориду кадмію в хронічному експерименті на щурах. Вісн. пробл. біології і медицини. 2023;2(169):97-101. DOI: 10.31718/2077–1096.23.4.247

39. Шаторна ВФ, Кононова ІІ, Гарець ВІ, Нефьодова ОО, Ломига ЛЛ. Пошук нових біоантагоністів ембріотоксичності хлориду кадмію у хронічному експерименті на щурах. Вісн. пробл. біології і медицини. 2023;1(168):92-7. DOI: 10.29254/2077-4214-2023-1-168-92-96

40. Веляник ВП, Ерстенюк АМ. Порівняльний аналіз вмісту заліза, міді та цинку за умови експериментального моделювання субхронічної токсичності екстракту *trigonella foenum-graecum* у щурів. В: Наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Бабенківські читання», присвяч. пам'яті акад. Г.О. Бабенка; Івано-Франківськ; 2021 Жовт 18-19. 2021, с. 8.

41. Большой ДВ, Пихтеева ОГ, Пихтеева ОД. Дослідження забезпечення населення України міддю в умовах пандемії COVID-19. В: Наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Бабенківські читання» присвяч. пам'яті акад. Г.О. Бабенка; Івано-Франківськ; 2021 Жовт 18-19. 2021, с. 7.

42. Воробець НМ, Яворська НЯ, Фафула РВ, Зазуляк ТС. Свинець і кадмій у складі пагонів і плодів *vaccinium corymbosum*. В: Наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Бабенківські читання» присвяч. пам'яті акад. Г.О. Бабенка; Івано-Франківськ; 2021 Жовт 18-19. 2021, с. 9.

43. Погорєлов МВ, Бумейстер І, Погорєлов ГФ, Ткач В, Бончев СД, Сікора ВЗ, та ін. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення). Суми: Вид-во СумДУ; 2019. 14 с.

44. Островська СС, Абрамов СВ, Дичко ЄН, Виселко АД, Коновалова ОС, Данільченко АК. Епігенетичні ефекти важких металів навколишнього середовища на прикладі кадмію. Вісн. пробл. біології і медицини. 2023;1(168):36-43. DOI: 10.29254/2077-4214-2023-1-168-36-43

45. 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. 2019;21, 2(82):163-8. DOI: 10.24061/2413-0737.XXI.2.82.1.2017.35

46. Шаторна ВФ, Гарець ВІ, Кононова ІІ. Порівняння ефекту впливу солей свинцю та кадмію на ембріогенез у щурів. Укр. журн. медицини, біології та спорту. 2018;3.6(15):310-4. DOI: 10.26693/jmbs03.06.310

47. Федоренко ВІ. Обґрунтування допустимих добових доз свинцю і кадмію в добових раціонах харчування. Мед. перспективи. 2019;24(1):73-80. DOI: 10.26641/2307-0404.2019.1.162310

48. Флекей НВ, Кондратюк ВА, Лотоцька ОВ, Сопель ОМ, Флекей ПП. Комбінована дія іонів натрію і кадмію на організм піддослідних тварин. Мед. хімія. 2018;13(4):225.

49. Флекей НВ. Вивчення токсичного впливу кадмію хлориду на організм піддослідних тварин в умовах гострого дослід. Здобутки клініч. та експерим. медицини. 2015;1:129-31. DOI: 10.11603/1811-2471.2015.v22.i1.4238

50. Satarug S, Gobe GC, Vesey DA. Multiple Targets of Toxicity in Environmental Exposure to Low-Dose. Cadmium Toxics. 2022;10:472. DOI: 10.3390/toxics10080472

51. Rasin P, Ashwathi AV, Basheer SM, Haribabu J, Santibanez JF, Garrote CA, et al. Exposure to cadmium and its impacts on human health: A short review. Journal of Hazardous Materials Advances. 2025;17:100608. DOI: 10.1016/j.hazadv.2025.100608

52. Sahin S, Mortas T, Muderrisoglu A, Turksoy VA. Investigation of Cannabidiol's Protective Effects on Cadmium-Induced Toxicity in Mice. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2025 Feb;136(2):e14131. DOI: 10.1111/bcpt.14131

53. Anjum M, Ehsan N, Tahir A, Batool M, Hamd H, Ija MU. Nephroprotective Potential of Rhamnazin Against Cadmium-Induced Kidney Damages via Activation of Nrf2/Keap1 Pathway. Natural Product Communications [Internet]. 2025 [cited 2025 Jan 17];20(Iss 1). Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/epub/10.1177/1934578X251316691> DOI: 10.1177/1934578X251316

54. Нефьодова ОО, Шевченко ОС, Гальперін ОІ, Шевченко ІВ, Башта ІГ, Баклунов ВВ. Оцінка впливу кадмію на розвиток кістково-хрящової патології та роль сукцинатів в корекції Cd-індукованої цитотоксичності (огляд літератури). Вісн. пробл. біології і медицини. 2021;2(160):34-9. DOI: 10.29254/2077-4214-2021-2-160-34-39

55. Shevchenko O, Kozina A, Kosse V. Influence of cadmium salts on the development of the skeletal system and in the correction with succinates of metals (literature review). Modern Science - Moderni veda. 2021;3:129-35.

56. Нефьодова ОО, Шевченко ОС. Вивчення особливостей накопичення кадмію в стегновій кістці щурів при ізольованому введенні та за умов корекції сукцинатами металів. Перспективи та інновації науки. Сер.: Психологія, Сер.: Педагогіка, Сер.: Медицина. 2023;15(33):1205-18. DOI: 10.52058/2786-4952-2023-15(33)-1205-1218

57. Нейко ЄМ, Губський Ю, Ерстенюк Г. Інтоксикація кадмієм: токсикокінетика і механізм біоцидних ефектів. Журн. Акад. мед. наук України. 2003;9(2):250-61.

58. Нефьодов ОО, Білишко ДВ, Кушнарєва КА, Шевченко ОС, Шаторна ВФ, Кефелі-Яновська ОІ, та ін. Визначення впливу кадмію на показники ембріогенезу при ізольованому введенні та в комбінації з цитратами селену та германію. Мед. перспективи. 2020;25(1):24-31. DOI: 10.26641/2307-0404.2020.1.200395

59. Тимчук КМ, Абрамов СВ, Крижановський ДГ, Федченко МП, Філіпенко ВВ, Черненко ГП, та ін. Ембріотоксична дія хлориду кадмію та купруму при внутрішньошлунковому введенні впродовж всього періоду вагітності у білих щурів. Вісн. пробл. біології і медицини. 2022;3(166):115-9. DOI: 10.29254/2077-4214-2022-3-166-115-119

60. Piasek M, Laskey JW, Kostial K, Blanusa M. Assessment of steroid disruption using cultures of whole ovary and/or placenta in rat and in human placental tissue. Arch Occup Environ Health. 2012;75:36-44. DOI: 10.1007/s00420-002-0351-3.

61. Piasek M, Laskey JW. Effects of in vitro cadmium exposure on ovarian steroidogenesis in rats. *J Appl Toxicol.* 2014 May-Jun;19(3):211-7. DOI: 10.1002/(SICI)1099-1263(199905/06)19:3<211::AID-JAT568>3.0.CO;2-4

62. Саломейна НВ, Склянов ЮИ, Машак СВ. Сравнительный анализ эффектов воздействия солью кадмия в различные периоды беременности. *J of siberian medical sciences.* 2014;2:61-7.

63. Колосова П, Шаторна ВФ. Зміни морфометричних показників яєчників щурів при впливі солей кадмію. В: Зб. тез доп. Міжнар. наук.-практ. конф. «Наука, освіта, технології та суспільство: нові дослідження і перспективи»; 2022 Лип 02; м. Полтава. Полтава: ЦФЕНД; 2022, с. 58-9.

64. Колосова П, Шаторна ВФ, Островська СС. *Особливості накопичення солей кадмію в яєчниках щурів при ізолюваному введенні та в комбінації з цитратами церію й германію.* В: Інтеграція освіти, науки та бізнесу в сучасному середовищі: зимові диспути: тези доп. II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф.; 2021 Лют 4-5. 2021, с. 480-2.

65. 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 щурів. *Світ медицини та біології.* 2019;2(68):214-8. DOI: 10.26724/2079-8334-2019-2-68-210-214

66. Şimşek H, Akaras N, Gür C, Küçükler S, Kandemir FM. Beneficial effects of chrysin on cadmium-induced nephrotoxicity in rats: modulating the levels of Nrf2/HO-1, RAGE/NLRP3, and Caspase-3/Bax/Bcl-2 signaling pathways. *Gene.* 2023;875:147502. DOI: 10.1016/j.gene.2023.147502

67. Charkiewicz AE, Omeljaniuk WJ, Nowak K, Garley M, Nikliński J. Cadmium toxicity and health effects—A brief summary. *Molecules.* 2023;28(18):6620-5. DOI: 10.3390/molecules28186620

68. Pallio G, Micali A, Benvenga S. Myo-inositol in the protection from cadmium-induced toxicity in mice kidney: an emerging nutraceutical challenge. *Food Chem Toxicol.* 2019;132:110675. DOI: 10.1016/j.fct.2019.110675

69. Iqbal Z, Quds R, Mahmood R. Cadmium chloride generates cytotoxic reactive species that cause oxidative damage and morphological changes in human erythrocytes. *Biochem Cell Biol.* 2022;100(6):485-98. DOI: 10.1139/bcb-2022-0188
70. Андрусишина ІМ, Лампека ОГ. Особливості вікової зміни вмісту важких металів і мікроелементів в органах експериментальних тварин. В: Нариси вікової токсикології. Київ: Авіцена; 2019, с. 63.
71. Гордієнко ВВ. Особливості накопичення кадмію в організмі щурів різного віку за тривалої експозиції солі металу в дозах малої інтенсивності. Клініч. та експерим. патологія. 2021;14(1):40-3. DOI: 10.24061/1727-4338.XIV.1.51.2015.6
72. Гордієнко ВВ, Бойчук ТМ. Вікові особливості гепатотоксичної дії кадмію хлориду у щурів за субхронічної експозиції доз малої інтенсивності. Буков. мед. вісник. 2019;18(73):45-8. DOI: 10.24061/2413-0737.XIX.1.73.2015.11
73. Robards K, Worsfold P. Cadmium: toxicology and analysis. A review. *Analyst.* 1991;116(6):549-68.
74. Vesey DA. Transport pathways for cadmium in the intestine and kidney proximal tubule: focus on the interaction with essential metals. *Toxicol Lett.* 2020 Sep 15;198(1):13-9. DOI: 10.1016/j.toxlet.2010.05.004
75. Seif MM, Madboli AN, Marrez DA, Aboulthana WM. Hepato-renal protective effects of Egyptian purslane extract against experimental cadmium toxicity in rats with special emphasis on the functional and histopathological changes. *Toxicol Rep.* 2019;6(2019):625-31. DOI: 10.1016/j.toxrep.2019.06.013
76. Wani N, Pasha T. Laboratory tests of renal function. *Anaesth Intensive Care Med.* 2021;22(7):393-7. DOI: 10.1016/j.mpaic.2021.05.010
77. Hernández-Cruz EY, Amador-Martínez I, Aranda-Rivera AK, Cruz-Gregorio A, Chaverri JP. Renal damage induced by cadmium and its possible therapy by mitochondrial transplantation. *Chem Biol Interact.* 2022;361:109961. DOI: 10.1016/j.cbi.2022.109961

78. Деркач ЄА. Вплив наноаквахелатів і макродисперсної форми Купруму на концентрацію церулоплазміну в крові кролів. Біологія тварин. 2017;14(1-2):80-4.

79. Руденко КМ, Коссе ВА, Трушенко О, Люлько ІВ, Топка ЕГ, Філіппов ЮО, та ін. Вплив кадмію та купруму на показники смертності в ембріогенезі щурів при внутрішньошлунковому введенні. Вісн. пробл. біології і медицини. 2021;3(161):101-5. DOI: 10.29254/2077-4214-2021-3-161-101-105

80. Руденко КМ. Зниження ступеню ембріотоксичності хлориду кадмію при комбінованому введенні з сукцинатами міді в експерименті на щурах. Вісн. пробл. біології і медицини. 2020;4(158):69-73. DOI: 10.29254/2077-4214-2020-4-158-69-73

81. Пихтєєва ОГ, Потапов ЄА, Большой ДВ. Залежність виживаності лабораторних тварин при дії сполук важких металів від попередньої індукції металотіонеїну. Акт. пробл. транспортної медицини. 2019;2(32,2):77-80.

82. Пірова ЛВ, Косіор ЛТ, Король АП. Баланс міді, цинку і марганцю в організмі свиней за різних доз та сполук селену у раціоні. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. 2019;10(105):108-10.

83. Shatorna VF, Tymchuk KM. Dynamics of cadmium accumulation in the blood and small intestine in a chronic experiment on rats. Bulletin of problems biology and medicine. 2023;1(168):97-101. DOI: 10.29254/2077-4214-2023-1-168-97-101

84. Рудченко ІВ. Роль макро-, мікроелементів у розвитку природжених вад. Досягнення біології та медицини. 2019;1(13):94-8.

85. Angelova VR, Ivanova RV, Todorov JM. Lead, cadmium, zinc, and copper bioavailability in the soil-plant-animal system in a polluted area. Sci World J. 2018;10:273-85. DOI: 10.1100/tsw.2010.33

86. Онул НМ. Вміст мікроелементів в організмі самки і плоду при фізіологічній вагітності та впливі важких металів. Акт. пробл. сучас. медицини: Вісн. Укр. мед. стоматол. академії. 2020;14(3):235-8.

87. Суходольська НВ. Вміст цинку, міді, свинцю та кадмію в системі мати - плацента – плід. Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. 2015;2:69-77. DOI: 10.25040/ecpb2015.02.069
88. Антоняк ГЛ, Важненко ОВ, Бовт ВД, Стефанишин ОМ, Панас НЄ. Біологічна роль цинку в організмі людини і тварин. Біологія тварин. 2019;139(1-2):17-31.
89. Нечитайло ЛЯ. Вміст кадмію і цинку в екосистемі Прикарпаття та вплив кадмієвої інтоксикації на мікроелементний статус організму експериментальних тварин. Мед. та клінічна хімія. 2018;20(4):60-5. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i4.9797
90. Суходольська НВ. Вміст цинку, міді, свинцю та кадмію в системі мати - плацента – плід. Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. 2015;2:69-77. DOI: 10.25040/ecpb2015.02.069
91. King JC, Cousins RJ. Zinc. In: Modern Nutrition in Health and Disease. 10th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2015, p. 271-85.
92. Palmiter RD. Protection against zinc toxicity by metallothionein and zinc transporter 1. Proc Natl Acad Sci. USA. 2014;101(14):4918-23. DOI: 10.1073/pnas.0401022101
93. Jackson KA, Valentine RA, Coneyworth LJ, et al. Mechanisms of mammalian zinc-regulated gene expression. Biochem Soc Trans. 2018;36(6):1262-6. DOI: 10.1042/BST0361262
94. Шамелашвілі КЛ, Шаторна ВФ. Експериментальне визначення модифікуючого впливу сукцинату цинку на ембріотоксичність хлориду кадмію у щурів. Вісн. пробл. біології та медицини. 2020;3(157): 58-61.
95. Заячук ВМ. Показники обміну біоелементів металів при виразковій хворобі. В: Наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Бабенківські читання», присвяч. пам'яті акад. Г.О. Бабенка; Івано-Франківськ; 2021 Жовт. 18-19. 2021, с. 20.

96. Ященко ОВ. Цитрат цинку, отриманий за аквананотехнологією: хімічна та біологічна характеристика (оцінка хімічної чистоти та біологічної доступності). Довкілля та здоров'я. 2011;2(57):44-9.

97. Krewski D, Acosta DJr, Andersen M, Anderson H, Bailar JC 3rd, Boekelheide K, et al. Toxicity testing in the 21st century: a vision and a strategy. J Toxicol Environ Health B Crit Rev. 2010 Feb;13(2-4):51-138. DOI: 10.1080/10937404.2010.483176

98. The “essential use” concept. In: European Commission, 37th Meeting of Competent Authorities for REACH and CLP (CARACAL). Brussels, Belgium: Concerns: Essential Uses Published; 2020, p. 19.

99. Шафран ЛМ. До проблеми есенціальності у сучасній біоелементології. В: Наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Бабенківські читання», присвяч. пам'яті акад. Г.О. Бабенка; Івано-Франківськ; 2021 Жовт. 18-19. 2021, с. 31-4.

100. Fujishiro H, Yano Y, Takada Y, Tanihara M, Himeno S. Roles of ZIP8, ZIP14, and DMT1 in transport of cadmium and manganese in mouse kidney proximal tubule cells. Metallomics. 2012 Jul;4(7):700-8. DOI: 10.1039/c2mt20024d

101. Гордієнко ВВ. Вікові особливості хроноритмів екскреторної функції нирок у щурів за тривалої дії малих доз кадмію хлориду. Буков. мед. вісник. 2006;10(4):28-32.

102. Горбань ЄМ, Міхєєв АО. Вікові особливості морфофункціонального стану нирок та водно-сольового обміну у лабораторних щурів. Таврич. мед.-биол. вестник. 2000;1-2:199-201.

103. Гордієнко ВВ. Функціональні зміни в діяльності нирок щурів за кадмієвої інтоксикації у системі «мати-плід». Буков. мед. вісник. 2014;18(71):46-9. DOI: 10.24061/2413-0737.XVIII.3.71.2014.131

104. Гоженко АИ, Долوماتов СИ, Романив ЛВ, и др. Значение возрастных особенностей в реакции почек крыс на однократное введение дихлорида кадмия. Буков. мед. вісник. 2003;192:27931.

105. Гоженко А.И. Патогенез токсических нефропатий. Акт. пробл. транспортної медицини. 2006;2:9-15.

106. Дейнека МО, Себа МВ. Застосування карбоксилатів харчових кислот нанотехнологічного походження, для стимуляції репродуктивної функції великої рогатої худоби. В: Актуальні проблеми наук про життя та природокористування: III Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених; м. Київ; 2015 Жовт. 28–3. Тези доп. Київ; 2015, с. 72-3.

107. Маевский ЕИ, Гришина ЕВ, Розенфельд АС, Зякун АМ, Верещагина ИМ, Кондрашова МН. Анаэробное образование сукцината и облегчение его окисления возможные механизмы адаптации клетки к кислородному голоданию. Биомедицинский журнал. 2009;4:32-6.

108. Лебедев АФ, Швец ОМ, Евглевский АА, и др. Разработка и применение препаратов на основе янтарной кислоты. Ветеринария. 2019;3:48-51.

109. Себа МВ, Каплуненко ВГ, Хоменко МО. Вплив мікроелементів у формі карбоксилатів харчових кислот нанотехнологічного походження на заплідненість корів. Вісн. Житомир. Нац. агроекологічного університету. 2015;3, 2(52):225-30.

110. Себа МВ, Хоменко МО. Гормональні зміни в організмі телиць після застосування нового препарату та комплексів нанокарбоксилатів. Тваринництво України. 2017;3-4:17-20.

111. Коваленко ОЛ, Белякова НА, Романцов МГ. Фармакологічна активність бурштинової кислоти та її лікарські форми. Лікарська справа. 2010;4:26-7.

112. Нефьодова ОО, Шевченко ОС, Шевченко ІВ. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку на морфологічні структури стегнової кістки та нижньої щелепи щурів. Перспективи та інновації науки. 2024;3(37):462-9. DOI: 10.52058/2786-4952-2024-3(37)-1419-1434

113. Нефьодова ОО, Янушкевич КС. Інтоксикаційний вплив солей свинцю та кадмію на печінку щурів із корекцією сукцинатами цинку та заліза.

Перспективи та інновації науки. 2024;2(36):532-41. DOI: 10.52058/2786-4952-2024-2(36)-1170-1183

114. Коваленко ОЛ. Фармакологічна активність бурштинової кислоти та її лікарські форми. Перспективи та інновації науки. 2010;3(4):347-9.

115. Лебедєв АФ. Розробка та застосування препаратів на основі янтарної кислоти. Вісн. пробл. біології та медицини. 2012;4(52):132-41.

116. Нечитайло ЛЯ, Хопта НС, Леськів ХА, Базалицька ІС, Ерстенюк АМ. Зміни макро- та мікроелементного складу тканин і органів експериментальних тварин за умов комбінованої дії ксенобіотиків. Science and Education a New Dimension. Natural and Technical Sciences. 2017;5(13)(Iss 121):25-8.

117. Шафран ЛМ, Пихтєєва ОГ, Большой ДВ. Алгоритм лабораторних досліджень при підозрі на дисгомеостаз важких металів. Акт. пробл. транспортной медицины. 2014;4(1,38I):97-105.

118. Багрій ММ, Діброва ВА. Методики морфологічних досліджень. Вінниця: Нова книга; 2016. 328 с.

119. Шаторна ВФ, Краснов ОО. Морфологічні зміни паренхіми нирок щурів при хронічному впливі хлоридом кадмію в експерименті. Перспективи та інновації науки. Сер.: Психологія, Сер.: Педагогіка, Сер.: Медицина. 2024;6(40):1355-66. DOI: 10.52058/2786-4952-2024-6(40)-1355-1367

120. Шаторна ВФ, Краснов ОО. Морфологічні зміни нефрогенезу щура за умов хронічного впливу хлоридом кадмію. In: Internacional Science Conference «Current methods of improving outdated technologies and methods»; 2024 Jan 8-10; Bilbao, Spain. 2024, p. 229-231.

121. Шаторна ВФ, Краснов ОО, Стрижак ОВ. Хронічний вплив хлориду кадмію на гістологічні показники нирок щура. In: The 1st International scientific and practical conference “Science in the modern world: innovations and challenges”; 2024 Sept 27-29; Perfect Publishing, Toronto, Canada. 2024, p. 37-44.

122. Шаторна ВФ, Краснов ОО. Аналіз хронічного впливу хлоридом кадмію на нефрогенез щура. Акт. пробл. сучасної медицини. 2024;24, 1(85):154-8. DOI: 10.29254/2077-4214-2022-4-167-242-250

123. Shatorna VF, Krasnov OO. Effect of cadmium chloride on kidney morphology in rats in isolated introduction and in combination with copper and zinc succinates. Вісн. пробл. біології і медицини. 2022;1(163):97-102. DOI: 10.29254/2077-4214-2022-1-163-97-102

124. Шаторна ВФ, Краснов ОО. Хронічний вплив хлориду кадмію на ембріогенез щурів при ізольованому та комбінованому з сукцинатами цинку та міді внутрішньошлунковому введенні в експерименті. Укр. журн. медицини, біології та спорту. 2022;7, 2(36):254-60. DOI: 10.26693/jmbs07.02.254

125. Шаторна ВФ, Краснов ОО. Динаміка накопичення кадмію, цинку та міді в нирках та крові щурів при ізольованому та комбінованому з сукцинатами цинку та міді внутрішньошлунковому введенні кадмію. Вісн. пробл. біології і медицини. 2022;4(167):242-50. DOI: 10.29254/2077-4214-2022-4-167-242-250

126. Shatorna VF, Krasnov OO. Effect of cadmium chloride on morphogenesis of kidneys of rat embryos when isolated and its combined effect with metal succinate. Bulletin of problems in biology and medicine. 2024;4(175):208-17. DOI: 10.29254/2077-4214-2024-4-175-208-217

127. Шаторна ВФ, Краснов ОО. Накопичення кадмію в нирках вагітних самиць щурів та в ембріонах при ізольованому введенні хлориду кадмію та при комбінації з сукцинатами міді та цинку. В: XI Міжнар. наук.-практ. конф. «Science, innovations and education: problems and prospects»; 2022 Черв 01-03; Токіо, Японія. 2022, р. 196-201.

128. Шаторна ВФ, Краснов ОО. Експериментальний вплив хлориду кадмію та сукцинатів міді і цинку на морфологію нирок щурів. В: Міжнар. наук.-практ. конф. «Наука, освіта, технології та суспільство: нові дослідження і перспективи»; 2022 Лип 22; Полтава. 2022, р. 54-55.

129. Нефьодова О, Грузд В. Зміни мікроелементного складу статевих залоз самців щурів під впливом кадмієвої інтоксикації та коректорів за даними поліелементного аналізу. Перспективи та інновації науки. 2023; 15(33):342-349

130. Нефьодова О, Шевченко О. Вивчення особливостей накопичення кадмію в стегновій кістці щурів при ізольованому введенні та за умов корекції сукцинатами металів. Перспективи та інновації науки. 2023; 15(33):350-358.

131. Нефьодова ОО, Шевченко ОС. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в нижній щелепі щурів за умов корекції сукцинатами цинка та заліза. Вісник проблем біології і медицини. 2023;4: 341-350.

132. Нефьодова ОО, Шевченко ОС, Гальперін ОІ, Шевченко ІВ, Башта ІГ, Баклунов ВВ. Оцінка впливу кадмію на розвиток кістково-хрящової патології та роль сукцинатів в корекції кадмій-індукованої цитотоксичності. Вісник проблем біології і медицини. 2021; 2 (160):34-39.

133. Булик РЄ, Попелюк О-МВ, Мельник ВВ, Проняєв ДВ. Сучасні уявлення про закладку та ембріогенез сечовидільних органів. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2022; 26(2):328-334.

134. Державна програма "Репродуктивне здоров'я нації" Про затвердження Державної прог. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1849-2006>

135. Державна програма "Глобальні цілі сталого розвитку" [Цілі сталого розвитку | United Nations Development Programme](#)

136. Шаторна ВФ, Кононова ІІ, Гарець ВІ, Нефьодова ОО. Пошук нових біоантагоністів ембріотоксичності хлориду кадмію в хронічному експерименті на щурах. Вісник проблеми біології та медицини, 2023;168 (1): 92-96.

137. Шаторна ВФ, Гарець ВІ, Майор ВВ, Колосова ІІ, Савенкова ОО. Пошук нових біоантогоністів ацетату свинцю в експерименті. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії. 2013; 13,4 (44):191-195.

138. Нефьодова ОО, Азаров ОІ, Шаторна ВФ, Руденко КМ, Придиус ІО. Порівняльна характеристика ембріотоксичності солей кадмію при внутрішньошлунковому введенні у щурів. Вісник проблем біології і медицини = Bulletin of problems biology and medicine. 2019;2 (т. 1): 253-257.

139. Нефьодова ОО, Білишко ДВ. Вплив важких металів на морфофункціональний стан печінки. Вісник проблем біології і медицини. 2018; 1,2 (143):27-30.

140. Нейко ЄМ, Губський ЮІ, Єрстенюк ГМ. Інттоксікація кадмієм: токсикокінетика і механізм біоцидних ефектів. Журн. АМН України. 2003; 9 (2): 250-61.

141. Шафран ЛМ, Большой ДВ, Пихтєєва ЄГ, Тимофєєва СВ. Роль металотіонеїнів в біомоніторингу забруднення довколишнього середовища важкими металами. "Гігієна населених місць". Київ; 2000; 37:190-3.

142. Шкумбатюк ОЮ, Шкумбатюк РС, Лозовицька ТМ, Зубік СВ. Екотоксичний вплив кадмію на гематологічні показники у щурів. Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. 2010; 12 (3): 201-5.

143. Єрстенюк ГМ. Кісневотранспортна функція крові за умов інтоксикації кадмієм. Вісник Львівського університету. Серія: Біологія. 2004;(37):72-6.

144. Земляний ОА, Данільченко АК, Євтушенко ТВ, Писаревська ІА, Бойко ОА, Письменецька ІЮ, Шемет СА. Хронічний низькодозовий вплив кадмію: сучасні уявлення щодо механізмів надходження сд в організм і нефротоксичні ефекти металу. Вісник проблем біології і медицини. 2021; (161): 35-40. DOI 10.29254/2077-4214-2021-3-161-35-40

145. Антоняк ГЛ, Бабич НО, Білецька ЛП, Панас НЄ, Жиліщич ЮВ. Кадмій в організмі людини і тварин. Вплив на функціональну активність органів і систем. Biol. Stud. 2010; 4(3); 125–136. DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.0403.110>

146. Satarug S, Garrett SH, Sens MA, Sens DA. Cadmium, environmental exposure, and health outcomes. Environ. Health Perspect, 2010; 118(2): 182–190.

147. Satarug S, Moore MR. Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. Environ. Health Perspect, 2004; 112(10): 1099–10103.

148. Thévenod F. Nephrotoxicity and the proximal tubule. Insights from cadmium. *Nephron Physiol.* 2003; 93(4): 87–9.
149. Федорук ОС, Владиченко КА, Жуков ВС. Структурно-функціональні зміни в нирках при нирковій недостатності (огляд літератури). Актуальные проблемы транспортной медицины. 2006; № 2 (4):110-115.
150. Киреева ЕП, Кацнельсон БА, Дегтярева ТД, Привалова ЛИ, Валамина ИЕ, Береснева ОЮ. Нефротоксическое действие свинца, кадмия и его торможение комплексом биопротекторов" *Токсикологический вестник.* 2006; 3 (78): 26-32.
151. Satarug S, Gobe GC, Vesey DA. Multiple Targets of Toxicity in Environmental Exposure to Low-Dose Cadmium. *Toxics* 2022; 10:472. <https://doi.org/10.3390/toxics10080472>
152. Barregard L, Salsten G, Lund T, Mölne J. Low-level exposure to lead, cadmium and mercury and histopathological findings in kidney biopsies. *Environ. Res.* 2022; 211, 113119.
153. Elinder KG, Edling K, Lindberg E, Kagedal B, Westerberg O. Assessment of renal function in workers previously exposed to cadmium. *Occup. Environ. Med.* 1985; 42:754–760.
154. Sonce H, Wang D, Zhou Z, Ding Z, Chen X; Xu Y; Huang L, Tang D. Association of cadmium in the blood and eyelids of a population with low influx into the upper midsection. *Chemosphere* 2016; 156: 392–397.
155. Elinder KG, Lind B, K'elstrjom T, Linnman L, Friberg L. Cadmium in bark, liver and vines based on data from Swedish plants. Assessment of biological health in relation to caloric intake and chicken nutrition. *Arch. It's too middle-of-the-road. Health* 1976; 31: 292–302.

ДОДАТКИ

Додаток А Акти впроваджень

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
доктор медичних наук,
професор Вікторія СЕРГІЄНКО



« 06 » 09 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції: динаміка змін показників рівню накопичення важких металів нирками щурів та зміни морфогенезу нирок при хронічному впливі хлоридом кадмію та за умов корекції сукцинатами металів.

2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса: Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044 Україна); аспірант кафедри медичної біології, фармакогнозії, ботаніки та гістології Краснов Олександр Олександрович.

3. Джерело інформації:

1. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Морфологічні зміни паренхіми нирок щурів при хронічному впливі хлоридом кадмію в експерименті. Журнал «Перспективи та інновації науки» (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина») 2024; № 6(40):1355-1366. DOI 10.52058/2786-4952-2023-16(34)-1356-1366.
2. Shatorna V.F., Krasnov O.O. Effect of cadmium chloride on morphogenesis of kidneys of rat embryos when isolated and its combined effect with metal succinate. Bulletin of problems in biology and medicine. 2024; 4, 175: 208-217. DOI 10.29254/2077-4214-2024-4-175-208-217

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

5. Форма впровадження: у навчальну та наукову роботу кафедри.

6. Ефективність впровадження: підвищення якості знань здобувачів з питань впливу важких металів на розвиток нирок та рівень накопичення кадмію організмом та ембріонами за умов хронічного впливу.

7. Зауваження та пропозиції. Не вносилися. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології, цитології та ембріології, протокол № 10 від 2 січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри гістології, цитології
та ембріології Львівського
національного медичного університету
імені Данила Галицького. к.м.н., доцент



Ліона ЧЕЛПАНОВА

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Тернопільського національного медичного
університету імені І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України,
д.мед.н., професор



Іван КЛІЩ

2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції:** динаміка змін показників ембріогенезу шурів та рівню накопичення мікроелементів нирками шурів при хронічному впливі хлоридом кадмію та за умов корекції сукцинатами металів.
- 2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044 Україна); аспірант кафедри медичної біології, фармакогнозії, ботаніки та гістології Краснов Олександр Олександрович.
- 3. Джерело інформації:**
 1. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Хронічний вплив хлориду кадмію на ембріогенез шурів при ізольованому та комбінованому з сукцинатами цинку та міді внутрішньошлунковому введенні в експерименті. Український журнал медицини, біології та спорту. 2022 – Том 7, № 2 (36). - 254-260.
 2. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Динаміка накопичення кадмію, цинку та міді в нирках та крові шурів при ізольованому та комбінованому з сукцинатами цинку та міді внутрішньошлунковому введенні кадмію. Вісник проблем біології і медицини. Випуск 4 (167), 2022 рік, 242-250.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра медичної біології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України.
- 5. Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри медичної біології, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.
- 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань впливу важких металів на хід ембріонального розвитку та рівень накопичення кадмію організмом та ембріонами.
- 7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри медичної біології, протокол № 9/1 від 23 березня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

завідувачка кафедри медичної біології
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України
д.мед.н., професор

Лариса ФЕДОНЮК

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор закладу вищої освіти
з наукової роботи
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України
д. б. н., проф. Кліш І. М.
« 26 » грудня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція для впровадження:** динаміка змін показників морфогенезу нирок та рівню накопичення кадмію нирками самиць та ембріонів щурів при хронічному впливі хлоридом кадмію та за умов корекції сукцинатами металів.
- 2. Установа розробника, автор:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044 Україна); аспірант кафедри медичної біології, фармакогнозії, ботаніки та гістології Краснов Олександр Олександрович
- 3. Джерела інформації:**
 1. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Динаміка накопичення кадмію, цинку та міді в нирках та крові щурів при ізольованому та комбінованому з сукцинатами цинку та міді внутрішньошлунковому введенні кадмію. Вісник проблем біології і медицини. Випуск 4 (167), 2022 рік, 242-250.
 2. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Аналіз хронічного впливу хлоридом кадмію на нефрогенез щура. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2024; 24, 1 (85): 154-158. DOI 10.31718/2077-1096.24.1.154
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України.
- 5. Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри гістології та ембріології, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.
- 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів освіти з питань впливу кадмію на морфогенез нирок дорослих самиць та ембріонів щура та накопичення кадмію у нирках вагітних самиць щурів та ембріонах при ізольованому введенні та за умов корекції сукцинатами металів у хронічному експерименті.
- 7. Термін впровадження:** листопад-грудень 2024 року.
- 8. Зауваження та пропозиції:** немає.
- 9. Протокол засідання кафедри № 11 від 11 грудня 2024 р.**

Відповідальний за впровадження
Завідувач кафедри гістології та ембріології
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор біологічних наук, професор

Зоя НЕБЕСНА



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи Запорізького національного університету, доктор історичних наук, професор

Геннадій Васильчук

2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції:** динаміка змін показників рівню накопичення важких металів нирками щурів та зміни морфогенезу нирок при хронічному впливі хлоридом кадмію та за умов корекції сукцинатами металів.
- 2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044 Україна); аспірант кафедри медичної біології, фармакогнозії, ботаніки та гістології Краснов Олександр Олександрович.
- 3. Джерело інформації:**
 1. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Динаміка накопичення кадмію, цинку та міді в нирках та крові щурів при ізольованому та комбінованому з сукцинатами цинку та міді внутрішньошлунковому введенні кадмію. Вісник проблем біології і медицини. Випуск 4 (167), 2022 рік, 242-250. Шаторна В.Ф.,
 2. Краснов О.О. Морфологічні зміни паренхіми нирок щурів при хронічному впливі хлоридом кадмію в експерименті. Журнал «Перспективи та інновації науки» (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина») № 6(40) 2024.- 1355-1366.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини ЗНУ.
- 5. Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.
- 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань впливу важких металів на хід розвиток нирок та рівень накопичення кадмію організмом та ембріонами за умов хронічного впливу.
- 7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини, протокол № 3 від 9 жовтня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри фізіології,
імунології і біохімії з курсом цивільного
захисту та медицини д.біол.н.,
професор

Оксана КУЩ

Додаток Б

Список публікацій, в яких оприлюднені основні наукові результати дисертації:

1. Shatorna V. F., Krasnov O. O. Effect of cadmium chloride on kidney morphology in rats in isolated introduction and in combination with copper and zinc succinates. Вісник проблем біології і медицини. 2022; 1 (163): 97-102. DOI [10.29254/2077-4214-2022-1-163-97-102](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-1-163-97-102) 297-301. (Особистий внесок – аналіз наукової літератури, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті).
2. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Хронічний вплив хлориду кадмію на ембріогенез щурів при ізольованому та комбінованому з сукцинатами цинку та міді внутрішньошлунковому введенні в експерименті. Український журнал медицини, біології та спорту. 2022; 7, № 2 (36): 254-260. DOI: [10.26693/jmbs07.02.254](https://doi.org/10.26693/jmbs07.02.254) (Особистий внесок – аналіз та обрахування отриманих результатів, написання статті).
3. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Динаміка накопичення кадмію, цинку та міді в нирках та крові щурів при ізольованому та комбінованому з сукцинатами цинку та міді внутрішньошлунковому введенні кадмію. Вісник проблем біології і медицини. 2022;4 (167), 242-250. DOI [10.29254/2077-4214-2022-4-167-242-250](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-4-167-242-250) (Особистий внесок: підготовка зразків для дослідження, аналіз та обрахування отриманих результатів, написання статті).
4. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Аналіз хронічного впливу хлоридом кадмію на нефрогенез щура. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2024; 24, 1 (85): 154-158. DOI [10.29254/2077-4214-2022-4-167-242-250](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-4-167-242-250) (Особистий внесок – аналіз та обрахування отриманих результатів, написання статті).
5. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Морфологічні зміни паренхіми нирок щурів при хронічному впливі хлоридом кадмію в експерименті. Журнал «Перспективи та інновації науки» (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина») 2024; № 6(40):1355-1366. DOI [10.52058/2786-4952-2023-16\(34\)-1356-1366](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16(34)-1356-1366).

- (Особистий внесок –аналіз літературних наукових даних та обрахування отриманих результатів, їх порівняння і написання статті).
6. Shatorna V.F., Krasnov O.O. Effect of cadmium chloride on morphogenesis of kidneys of rat embryos when isolated and its combined effect with metal succinate. Bulletin of problems in biology and medicine. 2024; 4, 175: 208-217. DOI 10.29254/2077-4214-2024-4-175-208-217 (Особистий внесок –аналіз та обрахування отриманих результатів, порівняння літературних наукових даних з отриманими і написання статті).
 7. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Накопичення кадмію в нирках вагітних самиць щурів та в ембріонах при ізольованому введенні хлориду кадмію та при комбінації з сукцинатами міді та цинку. XI Міжнародна науково-практична конференція «SCIENCE, INNOVATIONS AND EDUCATION: PROBLEMS AND PROSPECTS» 1-3 червня 2022 року. Токіо, Японія:196-201.
 8. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Експериментальний вплив хлориду кадмію та сукцинатів міді і цинку на морфологію нирок щурів. Міжнародна науково-практична конференція «Наука, освіта, технології та суспільство: нові дослідження і перспективи». 22 липня 2022 року. Полтава: 54-55.
 9. Шаторна В.Ф., Руденко К.М., Краснов О.О. Експериментальне визначення ступеню ембріотоксичності хлориду кадмію при хронічному ентеральному введенні вагітним самицям щурів. II регіональна студентська науково-практична конференція «Екобезпека людини в умовах глобальної екологічної кризи» 27 жовтня 2022р. Черкаси: 49-51.
 10. Шаторна В.Ф., Краснов. Морфологічні зміни нефрогенезу щура за умов хронічного впливу хлоридом кадмію. Internacional Science Conference «Current methods of improving outdated technologies and methods» January 8-10, 2024. Bilbao, Spain:229-231.
 11. Шаторна В. Ф., Краснов О. О., Стрижак О. В. Хронічний вплив хлориду кадмію на гістологічні показники нирок щура. The 1st International scientific and practical conference “Science in the modern world: innovations and challenges” (September 27-29, 2024) Perfect Publishing, Toronto, Canada. 2024: 37-44.

Додаток В

Відомості про апробацію результатів дисертації

1. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Накопичення кадмію в нирках вагітних самиць щурів та в ембріонах при ізольованому введенні хлориду кадмію та при комбінації з сукцинатами міді та цинку. XI Міжнародна науково-практична конференція «SCIENCE, INNOVATIONS AND EDUCATION: PROBLEMS AND PROSPECTS» 1-3 червня 2022 року. Токіо, Японія:196-201. (Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез)
2. Шаторна В.Ф., Краснов О.О. Експериментальний вплив хлориду кадмію та сукцинатів міді і цинку на морфологію нирок щурів. Міжнародна науково-практична конференція «Наука, освіта, технології та суспільство: нові дослідження і перспективи». 22 липня 2022 року. Полтава. 54-55. (Особистий внесок – проведення гістологічних досліджень, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез)
3. Шаторна В.Ф., Руденко К.М., Краснов О.О. Експериментальне визначення ступеню ембріотоксичності хлориду кадмію при хронічному ентеральному введенні вагітним самицям щурів. II регіональна студентська науково-практична конференція «Екобезпека людини в умовах глобальної екологічної кризи» 27 жовтня 2022р. Черкаси. 49-51. (Особистий внесок – розрахування всіх видів ембріональної смертності, порівняння отриманих результатів, написання тез)
4. Шаторна В.Ф., Краснов. Морфологічні зміни нефрогенезу щура за умов хронічного впливу хлоридом кадмію. Internacional Science Conference «Current methods of improving outdated technologies and methods» January 8-10, 2024. Bilbao, Spain:229-231. (Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, інтерпретація результатів, написання тез)

5. Шаторна В. Ф., Краснов О. О., Стрижак О. В. Хронічний вплив хлориду кадмію на гістологічні показники нирок щура. The 1st International scientific and practical conference “Science in the modern world: innovations and challenges” (September 27-29, 2024) Perfect Publishing, Toronto, Canada. 2024. 37-44. (Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез)