

DOI: 10.26693/jmbs06.06.308

УДК 611.61.013-611.068: 57.042

Шаторна В. Ф.¹, Терещенко Н. М.²,

Сорокін В. О.², Кравченко М. К.²,

Самойленко І. І.², Якутович О. Ю.²,

Зяць І. О.²

ЗМІНИ НЕФРОГЕНЕЗУ ЕМБРІОНІВ ЩУРА ПРИ ІНТОКСИКАЦІЇ СОЛЯМИ КАДМІЮ ВАГІТНИХ САМИЦЬ

¹Дніпровський державний медичний університет,
Дніпро, Україна

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

Метою дослідження було визначення морфогенетичних порушень розвитку нирок ембріонів та плодів щура при хронічному внутрішньошлунковому впливі солями кадмію (хлорид кадмію, цитрат кадмію) на вагітну самицю.

Матеріал та методи. В експерименті 48 самицям щурів з датованим терміном вагітності вводили розчини досліджуваних речовин щоденно ентерально через зонд один раз на добу, в один і той же час, з 1-ого по 19-й день вагітності з метою дослідження хронічного впливу ксенобіотиків. Під час проведення експерименту реєстрували стан та поведінку самок, динаміку маси тіла, ректальну температуру, тривалість вагітності. Результати впливу досліджуваних речовин оцінювали після евтаназії самиць під наркозом тіопенталу натрію на 13-й та 20-й день вагітності.

Дослідження гістологічних зрізів ембріонів 13-ї доби розвитку та нирок ембріонів 20-ї доби проводили після виготовлення гістологічних препаратів за стандартними методиками.

Результати. Отримано нові кількісні дані щодо впливу солей кадмію на товщину кіркового та мозкового шарів нирок, діаметр та площа порожнини капсули нефрону в пренатальному періоді розвитку при хронічній інтоксикації самиці.

На 13-й добі вплив солями кадмію не розвиток нирок ембріонів мав різноспрямований характер: вплив хлориду кадмію призводив до збільшення товщини самого мезонефросу та мезонефральної протоки, а вплив цитратом кадмію знижував досліджувані показники. На 20-ту добу ембріогенезу щурів в групі, що підлягала впливу хлоридом кадмію вагові показники нирок зростали, а при впливі цитратом кадмію маса нирок достовірно зменшувалась ($p < 0,05$) як у порівнянні до контрольних значень так і до групи впливу хлоридом кадмію.

На 20-й добі розвитку аби виключити похибку у оцінюванні динаміки змін вагових показників маси ембріона та маси нирок розраховувався нефрофетальний індекс, тобто співвідношення вологої маси нирки до вологої маси фіксованого плоду.

Порівнювались також гістологічні показники діаметрів нефронів.

Висновки. Вперше показано, що цитрат кадмію виявляє меншу нефротоксичність у порівнянні до хлориду кадмію. Обрахування площі порожнини капсули нефрону методом сплайнного контуру продемонструвало зниження у 2,6 разів середніх показників площі порожнини капсули в групі впливу хлоридом кадмію по відношенню до контрольних середніх значень, що свідчить про порушення нефрогенезу. При впливі цитратом кадмію також відмічалось зниження площі порожнини капсули нефрону в 1,8 разів, що свідчить про менший рівень нефротоксичної цитрату кадмію у порівнянні до хлориду кадмію не зважаючи на тотожність дози впливу.

Ключові слова: нефрон, нирка, ембріон, щури, кадмій, експеримент.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження виконано у рамках науково-дослідної роботи кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки Державного закладу «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Розвиток та морфо-функціональний стан сечостатевої системи експериментальних тварин і людини в нормі, онтогенезі під впливом зовнішніх факторів», № держ. реєстрації 0116U008723

Вступ. Сучасний рівень розвитку промислових технологій в більшості країн не дозволяє перейти до екологічно чистого виробництва. Одним з найбільш поширених забруднювачів навколишнього середовища є сполуки важких металів, зокрема кадмій. Джерелами більшості антропогенних забруднень є відходи від металургійних виробництв, зі стічними водами гальванічних виробництв (після кадміювання), інших виробництв різних галузей, в яких застосовуються кадмійвмісні стабілізатори, пігменти, фарби і в сільському господарстві в результаті використання фосфатних добрив. Тільки підприємства промисловості і сільського господарства щорічно викидають в навколишнє

середовище мільйони токсичних речовин і окремих елементів: ртуті, кадмію, свинцю, фтору і т. п. При цьому в системі «вода – ґрунт – рослини – тварина – людина» мігрують важкі метали, пестициди, нітрати і нітрити та інші антропогенні забруднювачі. Однак найбільше в навколишнє середовище кадмій надходить у вигляді побічного продукту металургійного виробництва, а також при зберіганні і переробці побутових та промислових відходів. Навіть в незабруднених районах з вмістом кадмію в повітрі менше 1 мкг/м, його щоденне надходження в організм людини при диханні складає близько 1% від допустимої добової дози [1].

Результатами експериментальних досліджень встановлено, що кадмій має здатність долати плацентарний бар'єр вагітної самиці і накопичуватись та негативно впливати на розвиток плоду тварин. Питання подолання кадмієм плацентарного бар'єру дослідниками останніх років досліджується досить активно. Попередні твердження науковців про нездатність сполук важких металів проходити плаценту та впливати на розвиток ембріона і плода досить довго вважались аксіомою. Тому експерименти з впливу важких металів на вагітність та ембріогенез активно проводяться вченими різних країн з урахуванням дози, способу та терміну введення різних солей важких металів [2].

В основі механізму токсичної дії іонів важких металів, в тому числі кадмію, лежить їх взаємодія з компонентами клітин, молекулами клітинних органел і мембран. Прояв токсичної дії іонів кадмію пов'язаний з синтезом в організмі білка металотіонеїна, який зв'язує і транспортує його в нирки. Там білок майже повністю реадсорбується і швидко деградує зі звільненням іонів кадмію, що стимулюють синтез металотіонеїну в клітинах епітелію проксимальних каналців. Деградація комплексу кадмій-металотіонеїн призводить до підвищення рівня іонів кадмію спочатку в лізосомальній фракції, а потім в цитоплазмі, де відбувається зв'язування з нирковим металотіонеїном [3, 4, 5]. Однак цей механізм обмежений в кількісному відношенні, тому що при тривалому надходженні кадмію розвивається пошкодження тубулярного епітелію.

Кадмій викликає розвиток протейнурії, глюкозурії, аміноацидурії і інші патологічні процеси в нирках. При тривалому надходженні кадмію в організм розвивається нирковий тубулярний ацидоз, гіперкальційурія і формуються камені в сечовому міхурі. У важких випадках хронічної кадмієвої інтоксикації може також спостерігатися нефрокальцідоз. Накопичення кадмію в клітинах культури нирок відбувається паралельно підвищенню ступеня його токсичності [6, 7, 8]. За допомогою електронної мікроскопії було встановлено, що кадмій викликає ультраструктурні зміни клітинних мембран,

мітохондрій, цистерн апарату Гольджі, мережі трубочок, хроматину, ядерця, мікрофіламентів і рибосом.

На сьогодні до кінця не з'ясованими залишаються дослідження морфометричних змін параметрів структур травної, сечостатевої та серцево-судинної систем в умовах отруєння організму важкими металами в динаміці, суперечливі або відсутні повноцінні дані про особливості впливу сполук кадмію на організми різного віку, їх дія на клітинному і тканинному рівнях [9, 10]. Недостатньо висвітленими залишаються впливи сполук важких металів в різних дозах на органогенез ембріонів.

Метою дослідження було визначити вплив солей кадмію на розвиток нирок ембріонів щурів при хронічній інтоксикації вагітних самиць.

Матеріал та методи дослідження. Для проведення досліджень обрано низькі дози солей кадмію, які можливо співставити з реальною концентрацією кадмію в добових раціонах жінок, в тому числі вагітних, промислових регіонів. В експерименті 48 самиць щурів з датованим терміном вагітності розподілили на групи наступним чином:

- 1 – контрольна (кількість самиць – n=16, з яких 8 виходили з експерименту на 13-й добі вагітності, а 8 на 20-й; кількість ембріонів – n₁₃=76; n₂₀=77);
- 2 – введення хлориду кадмію в дозі 1,0 мг/кг маси тіла самиці (кількість самиць – n=16; кількість ембріонів – n₁₃=65; n₂₀=62);
- 3 – введення цитрату кадмію в дозі 1,0 мг/кг маси тіла самиці (кількість самиць – n=16; кількість ембріонів – n₁₃=69; n₂₀=70);

Згідно загальноприйнятим інструкціям проведення експериментальних робіт хронічного впливу ксенобіотиків, розчини досліджуваних речовин вводили самицям щоденно ентерально через зонд один раз на добу, в один і той же час, з 1-ого по 19-й день вагітності. Під час проведення експерименту реєстрували стан та поведінку самок, динаміку маси тіла, ректальну температуру, тривалість вагітності. Результати впливу досліджуваних речовин оцінювали після евтаназії самиць під наркозом тіопенталу натрію на 13-й та 20-й день вагітності.

Для плодів щура проводилось також обрахування наступних морфометричних параметрів:

- вагові показники ембріона в цілому (волога вага) по групі (мг), M±m;
- вагові показники ізольованої нирки ембріона (волога вага) (мг), M±m;
- нефрофетальний індекс (%), M±m, який розраховувався за формулою:

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

де НФІ – нефрофетальний індекс; m – маса нирки ембріону (мг); M – маса ембріона щура (мг).

Дослідження гістологічних зрізів ембріонів 13-ї доби розвитку та нирок ембріонів 20-ї доби проводили після виготовлення гістологічних препаратів за стандартними методиками.

Для отримання цифрових зображень з подальшим обчисленням розмірів структур нирок використовувалася камера для світлової мікроскопії ZEISS Axiosam ERc 5s. Заміри проводили на гістологічних фотографіях з використанням програми світлової мікроскопії ZEISS Axiosam ERc 5s з адаптером P95-C 1/2» 0,5x, приєднаного до мікроскопу Primo Star компанії ZEISS. Зазначена програма ZEN 2.0 є ліцензованою для гістологічних вимірювань та дозволяє проводити морфометричні дослідження як лінійних параметрів (діаметр клубочку, діаметр судин, товщина мезонефросу) так і проводити обрахування сплайнного контуру (площа капсули клубочку та ін.).

Для визначення можливої нефротоксичної дії досліджуваних агентів на гістологічних препаратах обраховували середні показники за наступними даними:

- діаметр клубочку нефрону (мкм), $M \pm m$;
- площа капсули клубочку нефрону, (мкм), $M \pm m$;
- товщина мезонефросу (мкм), $M \pm m$;
- товщина мезонефральної протоки (мкм), $M \pm m$;
- товщина кіркової речовини (мкм), $M \pm m$;
- товщина мозкової речовини (мкм), $M \pm m$;
- співвідношення товщини мозкової речовини до товщини кіркової

Статистичну обробку отриманих даних проводили методом варіаційної статистики з використанням програми «Microsoft Excel». Достовірність відмінностей отриманих морфометричних параметрів визначали за допомогою критерію Стьюдента. Відмінності між групами вважалися достовірними при значенні $p < 0,05$.

При плануванні та проведенні експериментальних досліджень були дотримані принципи Хельсінкської декларації, що була прийнята Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000р.), 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).

Результати дослідження. У розвитку нирок виділяють три стадії: пронефрос, мезонефрос, метанефрос, між якими визначаються проміжні стадії. Пронефрос є примітивним типом нирки, який функціонує як екскреторний орган лише у нижчих риб, у яких він розвивається з 8-10 передніх сегментів нефротому. У зародків ссавців пронефрос не функціонує і редукується, але протонефрична протока, з'єднуючись з каналцями мезонефросу,

перетворюється на важливий зачаток – мезонефральну (Вольфову) протоку.

На 13-й добі ембріогенезу щура проводилась фіксація ембріонів тотальна та гістологічні зрізи для досліджень впливу кадмію на нефрогенез робились через всю черевну порожнину ембріону. Такі гістотопографічні зрізи дозволяли оцінити не тільки гістологічну будову нирок, що розвиваються, але і визначити можливі зсуви в топографії та структурі сечових органів ембріону. На 13-й добі ембріогенезу морфометричні показники товщини мезонефросу в контролі дорівнювали в середньому $186,50 \pm 13,74$ мкм. При впливі хлоридом кадмію спостерігалось потовщення нефрогенного тяжу тканини до $248,68 \pm 26,31$ мкм та зменшення кількості метанефридій з розширенням їх діаметру. Вплив ізольованого введення цитрату кадмію призводив до зменшення товщини мезонефросу до $139,94 \pm 14,12$ мкм. Відповідні тенденції змін визначались і в морфометричних показниках мезонефральної протоки. Таким чином, вплив солями кадмію не розвиток нирок ембріонів, що опосередковано отримували кадмій, був різноспрямований: вплив хлориду кадмію призводив до збільшення самого мезонефросу та мезонефральної протоки, а вплив цитратом кадмію знижував досліджувані показники.

На 20-ту добу, тобто наприкінці ембріогенезу під час препарування ембріонів нирки не мали видимих вад топографії або розвитку (рис. 1). Органи розміщувались ретроперитонеально, під діафрагмою на задній стінці черевної порожнини, на верхніх полюсах нирок розміщувались добре розвинені наднирки. Патології розвитку нирок візуального характеру в групах дослідження не визначалось, сечоводи добре сформовані, впадають в сечовий міхур.



Рис. 1 – Фото нирок ембріонів щура 20-ї доби ембріогенезу під час препарування. А – контрольна група, Б – група впливу хлоридом кадмію. Фото зроблено на лінійці та калібрувальній поверхні для співставлення розмірів (сторона калібрувального квадрату – 10 мм)

На 20-ту добу ембріогенезу маса нирок ембріонів щурів в групі, що підлягала впливу хлоридом

кадмію зростали на 22,77 % по відношенню до контролю ($9,88 \pm 0,43$ мг) і становила $12,13 \pm 0,28$ мг. При ізольованому впливі цитратом кадмію маса нирок достовірно зменшувалась ($p < 0,05$) як у порівнянні до контрольних значень так і до групи впливу хлоридом кадмію і дорівнювала $7,98 \pm 0,41$ мг.

Проводились заміри товщини кіркової та мозкової речовини нирок ембріонів 20-ї доби в контролі та в групах впливу. В контрольній групі товщина кіркової речовини становила $312,49 \pm 19,05$ мкм, а мозкової – $811,56 \pm 9,13$ мкм. В групі впливу хлоридом кадмію аналогічні показники збільшувались, відповідно становили: кіркова речовина – $418,75 \pm 18,48$ мкм, мозкова – $927,89 \pm 21,13$ мкм. (рис. 2).

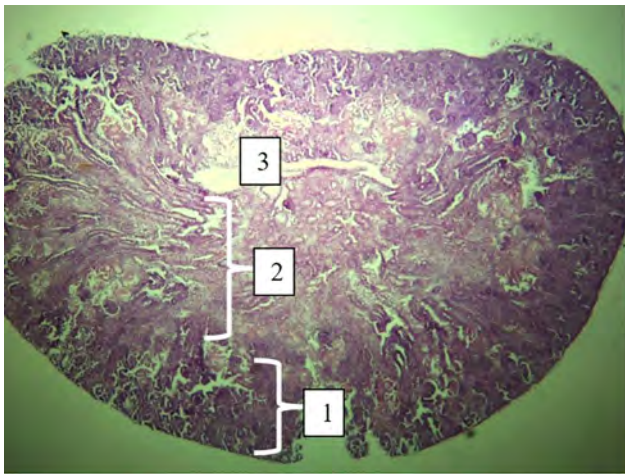


Рис. 2 – Гістологічний поперечний зріз нирки ембріона щура 20-ї доби розвитку групи впливу хлоридом кадмію. Забарвлення: гематоксилін Генденгайна. Зб.: 4×10

Примітки: 1 – кіркова речовина; 2 – мозкова речовина; 3 – ниркова миска.

При впливі цитратом кадмію досліджувані показники демонстрували зменшення товщини мозкової речовини: $767,38 \pm 14,95$ мкм, в той час як кіркова речовина недостовірно перевищувала контрольні показники – $341,27 \pm 15,06$ мкм. Таким чином, збільшення вагових показників органу в групі впливу хлоридом кадмію відбувались за рахунок збільшення товщини мозкової речовини та кіркового шару нирки ембріонів, в той час як при впливі цитратом кадмію показник товщини кіркової зони недостовірно збільшувався у порівнянні до контролю, а товщина мозкового шару недостовірно зменшувалась.

До складу кіркової речовини нирок входять наступні структури - ниркові тільця (тільця Мальпігі); проксимальні звивисті каналці всіх видів нефронів; дистальні звивисті відділи нефронів та компоненти юстагломерулярного апарату. У мозковій речовині знаходяться: проксимальні прямі каналці; дистальні прямі каналці, збірні протоки, з цих

же структур складаються і мозкові промені. Є деякі особливості локалізації відділів кіркових і юстамедулярних нефронів. У кіркових нефронів в кірковій речовині знаходяться ниркові тільця, проксимальний і дистальний звивисті каналці, а решта частини лежить в зовнішній зоні мозкової речовини. Юстамедулярні нефрони мають дуже довгий тонкий сегмент, який складається з низхідної і висхідної частин (петля Генле), вони глибоко спускаються у внутрішню зону мозкової речовини, в якій лежать також прямі проксимальні і прямі дистальні каналці, решта частини цих нефронів лежить в кірковій речовині. Ниркове тільце приймає участь у першій фазі сечоутворення – фільтрації первинної сечі, яка потім надходить в проксимальні каналці нефрону. В корі нирок ембріонів щура визначались наступні види нефронів, що вирізнялись за своєю топографією: суперфіціальні (поверхневі), кіркові (проміжні) та юстамедулярні, що розташовувались в зовнішній зоні мозкової речовини нирок (рис. 3).

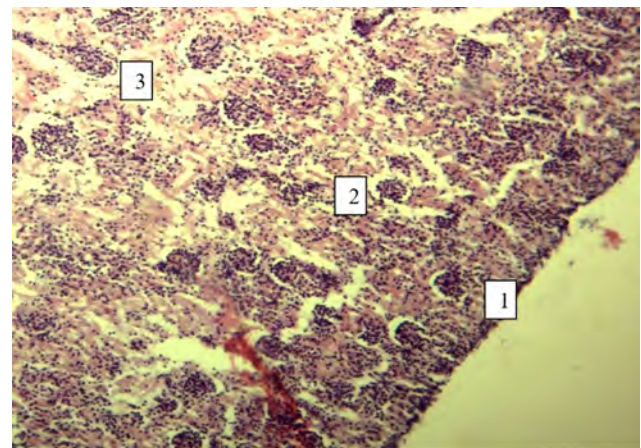


Рис. 3 – Гістологічний зріз кіркової зони нирки ембріона щура 20-ї доби розвитку контрольної групи. Забарвлення: гематоксилін Генденгайна. Зб.: 10×10

Примітки: 1 – суперфіціальні нефрони; 2 – кіркові нефрони; 3 – юстамедулярні нефрони

Між листками нефрону знаходиться порожнина капсули, в яку надходить первинна сеча (рис. 4). Дана порожнина продовжується коло сечового полюсу в проксимальний каналець нефрону. Проводились заміри діаметру нефрону та площі порожнини капсули нефрону на мікрофото гістологічного зрізу. Як показали результати обрахувань середніх значень, в контролі діаметр нефрону становив $79,88 \pm 4,32$ мкм, а при впливі солей кадмію даний показник змінювався, а саме: вплив хлориду кадмію призводив до зменшення діаметру нефрону до $38,33 \pm 5,14$ мкм (у 2 рази).

При впливі на вагітну самицю цитратом кадмію спостерігалось також зменшення діаметру нефрону ембріону, але в меншому ступені, а саме в 1,2 рази, що становило $63,14 \pm 4,57$ мкм.

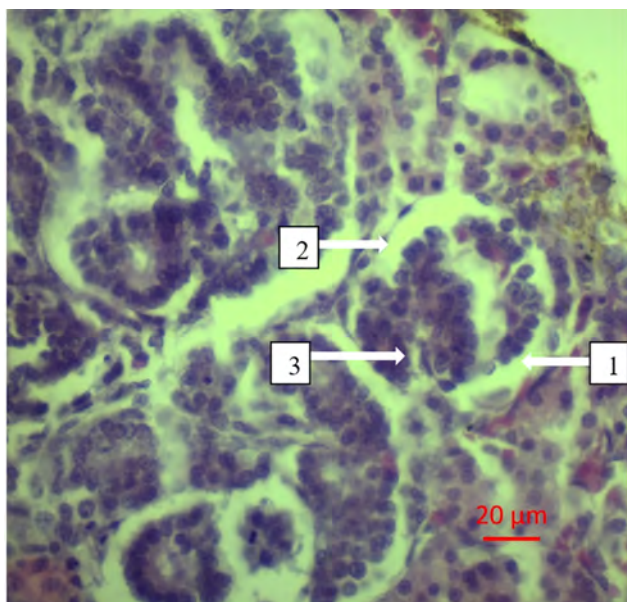


Рис. 4 – Гістологічний зріз кіркової зони нирки ембріона щура 20-ї доби розвитку контрольної групи. Суперфіціальні нефрони. Забарвлення: гематоксилін Генденгайна. Зб.: 40×10

Примітки: 1 – вісцеральний листок капсули ниркового тільця; 2 – парієтальний листок капсули ниркового тільця; 3 – судинний полюс з периполярними клітинами.

Обрахування площі порожнини капсули нефрону методом сплайнового контуру продемонструвало зниження у 2,6 разів середніх показників площі в групі впливу хлоридом кадмію до $604,35 \pm 112,71 \text{ мкм}^2$ по відношенню до контрольних середніх значень – $1589,22 \pm 14,10 \text{ мкм}^2$, що свідчить про порушення нефрогенезу та фільтраційної здатності нефронів. При впливі хлоридом кадмію на гістологічному рівні у 17,3 % визначалось виникнення розширення капсули нефрону у поєднанні з фокальним сегментарним склерозом капілярів клубочку, що свідчить про більший нефротоксичний ефект у порівнянні до цитрату кадмію

При впливі цитратом кадмію також відмічалось зниження площі порожнини нефрону, але в 1,8 разів ($882,01 \pm 14,48 \text{ мкм}^2$), що свідчить про зменшення нефротоксичної дії цитрату кадмію у порівнянні до хлориду кадмію не зважаючи на тотожність дози впливу (рис. 5).

Обговорення отриманих результатів. В ряді науково-експериментальних робіт з впливу на морфогенез нирок важких металів доведено гістологічні зміни в каналцевих відділах нефронів дослідних тварин, при цьому більш виражені зміни визначаються саме в проксимальних каналцях нефронів [10, 11]. В той час, як пошкодження клубочків з подальшим зменшенням маси функціонуючої паренхіми нирок [12] досліджено у ембріонів недостатньо. Тому більша увага була приділена дослідженню змін в морфогенезі нирок пренатального розвитку при хронічному впливі кадмію. Аналіз

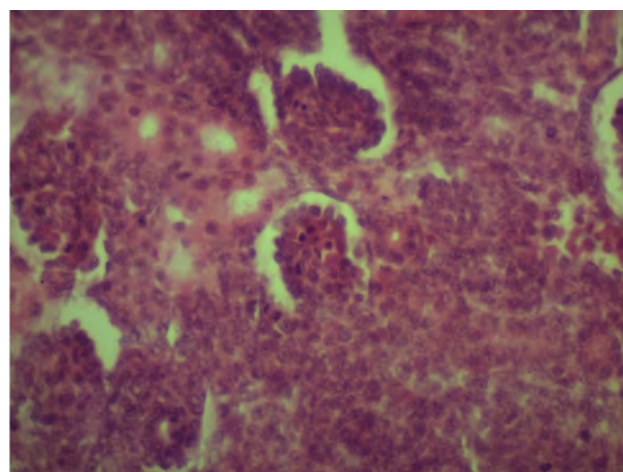


Рис. 5 – Гістологічний зріз нефронів кіркової зони нирки ембріона щура 20-ї доби розвитку групи впливу цитратом кадмію. Забарвлення: гематоксилін Генденгайна. Зб.: 40×10

отриманих результатів ентерального введення цитрату та хлориду кадмію на розвиток нирки в пренатальному періоді визначив менший ступінь нефротоксичності цитрату кадмію в організмі ембріонів за умов впливу однаковими дозами впродовж всього періоду вагітності. Вперше показано, що цитрат кадмію виявляє меншу нефротоксичність у порівнянні до хлориду кадмію при ентеральному введенні однакових доз в експерименті на щурах.

Висновки

1. Вплив солями кадмію (хлорид кадмію, цитрат кадмію) в дозі 1,0 мг/кг на вагітну самцю призводив до зміни зональності паренхіми нирок ембріонів 20-ї доби. Вплив хлоридом збільшував розміри кіркової речовини, в той час як введення цитрату кадмію зменшувало товщину мозкової речовини, а кіркова речовина недостовірно перевищувала контрольні показники.
2. Вплив хлориду кадмію призводив до зменшення у 2 рази по відношенню до контролю діаметру нефрону, а при впливі цитратом кадмію спостерігалось зменшення діаметру в 1,2 рази. Обрахування площі порожнини нефрону методом сплайнового контуру продемонструвало зниження у 2,6 разів середніх показників площі порожнини капсули нефрону в групі впливу хлоридом кадмію по відношенню до контрольних середніх значень, що свідчить про порушення нефрогенезу. При впливі цитратом кадмію також відмічалось зниження площі порожнини нефрону в 1,8 разів, що свідчить про менший рівень нефротоксичної дії цитрату кадмію у порівнянні до хлориду кадмію не зважаючи на тотожність дози впливу.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним є дослідження базових гістогенетичних процесів в паренхімі нирок плодів щура з використанням імуногістохімічних маркерів для визначення можливих порушень процесів проліферації та васкулогенезу ниркової тканини під впливом важких металів на вагітну самицю.

References

1. Kotlyarenko LT, Ruzhytskaya OYu. Ksenobiotyky v otchuyuchomu serodovyshchi ta yikh vplyv na orhanyzm [Xenobiotics in the environment and their effect on the body]. *Natsyonal'naya nauka: «Voznahrazhdenye» v oblasti nauky y praktyky 21-2018 Dec 23*. 2018;6:24-26. [Ukrainian]
2. Nakamura Y, Ohba K, Ohta H. Participation of metal transporters in cadmium transport from mother rat to fetus. *J Toxicol Sci*. 2017;37:1035-44. PMID: 23038010. doi: 10.2131/jts.37.1035
3. Nakamura Y, Ohba K, Suzuki K, Ohta H. Health effects of low-level cadmium intake and the role of metallothionein on cadmium transport from mother rats to fetus. *J Toxicol Sci*. 2017;37:149-56. PMID: 22293419. doi: 10.2131/jts.37.149
4. Gozhenko AI, Dolomatov SI, Romaniv LV. Znachenije vozrastnykh osobennostey v reaktsii pochek krysa na odnokratnoye vvedeniye dikhlorida kadmiya [The value of age characteristics in the reaction of rat kidneys to a single administration of cadmium dichloride]. *Bukov Med Visnyk*. 2003;7(1-2):27-31. [Russian]
5. Choong G, Liu Y, Templeton DM. Interplay of calcium and cadmium in mediating cadmium toxicity. *Chemico-biological interactions*. 2014;211:54-65. PMID: 24463198. doi: 10.1016/j.cbi.2014.01.007
6. Karchauskas VYU, Kotyuzhinskaya SG. O nefrotoksicheskikh effektakh razlichnykh doz khlorida kadmiya [On the nephrotoxic effects of different doses of cadmium chloride]. *Akt probl transportnoi meditsini*. 2016;2:47-9. [Russian]
7. Gozhenko AI. Patogenez toksicheskikh nefropatij [Pathogenesis of toxic nephropathy]. *Akt probl transportnoi meditsini*. 2016;2:9-15. [Russian]
8. Krishtal' NV. Patogeneticheskiye mekhanizmy endotoksicheskoy nefropatii [Pathogenetic mechanisms of endotoxic nephropathy]. *Akt probl transportnoi meditsini*. 2017;2:34-7. [Russian]
9. Magalyas VN. Osobennosti toksicheskikh nefropatij, vyzvannykh solyami rtuti, platiny, kadmiya, zolota [Features of toxic nephropathy caused by salts of mercury, platinum, cadmium, gold]. *Probl patologii v eksperimente i klinike*. 1991;13:47-8. [Russian]
10. Gozhenko AI, Sluchenko AN. Funktsional'noye sostoyaniye pochek v usloviyakh vodnoy i solevoy nagruzok pri beremennosti u krysa na fone sulemovoy nefropatii [The functional state of the kidneys under conditions of water and salt loads during pregnancy in rats against the background of sublimate nephropathy]. *Nefrologiya*. 2006;10(1):72-6. [Russian]
11. Hozhenko AI, Rohovyy YuE, Fedoruk OS. "Prykhovane" uskodzhennya proksymal'noho viddilu nefronu ["Hidden" damage to the proximal nephron]. *Odes Med Zh*. 2001;5:16-9. [Ukrainian]
12. Gonokhova MN. Morfologicheskiye izmeneniya v pochkakh potomstva krysa pri khronicheskoy intoksikatsii roditeley solyami tyazhelykh metallov [Morphological changes in the kidneys of the offspring of chris in chronic intoxication of parents with salts of heavy metals]. *Vestnik KrasGAU*. 2017;5:142-8. [Russian]

УДК 611.61.013-611.068: 57.042

ИЗМЕНЕНИЯ НЕФРОГЕНЕЗА ЭМБРИОНОВ КРЫСЫ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ СОЛЯМИ КАДМИЯ БЕРЕМЕННЫХ САМОК

Шаторная В. Ф., Терещенко Н. М., Сорокин В. О., Кравченко М. К., Самойленко И. И., Якутович О. Ю., Заяц И. О.

Резюме. Целью исследования было определение морфогенетических нарушений развития почек эмбрионов и плодов крысы при хроническом внутрижелудочном воздействии солями кадмия (хлорид кадмия, цитрат кадмия) на беременную самку.

Материал и методы. В эксперименте 48 самкам крыс с датированным сроком беременности вводили растворы исследуемых веществ ежедневно энтерально через зонд один раз в сутки, в одно и то же время, с 1-го по 19-й день беременности с целью исследования хронического воздействия ксенобiotиков. Во время эксперимента регистрировали состояние и поведение самок, динамику массы тела, ректальную температуру, продолжительность беременности. Результаты воздействия исследуемых веществ оценивали после эвтаназии самок под наркозом тиопентала натрия на 13-й и 20-й день беременности.

Исследование гистологических срезов эмбрионов 13 суток развития и почек эмбрионов 20 суток проводили после изготовления гистологических препаратов по стандартным методикам.

Результаты. Получены новые количественные данные о влиянии солей кадмия на толщину коркового и мозгового слоев почек, диаметр и площадь полости капсулы нефрона в пренатальном периоде развития при хронической интоксикации самки. На 13-е сутки влияние солями кадмия на развитие почек эмбрионов имело разнонаправленный характер: влияние хлорида кадмия приводило к увеличению толщины самого мезонефроса и мезонефрального протока, а влияние цитратом кадмия снижало исследуемые показатели. На 20-е сутки эмбриогенеза крыс в группе, подлежащей воздействию хлоридом кадмия, весовые показатели почек возрастали, а при воздействии цитратом кадмия масса почек достоверно уменьшалась ($p < 0,05$) как по сравнению с контрольными значениями, так и к группе воздействия хлоридом кадмия.

На 20-е сутки развития, чтобы исключить погрешность в оценке динамики изменений весовых показателей массы эмбриона и массы почек, рассчитывался нефрофетальный индекс, то есть соотношение влажной массы почки к влажной массе фиксированного плода. Сравнивались также гистологические характеристики диаметров нефронов.

Выводы. Впервые показано, что цитрат кадмия обнаруживает меньшую нефротоксичность по сравнению с хлоридом кадмия. Вычисление площади полости капсулы нефрона методом сплайнового контура продемонстрировало снижение в 2,6 раза средних показателей площади полости капсулы в группе воздействия хлоридом кадмия по отношению к контрольным средним значениям, что свидетельствует о нарушении нефрогенеза. При воздействии цитратом кадмия также отмечалось снижение площади полости капсулы нефрона в 1,8 раз, что свидетельствует о меньшем уровне нефротоксического цитрата кадмия по сравнению с хлоридом кадмия несмотря на тождественность дозы воздействия.

Ключевые слова: нефрон, почка, эмбрион, крысы, кадмий, эксперимент.

UDC 611.61.013-611.068: 57.042

Changes of Rat Embryon Nephrogenesis during Cadmium Salt Intoxication in Pregnant Females

Shatorna V. F., Tereshchenko N. M., Sorokin V. O., Kravchenko M. K., Samoilenko I. I., Yakutovich O. Yu., Zayats I. O.

Abstract. *The purpose of the experimental study was to determine morphogenetic disorders of embryonic and fetal kidney development in chronic intragastric exposure to cadmium salts (cadmium chloride, cadmium citrate) in pregnant females.*

Materials and methods. Low doses of cadmium salts were selected for the study, which can be compared with the actual concentration of cadmium in the daily diets of women, including pregnant women, in industrial regions. In the experiment, female rats with a given gestational age were divided into groups as follows: Group 1 – control (number of females – $n = 16$, of which 8 left the experiment on the 13th day of pregnancy, and 8 on the 20th; the number of embryos – $n_{13} = 76$; $n_{20} = 77$);

Group 2 – administration of cadmium chloride at a dose of 1.0 mg/kg body weight of the female (number of females – $n = 16$; number of embryos – $n_{13} = 65$; $n_{20} = 62$);

Group 3 – administration of cadmium citrate at a dose of 1.0 mg/kg body weight of the female (number of females – $n = 16$; number of embryos – $n_{13} = 69$; $n_{20} = 70$).

Results and discussion. New quantitative data on the effect of cadmium salts were obtained on the thickness of the cortical and cerebral layers of the kidneys, the diameter and area of the cavity of the nephron capsule in the prenatal period of development in chronic female intoxication. On the 13th day, the effect of cadmium salts on the development of embryonic kidneys was multidirectional: the effect of cadmium chloride led to an increase in the thickness of the mesonephros and mesonephric duct, and the effect of cadmium citrate reduced the studied parameters. On the 20th day of rat embryogenesis in the group exposed to cadmium chloride, the renal weights increased, and when exposed to cadmium citrate, the weight of the kidneys decreased significantly ($p < 0.05$) both in comparison with control values and in the group exposed to cadmium chloride.

On the 20th day of development, in order to exclude an error in estimating the dynamics of changes in the weight of embryo mass and kidney mass, the nephrofetal index was calculated, i.e. the ratio of wet kidney mass to wet weight of fixed fetus. Histological parameters of nephron diameters were also compared.

Conclusion. Cadmium citrate has been shown for the first time to be less non-phototoxic than cadmium chloride. Calculation of the area of the cavity of the nephron capsule by the spline contour method showed a 2.6-fold decrease in the average area of the capsule cavity in the group exposed to cadmium chloride relative to the control mean values, indicating a violation of nephrogenesis. When exposed to cadmium citrate, there was also a decrease in the area of the cavity of the nephron capsule by 1.8 times, which indicates a lower level of nephrotoxic cadmium citrate compared to cadmium chloride, despite the identity of the dose of exposure.

Keywords: nephron, kidney, embryo, rats, cadmium, experiment.

ORCID and contributionship:Vira F. Shatorna : 0000-0002-5853-9864 ^{A,B,C,D}Nataliya M. Tereshchenko : 0000-0001-6380-2551 ^{B,C,E}Valerii O. Sorokin : 0000-0002-8411-7219 ^{B,C,F}Maryna K. Kravchenko : 0000-0001-9008-0216 ^{D,C,E}Iryna I. Samoilenko : 0000-0002-6644-6588 ^{B,C,D}Olga Yu. Yakutovich : 0000-0002-7349-0501 ^{B,C,E}Iryna O. Zayats : 0000-0001-8225-5901 ^{B,C,E}

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**Vira F. Shatorna**

Dnipro State Medical University

Department of medical biology, pharmacognosy and botany

9, Vernadsky St., Dnipro 49044, Ukraine

tel. +38(056)7664848, e-mail: verashatornaya67@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 10.11.2021 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування