

determined at a p-value of less than 0.05 (a significance level of 5%). The description, assessment, and comparison of the mean indicators among the groups were conducted employing variance analysis and the Kruskal-Wallis test.

Results and discussions. All female rats in the experiment survived. The obtained results demonstrate a significant increase in all indicators of embryonic mortality in the group exposed to cadmium chloride in comparison with the control group on both the 13th and 20th days of the experiment. At the same time, comparing the groups exposed to cadmium in combination with zinc and copper succinates with the group of isolated exposure, can visualize statistically significant differences in the main indicators of embryonic development.

Conclusion. Isolated chronic administration of cadmium chloride to pregnant female rats in doses of 2.0 mg/kg leads to a decrease in the average number of embryos and an increase in embryonic mortality in the group, whereas the combined administration of cadmium chloride in the same dose with zinc and copper succinates, all indicators of embryotoxicity are reduced, which enables to consider copper succinate and especially zinc succinates as bioantagonists of cadmium.

DOI 10.31718/2077-1096.23.4.252

УДК 611.013:616.341-092.9:546.48

Шаторна В.Ф., Тимчук К.М.

ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО ІЗОЛЬОВАНОГО ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ НА МОРФОЛОГІЧНІ СТРУКТУРИ СТІНКИ ТОНКОЇ КИШКИ ВАГІТНИХ САМИЦЬ ЩУРІВ

Дніпровський державний медичний університет

В останні роки антропогенне забруднення навколишнього середовища важкими металами стає однією з пріоритетних загроз для живих організмів, включаючи людину, а економічний і технічний прогрес все частіше стає причиною порушення природних екосистем. До важких металів відносяться більше сорока хімічних елементів таблиці Менделєєва, серед яких хром, кадмій, марганець, ртуть, залізо, кобальт, нікель та ін. Вони часто використовуються в промисловості і входять до складу гербіцидів, інсектицидів і медичних препаратів. У надмірній кількості вони здатні змінювати структуру білків, негативно впливати на обмін речовин, викликати клітинні мутації, порушувати структуру та проникність клітинних мембран, а також спричиняти порушення роботи внутрішніх органів. Актуальним на сьогодні є визначення впливу сполук важких металів на організм при їх постійному (хронічному) надходженні та накопиченні в організмі. Метою експерименту було визначення морфологічних змін в будові тонкої кишки щурів при хронічному ізольованому впливі солей кадмію в дозі 2,0 мг/кг за умов ентерального введення. Результати експериментального щоденного внутрішньошлункового дозового введення хлориду кадмію показали морфологічні зміни в будові тонкої кишки у щурів. Аналіз отриманих даних показав, що вплив хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг призводить до достовірного витончення ворсин тонкої кишки та слизової оболонки в порівнянні до контролю. При впливі хлоридом кадмію в зазначеній дозі в слизовій оболонці ворсин тонкої кишки зростала кількість келихоподібних клітин на обох термінах дослідження, що свідчить про посилення захисної функції слизової оболонки тонкої кишки від дії негативного чинника. При впливі кадмієм також визначалось звуження зовнішнього і внутрішнього діаметру крипти, що підтверджується розрахунком індексу діаметру крипти тонкої кишки.

Ключові слова. Важкі метали, кадмій, тонка кишка, експеримент, щури.

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

Вступ

Зі зростанням урбанізації визначається ускладнення екологічної ситуації як на транспортних магістралях та площах, які зайняті промисловими підприємствами, але і на прилеглих до них територіях. Важкі метали та їх сполуки поступають з повітря до водних резервів та ґрунтів, тобто включаються в екологічну систему регіону і стають однією з пріоритетних груп токсикантів, що мають як локальне, регіональне так і глобальне поширення [1,2,3]. Результати численних досліджень підтверджують, що однією з

етіопатогенетичних причин неінфекційних хвороб є вплив екологічних факторів: викиди промислових підприємств і автотранспорту, радіаційне забруднення, хімізація сільського господарства та ін. Основними джерелами надходження в організм людини хімічного фактору є харчові продукти, питна вода, атмосферне повітря. Токсична дія хімічних елементів пов'язана з їхньою всмоктуваністю у шлунково-кишковому тракті, яка залежить від форми та ступеню розчинності елементів [3,4]. Токсичність важких металів залежить від концентрації, тривалості дії,

температури, насиченості води киснем та багатьох інших чинників. До теперішнього часу, незважаючи на значну кількість морфологічних робіт, що присвячені вивченню впливу важких металів на органогенез та морфогенез структур травного тракту, залишається низка невирішених питань щодо розуміння змін основних морфогенетичних подій стінки тонкої кишки при внутрішньошлунковому хронічному введенні солей кадмію [5,6]. Проте вплив сполук кадмію на морфогенез тонкої кишки є малодослідженою галуззю, як в експериментальній морфології так і в медицині.

Мета роботи

Встановити морфологічні зміни будови тонкої кишки щурів при хронічному ізольованому впливі солей кадмію в дозі 2,0 мг/кг за умов ентерального введення вагітній самиці впродовж всієї вагітності.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження проведено на 32 молодих самицях щурів лінії Wistar (розплідник «Далі 2000» м.Київ), масою 180-300 г. Для виконання поставлених завдань отримували самиць з датованим терміном вагітності. В експерименті вагітні самиці розподілялись на такі групи: перша група – контроль; друга група - ізольованого введення розчину кадмію хлориду у дозі 2,0 мг/кг. Кількість експериментальних тварин становила по 16 самиць в кожній групі, які ще розподілялись на 2 підгрупи по терміну виведення з експерименту (13-та та 19-та доба вагітності). Експеримент проводився в віварії ДДМУ з дотриманням всіх необхідних умов утримання тварин.

Фактором впливу був хлорид кадмію (іонний розчин). Вплив розчином хлориду кадмію самицям щурів проводили щоденно з 1-го по 19-й день вагітності введенням розчину внутрішньошлунково, через зонд один раз на добу, на 13-й та 19-й день вагітності самиць проводили оперативний забій. Для виконання поставленої мети дослідження під час експерименту вилучали тонку кишку вагітних самиць, яка підлягала фіксації 10% нейтральним формаліном та в подальшому виготовляли гістологічні зрізи для визначення і порівняння морфологічних змін в стінці кишки під впливом хлориду кадмію. Досліджувались наступні морфометричні показники слизової оболонки тонкої кишки щура: кількість келихоподібних клітин, діаметр (товщина) ворсин, зовнішній та внутрішній діаметр крипт та індекс діаметру крипт:

- кількість келихоподібних клітин слизової оболонки ворсин на 150 мкм на гістологічному зрізі ($M \pm m$);
- розмір зовнішнього та внутрішнього діаметру крипт тонкої кишки (мкм), $M \pm m$,
- індекс зовнішнього та внутрішнього діаметру крипт тонкої кишки (%), $M \pm m$, який розраховувався нами – за формулою:

$$IDK = \frac{m}{M} \times 100\%$$

де IDK – індекс діаметру крипти; m – внутрішній діаметр крипти (мкм); M – зовнішній діаметр крипти (мкм).

Отримані дані порівнювались до контрольних з використанням критерію Стьюдента. Статистична обробка отриманих даних виконано за допомогою стандартної програми Microsoft Excel. Однофакторний регресійний аналіз з 95% довірчим інтервалом було використано для виявлення можливих асоціацій між аналізованими факторами. Відмінності при $p < 0,05$ (рівень значущості 5%) вважались статистично значущими.

Дослідження виконувались у відповідності до принципів Хельсінкської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000р.), Конвенції Ради Європи з прав людини та біомедицини (1997р.), відповідних положень ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983р.), «Загальним етичним принципам експериментів над тваринами», що затверджені І Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001р.) згідно з положеннями «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших навчальних цілях» (Страсбург, 18.03.1986р.).

Результати дослідження

Тонка кишка - це орган травного тракту, який має велике значення у процесах травлення і виконує декілька функцій в організмі. Окрім секреторної функції – вироблення кишкового соку, яка здійснюється епітелієм слизової оболонки, велике значення має травна функція, що полягає в розщепленні компонентів хімусу до доступних для всмоктування речовин. У тонкій кишці відбувається порожнинне, пристінкове, мембранозне та внутрішньоклітинне травлення. Для забезпечення ефективного всмоктування та збільшення всмоктувальної поверхні слизова оболонка тонкого кишечника має певні морфологічні особливості та утворення у вигляді ворсин, складок та крипт. Всмоктування нутрієнтів здійснюється в кровеносні та лімфатичні капіляри ворсин. Тонка кишка також має депонуючу та моторно-евакуаторну функції. Через тонкий кишечник виводяться кінцеві продукти обміну речовин - екскреторна функція. Ендокринна функція тонкої кишки полягає у виробленні різних гормонів ендокриноцитами. Продукція слизу клітинами слизової оболонки забезпечує виконання бар'єрно-захисної функції, а розміщення всередині стінки одиночних та групових лімфоїдних вузлів і імунокомпетентних клітин - виконання імунної функції.

Стінка тонкої кишки щура складається з чотирьох оболонок: слизової, підслизової, м'язової та серозної. Слизова оболонка тонкої кишки формує внутрішній рельєф: ворсинки, крипти та циркулярні складки. (рис.1).

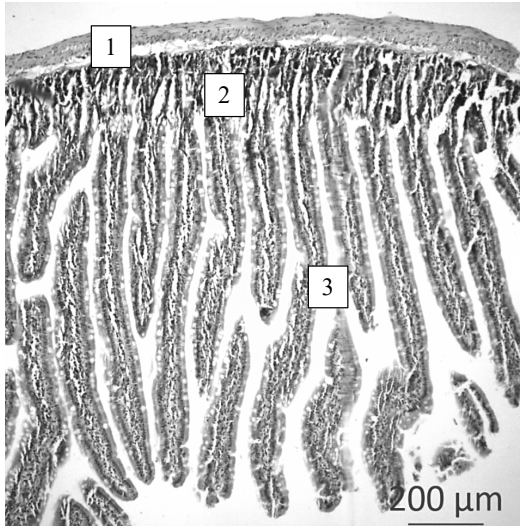


Рисунок. 1. Мікрофотографія зрізу стінки тонкої кишки самиці щура контрольної групи на 13-тій добі експерименту. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення 10x4. Позначення: 1. М'язова оболонка. 2. Крипти слизової оболонки. 3. Ворсини.

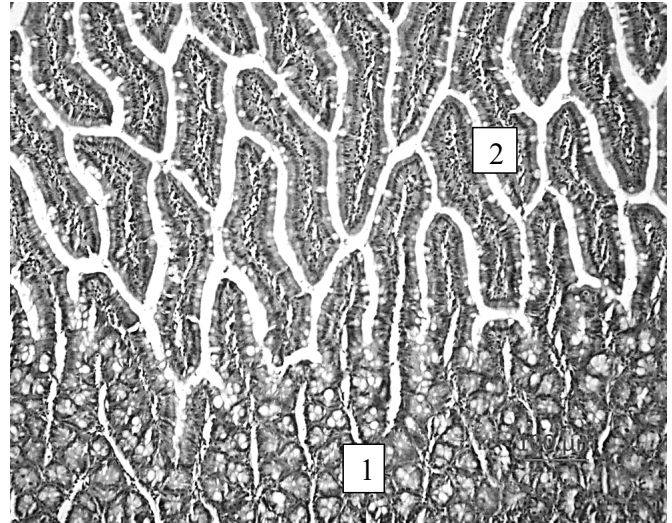


Рисунок. 2. Мікрофотографія зрізу стінки тонкої кишки самиці щура контрольної групи на 20-тій добі експерименту. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення 10x10. Позначення: 1. Крипти слизової оболонки. 2. Ворсини тонкої кишки.

Ворсини - пальцеподібні випинання слизової оболонки у просвіт кишки, які містять кровоносні та лімфатичні капіляри і здатні до активного скорочення. Їх рухомість забезпечується наявністю пучків гладких міоцитів з м'язової пластинки. Крипти - це поглиблення епітелію у власну пластинку слизової. Оболонки, навколо однієї ворсинки знаходиться декілька крипт, що становлять разом з ворсиною структурно-функціональний елемент слизової оболонки (рис.2).

У центрі кожної кишкової ворсинки проходить досить широкий лімфатичний капіляр (синус), який сліпо починається в області верхівки, що з'єднується з лімфатичними судинами підслизової оболонки кишечника. В ці капіляри з просвіту тонкої кишки надходять продукти розщеплення. Довкола лімфокапіляру сформована сітка гемомікроциркуляторного русла, що забезпечує всмоктування амінокислот як продуктів розщеплення білків та всмоктування простих вуглеводів.

Основною функцією кишкових ворсинок, є збільшення всмоктуючої площі слизової оболонки. Слизова оболонка ворсини побудована з трьох шарів: епітеліальної, власної та м'язової пластинок. Епітелій ворсинок містить три види клітин: стовпчасті, келихоподібні та ендокриноцити, які функціонально забезпечують процеси пристінкового травлення. Келихоподібні ентероцити - це різновид клітин епітелію ворсинок, які по суті є слизовими залозами, які продукують вуглеводно-протеїнові комплекси - муцини (головний компонент слизу), та виконують захисну функцію. Кількість келихоподібних клітин та їх форма змінюється впродовж секреторного циклу від стовпчастої до келихоподібної та визначається наявністю гранул слизового секрету, який добре визначається при гістологічному дослідженні (рис.3).

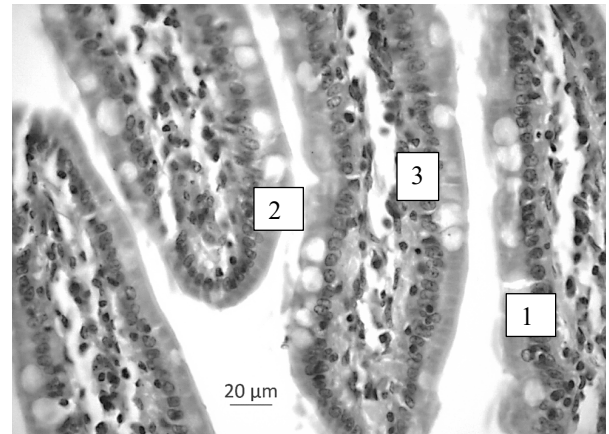


Рисунок. 3. Мікрофотографія зрізу ворсинки тонкої кишки самиці щура контрольної групи на 13-тій добі експерименту. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення 10x 40. Позначення: 1. Одношаровий стовбчастий епітелій. 2. Келихоподібні клітини. 3. Лімфатичний капіляр.

Ворсинку і крипту розглядають як єдину систему у складі слизової оболонки тонкої кишки, між якими існують певні розділення у виконанні основних функцій, властивих слизовій оболонці. Цю систему крипта-ворсинка можна розглядати як структурно-функціональний елемент слизової оболонки тонкої кишки.

Аналіз отриманих метрометричних даних щодо гістологічних структур тонкої кишки в групі ізольованого впливу проводився у порівнянні до групи контролю на обох термінах. Діаметр ворсин тонкої кишки в контрольній групі не мав достовірної різниці між показниками 13-тої ($85,61 \pm 3,18 \mu\text{m}$) доби та 19-тої ($79,84 \pm 2,70 \mu\text{m}$). В групі ізольованого впливу хлоридом кадмію на 13-тій добі експерименту спостерігалось витончення ворсин тонкої кишки до ($70,23 \pm 1,21 \mu\text{m}$), тобто дана різниця була достовірною $P \leq 0,05$. При цьому спостерігалась тенденція до витончення слизової оболонки при хронічному впливі

кадмієм. В контрольній групі на 13-ту добу експерименту товщина слизового шару становила $17,00 \pm 0,67$ мкм, а в групі впливу кадмієм зменшувалась до $16,74 \pm 0,87$ мкм. Нами також підраховувалась і кількість келихоподібних клітин слизової оболонки ворсини як показника функціонального статусу внутрішнього шару тонкої

кишки. На терміні 13-ої доби кількість келихоподібних клітин недостовірно зростала до $13,32 \pm 1,41$ у порівнянні до контрольних показників $12,7 \pm 1,08$ (рис.4). Келихоподібні клітини реагують збільшенням їх числа, що можна пояснити проявом компенсаторної реакції адаптації слизової оболонки до впливу токсикантів.

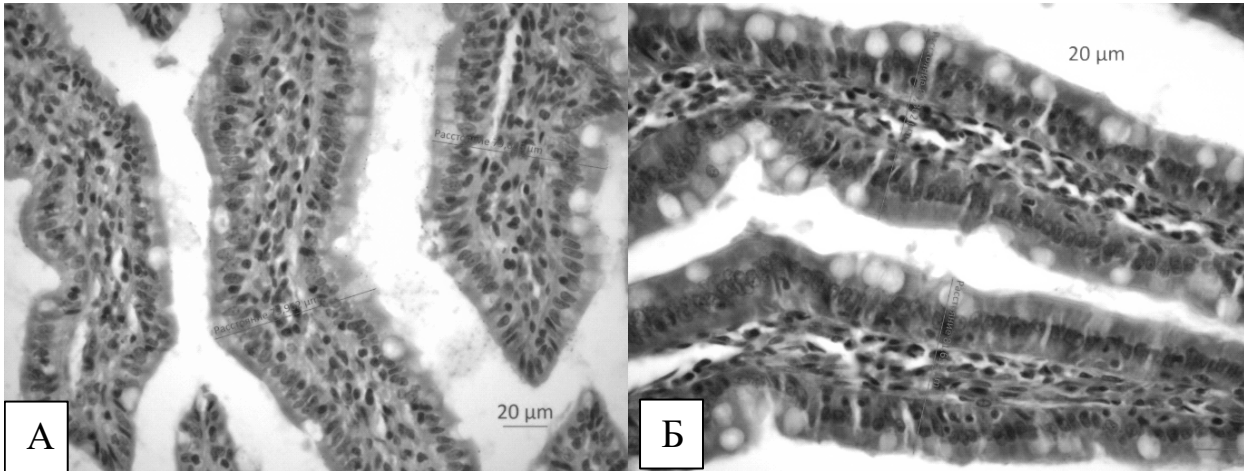


Рисунок. 4. Мікрофотографія зрізу ворсини тонкої кишки самиці щура контрольної групи на 13-ій добі експерименту. Фарбування гематоксилін-еозин. Збільшення 10×40 . Позначення: А – група контролю, Б – група впливу хлоридом кадмію.

Але ситуація динамічно змінювалась на 19-ту добу експерименту, тобто наприкінці дослідження. В контролі даний показник становив $11,40 \pm 1,03$, а при впливі хлоридом кадмію достовірно ($p \leq 0,05$) зростав до $16,05 \pm 1,57$. Тобто, при довготривалому введенні внутрішньошлунково розчину кадмію кількість келихоподібних клітин збільшується для захисту слизової оболонки тонкої кишки від впливу негативного чинника.

Нами визначались та обраховувались також і морфометричні зміни на гістологічних препаратах в криптах стінки тонкої кишки. Нами визначались та порівнювались між групами контролю та ізольованого впливу кадмієм наступні морфометричні показники крипт тонкої кишки: діаметр зовнішній та внутрішній крипти, індекс діаметру крипти. Як показало обрахування та співставлення отриманих результатів, при ізольованому введенні кадмію визначається зменшення діаметрів крипт, як внутрішнього, так і зовнішнього на обох термінах дослідження. В контролі показник зовнішнього діаметру на 19-ту добу недостовірно знижувався. При впливі кадмієм також визначалось звуження діаметру крипти, але різниця у порівнянні до контрольних показників була достовірною. На 13-ту добу експерименту діаметр крипти в контрольній групі становив $52,11 \pm 2,24$ мкм, а при впливі кадмію знижувався до $42,98 \pm 1,27$ мкм (достовірність різниці $p \leq 0,05$). Тенденція зменшення діаметру крипти прослідковувалась наприкінці експерименту, тобто на 19-ту добу. В контролі показник зовнішнього діаметру крипти становив $49,92 \pm 1,79$ мкм, а в групі впливу кадмієм знижувався до

$43,34 \pm 1,93$ мкм. Така різниця була достовірною (достовірність різниці $p \leq 0,05$). Отримані показники дозволили розрахувати індекс діаметру крипти тонкої кишки, який довів достовірність зниження досліджуваних показників на обох термінах експерименту. В контрольній групі індекс на двох термінах не мав достовірної різниці і становив на 13-ту добу $28,90 \pm 2,24$, а на 19-ту добу $29,91 \pm 1,79$. При впливі хлоридом кадмію на 13-ту добу цей показник достовірно знижувався до $25,80 \pm 1,27$, а на 19-ту до $26,27 \pm 2,13$.

Обговорення результатів

Науковими дослідженнями доведено, що кадмій - важкий метал, який при надходженні в організм руйнівно впливає на шлунково-кишковий тракт, який зазвичай є першою системою, що контактує з ним. Токсична дія кадмію на життєво важливі органи, такі як травна система, кишечник, нирки, кістково-м'язова та репродуктивна системи активно досліджуються. Основною причиною цього негативного впливу прийнято вважати розвиток окислювального стресу [7]. У процесі експериментальної роботи вчені визначили, що кадмій індукує розвиток запалення, підвищує проникність кишечника і порушує щільні контакти міжклітинних з'єднань в епітеліальному шарі тонкої кишки. Такі порушення руйнують клітинний бар'єр, який у нормі є непроникним для рідини, що призводить до подальшого розвитку патологічного процесу. Отримані дослідниками дані підтверджуються нашими даними про гістологічні зміни, які визначено в ході наших експериментальних досліджень на щурах.

Висновки

1. Хронічний внутрішньшлунковий вплив хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг призводить до достовірного витончення ворсин тонкої кишки та слизової оболонки.

2. При впливі хлоридом кадмію в зазначеній дозі в слизовій оболонці ворсин тонкої кишки зростала кількість келихоподібних клітин на обох термінах дослідження, що свідчить про посилення захисної функції слизової оболонки тонкої кишки від дії негативного чинника.

3. При впливі кадмієм також визначалось звуження зовнішнього і внутрішнього діаметру крипти, що підтверджується розрахунком індексу діаметру крипти тонкої кишки.

Перспективи подальших досліджень

Актуальним на сьогодні є пошук нових форм мікроелементів, які можуть мати потенційні біоантогоністичні властивості щодо токсичності та впливу сполук кадмію на морфогенез тонкої кишки.

ORCID кожного автора та їх внесок до статті: Шаторна В.Ф.: 0000-0002-5853-9864 - АБВДЕЖЗ

Тимчук К.М.: 0000-0003-0117-9033 - ГДЕ

А) концепція та дизайн; Б) адміністративна підтримка; В) надання матеріалів для дослідження; Г) збір та узагальнення даних; Д) аналіз та інтерпретація результатів; Е) написання рукопису; Ж) редагування рукопису; З) остаточне за-

твердження рукопису.

Конфлікт інтересів

Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

References

1. Arustamyan OM, Tkachishin VS, Aleksiychuk OYu. Vpliv spolum kadmiyu na organizm lyudini [The effect of cadmium compounds on the human body]. *Meditsina neotlozhnykh sostoyaniy*. 2016; 7:109-114. (Ukrainian)
2. Shatorna VF, Krasnov OO. Effect of cadmium chloride on kidney morphology in rats in isolated introduction and in combination with copper and zinc succinates. *Vistnyk problem biolohiyi i medytsyny*. 2022; 1 (163): 97-102.
3. Shatorna V, Kononova I, Rudenko K. Investigation of the effect of cadmium and kuprum on the digestive system of living organisms (literature review) *Modern Science — Moderni věda*. 2020; 3: 142-149.
4. Neyko YEM, Hubs'kyy YUI, Erstenyuk HM. Intoksykatsiya kadmiem: toksykokinetika i mekhanizm biotsydneykh efektiv [Cadmium intoxication: toxicokinetics and mechanism of biocidal effects]. *Zhurnal AMN Ukrayiny*. 2013; 9(2): 250-261. (Ukrainian)
5. Hryshchuk MI. Strukturni zminy slyzovoy obolonky tonkoy kyshky za umov vplyvy kadmiyu ta pestytsydu 2,4-D [Structural changes of the mucous membrane of the small intestine under conditions of exposure to cadmium and the pesticide 2,4-D]. *Shpytalna khirurhiya*. 2012; 3: 80-83. (Ukrainian)
6. Khyzhnyak SV. Funktsionuvannya klityn pry kadmiyeviy intoksykatsiyi [Cell functioning during cadmium intoxication]. *Suchasni problemy toksykolohiyi*. 2009; 1: 54-58. (Ukrainian)
7. Hnatyk OY. Metabolichni zminy v orhanakh shchuriv za umov svyntsevo-kadmiyevykh toksykoziv ta yikh korektsiya hepatoprotektoramy [Metabolic changes in the organs of rats under conditions of lead-cadmium toxicosis and their correction with hepatoprotectors]. [dissertation]. L'viv, Lviv National Medical University named after Danylo Halyskyi; 2008. 18p. (Ukrainian)

Summary

THE EFFECT OF CRONIC ISOLATED ADMINISTRATION OF CADMIUM CHLORIDE ON THE MORPHOLOGICAL STRUCTURES IN THE WALLS OF SMALL INTESTINE OF PREGNANT FEMALE RATS

Shatorna V.F., Tymchuk K.M.

Key words: heavy metals, cadmium, small intestine, experiment, rats.

In recent years, the anthropopolitical environmental pollution with heavy metals has become one of the main threats to living organisms, including humans, and economic and technological progress is increasingly resulting in the disruption of natural ecosystems. Heavy metals include more than forty chemical elements of the periodic table, including chromium, cadmium, manganese, mercury, iron, cobalt, nickel, and others. They are often used in industry and are part of herbicides, insecticides, and medicines. In excessive quantities, they can change the structure of proteins, negatively affect metabolism, lead to cellular mutations, disrupt the structure and permeability of cell membranes, and cause malfunctioning of internal organs. Today, it is important to determine the impact of heavy metal compounds on the body in case of their constant (chronic) intake and accumulation in the body.

The purpose of this study was to determine morphological changes in the structure of the walls in the small intestine of rats subjected to the chronic isolated exposure to cadmium salts in a dose of 2.0 mg/kg (enteral administration).

The study involved 32 young female Wistar rats, with weights ranging from 180 to 300 g. Female rats with confirmed pregnancies were divided into the following groups: the first group served as the control, and the second group underwent isolated injection of cadmium chloride solution at a dose of 2.0 mg/kg.

The results of the experimental daily intragastric long-term administration of cadmium chloride showed morphological changes in the structure of the small intestine in rats. The analysis of the data obtained showed that exposure to cadmium chloride in a dose of 2.0 mg/kg leads to a significant thinning of the villi of the small intestine and mucous membrane compared to the control. When exposed to cadmium chloride in the specified dose, the number of goblet cells in the mucous membrane of the small intestine villi increased at both periods of the study, which indicates an increase in the protective function of the small intestinal mucosa against the action of a negative factor. Under the influence of cadmium, the narrowing of the outer and inner diameters of the crypt was also determined that is confirmed by the calculation of the index of the diameter of the small intestine crypt.