

comparison of the obtained results of the experiment proved the modifying effect of copper and zinc succinates on the degree of cadmium accumulation in embryos and hearts of adult females when they were simultaneously administered in an experiment on rats.

Key words: heavy metals, cadmium, zinc, copper, heart, rat embryos.

ORCID and contributionship: / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Shatorna V. F.: <https://orcid.org/0000-0002-5853-9864>^{AEF}

Lomyha L. L.: <https://orcid.org/0000-0002-7881-1386>^{BCD}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors of the article confirm that they have no conflict of interest. / Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Shatorna Vira Fedorivna / Шаторна Віра Федорівна

Dnipro State Medical University / Дніпровський державний медичний університет

Ukraine, 49044, Dnipro, 9 Volodymyr Vernadsky str. / Адреса: Україна, 49044, м. Дніпро, вул. Володимира Вернадського 9

Tel.: 0633943435 / Тел.: 0633943435

E-mail: verashatornaya67@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті

Received 28.05.2023 / Стаття надійшла 28.05.2023 року
Accepted 09.11.2023 / Стаття прийнята до друку 09.11.2023 року

DOI 10.29254/2077-4214-2023-4-171-116-125

UDC 611.013:616.341-092.9:546.48

Shatorna V. F., Tymchuk K. M.

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE STRUCTURE OF THE SMALL INTESTINE WALL OF PREGNANT FEMALE RATS UNDER THE INFLUENCE OF CHRONIC ADMINISTRATION OF CADMIUM CHLORIDE AND COPPER SUCCINATE

Dnipro State Medical University (Dnipro, Ukraine)

verashatornaya67@gmail.com

Anthropogenic pollution of the environment with heavy metals is becoming one of the top threats to living organisms, including humans, and economic and technological progress is increasingly disrupting natural ecosystems. The accumulation of heavy metals can change the structure of proteins, adversely affect metabolism, cause cellular mutations, disrupt the structure and permeability of cell membranes, and cause malfunctioning of internal organs. Today, it is essential to determine the impact of heavy metal compounds on the body in case of their constant (chronic) intake and accumulation in the body. There are various ways in which heavy metals enter the body; when entering through the gastrointestinal tract, cadmium absorption is, on average, up to 5%, with changes in the composition of the intestinal flora and the intestinal mucosa.

The experiment aimed to determine morphological changes in the structures of the small intestine of female rats under chronic isolated exposure to cadmium salts at a dose of 2.0 mg/kg and in combination with copper succinate at a dose of 0.1 mg/kg under conditions of enteral administration. Study period: 13th and 19th day of administration.

Chronic intragastric administration of cadmium chloride at a dose of 2.0 mg/kg leads to a significant thinning of the villi of the small intestine and mucous membrane. The combined administration of cadmium with copper succinate restores the diameter of the villi to the control values. Exposure to cadmium chloride increases the number of goblet cells in the mucous membrane of the small intestinal villi at both study periods, and the combined administration of cadmium and copper restores the number of goblet cells to the control values. The results of the study reveal the bioantagonistic nature of copper succinate to the action of cadmium chloride on the structure of the small intestine and prove that copper succinate is a potential antagonist of cadmium chloride in the indicated dose and method of administration in the rat experiment.

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

Connection of the publication with planned research works.

The experimental study was conducted within the framework of the research work of the Department of Medical Biology, Pharmacognosy, Botany and Histology of DSMU, "Biological basis of morphogenesis of organs

and animals under the influence of trace elements and ultramicroelements in the experiment" (state registration number 0118U006635).

Introduction.

Human activity has led to a redistribution of trace elements and increased environmental pollution by toxic

substances. The impact of industrial environmental pollution on the human body, in combination with other harmful factors, leads to the emergence or exacerbation of various diseases classified in modern science as environmental pathology. Over the past few decades, continuous pollution with heavy metal compounds in soil, air and water can have irreversible consequences for humanity. Scientists and practitioners often analyse only the clinical aspects of this problem, while the ecological and morphological components remain insufficiently studied [1]. The results of numerous hygienist studies confirm that in regions of environmental crisis, heavy metals are found both in environmental objects and directly in the human body in concentrations that often exceed generally accepted hygienic standards. Such xenobiotics have pronounced membranotoxic properties, affect the activity of enzymes and the course of biochemical processes, are capable of accumulating in tissues and, with prolonged exposure, cause long-term negative effects on the structure and function of the digestive system [2].

Several scientific papers by Ukrainian scientists have proved the extremely important role of heavy metals in determining many human diseases, including cancer, endocrine, cardiovascular, musculoskeletal, reproductive disorders, congenital malformations, etc. [3]. The main reasons that determine the toxicity of heavy metals include their ability to form biocomplexes in the body and participate in redox reactions, during which the valence changes and toxicity increases, facilitating their penetration through biological membranes [4].

To date, studies of the morphometric parameters of the structures of the digestive system under conditions of heavy metal poisoning in the dynamics remain unclear, and there are contradictory or lacking complete data on the peculiarities of chronic exposure to heavy metal compounds in organisms of different ages, their effect at the cellular and tissue levels [5].

The results of numerous studies confirm that one of the etiopathogenic causes of non-communicable diseases is the impact of environmental factors: emissions from industrial enterprises and vehicles, radiation pollution, chemicalisation of agriculture, etc. The main sources of chemical factors entering the human body are food, drinking water, and atmospheric air [6]. The toxic effect of chemical elements is associated with their absorption in the gastrointestinal tract, which depends on the elements' form and degree of solubility. The toxicity of heavy metals also depends on the concentration, duration of exposure, temperature, oxygen saturation of water, and many other factors [7]. To date, despite a significant number of morphological studies on the effect of heavy metals on organogenesis and morphogenesis of the structures of the digestive tract, there are still several unresolved issues regarding the understanding of changes in the main morphogenetic events of the small intestine wall during intragastric chronic administration of cadmium salts [8]. However, cadmium compounds' effect on the small intestine's morphogenesis is an under-researched area, both in experimental morphology and medicine.

The aim of the study.

To determine the morphological changes in the structure of the small intestine of rats under chronic isolated exposure to cadmium chloride at a dose of 2.0

mg/kg and combined administration of cadmium with copper succinate under conditions of daily enteral administration to pregnant females.

Object and research methods.

The study was conducted on 48 young female rats of the Wistar line (nursery "Dali 2000", Kyiv), weighing 180-300 g. Females with dated gestation periods were obtained for the study. In the experiment, pregnant females were divided into the following groups: the first group – control; the second group – isolated administration of cadmium chloride solution at a dose of 2.0 mg/kg; the third group – combined administration of cadmium chloride solution at a dose of 2.0 mg/kg + copper succinate 0.1 mg/kg. The number of experimental animals was 16 females in each group, which were further divided into two subgroups according to the withdrawal term from the experiment (13th and 19th day of pregnancy). The experiment was performed in the vivarium of DSMU in compliance with all the necessary conditions for keeping animals.

The exposure factors were cadmium chloride (ionic solution) and zinc succinate nanoakvahelat. Female rats were exposed to cadmium chloride solution daily from the 1st to the 19th day of pregnancy by intragastric injection of the solution through a probe once a day; on the 13th and 19th day of pregnancy, the females were surgically slaughtered. To achieve the aim of the study, during the experiment, the small intestine of pregnant females was removed, which was subjected to fixation with 10% neutral formalin, and subsequently, histological sections were made to determine and compare morphological changes in the intestinal wall under the influence of cadmium chloride. The following morphometric parameters of the rat small intestine mucosa were studied: the number of goblet cells, the diameter (thickness) of villi, the outer and inner diameter of crypts, and the crypt diameter index:

- the number of goblet cells of the villi mucosa per 150 μm on a histological section ($M \pm m$);
- the size of the outer and inner diameter of the crypts of the small intestine (μm), $M \pm m$;
- index of the outer and inner diameters of the crypts of the small intestine (%), $M \pm m$, which was calculated by us according to the formula:

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

where ICD is the index of crypt diameter; m is the inner diameter of the crypt (μm); M is the outer diameter of the crypt (μm);

- diameter of the villi of the small intestine.

The obtained data were compared to the control data using the Student's t-test. Statistical processing of the data was performed using standard Microsoft Excel software. Single-factor regression analysis with a 95% confidence interval was used to identify possible associations between the analysed factors. Differences at $p < 0.05$ (5% significance level) were considered statistically significant.

The study was performed in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki adopted by the General Assembly of the World Medical Association (2000), the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine (1997), the relevant provisions of the WHO, the International Council for Medical Research Societies, the International Code of Medi-

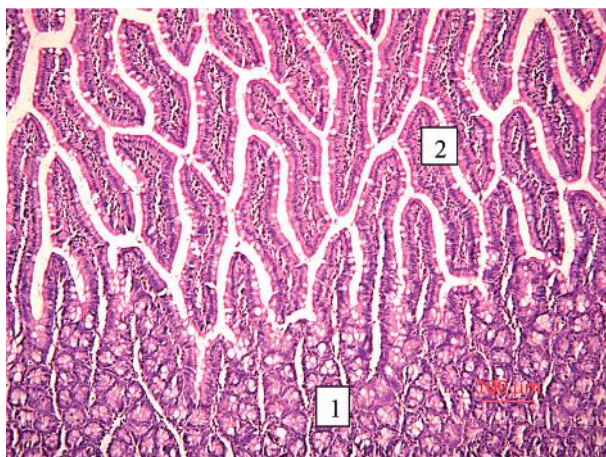


Figure 1 – Micrograph of the small intestine wall section of a female rat of the control group on day 20 of the experiment. Hematoxylin-eosin staining. Magnification: 10x10. Designation: 1 – crypts of the mucosa, 2 – villi of the small intestine.

cal Ethics (1983), the “Common Ethical Framework for Healthcare” (1983).), “General Ethical Principles for Experiments on Animals” approved by the First National Congress on Bioethics (Kyiv, 2001) following the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Educational Purposes (Strasbourg, 18.03.1986).

Research results and their discussion.

The small intestine is an organ of the digestive tract where cavitory, parietal, membranous and intracellular digestion occurs. To ensure effective absorption and increase the absorption surface, the small intestine’s mucous membrane has certain morphological features in the form of villi, folds and crypts. Nutrients are absorbed into the blood and lymphatic capillaries of the villi. The end products of metabolism are excreted through the small intestine – the excretory function. Mucus production by mucosal cells provides a barrier and protective function.

The wall of the rat’s small intestine consists of four membranes: mucosa, submucosa, muscular, and serosa. The mucosa of the small intestine forms the internal relief: villi, crypts and circular folds. Villi are finger-like protrusions of the mucous membrane into the intestinal lumen that contain blood and lymphatic capillaries and are capable of active contraction. Their motility is ensured by bundles of smooth muscle cells from the muscle plate. Crypts are recesses of the epithelium into the mucosa’s own lamina propria. There are sev-

eral crypts around one villus, which, together with the villus, constitute a structural and functional element of the mucous membrane (fig. 1). The results of the study of the effect of heavy metal salts showed that morphological changes in the structures of the small intestine wall are multidirectional in different periods of the experiment. Morphological deviations from the normal structure under the influence of heavy metal salts were observed in the small intestine of experimental animals. The muscular and serous membranes do not show any significant abnormalities.

The main function of intestinal villi is to increase the absorptive area of the mucosa. The mucous membrane of the villi is composed of three layers: epithelial, own and muscular laminae. The villous epithelium contains three types of cells: columnar, goblet and endocrine cells, which functionally ensure the processes of parietal digestion. Goblet cells are a type of villous epithelial cell, which are essentially mucous glands that produce carbohydrate-protein complexes and mucins and perform a protective function.

The villi and crypt are considered as a single system within the small intestine mucosa, with certain separations in the performance of the main functions inherent in the mucosa. This crypt-villus system can be considered as a structural and functional element of the small intestinal mucosa (fig. 1).

The analysis of the obtained metric data on the histological structures of the small intestine in the isolated exposure group was compared with the control group at both periods. The diameter of the villi of the small intestine in the control group did not differ significantly between the values of the 13th ($85.61 \pm 3.18 \mu\text{m}$) day and the 19th ($79.84 \pm 2.70 \mu\text{m}$) day. In the group of isolated exposure to cadmium chloride on the 13th day of the experiment, thinning of the villi of the small intestine to ($70.23 \pm 1.21 \mu\text{m}$) and on the 19th day to $89.47 \pm 2.51 \mu\text{m}$ was observed, i.e. this difference was significant $P \leq 0.05$ (fig. 2).

In the group of combined exposure to cadmium and copper succinate, the diameter of the villi of the small intestine tended to approach the control values: on 13 day, $74.57 \pm 4.41 \mu\text{m}$, and 19 day, $71.90 \pm 5.31 \mu\text{m}$ (fig. 3). The histological preparations showed a tendency to thinning of the mucous membrane in the case of chronic study factors compared to the control. In the control group on the 13th day of the experiment, the thickness of the mucosal layer was $17.00 \pm 0.67 \mu\text{m}$; in the cadmium group, it decreased to $16.74 \pm 0.87 \mu\text{m}$, and with the combined administration, an even greater thinning was noted – $15.18 \pm 0.93 \mu\text{m}$.

The number of goblet cells and their shape changes during the secretory cycle from columnar to goblet and is determined by the presence of mucosal secretion granules, which is well defined by histological examination (fig. 2). The analysis of the goblet cells count in the villi mucosa as an indicator of the functional status of the inner layer of the small intestine showed that on day 13 the number of goblet

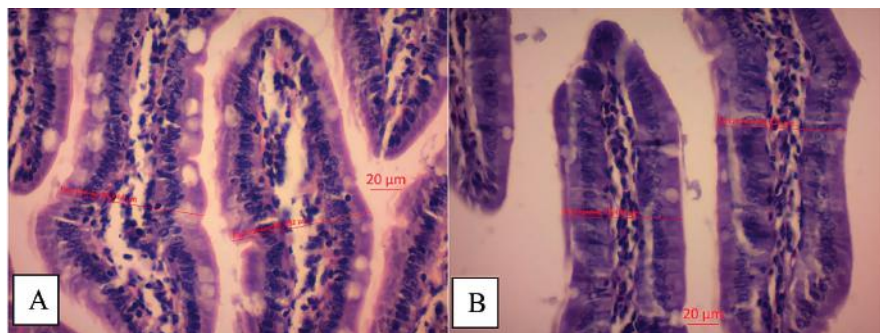


Figure 2 – Micrograph of a section of small intestine villi of a female rat of the control group and isolated administration of cadmium chloride on day 13 of the experiment. The diameter of the villi was recorded. Goblet cells are clearly visible. Hematoxylin-eosin staining. Magnification: 10x40. Designation: A – control group, B – cadmium chloride group.

cells increased unreliably to 13.32 ± 1.41 compared to the control values of 12.7 ± 1.08 . With the combined administration of cadmium chloride and copper succinate, their number decreased to 11.12 ± 1.61 (fig. 3). We also noted a decrease in the thickness of the villi mucosa in the group with chronic exposure to cadmium.

However, the situation changed dynamically on the 19th day of the experiment, i.e. at the end of the study. In the control group, this indicator was 11.40 ± 1.03 , and it increased significantly ($p \leq 0.05$) to 16.05 ± 1.57 under the influence of cadmium chloride. Under the combined administration of cadmium chloride and copper succinate, their number increased significantly to 19.6 ± 1.73 . That is, with prolonged intragastric administration of cadmium solution, the number of goblet cells increases to protect the mucous membrane of the small intestine from the effects of a negative factor (fig. 2, fig. 3).

Goblet cells react to the influence of negative factors by increasing their number, which can be explained by the manifestation of a compensatory reaction of adaptation of the mucous membrane to the effects of toxicants.

We also determined and calculated morphometric changes in histological sections in the crypts of the small intestine wall. The morphometric parameters of the small intestine crypts were determined and compared between the groups: the diameter of the outer and inner crypts and the crypt diameter index. As shown by the calculation and comparison of the results obtained, with isolated administration of cadmium, a decrease in the diameters of the crypts, both internal and external, is determined at both study periods. In the control group, the outer diameter decreased unreliably on the 19th day. Under cadmium exposure, a decrease in crypt diameter was also detected, but the difference in comparison with the control values was significant. On the 13th day of the experiment, the diameter of the crypt in the control group was $52.11 \pm 2.24 \mu\text{m}$, and under the influence of cadmium, it decreased to $42.98 \pm 1.27 \mu\text{m}$ (the difference was significant at $p \leq 0.05$). Under the combined effect of cadmium and copper, the diameter was $49.26 \pm 2.34 \mu\text{m}$, i.e., a tendency to restore to the control values was determined. The tendency to decrease the diameter of the crypt was observed at the end of the experiment, i.e. on the 19th day. In the control group, the outer diameter of the crypt was $49.92 \pm 1.79 \mu\text{m}$, and in the cadmium group it decreased to $43.34 \pm 1.93 \mu\text{m}$. This difference was significant (difference significance $p \leq 0.05$). In the combined administration of cadmium with copper succinate, the indicator was $48.94 \pm 3.12 \mu\text{m}$, i.e., there was no significant difference with the control.

The obtained indicators made it possible to calculate the index of the diameter of the crypt of the small intestine, which demonstrated a decrease in the studied indicators in the experimental groups at both periods of the study. In the control group, the index did not have a significant difference in the two periods and was 28.90 ± 2.24 on

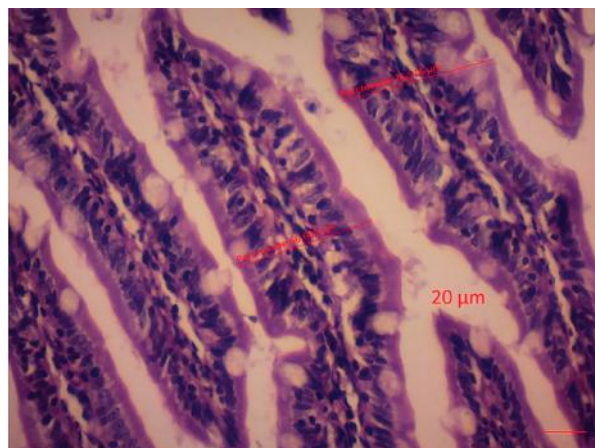


Figure 3 – Micrograph of a section of the villi of the small intestine of a female rat under combined administration of cadmium chloride and copper succinate on day 13 of the experiment. Goblet cells filled with secretion are clearly visible. Hematoxylin-eosin staining. Magnification: 10x40.

the 13th day and 29.91 ± 1.79 on the 19th day. When exposed to cadmium chloride on the 13th day, this indicator significantly decreased to 25.80 ± 1.27 , and on the 19th day to 26.27 ± 2.13 (fig. 4). And in the combined effect group, it was 26.50 ± 1.13 and 27.91 ± 1.48 , respectively. The results obtained indicate the compensatory effect of copper succinate on the toxicity of cadmium chloride when they are simultaneously ingested in the body in the rat experiment.

Scientific studies have shown that cadmium is a heavy metal that, when ingested orally, has a destructive effect on the gastrointestinal tract, which is usually the first system to come into contact with it. The toxic effects of cadmium on vital organs such as the digestive system, intestines, kidneys, musculoskeletal and reproductive systems are being actively investigated. The main reason for this negative impact is the development of oxidative stress [7]. In the course of experimental work, scientists have determined that cadmium induces inflammation, increases intestinal permeability and disrupts tight contacts of intercellular junctions in the epithelial layer of the small intestine. Such disorders destroy the cellular barrier, which is normally impermeable to fluid, leading to further development of the pathological process. The data obtained by the researchers are confirmed by our data on histological changes identified in our experimental studies in rats.

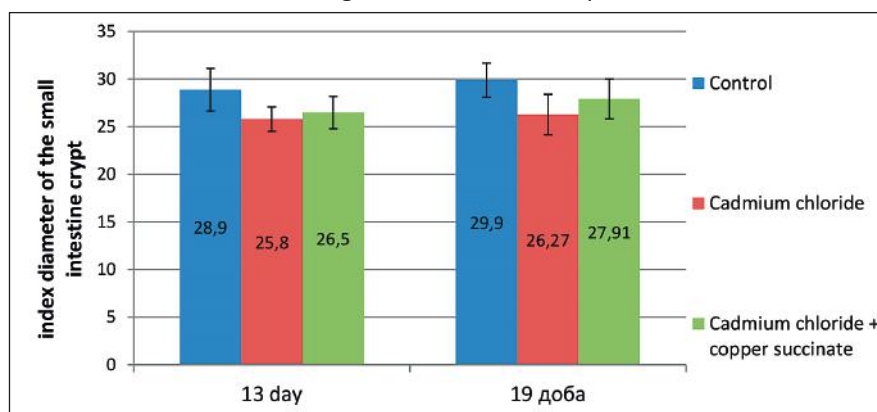


Figure 4 – Dynamics of changes in the diameter indices of the crypt of the small intestine of pregnant females at both study periods of all groups.

Conclusions.

1. Chronic intragastric exposure to cadmium chloride at a dose of 2.0 mg/kg leads to a significant thinning of the villi of the small intestine and mucous membrane. Combined administration of cadmium with copper succinate restores the diameter of the villi to the control values.

2. Exposure to cadmium chloride provokes an increase in the number of goblet cells in the mucous membrane of the small intestinal villi at both study periods, and the combined administration of cadmium with copper restores the number of goblet cells to the control values.

3. Calculation and comparison of the small intestine crypt diameter index proved that despite narrowing the

outer and inner diameters of the crypt under cadmium exposure, this indicator is close to the control ones in the combined administration groups.

4. The considered results of the experimental study reveal the bioantagonistic nature of copper succinate to the action of cadmium chloride on the structure of the small intestine and prove that copper succinate is a potential antagonist of cadmium chloride in the specified dose and method of administration in the experiment on rats.

Prospects for further research.

The search for new forms of trace elements that may have potential bioantagonistic properties against toxicity and the effect of cadmium compounds on small intestine morphogenesis is relevant today.

DOI 10.29254/2077-4214-2023-4-171-116-125

УДК 611.013:616.341-092.9:546.48

Шаторна В. Ф., Тимчук К. М.

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СТРУКТУРИ СТІНКИ ТОНКОЇ КИШКИ ВАГІТНИХ САМИЦЬ ЩУРІВ ПРИ ВПЛИВІ ХРОНІЧНОГО ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ ТА СУКЦИНАТУ МІДІ

Дніпровський державний медичний університет (м. Дніпро, Україна)

verashatornaya67@gmail.com

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. Накопичення важких металів здатне 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. Існують різні шляхи надходження важких металів в організм, при надходженні через шлунково-кишковий тракт абсорбція кадмію в середньому становить до 5%, при цьому відзначається зміна складу кишкової флори та зміни слизової оболонки кишки.

Метою експерименту було визначення морфологічних змін у структурах тонкої кишки самиць щурів при хронічному ізольованому впливі солей кадмію, в дозі 2,0 мг/кг, та у комбінованому введенні з сукцинатом міді, у дозі 0,1 мг/кг, за умов ентерального введення. Терміни дослідження: 13-та та 19-та доба введення.

Хронічне внутрішньошлункове введення хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг призводить до достовірного витончення ворсинок тонкої кишки та слизової оболонки. Комбіноване введення кадмію з сукцинатом міді відновлює діаметр ворсинок у бік контрольних показників. Вплив хлоридом кадмію провокує зростання кількості келихоподібних клітин в слизовій оболонці ворсинок тонкої кишки на обох термінах дослідження, а комбіноване введення кадмію з міддю відновлює показник кількості келихоподібних клітин до контрольних. Результати дослідження виявляють біоантагоністичний характер сукцинату міді до дії хлориду кадмію на будову тонкої кишки і доводять, що сукцинат міді є потенційним антагоністом хлориду кадмію в зазначеній дозі та способі введення в експерименті на щурах.

Ключові слова: важкі метали, кадмій, мідь, тонка кишка, 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.

Діяльність людини призвела до перерозподілу мікроелементів, підвищення забрудненості зовнішнього середовища токсичними речовинами. Вплив промислового забруднення довкілля на організм

людини в комплексі з дією інших шкідливих факторів призводить до виникнення або загострення різних захворювань, що кваліфікуються в сучасній науці як екологічна патологія. За останні кілька десятиріч років постійне забруднення сполуками важких металів у ґрунті, атмосферному повітрі та воді може мати незворотні наслідки для людства, при цьому вченими та практичними лікарями найчастіше аналізуються лише клінічні аспекти даної проблеми, тоді як екологічна та морфологічна складові залишаються недостатньо вивченими [1]. Результати численних досліджень гігієністів підтверджують, що у регіонах екологічної кризи важкі метали знаходяться як в об'єктах довкілля, так і безпосередньо в організмі

людини у концентраціях, які часто перевищують загальноприйнятий гігієнічний норматив. Такі ксенобіотики мають виражені мембранотоксичні властивості, впливають на активність ферментів та перебіг біохімічних процесів, здатні до кумуляції в тканинах і за тривалої дії спричиняють віддалені негативні ефекти на структури та функцію травної системи [2].

Рядом наукових робіт українських вчених доведена надзвичайно важлива роль важких металів у детермінації багатьох захворювань людини – онкологічних, ендокринних, серцево-судинних, хвороб і кістково-м'язової системи, порушень репродуктивної функції, вроджених вад розвитку та ін. [3]. До основних причин, які визначають отруйність важких металів, належить їхня здатність утворювати в організмі біокомплекси та брати участь в окисно-відновних реакціях, у процесі яких відбувається зміна валентності і посилення токсичності, що сприяє проникненню їх крізь біологічні мембрани [4].

На сьогодні до кінця не з'ясованими залишаються дослідження морфометричних параметрів структур травної системи за умов отруєння організму важкими металами у динаміці, суперечливі або відсутні повноцінні дані про особливості хронічного впливу сполук важких металів на організми різного віку, їх дія на клітинному та тканинному рівнях [5].

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 [6]. Токсична дія хімічних елементів пов'язана з їхньою всмоктуваністю у шлунково-кишковому тракті яка залежить від форми та ступеню розчинності елементів. Токсичність важких металів залежить також від концентрації, тривалості дії, температури, насиченості води киснем та багатьох інших чинників [7]. 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 [8]. Проте вплив сполук кадмію на морфогенез тонкої кишки є малодослідженою галуззю, як в експериментальній морфології так і в медицині.

Мета дослідження.

Встановити морфологічні зміни будови тонкої кишки щурів при хронічному ізольованому впливі хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг та комбінованого введення кадмію з сукцинатом міді за умов ентерального щоденного введення вагітній самиці.

Об'єкт і методи дослідження.

Дослідження проведено на 48 молодих самиць 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, третя група комбінованого введення

розчину хлориду кадмію у дозі 2,0 мг/кг + сукцинат міді 0,1мг/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) та наноаквахелат сукцинату цинку. 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) ворсинок, зовнішній та внутрішній діаметр крипт та індекс діаметру крипт:

кількість келихоподібних клітин слизової оболонки ворсинок 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:

$$ІДК = \frac{m}{M} \times 100\%$$

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

діаметр ворсинки тонкої кишки.

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%) вважалися 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 та їх обговорення.

Тонка кишка – це орган травного тракту, в якому відбувається порожнинне, пристінкове, мембранозне та внутрішньоклітинне травлення. Для забезпечення ефективного всмоктування та збільшення

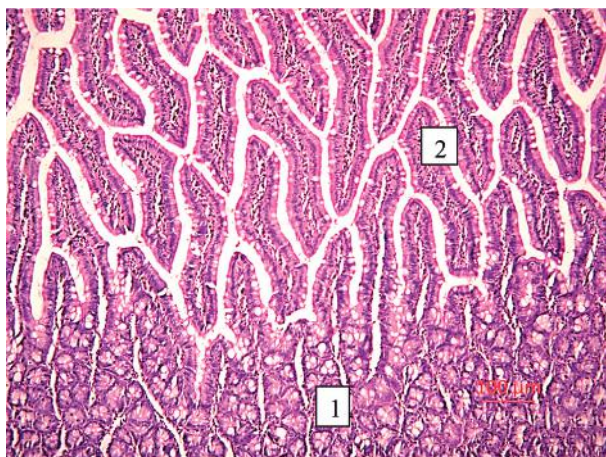


Рисунок 1 – Мікрофотографія зрізу стінки тонкої кишки самиці щура контрольної групи на 20-тій добі експерименту. Забарвлення гематоксилін-еозин. Збільшення: 10x10. Позначення: 1 – крипти слизової оболонки, 2 – ворсинки тонкої кишки.

всмоктувальної поверхні слизова оболонка тонкого кишечника має певні морфологічні особливості у вигляді ворсин, складок та крипт. Всмоктування нутрієнтів здійснюється в кровоносні та лімфатичні капіляри ворсинок. Через тонкий кишечник виводяться кінцеві продукти обміну речовин – екскреторна функція. Продукція слизу клітинами слизової оболонки забезпечує виконання бар'єрно-захисної 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. 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. 1). Результати вивчення впливу солей важких металів показали, що морфологічні зміни структур стінки тонкої кишки мають різноспрямований характер у різні терміни експерименту. В тонкій кишці піддослідних тварин спостерігаються морфологічні відхилення від нормальної будови під впливом солей

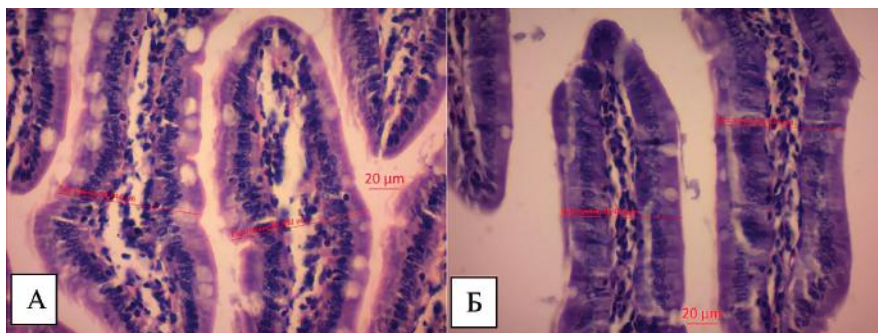


Рисунок 2 – Мікрофотографія зрізу ворсинок тонкої кишки самиці щура контрольної групи та ізолюваного введення хлориду кадмію на 13-ій добі експерименту. Зафіксовано діаметр ворсинки. Добре помітні келихоподібні клітини. Забарвлення гематоксилін-еозин. Збільшення: 10x40. Позначення: А – група контролю, Б – група впливу хлоридом кадмію.

важких металів. М'язова і серозна оболонки не виявляють значних відхилень.

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 та виконують захисну функцію.

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 (рис. 1).

Аналіз отриманих метрометричних даних щодо гістологічних структур тонкої кишки в групі ізолюваного впливу проводився у порівнянні до групи контролю на обох термінах. Діаметр ворсинок тонкої кишки в контрольній групі не мав достовірної різниці між показниками 13-тої (85,61±3,18мкм) доби та 19-тої (79,84±2,70 мкм). В групі ізолюваного впливу хлоридом кадмію на 13-тій добі експерименту спостерігалось витончення ворсинок тонкої кишки до (70,23±1,21 мкм), а на 19-ту добу 89,47±2,51 мкм, тобто дана різниця була достовірною $P \leq 0,05$ (рис. 2).

В групі комбінованого впливу кадмію з сукцинатом міді показники діаметру ворсинок тонкої кишки мали тенденцію наближення до контрольних: на 13-ту добу 74,57±4,41 мкм, а на 19-ту – 71,90±5,31 мкм (рис. 3). На гістологічних препаратах визначалась тенденція до витончення слизової оболонки при хронічному досліджуванні чинників в порівнянні до контролю. В контрольній групі на 13-ту добу експерименту товщина слизового шару становила 17,00±0,67мкм, в групі впливу кадмієм зменшувалась до 16,74±0,87мкм, а при комбінованому введенні відмічалось ще більше витончення 15,18±0,93 мкм.

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. 2). Аналіз підрахунку келихоподібних клітин слизової оболонки ворсинок, як показника функціонального статусу внутрішнього шару тонкої кишки, показав, що на терміні 13-ої доби кількість келихоподібних клітин недостовірно зростала до 13,32±1,41 у порівнянні до контрольних показників 12,7±1,08, а при комбінованому введенні хлориду кадмію з сукцинатом міді їх кількість зменшувалась до 11,12±1,61 (рис. 3). Також нами відмічалось зменшення

товщини слизової оболонки ворсинок у групі з хронічним впливом 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 $16,05 \pm 1,57$, а при комбінованому введенні хлориду кадмію з сукцинатом міді їх кількість суттєво зростає до $19,6 \pm 1,73$. Тобто, при довготривалому введенні внутрішньошлунково розчину кадмію кількість келихоподібних клітин збільшується для захисту слизової оболонки тонкої кишки від впливу негативного чинника (рис. 2, рис. 3).

Келихоподібні клітини реагують на вплив негативних чинників збільшенням їх числа, що можна пояснити проявом компенсаторної реакції адаптації слизової оболонки до впливу токсикантів.

Нами визначались та обраховувались також і морфометричні зміни на гістологічних препаратах в криптах стінки тонкої кишки. Визначались та порівнювались між групами 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 зменшення 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 $p \leq 0,05$). При комбінованому впливі кадмію з міддю відповідно діаметр становив $49,26 \pm 2,34$ мкм, тобто визначалась тенденція до відновлення до контрольних показників. 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 $p \leq 0,05$). В групі комбінованого введення кадмію з сукцинатом міді показник становив $48,94 \pm 3,12$ мкм, тобто не мав достовірної різниці з контролем.

Отримані показники дозволили розрахувати індекс діаметру крипти тонкої кишки, який продемонстрував зниження досліджуваних показників в експериментальних групах на обох термінах дослідження. 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 добу до $26,27 \pm 2,13$ (рис. 4). А в групі комбінованого впливу становив відповідно

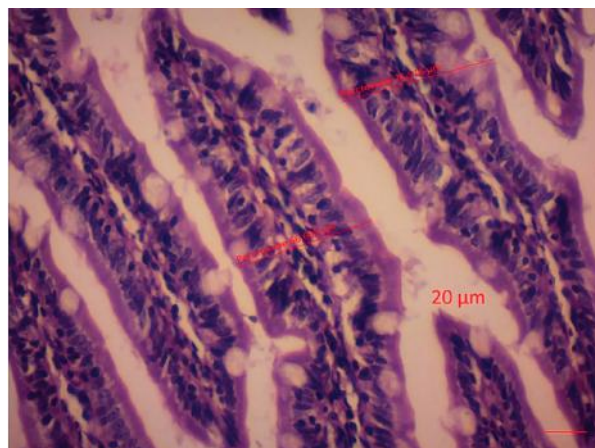


Рисунок 3 – Мікрофотографія зрізу ворсинок тонкої кишки самиці щура комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатом міді на 13-ій добі експерименту. Добре помітні келихоподібні клітини, заповнені секретом. Забарвлення гематоксилін-еозин. Збільшення: 10x40.

$26,50 \pm 1,13$ та $27,91 \pm 1,48$. Отримані результати свідчать про компенсаторний вплив сукцината міді на токсичність хлориду кадмію при їх одночасному надходженні в організм в експерименті на щурах.

Науковими дослідженнями доведено, що кадмій – важкий метал, який при надходженні в організм перорально руйнівно впливає на шлунково-кишковий тракт, що зазвичай є першою системою, яка 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 індукуює 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 внутрішньошлунковий вплив хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг призводить до достовірного витончення ворсинок тонкої кишки та слизової

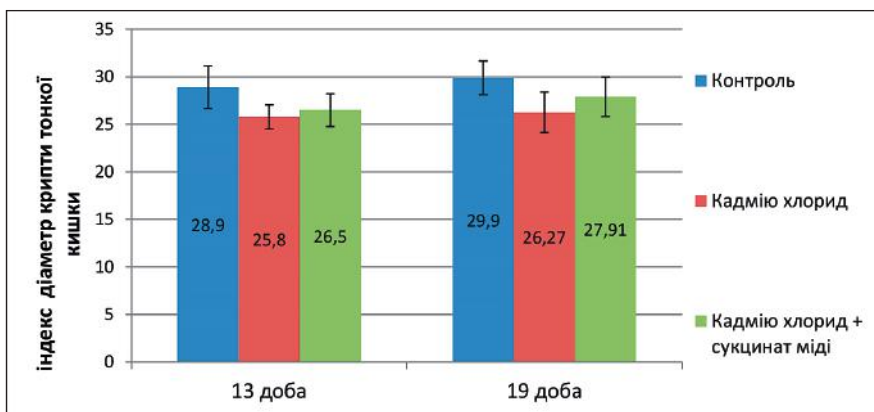


Рисунок 4 – Динаміка змін індексів діаметру крипти тонкої кишки вагітних самиць на обох досліджуваних термінах усіх груп.

оболонки. Комбіноване введення кадмію з сукцинатом міді відновлює діаметр ворсинок у бік контрольних показників.

2. Вплив хлоридом кадмію провокує зростання кількості келихоподібних клітин в слизовій оболонці ворсинок тонкої кишки на обох термінах дослідження, а комбіноване введення кадмію з міддю відновлює показник кількості келихоподібних клітин до контрольних показників.

3. Розрахунок та порівняння індексу діаметру крипти тонкої кишки довели, що незважаючи на звуження зовнішнього і внутрішнього діаметру крипти

при впливі кадмієм, в групах комбінованого введення даний показник наближається до контрольних.

4. Розглянуті результати експериментального дослідження виявляють біоантагоністичний характер сукцинату міді до дії хлориду кадмію на будову тонкої кишки і доводять, що сукцинат міді є потенційним антагоністом хлориду кадмію в зазначеній дозі та способі введення в експерименті на щурах.

Перспективи подальших досліджень.

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

References / Література

1. Arustamyan OM, Tkachishin VS, Aleksiychuk OYu. Vpliv spoluk kadmiju na organizm lyudini. Meditsina neotlozhnykh sostoyaniy. 2016;7:109-114. [in 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. Visnyk problem biolohiyi i medytsyny. 2022;1(163):97-102. [in Ukrainian].
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 — Moderní věda. 2020;3:142-149.
4. Neyko YEM, Hubs'kyu YUI, Erstenyuk HM. Intoksykatsiya kadmijem: toksykokinetyka i mekhanizm biotsydneykh efektyv. Zhurnal AMN Ukrainy. 2013;9(2):250-261. [in Ukrainian].
5. Hryshchuk MI. Strukturni zminy slizovoy оболонки tonkoj kyshky za umov vplyvy kadmiju ta pestytsydu 2,4-D. Shpytalna khirurgiya. 2012;3:80-83. [in Ukrainian].
6. Khyzhnyak SV. Funktsionuvannya klityn pry kadmijeviy intoksykatsiyi. Suchasni problemy toksykolohiyi. 2009;1:54-58. [in Ukrainian].
7. Hnatyk OY. Metabolichni zminy v orhanakh shchuriv za umov svyntsevo-kadmijevykh toksykoziv ta yikh korektsiya hepatoprotektoramy [dysertatsiya]. L'viv: L'vivs'kyu natsional'nyy medychnyy universytet imeni Danyla Halyts'koho; 2008. 18 s. [in Ukrainian].
8. Shatorna VF, Harets' VI, Nefodova OO, Kryvoshey VV. Mekhanizmy vplyvu vazhkykh metaliv na morfofunktsional'nyy stan travnoyi systemy. Visnyk problem biolohiyi i medytsyny. 2016;1:64-69. Dostupno: <https://cyberleninka.ru/article/n/mehanizmi-vplyvu-vazhkykh-metaliv-na-morfofunktsionalnyy-stan-travnoyi-sistemi>. [in Ukrainian].

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СТРУКТУРИ СТІНКИ ТОНКОЇ КИШКИ ВАГІТНИХ САМИЦЬ ЩУРІВ ПРИ ВПЛИВІ ХРОНІЧНОГО ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ ТА СУКЦИНАТУ МІДІ

Шаторна В. Ф., Тимчук К. М.

Резюме. У сучасному світі антропогенне забруднення навколишнього середовища важкими металами стає однією з загроз для живих організмів, включаючи людину, а економічний і технічний прогрес стає причиною порушення природних екосистем. Безліч шкідливих хімічних сполук, які знаходяться в повітрі, воді, ґрунті, в продуктах харчування є тератогенними. Токсична дія хімічних елементів пов'язана з їхньою всмоктуваністю у шлунково-кишковому тракті. До важких металів відноситься більше сорока хімічних елементів таблиці Менделєєва, наприклад, кадмій, ртуть, залізо, цинк, марганець, кобальт, та ін. При надходженні через шлунково-кишковий тракт абсорбція кадмію в середньому становить 5%, при цьому відзначається зміна складу кишкової флори. У літературних джерелах також відмічається життєва необхідність кадмію в нетоксичних концентраціях, така як: регулювання рівня цукру в крові, стимулювання росту тварин.

Мета роботи було дослідити морфологічні зміни будови тонкої кишки щурів при хронічному ізольованому впливі хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг та комбінованого введення кадмію з сукцинатом міді за умов ентерального щоденного введення вагітній самиці.

Дослідження проведено на 48 молодих самицях щурів лінії Wistar, 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, третя група комбінованого введення розчину хлориду кадмію у дозі 2,0 мг/кг + сукцинат міді 0,1 мг/кг. Експеримент проводився в віварії ДДМУ з дотриманням всіх необхідних умов утримання тварин.

При впливі хлоридом кадмію зафіксовано зростання кількості келихоподібних клітин дослідження в слизовій оболонці ворсинок тонкої кишки на обох термінах дослідження, а комбіноване введення кадмію з міддю відновлює показник кількості келихоподібних клітин до контрольних. Результати експериментального дослідження виявляють біоантагоністичний характер сукцинату міді до дії хлориду кадмію на будову тонкої кишки.

Ключові слова: важкі метали, кадмій, мідь, тонка кишка, щури.

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE STRUCTURE OF THE SMALL INTESTINE WALL OF PREGNANT FEMALE RATS UNDER THE INFLUENCE OF CHRONIC ADMINISTRATION OF CADMIUM CHLORIDE AND COPPER SUCCINATE

Shatorna V. F., Tymchuk K. M.

Abstract. In the modern world, anthropogenic pollution of the environment with heavy metals becomes one of the threats to living organisms, including humans, and economic and technical progress causes disruption of natural ecosystems. Many harmful chemical compounds found in air, water, soil, and food are teratogenic. The toxic effect of chemical elements is related to their absorption in the gastrointestinal tract. Heavy metals include more than forty chemical elements of Mendeleev's table, for example, cadmium, mercury, iron, zinc, manganese, cobalt, etc. When entering through the gastrointestinal tract, the average absorption of cadmium is 5%, while a change in the

composition of the intestinal flora is noted. Literary sources also note the vital need for cadmium in non-toxic concentrations, such as: regulation of blood sugar levels, stimulation of animal growth.

The aim of the work was to investigate morphological changes in the structure of the small intestine of rats with chronic isolated exposure to cadmium chloride at a dose of 2.0 mg/kg and combined administration of cadmium with copper succinate under conditions of daily enteral administration to a pregnant female.

The study was conducted on 48 young female Wistar rats, weighing 180-300 g. Females with a dated gestation period were obtained to perform the tasks. In the experiment, pregnant females were divided into the following groups: the first group – control; the second group – isolated administration of cadmium chloride solution at a dose of 2.0 mg/kg, the third group of combined administration of cadmium chloride solution at a dose of 2.0 mg/kg + copper succinate 0.1 mg/kg. The experiment was conducted in the vivarium of the State Medical University with observance of all necessary conditions for keeping animals.

When exposed to cadmium chloride, an increase in the number of goblet cells was recorded in the mucous membrane of the villi of the small intestine at both times of the study, and the combined administration of cadmium with copper restored the number of goblet cells to the control level. The results of the experimental study reveal the bioantagonistic character of copper succinate to the action of cadmium chloride on the structure of the small intestine.

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

ORCID and contributionship: / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Shatorna V. F.: <https://orcid.org/0000-0002-5853-9864>^{ABCDEF}

Тумчук К. М.: <https://orcid.org/0000-0003-0117-9033>^{BCDE}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors of the article confirm that they have no conflict of interest. / Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Shatorna Vira Fedorivna / Шаторна Віра Федорівна

Dnipro State Medical University / Дніпровський державний медичний університет

Ukraine, 49044, Dnipro, 9 Volodymyr Vernadsky str. / Адреса: Україна, 49044, м. Дніпро, вул. Володимира Вернадського 9

Tel.: 0633943435 / Тел.: 0633943435

E-mail: verashatornaya67@gmail.com

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті

Received 30.05.2023 / Стаття надійшла 30.05.2023 року

Accepted 10.11.2023 / Стаття прийнята до друку 10.11.2023 року