

In accordance with the conditions and requirements for carrying out embryonic experiments, we have provided a complete diet, drinking water and careful care for the female; the introduction of metal solutions (sensing) was carried out from the first day of pregnancy every day at the same time of day. For an embryonic study, females with a dated pregnancy were given using the method of vaginal swab.

In the work, the effects on the overall course of embryogenesis of cadmium salts (at a dose of 1.0 mg/kg) were determined experimentally with isolated administration and in combination with citrates of cerium and germanium during intragastric administration throughout the entire period of pregnancy in rats. The probable embryotoxic effect of the substances studied was assessed by the following indicators: total embryonic mortality, preimplantation mortality, post-implantation mortality, and the number of fetuses per 1 female.

Isolated intragastric administration of cadmium salts to pregnant females has shown a different degree of embryotoxicity of the compounds studied: cadmium chloride and cadmium citrate. The results of the experiment revealed a more pronounced embryotoxic effect of cadmium chloride compared to the effects of cadmium citrate at their same dose and route of administration in an experiment on rats.

The combined administration of cadmium chloride/citrate with cerium/germanium citrate significantly reduces the embryotoxic effect of cadmium, which is manifested in increasing the number of embryos in the litter and reducing overall embryonic mortality.

Key words: embryotoxicity, cadmium, cerium, germanium, nanometals.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 20.01.2019 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2019-1-1-148-278-281

УДК 611.12/13-053.13:616-007.7-092.9:669.018.674

Нефьодова О. О., Задесенець І. П.

ВПЛИВ НИЗЬКИХ ДОЗ КАДМІЮ ЦИТРАТУ ТА КАДМІЮ ХЛОРИДУ НА ПОКАЗНИКИ ЕМБРІОГЕНЕЗУ ЩУРІВ ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ ЦИТРАТАМИ ЦИНКУ ТА СЕЛЕНУ ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпро)

izadesenec1@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконувалась відповідно до теми наукової роботи кафедри «Морфофункціональний стан органів і тканин експериментальних тварин та людини в онтогенезі в нормі та під впливом зовнішніх і внутрішніх чинників», № державної реєстрації 0117U003181.

Вступ. Фізіологічне значення мікроелементів в першу чергу обумовлено їх роллю в складі ферментативних систем організму, оптимальне функціонування яких у великій мірі залежить від надходження мікроелементів з навколишнього середовища. Недостатність, як і їх надлишок в середовищі існування, може привести до захворювань, часом вкрай важких, а позначається цей стан як мікроелементози. Як зазначається багатьма дослідниками, порушення балансу надходження мікроелементів до організму є етіопатогенетичним фактором виникнення хвороб та вад розвитку. Особливо критичним це порушення є в період стрімкого розвитку – а саме під час вагітності та в дитячому віці [1,2].

Відповідно до класифікації А. П. Авцина та ін., мікроелементози поділяються на природні екзогенні, ендегенні, техногенні та ятрогенні. Вони відрізняються певними патоморфологічними і клініко-біохімічними ознаками [3].

На теперішній час проблема забруднення довкілля важкими металами, а саме кадмієм, свинцем та ртуттю є особливо актуальною, оскільки останні мають найбільш виражену токсичну дію [4].

Значення багатьох есенціальних мікроелементів для людини вивчені відносно добре; найбільшою мірою це відноситься до заліза, йоду, цинку, селену і ряду інших. Цинк (Zn) – один з найважливіших мікроелементів, необхідних людині протягом усього його

життя, починаючи з внутрішньоутробного періоду свого розвитку і закінчуючи глибокою старістю [5].

Якщо фізіологічна роль розглянутих вище мікроелементів добре відома, то роль селену вивчена значно менше. Його розглядають як один з потужних антиканцерогенних чинників, необхідних для антистресової захисту організму, особливо в період вагітності. Важливим завданням сучасної медичної науки є пошук детоксикантів та профілактичних препаратів, що можуть знижувати надходження важких металів до організму людини (особливо під час вагітності) та зменшувати їх шкідливий вплив.

В даних літератури зустрічається велика кількість наукових робіт, присвячених дослідженню впливу різних форм кадмію в постнатальному періоді [6], в той час як вплив кадмію та його форм на хід ембріогенезу вивчено недостатньо. Оскільки безпосереднє моделювання порушень ембріогенезу під впливом сполук кадмію у людини та шляхів корекції останніх неможливе, вчені застосовують індуквані експериментальні моделі. За їх допомогою визначають спектр морфогенетичних порушень протягом ембріогенезу. На теперішній момент актуальним напрямком морфологічних експериментальних досліджень є вивчення впливу кадмію хлориду та кадмію цитрату на загальний хід ембріогенезу та пошук біоантагоністів.

Мета дослідження: експериментально визначити вплив низьких доз кадмію цитрату (наноаквахелатна форма кадмію) та кадмію хлориду ізольовано та в комбінації з цитратами цинку та селену на загальний хід ембріогенезу при внутрішньошлунковому введенні самицям щура у продовж всього терміну вагітності.

Об'єкт і методи дослідження. Експеримент проводився на молодих самицях щурів лінії Wistar (розплідник «Далі 2000», м. Київ).

Для дослідження можливої ембріотоксичної дії сполук кадмію самок вагою 170-200 г із стійким ритмом естрального циклу на стадіях проеструс і еструс парували з інтактними самцями за схемою 2:1. Перший день вагітності визначали за наявністю сперматозоїдів у піхвових мазках.

Самиць щурів з датованим терміном вагітності розподілили на 9 груп:

Контрольна (тварини отримували 0,9% NaCl)

Кадмію хлориду (отримувана доза 1,0 мг/кг)

Кадмію цитрату (отримувана доза 1,0 мг/кг)

Кадмію хлориду та цитрату цинку (отримувані дози 1,0 мг/кг та 1,5 мг/кг відповідно)

Кадмію цитрату та цитрату цинку (отримувані дози 1,0 мг/кг та 1,5 мг/кг відповідно)

Кадмію хлориду та цитрату селену (отримувані дози 1,0 мг/кг та 0,1 мг/кг відповідно)

Кадмію цитрату та цитрату селену (отримувані дози 1,0 мг/кг та 0,1 мг/кг відповідно)

Кадмію хлориду та композитного розчину йод+сірка+селен (цитрати) – (отримувані дози 1,0 мг/кг та 2,0 мг/кг відповідно).

Для проведення досліджень обрано низьку дозу солі кадмію, яка відображає реальну концентрацію в добових раціонах жінок, в тому числі вагітних промислового регіону.

Згідно загальноприйнятим інструкціям проведення експериментальних робіт, зазначені вище розчини сполук вводили самицям ентерально через зонд один раз на добу, в один і той же час, з 1-го по 19-й день вагітності. На 13-й та 20-й день вагітності проводили оперативний забій. Щурят вилучали з матки, перевіряли на тест «живі-мертві», зважували, фотографували та фіксували у 10% розчині формаліну для подальших досліджень.

Можливу негативну дію досліджуваної речовини (або комбінації) на ембріональний розвиток оцінювали за здатністю змінювати рівень показників ембріональної смертності та викликати зовнішні вади розвитку; загальний хід ембріогенезу оцінювали за наступними показниками: кількість ембріонів, кількість жовтих тіл вагітності в яєчниках самиць, відповідності ембріону стадії розвитку за загальноприйнятими критеріями ембріонального розвитку щурів, загальна, доімплантаційна та постімплантаційна смертність.

Ембріотоксичну дію досліджуваних речовин оцінювали за нижчепереліченими критеріями:

$$\text{Загальна ембріональна смертність} = \text{ЗСЕ} = \frac{B-A}{B}$$

де А – кількість живих плодів

В – кількість жовтих тіл вагітності

$$\text{Предімплантаційна смертність} = \text{ПІС} = \frac{B-(A+B)}{B}$$

де А – кількість живих плодів

Б – кількість загиблих (резорбованих) плодів

В – кількість жовтих тіл вагітності

$$\text{Постімплантаційна смертність} = \text{ПостІС} = \frac{B}{A+B}$$

де А – кількість живих плодів

Б – кількість загиблих (резорбованих) плодів

Кількість плодів на 1 самку

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики. Оцінку вірогідності відмінностей отриманих показників між групою контролю та інши-

ми групами в експерименті проводили за допомогою t-критерію Ст'юдента.

Дослідження виконувались у відповідності до принципів Хельсінкської декларації (2000 р.), Конвенції Ради Європи з прав людини та біомедицини (1997 р.), «Загальним етичним принципам експериментів над тваринами» (Київ, 2001 р.).

Результати дослідження та їх обговорення. Аналіз отриманих результатів продемонстрував різний ступень ембріотоксичності хлориду кадмію та цитрату кадмію в групах ізольованого впливу. Середній показник кількості живих плодів на одну самицю в групі хлориду кадмію на 13 добу вагітності був на 16,4% нижчим, ніж в групі контролю. Цей же показник в групі впливу хлориду кадмію на 20 добу вагітності був на 12,7% нижчим, ніж в відповідній групі контролю. В групі ізольованого впливу кадмію цитрату середні значення кількості ембріонів достовірно не відрізнялися від групи контролю, що свідчить про менш виражений ембріотоксичний вплив кадмію цитрату. Кількість жовтих тіл вагітності на 1 самицю в усіх піддослідних групах не мала достовірних відмінностей, що не суперечить літературним даним.

Показник загальної ембріональної смертності в групах кадмію хлориду перевищував контрольні значення у 3,16 рази ($p < 0,001$) на 13 добу та в 3 рази ($p < 0,001$) на 20 добу вагітності. В групах кадмію цитрату цей показник був у 2,35 рази вищий ($p < 0,05$), ніж в групі контролю на 13 добу вагітності та у 2,3 рази вищий ($p < 0,05$), ніж в групі контролю на 20 добу вагітності. Збільшення показників загальної ембріональної смертності обумовлено достовірним зростанням показника доімплантаційної смертності в групах кадмію хлориду (в 9 разів відносно контрольної групи на 13 добу вагітності ($p < 0,01$) та в 9,23 рази відносно контрольної групи на 20 добу вагітності ($p < 0,001$)). В групі кадмію цитрату цей показник достовірно перевищував показник доімплантаційної смертності в контрольній групі у 6 разів ($p < 0,05$) на 13 добу вагітності та у 7,7 рази ($p < 0,05$) на 20 добу вагітності. Показники постімплантаційної смертності груп кадмію цитрату та кадмію хлориду достовірно не відрізнялись від групи контролю (**рис. 1, 2**). Такі дані свідчать про ембріотоксичний вплив солей кадмію при їх внутрішньо шлунковому введенні в зазначених дозах.

На 13 добу ембріогенезу в порівнянні до всіх експериментальних груп показник загальної ембріональної смертності найвищий спостерігався в групі ізольованої інтоксикації хлоридом кадмію (**рис. 1**). Найнижчий показник визначався в групі комбінованого впливу кадмію цитрату та цитрату цинку і дорівнював $11,24 \pm 2,16$ за рахунок зниження доімплантаційної ембріональної смертності. В групах комбінованого введення кадмію хлорид + цитрат селену та кадмію хлорид + цитрат цинку показники загальної ембріональної смертності були співпадаючими і дорівнювали $12,07 \pm 2,48$, хоча доімплантаційна смертність була вищою в групі комбінації кадмію та цитрату селену ($0,09 \pm 0,02$ проти $0,07 \pm 0,02$).

На 20 добу ембріогенезу визначалось збільшення показника середніх значень кількості ембріонів в наступних групах комбінованого введення: кадмію хлорид+цитрат селену ($9,00 \pm 0,35$), кадмію хлорид+цитрат цинку ($9,00 \pm 0,20$), кадмію

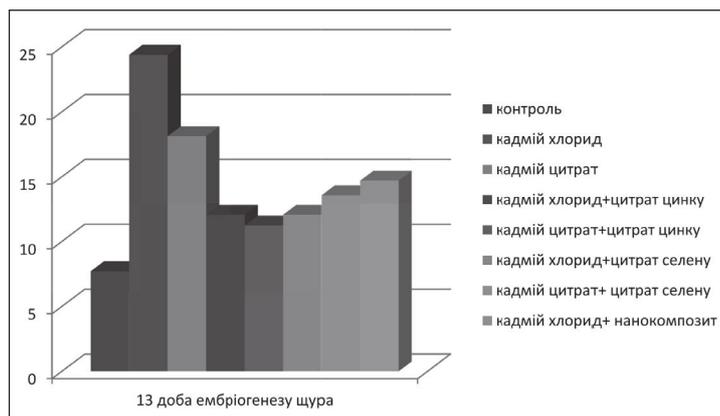


Рис. 1. Показники загальної ембріональної смертності в контрольній та експериментальних групах на 13 добу ембріогенезу.

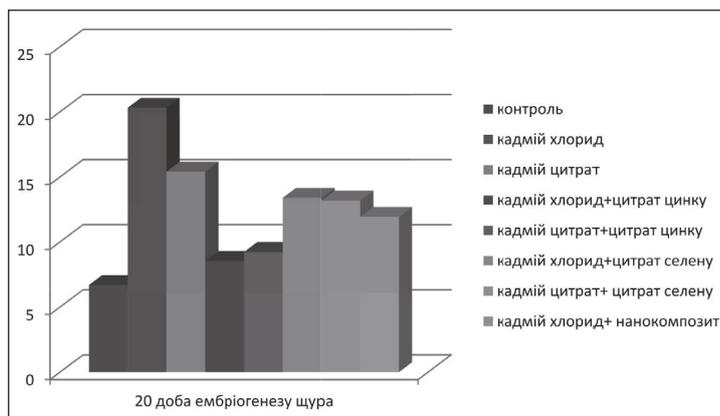


Рис. 2. Показники загальної ембріональної смертності в контрольній та експериментальних групах на 20 добу ембріогенезу.

хлорид+нанокомпозит йод, сірка, селен ($9,00 \pm 0,29$). Підвищення кількості ембріонів в посліді забезпечувалось зниженням доімплантаційної та післяімплантаційної смертності ембріонів.

В групі комбінованого введення кадмію хлориду + цитрат цинку показники загальної ембріональної

смертності на 20 добі розвитку ембріону були найнижчими і становили $8,55 \pm 2,27$ за рахунок достовірного зниження післяімплантаційної смертності до $0,05 \pm 0,02$. На цьому терміні розвитку даний показник в групі ізолюваного введення хлориду кадмію становив $0,12 \pm 0,01$ (рис. 2).

В групі комбінованого впливу цитрату кадмію та цитрату цинку на 20 добі показник загальної ембріональної смертності недостовірно відрізнявся від групи впливу хлориду кадмію+цитрат цинку і дорівнював $9,23 \pm 1,46$ при зниженні доімплантаційної смертності до значень $0,04 \pm 0,02$.

Найвищий показник загальної ембріональної смертності в групах комбінованого впливу кадмію хлориду + цитрат селену, який дорівнював $13,40 \pm 2,27$. В даній групі зберігається високий показник доімплантаційної смертності: $0,10 \pm 0,02$, а післяімплантаційна смертність ембріонів залишається на невисокому рівні, не перевищує контрольні показники і дорівнює $0,04 \pm 0,02$.

Такі дані свідчать про компенсаторний вплив цитратів цинку, селену та композиту йод, сірка, селен на ембріотоксичність сполук кадмію при їх комбінованому введенні у щурів.

Висновки. Комбіноване введення цитратів селену, цинку, нанокомпозиту (цитратів йоду, селену, сірки) дозволяє знизити ембріотоксичний ефект солей кадмію, що виражається в збільшенні кількості ембріонів в посліді та зниженні загальної ембріональної смертності в експерименті на щурах.

Перспективи подальших досліджень. На наш погляд, досить перспективним є подальші гістологічні дослідження можливих змін в органогенезі ембріонів щура під впливом досліджуваних чинників.

Література

1. Bel'mer SV, Gasilina TV. Mikroelementy i mikroelementozy i ikh znachenije v detskom vozraste. Voprosy sovremennoy pediatrii. 2008;7(6):91-6. [in Russian].
2. Loboda AM. Mikroyelementni porushennya u ditey. Sovremennaya pediatriya. 2009;1(23):81-92. [in Ukrainian].
3. Avtsyn AP, Zhavoronkov AA, Rish MA. Mikroelementozy cheloveka. Moskva; 1991. 496 s. [in Russian].
4. Trakhtenberg IM, Kolesnikov SV, Lukovenko VP. Tyazhelye metally vo vneshney srede. Sovremennyye gigiyenicheskiye i toksikologicheskiye aspekty. Minsk; 1994. 123 s. [in Russian].
5. Krebs NE, Hambidge KM. Zinc metabolism and homeostasis: the application of tracer techniques to human zinc physiology. Biometals. 2001;14(3):397-412.
6. Golubkina NA, Skal'nyy AV. Selen v meditsine i ekologii. Moskva; 2002. 216 s. [in Russian].

ВПЛИВ НИЗЬКИХ ДОЗ КАДМІЮ ЦИТРАТУ ТА КАДМІЮ ХЛОРИДУ НА ПОКАЗНИКИ ЕМБРІОГЕНЕЗУ ЩУРІВ ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ ЦИТРАТАМИ ЦИНКУ ТА СЕЛЕНУ

Нефьодова О. О., Задесенець І. П.

Резюме. В роботі експериментально визначали вплив солей кадмію хлориду та кадмію цитрату (у дозі 1,0 мг/кг) на загальний хід ембріогенезу при ізолюваному введенні та в комбінації з цитратами цинку та селену при внутрішньошлунковому введенні впродовж всього періоду вагітності у щурів. Можливу ембріотоксичну дію досліджуваних речовин оцінювали за наступними показниками: загальна ембріональна смертність, доімплантаційна смертність, постімплантаційна смертність, кількість живих плодів на 1 самицю.

Найбільш виражену ембріотоксичну дію ми спостерігали в групі ізолюваного введення кадмію хлориду. Кадмію цитрат продемонстрував нижчі ембріотоксичні властивості у порівнянні з групою кадмію хлориду при використанні однакової дози та способу введення в експерименті на щурах.

Комбіноване введення хлориду та цитрату кадмію з цитратами цинку, селену, та композитного розчину виражено знижує ембріотоксичний ефект кадмію, що проявляється в збільшенні кількості живих ембріонів, зменшенні доімплантаційної та постімплантаційної смертності.

Ключові слова: ембріотоксичність, кадмій, селен, цинк, цитрати металів.

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ДОЗ КАДМИЯ ЦИТРАТА И КАДМИЯ ХЛОРИДА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЭМБРИОГЕНЕЗА КРЫС В УСЛОВИЯХ КОРРЕКЦИИ ЦИТРАТАМИ ЦИНКА И СЕЛЕНА

Нефедова Е. А., Задесенец И. П.

Резюме. В работе экспериментально определяли влияние солей кадмия хлорида и кадмия цитрата (в дозе 1,0 мг/кг) на общий ход эмбриогенеза изолированно и в комбинации с цитратами цинка и селена при внутрижелудочном введении в течение всего периода беременности у крыс. Возможное эмбриотоксическое действие исследуемых веществ оценивали по следующим показателям: общая эмбриональная смертность, доимплантационная смертность, постимплантационная смертность, количество живых плодов на 1 самку.

Наиболее выраженное эмбриотоксическое действие мы наблюдали в группе изолированного введения кадмия хлорида. Кадмия цитрат продемонстрировал менее выраженные эмбриотоксические свойства по сравнению с группой кадмия хлорида при использовании одинаковой дозы и способа введения в эксперименте на крысах.

Комбинированное введение хлорида и цитрата кадмия с цитратами цинка, селена, и композитного раствора выражено снижает эмбриотоксический эффект кадмия, что проявляется в увеличении количества живых эмбрионов, уменьшении доимплантационной и постимплантационной смертности.

Ключевые слова: эмбриотоксичность, кадмий, селен, цинк, цитраты металлов.

THE EFFECT OF LOW DOSES OF CADMIUM CITRATE AND CADMIUM CHLORIDE ON THE INDICATORS OF EMBRYOGENESIS OF RATS UNDER CONDITIONS OF CORRECTION OF ZINC AND SELENIUM CITRATES

Nefodova O. O., Zadesenets I. P.

Abstract. Insufficiency, as well as the excess of trace elements in the environment, can lead to diseases. This condition is known as microelementosis, which can be exogenous, endogenous, technogenic and treatment-associated. Disturbance of the balance of trace elements is especially critical during a period of rapid development – namely during pregnancy and childhood. At present, the problem of pollution of the environment with heavy metals, namely cadmium, lead and mercury, is particularly relevant as they can significantly affect the many important processes in the human body.

Since direct modeling of embryogenesis violations under the influence of cadmium compounds in humans and ways of correction of the latter is not possible, scientists apply induced experimental models. By their help determine the spectrum of morphogenetic violations during embryogenesis. At present, the actual direction of morphological experimental research is the study of the influence of cadmium chloride and cadmium citrate on the overall course of embryogenesis.

The purpose of the study was to experimentally determine the effect of low doses of cadmium citrate (nano-aquahelate form of cadmium) and cadmium chloride isolated and in combination with citrates of zinc and selenium on the overall course of embryogenesis with intragastric administration to female rats throughout the entire period of pregnancy.

To simulate the effects of cadmium compounds of citrate and cadmium chloride, all rats were divided into 8 groups: the first one was control (animals received 0.9% NaCl). Group 2 received cadmium chloride (dose 1.0 mg/kg); Group 3 received cadmium citrate (dose 1.0 mg/kg); Group 4 received cadmium chloride and zinc citrate (doses of 1.0 mg/kg and 1.5 mg/kg, respectively); Group 5 received cadmium citrate and zinc citrate (doses of 1.0 mg/kg and 1.5 mg/kg respectively); Group 6 received cadmium chloride and selenium citrate (doses of 1.0 mg/kg and 0.1 mg/kg, respectively); Group 7 received cadmium citrate and selenium citrate (doses of 1.0 mg/kg and 0.1 mg/kg respectively); Group 8 received cadmium chloride and composite solution iodine + sulfur + selenium (citrates) – (doses of 1.0 mg/kg and 2.0 mg/kg respectively).

The animals were in a standard diet for pregnant female rats, and they received water ad libitum. All, mentioned above, solutions of compounds were administered to the female rats enterally through the probe once a day, at the same time from the 1st to the 19th day of pregnancy. On the 13th and 20th day of pregnancy an operative slaughter was performed.

The potential negative effect of the test substance (or combination) on embryonic development was evaluated by the following indicators: the number of live embryos per female, total, preimplantation and post-implantation mortality. The most pronounced embryotoxic activity was observed in the group of isolated introduction of cadmium chloride. Cadmium citrate has demonstrated lower embryotoxic properties compared to a cadmium chloride group at the same dose and method of administration in rats.

Combined administration of chloride and cadmium citrate with citrates of zinc, selenium, and composite solution significantly reduces the embryotoxic effect of cadmium, which manifests itself in the increased number of live embryos, reduction of preimplantation and post-implantation mortality.

Key words: embryotoxicity, cadmium, selenium, zinc, metal citrates.

*Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.
Стаття надійшла 22.01.2019 року*