

ПОКАЗНИКИ ВПЛИВУ ХЛОРИДУ КАДМІЮ ТА СУКЦИНАТУ МІДІ НА ПОКАЗНИКИ СМЕРТНОСТІ В ЕМБРІОГЕНЕЗІ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ЕНТЕРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ

¹Дніпровський державний медичний університет (м. Дніпро, Україна)

²Дніпровський медичний інститут традиційної і нетрадиційної медицини (м. Дніпро, Україна)

rudenkohomerudenko@gmail.com

На теперішній час, кадмій є повсюдним забруднювачем навколишнього середовища, що викликає занепокоєння в усьому світі. Кадмій являється одним, з небагатьох, важких металів, фізіологічна роль якого, в організмі людини, на теперішній не встановлена. Він проявляє токсичний вплив при дуже низьких дозах, та має гострий і хронічний вплив на стан здоров'я. Небезпечними являються сполуки кадмію, особливо ті, що розчиняються у воді. Він може потрапити до організму людини через дихальний або травний тракт. Тератогенні чинники діють упродовж певних критичних періодів онтогенезу, особливо під час ембріогенезу.

Метою роботи є визначення впливу низьких доз кадмію (2,0 мг/кг) та міді (0,1 мг/кг) на загальний хід ембріогенезу щурів при комбінованому введенні, впродовж всього періоду вагітності білих щурів.

Для проведення експерименту, отримували самиць з датованим терміном вагітності. Досліджували естральний цикл методом піхвових мазків. Розчини вводили через зонд, внутрішньошлунково, раз на добу, з першого дня вагітності: I група – контроль, II група – введення розчину кадмій хлориду в дозі 2,0 мг/кг – група ізольованого введення кадмію, та III група – комбінованого введення хлориду кадмію, у дозі 2,0 мг/кг з сукцинатом міді у дозі 0,1мг/кг. Розчин хлориду кадмію був іонної форми, а розчин сукцинату міді – наноаквахелатної.

Показник внутрішньоутробної виживаності найвищим був у групі контролю на 19-ту добу ембріогенезу (95,29%), та найнижчим у групі впливу кадмію хлориду на 19-ту добі (75,07%). Як показав аналіз отриманих результатів, спостерігається виражений ембріотоксичний вплив хлориду кадмію на процеси ембріогенезу, що виявляється достовірним підвищенням показників загальної ембріональної смертності, доімплантаційної та постімплантаційної смертності порівняно з контрольною групою на всіх досліджуваних термінах ембріогенезу.

Ключові слова: кадмій, купрум, ембріогенез.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. 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. На теперішній час, кадмій є повсюдним забруднювачем навколишнього середовища, що викликає занепокоєння в усьому світі. Він потрапляє

до організму людини через дихальний або травний тракт. Спектр токсичних ефектів кадмію є досить широким. Результатом гострої інтоксикації сполуками кадмію є ураження травної системи, легенів, нирок, печінки та репродуктивної системи [1].

Кадмій належить до елементів, для яких коренева система рослин не становить ніякої перешкоди. Продовольчі культури, які вирощені на кадмійвмісних ґрунтах або на ґрунтах, природньо багатих цим металом, а також куріння, є основним джерелом непрофесійного впливу даного металу [2]. Вплив кадмію на організм людини має місце на заняттях фотографією, у виробництві батарейок і акумуляторів, виготовленні цигарок, добрив, в автомобільній та літакобудівній промисловості. У зварників, паяльщиків і ювелірів, які працюють із кадмієвими сплавами, підвищений ризик гострого отруєння парами окису кадмію [3, 4]. Тератогенні чинники діють упродовж певних критичних періодів онтогенезу, особливо під час ембріогенезу та чинять порушують диференціювання клітин у зачатках органів, що викликають мутації організму[5, 6].

Згідно з даними чисельних досліджень, показники репродуктивної функції жінок, які мешкають у забруднених містах, значно відрізняються від контрольних показників [7]. У них відмічається підвищення кількості ускладнень протікання вагітності, пологів і післяпологового періоду; числа вроджених дефектів розвитку; погіршення стану здоров'я потомків. Всі ці зміни призводять до зниження народжуваності, а також до народження хворих дітей з фізичними та інтелектуальними вадами [8].

При постійній дії різних екзогенних факторів, а саме важких металів, на організм, виникає необхідність пошуку ефективних протекторних засобів. У зв'язку з цим, виникає необхідність визначення впливу сполук важких металів на системи органів та хід ембріогенезу, і пошук можливих антагоністів їх дії, що є актуальним з точки зору як теоретичної біології, так і практичної медицини.

Мета дослідження. Експериментально визначити вплив низьких доз кадмію (2,0 мг/кг) та купруму (0,1 мг/кг) при комбінованому введенні впродовж всього періоду вагітності у білих щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Експеримент проведено на 48 самицях щурів лінії Wistar (розплідник «Далі 2000» м. Київ), маса яких складає 180-300 г. Відповідно до умов та вимог проведення ембріональних експериментів, ми забезпечили повноцінний харчовий раціон, воду для пиття і ретельний догляд піддослідних тварин. Для проведення експерименту отримували самиць з датованим терміном вагітності, для цього досліджували їх естральний цикл, мето-

Таблиця – Показники ембріогенезу щурів у нормі та в експериментальному дослідженні, при впливі кадмію хлориду та сукцинату міді на 13-ту і 19-ту добу ембріогенезу, (M±m)

| Показник/ групи | Контрольна | | Д№1 хлорид кадмію 2,0 мг/кг | | Д№2 Хлорид кадмію+купрум 0,1 мг/кг | |
|---|------------|------------|-----------------------------------|-------------|--|-------------|
| | 13 | 19 | 13 | 19 | 13 | 19 |
| Доба ембріогенезу | 13 | 19 | 13 | 19 | 13 | 19 |
| Кількість жовтих тіл | 12,75±0,92 | 13,13±0,91 | 11,63±0,49 | 11,88±0,24 | 12,38±0,45 | 12,13± 0,62 |
| Загальна ембріональна смертність (ЗЕС), од | 0,05±0,02 | 0,05±0,02 | 0,23±0,04*** | 0,25±0,07** | 0,11±0,02*## | 0,17± 0,04* |
| Доімплантаційна (передімплантаційна) смертність (ДІС), од | 0,02±0,01 | 0,01±0,01 | 0,08±0,02* | 0,15±0,07* | 0,08±0,02* | 0,10±0,03** |
| Постімплантаційна смертність (ПІС), од | 0,03 ±0,01 | 0,04±0,02 | 0,15±0,04** | 0,11±0,05 | 0,03±0,02## | 0,08±0,03 |
| Показник внутрішньоутробної виживаності, % | 95,16±1,65 | 95,29±0,95 | 77,23±3,57 | 75,07±6,86 | 83,19±2,80 | 83,19±2,80 |

Примітка:

* – p<0,05, ** – p<0,01; *** – p<0,001 щодо групи контролю
 ## – p<0,05, ### – p<0,01; ### – p<0,001 щодо групи кадмію хлориду
 #о – p<0,05, ° – p<0,01; ° – p<0,001 щодо групи кадмію +купрум

дом піхвових мазків. На стадії еструсу та проеструсу парували з інтактними самцями за схемою 2:1. Таким чином, виявляючи сперматозоїдів у піхвових мазках, це свідчило, про перший день вагітності самиць. Їх було зважено, для розрахунку необхідної кількості введення хлориду кадмію. Розчини вводили енте-ральним шляхом, раз на добу, з початку вагітності, а саме першого дня: I група – контроль, II група – введення розчину кадмію хлориду в дозі 2,0 мг/кг – група ізольованого введення кадмію, та III – група комбінованого введення хлориду кадмію, у дозі 2,0 мг/кг, разом з сукцинатом міді у дозі 0,1мг/кг. Розчин хлориду кадмію був іонної форми, а розчин сукцинату міді – наноаквахелатної. При проведенні експерименту реєстрували стан і поведінку самок щурів, динаміку маси тіла та тривалість вагітності. На 13-й та 19-й день вагітності самиць, проводили оперативний забій. З матки вилучали щурят, зважували, визначали відповідність до стадії розвитку в нормі, проводили макроскопічний огляд для виявлення зовнішніх аномалій, а в яєчниках підраховували кількість жовтих тіл вагітності. Відзначали відповідність жовтих тіл і кількості ембріонів в обох рогах матки самиць. Для проведення експериментальної частини, нами було обрано низьку дозу хлориду кадмію, що відтворює реальну концентрацію в добових раціонах жінок, й у тому числі і вагітних, що мешкають у промислових регіонах. Експериментальні дослідження було проведено з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.). Показниками ембріотоксичності є загальноприйняті критерії: доімплантаційна (передімплантаційна, ДІС), постімплантаційна ембріональна смертність (ПІС), загальна ембріональна смертність (ЗЕС), показники внутрішньоутробної виживаності, морфологічні (анатомічні) вади розвитку, а також загальна затримка розвитку плодів, які розраховували за загальновідомими формулами:

1. Загальна ембріональна смертність,

$$ЗЕС = \frac{B-A}{B} \times 100\%,$$

де А – кількість живих плодів, В – кількість жовтих тіл вагітності.

2. Передімплантаційна (доімплантаційна) смертність,

$$ДІС = \frac{B-(A+B)}{B} (од.),$$

де А – кількість живих плодів, В – кількість загиблих (резорбованих) плодів, В – кількість жовтих тіл вагітності.

3. Постімплантаційна смертність,

$$ПІС = \frac{B}{A+B} (од.),$$

де А – кількість живих плодів, В – кількість загиблих (резорбованих) плодів.

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики. Оцінку вірогідності статистичних досліджень було проведено за допомогою t-критерію Ст'юдента, отримані дані вважали достовірно значущими при p<0,05.

Результати дослідження та їх обговорення. Аналіз експериментальних результатів досліджу, виявив негативний вплив сполук кадмію в обох досліджуваних дозах на показники ембріогенезу як на 13-й, так і 19-й добу вагітності (табл.). Проведене дослідження показало, що індекс плодовитості в дослідних групах не відрізнявся від наявних літературних даних.

Показано збільшення показників ЗЕС, у групах впливу кадмію хлориду на 13-й добу та 19-й добу ембріонального розвитку, порівняно з контрольною групою, у 4,6 рази та 5,0 разів. У групі з дією хлоридом кадмію та сукцинатом міді, відмічається зниження даного показнику у 2,2 рази на 13-й добу, та у 3,4 рази на 19-й добу ембріонального розвитку. Таким чином, зафіксовано позитивну динаміку зменшення впливу хлориду кадмію, під впливом сукцинату міді на 52,17% та 32% відповідно.

Порівняння показників впливу важких металів на організм, свідчить про виражений ембріотоксичний вплив сполук кадмію у дозі 2,0 мг/кг на процеси ембріогенезу, що є достовірним підвищенням загальної

ЗЕС порівняно з групою контролю, та зафіксовано позитивні зміни у групі комбінованого введення хлориду кадмію з сукцинатами міді.

Відзначається збільшення показників ДІС у групах кадмію хлориду в 4,0 рази на 13-ту добу вагітності, і залишаються незмінними при введенні сукцинатів міді, порівняно з групою контролю, та збільшуються в 15 разів на 19-ту добу ембріонального розвитку, а у групі комбінованого введення хлориду кадмію з купрумом зменшуються на 33,3%, порівняно з групою хлориду кадмію.

Постімплантаційна смертність збільшилася у групі впливу хлориду кадмію, порівняно з контрольними значеннями: у 5,0 разів на 13-ту добу ембріогенезу, та зменшились на 80% у групі хлориду кадмію та сукцинату міді, у порівнянні з групою з самостійним введенням хлориду кадмію. На 19-ту добу вагітності відзначається збільшення у 2,8 рази показників хлориду кадмію, та покращення показників на 27,3%, у групі з комбінованим введенням хлориду кадмію з купрумом. Результати експерименту свідчать, що за умов впливу негативних факторів, під час вагітності, абортів виявляється у доімплантаційному періоді, що не суперечить наявним літературним даним.

Показники кількості жовтих тіл у групі з самостійним введенням хлориду кадмію зменшились в 1,1 рази на 13-ту добу ембріонального розвитку, порівняно з контролем, та відзначається покращення у

групі з комбінованим введенням хлориду кадмію та сукцинату міді в 0,9 рази у порівнянні з групою хлориду кадмію. На 19-ту добу вагітності білих щурів зафіксовано зменшення кількості жовтих тіл у 1,1 рази показників хлориду кадмію, а у групі з комбінованим введенням хлориду кадмію з купрумом показники покращились в 0,9 рази.

У групі контролю на 19-ту добу ембріогенезу було зафіксовано найвищий (95,29%) показник внутрішньоутробної виживаності, а найнижчий у групі впливу кадмію хлориду у дозі 2,0 мг/кг на 19-й добі ембріонального розвитку (75,07%).

Висновки. Проведене експериментальне дослідження показало виражений ембріотоксичний ефект хлориду кадмію на процеси ембріогенезу, що є достовірним підвищенням показників загальної ембріональної смертності, доімплантаційної і постімплантаційної смертності порівняно з контрольною групою, на всіх досліджуваних термінах ембріогенезу.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується виявлення і порівняння ступеню накопичення кадмію в органах ембріонів методом поліелементного аналізу, також проведення гістологічних досліджень тонкого кишечника ембріонів, що допоможе висвітлити зміни на тканинному рівні, і допоможе висвітлити рівень ембріональної смертності.

Література

1. Ostrovskaya SS, Shatornaya VF, Kolosova II, Mayor VV. Rizni aspekty toksychnoho vplyvu vazhkykh metaliv na orhanizm ditey ta pozhylykh lyudey. Visnyk problem biolohiyi ta medytsyny. 2016;3(130):35-9. [in Ukrainian].
2. Hanson ML, Holaskova I, Elliott M, Brundage KM, Schafer R, Barnett JB. Prenatal Cadmium Exposure Alters Postnatal Immune Cell Development and Function. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2012;261(2):196-203.
3. Montes S, Juárez-Rebollar D, Nava-Ruiz C, Garcia-Sánchez A, Heras-Romero Y, Rios C, et al. Immunohistochemical Study of Nrf2-Antioxidant Response Element as Indicator of Oxidative Stress Induced by Cadmium in Developing Rats. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2015 [cited 2018 July 17];2015:ID570650. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2015/570650/cta/>. DOI: 10.1155/2015/570650.
4. Mykytyuk MV. Nanochastynky ta perspektyvy yikh zastosuvannya v biolohiyi i medytsyni. *Problemy ekolohiyi ta medytsyny.* 2011;15(5-6):42-47. [in Ukrainian].
5. Rajakumar S, Abhishek A, Selvam GS, Nachiappan V. Effect of cadmium on essential metals and their impact on lipid metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *Cell Stress Chaperones.* 2020;25(1):19-33.
6. Kolosova II, Rudenko KM, Shatorna VF. Kadmiy – zahroza dlya zhyvykh orhanizmiv (ohlyad literatury). Abstracts of V International Scientific and Practical Conference Perspectives of world science and education; 2020 Jan 29-31; Japan, Osaka; 2020. p. 433-442.
7. Skal'nyy AV, Zaytseva IP, Tin'kov AA. Mikroelementy i sport. Personalizirovannaya korektsiya elementnogo statusa sportsmenov. M.: Sport; 2018. 288 s. [in Russian].

ПОКАЗНИКИ ВПЛИВУ ХЛОРИДУ КАДМІЮ ТА СУКЦИНАТУ МІДІ НА ПОКАЗНИКИ СМЕРТНОСТІ В ЕМБРІОГЕНЕЗІ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ЕНТЕРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ

Руденко К. М., Писаревська І. А., Жержова Т. А., Черненко Г. П., Євтушенко Т. В., Бойко О., Мякушко В. А.

Резюме. На теперішній час, кадмій є повсюдним забруднювачем навколишнього середовища, що викликає занепокоєння в усьому світі. Він потрапляє до організму людини через дихальний або травний тракт. Продовольчі культури, які вирощені на кадмійвмісних ґрунтах або на ґрунтах, природньо багатих цим металом, а також куріння, є основним джерелом непрофесійного впливу даного металу. Вплив кадмію на організм людини має місце на заняттях фотографією, у виробництві батарейок і акумуляторів, виготовленні цигарок, добрих, в автомобільній та літакобудівній промисловості. Тератогенні чинники діють упродовж певних критичних періодів онтогенезу, особливо під час ембріогенезу. Метою роботи є експериментальне визначення впливу низьких доз кадмію (2,0 мг/кг) та міді (0,1 мг/кг) на загальний хід ембріогенезу щурів при комбінованому введенні впродовж всього періоду вагітності.

Для проведення експерименту, отримували самиць з датованим терміном вагітності. Досліджували естральний цикл самиць методом піхвових мазків. Розчини вводили через зонд, внутрішньошлунково, раз на добу, з першого дня вагітності: I група – контроль, II група – введення розчину кадмій хлориду в дозі 2,0 мг/кг – група ізольованого введення кадмію, та III група – комбінованого введення хлориду кадмію, у дозі 2,0 мг/кг з сукцинатом міді у дозі 0,1мг/кг. Розчин хлориду кадмію був іонної форми, а розчин сукцинату міді – наноаквахелатної.

Показник внутрішньоутробної виживаності найвищим був у групі контролю на 19-ту добу ембріогенезу (95,29%), та найнижчим у групі впливу кадмію хлориду на 19-ту добі (75,07%).

Як показав аналіз отриманих результатів, що спостерігається виражений ембріотоксичний вплив хлориду кадмію на процеси ембріогенезу, що виявляється достовірним підвищенням показників загальної ембріональної смертності, доімплантаційної та постімплантаційної смертності порівняно з контрольною групою на всіх досліджуваних термінах ембріогенезу.

Ключові слова: кадмій, купрум, ембріогенез.

INDICES OF INFLUENCE OF CADMIUM CHLORIDE AND COPPER SUCCINATE ON MORTALITY INDICATORS IN WHITE RAT EMBRYOGENESIS BY ENTERAL INTRODUCTION

Rudenko K. M., Pisarevskaya I. A., Zherzhova T. A., Chernenko G. P., Yevtushenko T. V.,
Boiko O., Myakushko V. A.

Abstract. At present, cadmium is a pervasive pollutant of concern around the world. It enters the human body through the respiratory or digestive tract. Food crops grown on cadmium-containing soils or on soils naturally rich in this metal, as well as smoking, are the main source of unprofessional exposure to this metal. The effects of cadmium on the human body occur in photography, in the manufacture of batteries and accumulators, in the manufacture of cigarettes, fertilizers, in the automotive and aircraft industries. Teratogenic factors act during certain critical periods of ontogenesis, especially during embryogenesis. The aim of this study was to experimentally determine the effect of low doses of cadmium (2.0 mg/kg) and copper (0.1 mg/kg) on the overall course of rat embryogenesis with combined administration throughout pregnancy.

For the experiment, received females with a dated pregnancy. The estrous cycle of females was examined by vaginal swabs. The solutions were administered by gavage, intragastrically, once a day, from the first day of pregnancy: group I – control, group II – administration of cadmium chloride solution at a dose of 2.0 mg/kg – group of isolated cadmium administration and group III – combined administration of cadmium chloride, at a dose of 2.0 mg/kg with copper succinate at a dose of 0.1 mg/kg. The solution of cadmium chloride was ionic, and the solution of copper succinate – nanoaquachelate.

Intrauterine survival was highest in the control group on the 19th day of embryogenesis (95.29%), and lowest in the group exposed to cadmium chloride on the 19th day (75.07%).

As the analysis of the obtained results showed, there is a pronounced embryotoxic effect of cadmium chloride on the processes of embryogenesis, which is a significant increase in overall embryonic mortality, preimplantation and postimplantation mortality compared with the control group at all studied terms of embryo.

Key words: cadmium, copper, embryogenesis.

ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Rudenko K. M.: 0000-0003-0117-9033 ^{BDF}

Pisarevskaya I. A.: 0000-0003-3193-3893 ^E

Zherzhova T. A.: 0000-0002-9878-5314 ^D

Chernenko G. P.: 0000-0002-0667-7376 ^E

Yevtushenko T. V.: 0000-0003-2825-8137 ^A

Boiko O.: 0000-0001-9898-9010 ^C

Myakushko V. A.: 0000-0002-3516-0106 ^B

Конфлікт інтересів:

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів в даній статті.

Адреса для кореспонденції

Руденко Катерина Миколаївна

Дніпровській державний медичний університет

Адреса: Україна, 49000, м. Дніпро, вул. Володимира Вернадського 9

Тел.: +380954001655

E-mail: rudenkohomerudenko@gmail.com

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.

Рецензент – проф. Небесна З. М.
Стаття надійшла 01.05.2021 року
Стаття прийнята до друку 06.11.2021 року