

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця

на правах рукопису

ШЕВЧЕНКО ОЛЕНА СЕРГІЇВНА

УДК: 611.71/72:546.48'131:[546,3:549.892.1:54-32]:616-092.9-
091.8(043.3/5)

ДИСЕРТАЦІЯ

**«МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ КІСТОК ЩУРІВ ПРИ ІЗОЛЬОВАНОМУ
ВВЕДЕННІ ХЛОРИДУ КАДМІЮ ТА ЙОГО КОМБІНАЦІЇ З
СУКЦИНАТАМИ МЕТАЛІВ (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
_____ О.С.Шевченко

Науковий керівник -
доктор медичних наук, професор

Нефьодова Олена Олександрівна

Дніпро – 2024

АНОТАЦІЯ

Шевченко О.С. «Морфологічні зміни кісток щурів при ізольованому введенні хлориду кадмію та його комбінації з сукцинатами металів (анатомо-експериментальне дослідження)» — кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина». – Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, 2024.

Дисертація є завершеною кваліфікаційною науковою роботою, виконаною на сучасному методичному рівні, в якій вирішено актуальне наукове завдання - визначення впливу хлориду кадмію при хронічному ізольованому введенні та в комбінації з сукцинатами цинку й заліза на структуру різного типу кісток щура в експерименті; особливостей накопичення кадмію, кальцію та цинку в стегновій кістці та нижній щелепі за ізольованої дії хлориду кадмію та його комбінації з сукцинатами металів; взаємозв'язку між рівнем накопичення кістками кадмію й есенціальних елементів та морфологічними змінами кісткової і хрящової тканини кісток різного типу для виявлення потенційних біоантагоністичних властивостей сукцинатів металів по відношенню до токсичної дії хлориду кадмію в експерименті.

Експериментальне дослідження проведено на білих дорослих самцях щурів. Введення розчинів проводили внутрішньошлунково щоденно впродовж 30-ти діб. Морфологічним матеріалом дослідження були стегнова кістка та нижня щелепа щурів на 14-ту, 20-ту і 30-ту добу експерименту. Застосування морфометричних, гістологічних та статистичних методів дозволило дослідити зміни остеогенезу стегнової кістки та нижньої щелепи щурів після хронічного впливу хлориду кадмію за ізольованого введення та у комбінації з сукцинатом цинку та сукцинатом заліза. Визначення і порівняння рівня накопичення кадмію, кальцію та цинку в кістках проводилось з використанням методу поліелементного аналізу з атомною

емісією на трьох термінах, що дозволило виявити дозозалежну динаміку змін накопичення мікроелементів в умовах експерименту.

Аналіз та порівняння результатів накопичення мікроелементів у зразках стегнової кістки групи впливу хлоридом кадмію та групах комбінованого впливу визначили наявність диселементозу не лише по кількості кадмію, але і зміни рівня накопичення кісткою цинку та кальцію. Ізольоване хронічне введення хлориду кадмію у дозі 2,0 мг/кг призвело до достовірного підвищення у 2,3-3,5 разів рівня накопичення кадмію, зниження вмісту кальцію та цинку у 1,1-1,5 разів у стегновій кістці на усіх трьох термінах дослідження порівняно з показниками контрольної групи, більш виражене на 30-у добу експерименту. Комбіноване введення хлориду кадмію з сукцинатами цинку та заліза призвело до зниження рівня накопичення кадмію у стегновій кістці порівняно з ізольованим його введенням та гальмування процесу втрати кальцію кістковою тканиною, більш виражене для сукцинату цинку.

Встановлено, що інтенсивність накопичення кадмію у кістковій тканині щурів залежить від типу кісток, що підтверджується достовірно вищим у 3,7-4,4 разів вмістом кадмію у кістках нижньої щелепи порівняно з рівнем його накопичення у стегновій кістці тварин контрольної групи залежно від терміну дослідження. При цьому ізольоване введення в організм щурів хлориду кадмію призвело до достовірного підвищення у 2,5-9,6 разів рівня накопичення кадмію у кістках нижньої щелепи. При комбінованому введенні кадмію з сукцинатами визначилась тенденція до зниження рівня накопичення кадмію кістковою тканиною нижньої щелепи. Найнижчий рівень кадмію визначався при комбінованому впливі з сукцинатом цинку. Як ізольоване введення хлориду кадмію, так і комбіноване введення з сукцинатами цинку та заліза не призводило до достовірного зниження рівня кальцію в кістковій тканині нижньої щелепи щура впродовж експерименту.

Хронічний вплив хлоридом кадмію в дозі 2,0 мг/кг призводить до зменшення вагових показників стегнової кістки, викликає пригнічення

ростових процесів у стегновій кістці та гальмування остеогенезу, проте вагові показники нижньої щелепи збільшувались. У зразках кісток групи ізольованого впливу визначались морфологічні зміни в кістковій та хрящовій тканинах: мікротріщини, зміни товщини кістки та окістя, набряк остеоцитів, порушення архітектури зональності хрящової тканини, гіпомінералізовані ділянки кісткової тканини,

При комбінованому введенні хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку спостерігалось відновлення вагових показників стегнової кістки, підтвердженням чому є збільшення індексу маси стегнової кістки, відновлення показників товщини окістя та товщини стінки діяфізу стегнової кістки, зниження кількості набряку остеоцитів і резорбції хондроцитів та порушень гістологічної зональності суглобових хрящів.

Органометричні та гістоморфометричні показники нижньої щелепи за умов комбінованої хронічної дії на організм хлориду кадмію з сукцинатами цинку та заліза свідчать про відновлення структурних змін хрящової тканини нижньої щелепи, які характеризуються відновленням росту досліджуваних тканин, гальмуванням резорбтивних процесів у кістковій та хрящовій тканині, нормалізацією ступеня мінералізації та архітектурної будови суглобового хряща в експерименті на щурах.

Ключові слова: щури, експеримент, вплив, важкі метали, промислова територія, інтоксикація, мікроциркуляція, кісткова тканина, остеобласти, остеокласти, хрящова тканина, стегнова кістка, нижня щелепа, мікроелементи, кадмій, кальцій, цинк, залізо, морфометрія, накопичення.

ANNOTATION

Shevchenko O.S. "Morphological changes in the bones of rats with the isolated administration of cadmium chloride and its combination with metal succinates" (anatomical-experimental study) - qualifying scientific work with manuscript rights.

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

The dissertation is a completed qualifying scientific work, performed at the modern methodological level, in which the actual scientific task is solved - determining the effect of cadmium chloride during chronic isolated administration and in combination with zinc and iron succinates on the structure of different types of rat bones in the experiment; peculiarities of the accumulation of cadmium, calcium and zinc in the femur and lower jaw under the isolated effect of cadmium chloride and its combination with metal succinates. The relationship between the level of bone accumulation of cadmium and essential elements and morphological changes in bone and cartilage tissue of bones of different types to identify potential bioantagonistic properties of metal succinates in relation to the toxic effect of cadmium chloride in the experiment.

The experimental study was carried out on white adult male rats. The solutions were administered intragastrically daily for 30 days. The morphological material of the study was the femur and lower jaw of rats on the 14th, 20th, and 30th days of the experiment. The use of morphometric, histological and statistical methods made it possible to investigate changes in the osteogenesis of the femur and lower jaw of rats after chronic exposure to cadmium chloride in isolation and in combination with zinc succinate and iron succinate. Determination and comparison of the level of accumulation of cadmium, calcium and zinc in bones was carried out using the method of polyelement analysis with atomic emission on three terms, which allowed to reveal the dose-dependent dynamics of changes in the accumulation of microelements under experimental conditions.

Analysis and comparison of the results of the accumulation of microelements in the femur samples of the group exposed to cadmium chloride and the groups of combined exposure determined the presence of dyselementosis not only in terms of the amount of cadmium, but also changes in the level of zinc and calcium accumulation in the bone. Isolated chronic administration of cadmium chloride at a dose of 2.0 mg/kg reliably increased the level of cadmium accumulation by 2.3-3.5 times, decreased the content of calcium and zinc by 1.1-1.5 times in the femur at all three study periods compared to the indicators of the control group, more pronounced on the 30th day of the experiment. The combined administration of zinc succinate and iron succinate with cadmium reduced the level of cadmium accumulation and restored the level of calcium to control values in the bone tissue of the femur, which allows us to consider succinates as potential bioantagonists for cadmium accumulation. Zinc succinate has a more pronounced degree of antagonistic effect of cadmium in the study of micronutrient status of the femur at all three time points of the study.

The intensity of cadmium accumulation in the bone tissue of rats depends on the type of bones, which is confirmed by the significantly higher cadmium content in the bones of the lower jaw by 3.7 times compared to the level of its accumulation in the femur of animals of the control group. At the same time, the isolated introduction of cadmium chloride into the body of rats led to a more pronounced and reliable increase of 2.5-9.6 times the level of cadmium accumulation in the bones of the lower jaw. The lowest level of cadmium was determined when combined with zinc succinate. Both the isolated introduction of cadmium chloride and the combined introduction with zinc and iron succinates did not lead to a significant decrease in the level of calcium in the bone tissue of the lower jaw of the rat during the experiment.

Chronic exposure to cadmium chloride at a dose of 2.0 mg/kg leads to a decrease in the weight of the femur, inhibits growth processes in the femur and inhibits osteogenesis, but the weight of the lower jaw increased. In the bone samples of the group of isolated exposure, morphological changes in bone and

cartilage tissues were determined: microcracks, changes in the thickness of bone and periosteum, swelling of osteocytes, violations of the zonal architecture of cartilage tissue, hypomineralized areas of bone tissue,

The effect of the combined administration of cadmium chloride with iron and zinc succinates led to the recovery of femur weight indicators, which was confirmed by calculating the femur mass index, indicators of periosteum thickness and the thickness of the wall of the diaphysis of the femur, a decrease in the number of osteocyte swelling and chondrocyte resorption, and a violation of the histological zonation of the articular cartilage

Organometric and histomorphometric indicators of the lower jaw under the conditions of chronic action on the body of the combined effect of cadmium chloride with zinc and iron succinates testify to the restoration of structural changes in the cartilage tissue of the lower jaw, which are characterized by the restoration of the growth of the examined tissues, inhibition of resorptive processes in bone and cartilage tissue, normalization of the degree of mineralization and architectural structure of articular cartilage in an experiment on rats.

Key words: rats, experiment, exposure, heavy metals, industrial area, intoxication, microcirculation, bone tissue, osteoblasts, osteoclasts, cartilage tissue, femur, lower jaw, trace elements, cadmium, calcium, zinc, iron, morphometry, accumulation.

Список публікацій за темою дисертації

1. Нефьодова О.О., Шевченко О.С., Гальперін О.І., Шевченко І.В., Башта І.Г., Баклунов В.В. Оцінка впливу кадмію на розвиток кістково-хрящової патології та роль сукцинатів в корекції Cd-індукованої цитотоксичності (огляд літератури). Вісник проблем біології і медицини. 2021; 2 (160): 34-39. *(Особистий внесок – аналіз наукової літератури, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті).*
2. Olena Shevchenko, Anna Kozina, Valentin Kosse. Shevchenko Olena 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;3:129-135. *(Особистий внесок – аналіз даних експериментальних робіт у науковій літературі, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті).*
3. Нефьодова О.О., Шевченко О.С. Вивчення особливостей накопичення кадмію в стегновій кістці щурів при ізольованому введенні та за умов корекції сукцинатами металів. Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2023;15(33):1205-1218. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-15\(33\)-1205-1218](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-15(33)-1205-1218) *(Особистий внесок – аналіз отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті).*
4. Нефьодова О.О., Шевченко О.С. Оцінка впливу полютанта хлориду кадмію на морфофункціональний стан нижньої щелепи щура в експерименті / Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2023;16(34): 942-957. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16\(34\)-942-956](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16(34)-942-956) *(Особистий внесок – організація та проведення експериментальної частини, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)*
5. Нефьодова О. О., Шевченко О.С. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в нижній щелепі щурів за умов корекції сукцинатами

- цинка та заліза. Вісник проблем біології і медицини. 2023;4 (171): 341-350. <http://dx.doi.org/10.29254/2077-4214-2023-4-171-341-350>. (Особистий внесок – організація та проведення гістологічного та біохімічного дослідження, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)
6. Nefodova OO, Shevchenko OS. The effect of chronic administration of cadmium chloride on the morphological structures of the femur bone of rats. Morphologia. 2023;17(4):41-8. Ukrainian. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.41-48> (Особистий внесок – проведення гістологічного та біохімічного дослідження, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)
7. Нефьодова О.О., Шевченко О.С., Шевченко І.В., Кушнарьова К.А. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку на морфологічні структури стегнової кістки та нижньої щелепи щурів. Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2024;3(37):1419-1435. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-3\(37\)-1419-1434](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-3(37)-1419-1434) (Особистий внесок – проведення гістологічного та біохімічного дослідження, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)
8. Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Експериментальна корекція сукцинатами цинка кадмієвої інтоксикації в нижній щелепі щурів. Abstracts of XIII International Scientific and Practical Conference. Madrid, Spain. Pp. 216-217. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/modern-ways-of-development-of-science-and-the-latest-theories/> (Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез)
9. Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в стегновій кістці щурів із корекцією сукцинатами металів. Abstracts of XIV International Scientific and Practical Conference.

Prague, Czech Republic. Pp. 174-177. *(Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез)*

10. Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Зміни морфологічних структур стегнової кістки щурів під впливом хронічної інтоксикації хлоридом кадмію. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. Pp. 178-181. *(Особистий внесок – проведення аналізу результатів та інтерпретація, написання статті)*

11. Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Дослідження змін морфологічних показників крові щурів за тривалого кадмієвого навантаження. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції "Наука, освіта, технології та суспільство в ХХІ столітті: наукові ідеї та механізми реалізації", 30 січня 2024 року, Полтава – С. 27-29. *(Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, написання статті)*

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	13
ВСТУП	14
РОЗДІЛ 1. Забруднення навколишнього середовища кадмієм і його роль у формуванні та розвитку патології кістково-хрящового апарату: сучасний стан проблеми .	21
1.1. Кадмій як представник «пріоритетних» техногенних поллютантів: актуальність проблеми та основи Cd-індукованої цитотоксичності. . .	21
1.2. Сучасні уявлення про механізми розвитку кадмій-індукованої остео- і хондротоксичності... .. .	27
1.3. Похідні бурштинової кислоти (сукцинати) як потенційні засоби корекції проявів кадмій-індукованої остеотоксичності.	35
РОЗДІЛ 2. Матеріали та методи дослідження.	43
РОЗДІЛ 3. Зміни мінерального складу кісток експериментальних тварин за даними поліелементного аналізу.	52
3.1. Зміни макро- та мікроелементного складу стегнової кістки в хронічному експерименті на щурах.	53
3.2. Зміни макро- та мікроелементного складу нижньої щелепи в хронічному експерименті на щурах.	62
РОЗДІЛ 4. Вплив хронічного введення хлориду кадмію на морфологічні структури стегнової кістки та нижньої щелепи щурів	72
4.1 Вплив хлориду кадмію на морфогенез стегнової кістки щура в експерименті.	73
4.2. Вплив хлориду кадмію на морфогенез нижньої щелепи щура в експерименті.	95
4.3. Зміни морфологічних показників крові щурів за тривалого кадмієвого навантаження.	104

РОЗДІЛ 5. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку на морфологічні структури стегнової кістки та нижньої щелепи щурів	110
5.1. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку на морфогенез стегнової кістки щура в експерименті	110
5.2. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку на морфогенез нижньої щелепи щура в експерименті	119
5.3. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами цинку та заліза на морфологічні показники крові щурів в хронічному експерименті	124
РОЗДІЛ 6. Аналіз та узагальнення отриманих результатів	130
ВИСНОВКИ	141
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	144
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	145
ДОДАТКИ	173

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АФК - активні форми кисню

ВООЗ – всесвітня організація охорони здоров'я

ВМ – важкі метали

ІМК – індекс маси кістки

МАРК - мітоген-активовані протеїнази

ФАО - Продовольча та сільськогосподарська організація ООН

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми. Запобігання погіршенню стану довкілля та виникненню небезпеки для населення внаслідок антропогенних чи природних чинників наразі вважається основою екологічної безпеки держави, яка є важливою складовою національної безпеки країни. Фундаментальною задачею державної природоохоронної політики є охорона навколишнього середовища в інтересах захисту здоров'я населення, зокрема, зменшення ризику несприятливих наслідків негативного впливу забруднення різних природних об'єктів на людину.

Науково-технічний прогрес та збільшення обсягів промислового виробництва призводять до потрапляння різного роду токсикантів в навколишнє середовище, у тому числі важких металів, найбільш типові техногенні асоціації яких представлені свинцем, кадмієм та їх солями. Токсичні важкі метали, потрапляючи до організму людини, впливають на морфо-функціональний стан органів та систем, змінюють макро- та мікроелементний баланс організму, обумовлюють розвиток захворювань [1, 2].

Серед найбільш токсичних важких металів провідне місце належить кадмію, токсикокінетика якого 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 з наступним накопиченням здебільш в нирках, печінці та кістках. Переважне депонування кадмію в цих органах обумовлено тим, що іони металу мають спорідненість до структур їх мембран, утворюючи хелатні комплекси з досить міцними зв'язками, тому його виведення відбувається дуже повільно - період напіввиведення становить за різними даними 10-30 років [5]. Кадмій виводиться із сечею та жовчю, проте екскреція відбувається погано та пригнічується при хронічному впливі металу та прогресуючому пошкодженні нирок.

На сьогодні існує чимало доказів токсичного впливу кадмію на організм: він є антиметаболітом, порушує обмін інших есенціальних елементів, інгібує активність ферментних систем та синтез нуклеїнових кислот і білка, знижує активність вітаміну D та порушує фосфорно-кальцієвий обмін, який є важливим для ремоделювання кісткової тканини. Такий вплив порушує сталість макро- та мікроелементного складу структури кістки, а відтак – активність остеобластів та остеокластів. Експериментально доведено, що вплив кадмію на організм залежить від дози, шляху надходження та тривалості експозиції [1, 2].

Слід відзначити, що сучасними дослідниками встановлено, що порушення взаємовідношень між біотичними і абіотичними елементами на фоні антропогенного навантаження на організм людини впливає на перебіг кісткового ремоделювання. Автори доводять, що саме кісткова тканина має виражені кумулятивні властивості по відношенню до багатьох ксенобіотиків [6]. Результати експериментальних досліджень свідчать, що під впливом надходження іонів кадмію в організм тварин спостерігаються достовірні зміни маркерів кісткового метаболізму у плазмі крові, які вказують на порушення фосфорно-кальцієвого обміну, а саме - зміни концентрації іонізованого та загального кальцію, магнію, фосфатів, зміни активності ферментів лужної та кислої фосфатаз, що впливає на стан мінерального матриксу кісткової тканини. Вплив кадмію провокує достовірні зміни гормонів-регуляторів фосфорно-кальцієвого обміну: збільшується секреція паратгормону та знижується секреція кальцитоніну [6, 7, 8, 9].

У зв'язку з широким розповсюдженням солей кадмію у об'єктах довкілля та широких спектром токсичних проявів його прямого й опосередкованого впливу на організм, важливим завданням сучасної медицини є пошук ефективних засобів, що здатні знизити рівень абсорбції, транспортування та надходження металу до клітин, а також пришвидшити елімінацію з організму в цілому.

У сучасних експериментальних дослідженнях медичного та екологічного спрямування активно досліджуються мікроелементи, що мають нанорозміри, в якості можливих нових біоантагоністів важких металів. Доведено в фармакологічних та біохімічних дослідженнях високий рівень безпечності цитратів та сукцинатів біометалів, визначені їх антиоксидантні та радіопротекторні властивості для організму, позитивний вплив на серцево-судинну та імунну системи організму [10, 11]. Пошук нових біологічних антагоністів серед мікроелементів, що можуть зменшувати або нівелювати токсичний вплив сполук кадмію на ембріогенез, розвиток та функціональний стан організму дозволить створити теоретичне підґрунтя для розробки біоантагоністів токсичності кадмію. Значним потенціалом у сфері нівелювання токсичного впливу ксенобіотиків в організмі володіють сукцинати мікроелементів (солі бурштинової кислоти) [12, 13].

Таким чином, питання хронічного впливу солей кадмію на морфологічні зміни структури кістки, баланс макро- та мікроелементів в організмі за ізольованої дії та у комбінації з сукцинатами біогенних металів є надзвичайно важливим в умовах постійного забруднення об'єктів довкілля та внутрішнього середовища організму цим токсикантом.

Однак, незважаючи на існуючі дослідження, питання вивчення особливостей впливу кадмію на морфологічні особливості кісткової та хрящової тканини, часові та дозозалежні ефекти його впливу, зміни мінерального складу різних типів кісток, пошук шляхів зниження токсичності кадмію з використанням біоантагоністів, особливо в експериментальних умовах, має багато невирішених аспектів, що потребують подальших досліджень і обумовлюють актуальність цієї роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри клінічної анатомії, анатомії та оперативної хірургії Дніпровського державного медичного університету на тему: "Морфофункціональні особливості органів і тканин під впливом зовнішніх та внутрішніх чинників",

№ державної реєстрації 0120U105219. Автор є співвиконавцем даної науково-дослідної роботи.

Мета дослідження: В експериментальних умовах визначити особливості накопичення кадмію та есенціальних елементів в кістковій та хрящовій тканинах, морфологічні зміни різного типу кісток щура при ізольованому впливі хлориду кадмію та в комбінації з сукцинатами цинку і заліза.

Завдання дослідження:

1. Визначити ступінь та провести порівняння рівня накопичення кадмію, а також есенціальних елементів (кальцію, цинку) при ізольованому внутрішньошлунковому введенні хлориду кадмію та в комбінації з сукцинатами цинку і заліза в хронічному експерименті на щурах.

2. Вивчити морфологічні зміни, що відбуваються в кістках щура (стегнова кістка та нижня щелепа) після хронічного ізольованого впливу хлориду кадмію.

3. Встановити спектр морфологічних змін в кістках щура (стегнова кістка та нижня щелепа) після комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатом заліза або з сукцинатом цинку.

4. Провести зіставлення морфологічних змін у кістках різного типу (трубчасті та плоскі) під впливом хлориду кадмію (ізольовано) та при комбінованому впливі хлориду кадмію з сукцинатами металів.

5. Визначити ступінь та напрямок модифікуючої дії сукцинатів металів по відношенню до токсичних проявів впливу хлориду кадмію на кісткову та хрящову тканину.

Об'єкт дослідження: морфологічні особливості проявів впливу хлориду кадмію за ізольованої дії та в комбінації з сукцинатами металів на кісткову та хрящову тканину щурів.

Предмет дослідження: морфометричні, гістологічні зміни тканини стегнової кістки та нижньої щелепи щурів, зміни мінерального складу

різного типу кісток при ізольованому введенні хлориду кадмію та в комбінованості з сукцинатами цинку та заліза.

Основні методи дослідження:

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

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

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

4. Морфометричні – для кількісної оцінки окремих структур кісткової та хрящової тканин.

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

Наукова новизна: Вперше отримано нові анатомо-експериментальні дані щодо хронічного впливу хлориду кадмію на структурну організацію різних типів кісток у щура, визначено дозозалежні ефекти його впливу на морфологічну структуру, макро- і мікроелементний склад кісткової та хрящової тканини за умов кадмієвої інтоксикації.

Вперше показано, що сукцинат цинку та сукцинат заліза зменшують рівень токсичного впливу хлориду кадмію при комбінованому введенні за всіма показниками (морфометричні параметри кісток, гістологічні показники структури кісткової та хрящової тканини, рівень накопичення кальцію у кістках, як маркера стану кісткової тканини) в усі періоди дослідження.

Вперше доведено, що комбіноване введення сукцинатів заліза та цинку з кадмієм знижують рівень накопичення останнього кістковою тканиною щура, та відновлюють гістологічну структуру кісткової тканини.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані дані є підґрунтям для подальшого дослідження впливу сукцинатів цинку та заліза, як речовин з біоантагоністичними властивостями по відношенню до хлориду кадмію для можливих розробок фармакологічних лікувальних та профілактичних засобів, що можуть зменшувати токсичний вплив кадмію на організм людини, яка мешкає в техногенно-забруднених регіонах та/або працює в шкідливих виробничих умовах. Результати впливу хлориду кадмію на стан кісткової та хрящової тканин дозволяють пояснювати механізм та терміни виникнення та розвитку патологічних змін або прогнозувати виникнення порушень остеогенезу при проживанні людей в умовах підвищеного рівня забруднення кадмієм об'єктів довкілля та внутрішнього середовища організму.

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

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

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

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи представлені на: XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany, XIV International Scientific and Practical Conference. Prague, Czech Republic, XIII International Scientific and Practical Conference. Madrid, Spain, Міжнародній науково-практичній конференції "Наука, освіта, технології та суспільство в XXI столітті: наукові ідеї та механізми реалізації", Полтава, Україна. Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 11 наукових праць, серед яких 7 статей, у тому числі 6 – у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 стаття – у міжнародному виданні, 4 тез доповідей у матеріалах міжнародних конгресів та науковопрактичних конференцій.

Структура і обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 182 сторінках друкованого тексту, складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, узагальнення та аналізу одержаних результатів, висновків, практичних рекомендацій. Містить 62 рисунків та 4 таблиці. Список використаної літератури складається з 229 джерел (51 кирилицею, 178 латиною).

РОЗДІЛ 1

ЗАБРУДНЕННЯ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА КАДМІЄМ І ЙОГО РОЛЬ У ФОРМУВАННІ ТА РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЇ КІСТКОВО-ХРЯЦОВОГО АПАРАТУ: СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ

1.1. Кадмій як представник «пріоритетних» техногенних полютантів: актуальність проблеми та основи Cd-індукованої цитотоксичності

Фундаментальною задачею державної природоохоронної політики є охорона навколишнього середовища в інтересах захисту здоров'я населення, зокрема, зменшення ризику несприятливих наслідків негативного впливу забруднення різних природних об'єктів на людину [1].

Ця діяльність стає все більш актуальною і отримує зростаюче визнання у міру того, як питання забруднення навколишнього середовища та охорони здоров'я займають все більш важливе місце в політиці як в глобальному, так і в європейському контексті. Запобігання погіршенню стану довкілля та виникненню небезпеки для населення внаслідок антропогенних чи природних чинників наразі вважається основою екологічної безпеки держави, яка є важливою складовою національної безпеки країни [2].

Здоров'я людини, як ендегенне екологічне середовище, тісно пов'язане зі станом біосфери – екзогенного екологічного середовища. Саме взаємодія, взаємообумовленість, гармонія факторів навколишньої природи та чинників – складових здоров'я людини і забезпечують гомеостаз, стабілізацію адаптивних регуляторних систем і збереження здоров'я [3, 4].

Однак забруднення довкілля, яке з кожним роком стає все більш серйозною проблемою для людства, не сприяє гармонійним відносинам популяції планети і природного навколишнього середовища [5 – 7]. Як повідомляє комісія Lancet Глобального альянсу з питань здоров'я та забруднення (Global Alliance for Health and Pollution, GAHP), Україна ввійшла в

антирейтинг європейських країн за кількістю летальних випадків, пов'язаних із забрудненням середовища проживання. Саме цей фактор науковці вважають причиною щорічної смерті понад 57 тисяч українців. Це четвертий показник у Європі: у трійку «лідерів» увійшли Туреччина (57779 смертей), Німеччина (68300). Те ж «почесне» четверте місце Україна посідає і за кількістю смертей на 100 тис. населення – 128 випадків [8].

Одними з найнебезпечніших, тривало діючих і стійких полютантів є важкі метали, найбільш типові техногенні асоціації яких представлені свинцем Pb, кадмієм Cd, нікелем Ni, а також оловом Sn, кобальтом Co, ртуттю Hg, сурмою Sb і вісмутом Bi [9 – 13]. Наразі найбільш поширеними токсикантами навколишнього середовища в групі важких металів є солі ртуті, кадмію та свинцю, які при надходженні в організм ссавців стимулюють окислювальний стрес і конкурують з біогенними металами (цинк, марганець, мідь, залізо, кальцій тощо) за зв'язування з активним центром багатьох білків і ферментів, викликаючи порушення їх функцій [14 – 18].

Кадмій (Cd, реєстровий номер CAS 7440-43-9) є природним елементом з відносно низьким вмістом у земній корі (0,1-0,5 parts per million, ppm). У вільному стані в довкіллі не зустрічається, а наявний переважно у вигляді вільних гідрат-іонів і комплексних сполук з неорганічними (хлорид-, карбонат-, сульфід- і гідроксидкомплекси) і органічними лігандами (аміно-, фульвіо- та нуклеїновими кислотами) [9, 10, 19]. Фізичні та хімічні властивості кадмію, зокрема, корозійна стійкість (особливо в середовищі солоної морської води), низька температура плавлення, швидка іонно-обмінна активність, висока електрична та теплопровідність роблять його придатним для виробництва лужних нікель-кадмієвих батарей, отримання барвників, гальванічних захисних покриттів, флуоресцентних фарб, припоїв та сплавів, кадмієвих стрижнів. Його сполуки, відомі як халькогеніди кадмію, знайшли застосування в пластмасах, емалях, індикаторних приладах і фотоелектричних елементах [20].

Контамінація кадмієм навколишнього середовища (повітря, води та ґрунту) здійснюється із природних або техногенних (антропогенних) джерел. Основними природними видами діяльності, що спричиняють викиди кадмію, є вивітрювання та ерозія гірських порід, дефляція ґрунтового покриву, вулканічна активність і космічний пил [10, 21, 22]. Техногенне забруднення кадмієм може бути наслідком накопичення в довкіллі продуктів згорання вугілля, нафти, газу чи торфу, осадків стічних вод, неналежної утилізації виробів, які містять цей метал (нікель-кадмієві батареї, кадмієві пластмаси, кераміка тощо) або ж використання фосфатних добрив у сільському господарстві. За даними М. Mezynska et al. (2018), Z. Rahman et al. (2019) та G. Genchi et al. (2020), частка антропогенних джерел у забрудненні середовища проживання в 3–10 разів більша, ніж природна, і складає від 54% до 95% [16, 23, 24].

Кадмій та його сполуки потрапляють в організм переважно через дихальні шляхи (10-40%). У районах із забрудненими кадмієм ґрунтами потенційно важливим джерелом надходження токсиканта в організм є пил. Не останню роль в інтоксикації кадмієм відіграє сигаретний дим: після згорання сигарети, що містить в середньому 1-2 мкг кадмію, 0,1-0,2 мкг цього елемента досягає легень курця (приблизно 1-3 мкг кадмію на день для людини, яка випалює 20 сигарет на день) [25, 26]. Через високу здатність до перенесення токсиканта з ґрунту в рослини (внаслідок катіонообміну у клітинних мембранах та внутрішньоклітинного транспорту), основним джерелом надходження кадмію в середовищі некурящих у більшості країн світу є харчовий раціон: середнє «споживання» кадмію з їжею, як правило, коливається від 8 до 25 мкг на день, з яких приблизно 0,5-1,0 мкг фактично зберігається в організмі [27, 28]. Природний вміст кадмію в найбільш важливих продуктах харчування невеликий і знаходиться в межах 0,001 - 1,5 мг/кг (виняток – нирки тварин: до 40 мг/кг), проте за рахунок антропогенного забруднення він може бути значно вищим. «Харчовий» кадмій поглинається в шлунково-кишковому тракті двовалентним

транспортером металів (ДТМ) – заліза Fe, цинку Zn та кальцію Ca, низький запас яких в організмі стимулює ДТМ, що, в свою чергу, збільшує надходження токсиканта з їжею [29, 30].

«Неорганічний» кадмій акумулюється насамперед у печінці, в меншій мірі – у чоловічих статевих органах. Основна частина загального кадмію у вигляді тіольного комплексу все ж поглинається нирками: порушення в їх функціонуванні виникає при концентрації токсиканта в кірковому шарі органу близько 200 мг/кг. При цьому нормальною вважається концентрація 30 мг/кг, перевищення якої, на думку провідних експертів ВООЗ і ФАО (Food and Agriculture Organization, FAO) – продовольчої і сільськогосподарської організації ООН, неприпустимо [31 – 33].

Біологічний період напіврозпаду кадмію коливається від 40 днів в крові до 20 і більше років – в нирках і печінці. Тимчасово прийнята ФАО/ВООЗ допустима межа «безпечного» надходження кадмію становить 7 мкг/тиждень/кг маси тіла або 25 мкг/кг маси тіла на місяць, а максимальна доза – 60-70 мкг на день [31, 34].

Кадмій, накопичуючись в організмі, чинить прямий чи опосередкований негативний вплив практично на всі органи, але найбільш значні зміни викликає у репродуктивній, ендокринній, імунній системах, крові, нирках і кістковій тканині, індукуючи дегенерацію або навіть трансмутацію клітин [35 – 37]. Ключовим молекулярним механізмом, який лежить в основі Cd-індукованої цитотоксичності, вважається окислювальний стрес.

Як зазначають R.K. Zhang et al. (2019), V. Unsal et al. (2020) та G. Genchi et al. (2020), кадмій, на відміну від інших важких металів, здатний генерувати супероксидний O_2^- , гідроксильний HO^\cdot та нітроксидний радикали лише опосередковано [24, 38, 39]. Дослідження M. Watanabe et al. (2003) також показали можливість Cd-індукованого утворення нерадикального пероксиду водню H_2O_2 , який є важливим джерелом вільних радикалів в реакціях Фентона [40].

Вважається, що ключовим фактором Cd-асоційованого підвищення рівнів активних форм кисню та пероксиду водню в організмі є спричинене цим токсикантом виснаження ресурсів селену, необхідного для утворення пероксидази глутатіону GSH – одного з основних компонентів системи антиоксидантного захисту. Так, M. Galażyn-Sidorczuk et al. (2012) продемонстрували, що хронічна інтоксикація кадмієм викликала статистично значиме зменшення концентрації селену в сироватці крові самців щурів, посилюючи при цьому перекисне окислення ліпідів та знижуючи пул глутатіонпероксидази в печінці, що супроводжувалося зростанням активності аланінамінотрансферази [41].

Кадмій-індукований окислювальний стрес призводить до активації факторів транскрипції, насамперед, AP-1 та ядерного фактора-каппа В (NF- κ B), що було показано як у експериментальних тварин *in vivo*, так і в культивованих клітинах *in vitro* [36, 42, 43]. Також відомо, що внаслідок генерації активних форм кисню кадмій стимулює мітоген-активовані протеїнкінази (МАРК), причому цей шлях МАРК асоціюється з передачею сигналу у відповідь на окислювальний стрес [44, 45].

Як свідчать результати досліджень P. Aimola et al. (2012) та D. Pal et al. (2017), кадмій виявляє генотоксичний вплив, який проявляється гальмуванням відновлення ДНК, що є причиною нестабільності геному – стану, пов'язаного з пухлинним генезом [46, 47]. Цей ефект пояснюють здатністю кадмію інгібувати декілька типів репарації ДНК: відновлення базового висічення, відновлення ексцизії нуклеотидів та усунення маркера окисного пошкодження ДНК – 8-гідрокси-2'-дезоксигуанозину (8-OH-dG) [48]. Встановлено, що за умов окисного стресу в ДНК утворюється 8-охо-G, який відновлюється ДНК-глікозилазою OGG1. Вільний 8-охо-G надходить в цитоплазму, де зв'язується з OGG1 і утворює комплекс OGG1 • 8-охо-G, який функціонує як GEF (Guanine nucleotide Exchange Factor) і активує малі ГТФази (Ras, Rho, Rac), каталізуючи нуклеотидний обмін ГДФ → ГТФ.

Активовані малі ГТФази індукують експресію прозапальних генів, які забезпечують запуск і перебіг реакцій вродженого і набутого імунітету [49].

До того ж, Y.H. Jin et al. (2003) повідомили, що кількість клітин з одноланцюговими розривами ДНК і рівень пошкодження клітинної ДНК був значно вищим у тварин, які зазнали хронічного впливу кадмію [50]. Генетичні дефекти та поліморфізм генів, які здійснюють репарацію неспарених нуклеотидів ДНК (зокрема, ERCC1, MGMT, MLH1, MSH2, MSH6 та XRCC4), спричиняють мікросателітну нестабільність і тісно пов'язані з індукцією пухлинного росту, ймовірно, викликаючи аномальну проліферацію клітин та/або їх апоптоз [51 – 53].

Апоптоз вважається критичним фактором пухлиногенезу та злоякісного прогресування [54, 55]. W. Liu et al. (2020) припускають, що Cd^{2+} потрапляє в клітини через потенціалзалежний канал Ca^{2+} і посилює експресію $\text{IP}_3\text{R1}$ (інозитол 1,4,5-трисфосфатний рецептор), що в подальшому індукує вивільнення катіонів Ca^{2+} з ендоплазматичного ретикулуму [56]. В свою чергу, зростання рівня іонізованого Ca^{2+} сприяє активації кальпаїну, спричиняючи фрагментацію ДНК та апоптоз [24, 57, 58]. На думку О.А. Татаркової (2014) та L. He et al. (2016), хронічний вплив кадмію викликає активацію ДНК-метилязи DNMT1 (DNA methyltransferase, DNA MTase), яка індукує локальне аберантне метилування CpO-динуклеотидів, що входять до складу CpO-острівців, тим самим призводячи до аномального переродження клітин [59, 60].

Хронічна інтоксикація кадмієм, опосередкована вищевикладеними Cd-індукованими механізмами цитотоксичності, може обумовлювати розвиток астеновегетативного, астеноневротичного і неврастенічного синдромів з вегетативними порушеннями, кадмієвого паркінсонізму, прогресуючого пневмосклерозу і емфіземи легень, шлунково-кишкових розладів, порушення функції нирок та печінки, ушкодження яєчок, надниркових залоз, гіпохромної анемії та уражень кістково-хрящової тканини [10, 15, 33, 36, 48, 61 – 64].

1.2. Сучасні уявлення про механізми розвитку кадмій-індукованої остеопорозу та хондротоксичності

Комплекс досліджень, виконаних в першому двадцятиріччі XXI століття, показав, що однією з важливих «мішеней» негативного впливу кадмію є кістково-хрящова тканина: тривала експозиція токсиканта на організм призводить до збільшення крихкості скелета та зниження мінеральної щільності кісток [10, 15, 35, 36, 45, 48, 65 – 69].

Кісткова тканина – головний компонент скелетної системи організму. Вона містить декілька типів клітин (остеобласти, остеокласти, остецити та клітини, що вистилають гаверсові канали) та кальцифікований позаклітинний матрикс, який складається з мінералів (50-70%), органічних речовин (20-40%) та води (5-10%). Близько 90% органічного компонента позаклітинного кісткового матриксу – це колаген типу I, який синтезується остеобластами і відкладається шарами в зрілій або пластинчастій кістці [70, 71].

Ключова роль в розумінні процесів регуляції кісткової реконструкції належить цитокиновій системі рецептора активатора ядерного фактора каппа-β (Receptor Activator of Nuclear factor kappa-B, RANK), його ліганда (Receptor Activator of Nuclear factor kappa-B Ligand, RANKL) і остеопротегерина (osteoprotegerin, OPG), що відповідають за остеокластогенез, резорбцію і ремоделювання кісткової тканини. RANKL належить до сімейства TNF і експресується на поверхні остеобластів. Зв'язуючись із своїм рецептором (RANK) на поверхні клітин – попередників кровотворення, він індукує утворення остеокластів у присутності фактора стимулювання колонії макрофагів (MCS-F) та визначає тривалість їх життя. Остеопротегерин (OPG) – глікопротеїн, що належить до надродини рецепторів TNF, який, зв'язуючись з RANKL, запобігає активації RANK, інгібуючи утворення остеобластів. Регуляція кісткового ремоделювання відбувається під впливом системних і локальних чинників, що володіють гормональною активністю. ПТГ, кальцитріол, соматотропний гормон,

інсулін, тиреоїдні та статеві гормони впливають на кісткове ремоделювання шляхом підтримки постійного обміну кальцію, фосфору, магнію з кістки в позаклітинну рідину і навпаки. Локальні фактори (інсуліноподібний фактор росту, остеокластактивуючий фактор, фактор росту тромбоцитарного походження, фактор росту фібробластів, простагландин E₂) є медіаторами відповіді на механічне навантаження і зміну рівня системних гормонів. Порушення балансу між процесами кісткового ремоделювання є центральною ланкою патогенезу остеопорозу, в т.ч. індукованого кадмієм [72 – 74].

Як свідчать результати клінічних випробувань A. Engström et al. (2012) та M. Wallin et al. (2016), хронічна інтоксикація кадмієм викликає ниркову недостатність та остеопороз, збільшуючи ризик переломів [75, 76]. В зазначеному аспекті «показовими» жертвами кадміозу вважаються пацієнти з ендемічною хворобою itai-itai (イタイイタイ病, ітай-ітай, «ой-ой болить»), яка вперше була виявлена у басейні річки Дзіндзу префектури Тояма (Японія) у 20-х роках ХХ століття [77, 78]. Рівень сечової екскреції кадмію у хворих itai-itai коливався в межах 10-30 мкг/г креатиніну [77, 79] і супроводжувався збільшенням виведення із сечею загального білка, аміно-N проліну, глюкози та кальцію. Результати рентгенологічних досліджень кісток пацієнтів itai-itai показали наявність зон Лоозера – областей з аномальною радіопрозорістю, яка перетинала один або обидва коркові краї кістки і була очевидним показником остеодистрофії [80].

В 2000 році M. Kasuya обґрунтував механізм остеомаліції у хворих itai-itai, пояснивши його розвитком Cd-індукованої ниркової каналцевої недостатності [81]. Він вважав, що оскільки саме в нирках здійснюється утворення активного метаболіту вітаміну D і за його участі відбувається реабсорбція кальцію, то поява каналцевої дисфункції, спричиняючи ослаблення процесів гідроксилування в нирках, викликає зменшення продукції 1,25-дигідроксикальциферолу [82, 83]. З прогресуванням

ниркової каналцевої дисфункції утворення активного метаболіту вітаміну D ще більш ослабляється, рівень паратиреоїдного гормону (ПТГ) зростає, абсорбція кальцію зі шлунково-кишкового тракту зменшується, а його екскреція в сечу – збільшується, що призводить до посиленої резорбції кісткової тканини і, насамкінець, до ушкодження кісток [83, 84].

Проте вищевикладений механізм остеотоксичності у пацієнтів з itai-itai не пояснював всіх явищ, що спостерігалися у інших людей, які зазнали токсичного впливу кадмію. R. Honda et al. (2003) виявили знижену мінеральну щільність кісток у японських жінок без ознак порушення функції нирок [85]. В 2009 році група дослідників на чолі з A. Engström припустили, що Cd-індуковане ушкодження кісток не пов'язане з інактивацією активних метаболітів вітаміну D [86]; з іншого боку, X. Chen et al. (2011) та R.V. Jain (2020) встановили наявність кореляційного зв'язку між поширеністю остеопорозу та розвитком ренальної дисфункції [87, 88]. Ця інформація продемонструвала складність механізмів Cd-індукованої остеотоксичності, що вимагало подальших розробок і досліджень.

Наразі припускається два механізми дії кадмію на кісткову тканину – прямий і опосередкований. Прямий механізм передбачає безпосередній вплив токсиканта, що викликає порушення функціонування клітин кісткової тканини і спричиняє посилену резорбцію кістки та ослаблення її кальцифікації [89, 90]. Непрямий механізм опосередковується розвитком Cd-індукованої ниркової недостатності, асоційованої з посиленням ренальної екскреції кальцію та фосфору, пригніченням продукції активних метаболітів вітаміну D, а також ослабленням абсорбції кальцію в травному каналі [87, 88, 91 – 93].

Натепер вважається, що основною причиною ушкодження кісток при хронічній інтоксикації кадмієм є ренальна дисфункція. При цьому погіршення стану мікроархітекtonіки кісткової тканини з подальшим посиленням крихкості кісток та ризиків переломів збільшуються пропорційно ступеню ураження каналцевого апарату нирок. В популяції

китайців, які зазнали хронічного впливу кадмію, поширеність остеопорозу становила 6,2% при сечовій екскреції елемента в межах 10-20 мкг/г креатиніну порівняно з 2,41% при рівні виведення <2,0 мкг/г креатиніну [94]. Поширеність остеопорозу, асоційованого з ренальною дисфункцією, у жінок була у 2,81 рази вищою, ніж серед тих, хто не мав ушкодження каналцевого апарату нирок [87]. Згідно результатам дослідження OSCAR (2004), у жінок, вмісту кадмію у сечі яких становив в середньому 17,2 мкг/г креатиніну (діапазон 5,7-37,7 мкг/г), виявляли порушення функції нирок та порушення мінералізації osteoїдів, що корелювало з розвитком osteomalacia [95].

Ступінь ремоделювання кісткової тканини серед мешканців, які зазнали хронічної інтоксикації кадмієм, також була пов'язана з дисфункцією ниркових каналців. Так, результати дослідження K. Nambunmee et al. (2010) вказують на позитивну кореляцію між кістковими маркерами (остеокальцин сироватки крові і сечовий N-термінальний тілопептид ланцюга α колагену I типу NTx) та маркерами проксимальної каналцевої дисфункції (β_2 -мікроглобулін в сечі та фракційна екскреція кальцію) [96]. В 2005 році група дослідників на чолі з Н. Horiguchi також повідомили про значне зростання маркера кісткової резорбції NTx у групі з рівнем сечової екскреції кадмію > 3,5 мкг/г креатиніну порівняно з референтною групою (рівень виведення елемента <2,5 мкг/г) [97].

Порушення функціонування ферментативної системи, яка метаболізує вітамін D, спричинює зменшення продукції його активного метаболіту – $1\alpha, 25$ -дигідрооксикальциферолу ($1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}$) у проксимальних каналцях. Низка досліджень вмісту $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}$ та паратиреоїдного гормону (ПТГ) у мешканців з Cd-індукованим порушенням функції нирок показала, що знижені рівні цього активного метаболіту тісно корелювали із збільшенням вмісту PTH та β_2 -мікроглобуліну. Проксимальний каналець є основним місцем реабсорбції есенціальних поживних речовин, а також продукції $1, 25$ -дигідрооксикальциферолу. Як тільки накопичення кадмію у нирках досягає критичного рівня, необхідного для індукування проксимальної каналцевої

дисфункції, вміст активного метаболіту вітаміну D у сироватці крові значно зменшується, а втрата кальцію – навпаки, зростає. Зниження продукції 1,25-дигідрооксикальциферолу в сироватці крові спричиняє ослаблену реабсорбцію кальцію із шлунково-кишкового тракту, що, в свою чергу, збільшує секрецію ПТГ, який активує остеокласти для «розсмоктування» кісток і вивільнення кальцію в системний кровообіг, що спричинює зниження бонемінеральної щільності та остеопороз [83, 98, 99].

Взаємозв'язок між кумуляцією кадмію в організмі та підвищеним ризиком остеопорозу спостерігається також і за умов професійного впливу токсиканта. У суб'єктів із вмістом кадмію у сечі $> 1,88$ мкг/г креатиніну ризик остеопорозу був у 9,9 разів вищим, ніж у групі з рівнем сечової екскреції елемента $< 0,51$ мкг/г креатиніну, у яких порушення функції ренальних каналців не спостерігалось [100, 101]. Прямий вплив кадмію на кістковий метаболізм було також продемонстровано результатами досліджень рівнів біомаркерів ремоделювання кісток. Так, аномальний синтез кісткової тканини супроводжувався збільшенням концентрації остеокальцину в сироватці крові та лужної фосфатази в кістках [98, 102, 103]. При цьому прискорення кісткової резорбції, яке проявлялося зростанням вмісту дезоксипіридіоліну (DPD), а також N- та C-термінального тілопептида колагену типу I (NTx та CTx), було виявлено навіть у осіб із низьким рівнем кадмію [69, 104, 105]. До того ж, було продемонстровано, що Cd-індуковане прискорення резорбції кістки та аномальний синтез кісткової тканини не залежали від дисфункції нирок [106].

Цей феномен пояснюють молекулярним механізмом транспорту кадмію в клітини кісткової тканини, що порушує її функцію [107 – 109]. M. Lévesque et al. (2008) повідомили, що токсикант накопичується в остеобластах людини залежно від дози, а розраховане для хлориду кадмію значення LD_{50} становить 22 ± 2 мкМ [110]. Кадмій також індукує апоптоз внаслідок збільшення вивільнення цитохрому C з мітохондрій та каспази 3 в клітинах остеобластів [44, 45, 111, 112]. До того ж, токсикант може спричинити зменшення синтезу

колагену на додаток до прискорення диференціації нових остеокластів та активізації активності зрілих остеокластів, що індукує резорбцію кістки [113, 114].

Дослідження *in vivo* на експериментальних тваринах показали, що хронічний вплив кадмію зменшує мінералізацію тіл хребців, змінюючи їх біомеханічні властивості та роблячи їх сприйнятливішими до деформації та руйнування [115]. Також продемонстровано, що кадмій зменшує експресію маркерів остеобластичної диференціації (Runx2, остеокальцин), білків позаклітинної кісткової матриці (колаген типу I) та ферментів, що беруть участь у процесі мінералізації (лужна фосфатаза ALP) [116, 117], змінюючи процес формування та мінералізації кісток. Результати досліджень D. García-Mendoza et al. (2019) та J. Rodríguez et al. (2016) забезпечили докази того, що хронічний вплив кадмію зменшує об'єм кістки та збільшує активність тартрат-резистентної кислоти фосфатази (Tartrate-Resistant Acid Phosphatase, TRAP) у субхондральному шарі великогомілкової кістки [118, 119], що свідчить про індукування остеопенії посиленням резорбції кісткової тканини. При цьому спостерігалось збільшення відсотку жирового кісткового мозку, що свідчило про кадмієву депримацію диференціювання мезенхімальних клітин до остеобластів шляхом стимулювання адипогенезу [119].

Результати досліджень *in vitro* продемонстрували, що кадмій збільшує експресію RANKL [120 – 122], активність TRAP та утворення TRAP-позитивних клітин у присутності RANKL, а також стимулює утворення остеокластів у субкультурах остеобластів та клітин-попередників остеокластів [122]. Автори припускають, що кадмій може регулювати експресію остеобластів RANKL та опосередковано індукувати остеокластогенез через RANKL. Крім того, було показано, що кадмій індукує апоптоз остеобластів, порушуючи їх цитоскелет [123], а також викликаючи фрагментацію ДНК, зростання кількості мікроядер і ядерних містків [124] та збільшення рівня активних форм кисню [125].

Звіти про негативний сумарний вплив кадмію та свинцю на організм, опубліковані в доступній літературі, засвідчили, що ці токсиканти можуть збільшувати ризик втрати слуху та ушкодження нирок [126, 127], а також виявляти адитивно-токсичну дію на яєчко, печінку та нирки [128].

З урахуванням вищевикладеного, на рисунку представлений ймовірний узагальнений механізм пояснення остеотоксичності кадмію:



Потенційні механізми остеотоксичності кадмію

(за Nambuntee K., 2014 [98])

Ще однією з потенційних «мішеней» негативного впливу кадмію на опорно-рухову систему організму є суглобові хрящі, до складу яких входять хондроцити, вода, колаген типу II (COL2A1) та протеоглікани на основі агрекану (ACAN). На структуру та склад суглобового хряща впливають вік,

стать, гени та зовнішнє середовище. Колаген типу II та агрекан забезпечують основу, яка дозволяє матриксу хряща підтримувати стабільний метаболізм та нормальні фізіологічні та біохімічні функції [129, 130].

COL2A1 в основному виробляється хондроцитами і є ключовою білковою макромолекулою в позаклітинному матриксі хряща, яка забезпечує його герметичність та біомеханічні властивості [131]. Основний протеоглікан у хрящі – це високомолекулярний білок ACAN, який взаємодіє з гіалуроновою кислотою, утворюючи високомолекулярні полімери, обумовлюючи високу еластичність [132]. Запалення, ушкодження та деструкція суглобового хряща пов'язані з ранньою деградацією колагену та протеогліканів, що продукуються хондроцитами, та руйнуванням його молекулярної структури [133]. Основними ферментами, що руйнують колаген, є колагенази та матриксні металопротеїнази (matrix metalloproteinases, MMP), які спричиняють деградацію позаклітинного матрикса суглобового хряща, що призводить до дисбалансу хрящового середовища [134, 135].

Нормальний процес проліферації та диференціювання хондроцитів невіддільний від регуляції факторів транскрипції на генному рівні. Іранські дослідники показали, що мутація гена SOX9 індукувала порушення процесу формування кісткової тканини і блокувала поздовжнє розгинання пластин росту хряща [136]. Було встановлено, що SOX9 бере участь у регуляції росту та розвитку хряща та є маркером гена для ранньої диференціації в хондроцитах [137].

Адекватну клітинну модель для вивчення механізмів Cd-індукованої токсичності забезпечила культура первинних хондроцитів *in vitro*, отриманих шляхом поетапного перетравлення трипсином та колагеназою IV хряща колінного суглоба 15-денних курячих ембріонів [68]. Проведене дослідження показало, що кадмій пригнічував експресію макромолекул COL2A1 та кислотних мукополісахаридів у позаклітинному матриксі хряща і сприяв експресії білка MMP-9. Отримані дані узгоджуються з результатами

попереднього звіту, яким було продемонстровано, що хронічний вплив кадмію індукує експресію MMP-9 в тканинах легенів щурів, що доводить незаперечну роль матриксних металопротеїназ в розвитку дегенеративних змін хрящової тканини [138].

У чинному дослідженні, проведеному колективом авторів під керівництвом J. Gu (2021), активний метаболіт вітаміну D 1,25-дигідрооксикальциферол ($1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$) пом'якшував пригнічуючий вплив кадмію на експресію COL2A1 та кислотного мукополісахариду в хондроцитах, а також ослабляв виразну Cd-індуковану експресію MMP-9 [68], що доводить ефективність 1,25-дигідрооксикальциферолу в ослабленні проявів Cd-асоційованого токсичного ушкодження позаклітинного матриксу хряща.

Кісткова тканина постійно оновлюється протягом усього життя. Процес включає скоординовану дію резорбції, синтезу та мінералізації кісткового матриксу. Хронічна інтоксикація кадмієм створює дисбаланс у процесі ремоделювання кісткової тканини, індукуючи розвиток остеопенії та остеопорозу. До того ж, здатність токсиканта накопичуватися у позаклітинному кістковому матриксі спричиняє його біоаккумуляцію і призводить до збільшення періоду напіввиведення металу з організму. Розуміння механізмів остео- і хондротоксичності кадмію дозволить знайти адекватні методи терапії Cd-індукованого остеопорозу та попередити негативний вплив токсиканта на кістково-хрящову тканину.

1.3. Похідні бурштинової кислоти (сукцинати) як потенційні засоби корекції проявів кадмій-індукованої остеотоксичності

Зважаючи, що провідним механізмом, який лежить в основі Cd-індукованої цитотоксичності, вважається окислювальний стрес [24, 38 – 40, 139, 140], можна припустити, що відновлення балансу активності про- та антиоксидантних систем, пригнічення надмірного генерування активних форм кисню (АФК), ослаблення процесів перекисного окислення ліпідів на

фоні підвищення енергетичного потенціалу клітини потенційно сприятиме нівелюванню або ж значному ослабленню проявів остеотоксичних ефектів, спричинених негативним впливом кадмію.

Основним місцем генерації ендогенних активних форм кисню у більшості типів клітин є мітохондрії. Залежно від концентрації, АФК можуть ініціювати різноманітні клітинні дії. На фізіологічному рівні АФК забезпечують функціонування сигнальних шляхів, які беруть участь у процесах клітинного росту та захисту, тоді як їх надлишкова концентрація призводить до ушкодження клітин з наступною їх загибеллю, тому баланс між утворенням активних форм кисню та їх видаленням повинен бути жорстко регламентованим [141 – 144]. Відомо, що надмірна продукція АФК у мітохондріях вважається одним з основних факторів патогенезу численних патологічних станів, зокрема, нейродегенеративних захворювань [145 – 147], старіння [148, 149], окислювального ушкодження при ішемії/реперфузійній травмі [150, 151], злоякісного пухлинного росту [152 – 154], а також хронічної інтоксикації важкими металами, в т.ч. кадмієм [24, 38, 140, 155].

Традиційно основними джерелами АФК у мітохондріях вважалися дихальний комплекс I (NADH: убіхінон-оксидоредуктаза, CI) та комплекс III (убіхінол: оксидоредуктаза цитохрому c, CIII), тоді як внесок комплексу II (сукцинатдегідрогеназа, CII) у цей процес практично не враховували [156 – 158]. Виявлення мутацій CII, що призводять до збільшення виробництва АФК при раку та нейродегенеративних захворюваннях [159 – 161], і усвідомлення того, що CII відіграє вирішальну роль у генерації активних форм кисню також за рахунок зворотного переносу електронів (reverse electron transfer, RET) через дихальний комплекс I, змінило традиційні уявлення [162 – 164].

Натепер доведено, що дихальний комплекс II вносить значний внесок у продукцію АФК як безпосередньо, так і опосередковано (через RET), що має важливе значення як для нормальної фізіології, так і патогенезу захворювань. Мутації CII пов'язані зі звичними та спорадичними формами раку, особливо з

феохромоцитомою/парагангліомою, шлунково-кишковими стромальними пухлинами та раком нирок, а також із синдромом Лі та нейродегенеративними захворюваннями [156, 160, 165, 166].

Дослідження мітохондріального дихального комплексу II як джерела окислювально-відновних кофакторів датується понад 6-ма десятиліттями. СII є унікальною структурою, оскільки поєднує два основні шляхи в мітохондріях – цикл трикарбонових кислот та дихальний ланцюг [161, 167 – 169]. Це єдиний дихальний комплекс, всі субодиниці якого кодується ядерним геномом без участі мітохондріальної ДНК. Крім того, СДГ є єдиним ферментом транспортного ланцюга електронів, який в процесі свого каталітичного циклу не «перекачує» H^+ через внутрішню мембрану мітохондрій до міжмембранного простору, тим самим не забезпечуючи протонного градієнта [170 – 173]. До того ж, СДГ не здатна до утворення будь-яких білкових суперкомплексів, що обумовлює її унікальні окисно-відновні властивості, які дозволяють ензиму функціонувати за умов зниженого окисно-відновного статусу [174].

Каталітичний центр сукцинатдегідрогенази людини складається з субодиниць СДГА та СДГВ. СДГА є найбільшою субодиницею і містить активний центр з ковалентно зв'язаним флавін-аденін-динуклеотидом (ФАД), який видаляє електрони з сукцинату. СДГВ несе в собі три лінійні залізо-сірчані кластери, які опосередковують перенесення двох електронів, що вивільняються після дегідрогенації сукцинату, до молекули убіхінону Q, локалізованого в місці його зв'язування. Субодиниці СДГС та СДГД фіксують СII до внутрішньої мембрани мітохондрій [170, 175]. Хоча кристалічна структура сукцинатдегідрогенази була описана більше 10 років тому [170], нещодавно були виявлені невідомі раніше форми мітохондріального дихального комплексу II у бактерій [176 – 178]. Одна із таких альтернативних СДГ – СII_{low}, була також виявлена і в клітинах ссавців: СII_{low} індукується за відсутності СДГВ або при дихальній дисфункції і забезпечує адаптації клітин до енергетичного стресу [179].

Як зазначалося вище, традиційними джерелами АФК у мітохондріях вважалися дихальний комплекс I та комплекс III, тоді як внесок непошкодженого комплексу II здавався незначним [156, 158, 180, 181]. Проте незабаром стало відомо, що мітохондріальний комплекс II дійсно здатний генерувати високі концентрації активних форм кисню за умов низького рівня сукцинату, коли блокується потік електронів до дихального ланцюга [182]. Було показано, що основний сайтом продукування активних форм кисню в дихальному комплексі II є ФАД, ковалентно зв'язаний з субодиницею А сукцинатдегідрогенази за умови, що сайт зв'язування дикарбоксилату є вільним. Повністю відновлений ФАД може переносити або один електрон на кисень, викликаючи утворення супероксиду в аеробних умовах (що характерно для сукцинат:убіхінон-оксидоредуктази), або ж два електрони, генеруючи H_2O_2 (що характерно для фумарат:убіхінонредуктази, яка функціонує в анаеробному середовищі) [183]. Крім того, було встановлено, що висока концентрація сукцинату і високий мембранний потенціал викликають зворотний перенос електронів від комплексу II до CI, що пов'язано з високою швидкістю утворення супероксиду, тому за даних умов пригнічення CII приводить до зниження продукції АФК комплексом I [184]. Зниження мембранного потенціалу ізольованих мітохондрій всього на 5% сприяє ослабленню вивільнення H_2O_2 на 95%. З іншого боку, інгібування комплексу II може приводити до утворення супероксиду на сайті окислення убіхінону при комплексі III, що пояснюють посиленням окисленням убіхінонового пулу [185].

В 2015 році К. Kluckova з колективом співробітників продемонстрували, що здатність сукцинатдегідрогеназного комплексу генерувати АФК пов'язує її з процесом клітинного апоптозу. Так, дослідження по вивченню цілості комплексу II показали, що індукція апоптозу клітини зв'язана зі специфічним розпадом ферменту, в результаті чого субодиниці СДГА і СДГВ вивільняються з мембранного домену в матрикс мітохондрій, після чого залишаються ферментативно активними і

можуть ефективно видаляти електрони від сукцинату. Зважаючи на відсутність акцепторів електронів в результаті від'єднання від СДГС і СДГД, потік електронів блокується, вони передаються на молекулярний кисень, генеруючи надмірну кількість АФК, які індукують клітинний апоптоз [186].

Механізм опосередкованого сукцинатом пригнічення продукції АФК не зовсім зрозумілий, однак відомо, що сукцинат може блокувати доступ кисню до ФАД [187]. При рівні сукцинату близько 0,5 мМ (фізіологічна внутрішньоклітинна концентрація сукцинату) внесок ФАД СІІ у генерацію активних форм кисню може бути значним [187, 188].

Продукція АФК у мітохондріях залежить від забезпечення субстратом, мембранного потенціалу та загальної метаболічної активності клітини, а також концентрації внутрішньоклітинного сукцинату [189]. Специфічні інгібітори СІІ взаємодіють з сайтом зв'язування сукцинатів, тобто оксалоацетатом і малонатом [161], пригнічуючи продукцію АФК в сукцинатдегідрогеназному комплексі за рахунок блокади ФАД. Крім того, як блокатори сайту зв'язування сукцинату, так і інгібітори сайту Q пригнічують генерацію активних форм кисню при високих концентраціях сукцинату за рахунок зворотного переносу електронів, оскільки вони порушують перенос електронів із сукцинату через комплекс ІІ до пулу убіхінонів [185].

Результати досліджень 70-80-х років ХХ століття продемонстрували, що сукцинати чинять інгібуючу дію на перекисне окислення ліпідів у мітохондріях/мітопластах/субметохондріальних частинках, що утворюються комплексами НАДФН/АДФ/Fe³⁺ [190] або органічними гідропероксидами [191]. Ці прооксиданти значно стимулювали утворення малонового діальдегіду (кінцевого продукту ПОЛ), а перекисне окислення ліпідів мембран розсіювало мітохондріальний мембранний потенціал через появу фізичних «отворів» у ліпідному бішарі [191]. В дослідженні P. Sharmila et al. (2017) було показано накопичення проліну в мітохондріях і зниження здатності мітохондрій окисляти нікотинамід-аденін-динуклеотид на 35% під дією кадмію [192]. Захисна роль сукцинату як мітохондріального

респіраторного субстрату пояснювалася головним чином зменшенням пулу CoQ [193]. НАД⁺-залежні субстрати були менш ефективними у пригніченні перекисного окислення ліпідів, оскільки сильні перекисні подразники пронизують мембрани, вивільняючи НАД⁺. Тому із зменшенням концентрації коферменту окислення субстратів сповільнювалось, а утворення антиоксиданту CoQH₂ – зменшувалось. Однак сукцинат окислювався мембранно зв'язаною сукцинатдегідрогеназою, і активність ферменту була лише помірно чутливою до окисників [194]. Тому сукцинат був більш ефективним саме у підтримці пулу CoQH₂, забезпечуючи тим самим цілісність клітинних мембран [195].

Нарешті, як свідчать результати досліджень С. Duan et al. (2019), сукцинати полегшують перебіг Cd-індукованої травми у рослин. Так, авторами показано, що контамінація кадмієм ґрунтового покриву на північному сході Китаю гальмувала економічно важливий вид лісового господарства країни, спричиняючи збільшення вмісту малонового діальдегіду, пригнічення пероксидазної активності, флуоресценції хлорофілу та його вмісту в листках модрини Чанбайшань (*Larix olgensis* A. Henry). Обробка ґрунту розчином бурштинової кислоти (5,0-10,0 ммоль/л) протягом 30 днів зменшила вміст кадмію у дрібних коренях та листі модрини, суттєво стимулювала ріст рослини, посилюючи толерантність до Cd-індукованого стресу [196].

Таким чином:

- сукцинати виявляють інгібуючу дію на перекисне окислення ліпідів у мітохондріях/мітопластах/субметохондріальних частинках, що утворюються комплексами НАДФН/АДФ/Fe³⁺ або органічними гідропероксидами [190, 191];
- захисна роль сукцинатів як мітохондріального респіраторного субстрату пояснюється переважно підтримкою пулу CoQH₂, що забезпечує цілісність клітинних мембран [193, 195];

- сукцинати гальмують ФАД-індукований перенос електронів до кисню в мітохондріальному дихальному комплексі II, що значно зменшує продукцію супероксиду та H_2O_2 [187];
- сукцинати пригнічують генерацію активних форм кисню, порушуючи перенос електронів через комплекс II до пулу убіхінонів [185].

Наразі застосування сукцинатів (препаратів на основі бурштинової кислоти) є одним з пріоритетних напрямків сучасної фундаментальної і практичної медицини. Лікарські засоби, що містять бурштинову кислоту (сукцинати металів, мексидол, реамберин тощо), відносяться до препаратів метаботропного типу дії, фармакотерапевтичні ефекти яких спрямовані на відновлення біохімічних реакцій обміну речовин, порушених патологічними процесами. Бурштинова кислота є внутрішньоклітинним метаболітом, яка бере участь в метаболічних процесах організму і виступає в якості субстрату окисного фосфорилування в мітохондріальному циклі трикарбонових кислот, виконуючи каталітичну функцію, знижує концентрацію лактату, пірувату і цитрату, рівень яких збільшується на ранніх стадіях гіпоксії, і сприяє утворенню енергії, необхідної для нормального функціонування клітин. Даний інтермедіат відноситься до малотоксичних сполук і не чинить мутагенної і тератогенної дії [197 – 201].

Отже, сукцинати, сприяючи відновленню балансу активності про- та антиоксидантних систем, пригніченню надмірного генерування активних форм кисню та ослабленню процесів перекисного окислення ліпідів потенційно можуть нівелювати або ж значно ослабити прояви Cd-індукованої токсичності, провідним механізмом якої вважається окислювальний стрес.

Результати аналізу огляду наукової літератури опубліковано:

Нефьодова О.О., Шевченко О.С., Гальперін О.І., Шевченко І.В., Башта І.Г., Баклунов В.В. Оцінка впливу кадмію на розвиток кістково-хрящової патології та роль сукцинатів в корекції Cd-індукованої цитотоксичності

(огляд літератури). Вісник проблем біології і медицини. 2021; Вип. 2 (160): 34-39.

Olena Shevchenko, Anna Kozina, Valentin Kosse 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: 129-135.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Усі досліді проводили у відповідності до: законодавства України (Закон України № 3447-IV, 2006), Міжнародного кодексу медичної етики (1983р.), «Загальних етичних принципів експериментів над тваринами», що затверджені I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001р.), правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою (Council of Europe, Strasbourg, 1986). Комісією з біоетики Дніпровського державного медичного університету (ДДМУ) встановлено, що проведені наукові дослідження експериментальних тварин відповідають етичним вимогам.

Матеріал дослідження. Експериментальні дослідження проведені на 100 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar (розплідник «Далі-2001» місто Київ, Україна). Утримання експериментальних тварин здійснювалося відповідно до санітарно-гігієнічних норм віварію ДДМУ, м. Дніпро: температурний режим повітря 22 ± 2 °C, вологість не менш 50%, світлий / темний цикл 12 / 12 годин, їжа та пиття *ad libitum*.

Тварини після транспортування та карантину (2 тижні) були здорові, активні, добре споживали їжу, не мали ушкоджень на шкіряних покриттях та вухах. Під час утримання, експерименту та оперативного вилучення тварин з експерименту ми дотримувались усіх етичних норм поводження з лабораторними тваринами.

Постановка експерименту. Моделювання впливу хлоридом кадмію та розчинами сукцинатів біометалів, на організм самців і морфогенез кісткової тканини у щурів проводили за наступним планом. Усі дослідні тварини були нами розділені на 4 групи, три з яких дослідні, 1 – контрольна, яким

вводили фізіологічний розчин. Дослідні групи розподілились наступним чином:

дослідна група № 1– щури, яким ізольовано вводили розчин хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг;

дослідна група № 2– щури, яким вводили розчин хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг в комбінації з розчином сукцинату цинку в дозі 5 мг/кг;

дослідна група №3, яким вводили розчин хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг в комбінації з розчином сукцинату заліза в дозі 10 мг/кг;

Як при ізольованому впливі хлориду кадмію, так і при його комбінації з сукцинатами цинку або заліза, обсяг введення не перевищував 0,5 мл, що не призводить до розтягування шлунку дослідного щура і не привносить побічного ефекту механічного впливу.

Для виконання поставлених завдань нами проводився хронічний експеримент для визначення результатів тривалого впливу – 30 діб. Досліджувані розчини вводили щоденно в шлунок самцям зондуванням один раз на добу, в один і той же самий час. В експериментальних моделях використовували розчин хлориду кадмію, а також розчини сукцинату цинку та сукцинату заліза, отриманого із застосуванням аквананотехнології. Сукцинат цинку та сукцинат заліза були наноаквахелатними з'єднаннями з межею розмірів від 20 нм до 50 нм. Вчені Науково-дослідного інституту нанобіотехнологій та ресурсозбереження України (м. Київ) створили пріоритетний нанотехнологічний напрямок, завдяки якому були отримані надчисті сукцинати основних харчових кислот біогенних металів (цинку, магнію, заліза, міді, та ін.). Ця технологія є запатентованою - «Спосіб Каплуненка-Косінова отримання карбоксилатів з використанням нанотехнології» патент 49050 від 12.04.2010 року. Робота виконувалась згідно з договором про наукову співпрацю, розчини сукцинатів нанометалів отримували в Науково-дослідному інституті Нанобіотехнологій та ресурсозбереження України (м. Київ).

Вибір іонної форми кадмію (кадмію хлорид) як досліджуваної

речовини для моделювання хронічної інтоксикації обґрунтовується широким його розповсюдженням в об'єктах довкілля промислового регіону, при цьому кадмій та його сполуки мають політропну токсичну дію та впливають на морфо-функціональний стан і здатні накопичуватись в організмі, зокрема в кістках [6].

Результати хронічного впливу досліджуваних чинників оцінювали на 14-ту, 20-ту і 30-ту доби дослідження, тварин виводили з експерименту способом передозування ефірним наркозом, вилучали стегнову кістку та нижню щелепу. Після вилучення органів проводились їх вимірювання, зважування, протоколювання (рис.2.1). Для того, щоб знайти видимі морфологічні зміни кістки оглядали, потім фотографували і фіксували відібраний матеріал у нейтральному 10 % розчині формаліну для подальшого гістологічного та морфогістометричного дослідження. Для поліелементного аналізу зразки кісток без фіксації підлягали заморожуванню.

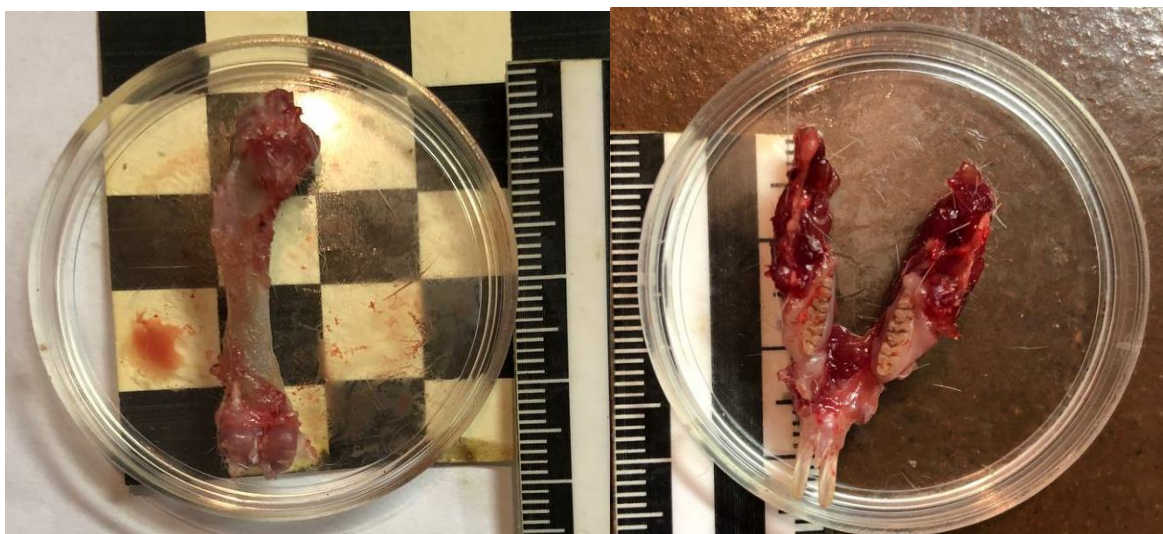


Рис. 2.1. Вилучені стегнова кістка та нижня щелепа самця щура контрольної групи на 14-й добі експерименту. Фото зроблено на лінійці та калібрувальній поверхні для співставлення розмірів. Довжина стінки квадрату 10мм.

Враховуючи поставлені завдання, в даному дослідженні була проведена кількісна оцінка наступних морфологічних показників:

- вагові показники щура в цілому (г), $M \pm m$;
- вагові показники ізольованої стегнової кістки щура (волога вага) (мг), $M \pm m$;
- вагові показники ізольованої нижньої щелепи щура (волога вага) (мг), $M \pm m$;
- індекс маси стегнової кістки та індекс маси нижньої щелепи щура (%), $M \pm m$, який розраховувався нами – за формулою:

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

де ІМК – індекс маси кістки; m – маса кістки (г); M – маса щура (г).

Остеометричні вимірювання стегнової кістки:

- ширина діяфізу (см), $M \pm m$;
- ширина проксимального і дистального епіфізів (см) $M \pm m$;
- довжини стегнової кістки (см) $M \pm m$;

Остеометрія нижньої щелепи передбачала обрахування та аналіз наступних показників:

- максимальна довжина кістки (см), $M \pm m$;
- висота гілки нижньої щелепи (см), $M \pm m$;
- висота тіла нижньої щелепи (см), $M \pm m$;
- висота альвеолярного відростка (см), $M \pm m$.

Для виконання гістологічного дослідження фіксовані у нейтральному формаліні кістки (стегнова, нижня щелепа) поділяли на фрагменти і проводили декальцинацію в 17% розчині етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA) при рН7,5, дотримуючись співвідношення обсягу 20:1 і більше. Згідно рекомендацій [202, 203, 204] обсяг декальцинуючого розчину кислоти більше як у 20 разів перевищував обсяг кісткових зразків з контролем температурного режиму та довготривалості процесу декальцинації. У подальшому декальциновані зразки кісток зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації та заливали в парафінові блоки для виготовлення гістологічних серійних зрізів, які забарвлювались оглядовими гістологічними барвниками. Відповідно до мети та завдань гістологічними дослідженнями визначались зміни в кістковій та хрящовій тканинах, а саме під мікроскопом

досліджували фрагменти діафізу та голівки стегнової кістки та виростковий відросток нижньої щелепи щура.

Для аналізу динаміки показників крові при хронічному введенні хлориду кадмію у порівнянні до контрольних показників та за умов корекції сукцинатами заліза / цинку визначали на всіх трьох термінах число еритроцитів, лейкоцитів та вміст гемоглобіну в крові дослідних тварин. Кров для аналізу отримували з хвостової вени щурів. Аналіз проводився згідно з договором про науково-технічне співробітництво з Вінницьким національним медичним університетом імені М.І.Пирогова.

Для отримання цифрових зображень з подальшим обчисленням розмірів структур кісткової тканини нами використовувалася камера для світлової мікроскопії фірми ZEISS AxioCam ERc 5s з адаптером P95-C 1/2" 0,5x, приєднана до мікроскопу Primo Star компанії ZEISS. Визначення розмірів структур кістки проводили за допомогою програми ZEN 2.0, що є програмним забезпеченням для світлових мікроскопів серії Primo Star компанії ZEISS. Ми використовували програмні інструменти для вимірювання лінійних розмірів та сплайнний контур для обрахування площі структур.

Крім цього, частина отриманого матеріалу досліджувалась шляхом поліелементного спектрального аналізу.

Метод атомної емісії з електродуговою атомізацією

В нашому експерименті було прийнято рішення щодо проведення аналізу накопичення у кістках кадмію, як маркера хронічної інтоксикації широко розповсюдженим екополлютантом, а також цинку і заліза, як елементів, які володіють вираженими біоантагоністичними властивостями по відношенню до сполук кадмію. Цинк та залізо входять до складу мікроелементних систем організму людини, баланс яких порушується в першу чергу в умовах інтоксикації солями кадмію. Крім вищезначених токсичного і есенціальних мікроелементів було проведено визначення рівня кальцію у кістках, як маркера стану кісткової тканини організму (рис. 2.1). Відпрепаровані кістки, звільнені від м'язів та сухожилок і сполучної тканини

не підлягали фіксації формаліном, згідно з вимогами пробопідготовки, а відразу заморожувались і вже в замороженому стані доставлялись до Українського науково-дослідного інституту медицини транспорту для визначення їх мікро- та макроелементного статусу.

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

Атомно-емісійний метод аналізу полягає в наступному: спеціально підготовлена проба міститься в лунку на одному з двох графітових електродів. Електрична дуга між електродами призводить до випаровування та атомізації проби, атоми, з яких складалася аналізована проба, під дією високої температури поглинають енергію та переходять у збуджений стан. У збудженому стані кожен атом знаходиться приблизно 1 мкс, після чого знову повертається до основного стану, виділяючи один або кілька квантів енергії (фотонів). Кожен хімічний елемент виділяє фотони з певною довжиною хвилі. Спектрометр уловлює світло, що походить від вольтової дуги, і розкладає його за допомогою дифракційних ґрат. У цьому фотони з різними довжинами хвиль відокремлюються друг від друга. З'являється можливість виміряти, скільки випромінюється фотонів із довжиною хвилі, що відповідає

кожному хімічному елементу. Як наслідок, можна зробити висновок про кількість того чи іншого хімічного елемента аналізованої проби.

Підготовка зразків і вимірювання вмісту металів в стегновій кістці та нижній щелепі проводилося відповідно до ДСТУ 30823-2002. В якості розчинника використовувалася стандартна спектральна буферізуюча суміш по ДСТУ 30823-2002. Кількісне вимірювання вмісту металів в зразках проведено на атомно-емісійному спектрометрі Емас-200 CCD (повірений 30.11.2021, свідоцтво про повірку 4707-ФГ). Атомно-емісійний спектрометр ЕМАС-200 CCD є сучасним аналітичним приладом, управляється комп'ютером і всі необхідні розрахунки виробляє самостійно за мінімальної участі оператора. Кількісне визначення в аналізованих об'єктах проводилось на довжині хвилі: кадмію 228,802 нм, цинку, - 213,856 нм, заліза - 238,204 нм. Отримані дані з рівня накопичення порівнювались до групи контролю з метою визначення можливих диселементозів мікроелементів у кістках дослідних тварин.

Морфолого-математичний аналіз виявлених структурно-функціональних зсувів є складовою частиною комплексного морфологічного дослідження. Аналіз складається з декількох етапів, кожний з них 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: \bar{x} - середня арифметична; s_x^2 - дисперсія; s_x - середнє квадратичне відхилення; C_v - коефіцієнт варіації; s_s - помилка середнього квадратичного відхилення. Для обчислення вказаних характеристик використовували стандартні формули:

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

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

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

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

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

де n – об'єм вибірки;
 x_i – варіанти вибірки.

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

$$t = \frac{\bar{I}_1 - \bar{I}_2}{\sqrt{\hat{i}_{s1}^2 + \hat{i}_{s2}^2}},$$

де M_1 та M_2 - середні арифметичні вибірок, що порівнюються;
 m_{s1} та m_{s2} – помилки відповідних квадратичних відхилень.

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

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

РОЗДІЛ 3

ЗМІНИ МІНЕРАЛЬНОГО СКЛАДУ КІСТОК ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА ДАНИМИ ПОЛІЕЛЕМЕНТНОГО АНАЛІЗУ

Відповідно до мети та завдань дослідження ми проводили порівняння вмісту кадмію, кальцію та цинку в кістках різного типу (стегнова кістка, нижня щелепа) при ізольованому введенні хлоридом кадмію та комбінованому введенні хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку в хронічному експерименті на щурах.

Актуальною задачею сучасної медико-біологічної науки є пошук нових потенційних біологічних антагоністів, що здатні зменшувати токсичний вплив кадмію. Пошук та розробка нових можливих протективних засобів в ортопедичній, профпатологічній, та ревматологічній практиці для лікування захворювань опорно-рухової системи, етіологічним фактором яких став вплив техногенних сполук кадмію є важливим завданням. В даному розділі представлено результати та порівняння накопичення кадмію, кальцію та цинку в досліджуваних зразках кісток (стегнова кістка, нижня щелепа) експериментальних тварин усіх груп.

Кісткова тканина – динамічна жива тканина з високою чутливістю до різних регуляторних ендо- та екзогенних впливів. Кістки окрім опори та захисту внутрішніх органів, виконують формоутворюючу функцію, є місцем прикріплення м'язів, беруть участь у кровотворенні та є депо мінералів. Кальцій та фосфор – основні мікроелементи кісткової тканини, у поєднанні з вітаміном D необхідні для зміцнення кісток, збільшення кісткової маси і зниження частоти переломів. Головна роль в метаболізмі кальцію в організмі людини належить саме кістковій тканині. У кістках кальцій представлений фосфатами – $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (85%), карбонатами – CaCO_3 (10%), солями органічних кислот – лимонною та молочною (близько 5%). Залізо бере участь

у регуляції синтезу кісткової тканини, а цинк має прямий стимулюючий вплив на утворення кісткової тканини за допомогою активації остеобластогенезу та мінералізації: цей мікроелемент прямо активує аміноацил-тРНК-синтазу - фермент, від якого залежить швидкість трансляції при біосинтезі білків, і тим самим стимулює утворення білка в клітинах кістки.

Сполуки кадмію здійснюють суттєвий вплив на обмін кальцію в організмі. Розчинні сполуки кадмію після всмоктування в кров уражують центральну нервову систему, печінку, нирки та порушують фосфорно-кальцієвий обмін. Вже є загальновідомим, що надмірне надходження і накопичення кадмію в організмі призводить до від'ємного кальцієвого балансу в організмі, провокують гіпокальціюрію та зміни в будові кісткової тканини., остеопороз та інші порушення.

Пошук можливих потенційних біоантагоністів токсичного впливу солей кадмію на організм в цілому та на кісткову систему зокрема, є актуальною задачею сучасних морфологічних експериментальних робіт. Саме тому нами обрані сукцинати цинку та заліза для виявлення можливої корекції дисбалансу макро- та мікроелементів, який виникає під хронічним впливом кадмію при експериментальному введенні.

3.1. Зміни макро- та мікроелементного складу стегнової кістки в хронічному експерименті на щурах

Як показали результати поліелементного аналізу, рівень кадмію в стегновій кістці контрольної групи дослідних тварин мав тенденцію до збільшення впродовж експерименту (30діб), але без достовірної різниці. На 14 добу експерименту рівень кадмію становив $0,0902 \pm 0,0142$ мкг/г, а до кінця введення, тобто на 30-ту добу підвищувався до $0,1110 \pm 0,0415$ мкг/г. В групі ізольованого введення хлориду кадмію спостерігалось суттєве підвищення (у 2,3 рази) рівня кадмію в кістці вже на 14 добу - $0,2065 \pm 0,0227$ мкг/г (рис.3.1). В групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза

рівень накопичення кадмію зменшувався, не зважаючи на надходження тієї ж дози кадмію, що і при ізольованому впливі, але найменшим рівнем накопичення на цьому терміні володіли зразки групи комбінації кадмію з сукцинатом цинку. Рівень кадмію в даній групі становив $0,1291 \pm 0,0261$ мкг/г (рис.3.1).

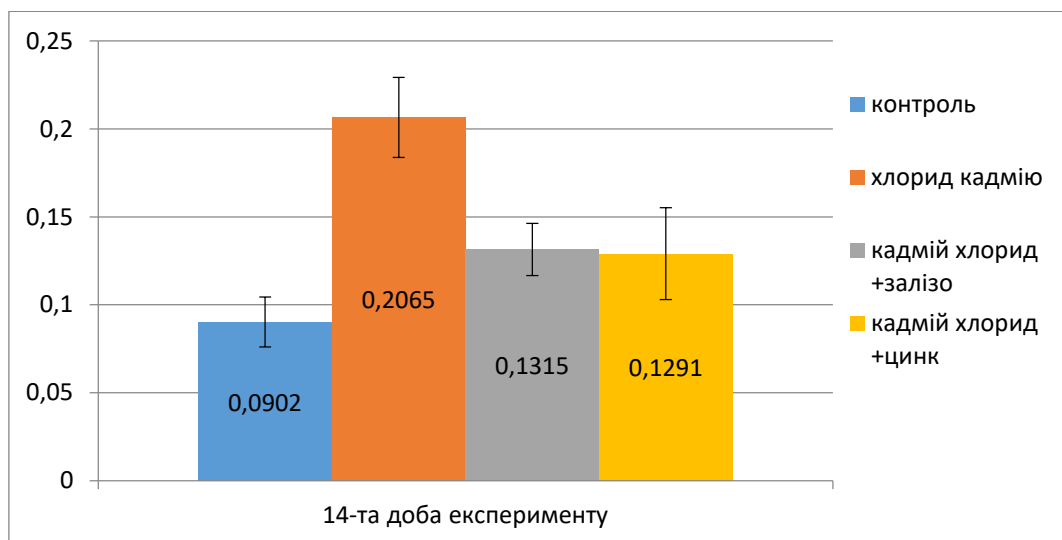


Рис.3.1. Накопичення кадмію (мкг/г) в стегновій кістці щурів в піддослідних групах на 14-ту добу експерименту.

Показник рівня накопичення кадмію в стегновій кістці дослідних тварин групи ізольованого впливу на 20-ту добу експерименту збільшувався у порівнянні до контролю у 2,5 разів і становив $0,2512 \pm 0,00364$ мкг/г. Така різниця була достовірною $p \leq 0,001$. А в групах комбінованого впливу кадмію з сукцинатами рівень кадмію достовірно ($p \leq 0,05$) знижувався в порівнянні до групи ізольованого впливу кадмієм, не зважаючи на подальше надходження кадмію в організм тварин. Так, в групі комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатом заліза показник визначався на рівні $0,2129 \pm 0,0335$ мкг/г, а в групі комбінації з сукцинатом цинку на даному терміні був ще нижчий ($0,1408 \pm 0,0153$ мкг/г) і наближався до контрольних значень (рис.3.2). Таким чином, вже на 20-ту добу експерименту ми визначали тенденцію до зниження рівня накопичення кадмію в стегновій кістці щурів експерименту при комбінованому хронічному внутрішньошлунковому введенні хлориду кадмію з сукцинатами цинку та заліза в зазначених дозах.

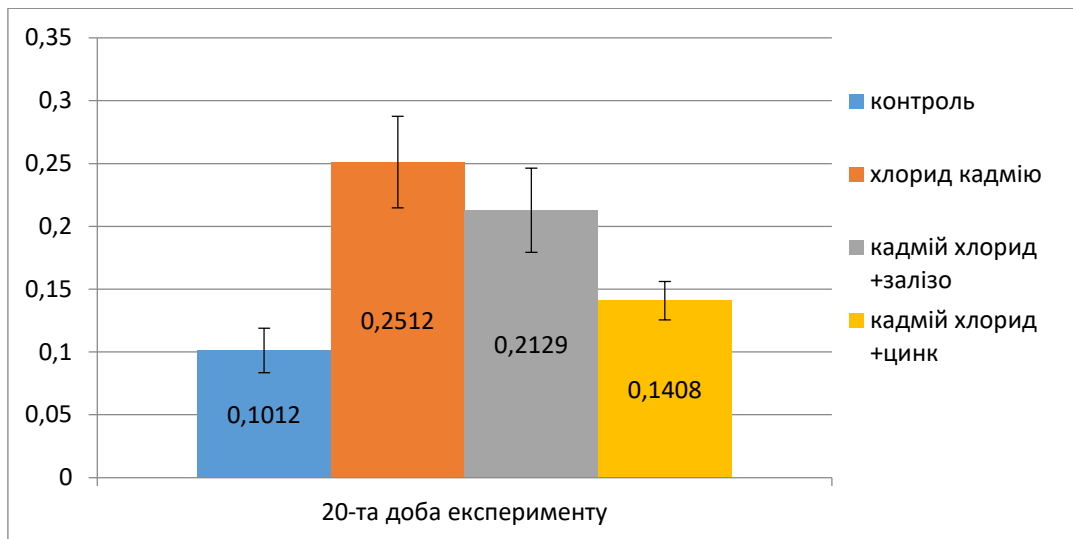


Рис.3.2. Накопичення кадмію (мкг/г) в стегновій кістці щурів в піддослідних групах на 20-ту добу експерименту.

Визначена нами тенденція підтримувалась і показниками накопичення кадмію наприкінці експерименту, тобто на 30-ту добу. Найвищий рівень накопичення кадмію стегновою кісткою експериментальних тварин відбувався в групі ізольованого введення хлориду кадмію, що було логічним і очікуваним. В групах комбінованого введення рівень кадмію був нижчим. А саме: в групі комбінації кадмію з сукцинатом заліза рівень кадмію становив $0,3254 \pm 0,0737$ мкг/г, хоча не мав достовірної різниці з показником групи ізольованого впливу хлоридом кадмію ($0,3837 \pm 0,0606$ мкг/г). А в групі комбінованого впливу сукцинату цинку з хлоридом кадмію показник накопичення кадмію становив $0,2195 \pm 0,0169$ мкг/г, що було достовірно нижчим ($p \leq 0,05$) за такий показник при ізольованому впливі (рис.3.3).

Таким чином, аналіз отриманих даних виявив зміни в накопиченні стегновою кісткою кадмію у експериментальних тварин при хронічному довготривалому експерименті на щурах. Порівняння показників доводять, що сукцинат цинку та сукцинат заліза знижують рівень накопичення кадмію при їх комбінованому надходженні в організм в зазначених дозах і способі введення, що дозволяє розглядати сукцинати як потенційні біоантагоністи кадмію. При цьому більшими антагоністичними властивостями володіє сукцинат цинку.

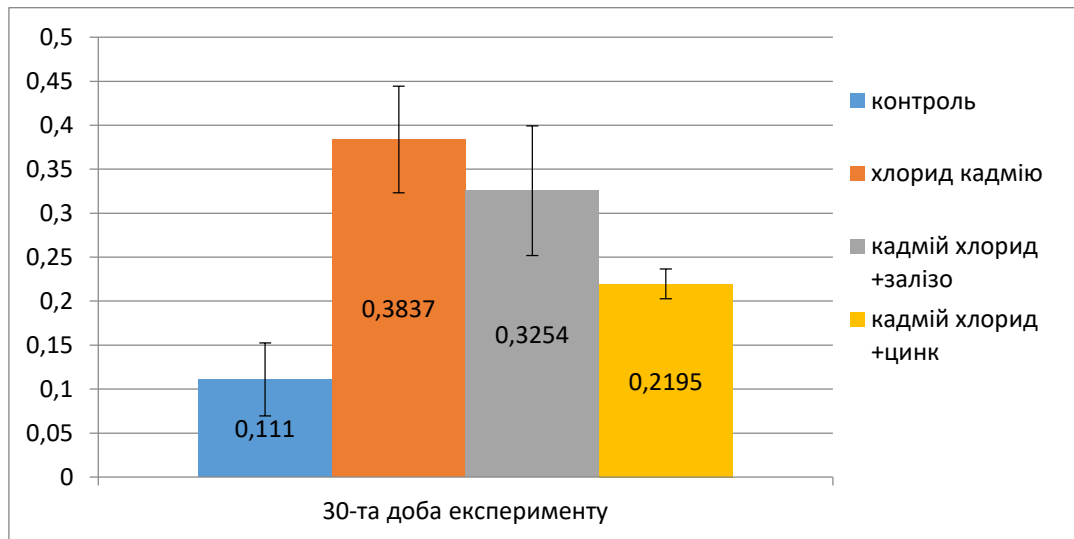


Рис.3.3. Накопичення кадмію (мкг/г) в стегновій кістці щурів в піддослідних групах на 30-ту добу експерименту.

Вважається, що основним механізмом цитотоксичної дії кадмію є його вплив на внутрішньоклітинні процеси, що опосередковані кальцієм. Стає ясною причина того «внутрішньоклітинного метаболічного хаосу» з морфологічними змінами в клітинах та тканинах. Накопичуючись в організмі, кадмій замінює кальцій, що призводить до деградації кісткової та хрящової тканини, що супроводжується сильними болями. Тому логічним було відстеження динаміки зміни рівня кальцію в кісткових тканинах дослідних тварин. У зв'язку з високим рівнем утримання кальцію в зразках кісткової тканини (стегнової кістки та нижньої щелепи) вимірювання проводилось у мг/г.

Як показали отримані результати, вже на 14-ту добу впливу досліджуваними чинниками відбувалось зниження рівня кальцію у зразках стегнової кістки (рис.3.4). Контрольні кількісні показники кальцію на цьому терміні становили $242,3 \pm 10,4$ мг/г і були найвищими. В групі ізольованого введення кадмію результат був найнижчим і становив $231,9 \pm 12,2$ мг/г. В групах комбінованого введення рівень кальцію був недостовірно вищий за групу ізольованого ведення, але нижчий за контроль (рис.3.4).

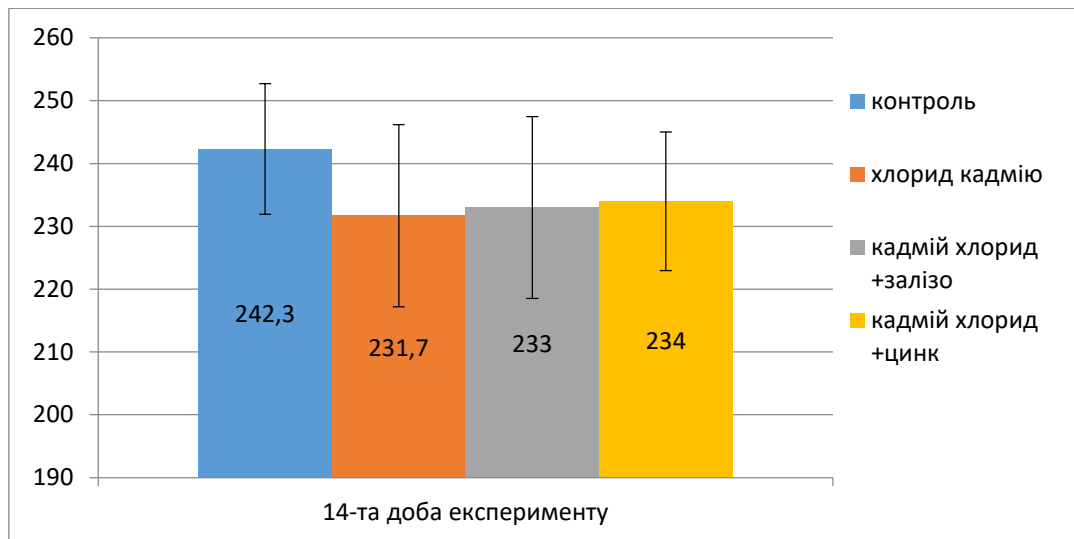


Рис.3.4. Накопичення кальцію (мг/г) в стегновій кістці щурів в піддослідних групах на 14-ту добу експерименту.

Досліджуючи динаміку змін мікроелементного балансу на 20-ту добу експерименту, ми отримали наступні показники. В контрольній групі на цьому терміні неочікувано виявилось підвищення рівня кальцію до $296,7 \pm 12,01$ мг/г, а в групі ізольованого впливу кадмієм продовжувалась як і на 14-ту добу тенденція до зниження рівня кальцію до $222,1 \pm 12,3$ мг/г. В той же час в групах комбінованого введення показники по кількості кальцію були нижчі за контрольну групу, але недостовірно вищі за групу ізольованого введення хлориду кадмію (рис.3.5).

Таким чином, хронічне введення кадмію в організм дослідним тваринам на 20-тій добі експерименту довело зниження рівня кальцію в кістковій тканині стегнової кістки щурів. Комбіноване введення сукцинатів цинку або заліза з кадмієм має слабо виражену тенденцію утримання рівня кальцію в кістковій тканині (рис.3.5).

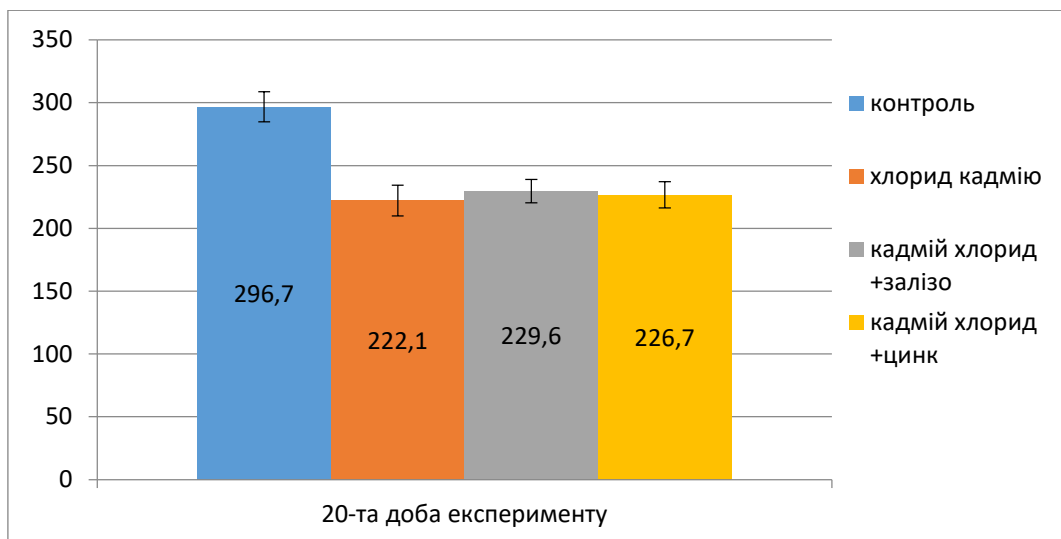


Рис.3.5. Накопичення кальцію (мг/г) в стегновій кістці щурів в піддослідних групах на 20-ту добу експерименту.

Наприкінці експерименту, тобто на 30-ту добу введення досліджуємих розчинів речовин, нами отримані наступні дані з рівня кальцію в стегновій кістці. В групі ізольованого введення хлориду кадмію рівень кальцію достовірно знижувався ($p \leq 0,05$), тобто вплив кадмієм знижував рівень кальцію на всіх трьох термінах дослідження. В групах комбінованого впливу кадмію з сукцинатами заліза або цинку рівень кадмію в стегновій кістці був вищий за групу ізольованого введення кадмію. В групі комбінації кадмію з залізом рівень кальцію наближався до контрольних значень і становив $232,4 \pm 11,03$ мг/г (рис. 3.6).

Таким чином, як показав поліелементний аналіз з накопичення кальцію стегноюю кісткою в експерименті на щурах, можна зробити висновок, що ізольоване введення хлориду кадмію призводить до зниження рівня кальцію впродовж всього періоду введення. А комбіноване введення кадмію з сукцинатами цинку або заліза гальмує процес втрати кісткою кальцію, тобто сукцинати виступають в ролі біоантагоніста кадмію. Найвищим рівнем біоантагонізму кадмію в дослідженнях мікроелементного стану стегнової кістки є сукцинат заліза, який в умовах хронічного впливу на 30-ту добу експерименту підтримував рівень кальцію, незважаючи на продовження введення кадмію.

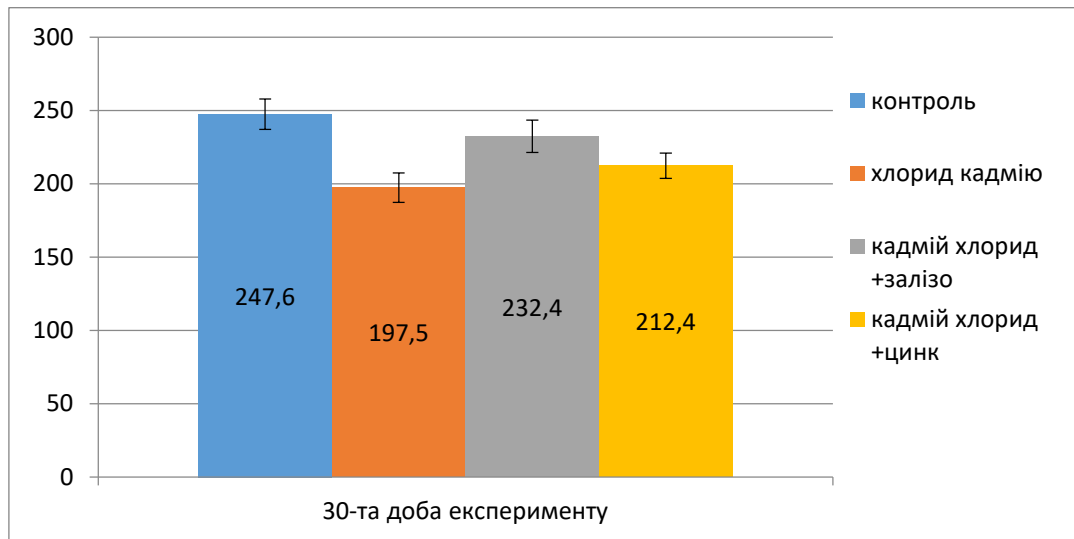


Рис.3.6. Накопичення кальцію (мг/г) в стегновій кістці щурів в піддослідних групах на 30-ту добу експерименту.

Наступний елемент, який підлягав аналізу в кістковій тканині був цинк. Цинк – найважливіший мікроелемент в людському організмі, найбільш висока його концентрація міститься в м'язах (60%) і в кістках (30%). 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. Цинк необхідний для підтримання цілісності клітин, збереження інтегральної структури та функції їхніх мембран і відіграє захисну роль за умов впливу на організм різноманітних патогенних чинників. Зниження рівня цього мікроелементу та його дефіцит здатний запустити патологічні процеси і призвести до важких вад розвитку. Для визначення можливих зсувів мікроелементного статусу кісткової тканини (виникнення можливих диселементозів), нами визначались та порівнювались результати з накопичення цинку (мкг/г) у всіх експериментальних групах.

Як показали результати поліелементного аналізу при порівнянні всіх груп на 14-ту добу експерименту, ізольований вплив хлоридом кадмію достовірно знижує ($p \leq 0,05$) рівень цинку в стегновій кістці щурів до $183,5 \pm 11,4$ мкг/г у порівнянні до контрольних значень - $218,6 \pm 12,4$ мкг/г

(рис.3.7). В групах комбінованого введення рівень цинку був вищим у порівнянні до групи ізолюваного введення. Найвищим був рівень в групі комбінації кадмію з сукцинатом цинку, але ці дані не є показовими, вони лише демонструють той факт, що сукцинати добре всмоктуються травною системою і включаються в мікроелементний баланс організму. Рівень цинку в цій групі, який перевищував навіть контрольні показники є логічним і зрозумілим, бо тварини щоденно його отримували (рис.3.7).

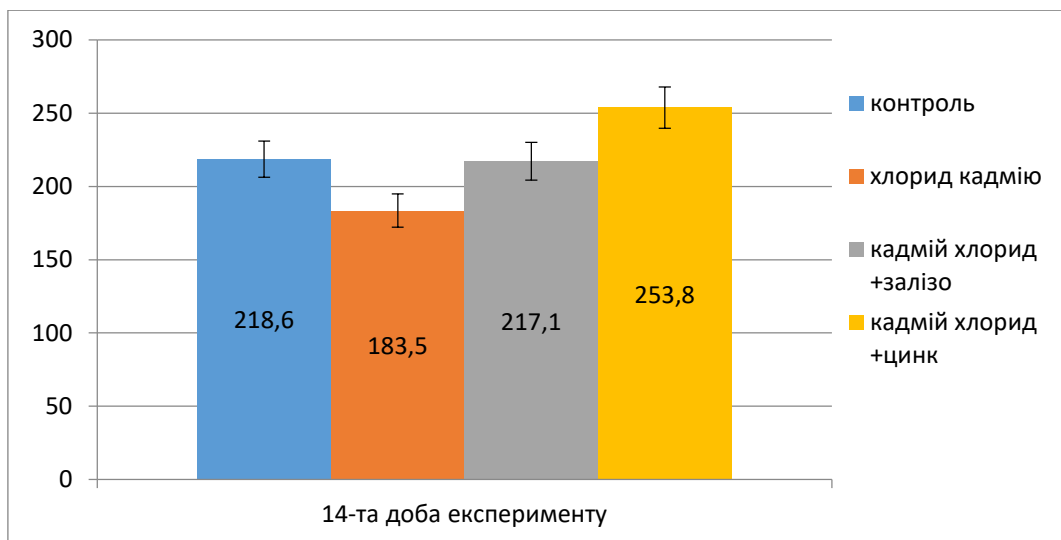


Рис.3.7. Накопичення цинку (мкг/г) в стегновій кістці щурів в піддослідних групах на 14-ту добу експерименту.

А підвищення рівня цинку в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза дали неочікувані результати. А саме, на 14 день експериментального введення досліджуваних речовин в даній групі рівень цинку залишався у межах контрольних значень, що свідчить про біоантагоністичні властивості заліза щодо хлориду кадмію в довготривалому експерименті на щурах.

На 20-ту добу експерименту ми спостерігали продовження тенденції до зниження рівня цинку в стегновій кістці тварин групи ізолюваного введення хлориду кадмію (рис.3.8).

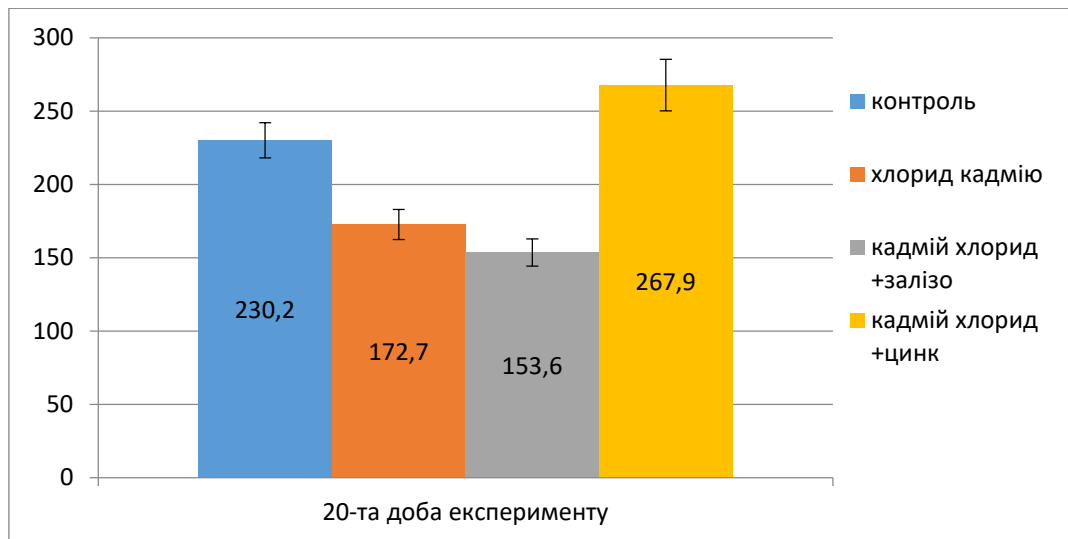


Рис.3.8. Накопичення цинку (мкг/г) в стегновій кістці щурів в піддослідних групах на 20-ту добу експерименту.

Але і в групі комбінованого введення з сукцинатом заліза рівень цинку також почав знижуватись до $153,6 \pm 9,35$ мкг/г і навіть був нижчий за показники групи ізольованого впливу кадмієм ($173,7 \pm 10,3$ мкг/г), що свідчить про виснаження резервних біоантагоністичних можливостей заліза при довготривалому введенні в зазначених дозах та способі введення в експерименті на щурах. Високий рівень цинку в другій групі комбінованого введення нами не враховувався в порівняння, а демонстрував високу всмоктуваність в травній системі цинку та його збільшення рівня в стегновій кістці навіть по відношенню до контролю.

Наприкінці експерименту, тобто на 30-ту добу, отримані дані продемонстрували наступне (рис.3.8).

Ізольоване введення кадмію в дозі 2,0 мг/кг дослідним тваринам впродовж 30 діб призводить до стабільного зниження рівня цинку в стегновій кістці впродовж всього періоду введення. На 30-ту добу введення рівень цинку становив $169,7 \pm 11,08$ мкг/г, що на 48% було нижче контрольних показників цього терміну.

В групі комбінованого впливу кадмію з сукцинатом заліза рівень цинку в стегновій кістці не мав достовірної різниці з групою ізольованого введення кадмію, тобто був набагато нижчий за контрольні показники. В групі

комбінації кадмію з цинком рівень цинку був вищим за контроль, що було очікуваним (рис.3.8).

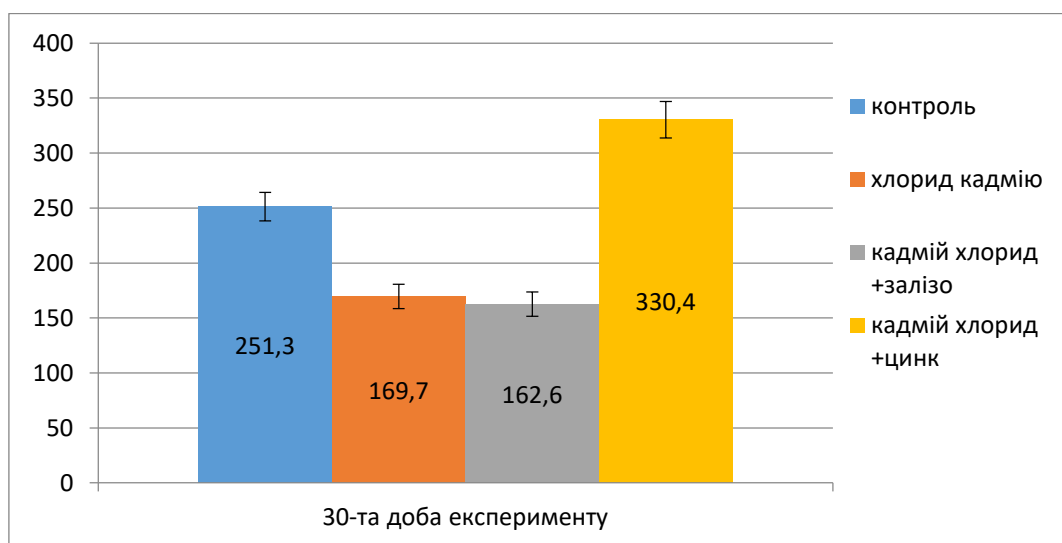


Рис.3.9. Накопичення цинку (мкг/г) в стегновій кістці щурів в піддослідних групах на 30-ту добу експерименту.

Таким чином, як показав аналіз та порівняння результатів у групі впливу хлоридом кадмію та групах комбінованого впливу визначається диселементоз не лише по рівня накопичення кадмію у зразках стегнової кістки, але і зміни рівня цинку та кальцію.

3.2. Зміни макро- та мікроелементного складу нижньої щелепи в хронічному експерименті на щурах

Досліджуючи і порівнюючи рівень кадмію в кістках нижньої щелепи і стегнової кістки, слід зазначити, що уже в контрольній групі ці зразки мали суттєву різницю в показниках. На початку експерименту рівень кадмію в нижній щелепі був у 3,7 разів вищий за такий в стегновій кістці. Ми вважаємо, що така різниця пояснюється різною формою, будовою і функціональним навантаженням кісток.

Результати поліелементного аналізу довели, що рівень кадмію в нижній щелепі контрольної групи дослідних тварин мав тенденцію до збільшення впродовж експерименту, тобто 30-ти діб. На 14-ту добу в контрольній групі

накопичення кадмію нижньою щелепою дослідних тварин становило $0,3362 \pm 0,0434$ мкг/г, на 20-ту добу показник зростав до $0,4117 \pm 0,0933$ мкг/г, а наприкінці експерименту був максимальним $0,4830 \pm 0,0208$ мкг/г. В експериментальних групах розподіл отриманих результатів на 14-ту добу виглядав наступним чином (рис. 3.10).

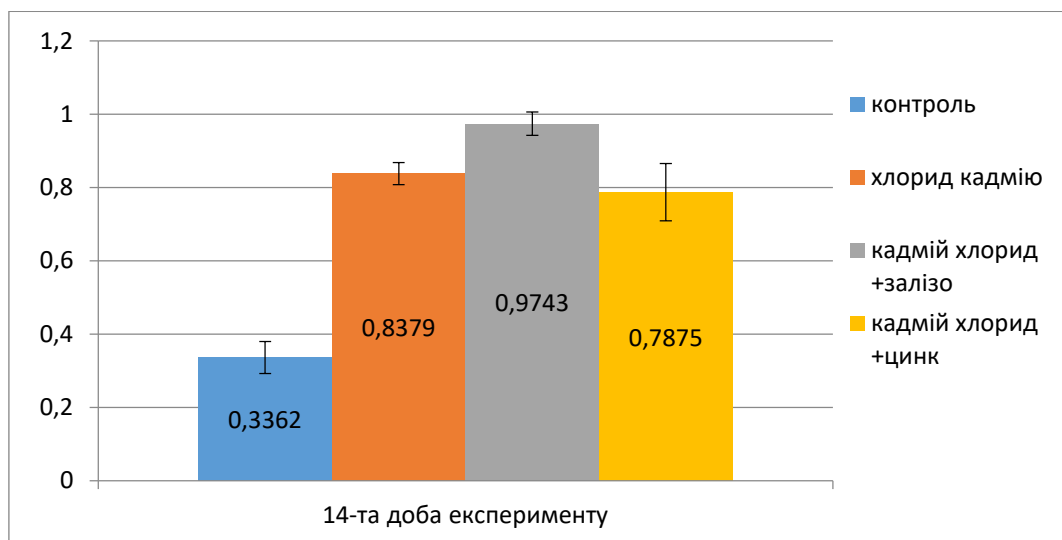


Рис. 3.10. Накопичення кадмію (мкг/г) в нижній щелепі щурів в піддослідних групах на 14-ту добу експерименту.

У групі ізольованого впливу хлоридом кадмію вже на 14-ту добу введення рівень накопичення кадмію збільшувався у 2,5 разів у порівнянні до контролю. Досить неочікуваним було збільшення рівня кадмію в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза, де в зразках нижньої щелепи накопичення кадмію перевищувало не лише контрольні показники, але і групу ізольованого введення кадмію (рис.3.10). Комбіноване введення кадмію з сукцинатом цинку недостовірно знижувало абсорбцію кадмію кістковою тканиною на цьому терміні дослідження.

Аналіз результатів поліелементного метода на 20-ту добу продемонстрував підвищення рівня накопичення кадмію у групі ізольованого введення та в групі комбінації кадмію з сукцинатом заліза, як і на 14-тій добі експерименту (рис.3.11). рівень кадмію в кістковій тканині нижньої щелепи в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза був недостовірно нижчим за групу ізольованого введення кадмію.

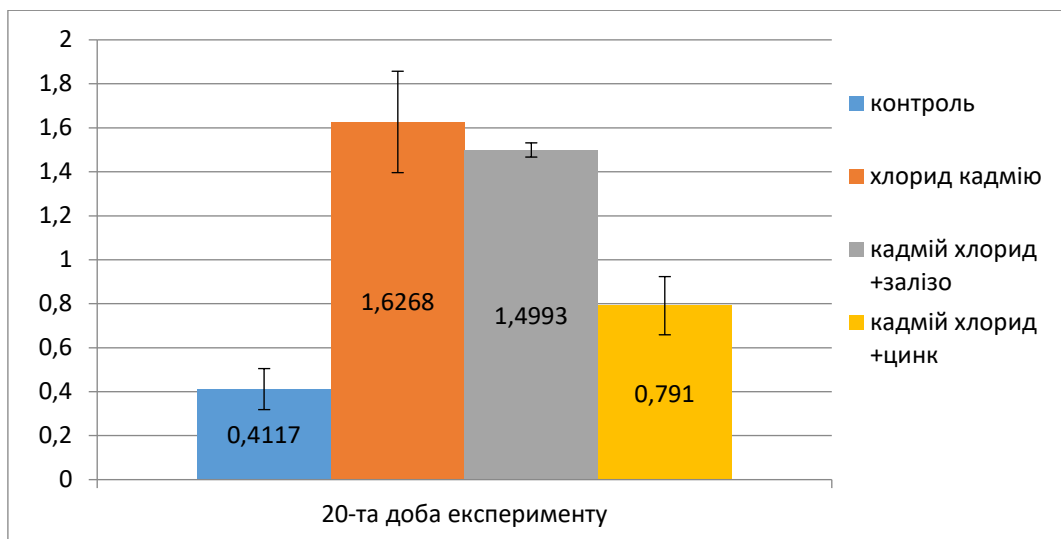


Рис.3.11. Накопичення кадмію (мкг/г) в нижній щелепі щурів в піддослідних групах на 20-ту добу експерименту.

А комбіноване введення цинку з кадмієм достовірно ($p \leq 0,001$) знижувало рівень накопичення кадмію у порівнянні як до групи ізольованого введення так і до групи комбінованого впливу кадмію з сукцинатом заліза. Таким чином, визначилась тенденція до зниження рівня накопичення кадмію тканиною нижньої щелепи при комбінованому впливі з цинком.

Порівняння даних з рівня накопичення кадмію нижньою щелепою на 30-ту добу експерименту у всіх групах також довело зниження рівня показнику лише при використанні комбінації з цинком (рис. 3.12). На цей термін дослідження рівень накопичення кадмію у порівнянні до контролю зростав у 9,7 разів (достовірність різниці $p=0,001$), а в групах комбінованого введення достовірно знижувався. Найнижчий рівень кадмію визначався при комбінованому впливі з сукцинатом цинку.

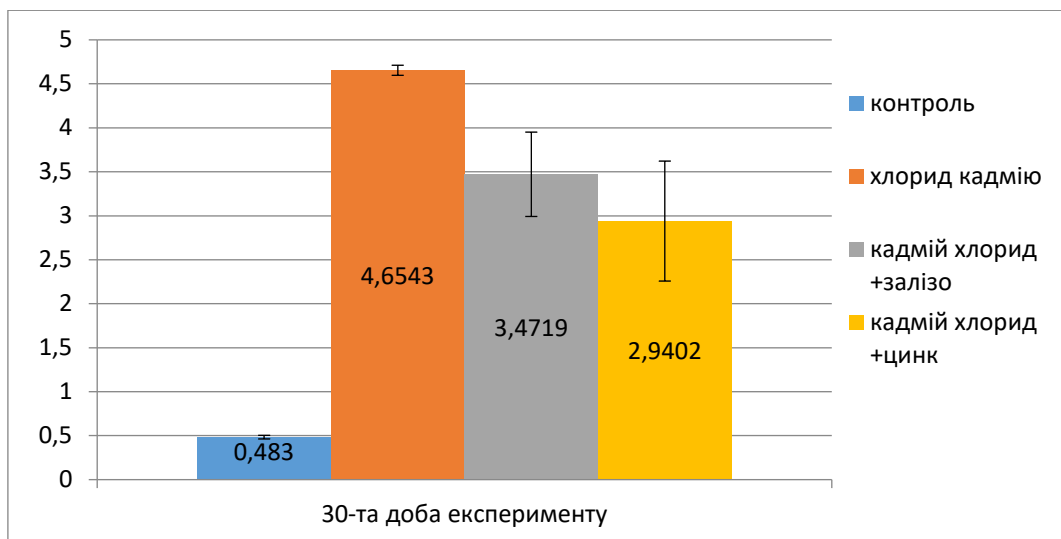


Рис.3.12. Накопичення кадмію (мкг/г) в нижній щелепі щурів в піддослідних групах на 30-ту добу експерименту.

Таким чином, аналіз отриманих результатів з накопичення кадмію нижньою щелепою продемонстрував, що сукцинат цинку знижує рівень кадмію в кістковій тканині при комбінованому внутрішньошлунковому введенні в хронічному експерименті на щурах.

Аналізуючи зміни кальцієвого балансу нижньої щелепи щурів на 14-ту добу експерименту, ми не визначили достовірної різниці у всіх зразках, що досліджувались (рис. 3.13). Таким чином, на початку експериментального введення досліджуваних речовин значимих зсувів по утриманню кальцієвого балансу кісткової тканини нижньої щелепи не виникало.

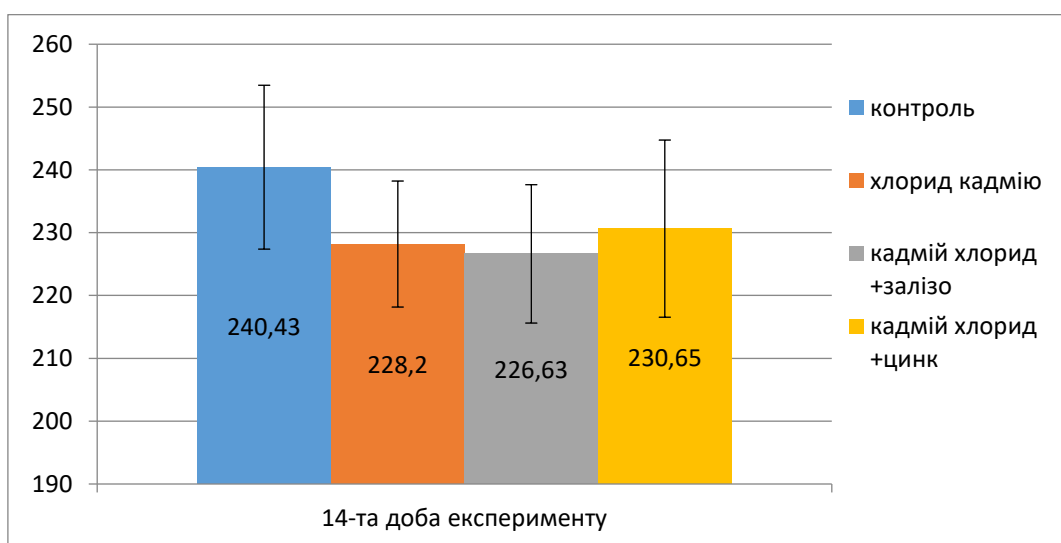


Рис. 3.13. Накопичення кальцію (мг/г) в нижній щелепі щурів в піддослідних групах на 14-ту добу експерименту.

Аналіз та порівняння даних поліелементного аналізу на 20-ту добу дали наступні результати (рис.3.14). Як і на попередньому терміні дослідження, рівень кальцію недостовірно знижувався у всіх групах. Аналогічно на 30-ту добу дослідження також не визначалось достовірної різниці впливу досліджуємих чинників на рівень кальцію нижньої щелепи. В контролі рівень кальцію становив $234,76 \pm 10,02$ мг/г, в групі ізольованого впливу - $238,65 \pm 13,57$ мг/г, при комбінованому введенні кадмію з сукцинатом заліза - $210,24 \pm 15,15$ мг/г, а в комбінації з сукцинатом цинку - $215,70 \pm 14,62$ мг/г. Можна визначити тенденцію до зниження рівня кальцію в кістковій тканині нижньої щелепи при ізольованому впливі хлоридом кадмію на всіх досліджуємих термінах, але достовірної різниці ми не отримали. В групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку визначається тенденція до відновлення рівня кальцію ближче до контрольних показників, але також без достовірної різниці. Введення кадмію з сукцинатом заліза не сприяло відновленню рівня кальцію в тканинах нижньої щелепи і показники цієї групи на всіх трьох термінах наближались до показників групи ізольованого впливу кадмієм.

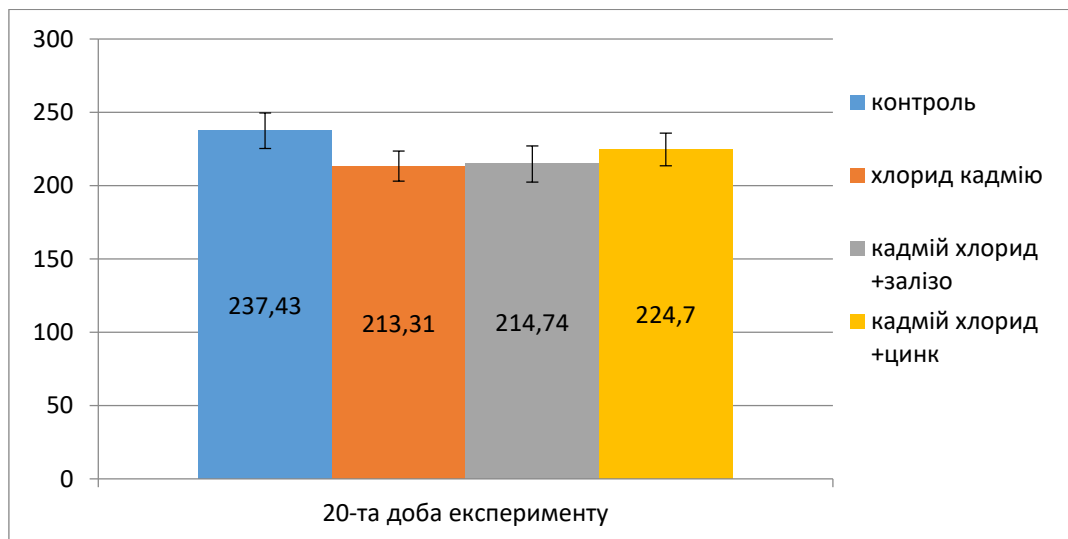


Рис. 3.14. Накопичення кальцію (мг/г) в нижній щелепі щурів в піддослідних групах на 20-ту добу експерименту.

Таким чином, на відміну від показників по кальцію стегнової кістки, на баланс кальцію нижньої щелепи досліджувані речовини впливу не мали.

Порівняння в групах результатів поліелементного аналізу щодо накопичення цинку структурами нижньої щелепи щурів при хронічному впливі хлоридом кадмію в дозі 2,0 мг/кг при ізольованому та комбінованому з сукцинатами заліза або цинку введенні показали наступне (рис. 3.15).

На 14-тій добі введення рівень цинку ($303,9 \pm 15,4$ мкг/г) при ізольованому введенні кадмію достовірно зростав ($p \leq 0,05$) в порівнянні до контролю ($280,9 \pm 14,4$ мкг/г). Такі показники відрізняються від аналогічних у результатах впливу на рівень цинку стегнової кістки, де визначалось відразу з 14-тої доби експерименту зниження рівня цинку. Рівень цинку в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза на цьому терміні не мав достовірної різниці з контролем. В групі комбінованого впливу кадмію з цинком прогнозовано збільшувався рівень цього мікроелемента (рис.3.15). Рівень цинку в даній групі експерименту перевищував дані не лише контрольної групи, але і групи ізольованого впливу хлоридом кадмію. Динаміка рівня накопичення нижньою щелепою цинку в групі ізольованого впливу кадмієм в подальшому кардинально змінювався.

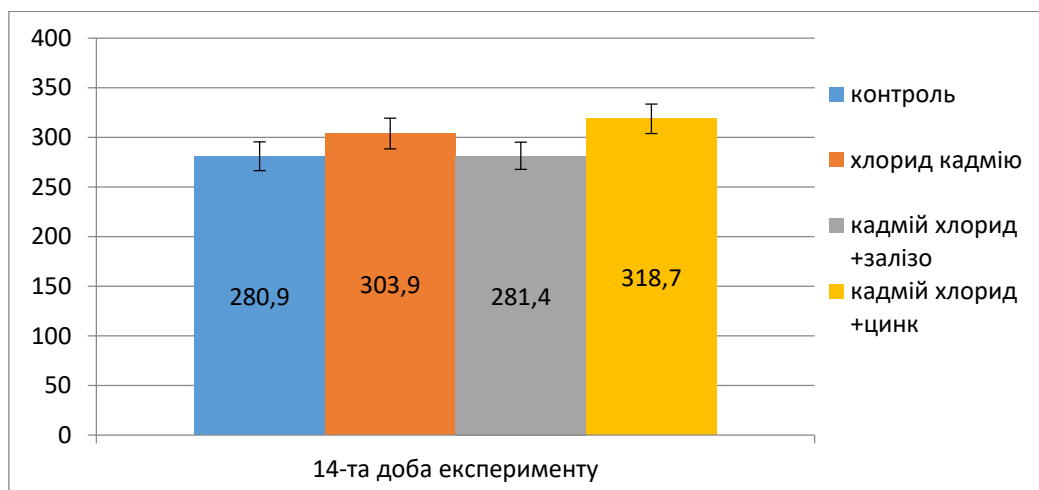


Рис.3.15. Накопичення цинку (мкг/г) в нижній щелепі щурів в піддослідних групах на 14-ту добу експерименту.

На 20-тій добі експерименту показники накопичення цинку кістковою тканиною нижньої щелепи змінювали свій напрямок. Слід зауважити, що на цьому терміні дослідження визначалось в контрольній групі зниження рівня

цинку (рис.3.16). В групі ізольованого введення кадмію рівень цинку почав достовірно знижати у порівнянні до 14-тої доби. Показник знижувався нижче контрольних показників 20-тої доби, але без достовірної різниці і становив $(240,5 \pm 11,4 \text{ мкг/г})$.

А в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза рівень цинку тримався на рівні недостовірного перевищення контрольних показників $(273,2 \pm 11,3 \text{ мкг/г})$. Можна зробити висновок, що введення сукцината заліза в комбінації з хлоридом кадмію стабільно підтримує рівень цинку в кістковій тканині нижньої щелепи щура при хронічному експерименті в зазначених дозах. Рівень цинку в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку був очікувано високим і перевищував контрольні показники. По даному мікроелементу результати в цій групі нами не співставлялись (рис.3.16).

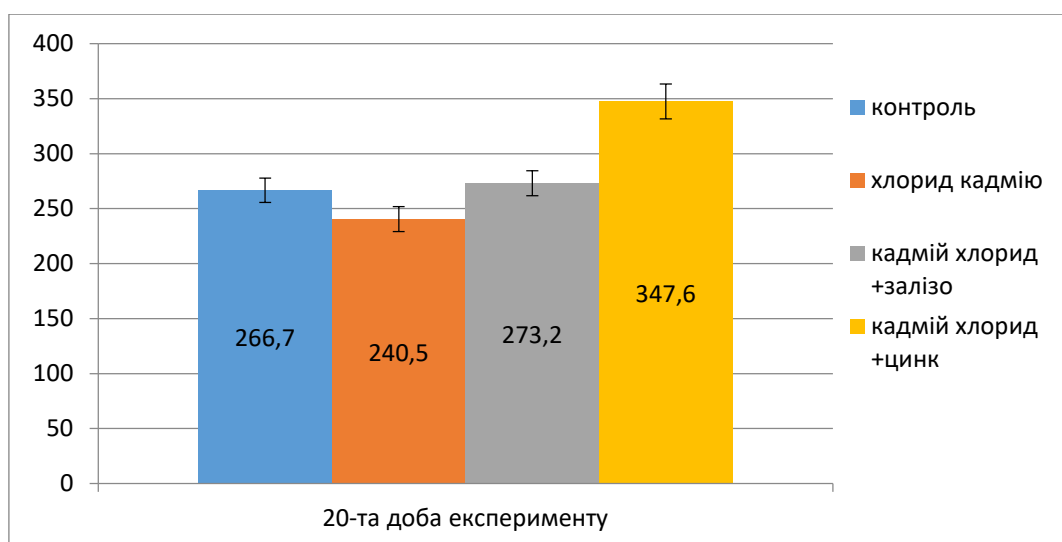


Рис.3.16. Накопичення цинку (мкг/г) в нижній щелепі щурів в піддослідних групах на 20-ту добу експерименту.

Наприкінці експериментального дослідження, тобто на 30-ту добу, дані поліелементного аналізу показали наступне. В контрольній групі рівень цинку складав $273,2 \pm 13,05 \text{ мкг/г}$, тобто показник не мав достовірної різниці з даними 20-тої доби, а в групі ізольованого впливу кадмієм кількість цинку була достовірно нижчою $(240,5 \pm 11,4 \text{ мкг/г})$ як за контрольні показники так і

за показник на 20-ту добу експерименту. Тобто хронічне внутрішньошлункове ізольоване введення хлориду кадмію призводить до зниження рівня цинку в кістковій тканині нижньої щелепи щурів впродовж всього періоду введення.

В групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза на цьому терміні рівень цинку почав знижуватись, незважаючи на його більш високий рівень у порівнянні до групи інтоксикації кадмієм на 20-ту добу (рис.3.17). Кількість цинку визначалась на рівні $226,7 \pm 13,03$ мкг/г, що було достовірно нижче ($p \leq 0,045$) за такий показник 20-тої доби. Порівняння та наліз отриманих результатів з накопичення цинку нижньою щелепою експериментальних тварин демонструє, що впродовж перших 20-ти діб сукцинат заліза підтримує рівень цинку в ній, але на 30-ту добу даний показник не мав достовірної різниці з показником групи ізольованого введення кадмію (рис.3.17). В групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку рівень очікувано був найвищим.

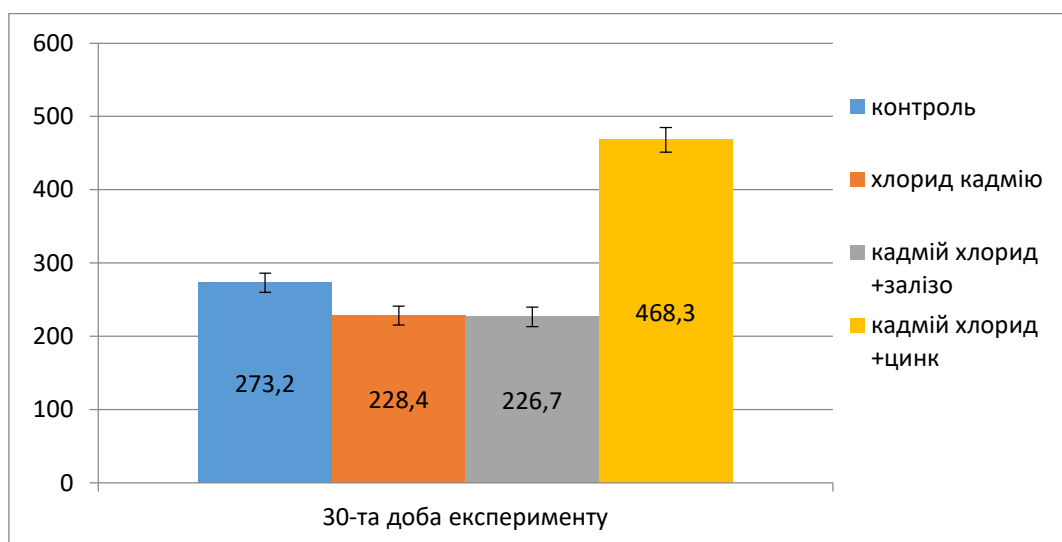


Рис.3.17. Накопичення цинку (мкг/г) в нижній щелепі щурів в піддослідних групах на 30-ту добу експерименту.

Таким чином, як показало порівняння на 20-ту та 30 добу дослідження, хронічне введення хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг призводить до зниження рівня цинку в кістковій тканині нижньої щелепи в порівнянні до контрольних

показників. Можна зробити висновок, що присутність кадмію призводить до нестачі цинку в організмі дослідних тварин.

Висновки за розділом.

Аналіз та порівняння результатів у зразках стегнової кістки груп впливу хлоридом кадмію та групах комбінованого впливу визначив наявність диселементозу не лише по кількості кадмію, але і зміни рівня накопичення кісткою цинку та кальцію.

При ізольованому хронічному веденні розчину хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг в зразках стегнової кістки відбувається збільшення рівня накопичення кадмію з $0,2065 \pm 0,0227$ мкг/г (14 доба введення) до $0,3837 \pm 0,0606$ мкг/г до кінця експерименту (30 доба). Дані результати мають високий рівень достовірної різниці ($p \leq 0,001$) з показниками контрольної групи. В групах комбінованого впливу кадмію з сукцинатами цинку або заліза рівень кадмію в кістці достовірно зменшується ($p \leq 0,05$), що дає можливість розглядати сукцинати як потенційні біоантагоністи щодо накопичення кадмію. Сукцинат цинку має більш виражений ступінь антагоністу кадмію на всіх трьох термінах дослідження.

Аналіз накопичення стегнової кісткою кальцію продемонстрував, що ізольований хронічний вплив розчину хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг в зразках стегнової кістки викликає достовірно ($p \leq 0,05$) зниження рівня кальцію, особливо на 30-ту добу експерименту $197,5 \pm 10,06$ мг/г (контроль становив $247,6 \pm 10,04$ мг/г). В групах комбінованого введення визначався процес відновлення кальцію близько до контрольних значень лише на 30-ту добу, тобто наприкінці експерименту в групі введення кадмію з сукцинатом заліза ($232,4 \pm 11,03$ мг/г). Таким чином, сукцинат заліза виявився антагоністом кадмію при довготривалому введенні в зазначених дозах та способу введенні в експерименті на щурах.

Обрахування та порівняння показників накопичення цинку в зразках стегнової кістки виявив, що ізольоване ведення розчину хлориду кадмію в

дозі 2,0 мг/кг достовірно ($p \leq 0,001$) знижує рівень цинку на всіх трьох термінах експерименту. В групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза на 14-тій добі рівень цинку утримувався в межах контрольних значень, , а на 20-ту та 30-ту добу достовірно знижувався ($p \leq 0,05$). Показники групи комбінованого впливу кадмію з цинком демонстрували високий рівень по цинку, що пояснюється введенням та високим рівнем всмоктування та засвоєння цього елемента.

Хронічне внутрішньошлункове введення хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг призводить до зниження рівня цинку в кістковій тканині нижньої щелепи в порівнянні до контрольних показників як на 20-ту, так і на 30-ту добу дослідження.

Сукцинат цинку знижує рівень кадмію в кістковій тканині нижньої щелепи при комбінованому внутрішньошлунковому введенні в хронічному експерименті на щурах.

Впродовж 30-ти діб експериментального дослідження не визначалось достовірної різниці впливу досліджуваних чинників на рівень кальцію нижньої щелепи.

Результати дослідження оприлюднено у публікаціях[205, 206, 207]:

Нефьодова О. О., Шевченко О.С. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в нижній щелепі щурів за умов корекції сукцинатами цинка та заліза. Вісник проблем біології і медицини. 2023;4 (171):341-350.

Нефьодова О.О., Шевченко О.С. Вивчення особливостей накопичення кадмію в стегновій кістці щурів при ізольованому введенні та за умов корекції сукцинатами металів. Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2023;15(33):1205-1218.

Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в стегновій кістці щурів із корекцією сукцинатами металів. Abstracts of XIV International Scientific and Practical Conference. Prague, Czech Republic. Pp. 174-177.

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ НА МОРФОЛОГІЧНІ СТРУКТУРИ СТЕГНОВОЇ КІСТКИ ТА НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ ЩУРІВ

Кадмій, як важкий метал, входить до складу багатьох промислових відходів і може впливати на навколишнє середовище та живі організми. Однією з ключових систем, яка піддається впливу кадмію, є скелетний апарат людини та тварин, зокрема щурів. З метою розкриття особливостей впливу хронічного введення хлориду кадмію на стан кісток щура, відповідно до мети та завдань дослідження ми проводили порівняння впливу ізольованого введення хлориду кадмію на морфофункціональний стан кісток різного типу (стегнова кістка, нижня щелепа) в хронічному експерименті на щурах.

Кістки відносяться до опорних тканин організму. Опорні тканини мають загальні принципи організації, властиві тканинам мезенхімного походження, вони розвиваються із склеротомної мезенхіми та ектомезенхіми та побудовані з клітин та позаклітинного матриксу, який складається з основної речовини та волокон. Переважна функція цих тканин є опорна, що визначає особливості їхньої будови. Такими особливостями є, по-перше, суттєва перевага позаклітинного матриксу над клітинами, по-друге, особливий склад та будова позаклітинного матриксу, який має більш щільну, ніж у волокнистих сполучних тканинах, консистенцію, а в кістковій тканині мінералізований та має тверду консистенцію. Скелетні тканини поділяються на дві групи: кісткові та хрящові. Хрящові тканини виконують опорно-механічну функцію, вони входять до складу стінки деяких порожнистих органів (повітряні шляхи), забезпечуючи її жорсткість; беруть участь у

формуванні з'єднання кісток, у тому числі рухливих (суглобовий гіаліновий хрящ).

Кісткова тканина виконує багато функцій в організмі: опорно-механічна функція; гомеостатична функція через регулювання мінерального гомеостазу (кісткова тканина є депо мінеральних речовин), може регулювати рівень мікроелементів в крові; регуляторна функція (участь у регуляції кровотворення); захисна функція (по відношенню до головного та спинного мозку, внутрішніх органів). Вплив негативних чинників на організм, в тому числі важких металів, призводить до порушення базових функцій кісток і змінює їх морфологічну структуру та мікро- і макроелементний баланс.

Залежно від будови міжклітинної речовини розрізняють грубоволокнисту (первинну, ретикулофіброзну), пластинчасту (вторинну) та дентинну кісткові тканини. Грубоволокниста (первинна) кісткова тканина містить колагенові волокна у вигляді пучків, орієнтованих хаотично в різних напрямках. Пластинчаста (вторинна) кісткова тканина – колагенові волокна розташовані впорядковано, паралельно один одному, утворюють кісткові пластинки. Кістки скелету складаються з губчастої кісткової тканини та компактної кісткової тканини. В різних кістках скелету компактна (близько 80% маси скелету) і губчаста (близько 20% маси скелету) речовина представлені неоднаково. Для визначення можливих морфологічних змін під хронічним впливом хлориду кадмію, нами досліджувалися кістки різного типу: довга трубчаста стегнова кістка та плоска кістка нижня щелепа.

4.1. Вплив хлориду кадмію на морфогенез стегнової кістки щура в експерименті.

Для виконання поставленої мети та забезпечення коректного порівняльного аналізу отриманих результатів впливу хлориду кадмію під час експериментальних досліджень ми провели вивчення особливостей морфогенезу стегнової кістки в контрольній групі молодих самців щурів статевозрілого віку в порівнянні до групи ізольованого впливу хлоридом

кадмію. Оперативний забій тварин для отримання зразків відбувався на 14-тій, 20-тій та 30-тій добі експерименту. Після наркозу вилучались кістки, зважувались, вимірювались для протоколу і підлягали фіксації для подальшого гістологічного дослідження. Аналізуючи вагові показники, нами визначались відносні маси самої кістки до маси тварини, що є більш інформативним матеріалом для порівняння між групами. Для уникнення помилок при порівнянні отриманих масометричних даних між групами, нами розраховувався Індекс маси кістки (ІМК) (табл.4.1).

Таблиця 4.1.

Динаміка зміни індексу маси стегнової кістки щурів на трьох термінах експериментального дослідження при впливі хлоридом кадмію та в контролі

Експериментальна група	Доба експерименту		
	14 доба	20 доба	30 доба
Контрольна група	0,27±0,03	0,35±0,02*	0,36±0,02*
Група впливу хлоридом кадмію	0,26±0,03	0,31±0,03	0,33±0,01*

Примітка: * - достовірність різниці $p \leq 0,05$ по відношенню до показника в даній групі на 14-ту добу.

Аналіз та порівняння розрахованих індексів маси стегнової кістки продемонстрував зменшення вагових показників кістки при хронічному впливі хлоридом кадмію, починаючи з 14-тої доби експерименту. Результати макроанатомічного дослідження стегнової кістки показали, що маса стегнової кістки тварин контрольної групи упродовж спостереження збільшувалася з $0,77 \pm 0,05$ г (14-та доба) до $1,10 \pm 0,06$ г (30 доба). В групі ізольованого введення хлориду кадмію маса стегнової кістки тварин змінювалась від $0,61 \pm 0,04$ г (14-та доба) до $0,93 \pm 0,07$ г (30 доба). Отримані морфометричні показники індексу маси стегнової кістки корелюють з даними, які ми отримали при дослідженні мікроелементного статусу стегнової кістки методом поліелементного аналізу (див. розділ 3). При ізольованому впливі кадмієм знижується рівень кальцію в кістках, тобто кадмій провокує декальцінацію кістки, що підтвердили вагові показники

стегнової кістки та динаміка індексу маси кістки в порівнянні до контрольних показників на всіх досліджуваних термінах.

Остеометричні вимірювання та порівняння ширини діяфізу, проксимального і дистального епіфізів та довжини стегнової кістки тварин контрольної групи та групи ізольованого впливу кадмієм показали наступне (рис.4.1).

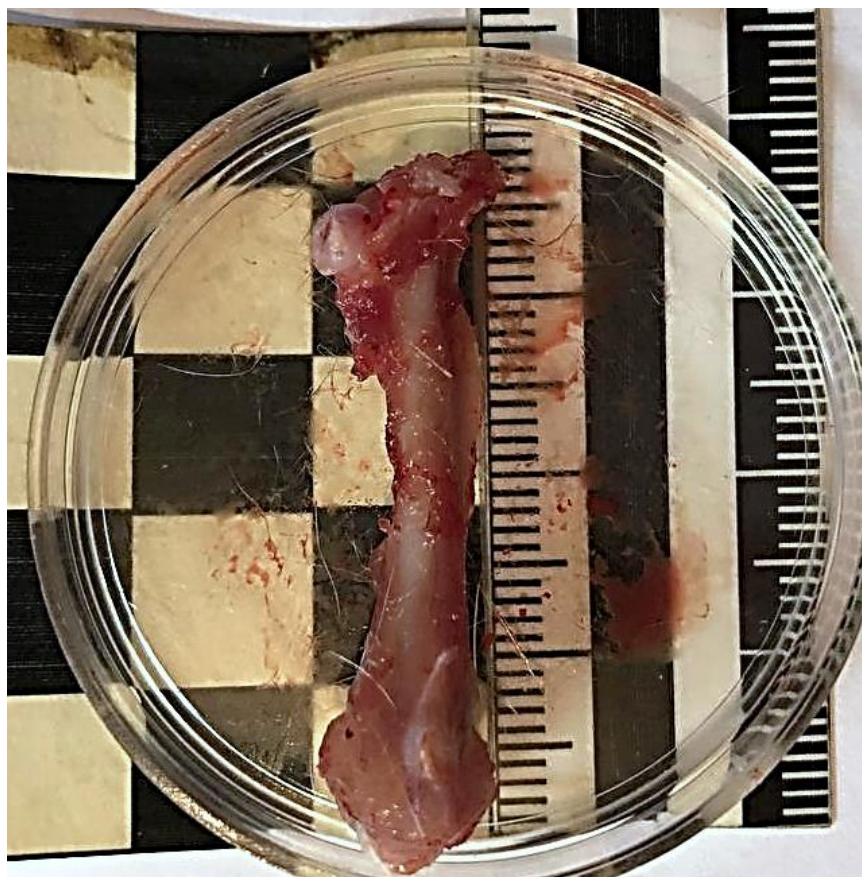


Рис. 4.1. Стегнова кістка щура контрольної групи під час оперативного вилучення. Фото зроблено на лінійці та калібрувальній поверхні для співставлення розмірів. Довжина стінки квадрату – 10мм.

Середній показник ширини діяфізу стегнової кістки становив в контролі $0,47 \pm 0,03$ см (14-та доба) та $0,48 \pm 0,05$ см. (30 доба), тобто достовірної різниці в межах експерименту не мав. При ізольованому впливі хлоридом кадмію достовірної різниці по даному показнику між контрольними та експериментальними тваринами також не виявлено ($0,46 \pm 0,02$ см (14-та доба) та $0,47 \pm 0,05$ см. (30 доба)). Не показали динамічних змін і порівняння довжини стегнової кістки: в контрольній групі

показник становив $3,49 \pm 0,37$ см (14-та доба) та $3,58 \pm 0,59$ см (30 доба), а при впливі кадмієм $3,64 \pm 0,16$ см (14-та доба) та $3,58 \pm 0,18$ см (30 доба). Отримані дані не мали достовірної різниці на всіх термінах дослідження.

Аналіз розмірів проксимального та дистального епіфізів стегнової кістки в обох групах на всіх термінах дослідження продемонстрували наступне (табл. 4.2).

Таблиця 4.2.

Динаміка зміни розмірів проксимального епіфізу стегнової кістки щурів на трьох термінах експериментального дослідження при впливі хлоридом кадмію та в контролі (см)

Експериментальна група	Доба експерименту		
	14 доба	20 доба	30 доба
Контрольна група	$0,82 \pm 0,06$	$0,85 \pm 0,04$	$0,90 \pm 0,03$
Група впливу хлоридом кадмію	$0,86 \pm 0,04$	$0,91 \pm 0,05$	$1,03 \pm 0,04^*$

Примітка: * - достовірність різниці $p \leq 0,05$ по відношенню до показника в даній групі на 14-ту добу.

Таким чином, при порівнянні отриманих даних визначається тенденція до збільшення ширини проксимального епіфізу при хронічному впливі на організм щура на 30-ту добу, тобто наприкінці експерименту. На дистальному епіфізі стегнової кістки такої тенденції не виявлялось і достовірної різниці з контролем не визначалось. Таким чином, реакція відповіді кістки на довгостроковий хронічний вплив хлориду кадмію виражалася в більшому ступені на проксимальному епіфізі, який мав достовірну різницю з контрольним показником, а саме збільшувався у розмірі наприкінці експерименту (30-та доба).

Гістологічне дослідження зразків стегнової кістки включало аналіз кісткової тканини діафізу та кісткової і хрящової тканини головки стегнової кістки. Кісткова і хрящова тканини відносяться до скелетної сполучної тканини. Кістка як орган постійно ремодельюється в процесі життя за допомогою остеобластів і остеокластів і може реагувати на вплив різних

негативних чинників. Остеобласти можуть стимулювати збільшувати кісткову масу за рахунок посилення секреції остеоїду та пригнічення здатності остеокластів розщеплювати кісткову тканину.

Кістка складається з клітинних елементів, міжклітинного матриксу, мінеральних компонентів, що тісно пов'язані одне з одним. Відомі два види кісткової тканини - грубоволокниста (незріла) і пластинчаста (зріла). Грубоволокниста (ретикулофіброзна кісткова тканина) знаходиться в зонах росту, у місцях прикріплення сухожилок до кісток, у зубних альвеолах, кістковому лабіринті внутрішнього вуха, в ділянках заростання черепних швів. Вона також утворюється при запальних, неопластичних процесах, метаболічних порушеннях у процесі лікування, що стимулює кісткоутворення. Основною структурно-функціональною одиницею пластинчастої кісткової тканини є остеон, що складається з шару остеобластів, остеоцитів, системи пов'язаних між собою кісткових пластинок, що оточують центральний канал, в якому розташовуються кровоносні та лімфатичні судини, нерви.

Остеон - циліндрична структура кісткової тканини, що формується навколо гаверсового каналу — мікроскопічного каналу, який містить судини й нерви і оточений циліндричними кістковими пластинками, вкладеними одна в одну. Між пластинками розкидані лакуни, в яких розташовані остеоцити. Вони сполучаються один з одним тонкими відростками, що проходять крізь спеціальні канали. Між остеонами трапляються кісткові пластинки, що не належать до жодного з них, так звані вставні пластини. Існують і пластинки, що вистилають зовнішню та внутрішню поверхню кістки. Остеон є динамічною структурою: у разі підвищення навантаження зростає кількість пластинок, зменшується просвіт каналу, у разі зниження навантаження спостерігається зворотний процес.

Клітинні елементи кістки представлені остеобластами, остеоцитами, остеокластами. Остеобласти - це молоді, функціонально активні клітини кісткової тканини. У зрілій кістці місцями їх локалізації є окістя. У процесі

розвитку кісткової тканини вони розташовуються на поверхні кісткових балок, що утворюються, їх попередниками є остеогенні клітини. Остеогенні клітини біпотентні: при високому парціальному тиску кисню в тканинах вони перетворюються на остеобласти, при низькому - на хондробласти. Дифферон остеобластів є основним у кістковій тканині та включає клітини наступних стадій розвитку: остеогенні клітини (периваскулярні клітини) перетворюються на преостеобласти, далі на остеобласти, потім на остеоцити.

Функціями остеобластів є біосинтез органічних компонентів міжклітинної речовини (остеоїду), тобто мінералізація кістки.

Остеоцити - клітини які є основними, чисельно переважаючими клітинами кісткової тканини. Вони утворюються з остеобластів, які, оточуючи себе синтезованою і мінералізованою міжклітинною речовиною, поступово втрачають функціональну активність. За класифікацією розрізняють три види остеоцитів: остеоцити поверхневих зон кістки, остеоцити глибших зон кістки значною мірою (але не повністю) втрачають синтетичну активність та третій тип остеоцитів – клітини, розташовані у найбільш глибоких зонах кістки. Це старіючі остеоцити першого і другого типу, що часто піддаються деструкції (дегенеративні остеоцити). Певною мірою вони можуть залучатися до біологічних процесів, що відбуваються в кістковій тканині. При цьому, як вважають, вони можуть у невеликому обсязі виконувати остеоліз (руйнування), або творення кістки.

Остеоцити всіх різновидів лежать у лакунах оточені вузькою зоною необвапненої міжклітинної речовини (остеоїду) і своїми відростками контактують один з одним. Функціями остеоцитів є: участь у підтримці мінерального гомеостазу завдяки остеоцитарному остеолізу, що здійснюється ними; забезпечення нормальної трофіки кістки; участь у фізіологічній регенерації кісткової тканини.

Остеокласти кісткової тканини утворюються з моноцитів крові вони є макрофагами кісткової тканини і здатні руйнувати міжклітинну речовину та загиблі клітини кістки. У зв'язку з вивільненням при цьому великої кількості

мінеральних речовин, що надходять із кісткової тканини в кров, остеокласти беруть участь у регуляції мінерального гомеостазу.

При гістологічному дослідженні будови компакної речовини кісткової тканини діяфізу стегнової кістки упродовж зазначених термінів спостереження виявлено, що кісткова тканина має цілком сформовану будову та виражену компактність. Вона представлена достатньо мінералізованими структурами з вторинними остеонами, значною кількістю остеоцитів з гіперхромними ядрами та численними відростками серед проміжної речовини кісткової матриці. Нами досліджувалась кісткова тканина діяфізу та головки стегнової кістки щура на всіх трьох термінах експерименту (рис.4.2).

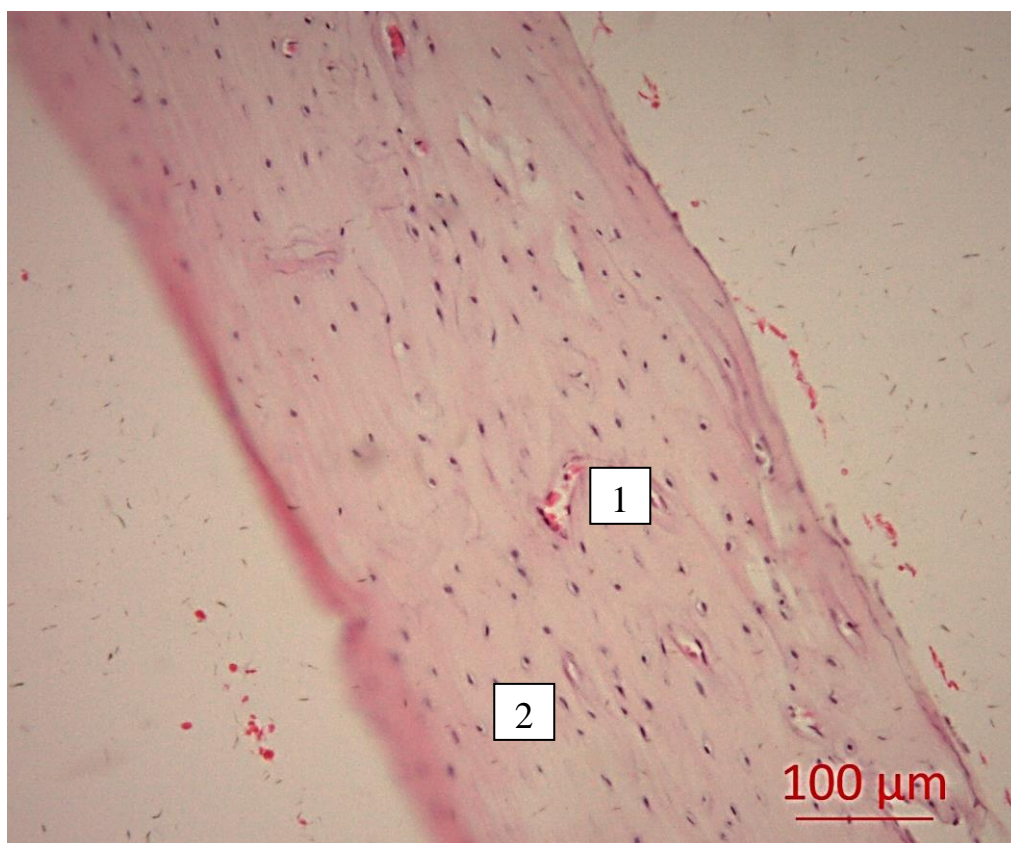


Рис. 4.2. Кісткова тканина діяфізу стегнової кістки щура групи контролю на 14-тій добі експерименту: 1 – судини кістки, 2 – остеоцити в лакунах. Зabarвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

На великих збільшеннях на гістологічних препаратах визначались з чіткими гіперохромними ядрами остеоцити, розташовані в кісткових лакунах (рис.4.3).

Гістологічне дослідження будови кісткової тканини діяфізу стегнової кістки через 14 діб після початку введення хлориду кадмію показало значне пригнічення інтенсивності кісткоутворювальних процесів у компактній речовині кістки та прояви ознак початку дистрофічних та остеопоротичних перетворень (рис.4.4.). Нами визначались гіпомінералізовані ділянки кістки, що свідчить про початок процесу декальцінації тканини, а також зустрічався набряк в остеоцитах.

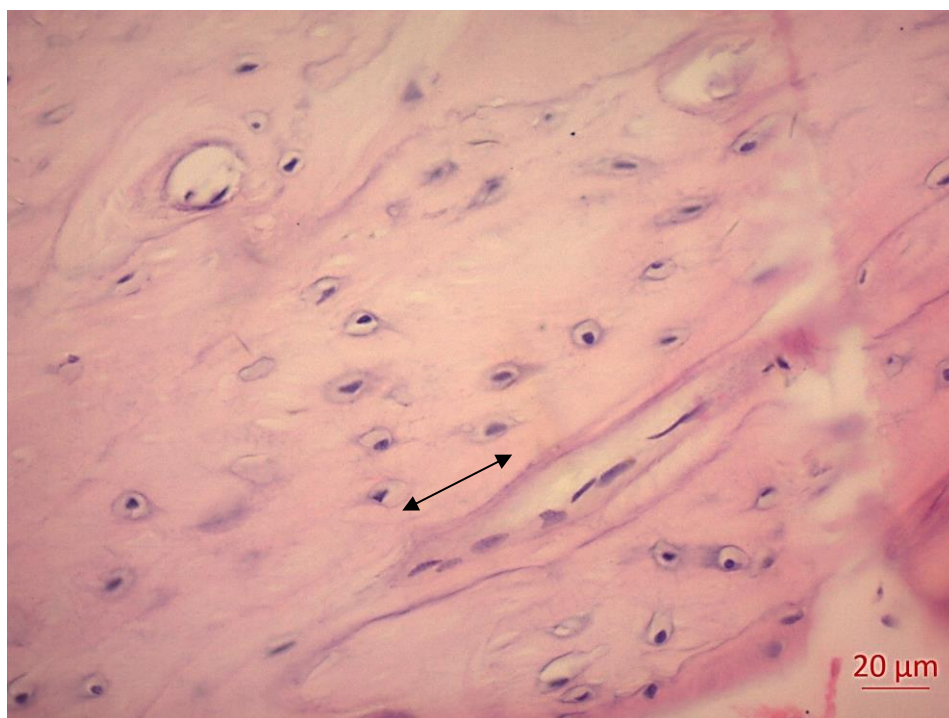


Рис. 4.3. Кісткова тканина діяфізу стегнової кістки щура групи контролю на 14-тій добі експерименту: остеоцити в лакунах (вказано стрілками). Зabarвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 40.

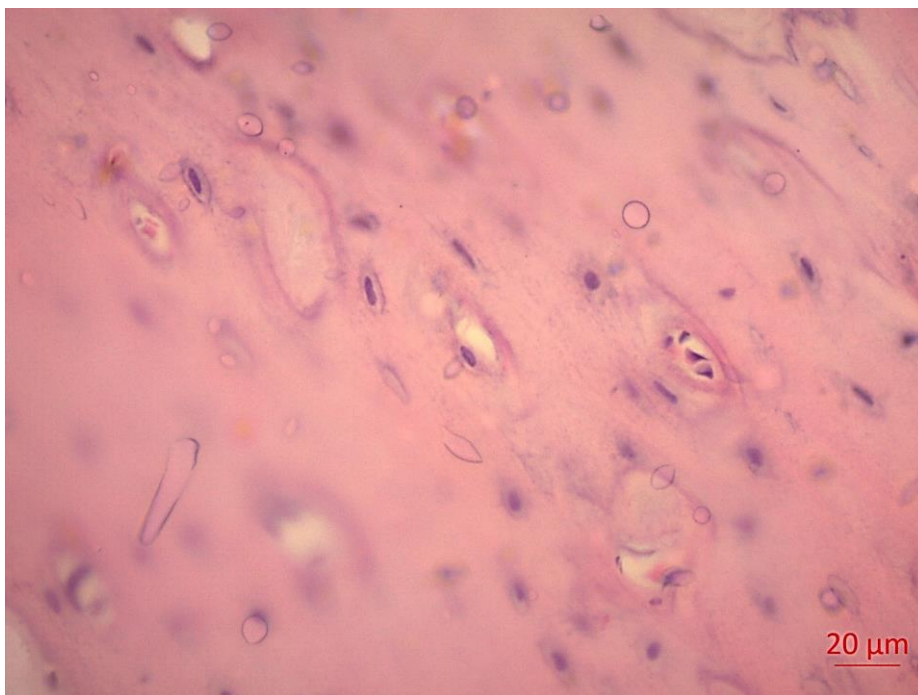


Рис. 4.4. Кісткова тканина діяфізу стегнової кістки щура групи впливу хлоридом кадмію на 14-тій добі експерименту: гіпомінералізована ділянка компактної речовини та набряк остеоцитів). Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 40.

На цьому етапі дослідження (14-та доба) товщина окістя при впливі кадмієм мала тенденцію до зниження і становила $16,790 \pm 1,346$ мкм, але не мала достовірної різниці з контролем – $18,845 \pm 1,526$ мкм. На наступних термінах дослідження показники товщини окістя в контролі не мали між собою достовірної різниці і становили на 20-ту добу $17,697 \pm 1,086$ мкм та на 30-ту добу $19,085 \pm 1,786$ мкм. В групі впливу кадмієм досліджуваний параметр продовжував знижуватись до $14,445 \pm 3,38$ мкм на 30-ту добу експерименту, тобто знижувався в 1,3 рази (достовірність різниці $p \leq 0,05$).

На наступних термінах дослідження в групах впливу хлоридом кадмію процес гіпомінералізації кісткової тканини мав більш виражений характер, з'являлись на 20-тій добі експерименту локації резорбцій кісткової тканини та визначались вогнищеві пікнотичні зміни в остеоцитах, що свідчить про те, що будова та компактність кісткової тканини порушується з продовженням впливу негативного чинника (рис.4.5).

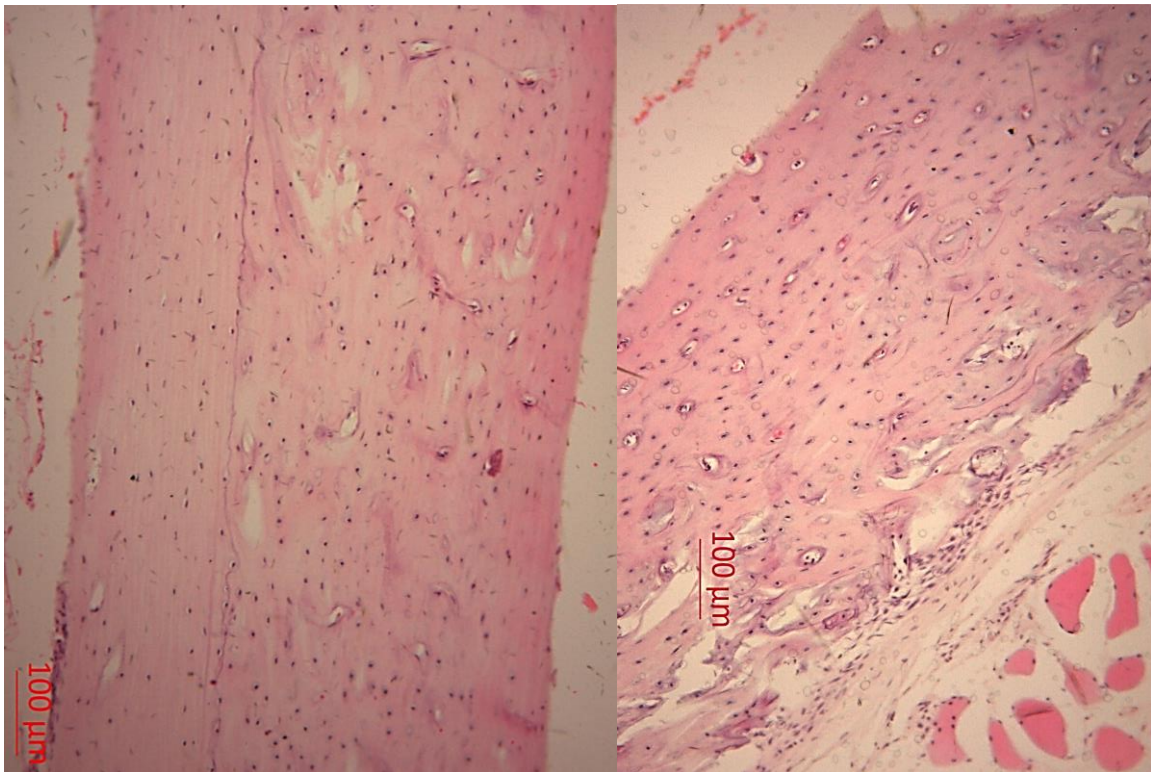


Рис. 4.5. Кісткова тканина діяфізу стегнової кістки щура групи впливу хлоридом кадмію на 20-тій та 30-тій добі експерименту: гіпомінералізована ділянка компактної речовини, порожнини з резорбцією та нерівномірною мінералізацією). Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 40.

На 30-ту добу експерименту нами виявлялись комбінативні порушення гістологічної будови кісткової тканини у 32,3% у вигляді численних порожнин резорбції, значних полях безклітинної компакти та нерівномірної мінералізації основної речовини діяфізу стегнової кістки (рис.4.5).

Безумовно виявлені порушення гістологічної будови стегнової кістки мали вплив на морфометричні показники, які ми досліджували. Нами виявлена тенденція до зниження показника товщини стінки діяфізу стегнової кістки (рис.4.6). Використання програми ZEN 2.0 для вимірювання лінійних розмірів та сплайнового контуру і площі, що є програмним забезпеченням для світлових мікроскопів серії Primo Star компанії ZEISS, дозволило з високою точністю проводити обчислення розмірів структур кістки (рис.4.6). Як показало обчислення середніх значень отриманих даних на 14-ту добу товщина стінки діяфізу стегнової кістки с контролю становить $349,631 \pm 12,502$ мкм, а в групі впливу кадмієм недостоєрно зменшується до

341,348±14,4802мкм. Проте на 20-ту добу експерименту визначена тенденція розвивалась. В контролі показник товщини становив 367,721±14,303мкм, а в групі впливу кадмієм – 320,799±13,711мкм, що вже мало достовірність різниці $p \leq 0,05$.

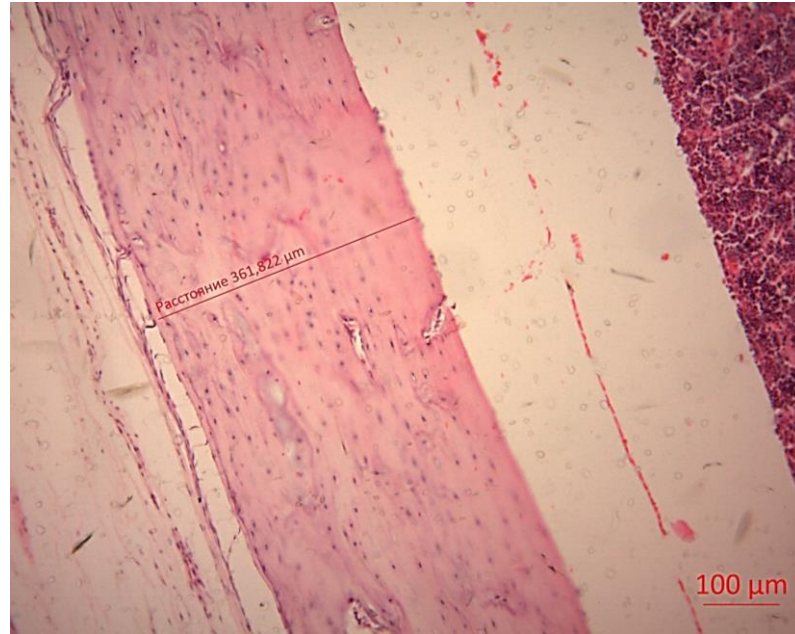


Рис. 4.6. Подовжній зріз стінки стегнової кістки щура контрольної на 20-тій добі експерименту з зафіксованим розміром. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Наприкінці експерименту, тобто на 30-тій добі впливу в групі інтоксикації кадмієм визначалось витончення стінки стегнової кістки до 311,412±12,894мкм, а в контрольній групі показник становив 371,411±11,437мкм. Ця різниця також була достовірною, $p \leq 0,001$. Таким чином, хронічний вплив кадмію, призводить до зменшення товщини діяфізу стегнової кістки в експерименті на щурах.

Також на 20-ту та 30 добу експерименту ми зустрічали високий рівень кровонаповнення судин кісткової тканини в зрізах діяфізу стегнової кістки (рис.4.7). Кадмієва інтоксикація провокую гіпоксичний стан в організмі і реакція на гіпоксію визначалась навіть в кістковій тканині.

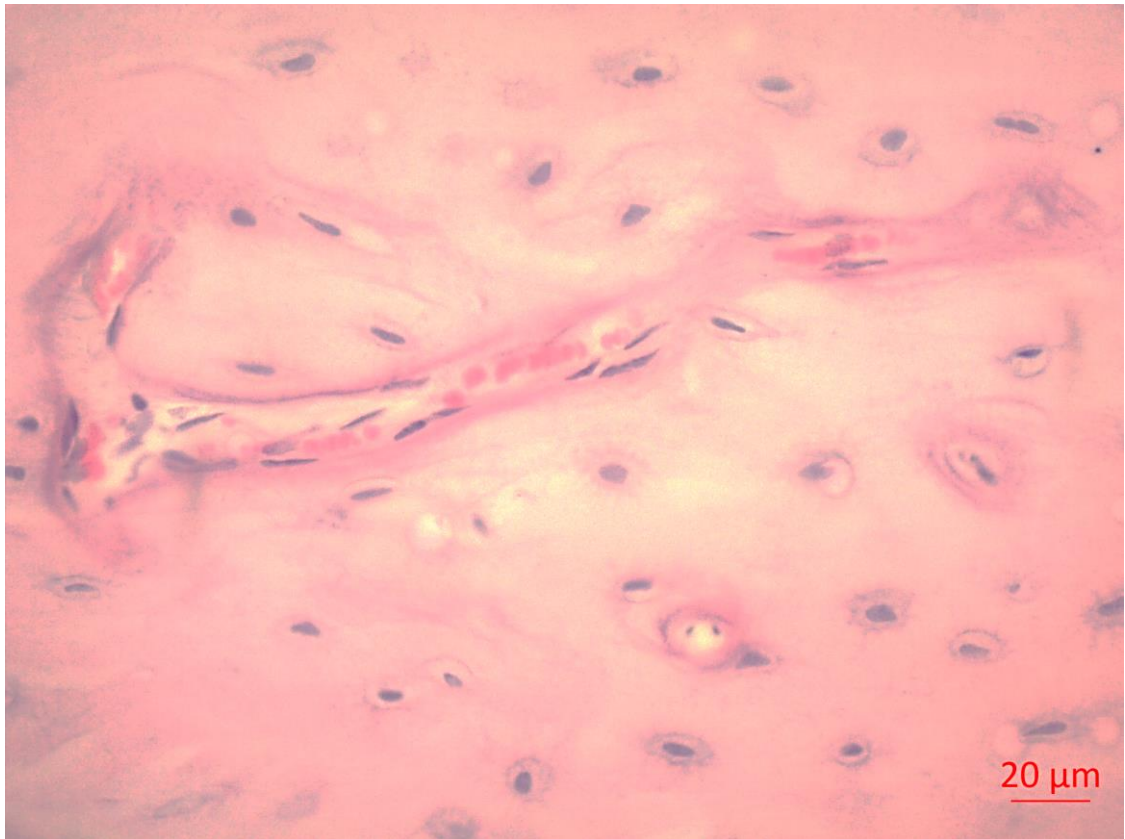


Рис. 4.7. Кісткова тканина діяфізу стегнової кістки щура групи впливу хлоридом кадмію на 30-тій добі експерименту: високий рівень кровонаповнення кісткових судин. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 40.

Вважаємо, що саме гіпоксичний стан організму, до якого призводить вплив кадмію, провокував набряк остеоцитів, а втрата кальцію виявлялась у вигляді гіпомінералізованих ділянок самої кістки, що може провокувати в подальшому остеопороз. На рисунку 4.8 представлено подовжній зріз стегнової кістки щура 30-тої доби впливу хлоридом кадмію, де добре визначаються набряк остеоцитів нерівномірність щільності самої тканини кістки через процес декальцінації (рис.4.8а).

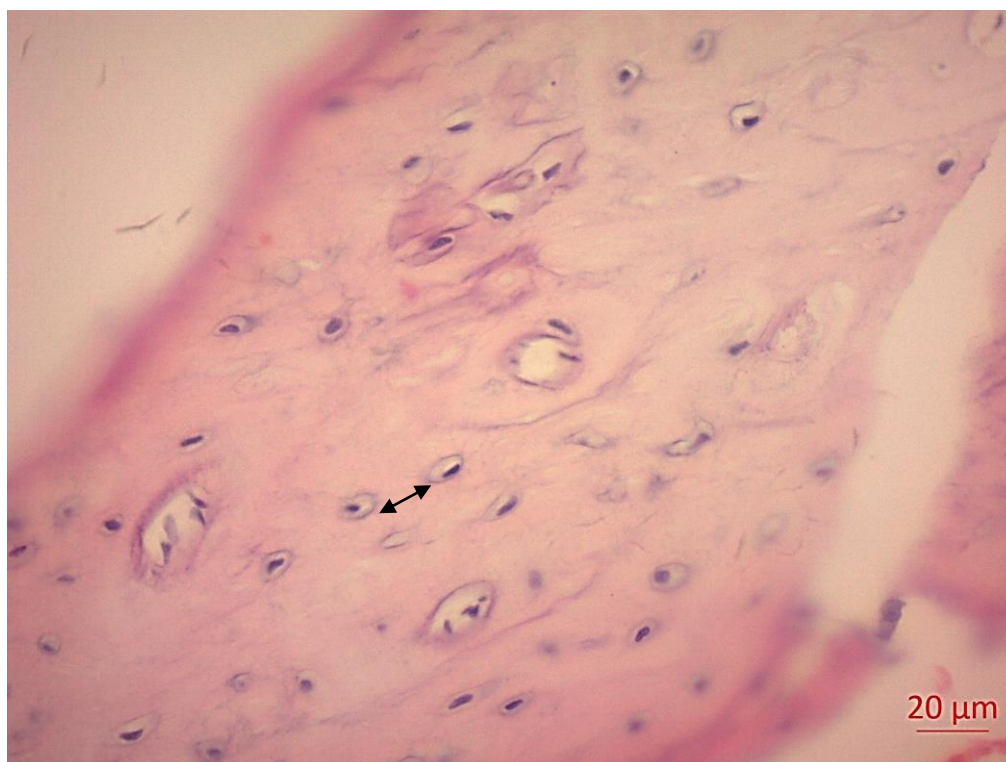


Рис. 4.8а. Кісткова тканина діяфізу стегнової кістки щура групи впливу хлоридом кадмію на 30-тій добі експерименту: набряки остеокитів вказані стрілкою. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 40.

Таким чином, аналіз отриманих результатів у цій групі експериментальних досліджень показав, що пригнічення ростових процесів у стегновій кістці та гальмування остеогенезу виражені в порівнянні до контролю. Це підтверджують остеометричні вимірювання всіх досліджуваних параметрів стегнової кістки та результати гістологічного дослідження кісткової тканини, а також морфометрична та математична оцінка вимірюваних показників. На нашу думку, це пояснюється тим, що хлорид кадмію, який надходив в організм у надлишковій кількості має виразну остеотропну дію, про що також свідчать результати поліелементного накопичення іонів кадмію (див.3 розділ).

Наступним напрямком гістологічних досліджень було визначення морфологічних змін в будові головки стегнової кістки, яка досліджувалась разом з суглобовим хрящем. Хрящові тканини складаються з клітин та позаклітинного матриксу. Клітинами є хондробласти та хондроцити, а

позаклітинний матрикс утворений основною аморфною речовиною та волокнами. Підрозділ хрящової тканини на три види (гіалінову, еластичну та волокнисту) заснований на будові позаклітинного матриксу. У гіаліновій хрящовій тканині у позаклітинному матриксі містяться лише колагенові волокна.

Диферон клітин хрящової тканини, тобто етапи диференціювання клітин, включає мезенхімні клітини, які диференціюються в стовбурові (хондрогенні) клітини, з яких розвиваються прехондробласти, а потім диференціюються в хондробласти. Хондробласти синтезують хрящовий матрикс. У хрящі, який розвивається, клітини спочатку кількісно переважають над міжклітинною речовиною, але в подальшому маса хрящового матриксу значно збільшується і хондробласти диференціюються в хондроцити, розташовані в лакунах, оточені хрящовим матриксом.

Гістологічно розрізняють 3 типи хондроцитів, які знаходяться на різних стадіях морфофункціонального диференціювання: хондроцити I типу – молоді хрящові клітини: мають велике сферичної форми ядро, багато мітохондрій та включень глікогену і жиру. Хондроцити II типу – клітини, що мають на поверхні короткі мікрроворсинки, добре розвинута гранулярна ендоплазматична сітка, де відбувається синтез глікозаміногліканів та протеогліканів. Хондроцити III типу – зрілі хрящові клітини, мають високий рівень синтезу білка та протеогліканів. Хрящ вкритий охрястям, який виконує трофічну функцію, апозиційний ріст та регенерацію хряща. Виділяють зони хрящової тканини - зона молодого хряща – вузька зона, розташована під охрястям, з поодинокими сплющеними молодими хондроцитами та гомогенним оксифільним матриксом. Друга зона зрілого хряща – зона з ізогенними групами хондроцитів та базофільним матриксом.

Суглобовий хрящ покриває суглобові поверхні кісток і утворений гіаліновим хрящем, який міцно з'єднаний з кісткою колагеновими волокнами. Поверхня суглобового хряща не вкрита охрястям, тому у нього можливий тільки інтерстиціальний ріст. В суглобовому хрящі розрізняють 4 шара: -

поверхневий – найменший, має невеликі, сплюснені, витягнуті паралельно суглобовій поверхні хондроцити та тонкі колагенові волокна, середній – хондроцити великих розмірів, округлі, розташовані в ізогенних групах по 2 – 3 клітини, містить більше колагенових волокон, багато води, протеогліканів. Глибокий шар – містить найбільшу кількість колонок хондроцитів та колагенових волокон, розташованих радіально (перпендикулярно) до суглобової поверхні. Шар звапнованого хряща – зона переходу хряща в кісткову тканину. Суглобовий хрящ не має кровоносних судин, отримує поживні речовини за рахунок дифузії з синовіальної рідини. Суглобові хрящі мають вікові зміни хрящової тканини, а саме з віком знижується мітотична активність хондроцитів, що призводить до зменшення кількості хондроцитів, процеси атрофії та смерті клітин відбуваються в глибокому шарі хряща, де хондроцити знаходяться в найгірших умовах живлення - відбувається збільшення кількості та товщини колагенових волокон і відбувається звапнення хряща - зменшується ступінь гідратації основної речовини хрящового матрикса, що зменшує пружність хрящової тканини.

Ознаки реакції на гіпоксичний стан при впливі хлоридом кадмію визначались нами і у хрящовій тканині суглобового хряща головки стегнової кістки у вигляді розширених судин з високим рівнем кровонаповнення (рис. 4.8б).

У порожнинах і комірках кісткової тканини головки стегнової кістки міститься кістковий мозок. За структурними й функціональними особливостями його поділяють на червоний кістковий мозок, що є джерелом кровотворення, і жовтий, який є неактивною пухкою жировою тканиною.

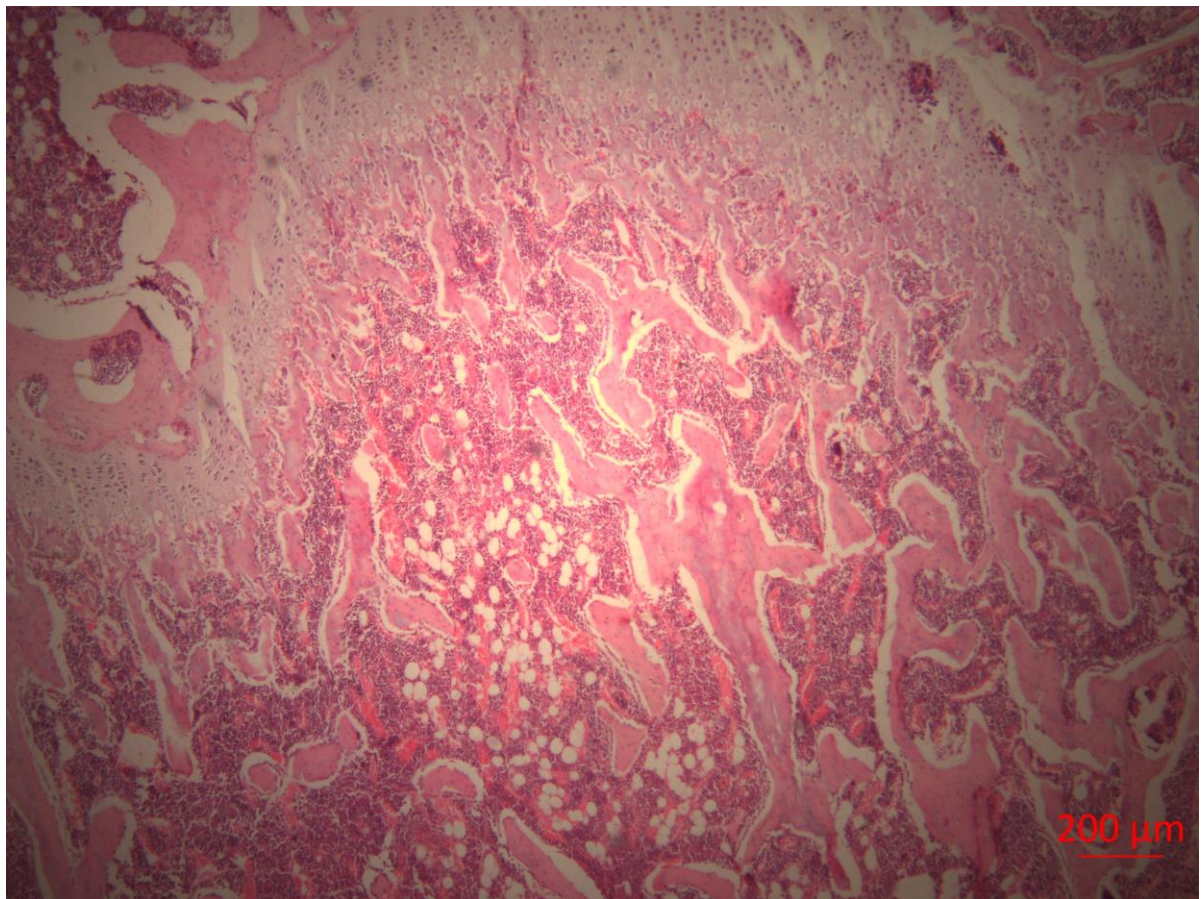


Рис.4.8б. Зріз суглобової поверхні головки стегнової кістки щура групи впливу хлоридом кадмію на 30-ту добу експерименту. Визначається високий рівень кровонаповнення кісткових судин. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 4.

Паренхіма кісткового мозку – це всі види кровотворних клітин на різних рівнях диференціювання, зрілі клітини крові, клітини в кістковому мозку розміщені групами; такі групи називають гемопоетичними острівцями; в червоному кістковому мозку відбуваються утворення всіх клітин. Його строма представлена кістковими балками та ретикулярною тканиною, в якій знаходиться безліч кровоносних судин, в основному синусоїдних капілярів, та містять гемопоетичні клітини на різних стадіях диференціювання. Кількість стовбурових клітин у червоному кістковому мозку найбільша (рис. 4.9). Жовтий кістковий мозок розташований у діафізах трубчастих кісток. До його складу входять численні жирові клітини, в нормі він не несе функції гемопоезу.

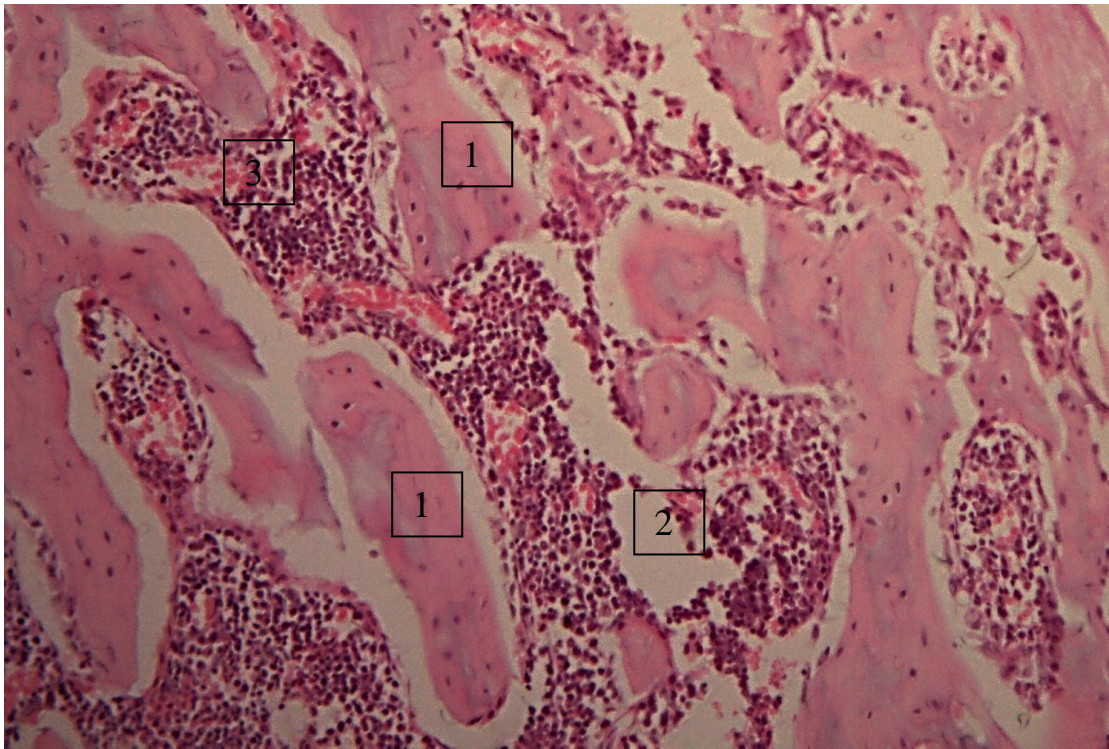


Рис.4.9. Зріз головки стегнової кістки щура групи впливу хлоридом кадмію на 14-ту добу експерименту. Червоний кістковий мозок. Позначення: 1 кісткові балки; 2 червоний кістковий мозок; 3 кровоносні судини. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 40.

Нами також визначалися зміни у будові суглобового хряща головки стегнової кістки. Суглобовий хрящ міцно зростається з кісткою, до якої прилягає. Завдяки гладкій поверхні він забезпечує ковзання кісток однієї щодо одної, а його виражені пружні властивості амортизують всілякі удари під час руху. Суглобовий хрящ складається із трьох зон: поверхнева, проміжна та базальна (глибока). Поверхнева зона, яка утворена трьома шарами: поверхневою безклітинною пластинкою, тангенціальним та перехідним шарами. Тангенціальний шар містить сплюснені, а перехідний – округлі хондроцити. Колагенові волокна в тангенціальному і перехідному шарах йдуть паралельно до суглобової поверхні, що забезпечує гладку поверхню суглобового хряща та його регенерацію. Проміжна (основна) зона, в якій проходять потужні пучки колагенових фібрил, які утворюють складну мережу, переважно орієнтовані під кутом до суглобової поверхні і можуть формувати аркади. Переплетення колагенових волокон утворюють лакуни, в

яких лежать хондроцити, які продукують колаген, глікопротеїни та протеоглікани. В результаті саме їх поділу утворюються колонки та ізогенні групи хондроцитів. Базальна (глибока) зона поділяється на два шари: поверхневий шар необвапненого хряща і глибокий шар обвапненого хряща. Матрикс базальної зони представлений потужними пучками колагенових волокон, які прямо пов'язані з кісткою, що підлягає, і спрямовані перпендикулярно до суглобової поверхні (рис.4.10, 4.11).

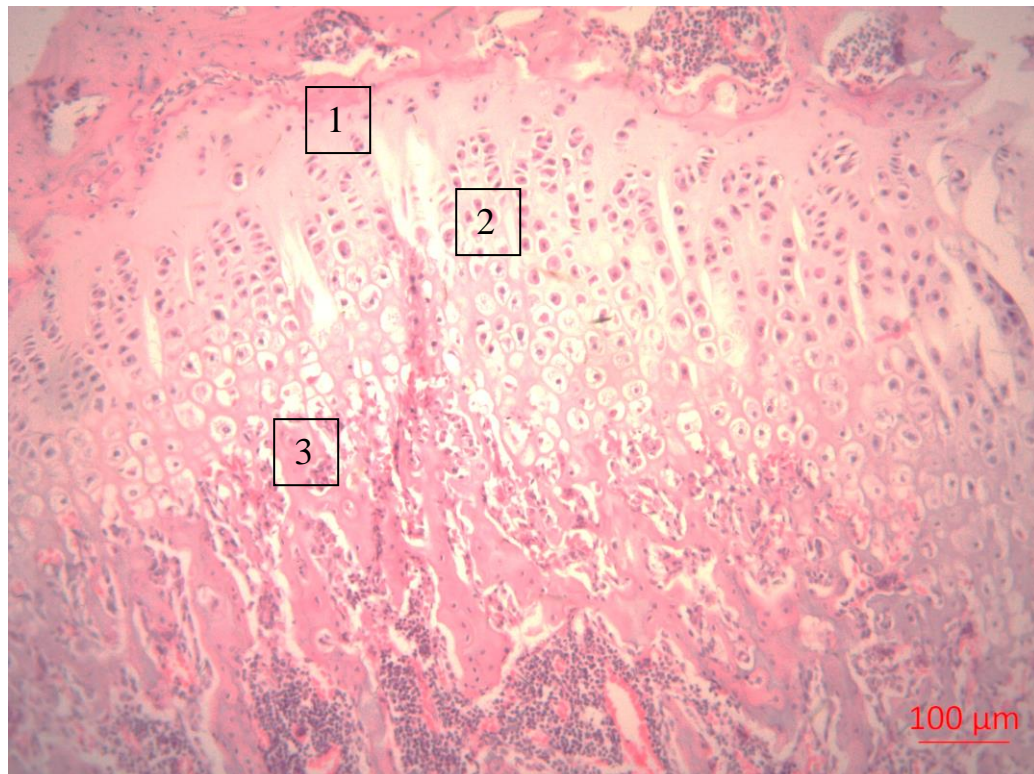


Рис.4.10. Зріз суглобового хряща головки стегнової кістки щура контрольної групи на 20-ту добу експерименту. Зони хряща: 1 – поверхнева, 2 – проміжна, 3 – базальна. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

З боку кістки до цієї зони проникають кровоносні капіляри. Клітини у глибокій зоні нечисленні. Вони піддаються деструкції в зоні обвапненого хряща, а в зоні необвапненого хряща виявляються гіпертрофовані клітини з великою кількістю органел та інтенсивними синтетичними процесами. Живлення суглобового хряща здійснюється частково із судин базальної зони, а в основному – із синовіальної рідини.

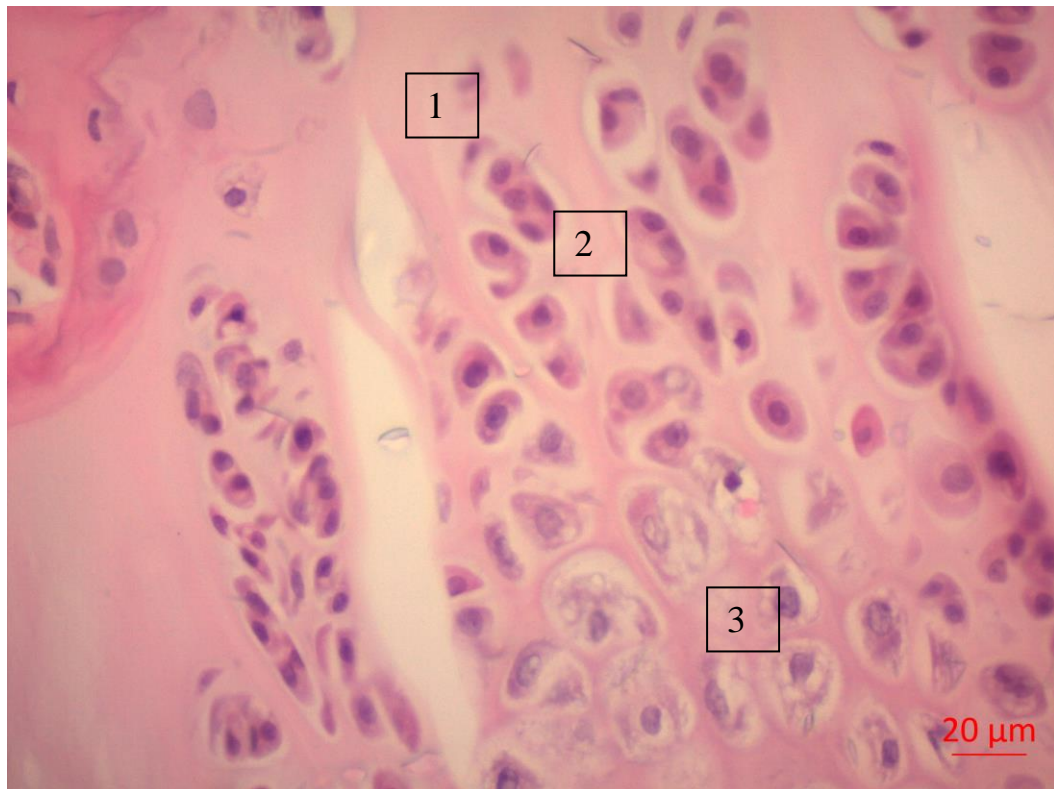


Рис.4.11. Зріз суглобового хряща головки стегнової кістки щура контрольної групи на 20-ту добу експерименту. Структура хряща: 1 – міжклітинна речовина, 2 – молоді хрящові клітини, 3 – ізогенна група хрящових клітин в лакуні. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 40.

Вже на 14-тій добі експерименту у тварин дослідної групи ізольованого хронічного впливу хлоридом кадмію на мікроскопічному рівні зі сторони суглобового гіалінового хряща виявлялись ознаки гістоструктурних перетворень. Ми визначали ознаки гальмування ростових процесів за рахунок пригнічення проліферативної та диференціальної активності хондроцитів з розвитком у них дистрофічних змін. Аналіз гістологічних препаратів головки стегнової кістки з суглобовим хрящем дозволив виявити малочисельні порожнини резорбції, поля безклітинної компакти та нерівномірність осифікації основної речовини (рис.4.12).

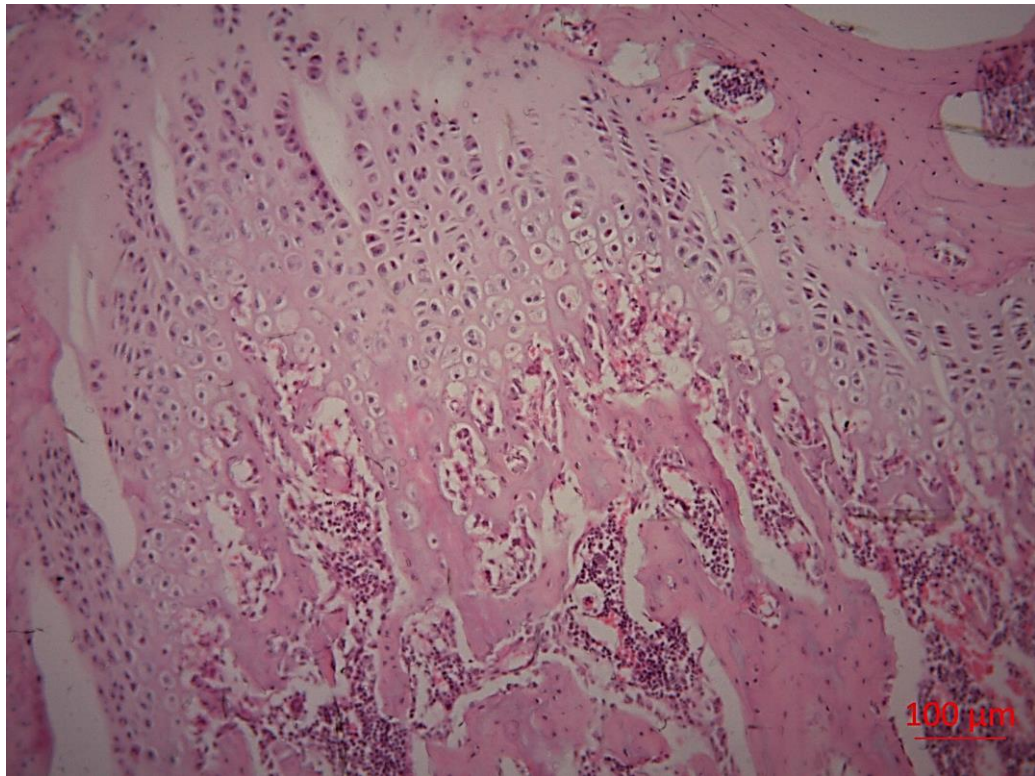


Рис.4.12. Зріз суглобової поверхні головки стегнової кістки щура групи контролю на 14-ту добу експерименту. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Хондроцити глибокої зони мають переважно еліпсоїдну форму, групуються в радіально розміщені ланцюжки (колонки). У кальцифікованій зоні вони розподілені ще більш розріджено; деякі з них некротизовані, хоча більшість життєздатна. Також у глибоких відділах хряща знижена щільність хондроцитів та виявлено поодинокі хондроцити зі щільними ядрами.

На 20-ту та 30-ту добу експерименту визначені тенденції до зміни гістологічної будови суглобового хряща проявлялися у більшому ступені. Довготривалий вплив хлориду кадмію призводив до подальшого збільшення некротизованих хондроцитів та виявлення порожніх капсул (лакун), які не містять клітин, або визначався набряк хондроцитів (рис.4.13).

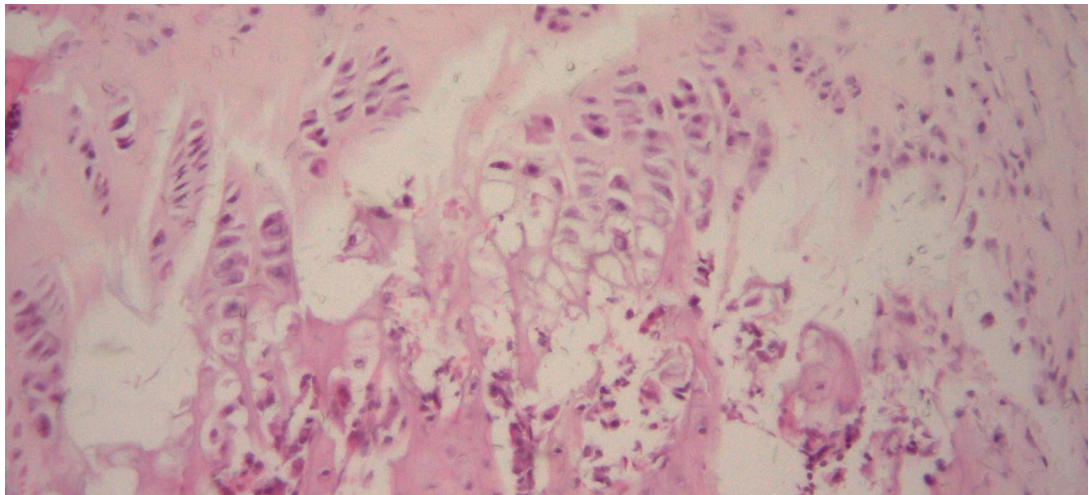


Рис.4.13. Зріз суглобової поверхні головки стегнової кістки щура групи ізольованого впливу хлоридом кадмію на 30-ту добу експерименту. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 40.

Порушувалась і радіальна архітектура ланцюжків хондроцитів хряща та спостерігались ділянки розростання сполучної тканини, що відокремлювали ланцюжки (рис.4.14).

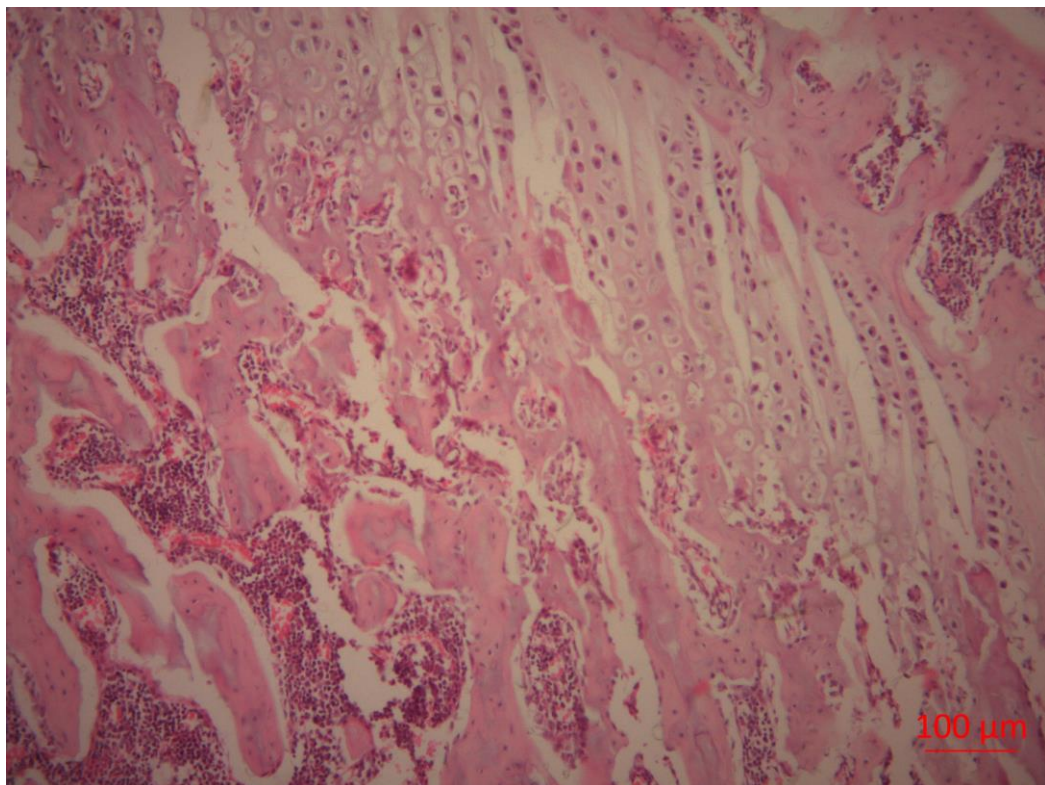


Рис.4.14. Зріз суглобової поверхні головки стегнової кістки щура групи ізольованого впливу хлоридом кадмію на 20-ту добу експерименту. Порушення радіальної гістологічної архітектури хондроцитів та розростання шарів сполучної тканини. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

На 30-ту добу експерименту після хронічного впливу хлоридом кадмію у хрящовій тканині головки стегнової кістки виявляються численні порожнинні резорбції, значні поля безклітинної компакти. Продовжувалось зниження проліферативної активності хондроцитів, виявлялись дистрофічні зміни у міжклітинній речовині та хрящових клітинах, що провокувало порушення структури хряща та змінювало співвідношення між окремими зонами (рис.4.15).

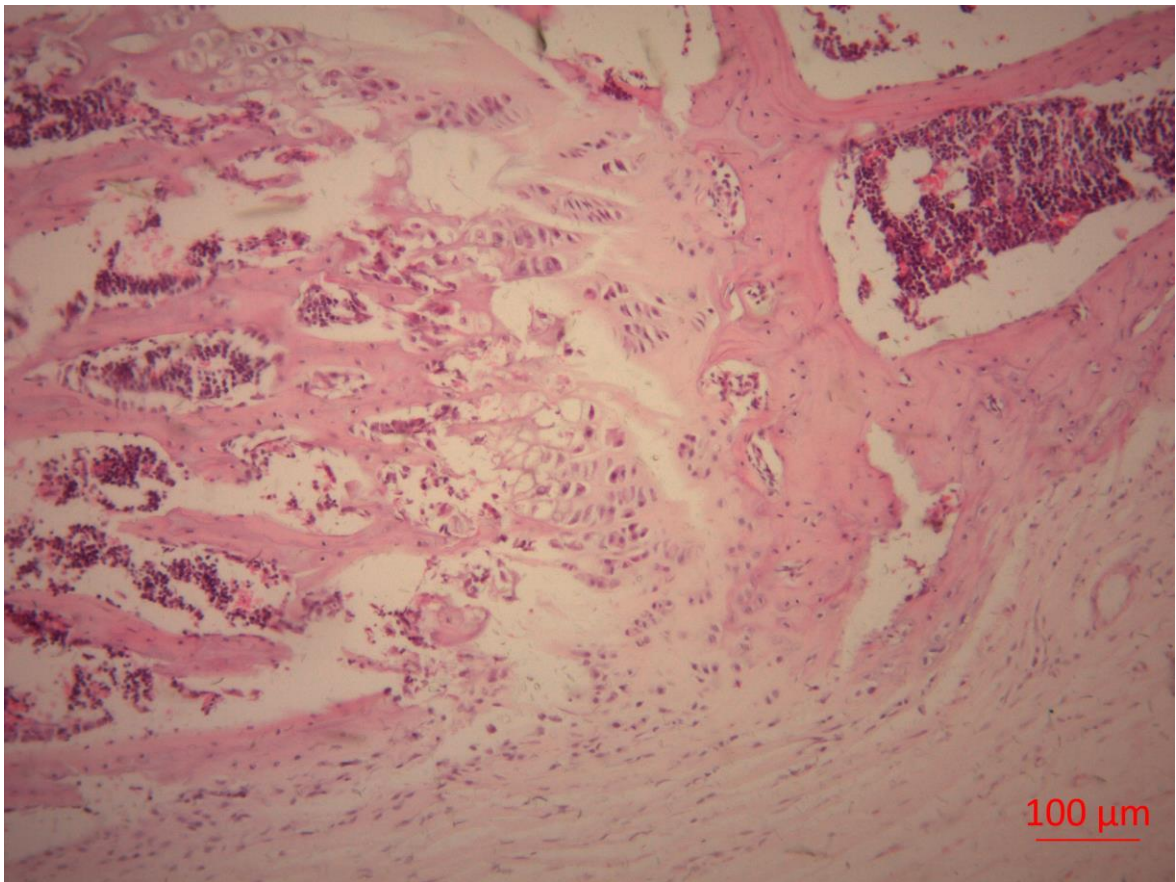


Рис.4.15. Зріз суглобової поверхні голівки стегнової кістки щура групи впливу хлоридом кадмію на 30-ту добу експерименту. Витончення всіх шарів хрящової тканини та численні резорбції. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Таким чином, хронічний вплив хлориду кадмію зумовлює розвиток в хрящовій тканині суглобового хряща стегнової кістки ознаки резорбцій, дистрофії та порушень гістологічної архітектури тканини в експерименті на щурах.

4.2. Вплив хлориду кадмію на морфогенез нижньої щелепи щура в експерименті

З метою виконання поставленої задачі та забезпечення порівняльного аналізу отриманих результатів хронічного впливу хлориду кадмію на морфогенез нижньої щелепи нами оперативно вилучались зразки на 14-тій, 20-тій та 30-тій добі експерименту. Нижня щелепа очищувалась від м'яких тканин, зважувались, вимірювались, отримані дані вносились до протоколу для подальших обрахунків і порівнянь. Сама щелепа підлягала фіксації у нейтральному 10%формаліні для подальшого гістологічного дослідження. Нами, як і у дослідженнях стегнової кістки, визначались відносні маси нижньої щелепи до маси тварини, що було більш інформативним матеріалом для порівняння між групами. При порівнянні отриманих масометричних даних з контрольною групою, нами розраховувався Індекс маси кістки (ІМК) (табл.4.3).

Таблиця 4.3.

Динаміка зміни індексу маси нижньої щелепи щурів на трьох термінах експериментального дослідження при впливі хлоридом кадмію та в контролі

Експериментальна група	Доба експерименту		
	14 доба	20 доба	30 доба
Контрольна група	0,49±0,03	0,58±0,02*	0,56±0,02*
Група впливу хлоридом кадмію	0,52±0,03	0,61±0,03*	0,63±0,01*

Примітка: * - достовірність різниці $p \leq 0,05$ по відношенню до показника в даній групі на 14-ту добу.

Аналіз та порівняння розрахованих індексів маси нижньої щелепи продемонстрував збільшення вагових показників кістки при хронічному впливі хлоридом кадмію, починаючи з 14-тої доби експерименту. Результати макроанатомічного дослідження нижньої щелепи показали, що маса кістки тварин контрольної групи упродовж спостереження збільшувалася з

1,05±0,03г (14-та доба) до 1,75±0,04г (30 доба). В групі ізольованого введення хлориду кадмію маса нижньої щелепи тварин становила на 14-тій добі 1,34±0,04г, а на 20-ту добу показник зростав до 1,98±0,04г, та наприкінці експерименту (30 доба) вагові показники недостовірно збільшувались до 1,99±0,02г. Таким чином, при ізольованому впливі хлоридом кадмію показник середньої маси демонструє зростання маси нижньої щелепи вже на 14-ту добу експерименту у порівнянні до контролю. На 30-ту добу визначається найбільша вага щелепи, що продемонстрував і розрахунок та порівняння індексу маси кістки в порівнянні до контрольних показників на всіх досліджуваних термінах (табл.4.3).

Остеометричні вимірювання нижньої щелепи та різця експериментальних тварин та контрольних щурів показали недостовірне зростання показників при впливі хлоридом кадмію наприкінці експерименту, тобто на 30-ту добу. Так, максимальна довжина щелепи збільшувалась з 22,28±0,06 мм до 23,14±0,07 мм, висоти гілки з 10,12±0,3 мм до 10,71±0,6 мм, висота тіла щелепи з 3,48±0,04 мм до 3,86±0,2 мм, а висота альвеолярного відростка з 2,21±0,08 мм до 2,58±0,4 мм. Вимірювання та порівняння висоти різця нижньої щелепи також продемонстрували недостовірне зростання показника з 1,03±0,07 мм (контроль) до 1,11±0,06 мм групи ізольованого впливу хлоридом кадмію.

Гістологічні дослідження кісткової тканини нижньої щелепи проводили відповідно до завдань і мети експериментальної роботи. В області головки нижньої щелепи досліджувалась також субхондральна кісткова тканина та результат змін в її структурі при впливі хлоридом кадмію. В нормі (контроль) субхондральна кісткова тканина виросткової суглобової поверхні головки нижньої щелепи представлена кістковими трабекулами, які формували петлясту мережу. Зустрічаються ділянки з поодинокими кістковими трабекулами, між якими знаходились розширені міжтрабекулярні простори заповнені червоним кістковим мозком (рис.4.16).



Рис.4.16. Зріз головки нижньої щелепи щура групи контролю на 20-ту добу експерименту. Трабекули кісткової тканини з судинами та червоний кістковий мозок. Зabarвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 40.

Довготривалий вплив хлоридом кадмію призводив до змін в структурі кісткових трабекул, що віддзеркалювали порушення в організації міжклітинної речовини та клітин. На 30-ту добу експерименту визначались окремі кісткові трабекули, які мали мікротріщини та невеликі осередки гомогенізації матриксу. Нами також виявлялись на зрізах кісткової тканини поодинокі порожні лакуни або лакуни з пікнотичними остеоцитами. Нами визначався спектр порушень остеогенезу при довготривалому впливі хлоридом кадмію, який на 30-ту добу призводив до руйнації трабекул кісткової тканини (рис. 4.17). Визначено також зміни в самій структурі кісткових трабекул, що віддзеркалювали порушення в організації міжклітинної речовини та клітин. Вплив кадмієм призводив до утворення мікротріщин в кісткових трабекулах, спостерігався також в незначному ступені процес гомогенізації матриксу на тлі зниження щільності остеоцитів.

Поблизу таких ділянок на кісткових трабекулах виявлялись поодинокі порожні лакуни або лакуни з пікнотичними остеоцитами.

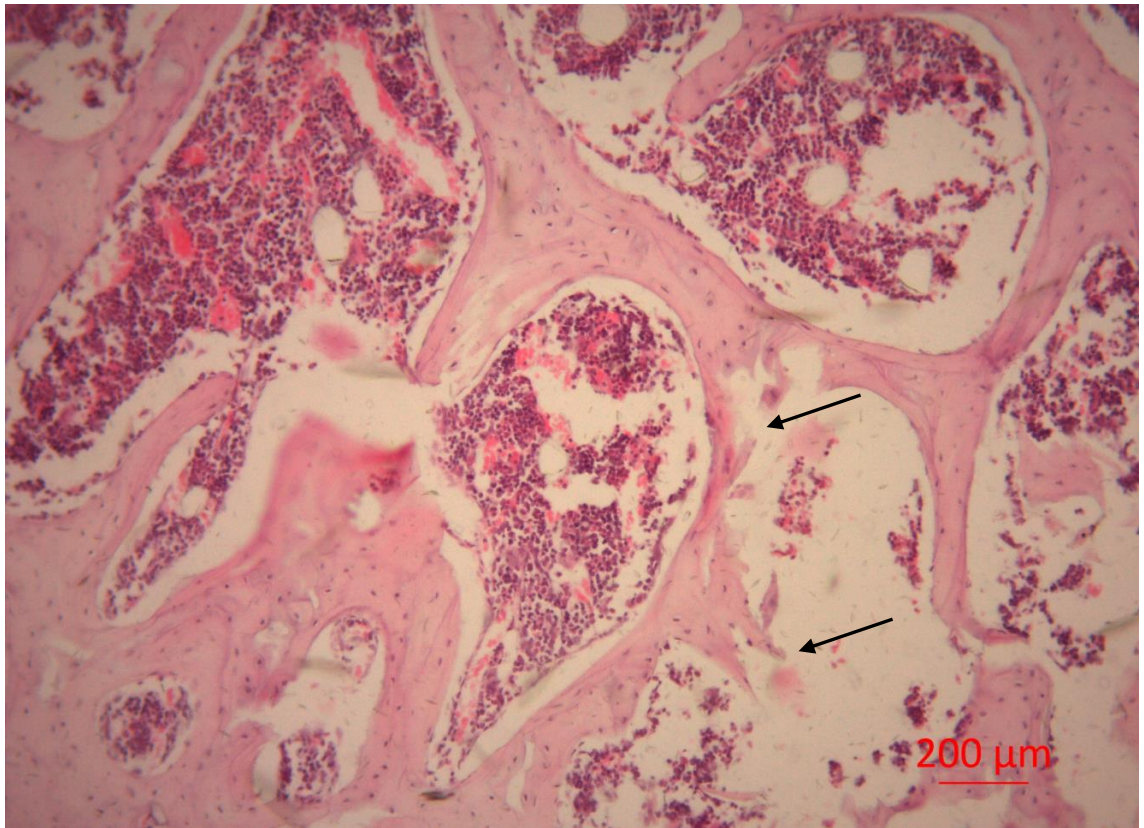


Рис.4.17. Зріз головки нижньої щелепи щура групи ізольованого впливу хлоридом кадмію на 30-ту добу експерименту. Руйнація трабекул кісткової тканини (вказано стрілками) з судинами та червоний кістковий мозок. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 40.

Вже з 14-тої доби експерименту відзначалось підвищення васкулогенезу кісткової тканини. Також на всіх термінах дослідження кісткової тканини в групах кадмієвого впливу визначався набряк остеоцитів (рис.4.18). На 20-тій добі експерименту виявляються малочисельні порожнини резорбції та поля безклітинної компакти з нерівномірною мінералізацією речовини.

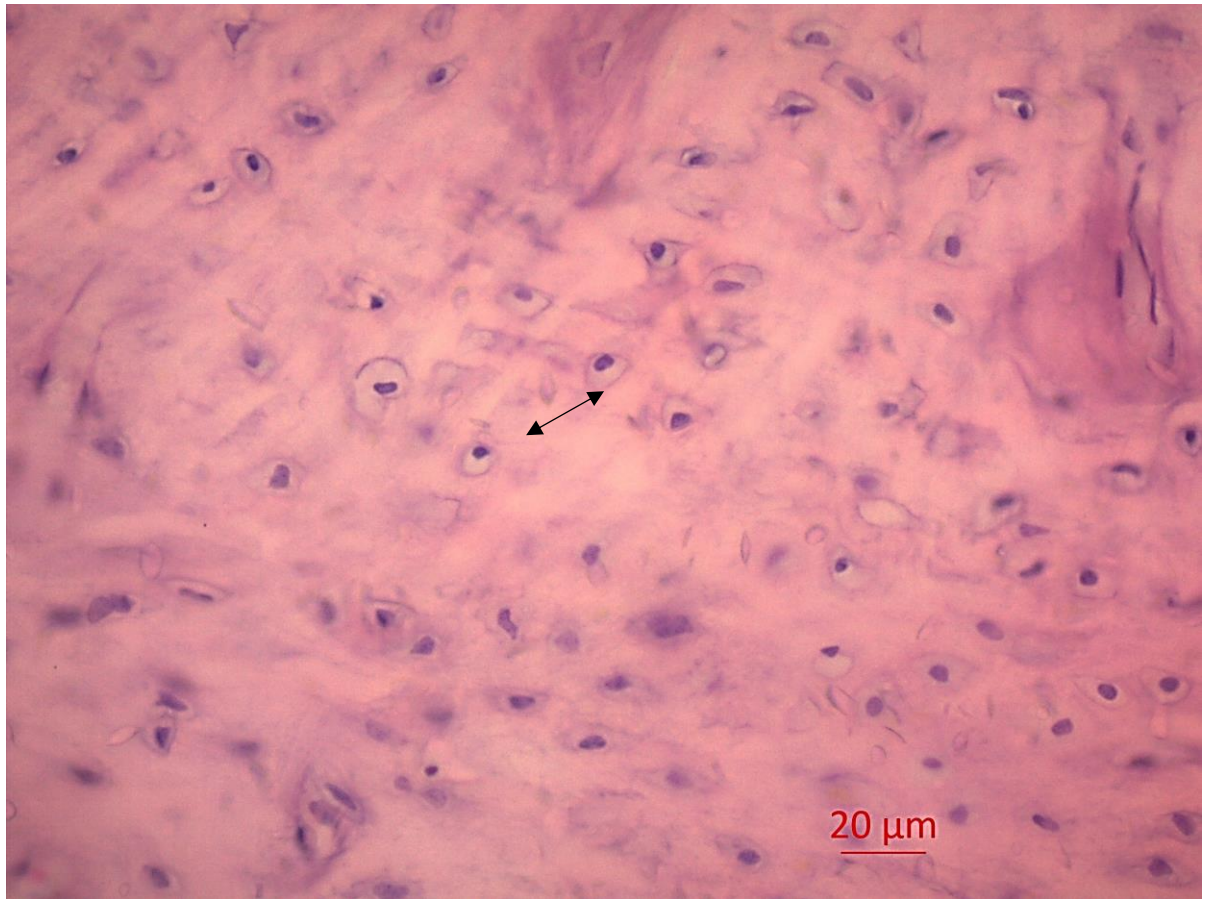


Рис.4.18. Зріз головки нижньої щелепи щура групи впливу хлоридом кадмію на 20-ту добу експерименту. набряк остеочитів вказано стрілками. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 40.

Таким чином при впливі хлоридом кадмію відстежувалось зниження щільності кісткових трабекул в області субхондральної кістки та виявлялось порушення будови самих кісткових трабекул і набряк остеочитів на тлі високого рівня кровонаповнення судин.

У порожнинах і комірках кісткової тканини головки нижньої щелепи міститься червоний кістковий мозок, який є джерелом кровотворення і містить гемопоетичні острівці. Строма, як і в головці стегнової кістки складається з кісткових балок та ретикулярної тканини, в якій розташовані власні кровоносні судини та синусоїдні капіляри, що містять гемопоетичні клітини на різних стадіях диференціювання (рис.4.19).

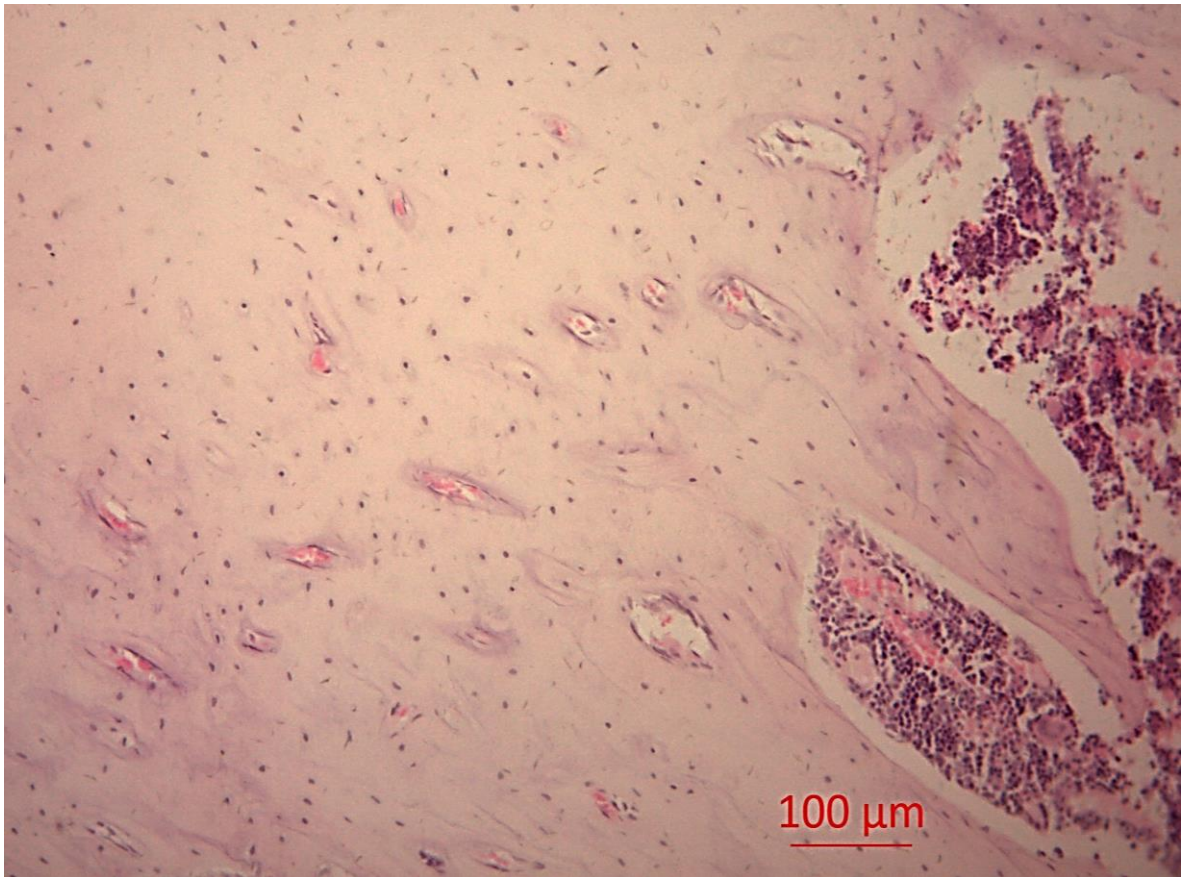


Рис.4.19. Зріз головки нижньої щелепи щура групи контролю на 20-ту добу експерименту. Кісткова тканина з судинами та червоний кістковий мозок з синусоїдами. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

При впливі хлоридом кадмію вже з 20-тої доби експерименту визначались зміни в структурі кісткового мозку в гістологічних зрізах. Високий рівень кровонаповнення внаслідок гіпоксичного стану, який провокує введення кадмію, визначався в розширенні судин, а довготривалий рівень високого кровонаповнення на 30-ту добу призводив до локальних розширень судин, вони набували звивистої форми та помітними ставали розширення синусоїдів кісткового мозку у дослідних тварин, що підлягали кадмієвій інтоксикації (рис.4.20).

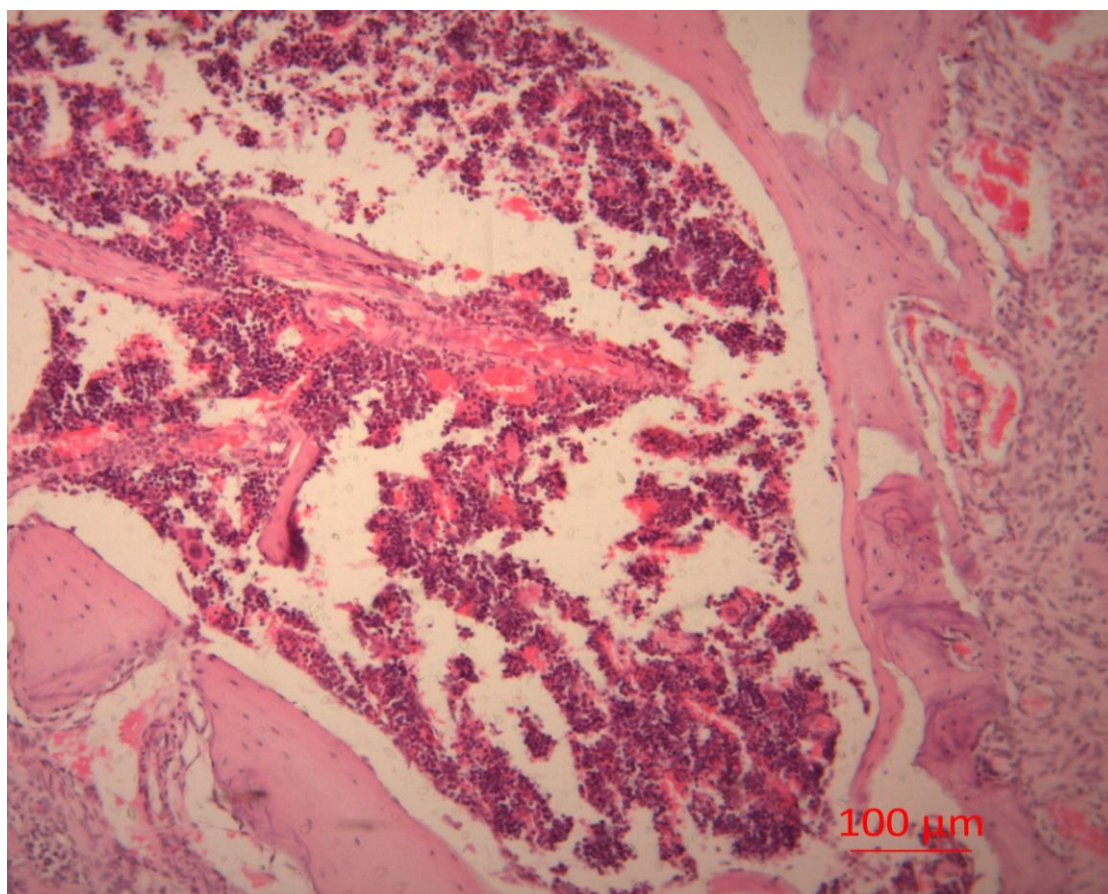


Рис.4.20. Зріз головки нижньої щелепи щура групи впливу хлоридом кадмію на 30-ту добу експерименту. Червоний кістковий мозок з розширеними судинами та синусоїдами. Підвищений рівень кровонаповнення судин. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Вплив хронічного введення хлориду кадмію визначався і на структурах суглобового хряща. Суглобовий хрящ міцно зростається з кісткою, що підлягає. У проміжній зоні хряща проходять потужні пучки колагенових фібрил, які утворюють складну мережу, переважно орієнтовані майже перпендикулярно до суглобової поверхні і можуть формувати аркади. В результаті переплетення колагенових волокон утворюються лакуни, в яких лежать хондроцити першого та другого типів. Вони продукують колаген, глікопротеїни та протеоглікани, а крім того, здатні до поділу. В результаті їх поділу утворюються колонки та ізогенні групи хондроцитів (рис.4.21). В контрольних зразках на всіх термінах дослідження витримується архітектура

суглобового хряща, що зберігає зональність та складається з колон утворення та розвитку хондроцитів, формування ізогенних груп. Диферон хондроцитів у вигляді радіальних колон добре визначається на гістологічних зрізах (рис.4.21).

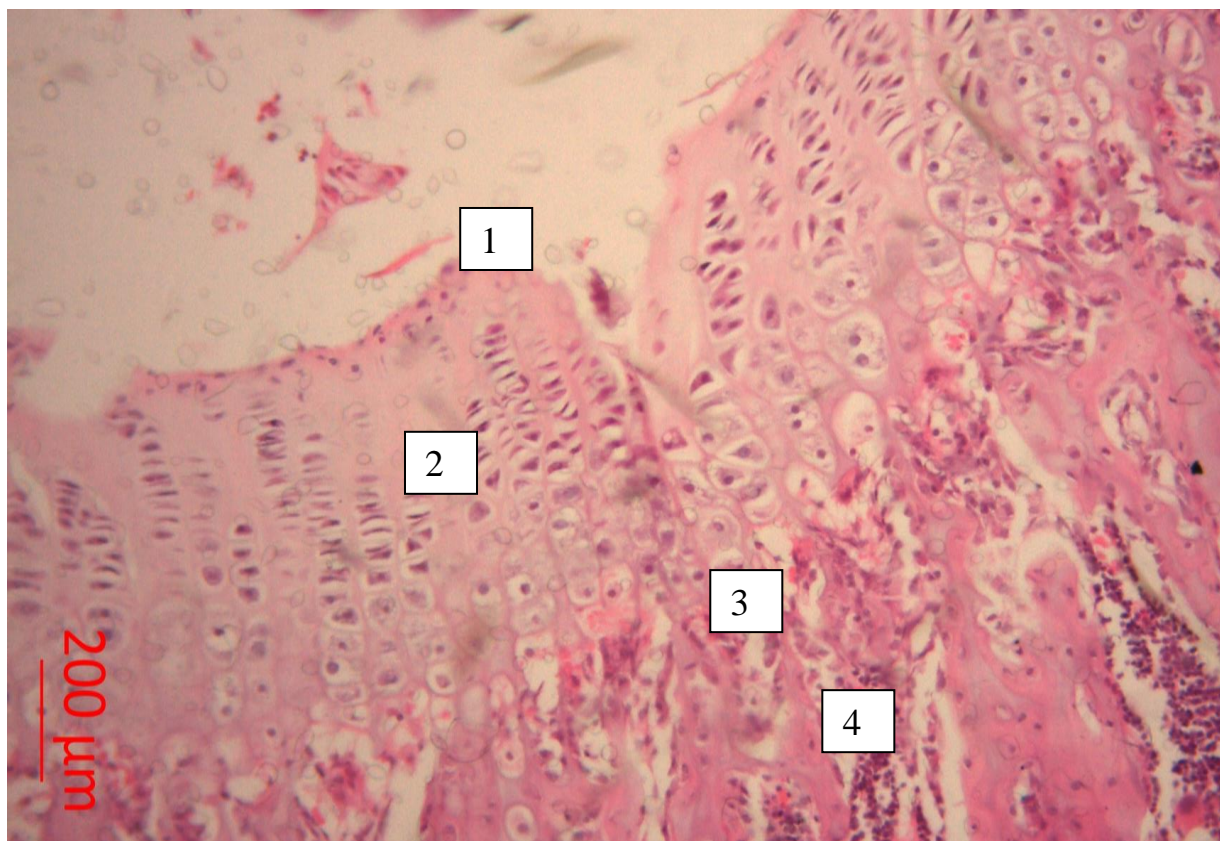


Рис.4.21. Зріз головки нижньої щелепи щура групи контролю на 20-ту добу дослідження. Суглобовий хрящ. Позначення: 1. Поверхнева зона хряща; 2. Проміжна зона з ізогеними групами клітин; колони хондроцитів; 3 Межа кальцифікації; 4 Глибокий кальцифікований шар. Зabarвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Серед змін структур хрящової тканини відмічались невеликі ділянки без хондроцитів та деструкція поодиноких клітин. Виявлено неоднорідне забарвлення матриксу, що може свідчити про порушення біосинтезу макромолекул. При впливі хлоридом кадмію зустрічались вже на 14-ту та 20-ту добу експерименту ознаки гістоструктурних перетворень хондроцитів з розвитком у них дистрофічних змін. При цьому виявляються численні порожнини резорбції, значні поля безклітинної компакти та нерівномірність

осифікації основної речовини. Визначались також зміни архітектури тканини у вигляді вкорочення колон хондроцитів, їх ущільнення та зміни напрямків, часто спостерігались порожні лакуни хрящової тканини (рис.4.22).

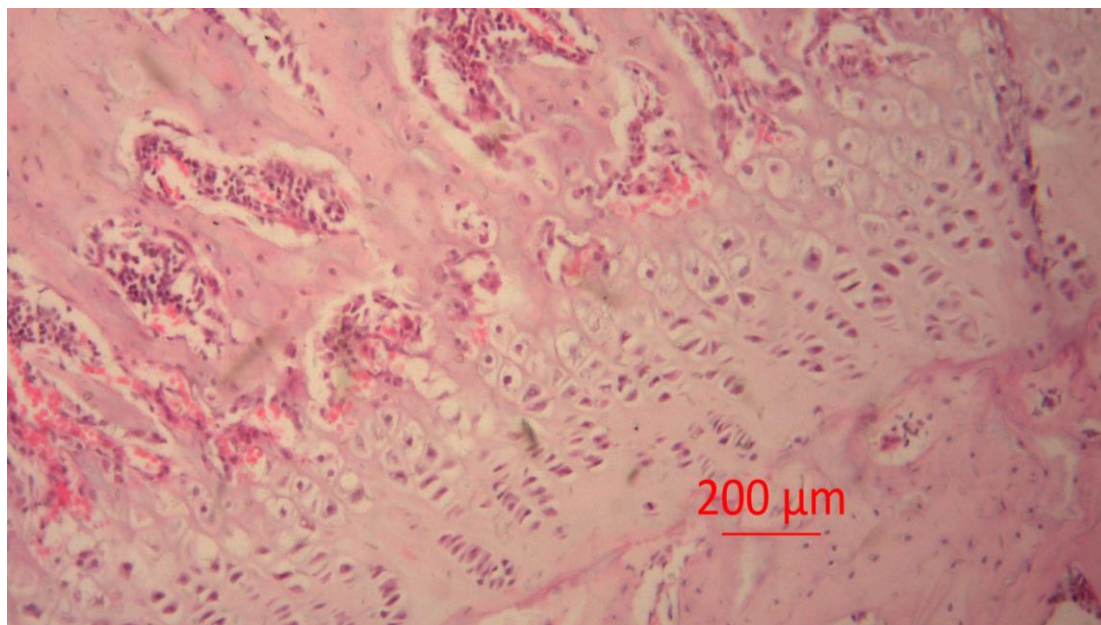


Рис.4.22. Зріз головки нижньої щелепи щура групи впливу хлоридом кадмію на 20-ту добу дослідження. Суглобовий хрящ. Дезорганізація колон хондроцитів, порожні лакуни. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Найбільш виразні ознаки змін у порушенні формування геометрії хрящової тканини виявлені у зонах активного росту, яка звужується на 8,34% ($p \leq 0,05$) після місячного експерименту. 30-ти добовий термін впливу призводить до резорбтивних змін у зоні суглобового хряща, що зумовлює розшарування хрящових волокон, їх дезорганізацію та порушення формоутворення хрящової тканини нижньої щелепи під впливом негативної дії на організм солі важкого металу кадмію (рис.4.23). Наприкінці експерименту зони порушувалась зональність суглобового хряща, значно звужувалась поверхнева зона та затримувалась диференціація хондробластів, що проявлялась у набряках клітин хряща та зсувах утворення колонок і затримці дозрівання ізогенних клітин. У 42,7% випадків чітко визначалось розшарування колагенових фібрил (рис.4.23).

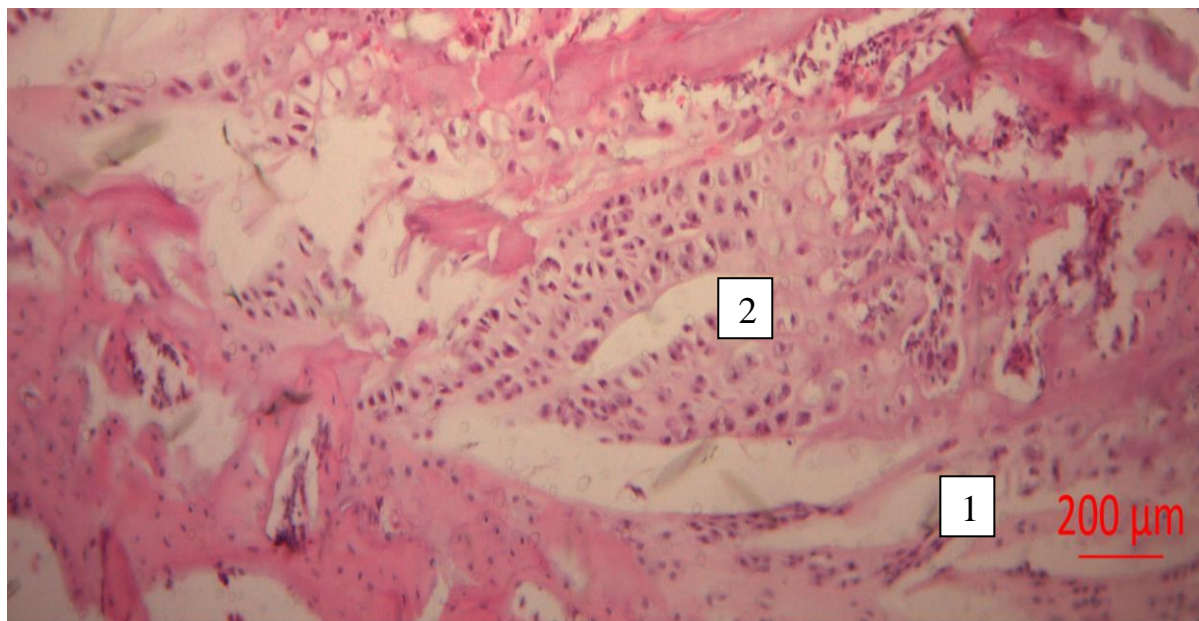


Рис.4.23. Зріз головки нижньої щелепи щура групи впливу хлоридом кадмію на 30-ту добу дослідження. Суглобовий хрящ. Дезорганізація колон хондроцитів (1) та розшарування хрящової тканини (2). Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Таким чином, органометричні та гістоморфометричні показники нижньої щелепи за умов хронічної дії на організм хлориду кадмію засвідчують розвиток глибоких та стійких структурних змін, які характеризуються гальмуванням росту досліджуваних тканин, розвитком резорбтивних процесів у кістковій тканині, зниженням мінералізації, порушенням архітектурної будови суглобового хряща в експерименті на щурах.

4.3. Зміни морфологічних показників крові щурів за тривалого кадмієвого навантаження

З метою вивчення питань, що впливали із завдань наших експериментальних досліджень, у процесі виконання дисертаційної роботи проведено аналіз динаміки показників крові при хронічному введенні хлориду кадмію у порівнянні до контрольних показників.

Важливими показниками реакції організму на хронічну дію негативних чинників навколишнього середовища є зміни числа еритроцитів, лейкоцитів

та вміст гемоглобіну. Еритроцити — рухомі, високодиференційовані клітини, які у процесі розвитку втратили ядро і пристосовані до виконання дихальної функції. Кількість еритроцитів у крові — один з найбільш важливих показників характеристик системи крові, цей показник характеризує рівень насичення крові гемоглобіном. Підвищення кількості еритроцитів у крові — еритроцитоз, а зниження кількості еритроцитів — еритроцитопенія. У крові групи щурів, що підлягали ізольованому впливу кадмієм ми спостерігали вірогідне зменшення на 25,4% числа еритроцитів на 14-ту добу експериментального введення та 28,3% на 20-ту добу. Наприкінці експерименту (30-та доба) показник кількості еритроцитів при впливі хлоридом кадмію знижувався до 31,6%, тобто довготривалий термін введення хлориду кадмію провокував у дослідних щурів еритроцитопенію. В контролі кількість еритроцитів становила по всім термінам забору аналізу в середньому $7,28 \pm 0,06$ Т/л (табл. 4.4).

Наступний порівняльний аналіз проводився по лейкоцитам. Лейкоцити - неоднорідна група безбарвних клітин крові, основа імунітету, вони виробляють антитіла, руйнують бактерії, чужорідні білки і нейтралізують інші небезпеки ззовні, знищують відмерлі клітини. Зміни загальної кількості лейкоцитів завжди розглядають разом зі змінами кількості їх субпопуляцій. Зниження загальної кількості лейкоцитів зазвичай є наслідком зниження їхніх найбільших субпопуляцій — нейтрофілів або лімфоцитів. Підвищення загальної кількості лейкоцитів у свою чергу є наслідком збільшення вищезгаданих субпопуляцій або появи патологічних клітин. Введення хлориду кадмію призводило до лейкопенії вже з 14-тої доби експерименту, показник рівня лейкоцитів зменшувався у 1,2 рази в порівнянні до контрольних показників на цьому терміні (табл. 4.4). На 20-ту добу експерименту в групі впливу кадмієм рівень лейкоцитів продовжував знижуватись, а на 30-ту добу показник уже в 1,4 рази перевищував контроль. Введення хлориду кадмію в хронічному експерименті на щурах

викликає ураження кровотворних органів, на що вказує низький рівень лейкоцитів у їх крові.

При аналізі рівня гемоглобіну у крові щурів дослідної групи ізольованого введення хлориду кадмію на 14-ту добу експерименту встановлено збільшення цього показника на 20,2 % відносно контрольної групи. На 20-тій добі дослідження рівень гемоглобіну знижувався в групі впливу кадмієм, але перевищував контрольні показники. Наприкінці експерименту неочікувано ми відмічали зниження рівня гемоглобіну до $99,8 \pm 1,24$ г/л, тоді як у контролі даний показник коливався у межах $110,7 \pm 0,78$ г/л. Така зміна рівня гемоглобіну у крові дослідної групи інтоксикації кадмієм корелювала зі зниженням кількості еритроцитів в крові щурів (табл.4.4).

Таблиця 4.4.

Динаміка змін показників крові експериментальних тварин при хронічному введенні хлориду кадмію у порівнянні до контролю

Показники	Контрольна група			Група впливу кадмію		
	14-та доба	20-та доба	30-та доба	14-та доба	20-та доба	30-та доба
Еритроцити, Г/л ($10^{12}/л$)	$7,28 \pm 0,06$	$7,32 \pm 0,05$	$7,25 \pm 0,07$	$5,43 \pm 0,03$	$5,25 \pm 0,04$	$4,96 \pm 0,03^*$
Лейкоцити, Г/л (10^9)	$8,13 \pm 0,65$	$8,21 \pm 0,69$	$8,45 \pm 0,71$	$6,97 \pm 1,01$	$6,79 \pm 1,14$	$6,07 \pm 1,1^*0$
Гемоглобін, г/л	$110,3 \pm 0,81$	$112,4 \pm 0,90$	$110,7 \pm 0,78$	$132,6 \pm 1,34^*$	$122,7 \pm 1,16$	$99,8 \pm 1,24^*$

*- достовірність різниці з контрольними показниками того самого терміну $p \leq 0,05$.

Найнижчою кількістю лейкоцитів була у крові щурів дослідної групи впливу кадмію на 30-ту добу експерименту, що свідчить про негативний вплив, важких металів на функціонування кровотворної системи організму.

Отже, отримані результати досліджень дають можливість стверджувати, що навантаження кадмієм призводить до зміни морфологічного складу крові щурів, на що вказує зниження кількості

еритроцитів, лейкоцитів та рівня гемоглобіну в хронічному експерименті на щурах.

Висновки за розділом.

Хронічний вплив хлоридом кадмію в дозі 2,0 мг/кг на щурів призводить до зменшення вагових показників стегнової кістки, що було підтверджено розрахуванням показнику індексу маси стегнової кістки.

Введення хлориду кадмію викликає пригнічення ростових процесів у стегновій кістці та гальмування остеогенезу, що визначається у розвитку ознак дистрофічних та остеопоротичних перетворень кісткової тканини в експерименті на щурах.

Хлорид кадмію викликає зміни в морфологічній будові суглобового хряща головки стегнової кістки. На 30-ту добу експериментального введення хлориду кадмію в хрящовій тканині головки стегнової кістки визначались у значній кількості резорбтивні зміни, що проявлялось у численних порожнинах резорбції, порушенні архітектури радіальних шарів ланцюжків хондроцитів хряща та спостерігались ділянки розростання сполучної тканини.

Хронічний вплив хлоридом кадмію в дозі 2,0 мг/кг на щурів призводить до збільшення вагових показників нижньої щелепи, що було підтверджено розрахуванням показнику індексу маси нижньої щелепи.

Довготривалий вплив хлоридом кадмію призводить до змін в структурі кісткових трабекул нижньої щелепи, що проявлялось у мікротріщинах окремих кісткових трабекул та набряку остеоцитів на тлі підвищення васкулогенезу кісткової тканини. Порушення гістогенезу кісткової тканини визначалось формуванням осередків гомогенізації матриксу, виникненням порожніх лакун або лакун з пікнотичними остеоцитами ділянками резорбції.

Остеометричні вимірювання всіх досліджуваних параметрів стегнової кістки та результати гістологічного дослідження кісткової тканини, підтверджують, що хлорид кадмію, який хронічно надходив в організм у надлишковій кількості, має виразну остеотропну дію.

Зміни в морфологічній будові суглобового хряща головки нижньої щелепи хронічного введення хлориду кадмію визначались у порушенні архітектури радіальних шарів колонок хондроцитів та порушень зональності суглобового хряща. Гістологічні дослідження виявили затримку диференціації хондробластів, набряках клітин хряща та затримку диференціювання ізогенних клітин на тлі розшарування сполучної тканини в експерименті на щурах.

Аналіз морфологічних показників крові дослідних тварин виявив, що при навантаженні кадмієм відбувається зниження кількості еритроцитів, лейкоцитів та рівня гемоглобіну в хронічному експерименті на щурах.

Результати експериментального дослідження опубліковано[208, 209, 210, 211]:

Нефьодова О.О., Шевченко О.С. Оцінка впливу поллютанта хлориду кадмію на морфофункціональний стан нижньої щелепи щура в експерименті / Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2023; 16(34): 942-957.

Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Зміни морфологічних структур стегнової кістки щурів під впливом хронічної інтоксикації хлоридом кадмію. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. Pp. 178-181.

Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Дослідження змін морфологічних показників крові щурів за тривалого кадмієвого навантаження. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції " Наука, освіта, технології та

суспільство в ХХІ столітті: наукові ідеї та механізми реалізації", 30 січня 2024 року, Полтава – С. 27-29.

Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Зміни морфологічних структур стегнової кістки щурів під впливом хронічної інтоксикації хлоридом кадмію. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. Pp. 178-181.

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ КОМБІНОВАНОГО ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ З СУКЦИНАТАМИ ЗАЛІЗА ТА ЦИНКУ НА МОРФОЛОГІЧНІ СТРУКТУРИ СТЕГНОВОЇ КІСТКИ ТА НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ ЩУРІВ

Пошук і виявлення речовин, що мають модифікуючий вплив на токсичність важких металів дозволять розширити наукові дані для розробки нових ефективних методів захисту, профілактики з та лікування. Невідкладність вирішення цієї проблеми полягає в комплексному підході, що охоплює як медичні, так і біологічні та екологічні аспекти досліджень.

В нашому експериментальному дослідженні проводилось виявлення можливих потенційних біоантагоністичних властивостей солей бурштинової кислоти щодо зниження рівня токсичності хлориду кадмію при їх одночасному (комбінованому) надходженні в організм.

5.1. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку на морфогенез стегнової кістки щура в експерименті

Як і в попередніх аналізах масометричних показників, нами визначались відносні маси самої стегнової кістки до маси тварини, які є більш інформативним матеріалом для порівняння між групами комбінованого та ізольованого введення та до контрольної групи. Терміни отримання зразків відбувалися також на 14-тій, 20-тій та 30-тій добі експерименту. Аналізуючи вагові показники стегнової кістки для порівняння з групами контролю та групою ізольованого впливу хлоридом кадмію нами розраховувався індекс маси стегнової кістки (ІМК) на всіх термінах дослідження (рис.5.1). Як зазначалося вище, в контрольній групі на всіх трьох термінах забору зразків маса кістки збільшувалась з 14-тої доби до 30-

тої. В групі ізольованого впливу хлоридом кадмію маса кістки була недостовірно нижчою за контрольні показники на всіх термінах дослідження.

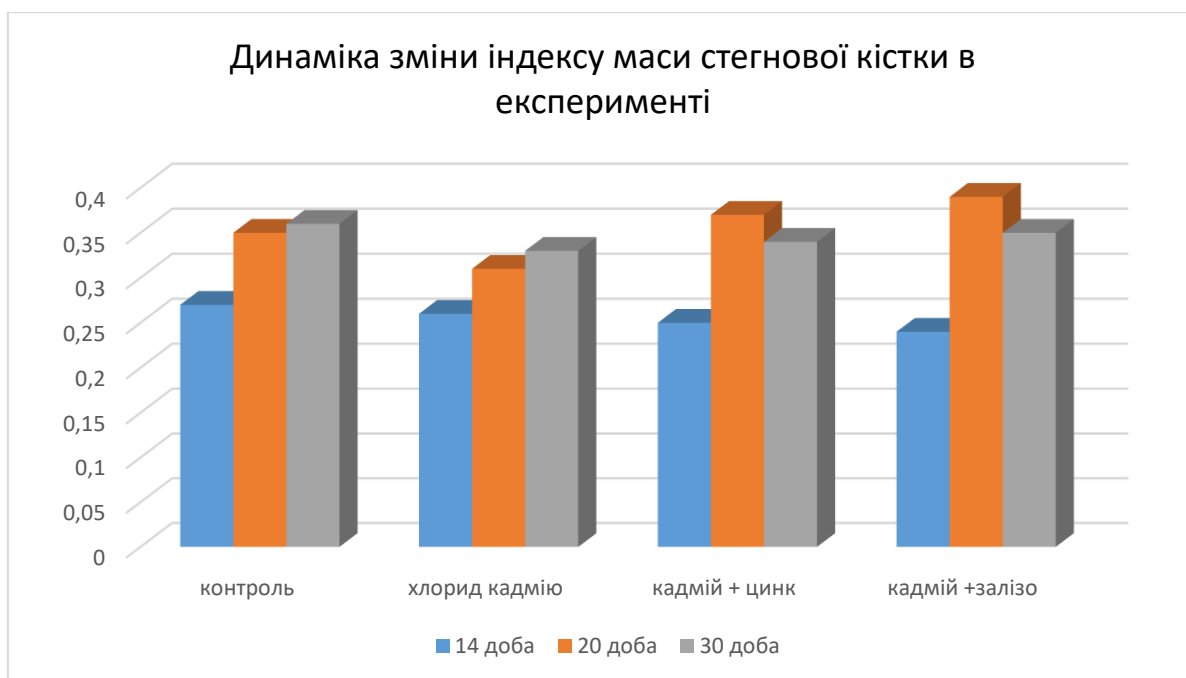


Рис. 5.1. Динаміка зміни показнику індексу маси стегнової кістки в усіх експериментальних групах на трьох термінах дослідження.

Комбіноване введення хлориду кадмію з сукцинатом цинку викликало зниження вагових показників стегнової кістки на 14-ту добу експерименту, на 20-тій добі маса збільшувалась вище контролю, а на 30-ту добу знову зменшувалась як і при ізольованому впливі хлоридом кадмію. Аналогічна тенденція зміни вагових показників стегнової кістки спостерігалась і в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза. На 12-тій добі маса кістки в цій групі була найнижчою, на 20-тій добі найвищою серед усіх груп, а на 30-ту добу, тобто наприкінці експерименту максимально наближалась до контрольних показників. Зміни вагових показників демонструє розрахований індекс маси кістки, який дозволяє виявити динаміку цих змін, при цьому враховуються можливі зміни в вагових показниках самих щурів, які підлягали впливу досліджуваних речовин, тобто отримували інтоксикацію (рис.5.1). Таким чином, комбіноване введення сукцинатів

заліза та цинку має модифікуючу дію на остеотоксичність кадмію при їх комбінованому надходженні в організм в експериментах на щурах.

Гістологічне дослідження зразків стегнової кістки включало, як і в попередніх дослідженнях, аналіз кісткової тканини діяфізу та кісткової і хрящової тканини головки стегнової кістки в групах комбінованого впливу. Аналіз та порівняння структур кісткової тканини в групах комбінованого впливу сукцинатів цинку та заліза з хлоридом кадмію показали наступне (рис.5.2).



Рис.5.2. Кісткова тканина діяфізу стегнової кістки щура групи комбінованого впливу хлоридом кадмію та сукцинатом заліза на 20-тій добі експерименту: зберігаються ділянки гіпомінералізованої компактної речовини. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

В кістковій тканині діяфізу стегнової кістки визначаються незначні ділянки гіпомінералізації як при комбінації кадмію з сукцинатом цинку, так і при комбінації з сукцинатом заліза. Проте, їх розміри та кількість значно менші за групу ізольованого впливу хлоридом кадмію, що свідчить про модифікуючий вплив сукцинатів на негативну дію кадмію на кісткову

тканину. В групі комбінації з сукцинатом цинку не визначалось набряку остеоцитів та вогнищевих пікнотичних змін, в той час як при комбінованому введенні кадмію з сукцинатом заліза спостерігались поодинокі набряки остеоцитів.

Визначались і зміни морфометричних показників кісткової тканини діафізу стегнової кістки: товщина окістя при ізольованому впливі кадмієм мала тенденцію до зниження на всіх термінах спостереження. В групах комбінованого впливу з сукцинатами металів даний показник мав тенденцію відновлення у бік контрольних даних. Так, в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза показник товщини окістя становив на 14-ту добу експерименту $16,851 \pm 1,412$ мкм, що було нижче за контрольні показники, проте недостовірно вище за дані при ізольованому введенні кадмію, а на 20-тій і на 30-тій добі не мали достовірної різниці між собою та у порівнянні до групи контролю. А в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку товщина окістя знижувалась лише на початку експерименту і становила $17,451 \pm 1,832$ мкм, потім показник відновлювався до контрольних показників - $18,101 \pm 1,941$ мкм на 20-ту добу та $18,745 \pm 1,893$ мкм на 30-тій добі дослідження. Такі показники не мали достовірної різниці з контролем і свідчать про модифікуючий вплив сукцинату цинку на токсичність кадмію щодо будови кісткової тканини стегнової кістки при їх одночасному надходженні в зазначених дозах в експерименті на щурах.

Динаміка змін показника товщини окістя в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза на трьох термінах дослідження була наступна. На 14-ту добу експерименту показник товщини окістя не мав достовірної різниці з групою ізольованого впливу кадмієм - $16,851 \pm 1,412$ мкм, на 20-ту добу - $17,314 \pm 2,211$ мкм, тобто не мав достовірної різниці з контролем. Наприкінці експерименту, 30-та доба товщина окістя становила - $17,892 \pm 1,920$ мкм, що було нижче за контроль, але достовірно вище за показник при ізольованому введенні кадмію. Таким чином, аналіз та порівняння середніх значень показника товщини окістя в групах

комбінованого введення кадмію з сукцинатами металів доводять модифікуючий вплив сукцинатів на дію кадмію при ізольованому введенні. Товщина окістя в групах комбінації відновлювалась до контрольних значень, незважаючи на той факт, що кадмій продовжував надходити в організм дослідних тварин в тій самій дозі, що і в групі ізольованого введення.

Наступним морфометричним показником стану стегнової кістки була товщина стінки діафізу. Як зазначалось вище, на 14-ту добу товщина стінки стегнової кістки в контролі дорівнює в середньому $349,631 \pm 12,502$ мкм, а при ізольованому впливі кадмієм недостовірно зменшується до $341,348 \pm 14,480$ мкм. На 20-ту добу в контролі показник товщини дорівнював $367,721 \pm 14,303$ мкм, а в групі впливу кадмієм продовжувалось витончення стінки – $320,799 \pm 13,711$ мкм, а на 30-тій добі вплив кадмієм призводив до ще більшого витончення стінки стегнової кістки до $311,412 \pm 12,894$ мкм (контроль- $371,411 \pm 11,437$ мкм). В групах комбінованого введення кадмію з сукцинатами цинку або заліза можна констатувати відновлення товщини діафізу стегнової кістки в експерименті на щурах. При комбінації кадмію з сукцинатом цинку вже на 14-ту добу дослідження не визначалось зниження показнику в порівнянні до контролю - $351,427 \pm 12,741$ мкм, на 20-тій добі показник становив $359,433 \pm 13,722$ мкм, а наприкінці експерименту - $374,381 \pm 14,596$ мкм. При комбінації з сукцинатом заліза також спостерігалось відновлення досліджуваного показника у бік до контрольних значень. 14-та доба: $342,125 \pm 10,311$ мкм, 20-та доба - $331,215 \pm 12,731$ мкм, 30-та доба - $353,427 \pm 17,841$ мкм. Результати в цій експериментальній групі були недостовірно нижче за контрольні, проте достовірно перевищували показники групи ізольованого впливу кадмієм. Отримані результати доводять модифікуючий вплив сукцинатів цинку та заліза на остеогенез стегнової кістки при комбінованому введенні в зазначених дозах з хлоридом кадмію в експерименті на щурах.

Як і в групі кадмієвої інтоксикації, в групах комбінованого впливу з сукцинатами металів на 20-ту та 30 добу експерименту визначався високий

рівень кровонаповнення судин кісткової тканини в зрізах діафізу стегнової кістки, що підтверджує гіпоксичний стан в організмі і навіть в кістковій тканині. (рис.5.3)



Рис. 5.3. Кісткова тканина діафізу стегнової кістки щура групи комбінованого впливу хлоридом кадмію з сукцинатом цинку на 30-тій добі експерименту: високий рівень кровонаповнення кісткових судин. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Посилення васкулогенезу під час експериментального впливу кадмієм та сукцинатами заліза і цинку визначалось також і в червоному кістковому мозку голівки стегнової кістки. Кровотворна функція червоного кісткового мозку вимагає наявності заліза для утворення еритроцитів, які синтезують необхідне для функціонування транспорту газу включення – гемоглобін. Найбільше посилення васкуляризації червоного кісткового мозку очікувано визначалось в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза (рис.5.4). Судини кісткової тканини мали синусоїдальні розширення, високий рівень кровонаповнення. Кістковий мозок перебуває у медулярній порожнини і у перитрабекулярних просторах. Загально відомо, що тіла

хребців, кістки таза, дистальні відділи стегнових кісток переважно складаються з трабекулярної тканини.

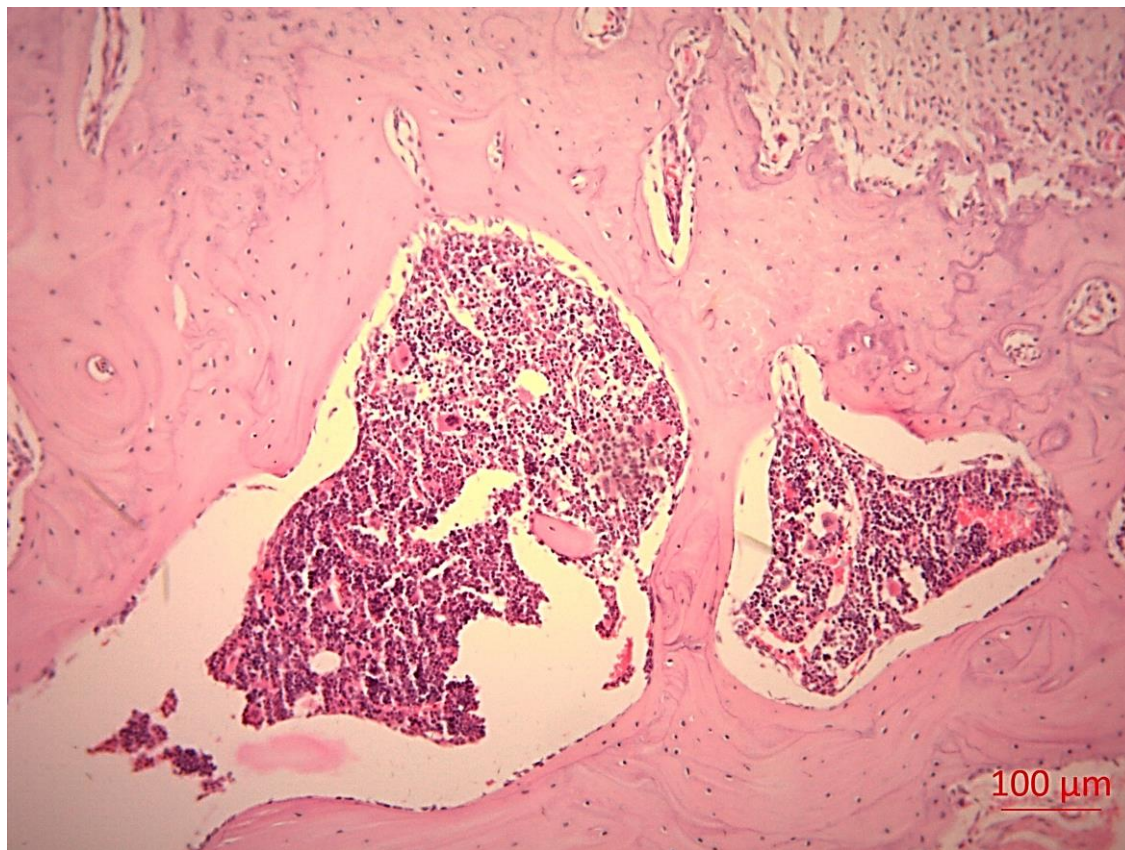


Рис. 5.4. Червоний кістковий мозок голівки стегнової кістки щура групи комбінованого впливу хлоридом кадмію з сукцинатом заліза на 20-тій добі експерименту: високий рівень кровонаповнення та розширення судин медулярної частини кістки. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Проте, в групах комбінованого введення майже не визначався набряк остеоцитів, який був присутній в кістковій тканині стегнової кістки при ізольованому впливі кадмієм. Втрата кальцію тканиною кістки, що виявлялась у вигляді гіпомінералізованих ділянок при впливі кадмієм, визначалась лише на 30-тій добі експерименту, тобто після довготривалого введення досліджуваних речовин і кількість та площа гіпомінералізованих ділянок була значно меншою у порівнянні до групи впливу кадмієм. На рисунку 5.5 представлено подовжній зріз стегнової кістки щура 30-тої доби групи комбінованого впливу хлоридом кадмію з сукцинатом цинку, де майже

не визначається набряк остеоцитів, порушення щільності самої тканини кістки мінімальне у порівнянні до групи ізольованого впливу кадмієм.

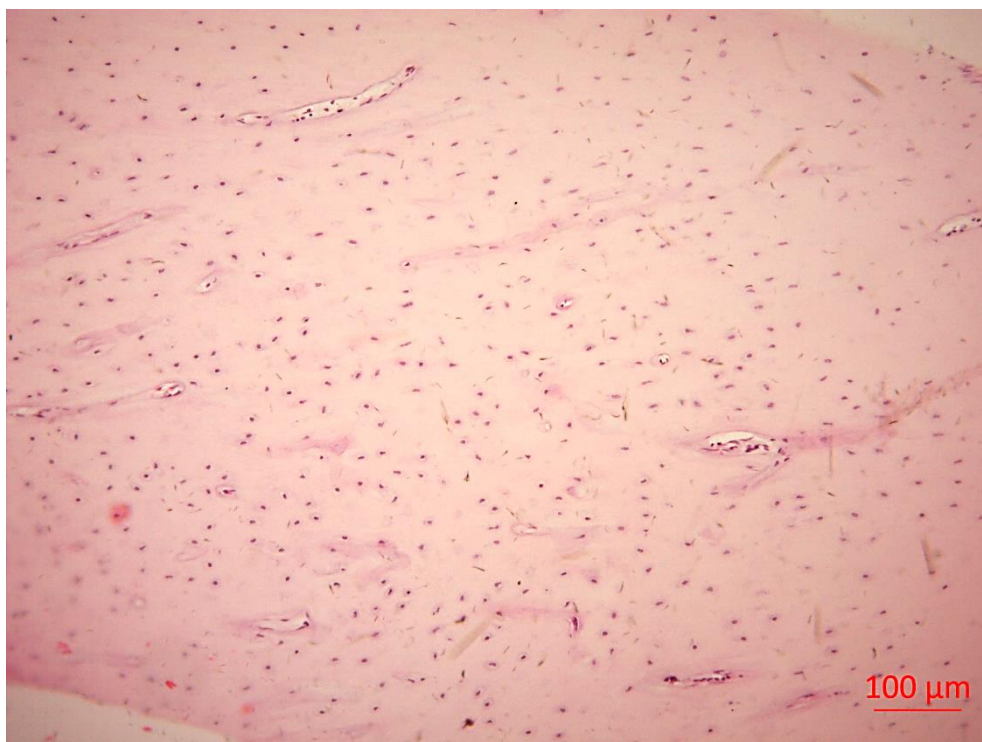


Рис. 5.5. Кісткова тканина діафізу стегнової кістки щура групи комбінованого впливу хлоридом кадмію з сукцинатом цинку на 30-тій добі експерименту. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Таким чином, експериментально визначено, що комбіноване введення сукцинатів цинку та заліза знижує негативний вплив хлориду кадмію на гістологічні структури діафізу стегнової кістки.

Наступним напрямком гістологічних досліджень було визначення морфологічних змін в будові хрящової тканини суглобової поверхні головки стегнової кістки в групах комбінованого введення. При ізольованому впливі хлоридом кадмію визначались ознаки реакції хрящової тканини на гіпоксичний стан суглобового хряща головки стегнової кістки у вигляді розширених судин з високим рівнем кровонаповнення. Наприкінці експерименту вплив хлориду кадмію призводив до збільшення некротизованих хондроцитів та виявлення порожніх лакун, які не містять клітин, визначався набряк хондроцитів і порушувалась і радіальна архітектура ланцюжків хондроцитів хряща з розростанням сполучної

тканини. В групах комбінованого введення сукцинатів з хлоридом кадмію зазначені зміни хрящової тканини мали слабо виражений характер і на 20-ту добу експерименту майже не визначались (рис. 5.6).

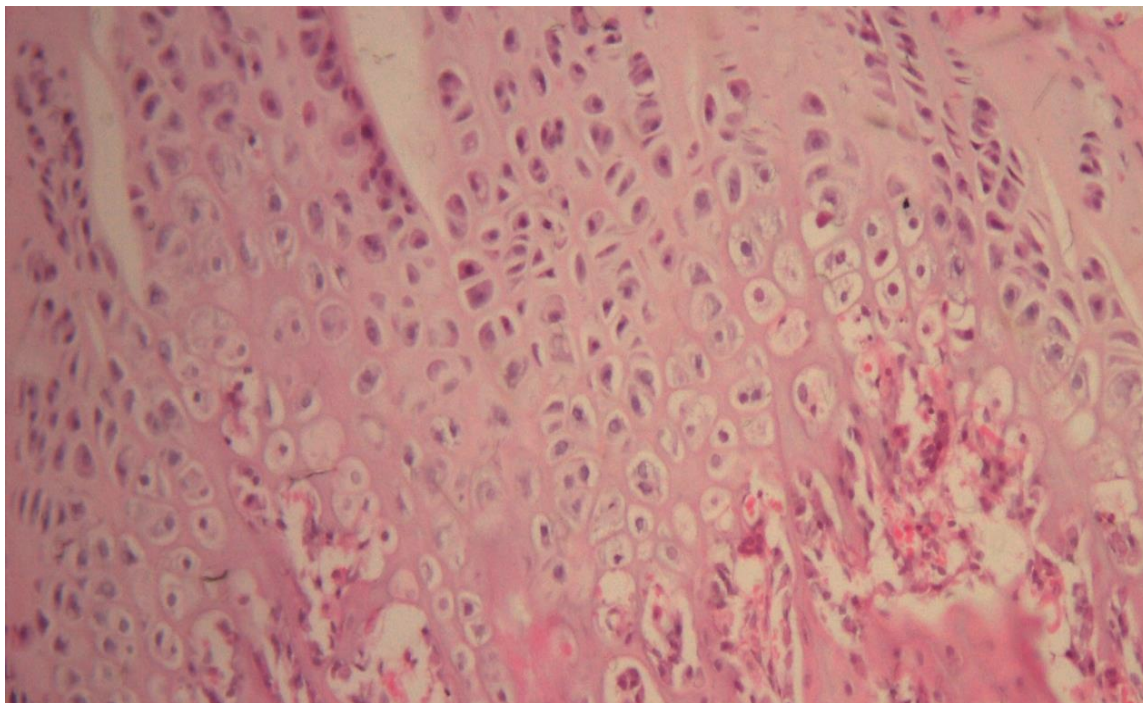


Рис. 5.6. Хрящова тканина голівки стегнової кістки щура групи комбінованого впливу хлоридом кадмію з сукцинатом заліза на 20-тій добі експерименту. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 40.

На 30-ту добу дослідження в хрящовій тканині головки стегнової кістки при комбінованому введенні не порушувалась загальна архітектура зональності хрящової тканини, або порушення носили поодинокий характер. В хрящовій тканині суглобового хрящу нами виявлено незначні зміни: в деяких ділянках знижена щільність хондроцитів, а прилегла новостворена кісткова тканина мала підвищену щільність остеоцитів.

Отримані дані підтверджують зниження негативного впливу хлориду кадмію на кісткову та хрящову тканину стегнової кістки при комбінованому введенні з сукцинатами заліза та цинку в хронічному експерименті на щурах.

5.2. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку на морфогенез нижньої щелепи щура в експерименті

Аналіз та порівняння масометричних показників нижньої щелепи щурів в дослідних групах комбінованого впливу проводився у порівнянні не лише до контрольної групи, а і до групи ізольованого введення хлориду кадмію. Терміни отримання зразків відбувалися як і в попередніх дослідженнях на 14-тій, 20-тій та 30-тій добі експерименту. Аналізуючи вагові показники нижньої щелепи нами розраховувався індекс маси кістки (ІМК) на всіх термінах дослідження (рис.5.7). Як зазначалося вище, в контрольній групі на всіх трьох термінах забору зразків маса кістки збільшувалась з 14-тої доби до 30-тої.

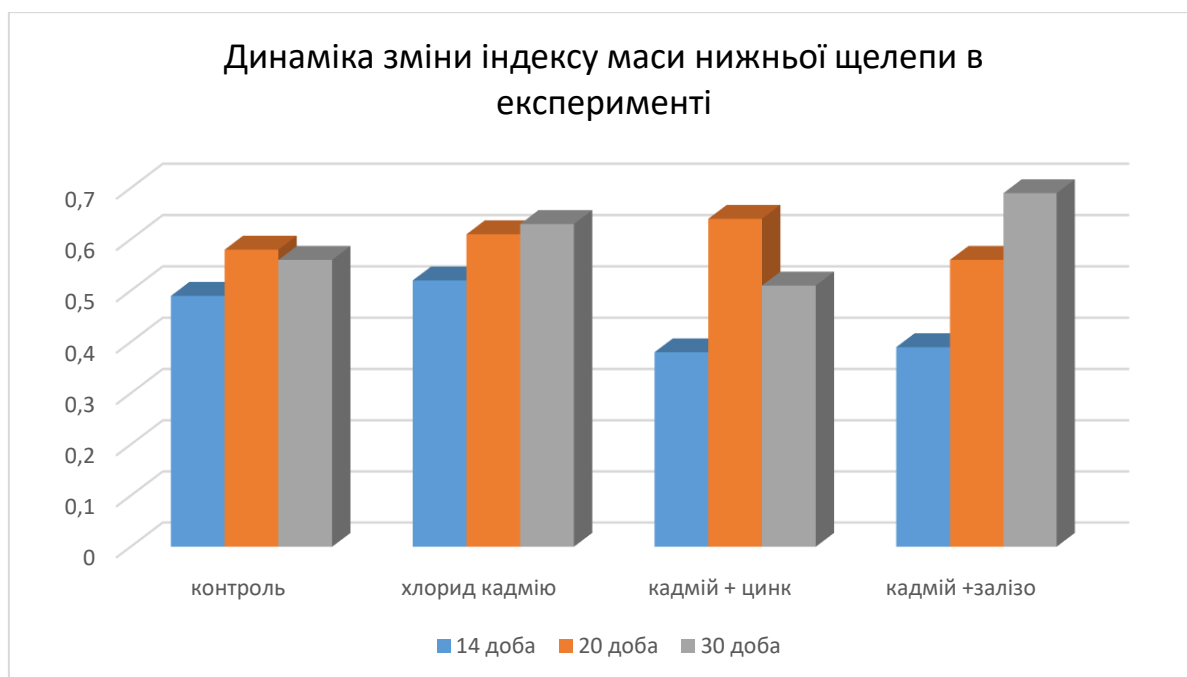


Рис. 5.7. Динаміка зміни показнику індексу маси нижньої щелепи в усіх експериментальних групах на трьох термінах дослідження.

В групі ізольованого впливу хлоридом кадмію маса нижньої щелепи зростала відносно контрольних показників, що продемонстрували

розрахунок і порівняння ІМК. В групах комбінованого введення на 14-ту добу неочікуваними стали результати масометричних аналізів нижньої щелепи. При комбінованому введенні з хлоридом кадмію і сукцинату цинку або сукцинату заліза достовірно зменшувалась ($p \leq 0,05$) маса нижньої щелепи навіть у порівнянні до контролю. На 20-ту добу експериментального введення досліджуваних речовин маса нижньої щелепи в групах комбінації зростала по різному. В групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом цинку перевищувала контрольні показники, а в комбінації з сукцинатом заліза була недостовірно нижчою за контрольні дані, що демонструє ІМК (рис.5.7). На 30-ту добу експерименту в групі комбінованого введення кадмію з цинком визначалось достовірно зменшення маси кістки нижньої щелепи в порівнянні і до контролю і до групи ізольованого впливу кадмієм, а в групі комбінації кадмію з сукцинатом заліза визначався найвищий показник зростання маси в експерименті (рис. 5.7).

Остеометричні вимірювання анатомічних структур нижньої щелепи та різця всіх груп експериментальних тварин та порівняння отриманих числових показників продемонстрували недостовірно зростання показників на всіх термінах експерименту в порівнянні до контролю. Так, максимальна довжина щелепи, висота гілки, висота тіла щелепи та висота альвеолярного відростка не мали достовірної різниці. Вимірювання та порівняння висоти різця нижньої щелепи також продемонстрували недостовірно зростання показника в усіх дослідних групах.

Таким чином, визначено модифікуючий вплив сукцинатів цинку та заліза на негативну дію хлориду кадмію на рівні аналізу масометричних даних та розрахування індексу маси кістки нижньої щелепи щурів в хронічному експерименті.

Для виконання завдань і мети експериментальної роботи, нами проводились гістологічні дослідження кісткової та хрящової тканини нижньої щелепи в групах комбінованого введення досліджуваних речовин. Як і в попередніх дослідженнях з ізольованого впливу кадмієм, нами

досліджувалась також субхондральна кісткова тканина в області головки нижньої щелепи. В групах комбінації кадмію з сукцинатами субхондральна кісткова тканина поверхні головки нижньої щелепи представлена кістковими трабекулами, які мали нормальну щільність, не містили руйнувань, проте високий рівень кровонаповнення судин зберігався досить виразно (рис.5.8).

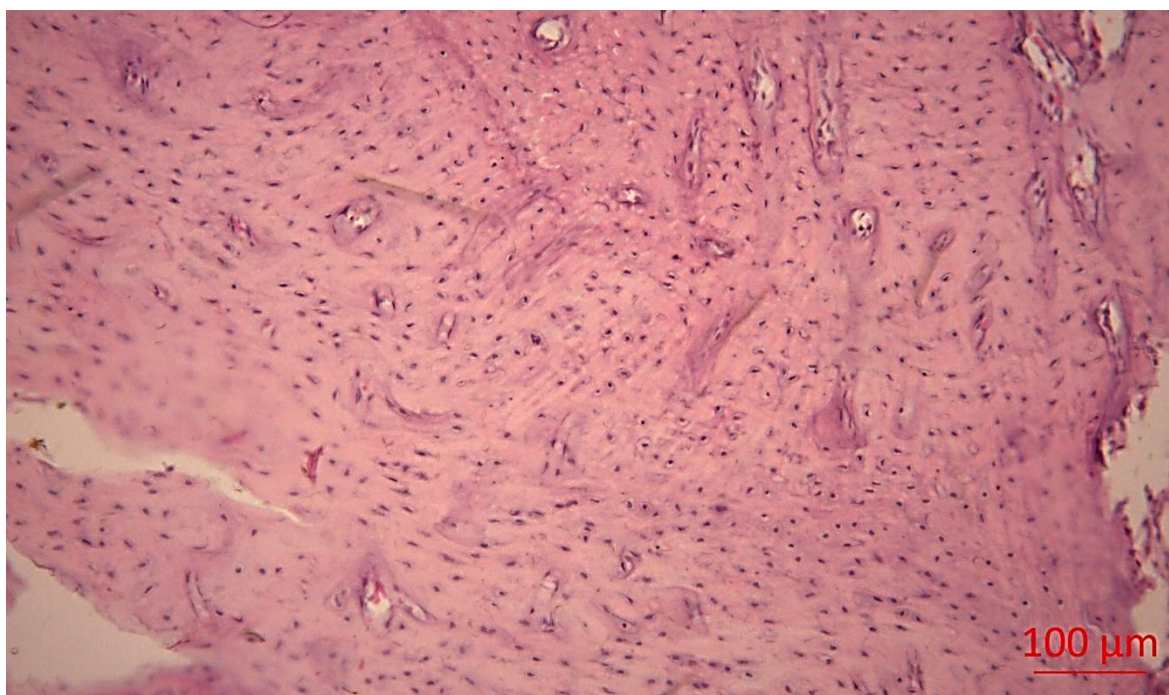


Рис.5.8. Зріз головки нижньої щелепи щура групи впливу комбінованого впливу хлоридом кадмію та сукцинатом заліза на 20-ту добу експерименту. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Якщо при ізольованому впливі хлоридом кадмію відстежувалось зниження щільності кісткових трабекул в області субхондральної кістки з порушенням будови самих кісткових трабекул і набряком остеоцитів, то в групах комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза означені зміни проявлялись у меншому ступеню вже на 14-тій добі експерименту, а на 30-ту добу архітектура кісткової тканини за всіма досліджуваними параметрами відповідала контрольним показникам. Зберігався виразно лише високий рівень кровонаповнення судин кісткової та хрящової тканини (рис.5.9).



Рис.5.9. Зріз кісткової тканини головки нижньої щелепи щура групи впливу комбінованого впливу хлоридом кадмію та сукцинатом цинку на 30-ту добу експерименту. Високий рівень кровонаповнення судин кістки. Зabarвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Як зазначалося вище, у порожнинах і комірках кісткової тканини головки нижньої щелепи міститься червоний кістковий мозок, який є джерелом кровотворення і містить гемопоетичні острівці. Строма, як і в головці стегнової кістки складається з кісткових балок та ретикулярної тканини, в якій розташовані власні кровоносні судини та синусоїдні капіляри, що містять гемопоетичні клітини на різних стадіях диференціювання (рис.5.10). В групах комбінованого введення кадмію з сукцинатами цинку та заліза визначались вогнища посиленої остеокластичної резорбції з наявністю великої кількості остеобластів. При збереженні дрібночарункової структури губчастої кістки, визначаються ознаки перебудови кісткових балок. Таким чином, комбіноване введення сукцинатів

цинку та заліза з хлоридом кадмію зменшують негативний вплив на кісткову тканину у порівнянні до ізолюваного впливу кадмієм.

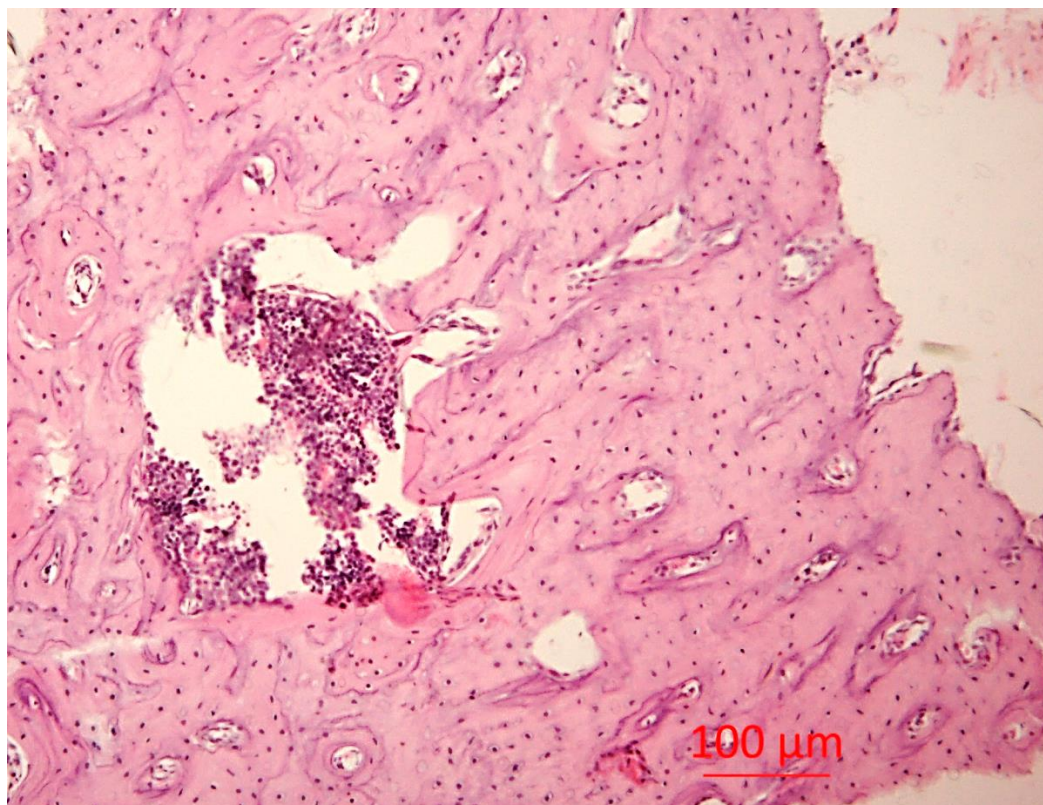


Рис.5.10. Зріз кісткової тканини головки нижньої щелепи щура групи впливу комбінованого впливу хлоридом кадмію та сукцинатом цинку на 30-ту добу експерименту. Трабекули кісткової тканини з судинами та червоний кістковий мозок. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Зб. 10 x 10.

Дослідження стану хрящової тканини головки нижньої щелепи в групах комбінованого введення показали наступне. Якщо ізолюваний вплив хлориду кадмію провокував появу невеликих ділянок без хондроцитів та неоднорідне забарвлення матриксу, що може свідчити про порушення біосинтезу макромолекул та втрату нижньою щелепою кальцію і нерівномірність осифікації. При комбінованому впливі з сукцинатами зустрічались вже на 14-ту та 20-ту добу експерименту ознаки гістоструктурних відновлень хондроцитів, зменшення порожнин резорбції, відновлення архітектури тканини без порожніх лакун хрящової тканини. Таким чином, органометричні та гістоморфометричні показники нижньої

щелепи за умов хронічної дії на організм комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатами цинку та заліза засвідчують відновлення структурних змін хрящової тканини, які характеризуються відновленням росту досліджуваних тканин, гальмуванням резорбтивних процесів у кістковій та хрящовій тканині, нормалізацією мінералізації та архітектурної будови суглобового хряща в експерименті на щурах.

5.3. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами цинку та заліза на морфологічні показники крові щурів в хронічному експерименті

Для виконання завдань наших експериментальних досліджень, проведено аналіз динаміки показників крові при хронічному ізольованому введенні хлориду кадмію та у комбінованому впливі кадмію з сукцинатами заліза та цинку у порівнянні до контрольних показників. Як і в попередніх дослідженнях нами визначались зміни числа еритроцитів, лейкоцитів та вміст гемоглобіну, які є важливими показниками реакції організму на дію негативних чинників навколишнього середовища.

Аналіз та порівняння кількості еритроцитів продемонстрував наступне. Якщо в групі ізольованого впливу визначалась еритропенія на всіх трьох термінах дослідження, то в групах комбінованого впливу спостерігалось відновлення кількості майже до контрольних значень. Такі показники свідчать про біоантагонізм сукцинатів цинку та заліза на негативну дію кадмію (рис.5.11). Найвищими біоантагоністичними властивостями за даним показником володіє сукцинат заліза.

Наступний досліджуваний показник - кількість лейкоцитів в крові дослідних тварин. Цей показник і групі ізольованого впливу кадмієм продемонстрував лейкопенію, бо зниження його було досить суттєвим у 1,2 та 1,4 рази нижче контрольних показників.

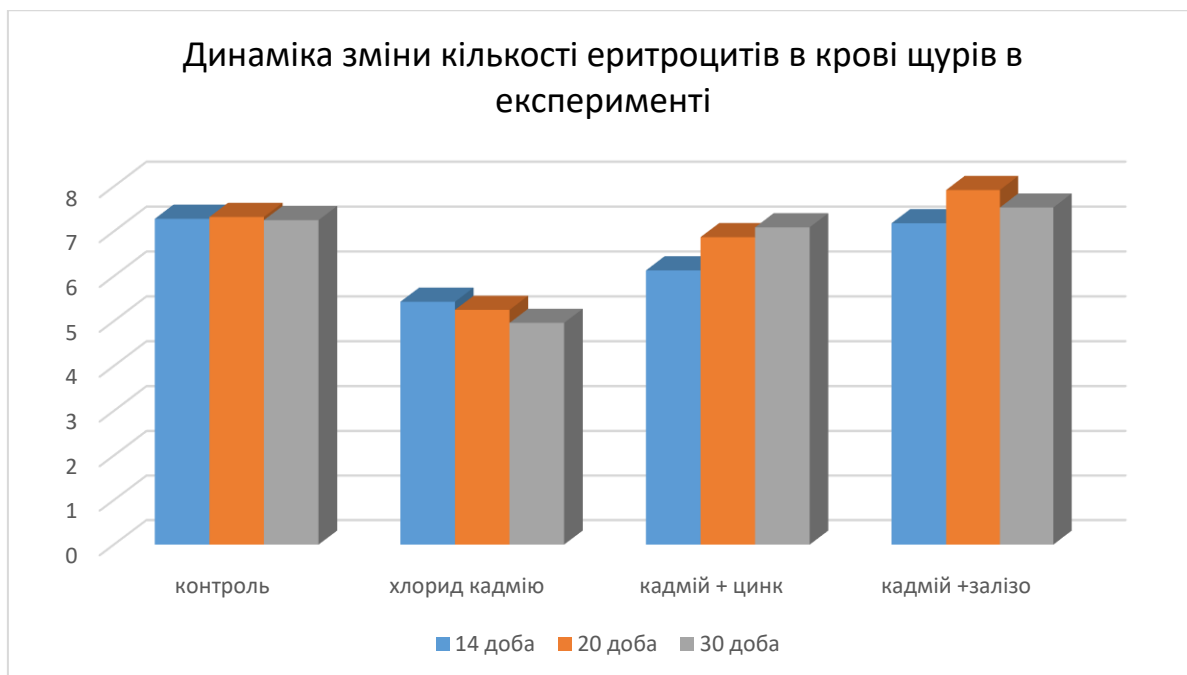


Рис.5.11. Динаміка зміни кількості еритроцитів і крові щурів всіх експериментальних груп на 14-ту, 20-ту та 30-ту добу експерименту.

В групах комбінованого введення кадмію з сукцинатами цинку та заліза кількість лейкоцитів помітно відновлювалось у бік до контрольних значень впродовж експерименту у порівнянні до групи ізольованого впливу кадмієм (рис.5.12). На 14-ту добу кількість лейкоцитів при ізольованому впливі кадмієм була нижча за контроль у 1,2 рази, а в групі комбінованого впливу з сукцинатом цинку в 1,07 разів. Трохи нижчий був показник в групі комбінованого впливу з сукцинатом заліза. Наприкінці експерименту на 30-ту добу кількість лейкоцитів в крові щурів групи комбінованого впливу кадмію та сукцинату цинку не мала достовірної різниці з контрольними показниками, що свідчить про біоантагоністичні властивості сукцинату цинку до токсичної дії хлориду кадмію в хронічному експерименті на щурах.

Наступним показником аналізу крові дослідних тварин був аналіз гемоглобіну (рис.5.13).

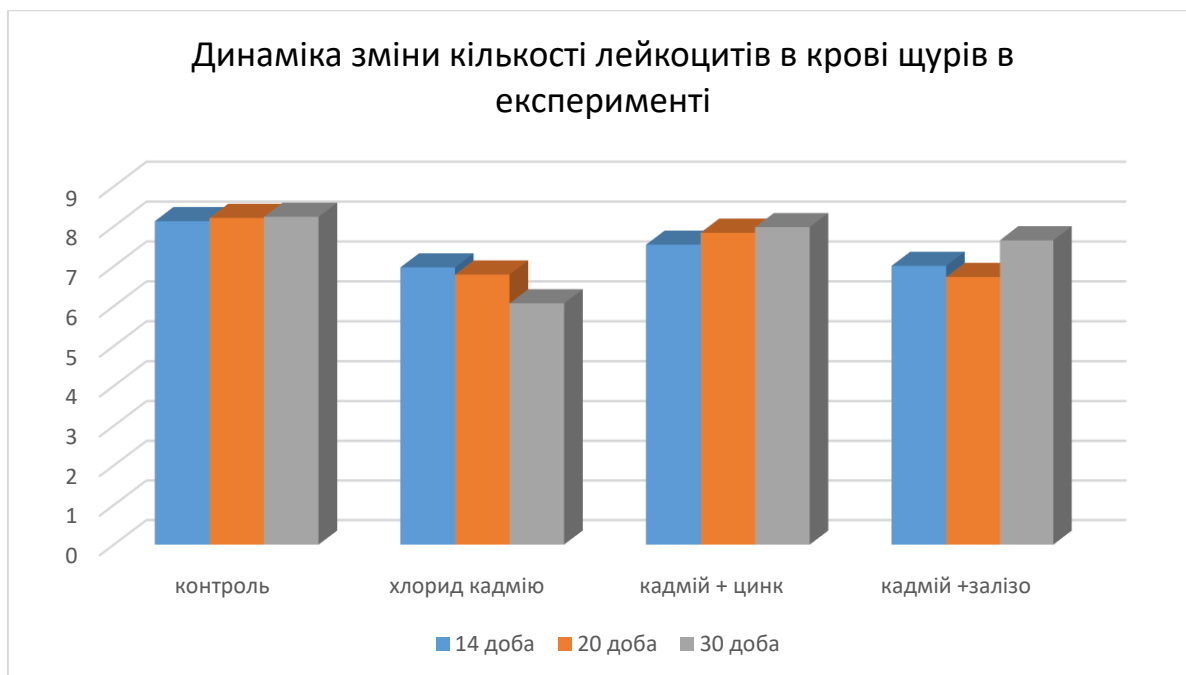


Рис. 5.12. Динаміка зміни кількості лейкоцитів і крові щурів всіх експериментальних груп на 14-ту, 20-ту та 30-ту добу експерименту.

При ізольованому введенні кадмію на 14-ту добу експерименту встановлено збільшення рівня гемоглобіну на 20,2 % відносно контрольної групи, а на 20-тій добі показник знижувався, але перевищував контрольні дані. Зниження рівня гемоглобіну на 30-ту добу до $99,8 \pm 1,24$ г/л було найбільшим (контроль $110,7 \pm 0,78$ г/л). Така зміна рівня гемоглобіну у крові дослідної групи ізольованої інтоксикації кадмієм корелювала зі зниженням кількості еритроцитів в крові щурів. В групах комбінованого впливу кадмію з сукцинатами металів визначалось відновлення показнику рівня гемоглобіну до контрольних показників, при цьому найвищий рівень відновлення визначався в групі комбінації кадмію з сукцинатом заліза (рис.5.13).

Таким чином, комбіноване введення сукцинатів заліза та цинку з кадмієм призводить до відновлення показників крові у бік контрольних даних, що свідчить про позитивний вплив сукцинатів на кровотворну функції червоного кісткового мозку та морфо-функціональний стан судинної системи і обмінні процеси в хронічному експерименті на щурах.

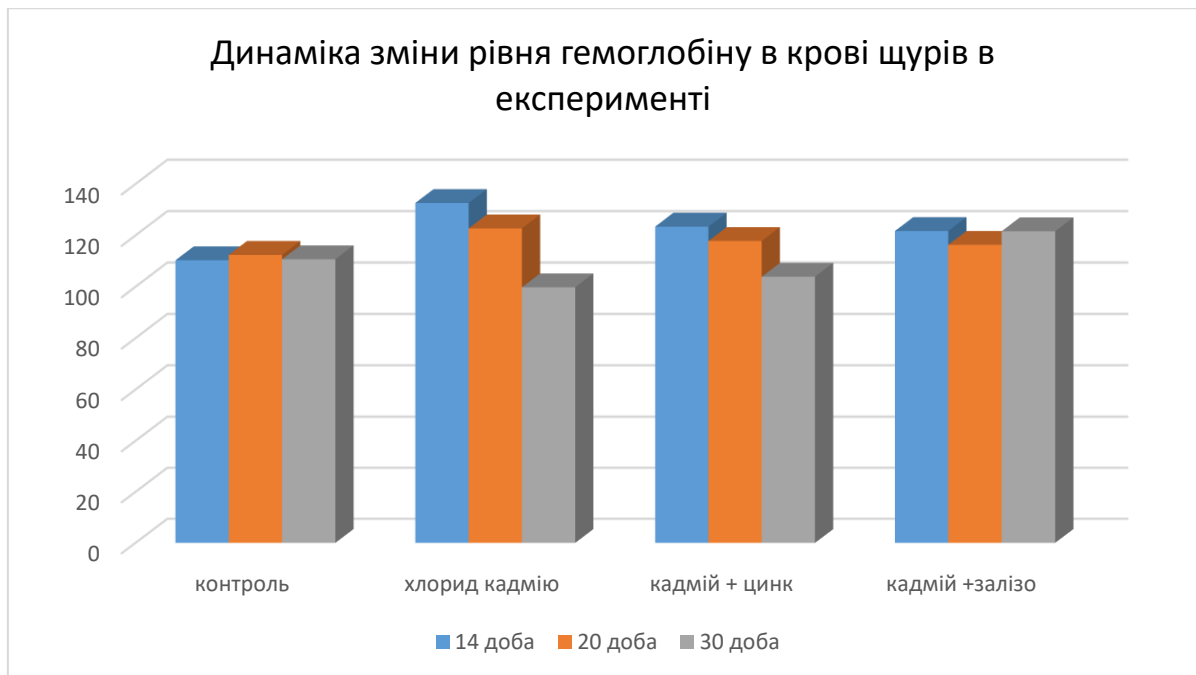


Рис. 5.13. Динаміка зміни рівнів гемоглобіну в крові щурів всіх експериментальних груп на 14-ту, 20-ту та 30-ту добу експерименту.

Отримані результати досліджень дають можливість стверджувати, що навантаження кадмієм призводить до зміни морфологічного складу крові щурів, на що вказує зміни кількості еритроцитів, лейкоцитів та рівня гемоглобіну, а комбіноване введення тієї ж дози кадмію хлориду з сукцинатами цинку та заліза відновлює досліджувані показники в хронічному експерименті на щурах.

Висновки за розділом.

Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку на морфогенез стегнової кістки щура довів відновлення вагових показників стегнової кістки, що було підтверджено розрахуванням показнику індексу маси стегнової кістки. Відновлювались показники товщини окістя та товщини стінки діафізу стегнової кістки.

Відновлення гістологічної структури кісткової тканини під впливом комбінованого введення кадмію з сукцинатами цинку та заліза проявлялось

зниженням кількості набряків остеоцитів, зниженням рівня гіпомінералізованих ділянок у порівнянні до групи ізольованого впливу кадмієм.

Комбіноване введення сукцинатів заліза та цинку з хлоридом кадмію призводить до відбудови загальної архітектури хрящової тканини та щільності хондроцитів головки стегнової кістки.

Комбіноване введення сукцинатів цинку та заліза з хлоридом кадмію зменшують негативний вплив на кісткову тканину нижньої щелепи щурів у порівнянні до ізольованого впливу кадмієм

Органометричні та гістоморфометричні показники нижньої щелепи за умов хронічної дії на організм комбінованого впливу хлориду кадмію з сукцинатами цинку та заліза засвідчують відновлення структурних змін хрящової тканини нижньої щелепи, які характеризуються відновленням росту досліджуваних тканин, гальмуванням резорбтивних процесів у кістковій та хрящовій тканині, нормалізацією ступеню мінералізації та архітектурної будови суглобового хряща в експерименті на щурах.

Аналіз морфологічних показників крові дослідних тварин виявив, що при комбінованому впливі кадмієм з сукцинатами цинку та заліза відбувається відновлення у бік до контрольних показників кількості еритроцитів, лейкоцитів та рівня гемоглобіну в хронічному експерименті на щурах.

Результати експериментального дослідження опубліковано:

- 1 Нефьодова О.О., Шевченко О.С., Шевченко І.В., Кушнарєва К.А. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку на морфологічні структури стегнової кістки та нижньої щелепи щурів. «Перспективи та інновації науки» (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2024; №3(37):1419-1435.
- 2 Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Експериментальна корекція сукцинатами цинка кадмієвої інтоксикації в нижній щелепі щурів.

Abstracts of XIII International Scientific and Practical Conference.
Madrid, Spain. Pp. 216-217. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/modern-ways-of-development-of-science-and-the-latest-theories/>

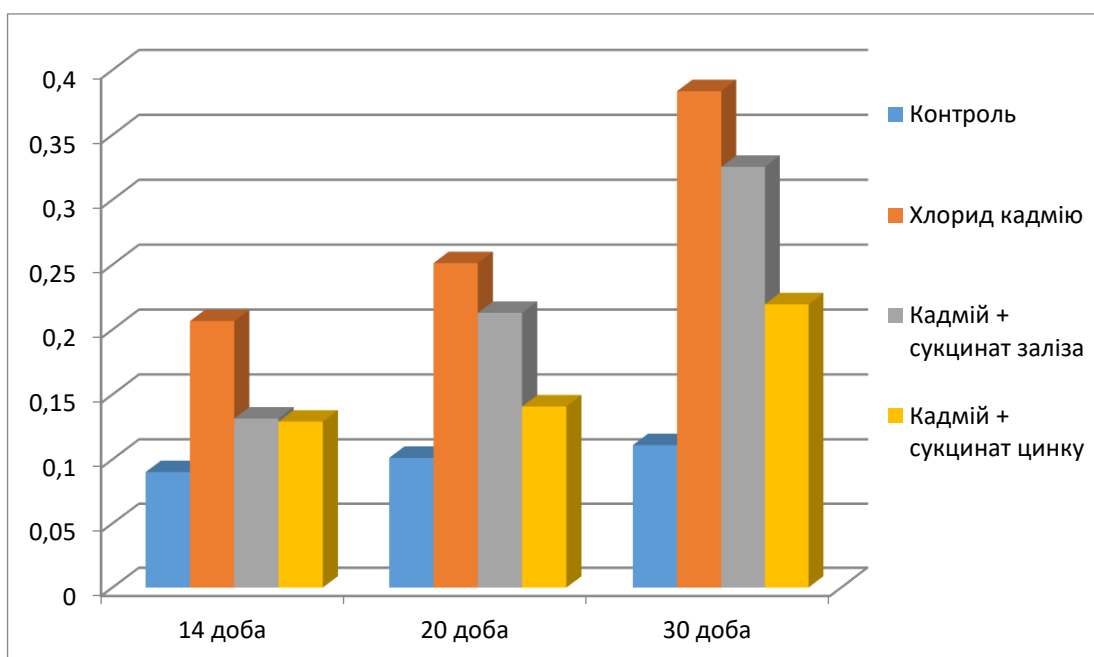
РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Властивості і стан кісткової тканини, такі як її міцність та твердість, залежать від мінерального складу кістки [212, 213]. Упродовж різних етапів онтогенезу мінеральний склад кісткової тканини змінюється, в результаті чого змінюються і механічні властивості кісток, які з віком втрачають еластичність і гнучкість, але стають більш твердими та міцними [214]. Вплив різних чинників як екзогенного і ендогенного походження на морфо-функціональний стан та мінеральний склад кістки є причиною розвитку численних патологічних станів кісткової системи, які призводять до суттєвого зниження якості життя сучасної людини і мають високий ступінь інвалідизації [215]. Архітектоніка кісткової тканини - це індивідуальна інтегральна відповідь кістки на напруження і деформації, яких вона зазнає при різноманітних навантаженнях. Кісткова тканина за своїми механічними властивостями є неоднорідною, нелінійною і анізотропною, вона істотно змінюється залежно від віку, статі, структурно-функціонального стану організму, наявності локальних і системних патологічних процесів. На теперішній час визнаною проблемою є негативний вплив важких металів, які мають широкий спектр антагоністичних і синергічних властивостей та можуть стати причиною появи патологічних станів у кістковій тканині [217, 218]. За даними ВООЗ, патологія кісткової тканини серед основних медико-соціальних проблем посідає четверте місце після захворювань серцево-судинної системи, онкологічних захворювань та цукрового діабету.

Аналізуючи та узагальнюючи зміни мікроелементного балансу кісткової тканини досліджуваних зразків кісток щура, ми визначали не лише суттєве зростання рівня кадмію в складі стегнової кістки, але і зниження його рівня в групах комбінованого введення (рис.6.1). Слід зазначити, що і в

контрольній групі спостерігалось достовірне ($p \leq 0,05$) збільшення рівня кадмію до 30-тої доби експерименту.



Ри с.6.1. Динаміка накопичення кадмію (мкг/г) в стегновій кістці щурів в піддослідних групах на 14-ту, 20-ту та на 30-ту добу експерименту.

У групах комбінованого введення рівень накопичення кадмію кістковою тканиною стегнової кістки стримувався введенням сукцинатів цинку та заліза по різному: на 14-ту добу показники кількості кадмію в групах комбінації з сукцинатами не мали між собою достовірної різниці. Але на 20-тій добі експерименту сукцинат цинку стримував зростання рівня накопичення кадмію в своїй групі, в той час, як в групі комбінації кадмію з сукцинатом заліза рівень кадмію швидко зростав. Показники рівня кадмію в стегновій кістці на 30-ту добу експерименту демонструють досить високий градієнт накопичення, що дає можливість розглядати сукцинат цинку як біоантагоніста хлориду кадмію при комбінованому введенні в експерименті на щурах (рис. 6.1).

Введення кадмію призводило до зрушення мікроелементного балансу кальцію в кістковій тканині стегнової кістки в експерименті. Перші 2 тижня впливу досліджуваними чинниками не призводили до суттєвих змін

кількісних показників рівня кальцію, проте вже на 20-ту добу зниження рівня кальцію при ізольованому введенні хлориду кадмію було достовірним у порівнянні до контролю. Динаміка накопичення кальцію (мг/г) в стегновій кістці щурів в піддослідних групах на 30-ту добу продемонструвала, що введення сукцинату заліза позитивно впливає на затримку кальцію в кістковій тканині стегнової кістки (рис.6.2).

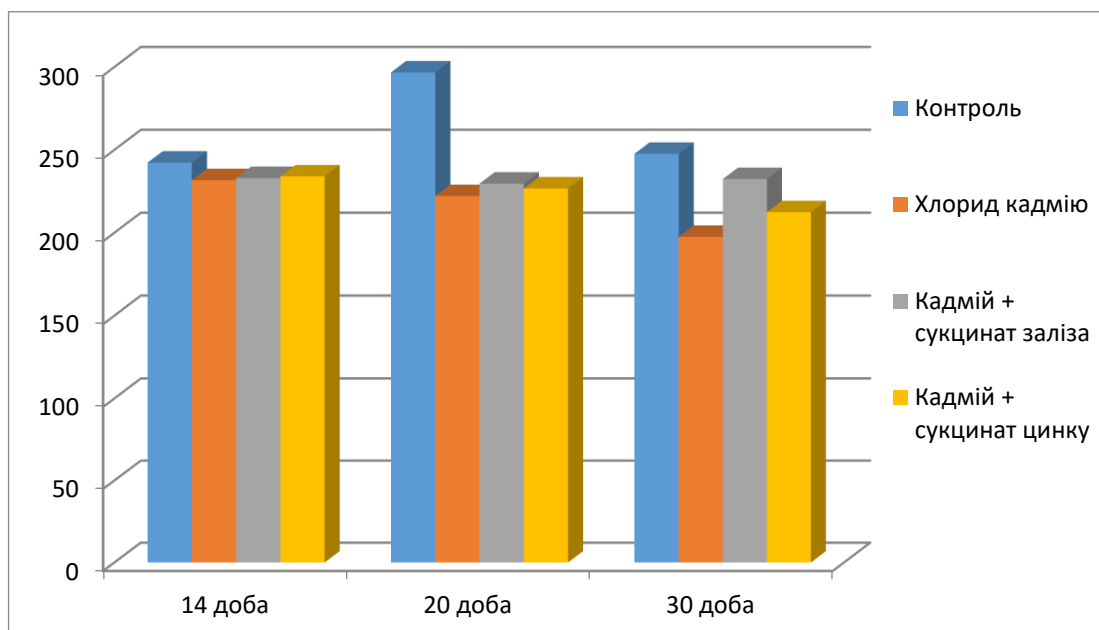


Рис.

6.2. Динаміка накопичення кальцію (мг/г) в стегновій кістці щурів в піддослідних групах на 14-ту, 20-ту та на 30-ту добу експерименту.

Досліджуючи динаміку змін рівня цинку в зразках кісткової тканини стегнової кістки в усіх групах на досліджуваних термінах, нами визначена тенденція до зниження рівня цинку при впливі кадмієм і в групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом заліза. Лише в перші два тижня впливу введення сукцинат заліза утримує рівень цинку майже до контрольних значень, але вже з 20-тої доби рівень цинку знижується при даній комбінації агентів впливу і на 30-ту добу не має достовірної різниці з групою ізольованого введення хлориду кадмію (рис.6.3). Підвищення показника рівня цинку в кістковій тканині не є показовим, бо тварини щоденно отримували сукцинат цинку.

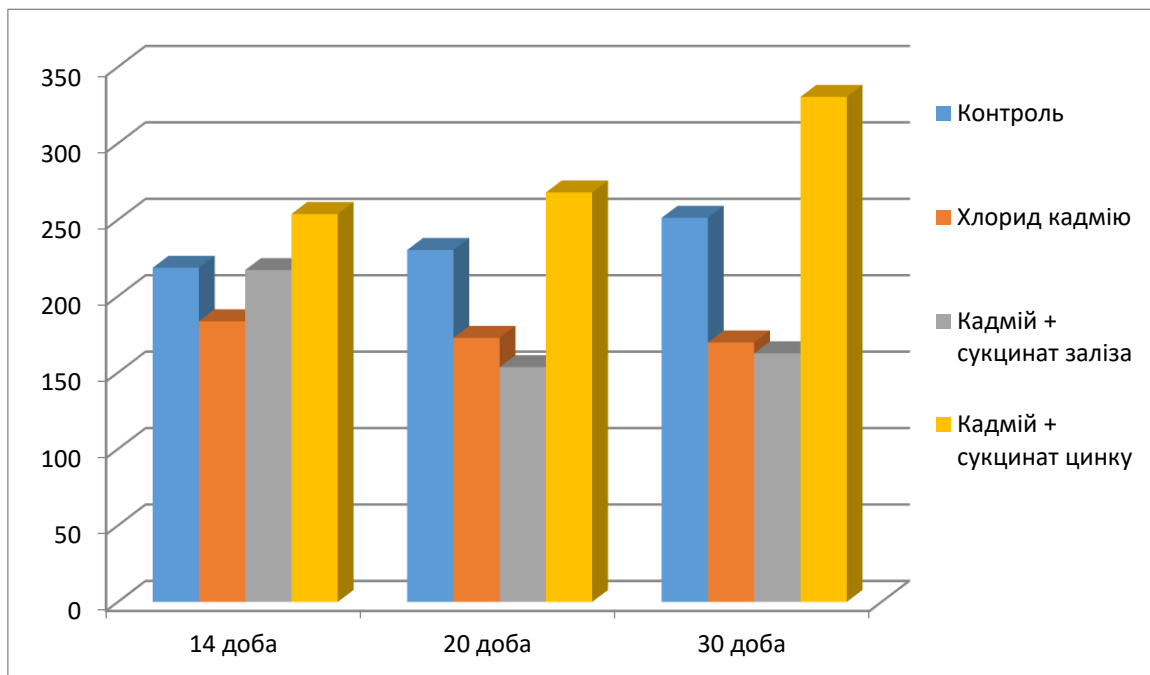


Рис.6.3. Динаміка накопичення цинку (мкг/г) в стегновій кістці щурів в піддослідних групах на 14-ту, 20-ту та на 30-ту добу експерименту.

Таким чином, потрапляння кадмію в надлишковій дозі в організм спричиняє виникнення диселементозу по кальцію, кадмію та цинку в кістковій тканині стегнової кістки.

Аналіз змін мікроелементного статусу кісткової тканини нижньої щелепи при впливі досліджуваних факторів в групах хронічного експерименту показав наступне. Накопичення кадмію нижньою щелепою має достовірну різницю з кількістю кадмію стегнової кістки вже навіть в контрольній групі. В кістковій тканині нижньої щелепи вміст кадмію в групі контролю у 3 рази нижчий порівняно з його концентрацією у стегновій кістці. Вже на 14-ту добу введення в експериментальній групі ізольованого впливу хлоридом кадмію, рівень цього металу майже подвоюється і продовжує пропорційно збільшуватись до кінця експерименту (рис.6.4). З досліджуваних елементів тільки введення сукцинату цинку стримує накопичення кадмію нижньою щелепою, хоча показники накопичення дуже значні – на 30-ту добу експерименту показник рівня кадмію в групі

ізолюваного впливу перевищує контрольні у 9,8 разів, а в групі комбінованого впливу з сукцинатом цинку - у 6 разів.

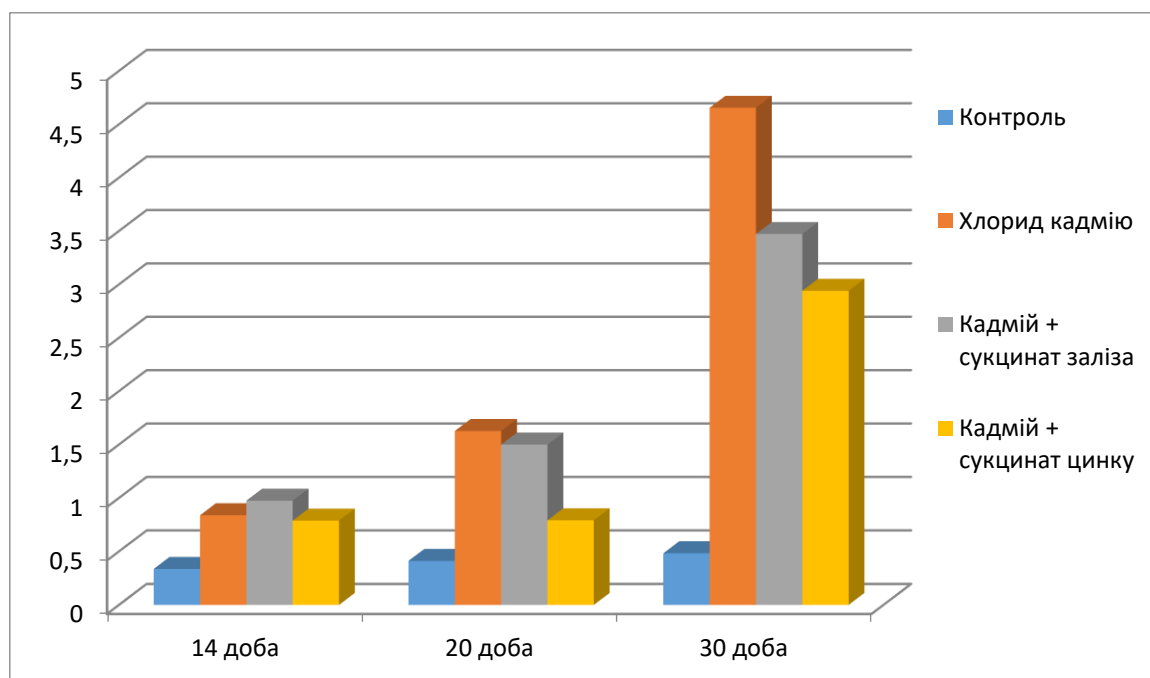


Рис.6.4. Динаміка накопичення кадмію (мкг/г) в кістковій тканині нижньої щелепи щурів в піддослідних групах на 14-ту, 20-ту та на 30-ту добу експерименту.

Вплив досліджуваних чинників на показники рівня кальцію в кістковій тканині нижньої щелепи продемонстрував досить суттєву різницю з аналогічним показником по стегновій кістці. На 14-ту добу експерименту в групі ізолюваного впливу не визначалось достовірної різниці рівня кальцію в кістковій тканині. На 20-ту добу введення зниження рівня кальцію в нижній щелепі мало тенденцію до зниження, а на 30-ту добу рівень кальцію перевищив контрольні показники, не зважаючи на той факт, що в контрольній групі відбувалось зростання рівня кальцію впродовж терміну дослідження (рис. 6.5). У групах комбінованого введення не визначалось яскравих зрушень кальцієвого балансу як порівняно з контролем, так і з групою ізолюваного впливу кадмієм (рис.6.5). У групі комбінації кадмію з сукцинатом цинку також визначалось збільшення рівня кальцію, який перевищив навіть показник в групі ізолюваного впливу хлоридом кадмію.

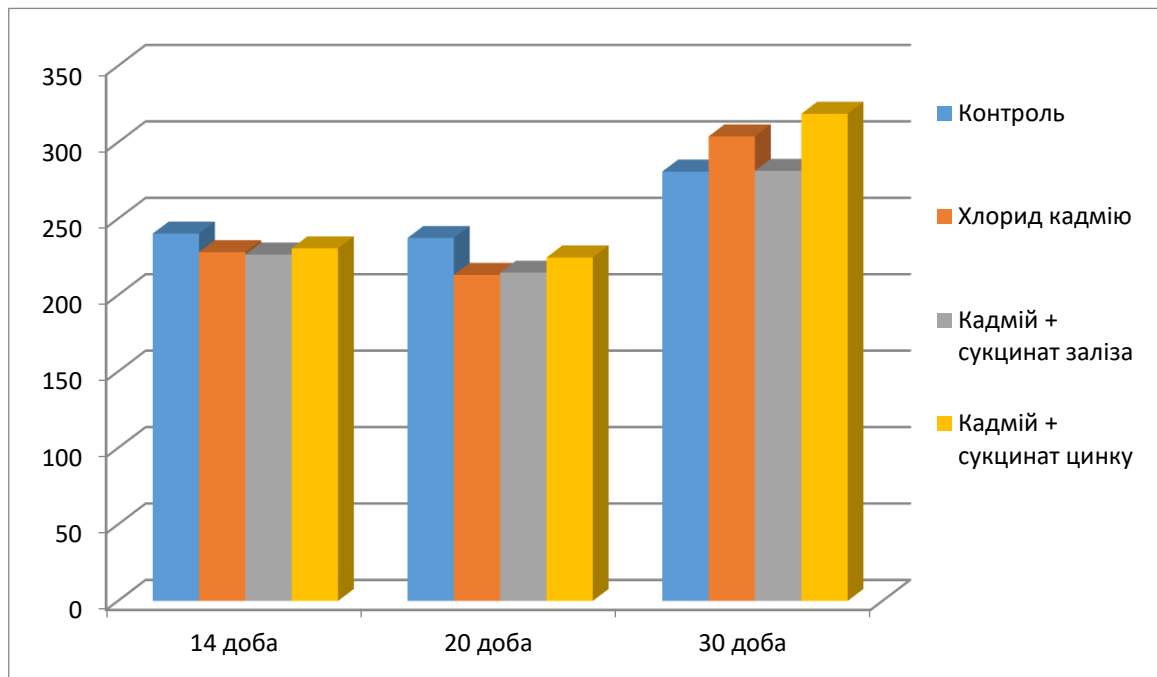


Рис.6.5. Динаміка накопичення кальцію (мг/г) в нижній щелепі щурів в піддослідних групах на 14-ту, 20-ту та на 30-ту добу експерименту.

Таким чином, введення кадмію ізольовано та в комбінації з сукцинатами цинку та заліза не провокували виникнення кальцієвого диселементозу кістковій тканині нижньої щелепи, на відміну від стегнової кістки.

На стан кісткової тканини активно впливає цинк. Доведено, що його вплив на кісткове ремоделювання може бути опосередкованим через регуляцію секреції щитоподібної залози кальцитоніну та активність естрогенів, оскільки цинк впливає на статеву функцію. У тварин за нестачі цинку в раціоні спостерігається затримка росту, а хронічний дефіцит цинку в організмі супроводжується порушенням росту та розвитку скелета у дітей [218, 219, 220], а також статевого розвитку. Затримку росту пояснюють зменшенням біосинтезу білків, кількості остеобластів, активності цинквмісних ферментів у кістковій тканині. Дані літератури свідчать про наявність взаємозв'язку між обміном кальцію та цинку [221]. В роботах Челпанової І.В. та Масної-Чалої О.З. розглядаються зміни у мінеральному складі кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи кролика після

нанесення кістковоруйнівної травми. Автори вимірювали кількість кальцію, магнію та фосфору в тканині нижньої щелепи і виявили певні співвідношення мікроелементів, що можна вважати фізіологічною нормою та зміни цих співвідношень у процесі ремоделювання кісткової тканини [222].

Обрахування та порівняння показників накопичення цинку в зразках стегнової кістки та нижньої щелепи в нашому хронічному експерименті довели, що ізольоване ведення розчину хлориду кадмію достовірно знижує рівень цинку на всіх трьох термінах експерименту. Результати наших досліджень підтверджують висновки вищеперерахованих науковців про тісний взаємозв'язок та баланс мікроелементів цинку, кальцію та виникнення порушення цього балансу за умов впливу важкими металами.

Зміни мікроелементного балансу мали відображення на масометричних показниках обох досліджуваних кісток (рис.6.6, рис.6.7). Динамічність остеогенезу демонструє факт зміни індексу маси кістки впродовж експерименту уже в контрольній групі. Порівняно з контролем, в групі ізольованого впливу хлоридом кадмію в досліджуваній дозі маса стегнової кістки зменшувалась на всіх термінах дослідження, а в групах комбінованого впливу зниження вагового показника відбувалось лише у перші 2 тижня, а з 20-тої доби маса кістка відновлювалась у бік контрольних показників (рис.6.6). Ми вважаємо, що індекс маси кістки є комплексним індикатором не лише вагових показників кістки, але і критерієм, який враховує зміни маси самих тварин, які підлягали інтоксикації в хронічному експерименті.

У нижньої щелепи динаміка змін масометричних показників була спрямована зовсім інакше (рис.6.7). Вплив кадмію при ізольованому введенні не призводив до вагових втрат кісткової тканини щелепи. А в групах комбінованого впливу на різних термінах експерименту динаміка маси була різноспрямованою. При комбінованому введенні хлориду кадмію з сукцинатом цинку на 14-ту добу ІМК нижньої щелепи достовірно знижувався як по відношенню до контрольних показників, так і по відношенню до групи ізольованого введення кадмію. На 20-ту добу показник

ІМК перевищував контроль і групу ізольованого впливу, а на 30-тій добі знову відбувалось зниження показника. У групі комбінації кадмію з сукцинатом заліза на 14-тій добі ІМК нижньої щелепи дорівнював такому у групі комбінації кадмію з сукцинатом цинку, тобто знижувався відносно контрольних даних, а потім пропорційно збільшувався і на 30-ту добу демонстрував найвищий рівень серед усіх досліджуваних груп на всіх досліджуваних термінах (рис. 6.7).

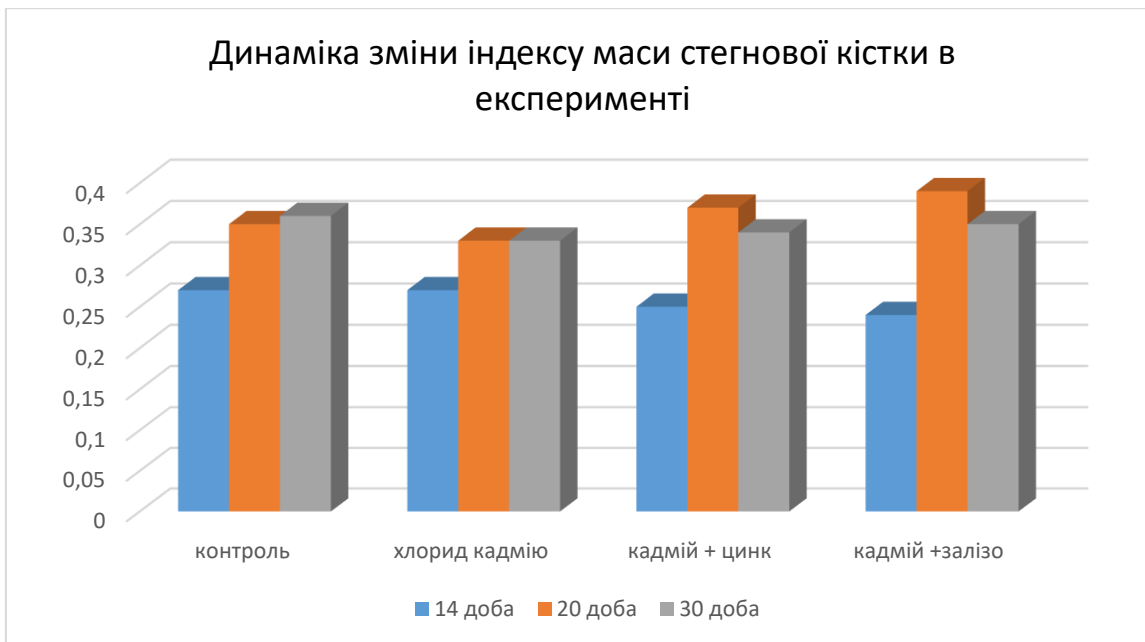


Рис. 6.6. Динаміка зміни індексу маси стегнової кістки в усіх групах дослідних тварин впродовж експерименту.

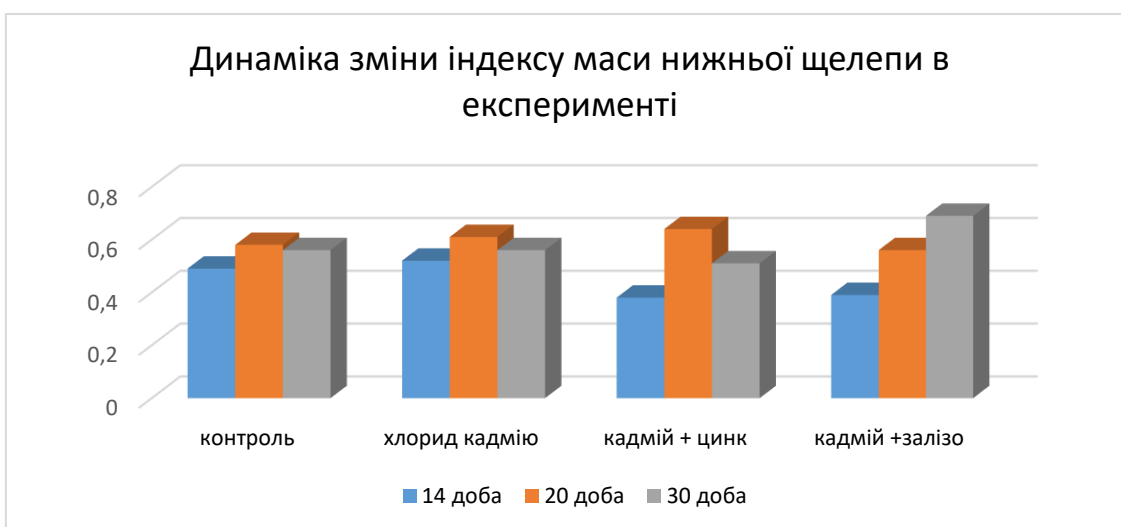


Рис. 6.7. Динаміка зміни індексу маси нижньої щелепи в усіх групах дослідних тварин впродовж експерименту.

Аналогічне спрямування зміни вагових показників кісток після впливу важких металів визначались і в дослідженнях, які проводились під керівництвом Романюка А. М. [223, 224, 225, 226]. Разом з тим, особливості реакції твердих тканин кісткової тканини в умовах впливу на організм солей важких металів не досліджені у повному обсязі, хоч показано, що під впливом солей важких металів відбувається порушення остеогенезу, а також формування остеопорозу та карієсу зубів у регіонах, де виявлено збільшений вміст хімічних поллютантів у навколишньому середовищі. Є окремі роботи, в яких повідомляється про негативні зміни у кістковій тканині щелепи та емалі зубів за умов дії іонів важких металів [227].

Отже, надходження в організм надлишкової кількості хлориду кадмію проявляється порушеннями хімічного складу мінерального компоненту нижньої щелепи і стегнової кістки та порушенням макро- і мікроелементного обміну у кістковій системі, що зумовлює розвиток виражених морфологічних перетворень, які, у свою чергу, проявляються пригніченням росту, зміною будови як самої кісткової тканини на гістологічному рівні, так і хрящової тканини суглобових поверхонь кісток.

Хронічний вплив хлоридом кадмію в дозі 2,0 мг/кг на щурів призводить до зміни розмірів товщини окістя і стінки діяфізу стегнової кістки, змін в будові кісткової тканини та розвитку ознак дистрофічних та остеопоротичних перетворень кісткової тканини в експерименті на щурах. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку на морфогенез стегнової кістки щура довів відновлення вагових показників стегнової кістки, що було підтверджено розрахуванням показнику індексу маси стегнової кістки, а також відновленням показників товщини окістя та товщини стінки діяфізу стегнової кістки. Також ізольований вплив кадмієм викликав зміни в морфологічній будові суглобового хряща головки стегнової кістки та нижньої щелепи, що проявлялось у численних порожнинах резорбцій, порушенні архітектури радіальних шарів ланцюжків хондроцитів хряща та формуванні ділянок розростання сполучної тканини.

У роботах сучасних українських експериментаторів також досліджувався негативний вплив солей важких металів на кісткові та хрящові тканини нижньої щелепи, який проявлявся значними деструктивними змінами в структурі виросткового хряща та кісткової тканини нижньої щелепи, зниженням їх мінерального насичення та збідненням досліджуваних органів органічним будівельним матеріалом для повноцінного формоутворення кісткової тканини та дентиногенезу у різці. На думку авторів, глибокі структурні перетворення в досліджуваних органах зубощелепної системи зумовлені пошкодженням усіх саморегулюючих систем організму екзогенним впливом солей важких металів, які надходять у надлишковій кількості впродовж довготривалого терміну спостереження [226, 227]. Дослідники проводили спробу компенсації негативного впливу важких металів введенням солей цинку у складі досліджуваного мінерального компоненту та отримали позитивні результати, які довели остеотропність цинку. Наші експериментальні дані підтверджують механізми і спектр порушень кісткової та хрящової тканини під впливом важких металів. А комбіноване введення кадмію з сукцинатами цинку та заліза має виражений модифікуючий вплив на досліджувані нами параметри кісткової та хрящової тканин. Подібні спостереження стосовно антагонізму деяких мікроелементів у своїх дослідженнях відмічають і інші автори [228, 229].

Не викликає сумніву, що для практичної медицини важливим є не тільки виявлення того чи іншого порушення в органах та тканинах під впливом різних несприятливих чинників, які діють на організм екзогенно чи мають ендогенний характер. Практично орієнтовані наукові дослідження морфологічного характеру щодо пошуку біоантагонітів мають практичне значення, адже у таких дослідженнях науковець – морфолог може запропонувати для клініцистів та фармацевтів конкретні шляхи ліквідації виявлених морфологічних відхилень від норми. Результати наших експериментальних досліджень показали, що для оптимізації морфогенезу

кісткової та хрящової тканини і корекції виявлених порушень формоутворення, морфологічної будови, мінерального складу в умовах експериментального впливу солей важких металів, доцільними є проведення подальших досліджень і визначення біоантагоністичних властивостей сукцинатів біоелементів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено важливе наукове завдання: досліджено хронічний вплив хлориду кадмію ізольовано та в комбінації з сукцинатами цинку і заліза на структуру та мінеральний склад різного типу кісток щура в експерименті. Проведено порівняння вмісту кадмію, есенціальних елементів – кальцію та цинку в стегновій кістці та нижній щелепі. Встановлено взаємозв'язок між рівнем накопичення кістками кадмію й есенціальних елементів та морфологічними змінами кісткової і хрящової тканини кісток різного типу для виявлення потенційних біоантагоністичних властивостей сукцинатів металів щодо токсичної дії хлориду кадмію в експерименті.

1. Ізольоване введення в організм щурів хлориду кадмію у дозі 2,0 мг/кг призвело до достовірного підвищення у 2,3-3,5 разів рівня накопичення кадмію, зниження вмісту кальцію та цинку у 1,1-1,5 разів у стегновій кістці на усіх трьох термінах дослідження порівняно з показниками контрольної групи, більш виражене на 30-у добу експерименту. Комбіноване введення хлориду кадмію з сукцинатами цинку та заліза призвело до зниження рівня накопичення кадмію у стегновій кістці порівняно з ізольованим його введенням, більш виражене для сукцинату цинку, та гальмування процесу втрати кальцію кістковою тканиною за відсутності достовірних змін вмісту цинку при введенні сукцинату заліза та його підвищення при введенні сукцинату цинку.

2. Інтенсивність накопичення кадмію у кістковій тканині щурів залежить від типу кісток, що підтверджується достовірно вищим у 3,7-4,4 разів вмістом кадмію у кістках нижньої щелепи порівняно з рівнем його накопичення у стегновій кістці тварин контрольної групи залежно від терміну дослідження. При цьому ізольоване введення в організм щурів хлориду кадмію призвело до підвищення у 2,5-9,6 разів рівня накопичення кадмію у кістках нижньої щелепи з тенденцією до зниження вмісту кальцію, однак без достовірних відмінностей та різноспрямованої тенденції до змін

вмісту цинку залежно від терміну дослідження. Комбіноване введення сукцинатів заліза та цинку призвело до зниження рівня накопичення кадмію у кістках нижньої щелепи за відсутності достовірних змін вмісту кальцію, підвищення вмісту цинку при впливі сукцинату цинку за відсутності достовірних змін за впливу сукцинату заліза.

3. Хронічний вплив хлоридом кадмію призводить до зменшення вагових показників стегнової кістки, викликає пригнічення ростових процесів у кістковій тканині та гальмування остеогенезу, що визначається розвитком ознак дистрофічних та остеопоротичних перетворень та формуванням гіпомінералізованих ділянок кісткової тканини. Ізольований вплив кадмієм викликає зміни в морфологічній будові суглобового хряща головки стегнової кістки, що проявлялось у численних порожнинах резорбції, порушенні архітектури радіальних шарів ланцюжків хондроцитів хряща та формуванні ділянок розростання сполучної тканини.

4. Хронічне введення хлориду кадмію призводить до збільшення вагових показників нижньої щелепи та формує зміни в структурі кісткових трабекул нижньої щелепи: мікротріщини, набряк остеоцитів на тлі підвищення васкулогенезу кісткової тканини. Зміни в морфологічній будові суглобового хряща головки нижньої щелепи визначались у порушенні архітектури радіальних шарів колонок хондроцитів та порушень зональності структур суглобового хряща, затримці диференціації хондробластів, ізогенних клітин, набряку клітин хряща на тлі розшарування сполучної тканини.

5. Комбіноване введення хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку характеризується відновленням вагових показників стегнової кістки, підтвердженням чому є збільшення індексу маси стегнової кістки, відновлення показників товщини окістя та товщини стінки діафізу. Відновлення гістологічної структури кісткової тканини проявлялось зниженням кількості набряків остеоцитів та гіпомінералізованих ділянок порівняно з групою ізольованого впливу кадмієм, відбудовою загальної

архітектури хрящової тканини та щільності хондроцитів головки стегнової кістки.

6. Органометричні та гістоморфометричні показники нижньої щелепи за умов комбінованої хронічної дії на організм хлориду кадмію з сукцинатами цинку та заліза свідчать про відновлення структурних змін хрящової тканини нижньої щелепи, гальмування резорбтивних процесів у кістковій та хрящовій тканині, нормалізацію ступеня мінералізації та архітектурної будови суглобового хряща в експерименті на щурах.

7. Комбіноване введення сукцинатів цинку та заліза з хлоридом кадмію характеризувалось вираженим модифікуючим впливом на усі досліджувані параметри кісткової та хрящової тканини, що проявлялося зменшенням негативного впливу кадмію на морфогенез і морфологічну будову кісток різного типу та їх мінеральний склад в умовах лабораторного експерименту на щурах.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

У роботі поглиблені та деталізовані експериментальні дані щодо змін остеогенезу та динаміки рівня накопичення кадмію і есенціальних елементів у кістках щура при ізольованому введенні хлориду кадмію та в комбінації з сукцинатами цинка та заліза.

1. Встановлений взаємозв'язок між рівнем накопичення кадмію, кальцію, цинку та морфологічними змінами кісткової і хрящової тканин за умов ізольованого введення хлориду кадмію та комбінованого його впливу з сукцинатом цинку та заліза для виявлення потенційних біоантагоністичних властивостей сукцинатів металів щодо остеотоксичної дії хлориду кадмію може слугувати комплексним підходом до пояснення або прогнозування виникнення спектру порушень опорно-рухової системи в зоні кадмієвої інтоксикації, якими є розвинені промислові регіони.

2. Отримані дані є підґрунтям для подальшого вивчення впливу сукцинатів мікроелементів (цинк, залізо), як речовин з біоантагоністичними властивостями по відношенню до сполук кадмію, та можливою розробкою фармакологічних лікувальних та профілактичних засобів, що можуть зменшувати негативний вплив солей кадмію на кісткову та хрящову тканину людини, яка мешкає у техногенно-забруднених регіонах або працює у екологічно несприятливому середовищі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Колосова ІІ, Руденко КМ, Шаторна ВФ. Кадмій – загроза для живих організмів (огляд літератури). В: Perspectives of world science and education. Abstracts of the 5th International scientific and practical conference. 2020, с. 433-442.
2. Островська СС, М'ясоїд ЮП, Ковтуненко РВ, Мякушко ВА, Черненко ГП, Письменецька ІЮ, та ін. Вплив кадмію на здоров'я дітей в пренатальний та постнатальний періоди розвитку. Укр. журн. медицини, біології та спорту. 2021;5(33):414-22. [DOI: 10.26693/jmbs06.05.414](https://doi.org/10.26693/jmbs06.05.414)
3. Шаторна ВФ, Краснов ОО. Динаміка накопичення кадмію, цинку та міді в нирках та крові щурів при ізольованому введенні кадмію та комбінованому з сукцинатами цинку та міді. Вісн. пробл. біології і медицини. 2022;4(167):242-50. DOI: 10.29254/2077-4214-2022-4-167-242-250
4. Шаторна ВФ, Тимчук КМ. Динаміка накопичення кадмію в крові та тонкій кишці в хронічному експерименті на щурах. Вісн. пробл. біології і медицини. 2023;1(168):97-101. DOI: 10.29254/2077-4214-2023-1-168-97-101
5. 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
6. Лоскутов ОЄ, Білецька ЕМ, Калінічева ВВ, Онул НМ, Синегубов ДА Клініко-гігієнічна оцінка мінеральної щільності кісткової тканини у населення екологічно контрастних територій. Медичні перспективи. 2020;25 (№ 2):145-148.
7. Хопта НС, Ерстенюк АМ. Метаболічні зміни в кістковій тканині тварин за умов експериментального кадміозу. ScienceRise: Biological Science. 2018;5(14):31-5. DOI: 10.15587/2519-8025.2018.147090
8. Параняк РП, Васильцева ЛП, Макух ХІ. Шляхи надходження важких металів в довкілля та їх вплив на живі організми. Біологія тварин. 2007;9(3):83-9.

9. Moulis J-M. Cellular mechanisms of cadmium toxicity related to the homeostasis of essential metals. *BioMetals*. 2010;23(Issue 5):877-96. DOI: [10.1007/s10534-010-9336-y](https://doi.org/10.1007/s10534-010-9336-y)
10. Нефьодов ОО, Білишко ДВ, Кушнарова 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](https://doi.org/10.26641/2307-0404.2020.1.200395)
11. Шаторна ВФ, Кононова І, 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
12. Шаторна ВФ, Тимчук КМ. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію та сукцинату міді на показники ембріонального розвитку щура в експерименті. В: X International Scientific and Practical Conference. Trends and prospects for the development of modern education; 2023 Nov 20-22; Munich, Germany, с. 57-59.
13. 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
14. Thévenod F, Lee W-K. Toxicology of Cadmium and Its Damage to Mammalian Organs. *Metal Ions in Life Sciences*. 2013;1(11):415-90. DOI: 10.1007/978-94-007-5179-8_14
15. Про Основні засади (стратегію) державної екологічної політики України на період до 2030 року. Закон України від 28 лютого 2019 року № 2697-VIII [Інтернет]. 2019 [цитовано 2024 Бер 01]. Доступно: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2697-19>
16. Калашник ОМ. Екологічна безпека як складова державної політики України: понятійно-термінологічний аспект. *Демократичне врядування*. 2018;21(1). DOI: 10.33990/2070-4038.21.2018.151074

17. Landrigan PJ, Fuller R. Pollution, health and development: the need for a new paradigm. *Rev Environ Health*. 2016;31(1):121-4. DOI: 10.1515/reveh-2015-0070
18. Siddique HMA, Kiani AK. Industrial pollution and human health: evidence from middle-income countries. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2020;27(11):12439-48. DOI: 10.1007/s11356-020-07657-z
19. Landrigan PJ, Fuller R, Acosta NJR, Adeyi O, Arnold R, Basu NN, et al. The Lancet Commission on pollution and health. *Lancet*. 2018;391(10119):462-512. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)32345-0
20. Романюк АМ, Сікора ВВ, Линдіна ЮМ, Линдін МС. Поширеність важких металів у навколишньому середовищі та їх роль у життєдіяльності організму (огляд літератури). *Буков. мед. вісник*. 2017;21, 2(82)(Ч. 1):163-8.
21. Zhang Q, Hou Q, Huang G, Fan Q. Removal of heavy metals in aquatic environment by graphene oxide composites: a review. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2020;27(1):190-209. DOI: 10.1007/s11356-019-06683-w
22. 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
23. 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
24. Rahman Z, Singh VP. The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. *Environ Monit Assess*. 2019;191(7):419. DOI: 10.1007/s10661-019-7528-7
25. Mezynska M, Brzóska MM. Environmental exposure to cadmium-a risk for health of the general population in industrialized countries and preventive

strategies. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018;25(4):3211-32. DOI: 10.1007/s11356-017-0827-z

26. Genchi G, Sinicropi MS, Lauria G, Carocci A, Catalano A. The Effects of Cadmium Toxicity. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(11):3782. DOI: 10.3390/ijerph17113782

27. Pinto E, Cruz M, Ramos P, Santos A, Almeida A. Metals transfer from tobacco to cigarette smoke: Evidences in smokers' lung tissue. *J Hazard Mater.* 2017;325:31-5. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.11.069

28. Janaydeh M, Ismail A, Zulkifli SZ, Omar H. Toxic heavy metal (Pb and Cd) content in tobacco cigarette brands in Selangor state, Peninsular Malaysia. *Environ Monit Assess.* 2019;191(10):637. DOI: 10.1007/s10661-019-7755-y

29. Xiao W, Ye X, Zhang Q, Chen D, Hu J, Gao N. Evaluation of cadmium transfer from soil to leafy vegetables: Influencing factors, transfer models, and indication of soil threshold contents. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2018;164:355-62. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.08.041

30. 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

31. Wang G, Zhang Q, Du W, Lin R, Li J, Ai F, et al. In-situ immobilization of cadmium-polluted upland soil: A ten-year field study. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2021;207:111275. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111275

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

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

34. Thompson LA, Darwish WS. Environmental Chemical Contaminants in Food: Review of a Global Problem. *J Toxicol*. 2019;2019:2345283. DOI: 10.1155/2019/2345283
35. Wang M, Chen Z, Song W, Hong D, Huang L, Li Y. A review on Cadmium Exposure in the Population and Intervention Strategies Against Cadmium Toxicity. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2021;106(1):65-74. DOI: 10.1007/s00128-020-03088-1
36. Genchi G, Carocci A, Lauria G, Sinicropi MS, Catalano A. Cadmium: Human health and environmental toxicology. *Int Environ Res Public Health*. 2020;17:679. DOI: 10.3390/ijerph17030679
37. Unsal V, Dalkıran T, Çiçek M, Kölükçü E. The Role of Natural Antioxidants Against Reactive Oxygen Species Produced by Cadmium Toxicity: A Review. *Adv Pharm Bull*. 2020;10(2):184-202. DOI: 10.34172/apb.2020.023
38. Zhang RK, Wang P, Lu YC, Lang L, Wang L, Lee SC. Cadmium induces cell centrosome amplification via reactive oxygen species as well as endoplasmic reticulum stress pathway. *J Cell Physiol*. 2019;234(10):18230-48. DOI: 10.1002/jcp.28455
39. Watanabe M, Henmi K, Ogawa K, Suzuki T. Cadmium-dependent generation of reactive oxygen species and mitochondrial DNA breaks in photosynthetic and non-photosynthetic strains of *Euglena gracilis*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2003;134(2):227-34. DOI: 10.1016/s1532-0456(02)00253-3
40. Galażyn-Sidorczuk M, Brzóška MM, Rogalska J, Roszczenko A, Jurczuk M. Effect of zinc supplementation on glutathione peroxidase activity and selenium concentration in the serum, liver and kidney of rats chronically exposed to cadmium. *J Trace Elem Med Biol*. 2012;26(1):46-52. DOI: 10.1016/j.jtemb.2011.10.002
41. Kapka-Skrzypczak L, Męczyńska-Wielgosz S, Matysiak-Kucharek M, Czajka M, Sawicki K, Kruszewski M, et al. Nuclear Factor kappa B activation

by Ag, Au nanoparticles, CdTe quantum dots or their binary mixtures in HepG2 cells. *Ann Agric Environ Med*. 2020;27(2):231-4. DOI: 10.26444/aaem/120664

42. Jiao D, Jiang Q, Liu Y, Ji L. Nephroprotective effect of wogonin against cadmium-induced nephrotoxicity via inhibition of oxidative stress-induced MAPK and NF- κ B pathway in Sprague Dawley rats. *Hum Exp Toxicol*. 2019;38(9):1082-91. DOI: 10.1177/0960327119842635

43. Zhou LY, Lv CG, Kang CZ, Wang S, Tang JF, Kang LP, et al. Mitogen-activated protein kinase genes of *Artemisia annua* and their expression analysis under Cadmium stress. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2016;41(6):1016-20. DOI: 10.4268/cjcmm20160607

44. Zhao H, Liu W, Wang Y, Dai N, Gu J, Yuan Y, et al. Cadmium induces apoptosis in primary rat osteoblasts through caspase and mitogen-activated protein kinase pathways. *J Vet Sci*. 2015;16(3):297-306. DOI: 10.4142/jvs.2015.16.3.297

45. Zhang W, Liu Y, Liu Y, Liang B, Zhou H, Li Y, et al. An Assessment of Dietary Exposure to Cadmium in Residents of Guangzhou, China. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(3):556. DOI: 10.3390/ijerph15030556

46. Pal D, Suman S, Kolluru V, Sears S, Das TP, Alatassi H, et al. Inhibition of autophagy prevents cadmium-induced prostate carcinogenesis. *Br J Cancer*. 2017;117(1):56-64. DOI: 10.1038/bjc.2017.143

47. Aimola P, Carmignani M, Volpe AR, Di Benedetto A, Claudio L, Waalkes MP, et al. Cadmium induces p53-dependent apoptosis in human prostate epithelial cells. *PLoS One*. 2012;7(3):e33647. DOI: 10.1371/journal.pone.0033647

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

49. Kim JJ, Kim YS, Kumar V. Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies. *J Trace Elem Med Biol*. 2019;54:226-31. DOI: 10.1016/j.jtemb.2019.05.003

50. Jin YH, Clark AB, Slebos RJ, Al-Refai H, Taylor JA, Kunkel TA, et al. Cadmium is a mutagen that acts by inhibiting mismatch repair. *Nat Genet.* 2003;34(3):326-9. DOI: 10.1038/ng1172
51. Baretta M, Le DT. DNA mismatch repair in cancer. *Pharmacol Ther.* 2018;189:45-62. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2018.04.004
52. Kim C, Yang J, Jeong SH, Kim H, Park GH, Shin HB, et al. Yeast-based assays for characterization of the functional effects of single nucleotide polymorphisms in human DNA repair genes. *PLoS One.* 2018;13(3):e0193823. DOI: 10.1371/journal.pone.0193823
53. Smolarz B, Michalska MM, Samulak D, Romanowicz H, Wójcik L. Polymorphism of DNA Repair Genes via Homologous Recombination (HR) in Ovarian Cancer. *Pathol Oncol Res.* 2019;25(4):1607-14. DOI: 10.1007/s12253-019-00604-5
54. Zhong Z, Yu J, Virshup DM, Madan B. Wnts and the hallmarks of cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2020;39(3):625-45. DOI: 10.1007/s10555-020-09887-6
55. Wagner N, Wagner KD. PPAR Beta/Delta and the Hallmarks of Cancer. *Cells.* 2020 May 4;9(5):1133. DOI: 10.3390/cells9051133
56. Liu W, Le CC, Wang D, Ran D, Wang Y, Zhao H, et al. Ca^{2+} /CaM/CaMK signaling is involved in cadmium-induced osteoclast differentiation. *Toxicology.* 2020;441:152520. DOI: 10.1016/j.tox.2020.152520
57. Lee MJ, Kee KH, Suh CH, Lim SC, Oh SH. Capsaicin-induced apoptosis is regulated by endoplasmic reticulum stress- and calpain-mediated mitochondrial cell death pathways. *Toxicology.* 2009;264(3):205-14. DOI: 10.1016/j.tox.2009.08.012
58. Qiu LL, Pan W, Luo D, Zhang GF, Zhou ZQ, Sun XY, et al. Dysregulation of BDNF/TrkB signaling mediated by NMDAR/ Ca^{2+} /calpain might contribute to postoperative cognitive dysfunction in aging mice. *J Neuroinflammation.* 2020;17(1):23. DOI: 10.1186/s12974-019-1695-x

59. Satarug S, Haswell-Elkins MR, Moore MR. Safe levels of cadmium intake to prevent renal toxicity in human subjects. *Br J Nutr.* 2000;84(6):791-802. DOI: 10.1017/S0007114500002403
60. He L, Ma X, Li Z, Jiao Z, Li Y, Ow DW. Maize OXIDATIVE STRESS2 Homologs Enhance Cadmium Tolerance in Arabidopsis through Activation of a Putative SAM-Dependent Methyltransferase Gene. *Plant Physiol.* 2016;171(3):1675-85. DOI: 10.1104/pp.16.00220
61. Satarug S, Gobe GC, Vesey DA, Phelps KR. Cadmium and Lead Exposure, Nephrotoxicity, and Mortality. *Toxics.* 2020;8(4):86. DOI: 10.3390/toxics8040086
62. Kim JJ, Kim YS, Kumar V. Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies. *J Trace Elem Med Biol.* 2019;54:226-31. DOI: 10.1016/j.jtemb.2019.05.003
63. Kumar S, Sharma A. Cadmium toxicity: effects on human reproduction and fertility. *Rev Environ Health.* 2019;34(4):327-38. DOI: 10.1515/reveh-2019-0016
64. Нефьодова ОО, Азаров ОІ. Морфогенез нирок під впливом важких металів. *Вісн. пробл. біології і медицини.* 2018;2(143):23-7. DOI: 10.29254/2077-4214-2018-1-2-143-23-27
65. Романюк АМ, Коробчанська АБ, Кузенко ЄВ, Терещенко АО. Порушення ростових процесів у зубощелепній системі під впливом солей важких металів. *Укр. морфол. альманах.* 2014;2:76-8.
66. Романюк АМ, Коробчанська АБ, Романюк СА. Ріст і формоутворення нижньої щелепи та зубів в умовах впливу солей важких металів. *Здобутки клініч. та експеримент. медицини,* 2014;2(21):151-3.
67. Романюк АМ, Коробчанська АБ, Сауляк СВ, Золотарьова АВ. Особливості морфологічної перебудови та хімічного складу твердих тканин зубощелепної системи під впливом солей важких металів. *Укр. морфолог. альманах.* 2014;12(4):38-41.

68. He S, Zhuo L, Cao Y, Liu G, Zhao H, Song R, et al. Effect of cadmium on osteoclast differentiation during bone injury in female mice. *Environ Toxicol.* 2020;35(4):487-94. DOI: 10.1002/tox.22884
69. Rodríguez J, Mandalunis PM. Effect of cadmium on bone tissue in growing animals. *Exp Toxicol Pathol.* 2016;68(7):391-7. DOI: 10.1016/j.etp.2016.06.001
70. Gu J, Li S, Wang G, Zhang X, Yuan Y, Liu X, et al. Cadmium Toxicity on Chondrocytes and the Palliative Effects of $1\alpha, 25$ -Dihydroxy Vitamin D₃ in White Leghorns Chicken's Embryo. *Front Vet Sci.* 2021;8:637369. DOI: 10.3389/fvets.2021.637369
71. Rodríguez J, Mandalunis PM. A Review of Metal Exposure and Its Effects on Bone Health. *J Toxicol.* 2018;2018:4854152. DOI: 10.1155/2018/4854152
72. Nasoori A. Formation, structure, and function of extra-skeletal bones in mammals. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2020;95(4):986-1019. DOI: 10.1111/brv.12597
73. Udagawa N, Koide M, Nakamura M, Nakamichi Y, Yamashita T, Uehara S, et al. Osteoclast differentiation by RANKL and OPG signaling pathways. *J Bone Miner Metab.* 2021;39(1):19-26. DOI: 10.1007/s00774-020-01162-6
74. Engström A, Michaëlsson K, Vahter M, Julin B, Wolk A, Åkesson A. Associations between dietary cadmium exposure and bone mineral density and risk of osteoporosis and fractures among women. *Bone.* 2012;50(6):1372-8. DOI: 10.1016/j.bone.2012.03.018
75. Wallin M, Barregard L, Sallsten G, Lundh T, Karlsson MK, Lorentzon M, et al. Low-Level Cadmium Exposure Is Associated With Decreased Bone Mineral Density and Increased Risk of Incident Fractures in Elderly Men: The MrOS Sweden Study. *J Bone Miner Res.* 2016;31(4):732-41. DOI: 10.1002/jbmr.2743

76. Nishijo M, Nakagawa H, Suwazono Y, Nogawa K, Kido T. Causes of death in patients with Itai-itai disease suffering from severe chronic cadmium poisoning: a nested case-control analysis of a follow-up study in Japan. *BMJ Open*. 2017;7(7):e015694. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-015694

77. Nogawa K, Sakurai M, Ishizaki M, Kido T, Nakagawa H, Suwazono Y. Threshold limit values of the cadmium concentration in rice in the development of itai-itai disease using benchmark dose analysis. *J Appl Toxicol*. 2017;37(8):962-6. DOI: 10.1002/jat.3444

78. Sasaki T, Horiguchi H, Arakawa A, Oguma E, Komatsuda A, Sawada K, et al. Hospital-based screening to detect patients with cadmium nephropathy in cadmium-polluted areas in Japan. *Environ Health Prev Med*. 2019;24(1):8. DOI: 10.1186/s12199-019-0762-3

79. Nishijo M, Nagakawa H, Morikawa Y, Tabata M, Miura K, Kawano S, et al. Clinical courses and prognosis of itai-itai disease patients induced by chronic cadmium exposure. In: Collery PH, Corbella J, Domingo JL, Etienne JC, Llobet JM, editors. *Metal Ions in Biology and Medicine*. Paris: John Libbey Eurotext; 1996, p. 608-10.

80. Kasuya M. Recent epidemiological studies on itai-itai disease as a chronic cadmium poisoning in Japan. *Water Sci Technol*. 2000;42(7-8):147-54. DOI: 10.2166/wst.2000.0563

81. Gu J, Li S, Wang G, Zhang X, Yuan Y, Liu X, et al. Cadmium Toxicity on Chondrocytes and the Palliative Effects of $1\alpha, 25$ -Dihydroxy Vitamin D₃ in White Leghorns Chicken's Embryo. *Front Vet Sci*. 2021;8:637369. DOI: 10.3389/fvets.2021.637369

82. Aoshima K, Kasuya M. Preliminary study on serum levels of $1,25$ -dihydroxyvitamin D and 25-hydroxyvitamin D in cadmium-induced renal tubular dysfunction. *Toxicol Lett*. 1991;57(1):91-9. DOI: 10.1016/0378-4274(91)90123-n

83. Nogawa K, Tsuritani I, Kido T, Honda R, Yamada Y, Ishizaki M. Mechanism for bone disease found in inhabitants environmentally exposed

to cadmium: decreased serum 1 α , 25-dihydroxyvitamin D level. *Int Arch Occup Environ Health*. 1987;59(1):21-30. DOI: 10.1007/BF00377675

84. Hayashi Y, Kobayashi E, Okubo Y, Suwazono Y, Kido T, Nogawa K. Excretion levels of urinary calcium and phosphorus among the inhabitants of Cd-polluted Kakehashi River basin of Japan. *Biol Trace Elem Res*. 2003;91(1):45-55. DOI: 10.1385/BTER:91:1:45

85. Honda R, Tawara K, Nishijo M, Nakagawa H, Tanebe K, Saito S. Cadmium exposure and trace elements in human breast milk. *Toxicology*. 2003;186(3):255-9. DOI: 10.1016/s0300-483x(03)00002-7

86. Engström A, Skerving S, Lidfeldt J, Burgaz A, Lundh T, Samsioe G, et al. Cadmium-induced bone effect is not mediated via low serum 1,25-dihydroxy vitamin D. *Environ Res*. 2009;109(2):188-92. DOI: 10.1016/j.envres.2008.10.008

87. Chen X, Zhu G, Jin T, Lei L, Liang Y. Bone mineral density is related with previous renal dysfunction caused by cadmium exposure. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2011;32(1):46-53. DOI: 10.1016/j.etap.2011.03.007

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

89. Youness ER, Mohammed NA, Morsy FA. Cadmium impact and osteoporosis: mechanism of action. *Toxicol Mech Methods*. 2012;22(7):560-7. DOI: 10.3109/15376516.2012.702796

90. Akesson A, Bjellerup P, Lundh T, Lidfeldt J, Nerbrand C, Samsioe G, et al. Cadmium-induced effects on bone in a population-based study of women. *Environ Health Perspect*. 2006;114(6):830-4. DOI: 10.1289/ehp.8763

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

92. Wang C, Nie G, Zhuang Y, Hu R, Wu H, Xing C, et al. Inhibition of autophagy enhances cadmium-induced apoptosis in duck renal tubular epithelial

cells. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2020;205:111188. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111188

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

94. Jin T, Nordberg G, Ye T, Bo M, Wang H, Zhu G, et al. Osteoporosis and renal dysfunction in a general population exposed to cadmium in China. *Environ Res.* 2004;96(3):353-9. DOI: 10.1016/j.envres.2004.02.012

95. Järup L, Alfvén T. Low level cadmium exposure, renal and bone effects - the OSCAR study. *Biometals.* 2004;17(5):505-9. DOI: 10.1023/b:biom.0000045729.68774.a1

96. Nambunmee K, Honda R, Nishijo M, Swaddiwudhipong W, Nakagawa H, Ruangyuttikarn W. Bone resorption acceleration and calcium reabsorption impairment in a Thai population with high cadmium exposure. *Toxicol Mech Methods.* 2010;20(1):7-13. DOI: 10.3109/15376510903452941

97. Horiguchi H, Oguma E, Sasaki S, Miyamoto K, Ikeda Y, Machida M, et al. Environmental exposure to cadmium at a level insufficient to induce renal tubular dysfunction does not affect bone density among female Japanese farmers. *Environ Res.* 2005;97(1):83-92. DOI: 10.1016/j.envres.2004.03.004

98. Nambunmee K. Osteotoxicity in the inhabitants of a cadmium polluted area. *J Health Res.* 2014;28(3):211-7.

99. Nogawa K, Tsuritani I, Kido T, Honda R, Ishizaki M, Yamada Y. Serum vitamin D metabolites in cadmium-exposed persons with renal damage. *Int Arch Occup Environ Health.* 1990;62(3):189-93. DOI: 10.1007/BF00379430

100. Nawrot T, Geusens P, Nulens TS, Nemery B. Occupational cadmium exposure and calcium excretion, bone density, and osteoporosis in men. *J Bone Miner Res.* 2010;25(6):1441-5. DOI: 10.1002/jbmr.22.101

101. Wallin M, Sallsten G, Fabricius-Lagging E, Öhrn C, Lundh T, Barregard L. Kidney cadmium levels and associations with urinary calcium and

bone mineral density: a cross-sectional study in Sweden. *Environ Health*. 2013;12:22. DOI: 10.1186/1476-069X-12-22

102. Suljević D, Islamagić E, Čorbić A, Fočak M, Filipić F. Chronic cadmium exposure in Japanese quails perturbs serum biochemical parameters and enzyme activity. *Drug Chem Toxicol*. 2020;43(1):37-42. DOI: 10.1080/01480545.2019.1614024

103. He S, Zhuo L, Cao Y, Liu G, Zhao H, Song R, et al. Effect of cadmium on osteoclast differentiation during bone injury in female mice. *Environ Toxicol*. 2020;35(4):487-94. DOI: 10.1002/tox.22884

104. Nishijo M, Nambunmee K, Suvagandha D, Swaddiwudhipong W, Ruangyuttikarn W, Nishino Y. Gender-Specific Impact of Cadmium Exposure on Bone Metabolism in Older People Living in a Cadmium-Polluted Area in Thailand. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(4):401. DOI: 10.3390/ijerph14040401

105. Callan AC, Devine A, Qi L, Ng JC, Hinwood AL. Investigation of the relationship between low environmental exposure to metals and bone mineral density, bone resorption and renal function. *Int J Hyg Environ Health*. 2015;218(5):444-51. DOI: 10.1016/j.ijheh.2015.03.010

106. Bhattacharyya MH. Cadmium osteotoxicity in experimental animals: mechanisms and relationship to human exposures. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2009;238(3):258-65. DOI: 10.1016/j.taap.2009.05.015

107. Lanocha N, Kalisińska E, Kosik-Bogacka D, Budis H, Sokołowski S, Bohatyrewicz A. Comparison of concentrations of lead and cadmium in various parts of the femur head in patients after arthroplasty of the hip joint in Northwest Poland. *Biomed Environ Sci*. 2012;25(5):577-82. DOI: 10.3967/0895-3988.2012.05.012

108. Schmid C, Alampi I, Briggs J, Tarcza K, Stawicki TM. Mechanotransduction Activity Facilitates Hair Cell Toxicity Caused by the Heavy Metal Cadmium. *Front Cell Neurosci*. 2020 Feb 20;14:37. DOI: 10.3389/fncel.2020.00037

109. Liu W, Dai N, Wang Y, Xu C, Zhao H, Xia P, et al. Role of autophagy in cadmium-induced apoptosis of primary rat osteoblasts. *Sci Rep.* 2016;6:20404. DOI: 10.1038/srep20404
110. Lévesque M, Martineau C, Jumarie C, Moreau R. Characterization of cadmium uptake and cytotoxicity in human osteoblast-like MG-63 cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008;231(3):308-17. DOI: 10.1016/j.taap.2008.04.016
111. Branca JJV, Pacini A, Gulisano M, Taddei N, Fiorillo C, Becatti M. Cadmium-Induced Cytotoxicity: Effects on Mitochondrial Electron Transport Chain. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:604377. DOI: 10.3389/fcell.2020.604377
112. Zhang S, Che L, He C, Huang J, Guo N, Shi J, et al. Drp1 and RB interaction to mediate mitochondria-dependent necroptosis induced by cadmium in hepatocytes. *Cell Death Dis.* 2019;10(7):523. DOI: 10.1038/s41419-019-1730-y
113. Gupta R, Shukla RK, Chandravanshi LP, Srivastava P, Dhuriya YK, Shanker J, et al. Protective Role of Quercetin in Cadmium-Induced Cholinergic Dysfunctions in Rat Brain by Modulating Mitochondrial Integrity and MAP Kinase Signaling. *Mol Neurobiol.* 2017;54(6):4560-83. DOI: 10.1007/s12035-016-9950-y
114. Ma Y, Ran D, Cao Y, Zhao H, Song R, Zou H, et al. The effect of P2X7 on cadmium-induced osteoporosis in mice. *J Hazard Mater.* 2021;405:124251. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.124251
115. Brzóska MM. Low-level chronic exposure to cadmium enhances the risk of long bone fractures: a study on a female rat model of human lifetime exposure. *J Appl Toxicol.* 2012;32(1):34-44. DOI: 10.1002/jat.1632
116. Brzóska MM, Moniuszko-Jakoniuk J. Disorders in bone metabolism of female rats chronically exposed to cadmium. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005;202(1):68-83. DOI: 10.1016/j.taap.2004.06.007
117. Brzóska MM, Majewska K, Moniuszko-Jakoniuk J. Mechanical properties of femoral diaphysis and femoral neck of female rats chronically

exposed to various levels of cadmium. *Calcif Tissue Int.* 2005;76(4):287-98. DOI: 10.1007/s00223-004-0089-x

118. García-Mendoza D, Han B, van den Berg HJHJ, van den Brink NW. Cell-specific immune-modulation of cadmium on murine macrophages and mast cell lines in vitro. *J Appl Toxicol.* 2019;39(7):992-1001. DOI: 10.1002/jat.3788

119. Rodríguez J, Mandalunis PM. Effect of cadmium on bone tissue in growing animals. *Exp Toxicol Pathol.* 2016;68(7):391-7. DOI: 10.1016/j.etp.2016.06.001

120. Ma Y, Ran D, Zhao H, Song R, Zou H, Gu J, et al. Cadmium exposure triggers osteoporosis in duck via P2X7/PI3K/AKT-mediated osteoblast and osteoclast differentiation. *Sci Total Environ.* 2021;750:141638. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.141638

121. Chen X, Zhu G, Gu S, Jin T, Shao C. Effects of cadmium on osteoblasts and osteoclasts in vitro. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2009;28(2):232-6. DOI: 10.1016/j.etap.2009.04.010

122. Chen X, Zhu G, Jin T, Zhou Z, Gu S, Qiu J, et al. Cadmium stimulates the osteoclastic differentiation of RAW264.7 cells in presence of osteoblasts. *Biol Trace Elem Res.* 2012;146(3):349-53. DOI: 10.1007/s12011-011-9256-x

123. Papa V, Bimonte VM, Wannenes F, D'Abusco AS, Fittipaldi S, Scandurra R, et al. The endocrine disruptor cadmium alters human osteoblast-like Saos-2 cells homeostasis in vitro by alteration of Wnt/ β -catenin pathway and activation of caspases. *J Endocrinol Invest.* 2015;38(12):1345-56. DOI: 10.1007/s40618-015-0380-x

124. Oliveira H, Monteiro C, Pinho F, Pinho S, Ferreira de Oliveira JM, Santos C. Cadmium-induced genotoxicity in human osteoblast-like cells. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2014;775-776:38-47. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2014.10.002

125. Hu KH, Li WX, Sun MY, Zhang SB, Fan CX, Wu Q, et al. Cadmium Induced Apoptosis in MG63 Cells by Increasing ROS, Activation of p38 MAPK

and Inhibition of ERK 1/2 Pathways. *Cell Physiol Biochem*. 2015;36(2):642-54. DOI: 10.1159/000430127

126. Wang DH, Xu H, Zheng YH, Gu DS, Zhu YJ, Ren Y, et al. Environmental exposure to lead and cadmium and hearing loss in Chinese adults: A case-control study. *PLoS One*. 2020;15(5):e0233165. DOI: 10.1371/journal.pone.0233165

127. Choi YH, Park SK. Environmental Exposures to Lead, Mercury, and Cadmium and Hearing Loss in Adults and Adolescents: KNHANES 2010-2012. *Environ Health Perspect*. 2017;125(6):067003. DOI: 10.1289/EHP565

128. Yuan G, Dai S, Yin Z, Lu H, Jia R, Xu J, et al. Toxicological assessment of combined lead and cadmium: acute and sub-chronic toxicity study in rats. *Food Chem Toxicol*. 2014;65:260-8. DOI: 10.1016/j.fct.2013.12.041

129. Романюк АМ, Коробчанська АБ, Сауляк СВ, Романюк СА. Морфологічні та метаболічні порушення у нижній щелепі та різці під впливом солей важких металів та їх корекція осейнгідроксиапатитним комплексом. *Світ біології та медицини*. 2015;2(49)(Ч. 1):68-72.

130. Kuzenko Y, Romanjuk A, Korobchanskaya A, Karpenko L. Periodontal bone response under the influence of Cr(VI). *Osteologický bulletin*. 2014;19(1):25-31.

131. Kenzaki K, Tsuchikawa K, Kuwahara T. An immunohistochemical study on the localization of type II collagen in the developing mouse mandibular condyle. *Okajimas Folia Anat Jpn*. 2011;88(2):49-55. DOI: 10.2535/ofaj.88.49

132. Alberton P, Dugonitsch HC, Hartmann B, Li P, Farkas Z, Saller MM, et al. Aggrecan Hypomorphism Compromises Articular Cartilage Biomechanical Properties and Is Associated with Increased Incidence of Spontaneous Osteoarthritis. *Int J Mol Sci*. 2019;20(5):1008. DOI: 10.3390/ijms20051008

133. Bao CX, Chen HX, Mou XJ, Zhu XK, Zhao Q, Wang XG. GZMB gene silencing confers protection against synovial tissue hyperplasia and articular cartilage tissue injury in rheumatoid arthritis through the MAPK signaling

pathway. *Biomed Pharmacother.* 2018;103:346-54. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.04.023

134. Куцевляк ВФ, Лахтін ЮВ. Макроскопічні і морфометричні зміни в зубоальвеолярних блоках нижньої щелепи щурів при дії комбінації солей важких металів. *Укр. морфолог. альманах.* 2010;8(3)69-71.

135. Yessica Eduvigis ZC, Martínez-Nava G, Reyes-Hinojosa D, Mendoza-Soto L, Fernández-Torres J, López-Reyes A, et al. Impact of cadmium toxicity on cartilage loss in a 3D in vitro model. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2020;74:103307. DOI: 10.1016/j.etap.2019.103307

136. R S, A MP. Role of SOX9 in the Etiology of Pierre-Robin Syndrome. *Iran J Basic Med Sci.* 2013;16(5):700-4. PMID: 23826492; PMCID: PMC3700045

137. Liu CF, Samsa WE, Zhou G, Lefebvre V. Transcriptional control of chondrocyte specification and differentiation. *Semin Cell Dev Biol.* 2017;62:34-49. DOI: 10.1016/j.semcdb.2016.10.004.

138. Kirschvink N, Vincke G, Fiévez L, Onclinx C, Wirth D, Belleflamme M, et al. Repeated cadmium nebulizations induce pulmonary MMP-2 and MMP-9 production and emphysema in rats. *Toxicology.* 2005;211(1-2):36-48. DOI: 10.1016/j.tox.2005.02.012

139. Valko M, Jomova K, Rhodes CJ, Kuča K, Musílek K. Redox- and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. *Arch Toxicol.* 2016;90(1):1-37. DOI: 10.1007/s00204-015-1579-5

140. Chen P, Bornhorst J, Diana Neely M, Avila DS. Mechanisms and Disease Pathogenesis Underlying Metal-Induced Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:7612172. DOI: 10.1155/2018/7612172

141. Васько ЛВ, Кіптенко ЛІ, Гортинська ОМ, Болотна ІВ. Ультроструктура кісткових клітин в умовах опромінення та вживання солей важких металів. *Світ медицини та біології.* 2011;4:23-6.

142. Sies H, Jones DP. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020;21(7):363-83. DOI: 10.1038/s41580-020-0230-3

143. Shadel GS, Horvath TL. Mitochondrial ROS signaling in organismal homeostasis. *Cell*. 2015;163(3):560-9. DOI: 10.1016/j.cell.2015.10.001
144. Hadrava Vanova K, Kraus M, Neuzil J, Rohlena J. Mitochondrial complex II and reactive oxygen species in disease and therapy. *Redox Rep*. 2020;25(1):26-32. DOI: 10.1080/13510002.2020.1752002
145. Singh A, Kukreti R, Saso L, Kukreti S. Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases. *Molecules*. 2019;24(8):1583. DOI: 10.3390/molecules24081583
146. Islam MT. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. *Neurol Res*. 2017;39(1):73-82. DOI: 10.1080/01616412.2016.1251711
147. Tönnies E, Trushina E. Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2017;57(4):1105-21. DOI: 10.3233/JAD-161088
148. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018;13:757-72. DOI: 10.2147/CIA.S158513
149. Picca A, Guerra F, Calvani R, Bucci C, Lo Monaco MR, Bentivoglio AR, et al. Mitochondrial Dysfunction and Aging: Insights from the Analysis of Extracellular Vesicles. *Int J Mol Sci*. 2019;20(4):805. DOI: 10.3390/ijms20040805
150. Pohjoismäki JL, Goffart S. The role of mitochondria in cardiac development and protection. *Free Radic Biol Med*. 2017;106:345-54. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.02.032
151. Moe GW, Marín-García J. Role of cell death in the progression of heart failure. *Heart Fail Rev*. 2016;21(2):157-67. DOI: 10.1007/s10741-016-9532-0
152. Aggarwal V, Tuli HS, Varol A, Thakral F, Yerer MB, Sak K, et al. Role of Reactive Oxygen Species in Cancer Progression: Molecular Mechanisms and Recent Advancements. *Biomolecules*. 2019;9(11):735. DOI: 10.3390/biom9110735

153. Moloney JN, Cotter TG. ROS signalling in the biology of cancer. *Semin Cell Dev Biol.* 2018;80:50-64. DOI: 10.1016/j.semcdb.2017.05.023
154. Kohan R, Collin A, Guizzardi S, Tolosa de Talamoni N, Picotto G. Reactive oxygen species in cancer: a paradox between pro- and anti-tumour activities. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2020;86(1):1-13. DOI: 10.1007/s00280-020-04103-2
155. Li Q, Wang G, Wang Y, Dan Yang, Guan C, Ji J. Foliar application of salicylic acid alleviate the cadmium toxicity by modulation the reactive oxygen species in potato. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2019;172:317-25. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.01.078
156. Dan Dunn J, Alvarez LA, Zhang X, Soldati T. Reactive oxygen species and mitochondria: A nexus of cellular homeostasis. *Redox Biol.* 2015;6:472-85. DOI: 10.1016/j.redox.2015.09.005
157. Lambert AJ, Brand MD. Reactive oxygen species production by mitochondria. *Methods Mol Biol.* 2009;554:165-81. DOI: 10.1007/978-1-59745-521-3_11
158. Dröse S, Brandt U. Molecular mechanisms of superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Adv Exp Med Biol.* 2012;748:145-69. DOI: 10.1007/978-1-4614-3573-0_6
159. Sun L, Zhou F, Shao Y, Lv Z, Li C. The iron-sulfur protein subunit of succinate dehydrogenase is critical in driving mitochondrial reactive oxygen species generation in *Apostichopus japonicus*. *Fish Shellfish Immunol.* 2020;102:350-60. DOI: 10.1016/j.fsi.2020.04.060
160. Gill AJ. Succinate dehydrogenase (SDH)-deficient neoplasia. *Histopathology.* 2018;72(1):106-16. DOI: 10.1111/his.13277
161. Iverson TM, Maklashina E, Cecchini G. Structural basis for malfunction in complex II. *J Biol Chem.* 2012;287(42):35430-8. DOI: 10.1074/jbc.R112.408419

162. Zhao RZ, Jiang S, Zhang L, Yu ZB. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). *Int J Mol Med*. 2019;44(1):3-15. DOI: 10.3892/ijmm.2019.4188

163. Korge P, John SA, Calmettes G, Weiss JN. Reactive oxygen species production induced by pore opening in cardiac mitochondria: The role of complex II. *J Biol Chem*. 2017;292(24):9896-905. DOI: 10.1074/jbc.M116.768325

164. Larosa V, Remacle C. Insights into the respiratory chain and oxidative stress. *Biosci Rep*. 2018;38(5):BSR20171492. DOI: 10.1042/BSR20171492

165. Angelova PR, Abramov AY. Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration. *FEBS Lett*. 2018;592(5):692-702. DOI: 10.1002/1873-3468.12964

166. Hryntsova NB, Romaniuk AM, Bumeister VI. Морфологічні перебудови кіркової речовини наднирників щурів за умов довготривалого впливу солей важких металів та негормональної корекції. *Morphologia*. 2019;3(3):26-31. DOI: [10.26641/1997-9665.2019.3.26-31](https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.3.26-31)

167. Sousa JS, D'Imprima E, Vonck J. Mitochondrial Respiratory Chain Complexes. *Subcell Biochem*. 2018;87:167-227. DOI: 10.1007/978-981-10-7757-9_7

168. Zhao RZ, Jiang S, Zhang L, Yu ZB. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). *Int J Mol Med*. 2019;44(1):3-15. DOI: 10.3892/ijmm.2019.4188

169. Kim HJ, Khalimonchuk O, Smith PM, Winge DR. Structure, function, and assembly of heme centers in mitochondrial respiratory complexes. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1823(9):1604-16. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2012.04.008

170. Sun F, Huo X, Zhai Y, Wang A, Xu J, Su D, et al. Bartlam M, Rao Z. Crystal structure of mitochondrial respiratory membrane protein complex II. *Cell*. 2005;121(7):1043-57. DOI: 10.1016/j.cell.2005.05.025

171. Grimm S. Respiratory chain complex II as general sensor for apoptosis. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1827(5):565-72. DOI: 10.1016/j.bbabbio.2012.09.009

172. Hwang MS, Rohlena J, Dong LF, Neuzil J, Grimm S. Powerhouse down: Complex II dissociation in the respiratory chain. *Mitochondrion*. 2014;19(Pt A):20-8. DOI: 10.1016/j.mito.2014.06.001
173. Van Vranken JG, Na U, Winge DR, Rutter J. Protein-mediated assembly of succinate dehydrogenase and its cofactors. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2015;50(2):168-80. DOI: 10.3109/10409238.2014.990556
174. Brière JJ, Favier J, Gimenez-Roqueplo AP, Rustin P. Tricarboxylic acid cycle dysfunction as a cause of human diseases and tumor formation. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006;291(6):C1114-20. DOI: 10.1152/ajpcell.00216.2006
175. Bezawork-Geleta A, Rohlena J, Dong L, Pacak K, Neuzil J. Mitochondrial Complex II: At the Crossroads. *Trends Biochem Sci*. 2017;42(4):312-25. DOI: 10.1016/j.tibs.2017.01.003
176. Sharma P, Maklashina E, Cecchini G, Iverson TM. Crystal structure of an assembly intermediate of respiratory Complex II. *Nat Commun*. 2018;9(1):274. DOI: 10.1038/s41467-017-02713-8
177. Sharma P, Maklashina E, Cecchini G, Iverson TM. Maturation of the respiratory complex II flavoprotein. *Curr Opin Struct Biol*. 2019;59:38-46. DOI: 10.1016/j.sbi.2019.01.027
178. Maher MJ, Herath AS, Udagedara SR, Dougan DA, Truscott KN. Crystal structure of bacterial succinate:quinone oxidoreductase flavoprotein SdhA in complex with its assembly factor SdhE. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(12):2982-7. DOI: 10.1073/pnas.1800195115
179. Bezawork-Geleta A, Wen H, Dong L, Yan B, Vider J, Boukalova S, et al. Alternative assembly of respiratory complex II connects energy stress to metabolic checkpoints. *Nat Commun*. 2018;9(1):2221. DOI: 10.1038/s41467-018-04603-z
180. Zhang B, Pan C, Feng C, Yan C, Yu Y, Chen Z, et al. Role of mitochondrial reactive oxygen species in homeostasis regulation. *Redox Rep*. 2022 Dec;27(1):45-52. DOI: 10.1080/13510002.2022.2046423

181. Murray TV, Ahmad A, Brewer AC. Reactive oxygen at the heart of metabolism. *Trends Cardiovasc Med.* 2014;24(3):113-20. DOI: 10.1016/j.tcm.2013.09.003
182. Mailloux RJ, Jin X, Willmore WG. Redox regulation of mitochondrial function with emphasis on cysteine oxidation reactions. *Redox Biol.* 2013;2:123-39. DOI: 10.1016/j.redox.2013.12.011
183. Yankovskaya V, Horsefield R, Törnroth S, Luna-Chavez C, Miyoshi H, Léger C, et al. Architecture of succinate dehydrogenase and reactive oxygen species generation. *Science.* 2003;299(5607):700-4. DOI: 10.1126/science.1079605
184. Hervouet E, Simonnet H, Godinot C. Mitochondria and reactive oxygen species in renal cancer. *Biochimie.* 2007;89(9):1080-8. DOI: 10.1016/j.biochi.2007.03.010
185. Dröse S. Differential effects of complex II on mitochondrial ROS production and their relation to cardioprotective pre- and postconditioning. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1827(5):578-87. DOI: 10.1016/j.bbabbio.2013.01.004
186. Kluckova K, Sticha M, Cerny J, Mracek T, Dong L, Drahota Z, et al. Ubiquinone-binding site mutagenesis reveals the role of mitochondrial complex II in cell death initiation. *Cell Death Dis.* 2015;6(5):e1749. DOI: 10.1038/cddis.2015.110
187. Quinlan CL, Orr AL, Perevoshchikova IV, Treberg JR, Ackrell BA, Brand MD. Mitochondrial complex II can generate reactive oxygen species at high rates in both the forward and reverse reactions. *J Biol Chem.* 2012;287(32):27255-64. DOI: 10.1074/jbc.M112.374629
188. Siebels I, Dröse S. Q-site inhibitor induced ROS production of mitochondrial complex II is attenuated by TCA cycle dicarboxylates. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1827(10):1156-64. DOI: 10.1016/j.bbabbio.2013.06.005
189. Dröse S, Bleier L, Brandt U. A common mechanism links differently acting complex II inhibitors to cardioprotection: modulation of mitochondrial

reactive oxygen species production. *Mol Pharmacol.* 2011;79(5):814-22. DOI: 10.1124/mol.110.070342

190. Narabayashi H, Takeshige K, Minakami S. Alteration of inner-membrane components and damage to electron-transfer activities of bovine heart submitochondrial particles induced by NADPH-dependent lipid peroxidation. *Biochem J.* 1982;202:97-105.

191. Bindoli A, Cavallini L, Jocelyn P. Mitochondrial lipid peroxidation by cumene hydroperoxide and its prevention by succinate. *Biochim Biophys Acta.* 1982;681(3):496-503. DOI: 10.1016/0005-2728(82)90192-x

192. Sharmila P, Kumari PK, Singh K, Prasad NV, Pardha-Saradhi P. Cadmium toxicity-induced proline accumulation is coupled to iron depletion. *Protoplasma.* 2017;254(2):763-70. DOI: 10.1007/s00709-016-0988-5

193. Cavallini L, Valente M, Bindoli A. Comparison of cumene hydroperoxide- and NADPH/Fe³⁺/ADP-induced lipid peroxidation in heart and liver submitochondrial particles. Mechanisms of protection by succinate. *Biochim Biophys Acta.* 1984;795(3):466-72. DOI: 10.1016/0005-2760(84)90174-7

194. Tretter L, Adam-Vizi V. Inhibition of Krebs cycle enzymes by hydrogen peroxide: A key role of [alpha]-ketoglutarate dehydrogenase in limiting NADH production under oxidative stress. *J Neurosci.* 2000;20(24):8972-9. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.20-24-08972.2000

195. Tretter L, Szabados G, Andó A, Horváth I. Effect of succinate on mitochondrial lipid peroxidation. 2. The protective effect of succinate against functional and structural changes induced by lipid peroxidation. *J Bioenerg Biomembr.* 1987;19(1):31-44. DOI: 10.1007/BF00769730

196. Duan C, Wu S, Sang Y, Bahetibieke W, Ru J, Song J, et al. Exogenous succinic acid mediates responses of *Larix olgensis* A. Henry to cadmium stress. *Int J Phytoremediation.* 2019;21(8):742-51. DOI: 10.1080/15226514.2018.1556593

197. Нефьодов ОО, Білишко ДВ, Земляний ОА, Шаторна ВФ, Демиденко ЮВ, Мальчугін РК, та ін. Модифікуючий вплив цитрату селену та цитрату германію на ембріотоксичність солей кадмію при комбінованому

- введенні у щурів. [Укр. журн. медицини, біології та спорту](#). 2019;4(4):45-50. DOI: 10.26693/jmbs04.04.045
198. Tretter L, Patocs A, Chinopoulos C. Succinate, an intermediate in metabolism, signal transduction, ROS, hypoxia, and tumorigenesis. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1857(8):1086-101. DOI: 10.1016/j.bbabi.2016.03.012
199. Grimolizzi F, Arranz L. Multiple faces of succinate beyond metabolism in blood. *Haematologica*. 2018;103(10):1586-92. DOI: 10.3324/haematol.2018.196097
200. 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
201. 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.
202. Луцик БД, редактор. *Клінічна лабораторна діагностика: навч. посіб.* Київ: ВСВ «Медицина»; 2011. 288 с.
203. Багрій ММ, Діброва ВА, Попадинець ОГ, Грищук ІМ. *Методики морфологічних досліджень*. Вінниця: Нова книга; 2016. 238 с.
204. Вікуліна ГВ, Боровков СБ. Діагностичне значення деяких біохімічних індексів крові та сечі. [Вісн. Полтав. держ. аграрної академії](#). 2017;3:118-21.
205. Нефьодова ОО, Шевченко ОС. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в нижній щелепі щурів за умов корекції сукцинатами цинка та заліза. *Вісн. пробл. біології і медицини*. 2023;4(171):341-50. DOI: 10.29254/2077-4214-2023-4-171-341-350
206. 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. 2023;15(33):1205-18. DOI: 10.52058/2786-4952-2023-15(33)-1205-1218

207. Шевченко ОС, Нефьодова ОО. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в стегновій кістці щурів із корекцією сукцинатами металів. В: Abstracts of XIV International Scientific and Practical Conference; Prague, Czech Republic, p. 174-177.

208. Нефьодова ОО, Шевченко ОС. Оцінка впливу поллютанта хлориду кадмію на морфофункціональний стан нижньої щелепи щура в експерименті. Перспективи та інновації науки. 2023;16(34):942-57. DOI: 10.52058/2786-4952-2023-16(34)-942-956

209. Шевченко ОС, Нефьодова ОО. Зміни морфологічних структур стегнової кістки щурів під впливом хронічної інтоксикації хлоридом кадмію. В: Distance learning: problems, ways of development and the latest technologies. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference; 2023 Dec 25-27; Munich, Germany. European Conference; 2023, p. 178-181.

210. Шевченко ОС, Нефьодова ОО. Дослідження змін морфологічних показників крові щурів за тривалого кадмієвого навантаження. В: Матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. Наука, освіта, технології та суспільство в XXI столітті: наукові ідеї та механізми реалізації; 2024 Січ 30; Полтава, с. 27-29.

211. Шевченко ОС, Нефьодова ОО. Зміни морфологічних структур стегнової кістки щурів під впливом хронічної інтоксикації хлоридом кадмію. В: Distance learning: problems, ways of development and the latest technologies. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference; 2023 Dec 25-27; Munich, Germany. European Conference; 2023, p. 178-181.

212. Гусак ЄВ, Погорєлов МВ, Ткач ГФ, Данильченко СМ, Бумейстер ВІ, та ін. Мікроелементний склад довгих та мішаних кісток скелета в нормі. Український морфологічний альманах. 2010;8(4):51-5.

213. Криницький РП. Аналіз мінерального складу кісткової тканини коміркової частини нижньої щелепи та його вікової динаміки у осіб чоловічої та жіночої статі. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2015;14(3):40-3.

214. Козак ДВ, Давибіда НО. Мінералізація кісткової тканини за різних режимів рухової активності у віковому аспекті. Галицький лікарський вісник. 2015;22(4):30-2.

215. Шуба НМ. Остеопороз актуальна проблема ХХІ века: современное представление о патогенезе и терапии. Український ревматологічний журнал. 2008;32(2):5-14.

216. Давибіда НО, Лаврінченко ОМ, Грушко ВВ, Козак ДВ. Фактори, що зумовлюють уповільнення зростання та остеокластичну резорбцію плечових кісток і їх структурних елементів у тварин молодого та зрілого віку. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2016;26(2). <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2016.v26.i2.6242>

217. Гусак ЄВ. Структурно-функціональна характеристика губчастої кісткової тканини на 21-шу добу репаративного остеогенезу за умов модельованого мікроелементозу Світ медицини та біології. 2016;12(3 (57): 105-108.

218. Чемес ВВ, Абрагамович ОО, Абрагамович УО, Циганик ЛВ, Гута СІ. Особливості кальцієвофосфорного обміну й стану кісток у хворих на ревматоїдний артрит: патогенез, діагностика та принципи диференційованого лікування. Львівський клінічний вісник. 2019;1(25):51–62.

219. Абрагамович УО, Циганик ЛВ, Синенький ОВ. Оцінка індексу мінеральної щільності кісткової тканини у хворих на системний червоний вовчак із різною тривалістю захворювання. Ключові питання наукових досліджень у сфері медицини в ХХІ ст.: зб. тез міжнар. наук.-практ. конф.; 2014 січня 24-25; Одеса. Одеса; 2014. С. 102–103.

220. Чемес ВВ, Абрагамович ОО, Абрагамович УО, Циганик ЛВ, Гута СІ. Особливості кальцієвофосфорного обміну й стану кісток у хворих на ревматоїдний артрит: патогенез, діагностика та принципи диференційованого лікування. Львівський клінічний вісник. 2019;1(25):51–62.

221. Biletska EM, Onul NM, Kalinicheva VV. Порівняльна оцінка біопротекторної дії цинку в органічній та неорганічній формі на

остеотропність свинцю в експериментальних умовах. *Medical perspectives (Medicni Perspektivi)*. 2016; 21 (4):123-129.

222. Челпанова ІВ, Масна-Чала ОЗ, Масна ЗЗ. Динаміка мінерального складу кісткової тканини нижньої щелепи кролика після нанесення кістковоруйнівної травми. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2022; 21(1): 48-51.

223. Романюк АМ, Коробчанська АБ, Гортинська ОМ. Зміни гістоморфометричних показників нижньої щелепи за умов впливу солей важких металів. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2014;2(63): 139-141.

224. Романюк АМ, Коробчанська АБ, Кузенко ЄВ, Терещенко АО. Порушення ростових процесів у зубощелепній системі під впливом солей важких металів. *Український морфологічний альманах*. 2014;2:76-78.

225. Романюк АМ, Коробчанська АБ, Романюк СА. Ріст і формоутворення нижньої щелепи та зубів в умовах впливу солей важких металів. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини*. 2014; 2(21):151-153.

226. Романюк АМ, Коробчанська АБ, Сауляк СВ. Особливості морфологічної перебудови та хімічного складу твердих тканин зубощелепної системи під впливом солей важких металів. *Український морфологічний альманах*. 2014;12(4):38-41.

227. Лахтин Ю В. Гистоморфометрические изменения в альвеолярном отростке челюстей крыс под действием солей тяжелых металлов и протекцией альфа-липоевой кислоты. *Вісник проблем біології і медицини*. 2012; 4-2(97):243-247.

228. Романюк АМ, Лахтін ЮВ, Кузенко ЄВ. Морфологічні зміни емалі зубів щурів в мовах надлишкового споживання солей цинку, хрому та свинцю. *Український морфологічний альманах*. 2009;7(2):92-94.

229. Сікора ВЗ, Романюк КА. Порушення будови та мінерального складу кісток скелета в умовах впливу солей важких металів та їх корекція

помірними динамічними навантаженнями. Вісник морфології. 2009;15(1): 29
– 31.

ДОДАТОК А

Акти впроваджень

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи
Буковинського державного
медичного університету

доцент

Володимир ЖИТОВСЬКИЙ
« 25 » грудня 2024 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: «Морфологічні зміни кісток щурів при ізольованому введенні хлориду кадмію та його комбінації з сукцинатами металів» (анатомо-експериментальне дослідження).

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

Розроблювач: аспірант кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Шевченко Олена Сергіївна.

3. Джерела інформації:

Nefodova OO, Shevchenko OS. [The effect of chronic administration of cadmium chloride on the morphological structures of the femu bone of rats]. Morphologia. 2023;17(4):41-8. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.41-48>

Нефодова 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(171):341-350.

Нефодова ОО, Шевченко ОС. Оцінка впливу поллютанта хлориду кадмію на морфофункціональний стан нижньої щелепи щура в експерименті. Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2023;16(34):942-957.

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

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

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

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

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

Олександр СЛОБОДЯН

ЗАТВЕРДЖУЮ



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

» 11.05.2020 2024р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції:** «Морфологічні зміни кісток щурів при ізольованому введенні хлориду кадмію та його комбінації з сукцинатами металів» (анатомо-експериментальне дослідження).
- 2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044); аспірант кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Шевченко Олена Сергіївна.
- 3. Джерело інформації:**
 1. Nešádova OO, Shevchenko OS. [The effect of chronic administration of cadmium chloride on the morphological structures of the femur bone of rats]. Morphologia. 2023;17(4):41-8. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.41-48>
 2. Нефьодова О. О., Шевченко О.С. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в нижній щелепі щурів за умов корекції сукцинатами цинка та заліза // Вісник проблем біології і медицини. - 2023. – Вип.4 (171). - С. 341-350.
 3. Нефьодова О.О., Шевченко О.С. Оцінка впливу поллютанта хлориду кадмію на морфофункціональний стан нижньої щелепи щура в експерименті / Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). – 2023. – 16(34). – С. 942-957.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини ВНМУ ім. М.І. Пирогова.
- 5. Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри анатомії людини, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.
- 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань особливостей будови кісткового апарату щурів та його реакції на вплив факторів інтоксикації.
- 7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри анатомії людини, протокол № 8 від 26 січня 2024р.

Відповідальний за впровадження:

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

Віталій ТИХОЛАЗ

«Затверджую»
Директор ННЦ
«Інститут біології та медицини»
Київського національного
університету імені Тараса Шевченка
Остапченко Л.І.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції:** «Морфологічні зміни кісток щурів при ізольованому введенні хлориду кадмію та його комбінації з сукцинатами металів» (анатомо-експериментальне дослідження).
- 2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044 Україна); аспірант кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Шевченко Олена Сергіївна.
- 3. Джерело інформації:**
 1. Nefodova O.O., Shevchenko O.S. [The effect of chronic administration of cadmium chloride on the morphological structures of the femu bone of rats]. Morphologia. 2023;17(4):41-8. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.41-48>
 2. Нефьодова О. О., Шевченко О.С. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в нижній щелепі щурів за умов корекції сукцинатами цинка та заліза // Вісник проблем біології і медицини. - 2023. – Вип.4 (171). - С. 341-350.
 3. Нефьодова О.О., Шевченко О.С. Оцінка впливу полкуганта хлориду кадмію на морфофункціональний стан нижньої щелепи щура в експерименті / Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). – 2023. – 16(34). – С. 942-957.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра технологій медичної діагностики та лікування.
- 5. Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри технологій медичної діагностики та лікування, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.
- 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань особливостей будови кісткового апарату щурів та його реакції на вплив факторів інтоксикації.
- 7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри технологій медичної діагностики та лікування, протокол № 4 від 28 січня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри технологій медичної діагностики та лікування
ННЦ «Інститут біології та медицини»
КНУ імені Тараса Шевченка,
д.мед.н., професор

Олександр МАСВСЬКИЙ

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

професор В.М. Дворник

2024р.



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

- 1. Пропозиція для впровадження:** морфологічні зміни кісток шурів при ізольованому введенні хлориду кадмію та його комбінації з сукцинатами металів (анатомо-експериментальне дослідження).
- 2. Установа-розробник:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044 Україна); аспірант кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Шевченко Олена Сергіївна.
- 3. Джерела інформації:**
 - Nefedova OO, Shevchenko OS. The effect of chronic administration of cadmium chloride on the morphological structures of the femur bone of rats. Morphologia. 2023;17(4):41-8. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.41-48>
 - Нефедова О. О., Шевченко О.С. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в пізній щелепі шурів за умов корекції сукцинатами цинку та заліза // Вісник проблем біології і медицини. - 2023. - Вип.4 (171). - С. 341-350.
 - Нефедова О.О., Шевченко О.С. Оцінка впливу поллютанта хлориду кадмію на морфофункціональний стан пізньої щелепи шура в експерименті / Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). - 2023. - 16(34). - С. 942-957.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії з клінічної анатомією та оперативною хірургією Полтавського державного медичного університету.
- 5. Термін впровадження:** грудень 2023 року - січень 2024 року.
- 6. Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри анатомії з клінічною анатомією та оперативною хірургією, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.
- 7. Ефективність впровадження за критеріями, визначеними в джерелах інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання здобувачів щодо детального вивчення морфологічних особливостей кісток при ізольованому введенні хлориду кадмію та його комбінації з сукцинатами металів.
- 8. Зауваження, пропозиції:** не вносилися.
- 9. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри, протокол № 23 від «23» 01 2024 року.**

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри анатомії з
клінічною анатомією та оперативною хірургією
Полтавського державного
медичного університету
д. біол. н., професор



Сергій БІЛАТІЙ

СТАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової роботи Тернопільського
національного медичного університету
ім.І.Я.Горбачевського д.мед.н., професор
Акт КЛШ
« 24 / 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції:** «Морфологічні зміни кісток щурів при ізольованому введенні хлориду кадмію та його комбінації з сукцинатами металів» (анатомо-експериментальне дослідження).
2. **Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, Україна, 49044 Україна); аспірант кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Шевченко Олена Сергіївна.
3. **Джерело інформації:**
 1. Nefodova OO, Shevchenko OS. [The effect of chronic administration of cadmium chloride on the morphological structures of the femu bone of rats]. *Morphologia*. 2023;17(4):41-8. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.41-48>
 2. Нефодова О. О., Шевченко О.С. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в нижній щелепі щурів за умов корекції сукцинатами цинка та заліза // Вісник проблем біології і медицини. - 2023. – Вип.4 (171). - С. 341-350.
 3. Нефодова О.О., Шевченко О.С. Оцінка впливу поллютанта хлориду кадмію на морфофункціональний стан нижньої щелепи щура в експерименті / Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). – 2023. – 16(34). – С. 942-957.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини ТНМУ ім. І.Я. Горбачевського.
5. **Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри анатомії людини, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.
6. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань особливостей будови кісткового апарату щурів та його реакції на вплив факторів інтоксикації.
7. **Зауваження та пропозиції.** Не висловилися. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри анатомії людини, протокол № 1 від 16 січня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри анатомії людини ТНМУ
ім.І.Я.Горбачевського д.мед.н., професор



Ішля ГЕРАСИМЮК

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
Харківського національного
медичного університету
проф. В.В. Мясослов


«24» 01 2024 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: «Морфологічні зміни кісток щурів при ізольованому введенні хлориду кадмію та його комбінації з сукцинатами металів» (анатомо-експериментальне дослідження).
2. Ким і коли запропонований: Дніпровський державний медичний університет (м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9); аспірант кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Шевченко О.С., 2023 р.
3. Джерела інформації: наукові роботи у вітчизняних фахових виданнях:
 - 3.1 Nefodova O.O., Shevchenko O.S. [The effect of chronic administration of cadmium chloride on the morphological structures of the femur bone of rats]. Morphologia. 2023;17(4):41-8. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.41-48>
 - 3.2 Нефодова О.О., Шевченко О.С. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в нижній щелепі щурів за умов корекції сукцинатами цинка та заліза // Вісник проблем біології і медицини. - 2023. – Вип.4 (171). - С. 341-350.
 - 3.3 Нефодова О.О., Шевченко О.С. Оцінка впливу полостанта хлориду кадмію на морфофункціональний стан нижньої щелепи щура в експерименті / Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). – 2023. – 16(34). – С. 942-957.
4. Де і коли введено: кафедра анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Харківського національного медичного університету, завідувач кафедри д. мед. наук, проф. Вовк О.Ю., жовтень-грудень 2023 року.
5. Результати застосування методу за період жовтень-грудень 2023 року. Впровадження у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії, а також у наукову роботу кафедри.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання здобувачів освіти про морфологічні зміни кісток під впливом хімічних речовин.
7. Зауваження, пропозиції немає.
Обговорено та затверджено на засіданні кафедри (протокол 10 від «26» грудня 2023 р.)

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

24.01.2024
(дата)


(підпис)

Додаток Б

Список публікацій за темою дисертації

1. Нефьодова О.О., Шевченко О.С., Гальперін О.І., Шевченко І.В., Башта І.Г., Баклунов В.В. Оцінка впливу кадмію на розвиток кістково-хрящової патології та роль сукцинатів в корекції Cd-індукованої цитотоксичності (огляд літератури). Вісник проблем біології і медицини. 2021; 2 (160): 34-39. *(Особистий внесок –аналіз наукової літератури, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)*.
2. Olena Shevchenko, Anna Kozina, Valentin Kosse. Shevchenko Olena 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;3:129-135. *(Особистий внесок –аналіз даних експериментальних робіт у науковій літературі, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)*.
3. Нефьодова О.О., Шевченко О.С. Вивчення особливостей накопичення кадмію в стегновій кістці щурів при ізольованому введенні та за умов корекції сукцинатами металів. Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2023;15(33):1205-1218. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-15\(33\)-1205-1218](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-15(33)-1205-1218) *(Особистий внесок –аналіз отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)*.
4. Нефьодова О.О., Шевченко О.С. Оцінка впливу полютанта хлориду кадмію на морфофункціональний стан нижньої щелепи щура в експерименті / Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2023;16(34): 942-957. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16\(34\)-942-956](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16(34)-942-956) *(Особистий внесок – організація та проведення експериментальної частини, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)*

5. Нефьодова О. О., Шевченко О.С. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в нижній щелепі щурів за умов корекції сукцинатами цинка та заліза. Вісник проблем біології і медицини. 2023;4 (171): 341-350. <http://dx.doi.org/10.29254/2077-4214-2023-4-171-341-350>. (Особистий внесок – організація та проведення гістологічного та біохімічного дослідження, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)
6. Nefodova OO, Shevchenko OS. The effect of chronic administration of cadmium chloride on the morphological structures of the femur bone of rats. Morphologia. 2023;17(4):41-8. Ukrainian. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.4.41-48> (Особистий внесок – проведення гістологічного та біохімічного дослідження, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)
7. Нефьодова О.О., Шевченко О.С., Шевченко І.В., Кушнарьова К.А. Вплив комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами заліза та цинку на морфологічні структури стегнової кістки та нижньої щелепи щурів. Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). 2024;3(37):1419-1435. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-3\(37\)-1419-1434](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-3(37)-1419-1434) (Особистий внесок – проведення гістологічного та біохімічного дослідження, порівняння та інтерпретація результатів, написання статті)
8. Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Експериментальна корекція сукцинатами цинка кадмієвої інтоксикації в нижній щелепі щурів. Abstracts of XIII International Scientific and Practical Conference. Madrid, Spain. Pp. 216-217. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/modern-ways-of-development-of-science-and-the-latest-theories/> (Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез)
9. Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в стегновій кістці щурів із корекцією сукцинатами

- металів. Abstracts of XIV International Scientific and Practical Conference. Prague, Czech Republic. Pp. 174-177. (*Особистий внесок – проведення наукового аналізу отриманих результатів, порівняння та інтерпретація результатів, написання тез*)
10. Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Зміни морфологічних структур стегнової кістки щурів під впливом хронічної інтоксикації хлоридом кадмію. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. Pp. 178-181. (*Особистий внесок – проведення аналізу результатів та інтерпретація, написання статті*)
11. Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Дослідження змін морфологічних показників крові щурів за тривалого кадмієвого навантаження. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції "Наука, освіта, технології та суспільство в ХХІ столітті: наукові ідеї та механізми реалізації", 30 січня 2024 року, Полтава – С. 27-29.

Додаток В

Відомості про апробацію результатів дисертації

1. Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Експериментальна корекція сукцинатами цинка кадмієвої інтоксикації в нижній щелепі щурів. Abstracts of XIII International Scientific and Practical Conference. Madrid, Spain. Pp. 216-217. URL: <https://eu-conf.com/ua/events/modern-ways-of-development-of-science-and-the-latest-theories/>
2. Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Експериментальне дослідження накопичення кадмію в стегновій кістці щурів із корекцією сукцинатами металів. Abstracts of XIV International Scientific and Practical Conference. Prague, Czech Republic. Pp. 174-177.
3. Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Зміни морфологічних структур стегнової кістки щурів під впливом хронічної інтоксикації хлоридом кадмію. Abstracts of XV International Scientific and Practical Conference. Munich, Germany. Pp. 178-181.
4. Шевченко О.С., Нефьодова О.О. Дослідження змін морфологічних показників крові щурів за тривалого кадмієвого навантаження. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції "Наука, освіта, технології та суспільство в ХХІ столітті: наукові ідеї та механізми реалізації", 30 січня 2024 року, Полтава – С. 27-29.