

CHANGES IN CARADIOGENESIS UNDER THE INFLUENCE OF GERMANIUM AND CERIUM CITRATES ON THE BASIS OF CADMIUM INTOXICATION IN RATS

Nefodova O. O., Halperin O. I., Nefodov O. O.

Abstract. *The aim of the study was to experimentally determine the effect on the cardiogenesis of germanium or cerium citrates under conditions of chronic intoxication of females with cadmium salts in rats. Experimental studies were performed on female Wistar rats. To simulate the effects of cadmium chloride throughout pregnancy, female Wistar rats were daily administered per os via an aqueous solution of cadmium chloride or cadmium citrate at a dose of 1.0 mg/kg alone and in combination with cerium/germanium citrate. Embryonic hearts were examined on the 13th and 20th days of embryogenesis and on the 10th day of postnatal development.*

An increase in the cardiofetal index in the group exposed to cadmium chloride indicates an increase in the weight of the heart in the group with a decrease in body weight of the embryo due to intoxication. Microscopically detected in 12.3% of atrial endocardial hyperplasia and in 26-29% led to changes in the formation of the ventricular wall of embryos: thickening of both compact and trabecular layers of the myocardium and the formation of abnormal trabeculae.

As shown by the results of morphometric studies in embryos of the 13th day surviving cadmium salts, the following changes occur in the development of the heart chambers: cadmium chloride provokes an increase in the thickness of the atria, ventricles and interventricular septum, and the action of cadmium citrate increases the thickness of the atria. has a significant difference with the studied indicators of the control group.

At the end of embryogenesis (20th day), the introduction of cadmium chloride to pregnant females leads to a significant thickening of the ventricular wall: 2.13 times in the middle part of the ventricular wall, and the basal and apical parts increased 1.20 times. The effect of cadmium citrate had the opposite direction and led to thinning of the walls of the ventricles and atria.

Combined administration of germanium and cerium citrates with cadmium salts was determined by modifying the effect of citrates on cardiotoxicity of cadmium. In the groups of combined administration of germanium/cerium citrates on the background of cadmium intoxication, different directions of changes in heart weight and embryos were determined. In the group of cadmium chloride + cerium citrate administration, the cardiofetal index did not have a significant difference with the control, and under the influence of cadmium chloride with germanium citrate there was a tendency to increase heart weight as in the group of isolated exposure to cadmium chloride. The decrease in heart weight occurred in the group of isolated administration of cadmium citrate, and in the groups of combination with metal citrates, the heart weight increased significantly, which led to an increase in the cardiofetal index in these groups.

Morphometric studies of the hearts of 10-day-old rats in the isolated cadmium salts group showed that despite the cessation of cadmium salts after birth, the anatomical structure of the heart remained different from the changes in cadmium citrate and chloride in embryos. In the groups of combined administration of cadmium salts with germanium/cerium citrates, the studied heart parameters differed insignificantly from the control values, which indicates a modifying effect of cerium and germanium citrates on the cardiotoxicity of cadmium when combined in a rat experiment.

Key words: cardiogenesis, ventricle, atria, cadmium, germanium citrate, cerium citrate, rat embryo.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 07.05.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-2-156-280-286

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

Нефьодова О. О., Задесенець І. П., Демиденко Ю. В., Мальчугін Р. К.

**ВПЛИВ СОЛЕЙ КАДМІЮ НА РОЗВИТОК СУДИН ТА ПРЕДСЕРДНО-ШЛУНОЧКІВ
КЛАПАНІВ СЕРЦЯ ЩУРІВ ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ ЦИТРАТОМ СЕЛЕНУ**

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпро)

elenanefedova1803@gmail.com

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

Вступ. Зростаюче забруднення навколишнього середовища промислово розвинутих країн вимагає вивчення впливу екологічних факторів на стан здоров'я людини. Одними з найбільш розповсюджених і небезпечних забрудників довкілля є важкі метали. Останні, потрапляючи до організму людини, призводять до гострих та відтермінованих ускладнень,

змінюють баланс мікроелементних систем, перебіг захворювань, вагітності, спричиняють вади розвитку [1,2,3].

Разом із свинцем, ртуттю та арсенієм, кадмій належить до групи важких металів, що становлять серйозну небезпеку для здоров'я. Кадмій – це один з небагатьох токсичних металів, що не має відомих фізіологічних функцій в організмі. Він є токсичним при дуже низьких рівнях, чинить гострий і хронічний вплив на здоров'я. Кадмій накопичується в організмі людини впродовж всього життя та має довгий біологічний період напіврозпаду (від 17 до 30 років) [4]. Дослідження морфологічних змін, що виникають під впливом кадмію як в постнатальному так і в прена-

тальному періоді онтогенезу, є важливою задачею для вчених. У зв'язку з науково-технічним прогресом з'явилися сполуки важких металів з різними фізичними та хімічними властивостями (нанометали). Їх вплив на організм має відмінності у порівнянні з іонними формами [5,6,7].

Есенціальний мікроелемент селен (Se) має вирішальне значення для багатьох біологічних функцій, включаючи метаболізм гормонів щитоподібної залози, захисну антиоксидантну систему організму, адаптивний та набутий імунітет та профілактику деяких видів раку. Селенопротеїни та їх баланс є важливими ланками перебігу серцево-судинних захворювань. В багатьох дослідженнях підкреслюється значення рівня селену в сироватці крові для розвитку серцево-судинної патології [8,9,10].

Незважаючи на те, що потенційна роль селену у розвитку та прогресуванні серцево-судинних захворювань досліджується десятиліттями, результати впливу селену на стан серцево-судинної системи є досить суперечливими та залежать від дози, балансу цього елементу в організмі, часу експозиції. Надлишкове та недостатнє надходження Se можуть погіршувати перебіг захворювань серця та судин [10].

Враховуючи вищезазначене, а також наявність робіт в яких були використані сполуки селену за умов впливу солей кадмію, було вирішено використовувати цитратну форму селену в якості потенційного біологічного антагоністу на тлі кадмієвої інтоксикації [8,10,11].

Пошук антагоністів, що зменшують токсичний вплив кадмію є пріоритетним напрямком досліджень [12,13].

Мета дослідження. Дослідити вплив солей кадмію на розвиток судин та передсердно-шлуночкових клапанів та накопичення у серці ембріонів щурів при ізолюваному введенні та в комбінації з цитратом селену.

Об'єкт і методи досліджень. Для моделювання хронічного токсичного впливу при експозиції кадмієм протягом всієї вагітності самицям щурів лінії Wistar щодня per os через зонд вводили цитрат кадмію або хлорид кадмію ізолювано (в дозі – 1,0 мг/кг) або в комбінації з цитратом селену. Обрана доза кадмієвмісних сполук відповідає 1/100 LD50 за кадмієм [14].

В експериментальній моделі були використані розчини цитрату кадмію та селену, отриманих за аквананотехнологічною методикою [7].

Розчини цитратних форм металів (кадмію та селену) були отримані згідно договору про наукову співпрацю в Науково-дослідному інституті нанобіотехнологій та ресурсозбереження України (м. Київ).

У відповідності до вимог проведення ембріональних експериментів вагітним самицями щура було забезпечено повноцінний харчовий раціон, воду для пиття і ретельний догляд. Внутрішньошлунокове введення розчинів металів проводили з першого дня вагітності щоденно в один і той же час доби (з 9 до 11 години).

Самиць щурів з датованим терміном вагітності розподілили на 5 груп:

1. Контрольна (тварини отримували 0,5 мл 0,9% розчину NaCl). Кількість самиць – n=8; кількість ембріонів – n=71.

2. Кадмію хлориду (отримувана доза 1,0 мг/кг). Кількість самиць – n=8; кількість ембріонів – n=62.

3. Кадмію цитрату (отримувана доза 1,0 мг/кг). Кількість самиць – n=8; кількість ембріонів – n=68.

4. Кадмію хлориду та цитрату селену (отримувані дози 1,0 мг/кг та 0,1 мг/кг відповідно). Кількість самиць – n=8; кількість ембріонів – n=71.

5. Кадмію цитрату та цитрату селену (отримувані дози 1,0 мг/кг та 0,1 мг/кг відповідно). Кількість самиць – n=8; кількість ембріонів – n=72.

Для ембріонального дослідження отримували самиць з датованим терміном вагітності. На 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 подальшого гістологічного дослідження. Після фіксації у 20-денних ембріонів щура виділяли серце. З ізолюваних сердець за стандартною гістологічною методикою виготовлялися зрізи товщиною 4-6 мкм (фарбування гематоксилін-еозин) для подальших морфометричних досліджень.

Частина 20-ти денних ембріонів усіх піддослідних груп заморожувалась для вимірювання накопичення кадмію та цинку в органокомплексах грудної порожнини за допомогою методу атомної емісії з електродуговою атомізацією. Дослідження проводилося у Державному підприємстві «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту» Міністерства охорони здоров'я України (м. Одеса) згідно договору про науково-технічне співробітництво (2018 р.).

Для отримання цифрових зображень з подальшим обчисленням розмірів структур використовувалася камера для світлової мікроскопії ZEISS AxioCam ERc 5s з адаптером P95-C 1/2» 0,5x.

Визначення розмірів структур серця проводили за допомогою програми ZEN 2.0, що є програмним забезпеченням для світлових мікроскопів серії Primo Star компанії ZEISS. Ми використовували програмні інструменти для вимірювання лінійних розмірів структур.

На гістологічних зрізах серця ембріонів щура 20-ї доби розвитку в усіх групах нами вимірювались:

1) середня ширина стулок передсердно-шлуночкових клапанів в середній третині (мкм), $M \pm m$;

2) середні внутрішні діаметри супекікардіальних судин та міокардіальних судин компактного міокарду в середній частині обох шлуночків на ідентичних зрізах ембріонального серця;

3) середній внутрішній діаметр коронарних артерій у проксимальній частині (мкм), $M \pm m$.

Статистичне опрацювання та аналіз результатів виконані за загальноприйнятими методиками з використанням ліцензійних програм статистичного аналізу Statistica v.6.1 та Microsoft Excel. Оцінку достовірності статистичних досліджень проводили за допомогою t-критерію Стюдента. Відмінності між групами вважалися достовірними при значенні $p < 0,05$.

Дослідження на тваринах проводили у віварію ДМА відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), які узгоджуються з Європейською конвенцією про захист експериментальних тварин (Страсбург, 1985).

Результати дослідження та їх обговорення. Всі самиці в експерименті вижили. Вади розвитку ембрі-

онів були відсутніми. Ізольований вплив кадмію хлориду призводив до зменшення внутрішнього діаметру судин міокарду на тлі потовщення стінок судин та вираженого периваскулярного набряку. Відбувалося розширення субепікардіальних судин (див. табл. 1).

Таблиця 1 – Середній внутрішній діаметр судин серця ембріонів щура на 20-й добі ембріонального розвитку, (мкм), $M \pm m$

Контроль	Лівий шлуночок	Правий шлуночок
Субепікардіальні судини	47,31 $\pm$ 3,17	48,73 $\pm$ 2,61
Міокардіальні судини	38,83 $\pm$ 2,19	38,69 $\pm$ 2,06
Кадмію хлорид	Лівий шлуночок	Правий шлуночок
Субепікардіальні судини	72,84 $\pm$ 2,89 ***	89,22 $\pm$ 3,49 ***
Міокардіальні судини	27,83 $\pm$ 1,71 ***	33,32 $\pm$ 1,66 *
Кадмію цитрат	Лівий шлуночок	Правий шлуночок
Субепікардіальні судини	33,06 $\pm$ 2,06***,###	36,51 $\pm$ 2,84 **,###
Міокардіальні судини	31,83 $\pm$ 2,07 *	47,28 $\pm$ 1,9 **,###
Кадмію хлорид + селену цитрат	Лівий шлуночок	Правий шлуночок
Субепікардіальні судини	68,68 $\pm$ 3,15 ***	76,04 $\pm$ 3,19 ***,##
Міокардіальні судини	31,07 $\pm$ 1,93 **	33,12 $\pm$ 1,78 *
Кадмію цитрат + селену цитрат	Лівий шлуночок	Правий шлуночок
Субепікардіальні судини	65,56 $\pm$ 2,88 ***,@@@	67,88 $\pm$ 3,35 ***,@@@
Міокардіальні судини	39,86 $\pm$ 1,59 @@	41,34 $\pm$ 1,83 @

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; по відношенню до контролю. # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$; по відношенню до групи кадмію хлориду; @ – $p < 0,05$; @@ – $p < 0,01$; @@@ – $p < 0,001$; по відношенню до групи кадмію цитрату.

В шлуночках серця ембріонів групи впливу цитрату кадмію визначалась звивистість субепікардіальних судин. Також в цій групі нами спостерігалась велика кількість субепікардіальних судин, серед яких зустрічались поодинокі судини зі збільшеним внутрішнім діаметром та зі збільшеним кровонаповненням у порівнянні з групою контролю і велика кількість судин малого діаметру.

Для з'ясування компенсаторних можливостей цитрату селену по відношенню до солей кадмію, ми порівнювали групи комбінованого введення з відповідними групами ізольованого впливу та контролем. Тобто, результати, отримані для групи кадмію хлорид + селену цитрат ми порівнювали з групами контролю та ізольованого введення кадмію хлориду.

В групі кадмію хлориду відбувалося достовірне збільшення середнього внутрішнього діаметру субепікардіальних судин у 1,54 та 1,83 рази в лівому та правому шлуночку відповідно у порівнянні до групи контролю ($p < 0,001$). В групі кадмію цитрату відбувалось достовірне зменшення показника середнього внутрішнього діаметру судин у 1,43 ($p < 0,001$) та 1,33 рази ($p < 0,01$) відповідно у лівому та правому шлуночках у порівнянні до групи контролю.

В групі кадмію хлориду отримано достовірне зменшення середнього діаметру міокардіальних судин у 1,4 рази ($p < 0,001$) та на 16% ($p < 0,05$) у лівому та правому шлуночках відповідно у порівнянні до групи контролю. В групі кадмію цитрату середній діаметр міокардіальних судин був на 22% менше аналогічного показника групи контролю у лівому шлуночку ($p < 0,001$). Середній внутрішній діаметр міокардіальних судин правого шлуночку достовірно був більшим майже в 1,5 рази від аналогічного показника цієї ж групи ($p < 0,001$). Також міокардіальні судини правого шлуночку групи кадмію цитрату були на 22% більшими за групу контролю ($p < 0,01$) та в 1,42 рази більшими при порівнянні з групою кадмію хлориду ($p < 0,001$).

За результатами експерименту в групі $CdCl_2$ + Se цитрат ми отримали середні показники внутрішніх діаметрів судин, що були наближені до значень групи ізольованого введення кадмію хлориду та не мали достовірних відмінностей з останньою. Лише для субепікардіальних судин правого шлуночка ми отримали достовірне збільшення в 1,56 рази у порівнянні з групою контролю ($p < 0,001$) та зменшення 17,3% у порівнянні з групою ізольованого введення ($p < 0,01$).

Отримані дані щодо здатності цитрату селену впливати на зміни показників внутрішніх діаметрів судин міокарду щура 20-ї доби розвитку на тлі інтоксикації хлоридом кадмію у обраних дозах виглядають сумнівно. Адже достовірні відмінності з групою ізольованого введення були отримані лише для одного з чотирьох показників внутрішніх діаметрів судин.

Розглядаючи вплив цитрату селену на тлі інтоксикації цитратом кадмію нами були отримані наступні дані: середній внутрішній діаметр субепікардіальних судин лівого шлуночка був на 38,5% більше аналогічного показника групи контролю ($p < 0,001$) та в 2,06 рази більше аналогічного показника групи кадмію цитрату ($p < 0,001$).

Середній внутрішній діаметр субепікардіальних судин правого шлуночка був на 39,3% більше аналогічного показника групи контролю Cd цитрат + Se цитрат та в 1,86 рази більше аналогічного показника групи ізольованого введення кадмію цитрату ($p < 0,001$). Цікавим є той факт, що при ізольованому введенні кадмію цитрат призводив до достовірного звуження субепікардіальних та міокардіальних судин у порівнянні з групою контролю, а в групі Cd цитрат + Se цитрат було отримано протилежний ефект, що був достовірно вище за показники контрольної групи.

Середній внутрішній діаметр міокардіальних судин лівого шлуночка групи Cd цитрат + Se цитрат був на 25,2% більшим аналогічного показника групи ізольованого введення кадмію цитрату ($p < 0,001$) та не мав достовірних відмінностей із групою контролю.

Середній внутрішній діаметр міокардіальних судин правого шлуночка групи Cd цитрат + Se цитрат був на 14,4% меншим аналогічного показника групи ізольованого введення кадмію цитрату ($p < 0,05$) та не мав достовірних відмінностей із групою контролю.

Статистичне порівняння внутрішніх діаметрів коронарних судин ембріонів щура 20-ї доби розвитку у групах комбінованого ізолюваного та введення наведено в таблиці 2.

Таблиця 2 – Середній внутрішній діаметр коронарних артерій ембріонів щура на 20-й добі ембріонального розвитку, (мкм), $M \pm m$

	Ліва	Права
Контроль	47,62 $\pm$ 2,07	45,56 $\pm$ 2,01
Кадмію хлорид	55,56 $\pm$ 2,3 *	56,45 $\pm$ 2,25 ***
Кадмію цитрат	46,82 $\pm$ 1,86 ##	51,14 $\pm$ 1,8 *
CdCl ₂ + Se цитрат	53,41 $\pm$ 1,8 *	53,54 $\pm$ 1,62 **
Cd цитрат + Se цитрат	48,63 $\pm$ 1,44	47,03 $\pm$ 1,42

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; по відношенню до контролю; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$; по відношенню до групи кадмію хлориду; @ – $p < 0,05$; @@ – $p < 0,01$; @@@ – $p < 0,001$; по відношенню до групи кадмію цитрату.

В групі CdCl₂ + Se цитрат коронарні артерії мали достовірно збільшений внутрішній діаметр у порівнянні з групою контролю та не мали достовірних відмінностей з групою ізолюваного введення. Внутрішній діаметр лівої коронарної артерії в групі CdCl₂ + Se цитрат був на 12,2% більшим у порівнянні з контролем ($p < 0,05$). Внутрішній діаметр правої коронарної артерії в групі CdCl₂ + Se цитрат був на 17,5% більшим у порівнянні з контролем ($p < 0,05$). Що може свідчити про відсутність компенсаторного впливу цитрату селену на вищезазначений параметр за умов інтоксикації хлоридом кадмію. Коронарні артерії залишилися достовірно розширеними.

В групі Cd цитрат + Se цитрат середній показник внутрішнього діаметру коронарних артерій не мав достовірних відмінностей ні з групою контролю, ні з групою ізолюваного введення кадмію цитрату.

Результати отриманих вимірювань середньої частини стулок передсердно-шлуночкових (ПШК) клапанів та їх статистичний аналіз наведені нижче (табл. 3).

В групі CdCl₂ + Se цитрат товщина середньої частини внутрішньої стулки лівого ПШК була на 37,5% менше у порівнянні з групою контролю ($p < 0,001$) та майже в два рази більшою у порівнянні з групою ізолюваного введення кадмію хлориду ($p < 0,001$). Для

Таблиця 3 – Середній показник товщини середньої частини внутрішніх стулок мітрального та трикуспідального клапанів серця ембріонів щура на 20-й добі ембріонального розвитку в експерименті, (мкм), $M \pm m$

Групи	Мітральний клапан	Трикуспідальний клапан
Контроль	52,58 $\pm$ 3,01	43,84 $\pm$ 2,82
Кадмію хлорид	19,18 $\pm$ 1,46 ***	24,26 $\pm$ 2,04 ***
Кадмію цитрат	69,87 $\pm$ 4,28 **,###	59,72 $\pm$ 3,46 ***,###
CdCl ₂ + Se цитрат	38,24 $\pm$ 2,26 ***,###	40,92 $\pm$ 1,73 ###
Cd цитрат + Se цитрат	82,63 $\pm$ 3,73 ***,@	76,44 $\pm$ 4,94 ***,@@

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; по відношенню до контролю; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$; по відношенню до групи кадмію хлориду; @ – $p < 0,05$; @@ – $p < 0,01$; @@@ – $p < 0,001$; по відношенню до групи кадмію цитрату.

правого ПШК цієї ж групи товщина середньої частини стулки була в 1,69 рази більше у порівнянні з групою кадмію хлориду.

В групі Cd цитрат + Se цитрат було отримано суттєве потовщення середньої частини стулок обох ПШК, що достовірно перевищувало показники контрольної групи та групи ізолюваного введення кадмію цитрату. Товщина середньої частини внутрішньої стулки лівого ПШК була в 1,57 рази більшою у порівнянні з групою контролю ($p < 0,001$) та на 18,3% більшою у порівнянні з групою цитрату кадмію ($p < 0,05$).

Товщина середньої частини внутрішньої стулки правого ПШК була в 1,74 рази більшою у порівнянні з групою контролю ($p < 0,001$) та на 28% більшою у порівнянні з групою цитрату кадмію ($p < 0,05$).

Вивчаючи накопичення кадмію та цинку в серцях ембріонів за методом атомної емісії з електродуговою атомізацією виявили зміни накопичення досліджуваних мікроелементів (див. табл. 4).

Таблиця 4 – Накопичення кадмію та цинку в серці ембріонів щура на 20-й добі ембріогенезу в експерименті (мкг/г)

Група	Цинк	Кадмій
контроль	6,04 $\pm$ 0,27	0,00046 $\pm$ 0,000024
Кадмію хлорид	14,36 $\pm$ 0,43 ***	0,00096 $\pm$ 0,000047 ***
Кадмію цитрат	4,62 $\pm$ 0,35 **,###	0,0052 $\pm$ 0,00033 ***,###
Кадмію хлорид + селену цитрат	10,12 $\pm$ 0,64 ***,###	0,00053 $\pm$ 0,000044 ###
Кадмію цитрат + селену цитрат	7,63 $\pm$ 0,4 **,###,@@@	0,00212 $\pm$ 0,00017 ***,###,@@@

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; по відношенню до контролю; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$; по відношенню до групи кадмію хлориду; @ – $p < 0,05$; @@ – $p < 0,01$; @@@ – $p < 0,001$; по відношенню до групи кадмію цитрату.

В групі введення кадмію хлориду середній показник накопичення кадмію дорівнював 0,00096 $\pm$ 0,000047 мкг/г, тобто вдвічі перевищував контрольні значення ($p < 0,001$). Введення хлориду кадмію збільшувало середній вміст цинку до 14,36 $\pm$ 0,43 мкг/г ($p < 0,001$) у серці ембріонів щура 20-ї доби розвитку. Ізолюване введення кадмію цитрату призводило до збільшення накопичення кадмію в серці ембріонів щура до 0,0052 $\pm$ 0,00033 мкг/г, що в 11,3 разів перевищувало контрольні значення ($p < 0,001$).

В групі комбінованого впливу хлорид кадмію+цитрат селену вміст кадмію в серцях ембріонів 20-ї доби розвитку складав 0,00053 $\pm$ 0,000044 мкг/г, та не мав достовірних відмінностей з групою контролю. При порівнянні накопичення кадмію з групою ізолюваного введення кадмію хлориду було отримано зниження цього показника в 1,81 рази ($p < 0,001$).

Накопичення кадмію в групі цитратів кадмію та селену було відносно високим, однак, при порівнянні з аналогічним показником в групі ізолюваного введення кадмію цитрату цей показник був менше у 2,45 рази у порівнянні з групою кадмію цитрату ($p < 0,001$), та в 2,21 рази вище, ніж в групі кадмію хлориду ($p < 0,001$), а також в 4,61 рази перевищувало аналогічний показник групи контролю ($p < 0,001$). Такі показники свідчать про відмінність у ступені проникнення цитрату кадмію та хлориду кадмію до організ-

му щурячого ембріону, а також про кардіотропність зазначених сполук. Також ми отримали достовірні дані щодо здатності цитрату селену зменшувати накопичення кадмію у серці ембріону щура як в формі хлориду так і в формі цитрату.

Отримано розподілення цинку в серці ембріонів щура в групах кадмію хлориду та цитрату селену було на 67,5% вище ($p < 0,001$), ніж в групі контролю та в 1,88 рази нижче ($p < 0,001$) у порівнянні з групою кадмію хлориду, що свідчить про вплив на розподілення цинку у серці ембріонів щурів при одночасному використанні зазначених сполук з кадмію хлоридом. В групі цитратів кадмію та селену цей показник був вище на 26,3% відсотки, ніж в групі контролю ($p < 0,01$) та на 63% більше, ніж в групі кадмію цитрату ($p < 0,001$).

Взаємодія цитратних форм важких металів, що проявляють антагоністичні властивості потребує подальшого вивчення. На нашу думку, механізм накопичення цитратних форм кадмію та селену має відмінності від їх іонних форм.

Висновки. Резюмуючи вищезазначене, що, не дивлячись на використання тотожних доз різних

солей кадмію в піддослідних групах, як сполук з токсичними властивостями, нами були отримані різні дані для цитратної та іонної форми кадмію, що свідчить про відмінний механізм токсичної дії цих форм кадмію. Селену цитрат продемонстрував суперечливі дані щодо впливу на кардіотоксичні властивості солей кадмію. Зміни товщини ПШК, внутрішнього діаметру міокардіальних та субепікардіальних судин, коронарних артерій залежали від форми кадмію, що вводилась. Зазначені показники наближались до значень груп ізольованого впливу солей кадмію, контролю, та, навіть, суттєво перевищували останні. Комбіноване введення цитратів селену та солей кадмію по різному впливало на накопичення кадмію та цинку в серці ембріонів щурів. Враховуючи вище сказане, ми вважаємо, що взаємодія цитратних форм важких металів *in vivo* потребує подальшого вивчення.

Перспективи подальших досліджень. Селену цитрат потребує подальших досліджень, враховуючи суперечливий характер впливу по відношенню до сполук кадмію. Його токсикологічний профіль потребує поглибленого вивчення.

Література

1. Skalny AV. Otsenka i korrektsiya elementnogo statusa naseleniya – perspektivnoye napravleniye otechestvennogo zdoravookhraneniya i ekologicheskogo monitoringa. Mikroelementy v meditsine. 2018;19(1):5-13. [in Russian].
2. Nefedova OO, Zadesenets IP. Vplyv vazhkykh metaliv na morfofunktsional'nyy stan sertsya (ohlyad literatury). Visnyk problem biolohiyi i medytsyny. 2018;2(143):31-5. [in Ukrainian].
3. Trakhtenberg IM, Kolesnikov SV, Lukovenko VP. Tyazhelye metally vo vneshney srede Sovremennyye gigiyenicheskiye i toksikologicheskiye aspekty. Minsk: 1994. 123 s. [in Russian].
4. Järup L, Åkesson A. Current status of cadmium as an environmental health problem. Toxicol Appl Pharmacol. 2009;238(3):201-8. DOI: 10.1016/j.taap.2009.04.020
5. Nefyodova OO, Yeroshenko GA, Zadesenets IP, Shatorna VF, Nefyodov OO, Kuznetsova OV. Vplyv nyz'kykh doz kadmiyu tsytratu na kardiohenez embrioniv shchuriv. Svit medytsyny ta biolohiyi. 2019;1(67):166-70. [in Ukrainian].
6. Nefedova OO, Zadesenets IP. Vplyv khloridu kadmiyu ta kadmiyu tsytratu na pokaznyky embriohenezu shchuriv pry vnutrishn'oshlunkovomu vvedenni. Ukrayins'kyi zhurnal medytsyny, biolohiyi ta sportu. 2018;6(15):52-7. [in Ukrainian].
7. Borysevykh VB, Kaplunenko VH, Kosinov MV. Nanomaterialy v biolohiyi. Osnovy nanoveterynariyi. K.: «Avitsena»; 2010. 416 s. [in Ukrainian].
8. Flores-Mateo G, Navas-Acien A, Pastor-Barriuso R, Guallar E. Selenium and coronary heart disease: A meta-analysis. Am. J. Clin. Nutr. 2006;84:762-73.
9. Golubkina NA, Skal'nyy AV. Selen v meditsine i ekologii. M.: KMK; 2002. 216 s. [in Russian].
10. Zhang X, Liu C, Guo J, Song Y. Selenium status and cardiovascular diseases: meta-analysis of prospective observational studies and randomized controlled trials. Eur J Clin Nutr. 2016;70:162-9. Available from: <https://doi.org/10.1038/ejcn.2015.78>
11. Hu X, Chandler JD, Fernandes J, Orr ML, Hao L, Uppal K, et al. Selenium supplementation prevents metabolic and transcriptomic responses to cadmium in mouse lung. Biochim Biophys Acta Gen Subj. 2018 Apr. DOI: 10.1016/j.bbagen.2018.04.009
12. Shatorna VF, Garets VI, Kononova II, Stepanov SV, Dikhno NI. Kombinuyuchy vplyv vazhkykh metaliv na embriohenez shchura v eksperymenty. Svit medytsyny ta biolohiyi. 2014;4:170-4. [in Ukrainian].
13. Nefedova OO, Zadesenets IP. Otsinka vplyvu kadmiyu khloridu na pokaznyky embriohenezu shchuriv za umov korektsiyi tsytratom tsynku pry vnutrishn'oshlunkovomu vvedenni. Visnyk problem biolohiyi i medytsyny. 2018;3(145):309-14. [in Ukrainian].
14. Fedorenko VI. Obgruntuvannya dopustymykh dobovykh doz svyntsyu i kadmiyu v dobovykh ratsionakh kharchuvannya. Medychni perspektyvy. 2019;24(1):73-80. [in Ukrainian].

ВПЛИВ СОЛЕЙ КАДМІЮ НА РОЗВИТОК СУДИН ТА ПРЕДСЕРДНО-ШЛУНОЧКІВ КЛАПАНІВ СЕРЦЯ ЩУРІВ ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ ЦИТРАТОМ СЕЛЕНУ

Нефьодова О. О., Задесенець І. П., Демиденко Ю. В., Мальчугін Р. К.

Резюме. В роботі експериментально визначали вплив солей кадмію хлориду та кадмію цитрату (у дозі 1,0 мг/кг) на морфометричні показники серця при ізольованому введенні та в комбінації з цитратом селену при внутрішньошлунковому введенні впродовж всього періоду вагітності у щурів. Можливу кардіотоксичну дію досліджуваних речовин оцінювали за наступними середніми показниками: внутрішній діаметр субепікардіальних та міокардіальних судин середньої частини обох шлуночків, товщина стулок атріовентрикулярних клапанів та внутрішній діаметр правої та лівої коронарних артерій серця ембріонів щура 20-ї доби розвитку. Були отримані відмінні результати між групами ізольованого введення кадмію хлориду та кадмію цитрату, що свідчить про відмінність кардіотоксичної дії зазначених солей кадмію. Цитрат селену в умовах нашого експерименту чинив слабкий модифікуючий вплив на вищезазначені морфометричні параметри ембріонального серця щура.

Позитивний результат було отримано в групі комбінованого введення хлориду кадмію та цитрату селену щодо показника товщини стулок предсердно-шлуночкових клапанів. На відміну від групи ізольованого введення кадмію хлориду у групі кадмію хлориду та селену цитрату ми спостерігали достовірне збільшення товщини останніх.

В групі комбінованого введення цитратів кадмію та селену було отримано результат гірший, ніж у групі ізольованого введення кадмію цитрату по відношенню до товщини стулок атріовентрикулярних клапанів.

Селену цитрат потребує подальших досліджень, враховуючи суперечливий характер впливу по відношенню до сполук кадмію.

Ключові слова: кардіотоксичність, кадмій, селен, цитрати металів, ембріональне серце.

ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ КАДМИЯ НА РАЗВИТИЕ СОСУДОВ И ПРЕДСЕРДНО-ЖЕЛУДОЧКОВ КЛАПАНОВ СЕРДЦА КРЫС В УСЛОВИЯХ КОРРЕКЦИИ ЦИТРАТОМ СЕЛЕНА

Нефедова Е. А., Задесенец И. П., Демиденко Ю. В., Мальчугин Р. К.

Резюме. В работе экспериментальным путем определяли влияние солей кадмия хлорида и кадмия цитрата (в дозах 1,0 мг/кг) на морфометрические показатели сердца при изолированном введении и в комбинации с цитратом селена при внутривентрикулярном введении в течение всего периода беременности у крыс. Возможное кардиотоксическое действие исследуемых веществ оценивали по следующим средним показателям: внутренний диаметр субэпикардальных и миокардиальных сосудов средней части обоих желудочков, толщина створок атриовентрикулярных клапанов и внутренний диаметр правой и левой коронарных артерий сердца эмбрионов крысы 20-го дня развития. Были получены отличные результаты между группами изолированного введения кадмия хлорида и кадмия цитрата, что свидетельствует о различии кардиотоксического действия указанных солей кадмия. Цитрат селена в условиях нашего эксперимента оказывал слабое модифицирующее влияние на вышеуказанные морфометрические параметры эмбрионального сердца крысы.

Положительный результат был получен в группе комбинированного введения хлорида кадмия и цитрата селена относительно показателя толщины створок предсердно-желудочковых клапанов. В отличие от группы изолированного введения кадмия хлорида, в группе кадмия хлорида и селена цитрата мы наблюдали достоверное увеличение толщины последних.

В группе комбинированного введения цитратов кадмия и селена был получен результат хуже, чем в группе изолированного введения кадмия цитрата по отношению к толщине створок предсердно-желудочковых клапанов. Это свидетельствует об усилении отрицательного влияния цитрата кадмия в комбинации с цитратом селена на вышеуказанный морфометрический параметр.

Селена цитрат требует дальнейших исследований, учитывая противоречивый характер воздействия по отношению к соединениям кадмия.

Ключевые слова: кардиотоксичность, кадмий, селен, цитраты металлов, эмбриональное сердце.

THE EFFECT OF CADMIUM SALTS ON THE DEVELOPMENT OF VESSELS AND ATRIOVENTRICULAR VALVES OF RAT HEART UNDER THE CONDITIONS OF SELENIUM CITRATE CORRECTION

Nefodova O. O., Zadesenets I. P., Demidenko Y. V., Malchugin R. K.

Abstract. The increasing pollution of industrialized countries requires the study of the effects of environmental factors on human health. Heavy metals are one of the most common and dangerous environmental pollutants. The latter, when they enter the human body, lead to acute and delayed complications, change the balance of trace elements, the course of diseases, pregnancy, and cause different malformations. Cadmium is one of the few toxic metals that has no known physiological functions in the body. It is toxic at very low levels, has acute and chronic effects on human health. The search for antagonists that reduce the toxic effect of cadmium is a priority in scientific researches.

The aim of the study was to investigate the effect of cadmium salts on the development of blood vessels and atrioventricular valves and the accumulation in the heart of rat embryos during isolated administration and in combination with selenium citrate.

To simulate chronic toxicity during cadmium exposure throughout pregnancy, female Wistar rats were administered cadmium citrate or cadmium chloride on a daily basis per os via the probe in isolation (at a dose of 1.0 mg/kg) or in combination with selenium citrate (at a dose of 0.1 mg/kg).

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 20th day of pregnancy an operative slaughter was performed.

The embryos were removed from the uterus, tested for a "live-dead", weighed, photographed and fixed in 10% formalin solution for further histological examination. After fixation of 20-day-old embryos, the hearts of embryo rats were separated from body. From isolated hearts, sections of 4-6 microns thick (hematoxylin-eosin staining) were made using standard histological methods for further morphometric studies.

On histological sections of the heart of the rat embryos of the 20th day of development in all groups we measured: 1) average width of the atrioventricular valve (AVV) flaps in the middle third (μm), $M \pm m$; 2) average internal diameters of subepicardial vessels and myocardial vessels of compact myocardium in the middle part of both ventricles on identical sections of embryonic heart; 3) average internal diameter of the coronary arteries in the proximal part (μm), $M \pm m$.

Excellent results were obtained between the groups of isolated administration of cadmium chloride and cadmium citrate, which indicates the difference in cardiotoxic effects of these cadmium salts. Selenium citrate under the conditions of our experiment had a weak modifying effect on the mentioned above morphometric parameters of the rat embryonic heart.

A positive result was obtained in the group of combined administration of cadmium chloride and selenium citrate relative to the indicator of the thickness of the flaps of the atrioventricular valves. In contrast to the group of isolated administration of cadmium chloride, in the group of cadmium chloride and selenium citrate, we observed a significant increase in the thickness of the latter.

In the group of combined administration of cadmium citrate and selenium citrates, the result was worse than in the group of isolated administration of cadmium citrate relatively to the thickness of the atrioventricular valves. This indicates an increase in the negative effect of cadmium citrate in combination with selenium citrate on the mentioned above morphometric parameter.

The selenium citrate requires further research, given the controversial results of the exposure with respect to cadmium compounds.

Key words: cardiotoxicity, cadmium, selenium, metal citrates, embryonic heart.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 07.05.2020 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2020-2-156-286-289

УДК 617-089:57.086.13]:616.441-008.61

^{1,2}Побеленский К. О., ²Побеленская Л. А., ¹Легач Е. И., ²Побеленский О. Н.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕЗЕКЦИИ И КРИОДЕСТРУКЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (г. Харьков)

²Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина (г. Харьков)

pobelensky@gmail.com

Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами. Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы «Свойства криоконсервированных первичных культур клеток эндокринных желез неонатальных животных in vitro и in vivo при трансплантации», № государственной регистрации 0116U003494.

Вступление. Известно, что щитовидная железа (ЩЖ) относится к органам с медленным обновлением клеток [1]. В то же время способность к пролиферации в ответ на физиологическую или патологическую стимуляцию сохраняется у клеток ЩЖ в течение всей жизни. Резекция ЩЖ, вызывая гипотиреоз, является одним из активаторов гиперпластических процессов, направленных на поддержание продукции тиреоидных гормонов. При этом компенсаторная гиперплазия органа может приводить к нарушению его нормального гистологического строения [2].

Криохирurgia рассматривается в качестве альтернативного метода лечения доброкачественных узловых образований (ДУО) ЩЖ [3,4]. Преимущество данного подхода состоит в возможности проведения криодеструкции чрескожно под контролем эндоскопической техники, низкой себестоимости и малоинвазивности операции, снижении риска кровотечения, минимизации анестезии, сокращении времени операции и послеоперационного ухода [4,5]. В то же время для активного клинического использования криохирургического метода удаления ДУО ЩЖ накоплено недостаточно информации, особенно, что касается тяжести послеоперационного гипотиреоза и скорости регенерации тиреоидного остатка.

Цель исследования – сравнительное изучение результатов резекции и криодеструкции доли ЩЖ у крыс с моделью пропилтиоурацил-индуцированной диффузной гиперплазии.

Объект и методы исследования. Эксперименты проводили в соответствии с Законом Украины «О защите животных от жестокого обращения» (№ 3447-IV от 21.02.2006 г.) при соблюдении требований Коми-

тета по биоэтике Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (ИПКиК НАНУ), согласованных с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

В экспериментах использовали самок крыс линии SHR 6-месячного возраста. Животные содержались в виварии ИПКиК НАНУ со свободным доступом к сбалансированному сухому корму («Гора», Украина). Для формирования диффузной гиперплазии ЩЖ по методу Polychronakos С. и соавт. [6] крысам давали 0,1%-й раствор ПТУ («Sigma», США) в питьевой воде в течение 90 дней.

Операции на животных проводили под общей анестезией с использованием 7,5 мг/кг массы тилетамина гидрохлорида, 7,5 мг/кг массы золазепам гидрохлорида (препарат «Золетил», «Virbac», Франция), 20 мг/кг массы ксилазина гидрохлорида (препарат «Седазин», «Biowet», Польша).

Осуществляли хирургический доступ, после чего крысам группы 1 проводили резекцию левой доли ЩЖ по методу Е.И. Легача и соавт. [7]. При этом перешеек оставляли интактным, а тиреоидный остаток составлял 1/5 левой доли. Крысам группы 2 проводили криодеструкцию с помощью медного криоаппликатора с диаметром наконечника 1,5 мм и объемом охлаждаемой части 21,99 см³. Криоаппликатор охлаждали до температуры -196°C путем прямого погружения в жидкий азот и выдерживания там до прекращения его кипения. Осуществляли криодеструкцию левой доли ЩЖ в течение 120 сек. После этого позволяли ткани самопроизвольно отогреться и повторяли криовоздействие в том же режиме.

После резекции или криодеструкции ЩЖ животным накладывали на рану послойно швы и возвращали в условия виварии. Введение 0,1% ПТУ прекращалось. Через 30, 60 и 120 дней животных выводили из эксперимента путем декапитации.