

DOI: 10.26693/jmbs06.06.259

УДК 612.3:591.39:661.852:661.782-092.9

Колосова І. І.¹, Богомольна Л. Ю.²,
Крісс Г. Ю.², Терещенко Н. М.², Давиденко І. В.²,
Руденко Т. В.², Тамлаєв А. І.²

ЗМІНА ЕМБРІОТОКСИЧНИХ ВПЛИВІВ ЦИТРАТІВ МЕТАЛІВ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ТРИВАЛОСТІ ЇХ ВВЕДЕННЯ

¹Дніпровський державний медичний університет,
Дніпро, Україна

²Дніпровський медичний інститут традиційної і нетрадиційної медицини,
Дніпро, Україна

Мета дослідження: експериментальне вивчення та порівняння ембріолетальності та ембріотоксичності цитратів металів в залежності від тривалості їх внутрішньошлункового введення (протягом 13- ти або 20- ти діб гестації).

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 120 білих статевозрілих самицях щурів лінії Wistar масою 170–200 г, яких розділили на 6 груп, в залежності від внутрішньошлункового введення розчинів досліджуваних металів – щури, які отримували цитрати: кадмію у дозі 1,0 мг/кг – 1-а група ($n_{\text{самиць}}=20$, $n_{\text{емб}}=166$); кадмію у дозі 1,0 мг/кг та церію (1,3 мг/кг) – 2-а група ($n_{\text{самиць}}=20$, $n_{\text{емб}}=185$); кадмію у дозі 1,0 мг/кг та германію (0,1 мг/кг) – 3-а група ($n_{\text{самиць}}=20$, $n_{\text{емб}}=184$); кадмію у дозі 1,0 мг/кг та цинку (1,5 мг/кг) – 4-а група ($n_{\text{самиць}}=20$, $n_{\text{емб}}=179$); кадмію у дозі 1,0 мг/кг та нанокмполитом (йод+сульфур+селен) у дозі 2,0 мг/кг – 5-а група ($n_{\text{самиць}}=20$, $n_{\text{емб}}=180$), 6-а група – контрольна ($n_{\text{самиць}}=20$, $n_{\text{емб}}=212$) – пропорційний об'єм стерильного фізіологічного розчину тим же шляхом. В кожній дослідній групі самки були поділені на 2 підгрупи по 10 тварин у кожній залежно від тривалості введення досліджуваних речовин, можливу дію яких на ембріональний розвиток визначали за здатністю підвищувати рівень ембріональної смертності (ембріолетальний ефект). Ембріотоксичну дію досліджуваних речовин оцінювали за загальноприйнятими критеріями, які розраховували за загальновідомими формулами.

Результати. Встановлено, що при дії сполук кадмію на ембріогенез щурів в дослідних групах підвищуються показники ембріолетальності, що свідчить про їх негативний вплив. Найбільш виражені відмінності в цих показниках по відношенню до контролю виявлено у тварин з ізольованим впливом кадмію цитрату: показники загальної ембріональної смертності підвищилися в 4,0 рази на обох досліджуваних термінах ембріогенезу та на 20% від 13-ї до 20-ї доби; збільшилися показники доімплантаційної смертності в 6,0 разів зі збільшенням показників постімплантаційної смертності в 3 рази на 13-й добі та в 15,0 раз та в 2,8 рази на 20-ту добу ембріогенезу відповідно. В залежності

від тривалості введення показники доімплантаційної смертності збільшилися на 25,0% при збільшенні постімплантаційної смертності на 22,2% у ті самі терміни. В дослідній групі впливу кадмію цитрату у дозі 1,0 мг/кг зафіксовано найменші показники кількості живих плодів та внутрішньоутробної виживаності з найвищими показниками кількості резорбцій на обох досліджуваних термінах ембріонального розвитку.

Водночас, в групах сумісного впливу цитрату кадмію з цитратами металів доведено зниження показників загальної ембріональної смертності (50,0 % – 30,0 %), доімплантаційної смертності (50,0 % – 25,0 %), постімплантаційної смертності (60,0 % – 44,4 %) та збільшення кількості плодів на одну самицю (12,7 % – 25,3 %).

Висновки. Аналіз отриманих результатів свідчить про виражений ембріотоксичний вплив цитрату кадмію у дозі 1,0 мг/кг на процеси ембріогенезу, що виявляється достовірним підвищенням показників загальної ембріональної смертності, доімплантаційної та постімплантаційної смертності порівняно з контрольною групою на всіх досліджуваних термінах ембріогенезу. В групах поєднаної дії кадмію цитрату з цитратами металів отримані дані свідчать про зменшення накопичення кадмію під впливом досліджуваних цитратів, що дозволяє їх розглядати як потенційні біоантагоністи кадмію цитрата.

Ключові слова: ембріогенез, ембріотоксичність, кадмію цитрат, експеримент, цитрати.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Експериментальне дослідження виконано у рамках науково-дослідної роботи кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки Дніпровського державного медичного університету «Біологічні основи морфогенезу органів та тварин під впливом мікроелементів та ультрамікроелементів в експерименті», № державної реєстрації 0118U006635.

Вступ. Антропогенна діяльність сприяє розповсюдженню значної кількості хімічних елементів, залучених до міграційного процесу. У населення

сучасного мегаполісу внаслідок впливу ряду негативних факторів оточуючого середовища спостерігається накопичення в організмі різних токсичних елементів, що може призводити до порушення нормального функціонування систем органів на різних стадіях онтогенезу, а перш за все, під час ембріонального періоду. Така ситуація веде до погіршення стану здоров'я, особливо дитячого населення [1, 2].

Кадмій (Cd) – добре відомий токсикант, здатний накопичуватися в організмах та екосистемах та призводити до захворювань опорно-рухової, травної, дихальної, сечовидільної та статеві систем уже за низьких концентрацій [3, 4, 5].

Науковцями доведено, що токсичні метали, і зокрема, кадмій, як забруднювачі довкілля та пагубні звички, такі як паління, можуть мати вкрай несприятливий вплив на протікання вагітності та пологи [6, 7, 8].

Токсичні сполуки зберігаються в навколишньому середовищі і становлять загрозовий потенціал для негативних наслідків щодо стану здоров'я, зумовлюють виникнення віддалених наслідків, тобто мутагенних, ембріотоксичних, гонадотоксичних, тератогенних, канцерогенних, алергенних ефектів [2–9].

Надлишок кадмію порушує метаболізм металів, особливо заліза та кальцію, порушує дію цинкових та інших метало-ферментів, блокує сульфгідрильні групи ферментів, порушує синтез ДНК. Всмоктування кадмію у шлунково-кишковому тракті становить 4-5%, відбувається у тонкому кишечнику, посилюється у разі дефіциту кальцію, заліза та білка, а пригнічується цинком, молоком та солями жовчних кислот. У новонароджених рівень всмоктування кадмію в кишечнику значно вищий, ніж у дорослих. Абсорбція кадмію в кишечнику підвищується в умовах фізіологічного стресу, при вагітності та годуванні груддю [10, 11].

При надлишку кадмію знижується загальна опірність організму, його захисно-приспосувальні можливості, послаблюються імунна система, порушується біохімічний баланс організму. Науковцями ведеться пошук натуральних протекторів, здатних послабити чи нейтралізувати шкідливий вплив важких металів, наприклад, цитрати цинку, германію, йоду, селену та інші, а також велика робота з охорони навколишнього середовища в інтересах захисту здоров'я населення, зокрема, обмеження їх надходжень у зовнішнє та внутрішнє середовище людини, що є важливою складовою національної безпеки країни [1, 6, 10, 12-17].

Отже, спираючись на вищезазначені факти, провідним вектором у ембріональних експериментальних дослідженнях є встановлення ембріолетальності та ембріотоксичності при впливі солей

кадмію на самиць та ембріонів щурів у період вагітності та за умов компенсації.

Мета дослідження полягала в експериментальному вивченні та порівнянні ембріолетальності та ембріотоксичності цитратів металів в залежності від тривалості внутрішньошлункового введення (протягом 13- ти та 20-ти днів гестації).

Матеріал та методи дослідження. Експерименти по вивченню ембріотропної дії при внутрішньошлунковому введенні кадмію хлориду протягом 13-ти та 20-ти днів ізольовано та в комбінації з цитратами металів проводили на 120 білих статевозрілих самицях щурів лінії Wistar. Вибір об'єкту дослідження обумовлений тим, що щури зручні в експерименті, у них рідко виникають спонтанні аномалії розвитку, мають з людиною однаковий гемохоріальний тип плаценти, тривалість вагітності становить 20-22 дні. Щурів утримували у віварії Дніпровського державного медичного університету при природному освітленні, на стандартному раціоні і з вільним доступом до води та корму. Експеримент проводили в провітрюваному приміщенні при температурі повітря 20-25°C і відносній вологості 50-65 % та утриманні тварин у стандартних пластикових клітках не більш 3-4 осіб в кожній.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006, ст. 26), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

Всі процедури з тваринами на усіх етапах дослідження проводили в ранковий час з дотриманням загальноновизнаних міжнародних вимог. Методом «сліпого ранжування» тварини були розподілені на 6 груп, в залежності від введення внутрішньошлунково розчинів: 1 група (Д№1, $n_{\text{самиць}}=20$, $n_{\text{емб}}=170$) – цитрат кадмію у дозі 1,0 мг/кг; 2 група (Д№2, $n_{\text{самиць}}=20$, $n_{\text{емб}}=187$) – цитрат кадмію у дозі 1,0 мг/кг з цитратом церію (1,3 мг/кг); 3 група (Д№3, $n_{\text{самиць}}=20$, $n_{\text{емб}}=184$) – цитрат кадмію у дозі 1,0 мг/кг з цитратом германію (0,1 мг/кг); 4 група (Д№4, $n_{\text{самиць}}=20$, $n_{\text{емб}}=177$) – цитрату кадмію у дозі 1,0 мг/кг з цитратом цинку (1,5 мг/кг), 5 група (Д№5, $n_{\text{самиць}}=20$, $n_{\text{емб}}=180$) – цитрат кадмію у дозі 1,0 мг/кг з наноккомпозитом у дозі 2,0 мг/кг, 6 група – контрольна ($n_{\text{самиць}}=20$, $n_{\text{емб}}=212$) – пропорційний об'єм стерильного фізіологічного розчину тим же шляхом. Згідно загальноприйнятим інструкціям проведення експериментальних робіт розчини досліджуваних речовин вводили самкам внутрішньошлунково через зонд один раз на добу, в один і той же час впродовж всієї вагітності. Під час

введення розчинів реєстрували стан та поведінку самок, динаміку маси тіла, ректальну температуру, тривалість вагітності. В кожній дослідній групі самки були поділені на 2 підгрупи по 10 тварин у кожній залежно від тривалості введення досліджуваних речовин. На 13-й та 20-й день вагітності проводили оперативний забій та розтин тіла. Після розкриття черевної порожнини самиць в матці підраховували кількість місць імплантації, наявність живих і мертвих плодів.

Загальний розвиток плодів оцінювали за показниками кількості жовтих тіл вагітності яєчників самиць, кількості ембріонів, відповідності стадії розвитку – за загальноприйнятими критеріями ембріонального розвитку щурів.

Можливу дію досліджуваних речовин на ембріональний розвиток визначали за здатністю підвищувати рівень ембріональної смертності (ембріолетальний ефект). Ембріотоксичну дію досліджуваних речовин оцінювали за загальноприйнятими критеріями: доімплантаційна (або передімплантаційна), постімплантаційна ембріональна смертність, загальна ембріональна смертність, показники внутрішньоутробної виживаності, морфологічні (анатомічні) вади розвитку, а також загальна затримка розвитку плодів, які розраховували за загальновідомими формулами. Також підраховували кількість плодів на одну самку.

Результати досліджень опрацьовували загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

При оцінці відмінностей між групами використовували параметричний t-критерій Стьюдента. Кількісні параметри представлені у вигляді середнього значення (M), критичним рівнем значущості під час перевірки статистичних гіпотез було прийнято $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Під час експериментального дослідження усі самиці вижили. У контрольній групі всі ембріони відповідали стандартним критеріям ембріонального розвитку щурів, вади розвитку у щурят були відсутні.

Аналіз результатів експериментального дослідження виявив негативний вплив кадмію цитрату на показники ембріогенезу як на 13-у, так і на 20-у добі вагітності (табл. 1).

Аналіз обрахування середніх значень показав, що показники кількості живих плодів на одну самицю зменшилися відносно групи контролю, як на 13-й ембріогенезу: в дослідній групі ізольованого введення цитрату кадмію (на 18,3%, $p = 0,006$) та в групах сумісного впливу цитратів кадмію та церію (на 8,7%, $p = 0,08$), кадмію з германієм (на 10,6%, $p = 0,03$), кадмію та цинку (на 16,3%, $p = 0,01$), кадмію та нанокompозиту (на 12,5%, $p = 0,04$), так і на 20-й добі: при ізольованому впливі цитрату кадмію (на 25,0%, $p = 0,003$), в комбінації з цитратом церію (на 16,7%, $p = 0,05$), з цитратом германію (на 15,7%, $p = 0,05$), з цитратом цинку (на 14,8%, $p = 0,06$), з нанокompозитом (на 17,6%, $p = 0,0004$) (табл. 1). Порівняно з групою ізольованого впливу кадмію цитрату показники кількості живих плодів на одну самицю на 13-у добу вагітності в експериментальних групах збільшувалися наступним чином: + 12,7 % (Д № 3, $p = 0,03$) <+ 15,2% (Д № 5, $p = 0,04$) <+ 21,5 % (Д № 2, $p = 0,08$) <+ 25,3% (Д № 4, $p = 0,06$), а на 20-ту добу ембріонального розвитку ця послідовність виглядала наступним чином: + 9,9 % (Д № 5, $p = 0,0004$) <+ 11,1 % (Д № 2, $p = 0,05$) <+ 12,3 % (Д № 3, $p = 0,05$) <+ 13,6 % (Д № 4, $p = 0,06$) щодо групи ізольованої дії кадмію цитрату(табл. 1).

Таблиця 1 – Показники фертильності щурів контрольної та дослідних груп, (M±m, n=20)

Показник групи	Доба ембріогенезу	Кількість жовтих тіл вагітності на 1 самку, од	Кількість живих плодів на 1 самку, од	Кількість живих плодів, од		Кількість резорбованих плодів, од
контрольна	13	10,90±0,25	10,40±0,28	104	212	0,30±0,16
	20	11,40±0,71	10,80±,73	108		0,40±0,17
Д№1	13	10,60±0,39	8,50±0,57**	85	166	0,90±0,29
	20	10,70±0,27	8,10±0,37**	81		1,00±0,22*
Д№2	13	11,00±0,35	9,50±0,42	95	185	0,50±0,18
	20	10,40±0,57	9,00±0,50*	90		0,40±0,17°
Д№3	13	10,80±0,38	9,30±0,39*	93	184	0,50±0,18
	20	10,80±0,34	9,10±0,40*	91		0,60±0,23
Д№4	13	9,70±0,57	8,70±0,57**	87	179	0,40±0,17
	20	10,60±0,53	9,20±0,44	92		0,50±0,24
Д№5	13	10,10±0,53	9,10±0,53*	91	180	0,40±0,17p
	20	10,00±0,32	8,90±0,40***	89		0,50±0,18***

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ щодо групи контролю; ° – $p < 0,05$ щодо групи кадмію цитрату.

Водночас, з 13-ї до 20-ї доби вагітності показник кількості живих плодів на одну самицю збільшився в контрольній групі на 3,85% та групі комбінованого впливу цитрату кадмію з цитратом цинку на 5,7% та зменшився в групі ізольованої дії цитрату кадмію (на 4,71%) і комбінованої з цитратом церію (на 4,21%), цитратом германію (на 2,15%), наноккомпозитом на основі цитратів йоду, сульфур, селену (на 2,2%).

Найменший показник середніх значень кількості жовтих тіл вагітності на одну самицю на 13-ту добу, за результатами даного дослідження, спостерігався в дослідній групі комбінованого впливу цитратів кадмію та цинку ($9,70 \pm 0,57$, $p=0,06$), а на 20-ту добу ембріонального розвитку ($10,40 \pm 0,57$, $p=0,26$) в дослідній групі комбінованого впливу цитратів кадмію та церію, а найвищий – у дослідній групі № 2 комбінованого впливу цитратів кадмію та церію: $11,00 \pm 0,35$ ($p=0,81$) на 13-ту добу та $10,8 \pm 0,34$ ($p=0,43$) в групі сумісної дії цитратів кадмію та германію на 20-ту добу ембріогенезу (табл. 1).

Показник середньої кількості резорбованих плодів був найвищий як на 13-й, так і на 20-й добі ембріогенезу в дослідній групі ізольованої дії цитрату кадмію і становив $0,90 \pm 0,29$ ($p=0,07$) та $1,00 \pm 0,22$ ($p=0,04$) відповідно (табл. 1).

Аналіз отриманих результатів свідчить про виражений ембріотоксичний вплив кадмію цитрату у дозі 1,0 мг/кг на процеси ембріогенезу, що виявляється достовірним підвищенням загальної ембріональної смертності порівняно з даними контрольної групи на обох досліджуваних термінах вагітності. Так, цей показник в групі впливу цитрату кадмію збільшився в 4,0 рази ($p = 0,0007$), як на

13-й добі так і на 20-й добі ембріонального розвитку ($p = 0,001$) щодо групи контролю (табл. 2).

В групах поєднаної дії цитрату кадмію з цитратами досліджуваних металів на 13-й добі вагітності показники загальної ембріональної смертності (ЗЕС) розташувалися в порядку зменшення відносно групи контролю таким чином: + 4,0 рази (Д № 1, $p=0,0007$) > + 2,8 рази (Д № 2, $p = 0,01$) = + 2,8 рази (Д № 3, $p = 0,006$) > + 2,2 рази (Д №4, $p = 0,0001$) > + 2,0 рази (Д №5, $p = 0,004$), а на 20-й добі: + 4,0 рази (Д № 1, $p = 0,001$) > + 2,7 рази (Д №3, $p = 0,003$) > + 2,2 рази (Д № 2, $p = 0,01$) = + 2,2 рази (Д № 4, $p = 0,005$) > + 1,8 рази (Д №5, $p = 0,01$). Таким чином, найбільш вагоме збільшення показників ЗЕС відбулось в групі ізольованого введення цитрату кадмію, а найменше – в групі сумісної дії цитрату кадмію та наноккомпозиту на основі цитратів йоду, сульфур, селену, як на 13-й так і на 20-й добі ембріогенезу (табл. 2).

Порівняння в групах впливу ізольованого та комбінованого введення цитрату кадмію виявило модифікуючий вплив цитратів на ембріотоксичність кадмію за цим показником. Як на 13-ту добу розвитку ембріонів, так і наприкінці ембріогенезу, цитрати церію, германію, цинку та наноккомпозит на основі цитратів йоду+сульфур+селену) знижували загальну ембріональну смертність порівняно з ізольованим введенням кадмію цитрату (табл. 2).

При сумісній дії кадмію цитрату з цитратами металів показники загальної ембріональної смертності на 13-й добі ембріонального розвитку зменшувалися в такому порядку щодо групи ізольованого введення кадмію цитрату: - 50,0 % (Д № 5, $p = 0,004$) > - 45, 0% (Д № 4, $p = 0,02$) > - 40,0 % (Д № 2, $p = 0,01$) > - 30,0% (Д № 3, $p = 0,006$), а на

Таблиця 2 – Показники летальності щурів контрольної та дослідних груп, ($M \pm m$, $n=20$)

Показник групи	Доба ембріогенезу	Загальна ембріональна смертність, (ЗЕС), од	Доімплантаційна смертність, (ДІС), од	Постімплантаційна смертність, (ПІС) од	Показник внутрішньо-утробної виживаності, %
контрольна	13	$0,05 \pm 0,02$	$0,02 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,02$	$95,44 \pm 1,61$
	20	$0,06 \pm 0,02$	$0,01 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,02$	$94,40 \pm 1,74$
Д№1	13	$0,20 \pm 0,04^{***}$	$0,12 \pm 0,03^{**}$	$0,09 \pm 0,03$	$79,89 \pm 3,70^{***}$
	20	$0,24 \pm 0,04^{***}$	$0,15 \pm 0,03^{***}$	$0,11 \pm 0,03^*$	$75,97 \pm 6,67^{***}$
Д№2	13	$0,14 \pm 0,03^{**\circ}$	$0,09 \pm 0,03^*$	$0,05 \pm 0,02$	$86,33 \pm 2,74^{**\circ}$
	20	$0,13 \pm 0,02^{***\circ}$	$0,10 \pm 0,03^{**}$	$0,04 \pm 0,02$	$86,71 \pm 2,30^{**\circ}$
Д№3	13	$0,14 \pm 0,03^{**\circ}$	$0,09 \pm 0,02^{**}$	$0,05 \pm 0,02$	$86,21 \pm 2,68^{**\circ}$
	20	$0,16 \pm 0,03^{**}$	$0,10 \pm 0,03^{***}$	$0,06 \pm 0,02^*$	$84,25 \pm 2,58^{**}$
Д№4	13	$0,11 \pm 0,01^{***\circ\circ}$	$0,07 \pm 0,02^{\circ}$	$0,04 \pm 0,02$	$89,32 \pm 0,80^{***\circ\circ}$
	20	$0,13 \pm 0,02^{**\circ}$	$0,09 \pm 0,02^{**}$	$0,04 \pm 0,02$	$87,01 \pm 1,69^{**\circ}$
Д№5	13	$0,10 \pm 0,01^{***\circ\circ}$	$0,06 \pm 0,02^{\circ}$	$0,04 \pm 0,02$	$89,77 \pm 0,78^{***\circ\circ}$
	20	$0,11 \pm 0,01^{***\circ\circ}$	$0,06 \pm 0,02^*$	$0,05 \pm 0,02^*$	$88,88 \pm 1,41^{***\circ\circ}$

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ щодо групи контролю; \circ – $p < 0,05$, $\circ\circ$ – $p < 0,01$; $\circ\circ\circ$ – $p < 0,001$ щодо групи кадмію цитрату.

20 - й добі: - 54,2 % (Д № 5, $p = 0,01$) > - 45,8 % (Д № 2, $p = 0,01$) = - 45,8 % (Д № 4, $p = 0,005$) > - 33,3% (Д № 3, $p = 0,01$) (табл. 2).

Водночас, в дослідних групах показники ЗЕС змінювалися в залежності від тривалості введення досліджуваних речовин наступним чином: + 20,0 % (Д № 1, $p = 0,0001$) > - 18, 2% (Д № 4, $p = 0,005$) > + 14,3 % (Д № 3, $p = 0,003$) > + 10,0% (Д №5, $p = 0,01$) > + 7,1% (Д №2, $p = 0,01$).

Зменшення показників загальної ембріональної смертності в групах комбінованого впливу пояснюються зниженням як доімплантаційної, (ДІС) так і постімплантаційної смертності (ПІС) (табл. 2). Так, в групі експозиції кадмію цитрату на 13-й добі ембріогенезу показник доімплантаційної смертності збільшився в 6,0 рази ($p = 0,004$), а показник постімплантаційної смертності в 3,0 рази ($p = 0,06$), а на 20-й добі ембріонального розвитку показник ДІС був вищим у 15,0 рази ($p = 0,0001$), показник ПІС у 2,8 рази ($p = 0,03$) щодо показників групи контролю.

В групах комбінованої дії цитратів показники ДІС також збільшувалися відносно групи контролю, але ці значення були меншими (на 13-й добі в 3,0 – 4,5 рази, на 20-й добі – в 6,0 – 10,0 рази). Водночас, щодо групи ізольованого впливу кадмію цитрату в групах комбінованого впливу цитратів металів показники ДІС на 13-й добі ембріонального розвитку зменшилися таким чином: - 50,0 % (Д № 5, $p = 0,05$) > - 41,7 % (Д № 4, $p = 0,04$) > - 25,0 % (Д №2, $p = 0,03$) = - 25,0 % (Д №3, $p = 0,006$) (табл. 2).

На 20-й добі ембріонального розвитку середній показник ДІС зменшився в усіх експериментальних групах наступним чином: - 60,7 % (Д № 5, $p = 0,03$) > - 40, % (Д № 4, $p = 0,005$) > - 33, 3 % (Д №2, $p = 0,009$) = 33, 3 % (Д № 3, $p = 0,005$) відносно показників ДІС групи ізольованого впливу кадмію цитрату. В залежності від тривалості введення досліджуваних речовин (від 13-ї до 20-ї доби ембріогенезу) в експериментальних групах показники ДІС найбільше підвищилися в групі ізольованої дії цитрату кадмію (на 25,0%, $p=0,0001$) та в комбінації з цитратом цинку (на 28,6%, $p=0,005$), в групах комплексного впливу цитратів кадмію та церію й германію цей показник збільшився на 11,1% ($p = 0,009$ та $p = 0,005$) та не змінилися в групі сумісної дії цитрату кадмію та нанокompозиту ($p = 0,03$) (табл. 2).

Середні показники постімплантаційної смертності в групі ізольованого введення кадмію цитрату недостовірно збільшилися в 3,0 рази ($p = 0,06$) на 13-й добі та в 2,8 рази ($p = 0,03$) на 20-й добі ембріогенезу відносно контрольної групи. Водночас, в групах одночасного впливу кадмію цитрату з цитратами металів показники ПІС зменшувалися як

на 13- й добі, так і на 20-й добі ембріогенезу щодо групи експозиції кадмію цитрату (табл. 2). Від 13-ї до 20-ї доби введення досліджуваних речовин показник ПІС не змінився у групах комбінованої дії цитрату кадмію з нанокompозитом ($p = 0,7$) та з цитратом цинку ($p = 0,9$) та мав найбільші значення в групі ізольованого впливу цитрату кадмію(+22,2%, $p = 0,03\%$).

Показник внутрішньоутробної виживаності найвищим був у групі контролю ($95,44 \pm 1,61$) та дослідній групі № 5 ($89,77 \pm 0,78$, $p = 0,04$) на 13- ту добу ембріогенезу, а найнижчим – у групі впливу кадмію цитрату на 20- ту добу ($75,97 \pm 3,67$ % ($p = 0,001$).

Обговорення отриманих результатів. Зважаючи на збільшення кадмію в навколишньому середовищі (повітрі, ґрунті, воді) через сучасні промислові процеси, поглинання у значних кількостях з сигаретного диму, що висвітлюються рядом вчених [1, 4-11, 14] та нез'ясованість впливу сполук кадмію на ембріогенез, метою даного дослідження було вивчення змін показників ембріогенезу в залежності від тривалості їх введення.

Надходження до організму піддослідних тварин внутрішньошлунково солей важких металів викликало збільшення показників ембріолетальності, а саме до- та постімплантаційної, і, загалом, загальної ембріональної смертності, кількості резорбцій зі зменшенням кількості живих плодів в групі ізольованого впливу цитрату кадмію та в комбінації з цитратами досліджуваних металів (цитратів церію, германію, цинку, нанокompозиту на основі йоду, сульфур у й селену), але в групах сумісного впливу ці показники були значно меншими, це узгоджується з дослідженнями інших авторів [10, 17]. Встановлено, що токсична дія солей важких металів збільшувала перелічені показники зі збільшенням тривалості їх введення. Виявлені показники ембріональних втрат вказують на здатність вагітних самиць в умовах впливу несприятливих факторів підтримувати дієздатність функціональної системи «мати - плід» в цілому, нехай і з вибірковою втратою частини своїх елементів. Водночас, зменшення показників ембріолетальності та ембріотоксичності в групах поєднаної дії цитратів металів безумовно, вказують на компенсаторно-адаптивні процеси, які відбуваються в організмі самиць щурів при їх впливі на токсичність кадмію.

Висновки. В результаті проведеного дослідження встановлено, що внутрішньошлункове введення щурам лінії Вістар цитрату кадмію в дозі 1,0 мг / кг (в перерахунку на метал) виявляє ембріолетальну дію, що виявляється достовірним підвищенням показників загальної ембріональної смертності (в 4,0 і 3,5 рази), доімплантаційної (в 6,0 і 12,0 разів) та постімплантаційної (в 3,0

і 2,5 рази) смертності порівняно з контрольною групою на всіх досліджуваних термінах ембріогенезу.

В групах поєднаної дії кадмію цитрату з цитратами металів отримані показники ЗЕС, ДІС, ПІС свідчать про зменшення накопичення кадмію під впливом досліджуваних цитратів, що дозволяє їх розглядати як потенційні біоантагоністи кадмію цитрату.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним є виявлення та порівняння ступеня накопичення кадмію в органах ембріонів методом поліелементного аналізу та проведення гістологічних досліджень, що допоможе виявити зміни на тканинному рівні та можливо буде пояснювати рівень ембріональної смертності.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів

References

1. Skalny AV. Otsenka i korrektsiya elementnogo statusa naseleniya – perspektivnoye napravleniye otechestvennogo zdavookhraneniya i ekologicheskogo monitoringa [Assessment and correction of the elemental status of the population is a promising area of domestic health care and environmental monitoring]. *Microelements in medicine*. 2018;19(1):5-13. [Russian]. doi: 10.19112/2413-6174-2018-19-1-5-13
2. Skalny AV, Zaitseva IP, Tinkov AA. *Mikroelementy i sport. Personalizirovannaya korrektsiya elementnogo statusa sportsmenov* [Microelements and sports. Personalized correction of the elemental status of athletes]. M: Sport; 2018. p. 288. [Russian]
3. Spivak YA, Nosenko ND, Zholobak NM, Shcherbakov AB, Reznikov AG, Ivanova OS, i dr. Nanokristallicheskiy dioksid tseriya povyshayet funktsional'nyuyu aktivnost' reproduktivnoy sistemy stareyushchikh samtsov krysa [Nanocrystalline cerium dioxide increases the functional activity of the reproductive system of old male rats]. *Nanosistemy: fizika, khimiya, matematika*. 2013;4(1):72-7. [Russian]
4. Golounina OO, Runova GE, Fadeyev VV. Osteomalacia in practice of endocrinologist: etiology, pathogenesis, differential diagnosis with osteoporosis. *Osteoporos Bone Dis*. 2019;22(2):23-31. [Russian] doi: 10.14341/osteo12117
5. Rehman K, Fatima F, Waheed I, Akash MSH. Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences. *J Cell Biochem*. 2018;119(1):157–184. PMID: 28643849. doi: 10.1002/jcb.26234
6. Zheng G, Zhong H, Guo Z, Wu Z, Zhang H, Wang C, et al. Levels of heavy metals and trace elements in umbilical cord blood and the risk of adverse pregnancy outcomes: a population-based study. *Biol Trace Elem Res*. 2014;160:437–44. PMID: 25008990. doi: 10.1007/s12011-014-0057-x
7. Gzhegotskiy MR, Sukhodol'skaya NV. Vliyaniye medi, tsinka, kadmiya i svintsa na veroyatnost' razvitiya ugrozy preryvaniya beremennosti u zhenshchin [The effect of copper, zinc, cadmium and lead on the likelihood of developing threatened abortion in women]. *Reproduktivnoye zdorov'ye. Vostochnaya Evropa*. 2014;1(31):43–9. [Russian]
8. Gull A, Dar AA, Sharma M. Effects of Heavy Metals on the Health of Pregnant Women and Fetus: A Review. *Int J Theoret Appl Sci*. 2018;10(1):1-9.
9. Zhu Q, Li X, Ge RS. Toxicological Effects of Cadmium on Mammalian Testis. *Front Genet*. 2020;11:527. PMID: 32528534. PMCID: PMC7265816. doi: 10.3389/fgene.2020.00527
10. Nefodov OO, Bilyshko DV, Kushnarova KA, Shevchenko OS, Shatorna VF, Kefeli-Yanovs'ka OI, et al. Vyznachennya vplyvu kadmiyu na pokaznyky embriogenezu pry izol'ovanomu vvedenni ta v kombinatsiyi z tsytratom selenu ta hermaniyu [Determining the effect of cadmium on embryogenesis in isolated administration and in combination with selenium and germanium citrates]. *Medicni perspektivi*. 2020;25(1):24-31. [Ukrainian]. doi: 10.26641/2307-0404.2020.1.200395
11. Teplaya GA. Tyazhelye metally kak faktor zagryazneniya okruzhayushchey sredy (obzor literatury) [Heavy metals as a factor of environmental pollution (literature review)]. *Astrakhanskiy vestnik ekologicheskogo obrazovaniya*. 2013;1(23):182-92. [Russian]
12. Li Y, Kimura T, Huyck RW, Laity JH, Andrews GK. Zinc-induced formation of a coactivator complex containing the zinc-sensing transcription factor MTF-1, p300/CBP, and Sp1. *Mol Cell Biol*. 2008;28: 75–84. PMID: 18458062. PMCID: PMC2447150. doi: 10.1128/MCB.00369-08
13. Marushko YuV, Asonov AO. Klinichne znachennya defitsytu tsynku u ditey iz khronichnym hastroduodenitom, asotsiyovanyim iz Helicobacter pylori [Clinical significance of zinc deficiency in children from chronic gastroenteritis, associated with Helicobacter pylori]. *Dytyachyy likar*. 2015;3-4(40-41):5-8. [Ukrainian].
14. Lamas GA, Navas-Acien A, Mark DB, Lee KL. Heavy metals, cardiovascular disease, and the unexpected benefits of edetate chelation therapy. *J Am Coll. Cardiol*. 2016;67:11-18. PMID: 27199065. PMCID: PMC4876980. doi: 10.1016/j.jacc.2016.02.066
15. Yildiz A, Kaya Y, Tanriverdi O. Effect of the Interaction Between Selenium and Zinc on DNA Repair in Association with Cancer Prevention. *J Cancer Prev*. 2019; 24:46–54. PMID: 31624720. PMCID: PMC6786808. doi: 10.15430/JCP.2019.24.3.146

16. Chen F, Wu K, Yang Y, Xu M. Study on iodine nutrition and related influencing factors of children aged 8-10 in Wuhan [J]. *Chinese journal of school health*. 2021;42(1):32-36. doi: 10.16835/j.cnki.1000-9817.2021.01.008
17. Kiseleva LG, Khar'kova OA, Chumakova GN. Soderzhaniye tyazhelykh metallov v mekonii novorozhdennykh u kuryashchikh materey [The content of heavy metals in meconium of newborns in smoking mothers]. *Ekologiya cheloveka*. 2015;7:20-26. [Russian]. doi: 10.33396/1728-0869-2015-7-20-26

УДК 612.3:591.39:661.852:661.782-092.9

ИЗМЕНЕНИЕ ЭМБРИОТОКСИЧЕСКИХ ВЛИЯНИЙ ЦИТРАТОВ МЕТАЛЛОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ИХ ВВЕДЕНИЯ

Колосова И. И., Богомольная Л. Ю., Крисс Г. Ю., Терещенко Н. Н., Давиденко И. В., Руденко Т. В., Тамлави А. И.

Резюме. Цель: экспериментальное изучение и сравнение эмбриолетальности и эмбриотоксичности цитратов металлов в зависимости от продолжительности их внутрижелудочного введения (в течение 13-ти или 20-ти суток гестации).

Материалы и методы. Исследование проведено на 120 белых половозрелых самках крыс линии Wistar массой 170–200 г, разделенных на 6 групп, в зависимости от внутрижелудочного введения растворов исследуемых металлов – крысы, получавшие цитраты: кадмия в дозе 1,0 мг/кг группа ($n_{\text{самок}} = 20, n_{\text{эмб}} = 166$); кадмия в дозе 1,0 мг/кг и церия (1,3 мг/кг) – 2-я группа ($n_{\text{самок}} = 20, n_{\text{эмб}} = 185$); кадмия в дозе 1,0 мг/кг и германия (0,1 мг/кг) – 3-я группа ($n_{\text{самок}} = 20, n_{\text{эмб}} = 184$); кадмия в дозе 1,0 мг/кг и цинка (1,5 мг/кг) – 4-я группа ($n_{\text{самок}} = 20, n_{\text{эмб}} = 179$); кадмия в дозе 1,0 мг/кг и нанокompозитом (йод+сульфур+селен) в дозе 2,0 мг/кг – 5-я группа ($n_{\text{самок}} = 20, n_{\text{эмб}} = 180$), 6-я группа – контрольная ($n_{\text{самок}} = 20, n_{\text{эмб}} = 212$) – пропорциональный объем стерильного физиологического раствора тем же путём. В каждой экспериментальной группе самки были поделены на 2 подгруппы по 10 животных в каждой в зависимости от продолжительности введения исследуемых веществ, возможное действие которых на эмбриональное развитие определяли по способности повышать уровень эмбриональной смертности (эмбриолетальный эффект). Эмбриотоксическое действие исследуемых веществ оценивали по общепринятым критериям, которые рассчитывали по общеизвестным формулам.

Результаты. Установлено, что при действии соединений кадмия на эмбриогенез крыс в опытных группах повышаются показатели эмбриолетальности, что свидетельствует об их негативном влиянии. Наиболее выраженные отличия в этих показателях, по отношению к контролю, выявлены у животных с изолированным влиянием кадмия цитрата: показатели общей эмбриональной смертности повысились в 4,0 раза на обоих исследуемых сроках эмбриогенеза и на 20% от 13-го до 20-го; увеличились показатели доимплантационной смертности в 6,0 раз с увеличением показателей постимплантационной смертности в 3 раза на 13-е сутки и в 15,0 раз и в 2,8 раза в 20-е сутки эмбриогенеза соответственно. В зависимости от продолжительности введения показатели доимплантационной смертности увеличились на 25,0%, при увеличении постимплантационной смертности на 22,2% в те же сроки. В группе влияния кадмия цитрата в дозе 1,0 мг/кг зафиксированы наименьшие показатели количества живых плодов и внутриутробной выживаемости с высокими показателями количества резорбций на обоих исследуемых сроках эмбрионального развития. В то же время, в группах совместного влияния цитрата кадмия с цитратами металлов доказано снижение показателей общей эмбриональной смертности (50,0 % – 30,0 %), доимплантационной смертности (50,0 % – 25,0 %), постимплантационной смертности (60,0 % – 44,4 %) и увеличение количества плодов на одну самку (12,7% -25,3%).

Выводы. Анализ полученных результатов свидетельствует о выраженном эмбриотоксическом влиянии цитрата кадмия в дозе 1,0 мг/кг на процессы эмбриогенеза, что проявляется достоверным повышением показателей общей эмбриональной смертности, доимплантационной и постимплантационной смертности по сравнению с контрольной группой на всех сроках. В группах сочетанного действия цитрата кадмия с цитратами металлов полученные данные свидетельствуют об уменьшении накопления кадмия под влиянием исследуемых цитратов, что позволяет их рассматривать как потенциальные биоантагонисты кадмия цитрата.

Ключевые слова: эмбриогенез, эмбриотоксичность, кадмия цитрат, эксперимент, цитраты.

UDC 612.3:591.39:661.852:661.782-092.9

Change of Embryotoxic Effects of Metal Citrates Depending on the Duration of Their Introduction

Kolosova I. I., Bogomolna L. Yu., Chriss G. Yu., Tereshchenko N. N., Davydenko I. V., Rudenko T. V., Tamlavi A. I.

Abstract. Given the increase in cadmium in the environment (air, soil, water) through modern industrial processes, the absorption of significant amounts from cigarette smoke is relevant to studying the effect of cadmium compounds on embryogenesis.

The purpose of the study: experimental study and comparison of embryolethality and embryotoxicity of metal citrates depending on the duration of their intragastric administration (during 13 and 20 days of gestation).

Materials and methods. The study was performed on 120 white adult female Wistar rats that weigh 170-200 g. They were divided into 6 groups due to the intragastric administration of solutions of the studied metals – rats treated with citrates: cadmium at a dose of 1.0 mg/kg – 1st group ($n_{\text{female}} = 20$, $n_{\text{emb}} = 166$); cadmium at a dose of 1.0 mg/kg and cerium (1.3 mg/kg) – 2nd group ($n_{\text{female}} = 20$, $n_{\text{emb}} = 185$); cadmium in a dose of 1.0 mg/kg and germanium (0.1 mg/kg) – 3rd group ($n_{\text{female}} = 20$, $n_{\text{emb}} = 184$); cadmium at a dose of 1.0 mg/kg and zinc (1.5 mg/kg) – 4th group ($n_{\text{female}} = 20$, $n_{\text{emb}} = 179$); cadmium at a dose of 1.0 mg/kg and nanocomposite (iodine + sulfur + selenium) at a dose of 2.0 mg/kg – 5th group ($n_{\text{female}} = 20$, $n_{\text{emb}} = 180$), 6th group – control ($n_{\text{female}} = 20$, $n_{\text{emb}} = 212$) – proportional volume of sterile saline in the same way. Females were divided into 2 subgroups of 10 animals each, depending on the duration of administration of test substances. The embryotoxic and embryolethal effects of the test substances were evaluated according to generally accepted criteria, which were calculated according to well-known formulas.

Results and discussion. Cadmium compounds harm the embryogenesis of rats in the experimental groups and increase the rates of embryolethality. The most pronounced differences in these parameters concerning the control were found in animals with isolated exposure to cadmium citrate: the rates of total embryonic mortality increased by 4.0 times in both study periods of embryogenesis and 20% from the 13th to the 20th day; increased pre-implantation mortality by 6.0 times with an increase in post-implantation mortality by 3 times on the 13th day and by 15.0 times and 2.8 times on the 20th day of embryogenesis, respectively. Depending on the duration of introduction, the indicators of pre-implantation mortality increased by 25.0% with an increase in post-implantation mortality by 22.2% in the same period. The experimental group of exposure to cadmium citrate at a dose of 1.0 mg/kg recorded the lowest indicators of the number of live fetuses and intrauterine survival with the highest resorption rate studied of embryonic development. At the same time, in the groups of combined exposure to cadmium citrate with metal citrates, a decrease in the indicators of total embryonic mortality was 50.0% - 30.0%, pre-implantation mortality – 50.0% - 25.0%, post-implantation mortality – 60.0% - 44.4 % and increase in the number of fetuses per female – 12.7% - 25.3%.

Conclusion. Analysis of the results shows a pronounced embryotoxic effect of cadmium citrate at a dose of 1.0 mg/kg on the processes of embryogenesis, which is a significant increase in overall embryonic mortality, preimplantation, and postimplantation mortality compared with the control group in all studied terms. In the groups of combined action of cadmium citrate with metal citrates, the data obtained indicate a decrease in the accumulation of cadmium under the influence of the studied citrates, which allows them to be considered as potential bioantagonists of cadmium citrate.

Keywords: embryogenesis, embryotoxicity, cadmium citrate, experiment, citrates.

ORCID and contributionship:

Irina I. Kolosova : 0000-0003-228-9134 ^{B,D,F}

Luchia O. Bogomolna : 0000-0002-2070-7850^F

Anna Y. Chris : 0000-0002-1586-7243^A

Natalia N. Tereshchenko : 0000-0001-6380-2551^E

Inna V. Davydenko : 0000-0002-9231-5194^B

Tetyana V. Rudenko : 0000-0002-4653-6412^C

Ali I. Tamlavi : 0000-0003-2651-8062 ^{C,D}

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

CORRESPONDING AUTHOR

Irina I. Kolosova

Dnipro, Dniprovsky State Medical University

Department of Medical Biology, Pharmacognosy and Botany

9, Vernadsky St., Dnipro 49044, Ukraine

tel: +380507349616, e-mail: irakolosova0405@gmail.com

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 01.11.2021 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування