

that belong to the infrahyoid group. We have seen two types of superior root topography: medial and lateral subtypes. The inferior root has begun from the C2 and C3. The fusion between hypoglossal nerve and ansa cervicalis was observed to have classical curved shape both in fetal and prefetal stages of PND. It is important to mention that we have seen varieties way of nerve course: in medial position to the internal jugular vein the topography of anse cervicalis in total may change and to be formed between internal jugular vein and common carotid artery. Such peculiarities during reconstructive surgeries are important for successful outcome.

In fetal and prefetal periods of human PND (42,0-310,0 mm of PCL) ansa cervicalis is formed by anastomosis of the superior and inferior roots that are merging with internal carotid artery and internal jugular vein. Investigations of topographical peculiarities of the roots in anse carvalis are important for successful reconstruction surgeries in postnatal and adult age.

**Key words:** prenatal development, neck topography, infrahyoid region, ansa cervicalis in human fetuses.

*Рецензент – проф. Проніна О. М.*

*Стаття надійшла 24.02.2020 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2020-1-155-316-320

УДК 611.12-034:591.33-092.9

*Шаторна В. Ф., Гарець В. І., Байбаков В. М., Кононова І. І., Слесаренко О. Г., Шамелашвілі К. Л.*

## **ВИЗНАЧЕННЯ МОДИФІКУЮЧОЇ ДІЇ ЦИТРАТІВ МЕТАЛІВ НА ЕМБРІОТОКСИЧНІСТЬ КАДМІЮ У ЩУРІВ**

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

**verashatornaya67@gmail.com**

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Експериментальне дослідження виконано у рамках науково-дослідної роботи кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки ДЗ «ДМА» «Біологічні основи морфогенезу органів та тварин під впливом мікроелементів та ультрамікроелементів в експерименті» (№ державної реєстрації 0118U006635).

**Вступ.** 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: свинцю та кадмію. 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.

Концентрація кадмію в об'єктах навколишнього середовища (грунт, повітря, вода) постійно збільшується у зв'язку зі зростанням техногенного навантаження. На теперішній час кадмій широко застосовується у промисловому виробництві сплавів, електротехнічній промисловості і має здатність до кумуляції в біосистемах [1,2]. Проте, 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 [3,4], формує фето-плацентарну недостатність [5,6]. Доведено, що зниження маси тіла і органів плода поєднується зі збільшенням маси плаценти, вагітність супроводжується формуванням

в організмі матері «гестаційної домінанті», однією з основних рис якої є метаболічні перетворення і створення нового стану кислотно-лужного гомеостазу [6].

Малодослідженими є аспекти впливу на хід ембріогенезу деяких мікроелементів, серед яких церій та його сполуки. Відомо, що експериментальне введення церію навіть старіючим тваринам підвищує рівень тестостерону, кількість сперматозоїдів і кількість дитинчат в приплоді [7]. Таким чином, актуальним напрямком морфологічних експериментальних досліджень є пошук нових можливих біоантагоністів токсичності сполук кадмію серед мікроелементів, що здатні впливати на диселементози, підтримуючи гомеостаз організму в тому числі і під час вагітності.

**Мета дослідження** – експериментально визначити модифікуючу дію цитрату церію на ембріотоксичність хлориду кадмію при внутрішньошлунковому введенні впродовж всього періоду вагітності у щурів.

**Об'єкт і методи дослідження.** Для ембріонального дослідження отримували самиць щурів з датованим терміном вагітності, використовуючи метод вагінальних мазків. На стадії проєструс та еструс підсаджували самців в клітки з самицями з розрахунку 1:3, перший день вагітності встановлювали на підставі виявлення сперматозоїдів у вагінальному мазку. На 13-й та 20-й день вагітності проводили оперативний забій. Щурят вилучали з матки, перевіряли на тест «живі-мертві», зважували, протоколювали, фотографували та фіксували у 10%- розчині формаліну для подальшого гістологічного дослідження.

Для моделювання токсичної дії експозиції солей кадмію ми протягом всієї вагітності самицям щурів лінії Wistar щодня per os через зонд вводили хлорид кадмію (в дозі – 1,0 мг/кг). Нами обрано дозу, що наближається до такої, яка може надходити в організм із навколишнього середовища при кадмієвому забрудненні довкілля. Окрім контрольної групи, моделювалась група ізольованого введення хлориду кадмію в дозі 1,0 мг/кг та експериментальна група комбінованого введення хлориду кадмію (1,0 мг/кг) та цитрату церію (в дозі 1,3 мг/кг). В експериментальних моделях використовували розчин цитрату

церію, отриманого за аквананотехнологією. Відповідно до умов і вимог проведення ембріональних експериментів забезпечили повноцінний харчовий раціон, воду для пиття і ретельний догляд самицям; внутрішньошлункове введення розчинів металів (зондуванням) проводили з першого дня вагітності щоденно в один і той же час доби (з 10 до 12 години). Про можливу негативну дію досліджуваної речовини на ембріональний розвиток судили за здатністю підвищувати рівень ембріональної смертності (ембріо-летальний ефект) та викликати зовнішні та структурні вади розвитку внутрішніх органів (тератогенний ефект); загальний розвиток плодів оцінювали за показниками кількості ембріонів, кількості жовтих тіл вагітності яєчників самиць, маси тіла ембріона, його відповідності стадії розвитку за загальноприйнятими критеріями ембріонального розвитку щурів.

Ембріотоксичну дію досліджуваних речовин оцінювали за наступними показниками:

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

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

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

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

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

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

$$4. \text{ Кількість плодів на 1 самку}$$

Під час оперування підраховували кількість плодів в кожному розі матки та відповідність кількості жовтих тіл в яєчнику з відповідного боку (рис. 1).

Підрахування жовтих тіл в яєчниках самиць дозволяло визначати доімплантаційну смертність ембріонів: якщо кількість жовтих тіл вагітності в яєчниках була вищою за кількість ембріонів у відповідному розі матки, це свідчило про ембріотоксичний вплив досліджуваного чинника на процес імплантації та наступну загибель ембріона щура – доімплантаційну смертність, а постімплантаційну смертність визначали за різницею міст імплантації (резорбції ембріонів) в рогах матки та кількістю переживших ембріонів. Дані показники є базовими показниками для обчислення загальної ембріональної смертності та визначення ембріотоксичності досліджуваних сполук.

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики. Оцінку вірогідності статистичних

досліджень проводили за допомогою t-критерію Ст'юдента.

Дослідження на тваринах проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), які узгоджуються з Європейською конвенцією про захист експериментальних тварин (Страсбург, 1985).

**Результати дослідження та їх обговорення.** Порівняння результатів ізольованої дії низьких доз хлориду кадмію з показниками контрольної групи виявило його ембріотоксичність: при практично однаковій кількості жовтих тіл вагітності в групі контролю та групі впливу хлоридом кадмію спостерігається достовірне ( $p < 0,05$ ) зниження кількості живих плодів на 9,2% на 13-й добі та на – 13,3% на 20-й добі ембріогенезу (рис. 2). Такі дані підтверджуються науковими експериментальними результатами впливу важких металів на загальний хід ембріогенезу [8].

При комбінованому введенні хлориду кадмію та наноцерію кількість плодів наближалась до контрольних значень, що свідчить про модифікуючий вплив цитрату церію на ембріотоксичність хлориду кадмію при їх комбінованому введенні в експерименті на щурах. Попередні експериментальні роботи визначили позитивний вплив сполук церію на ембріотоксичність важких металів [9].

Для детального дослідження ступеню ембріотоксичності досліджуваних сполук визначали показники ембріональної смертності. Обрахування показників загальної ембріональної смертності довело, що найвищий рівень даного показника спостерігався на 20-й добі ембріогенезу в групі ізольованого впливу хлоридом кадмію і дорівнював  $0,25 \pm 0,02$ , що в 6,25 разів перевищував контроль (рис. 3). Така ситуація складалась завдяки збільшенню як доімплантаційної так і післяімплантаційної (постімплантаційної) смертності в дослідних групах. Отримані дані підтверджуються науковими експериментальними даними щодо регуляції чисельності плодів самкою на фоні впливу дестабілізуючого фактору, який діє протягом всього періоду вагітності, в тому числі в доімплантаційний період (з 1 по 4-5 день вагітності). Загальновідомо, що енергетично для самиці щура більш вигідно абортувати плоди в початковий період вагітності, ніж в період інтенсивного органогенезу, що знайшло підтвердження і в інших дослідженнях по вивченню ембріотоксичності важких металів [10].

Аналіз отриманих результатів показав, що в групі комбінованого впливу хлориду кадмію та цитрату церію показники загальної ембріональної смертності достовірно вищі за контрольні, але нижчі за смертність в групі впливу хлоридом кадмію. На 13-й добі ембріогенезу в 1,75 разів ембріональна смертність нижча за такий показник в групі впливу кадмію хлоридом, а на 20-й добі в 1,78 разів. Доімплантаційна ембріональна смертність в контрольній групі була відсутня на 13-ту добу ембріогенезу, а на 20-ту становила  $0,01 \pm 0,01$ , в групі

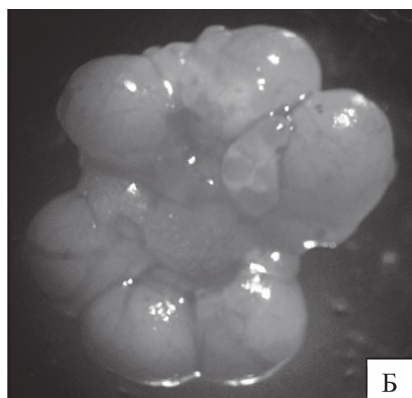
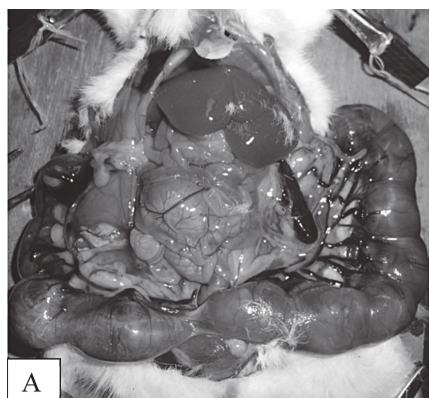


Рисунок 1 – А – Ембріони в рогах матки самиці контрольної групи під час оперативного вилучення; Б – жовті тіла яєчника самиці (фото під біокулярною лупою, зб. х4,5).

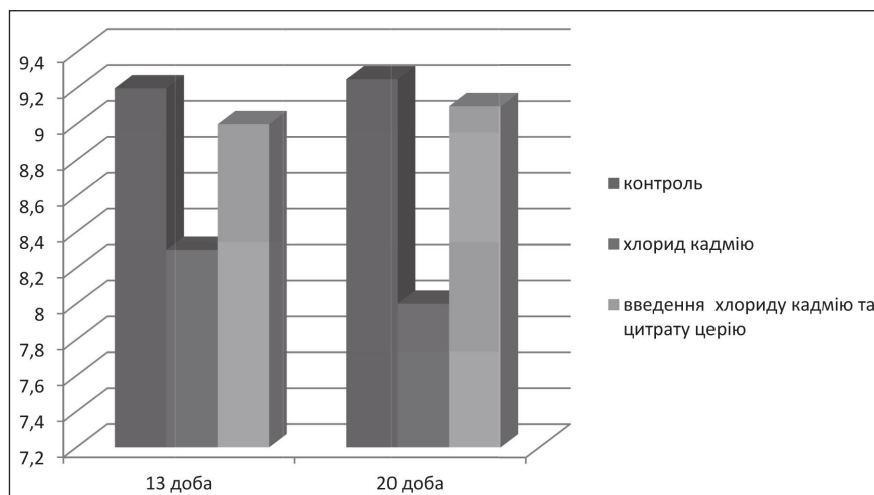


Рисунок 2 – Показники середніх значень кількості живих ембріонів в контрольній та експериментальних групах (вісь ординат).

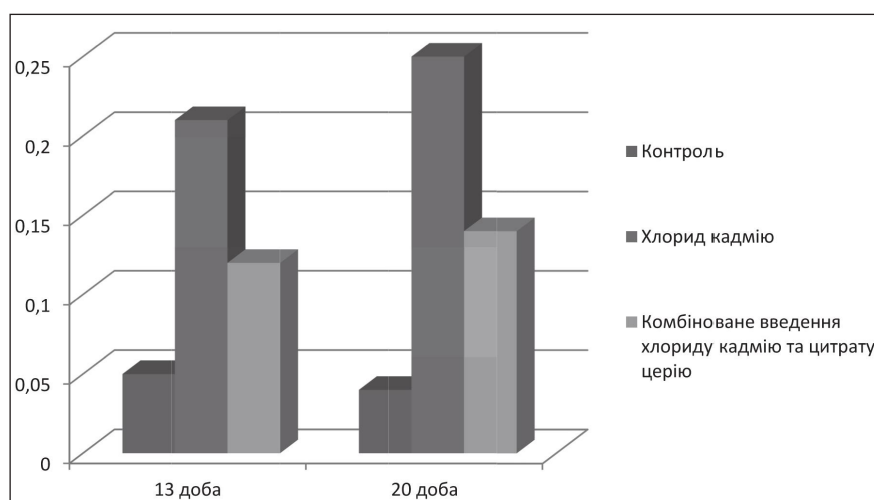


Рисунок 3 – Показники загальної ембріональної смертності в контрольній та експериментальних групах.

ізолюваного впливу хлоридом кадмію зростала в 2,6 разів. При комбінованому введенні досліджуваних чинників цей показник знижувався достовірно у порівнянні до групи ізолюваного введення. Після імплантаційна смертність визначалась в контрольній групі на 13-й добі  $0,05 \pm 0,01$  та на 20-й знижувалась до  $0,04 \pm 0,01$ , введення хлориду кадмію збільшувало цей показник в 2,7-2,9 разів відповідно. Комбіноване введення призводило до зниження постімплантаційної ембріональної смертності. Тобто ми спостерігали виражену модифікуючу дію цитрату церію на базові показники ембріотоксичності хлориду кадмію в експерименті на щурах.

смертності та збільшенням показників доімплантаційної та післяімплантаційної ембріональної смертності в експерименті на щурах.

При комбінованому введенні хлориду кадмію з цитратом церію показники ембріонального розвитку були вищими за групу кадмієвої інтоксикації, що свідчить про модифікуючий вплив церію на ембріотоксичність хлориду кадмію.

**Перспективи подальших досліджень.** На наш погляд, перспективним є гістологічне дослідження ембріонів та їх органів після впливу хлоридом кадмію з метою прогнозування можливих змін на тканинному рівні при кадмієвій інтоксикації.

Такі результати модифікуючої дії наноцерію цитрату на ембріотоксичність кадмію пояснюється тим, що використання органічних кислот в поєднанні з наночастинками мінеральних елементів забезпечує високий рівень їх засвоєння в організмі, низький рівень токсичності, значно вищий біологічний ефект [9].

Доведено, що органічні кислоти, у тому числі і лимонна, створюють з біогенними металами добре розчинні солі з високим рівнем біодоступності. Цитрати макро- та мікроелементів є безпечними для здоров'я, дозволені для застосування в харчових продуктах, володіють антиоксидантними та радіопротекторними властивостями. А цитрати, отримані з використанням нанобіотехнологій мають більшу біологічну активність, тому їх вивчення впливу на організм та процеси ембріогенезу досить актуальні з огляду на можливість виявлення нових біоантогоністів ембріотоксичності кадмію [8,9,10].

**Висновки.** Аналіз отриманих результатів довів ембріотоксичність хлориду кадмію в зазначеній дозі, що виражається достовірним зниженням середніх показників кількості ембріонів в посліді, збільшенням загальної ембріональної

## Література

1. Fomenko OZ, Shaulskaia OE, Kot YG, Ushakova GA, Shevtsova AI. Vliyaniye raznykh doz kadmiya na aktivnost' matriksnykh metalloproteinaz v serdtse, mozge i syvorotke krovi krysa. Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta. 2016;3:103-7. [in Russian].
2. Batariova A, Spevackova V, Benes B, Cejchanovaa M, Smida J, Cerna M. Blood and urine levels of Pb, Cd and Hg in the general population of the Czech Republic and proposed reference values. Int. J. Hyg. Environ. Health [Internet]. 2006 [cited 2018 July 17];209(4):359-66.
3. 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. 2002;75:36-44. DOI: 10.1007/s00420-002-0351-3
4. Piasek M, Laskey JW. Effects of in vitro cadmium exposure on ovarian steroidogenesis in rats. J Appl Toxicol. 1999 May-Jun;19(3):211-7.
5. Salomeyna NV, Mashak SV. Strukturnye osnovy materynsko-plodovykh otnoshenyy pry khymycheskom vozdeystvyy v embryogeneze. Medytsyna y obrazovanye v Sybyry. 2012;1:123-36. [in Russian].
6. Senkevych OA, Syrotyna ZV, Kovalsky YuG, Berdnikov NV. Toksychnyye mykroelementy plodovo-materynskogo kompleksa v uslovyakh antropogennoy nagruzky. Dalnevostochnyy med. zhurn. 2008;2:61-4. [in Russian].

7. Spivak YA, Nosenko ND, Zholobak NM, Shcherbakov AB, Reznikov AG, Ivanova OS, i dr. Nanokristallicheskiy dioksid tseriya povyshayet funktsional'nuyu aktivnost' reproduktivnoy sistemy stareyushchikh samtsov kryс. Nanosistemy: fizika, khimiya, matematika. 2013;4(1):72-7. [in Russian].
8. Shatorna VF, Harets' VI, Kononova II. Porivnyannya efektyv vplyvu soley svyntsyyu ta kadmiyu na embriohenez u shchuriv. Ukrayin's'kyi zhurnal medytsyny, biolohiyi ta sportu. 2018;3.6(15):310-4. [in Ukrainian].
9. Nef'odova OO, Hal'perin OI, Shatorna VF. Vplyv tsytrativ tseriyu ta hermaniyu na khid embriohenezu shchuriv na tli kadmiyevoyi intoksykatsiyi. Visnyk problem biolohiyi i medytsyny. 2019;1.1(148):61-6. [in Ukrainian].
10. Dinerman AA. Rol' zagryazniteley okruzhayushchey sredey v narushenii embrional'nogo razvitiya. M.: Meditsina; 1980. 191 s. [in Russian].

### **ВИЗНАЧЕННЯ МОДИФІКУЮЧОЇ ДІЇ ЦИТРАТІВ МЕТАЛІВ НА ЕМБРІОТОКСИЧНІСТЬ КАДМІЮ У ЩУРІВ** **Шаторна В. Ф., Гарець В. І., Байбаков В. М., Кононова І. І., Слесаренко О. Г., Шамелашвілі К. Л.**

**Резюме.** Стабільність хімічного складу є одним з найважливіших і обов'язкових умов нормального функціонування організму, а дефіцит життєво важливих мікроелементів і підвищена концентрація токсичних в навколишньому середовищі призводять до несприятливих впливів на життєдіяльність людини та хід ембріогенезу. Актуальним напрямом морфологічних експериментальних досліджень є пошук нових можливих біоанатогоністів токсичності сполук кадмію серед мікроелементів, які здатні впливати на диселементози, підтримуючи гомеостаз організму в тому числі і під час вагітності.

Мета дослідження – експериментально визначити модифікуючу дію цитрату церію на ембріотоксичність хлориду кадмію при внутрішньошлунковому введенні у щурів. Для моделювання впливу і токсичної дії експозиції кадмію протягом всієї вагітності самкам щурів лінії Wistar щодня per os через зонд вводили хлорид кадмію (в дозі – 1,0 мг/кг). У другій експериментальній групі проводили комбіноване введення хлориду кадмію (в дозі – 1,0 мг/кг) і цитрату церію (в дозі 1,3 мг/кг).

Порівняння результатів ембріотропної дії низьких доз хлориду кадмію з показниками контрольної групи виявило його ембріотоксичність, що виражалось в достовірному зниженні кількості живих плодів і підвищенні рівня ембріональної смертності.

При комбінованому введенні хлориду кадмію та цитрату церію зниження кількості плодів і показники ембріолетальності в порівнянні з групою впливу хлоридом кадмієм були значно нижче. Такі дані свідчать про модифікує вплив цитрату церію на ембріотоксичність хлориду кадмію в експерименті у щурів.

**Ключові слова:** хлорид кадмію, цитрат церію, ембріогенез, ембріотоксичність, ембріональна смертність, щури.

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОДИФИЦИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ЦИТРАТОВ МЕТАЛЛОВ НА ЭМБРИОТОКСИЧНОСТЬ КАДМИЯ У КРЫС**

**Шаторная В. Ф., Гарец В. И., Байбаков В. Н., Кононова И. И., Слесаренко Е. Г., Шамелашвили К. Л.**

**Резюме.** Стабильность химического состава является одним из важнейших и обязательных условий нормального функционирования организма, а дефицит жизненно важных микроэлементов и повышенная концентрация токсичных в окружающей среде приводят к неблагоприятным воздействиям на жизнедеятельность человека и ход эмбриогенеза. Актуальным направлением морфологических экспериментальных исследований является поиск новых возможных биоанатогонистов токсичности соединений кадмия среди микроэлементов, которые способны влиять на диселементозы, поддерживая гомеостаз организма в том числе и во время беременности.

Цель исследования – экспериментально определить модифицирующее действие цитрата церия на эмбриотоксичность хлорида кадмия при внутрижелудочном введении у крыс.

Для моделирования влияния и токсического действия экспозиции кадмия на протяжении всей беременности самкам крыс линии Wistar ежедневно per os через зонд вводили хлорид кадмия (в дозе – 1,0 мг/кг). Во второй экспериментальной группе проводили комбинированное введение хлорида кадмия (в дозе – 1,0 мг/кг) и цитрата церия (в дозе 1,3 мг/кг). Сравнение результатов эмбриотропного действия низких доз хлорида кадмия с показателями контрольной группы выявило его эмбриотоксичность, что выражалось в достоверном снижении количества живых плодов и повышении уровня эмбриональной смертности.

При комбинированном введении хлорида кадмия и цитрата церия снижение количества плодов и показатели эмбриолетальности по сравнению с группой влияния хлоридом кадмием были значительно ниже. Такие данные свидетельствуют о модифицирующем влиянии цитрата церия на эмбриотоксичность хлорида кадмия в эксперименте у крыс.

**Ключевые слова:** хлорид кадмия, цитрат церия, эмбриогенез, эмбриотоксичность, эмбриональная смертность, крысы.

### **DETERMINATION OF THE MODIFYING INFLUENCE OF METAL CITRATES ON THE EMBRYOTIC TOXICITY OF CADMIUM IN RATS**

**Shatorna V. F., Garets V. I., Baibakov V. M., Kononova I. I., Slesarenko O. G., Shamelashvili K. L.**

**Abstract.** The change in the environment of the industrialized countries prompts an intensive study of the impact of environmental factors on biological objects. The growth of urbanization inevitably leads to the complication of environmental conditions in cities, in the areas occupied by industrial enterprises, transport highways, as well as in the adjacent territories.

In many countries, the priority group of eco-toxicants are heavy metals and, in particular, cadmium that reacts with superphosphate and is easily digested by plants in fairly large quantities.

Thus, the problematic direction of morphological experimental research is the search for new possible bioantagonists of toxicity of cadmium compounds among microelements that are capable of influencing dysleptosis, supporting the homeostasis of the organism, including during pregnancy.

The experiment used cadmium chloride and citrate cerium.

*The purpose of the study* was to experimentally determine the modifying effect of citrate cerium on the embryotoxicity of cadmium chloride when administered intragastric to rats.

*Object and methods.* To simulate the effects and toxic effects of exposure to cadmium, throughout the pregnancy, Wistar's female rats received cadmium chloride (1.0 mg/kg) each rat daily through the probe. In the second experimental group, the combined administration of cadmium chloride (1.0 mg/kg) and citrate cerium (1,3 µg/kg). The probable negative effect of the test substance on embryonic development was judged by the ability to increase the level of embryonic mortality (embryoal effect) and cause external and structural defects in the development of internal organs (teratogenic effect). The overall development of embryos was evaluated by the number of embryos, the number of yellow fetuses in the ovaries of females, the body mass of the embryo, and its compliance with the developmental stage according to generally accepted criteria for embryonic development of rats.

*Results and discussion.* Comparison of the results of the embryotropic action of low doses of cadmium chloride with the parameters of the control group revealed its embryotoxicity, with practically the same number of yellow bodies of pregnancy ( $10.25 \pm 0.27$ ) in the group of exposure to cadmium chloride there is a significant ( $p < 0.05$ ) decrease in the number of live embryos by 11.7% on the 13th day and by 17.3% on the 20th day of embryogenesis.

When combined with the introduction of cadmium chloride and cerium citrates, the decrease in the number of embryos in comparison with the control values was significantly lower: Such data indicate a decrease in the level of embryotoxicity of cadmium chloride by citrate cerium when combined with the introduction into the experiment in rats.

The calculation of the indicators of general embryonic mortality revealed that the highest level of this indicator was determined on the 20th day of embryogenesis in the group of isolated effects of cadmium chloride and was  $0,25 \pm 0,02$ , which was 6.25 times greater than control. This situation was due to an increase in both preimplantation and post implantation mortality in the experimental group.

*Conclusions.* The rates of embryonic development were better when combined with cadmium chloride with citrate cerium than the cadmium intoxication group. It indicates the modifying effect of the citrate cerium on the embryotoxicity of cadmium chloride.

**Key words:** cadmium chloride, citrate cerium, embryogenesis, embryotoxicity, embryonic mortality, rats.

*Рецензент – проф. Проніна О. М.  
Стаття надійшла 27.01.2020 року*