

MORPHOGENESIS OF RAT KIDNEY IN EARLY POSTNATAL DEVELOPMENT UNDER THE INFLUENCE OF LEAD ACETATE

¹**Dnipro State Medical University (Dnipro, Ukraine)**

²**Privat establishment of higher education "Dnipro institute of medicine and public health" (Dnipro, Ukraine)**

dovgalgem@i.ua

Lead is a common pollutant that enters humans and animals and adversely affects many biochemical and physiological parameters. Prenatal exposure to lead compounds causes impaired morphogenesis of organs, which has consequences in postnatal life. The aim of the study was to identify abnormalities in the morphogenesis of rat kidneys in early postnatal development under the action of lead acetate during the prenatal period, as well as exposure to the toxicant before pregnancy in mothers. Experimental studies were performed on female Wistar rats. Females of the experimental group received a 2.5% aqueous solution of lead acetate at a 50 mg/kg body weight once a day for two weeks before pregnancy and during pregnancy. On the 1st and 7th days of postnatal development, the histological and ultrastructural structure of the kidneys was studied. On the 1st and 7th day of life, the glomeruli and tubulovascular system differentiation are not completed in the norm and the experimental group. In postnatal dynamics, the quantitative interstitium decreases, and the density of renal corpuscles and tubules increases. The effect of the toxicant was reflected in disorders of glomerular perfusion and filtration; morphologically, it was marked by stasis of erythrocytes, dystrophic changes of endothelial cells and podocytes. Disturbances in the epithelium of the tubules at the ultrastructural level were the swelling of mitochondria while maintaining the integrity of the epithelial layer. It is concluded that the nephrotoxic effect of lead acetate, which acts to damage membrane organelles, especially mitochondria, at the tissue level, the toxicant causes damage to the microvascular endothelium.

Key words: kidneys, rats, morphogenesis, lead, toxicity.

Relationship of publications with planned research works. The study is a fragment of research work by the Department of Human Anatomy Dnipro State Medical University: "Morphogenesis of organs and systems of humans and experimental animals in ontogenesis in normal and under external factors", № state registration 01170006976.

Introduction. Lead is a widespread pollutant characterized by significant toxic effects, which are known to adversely affect a wide range of biochemical and physiological parameters of humans and animals [1]. Lead is similar to calcium in biochemical and physicochemical properties, so it can be involved in various reactions in the body and can be deposited in bone tissue and stored in it in significant quantities for decades; in significant quantities, lead is also deposited in the brain, liver, kidneys [2, 3]. The kidneys are susceptible to the effects of lead due to their essential role in the excretion of lead from the body [4]. Lead is easily removed by proximal tubule cells, causes damage to the renal epithelium, disrupts mitochondria's structure and function, generates reactive oxygen species and peroxidation of molecules, and affects reabsorption, causing renal failure [5, 6]. The resulting reactive oxygen species inhibit the production of sulfhydryl groups, disrupt heme synthesis, cause inflammation of the vascular endothelium, damage nucleic acids, inhibit DNA binding to transcription factors, inhibit DNA repair, cell growth, and differentiation, chromosomal structure [3, 7]. During pregnancy, the body's needs for calcium are increased, as a result of which the bone depot of lead can be mobilized [1]. The content of lead in the umbilical cord blood of newborns correlates with its content in maternal blood, and the content of lead in amniotic fluid significantly exceeds that in both maternal and umbilical cord blood

[8]. The embryo and fetotoxicity of lead compounds are based on many toxic effects caused by them. Very little scientific data has been devoted to the effects of lead on renal embryogenesis. The placenta is permeable to lead; this heavy metal can accumulate in the tissues of the embryo and fetus, having an injurious effect on the developing organism [9].

The aim of the study was to investigate the morphological changes of the kidneys in early postnatal development under the toxic effects of lead acetate.

Object and methods of research. Experimental studies were performed on female Wistar rats weighing 200-220 g. Animals were kept under standard vivarium conditions: air temperature 22±2°C, humidity 55±15%, 12-hour light/dark cycle, free access to water and food. The research was conducted in compliance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986). Females of the experimental group received a 2,5% aqueous solution of lead acetate intragastrically through a tube at 50 mg/kg body weight once a day for two weeks before pregnancy and throughout the experiment. The control group consisted of intact animals. The study material was samples of rat kidneys on the 1st and 7th days of postnatal development. Conclusions on the toxic effects of lead acetate were obtained based on histological and electron microscopic examination results. For histological examination, kidney samples were fixed in 10% formalin solution on phosphate buffer (pH 7,4), dehydrated, and compacted in paraffin. Paraffin sections were obtained on a microtome and colored with hematoxylin and eosin.

Tissue samples for transmission electron microscopy (TEM) were recorded at + 4°C in 2,5% solution of glutar-

aldehyde in phosphate buffer (pH 7.4) followed by fixation in 1% buffered solution of osmium tetroxide "SPI", USA. The samples were dehydrated and poured into EPON-812 epoxy resin («SPI-Pon™ 812 Epoxy Embedding Kit», USA); ultrathin sections were made of epoxy blocks on an ultramicrotome UMTF-6M (SELM, Ukraine) and examined using a transmission electron microscope TEM-100-01 (SELM, Ukraine).

Research results and their discussion.

The experiment did not reveal the mortality of pregnant animals and newborn rats, although exposure to lead acetate found a significantly lower mass of offspring (fig. 1). According to the histological examinations in the kidney on day 1 and even more so on day 7 of postnatal development, it was possible to detect a conditional boundary between the cortex and medulla of the kidney and a clearly delineated capsule of the organ (fig. 2). The cortex is densely filled with glomerular structures at different stages of development: both formed glomeruli with hemocapillary network and undifferentiated glomeruli without capillaries, clear capsule, and cells in different phases of mitosis are found. In addition, interstitial tissue with undifferentiated cells and a sparse network of fibrous structures were found between the groups of glomeruli. At the same time, the cerebral substance contains a significant amount of interstitium, which is permeated by individual tubulo-vascular units of the medulla in the papillae of the kidney. In addition, tubules that open directly into the calyx were found.

On day 7, the kidney cortex contains many mature glomeruli and tubules that are still developing; medullary rays trace the medulla. The amount of interstitium in the medulla decreased visually, and in the kidney cortex, the density of mesenchymal cells decreased significantly. In the cortex, with the help of light microscopy, it is not always possible to distinguish the type of tubules because the epitheliocytes have a shape from cubic to trapezoidal, the lumen of the tubules is relatively narrow. Renal angioarchitectonics was characterized by the more rapid development of cerebral vessels, with the formation of blood-filled vessels with large lumens, while in the cerebral substance, single hemocapillaries in most cases found in renal corpuscles, to a lesser extent in the interstitium. After exposure to lead acetate, histological examinations revealed more interstitium in the medulla, increased vascular plethora, especially on the border with the cortex. Damage to epithelial cells was detected by transmission electron microscopy (fig. 2). Thus, erythrostasis was detected in the lumens of the glomerular hemocapillaries, and mitochondrial edema was detected in the endothelial cells. An increase in intussusception and caveolae was found on the luminal surface of endotheliocytes. The basement membrane is heterogeneous in its structure due to the alternation of areas of a typical three-layer structure and extended areas of edema. Ultrastructural changes of podocytes are mosaic: some have electron-dense cytoplasm, oth-

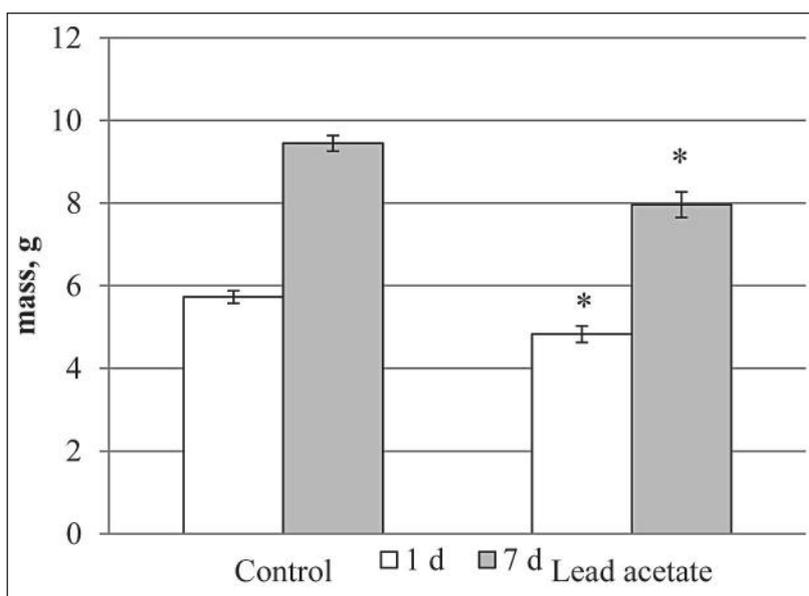


Figure 1 – Weight of rats on 1st and 7th days of postnatal development.

Note: * significantly different from the control (P <0,05).

ers unevenly developed cytopodia. As a result, the thickness of the filtration barrier is uneven. Changes in the tubular apparatus are moderate and mainly associated with edema and destruction of mitochondria, resulting in the registration of atypical vesicles of different diameters. The epithelium of the tubules is in close contact with the basement membrane, the integrity of the epithelial layer is preserved.

According to our research, the action of lead acetate affected the morphogenesis of the kidney, causing toxic damage to the microvascular endothelium, damage to the epithelium of the nephrons. Some experimental work provides an opportunity to explain the toxic effects of lead on renal embryogenesis [10]. Thus, experiments conducted on chicken embryos have shown that the introduction of lead does not affect the overall differentiation of nephrons of metanephros, although the cells of the proximal tubules undergo degenerative changes [11]. The entry of lead nitrate into the developing chicken embryo destroyed cells of the proximal and distal tubules, collecting tubules: that were severely dilated with impaired epithelial morphology, including apoptosis.

Lead causes damage to the kidneys' microcirculation, particularly uneven blood supply to the peritubular capillaries [12]. Obliteration of Bowman-Shumlyansky space in prenatal kidney development in rats, vacuolation in the epithelium of proximal cytoplasmic tubules, partial loss of brush border and basal folding, focal destruction of apical microvilli, karyopyknosis of epithelium are described.

As in other researchers who studied the development of the kidneys after exposure to heavy metals in the prenatal and postnatal period, our observations indicated damage to the interstitial mesenchymal cells of the kidney [12]. These changes indicate a violation of the filtration barrier and toxic damage to the epithelium of the nephrons. The toxic effect of lead acetate in the studied dose did not cause mortality in rats, toxic necrosis of the organ, and therefore the morphogenesis of the kidney structures continued, but with noticeable structural changes.

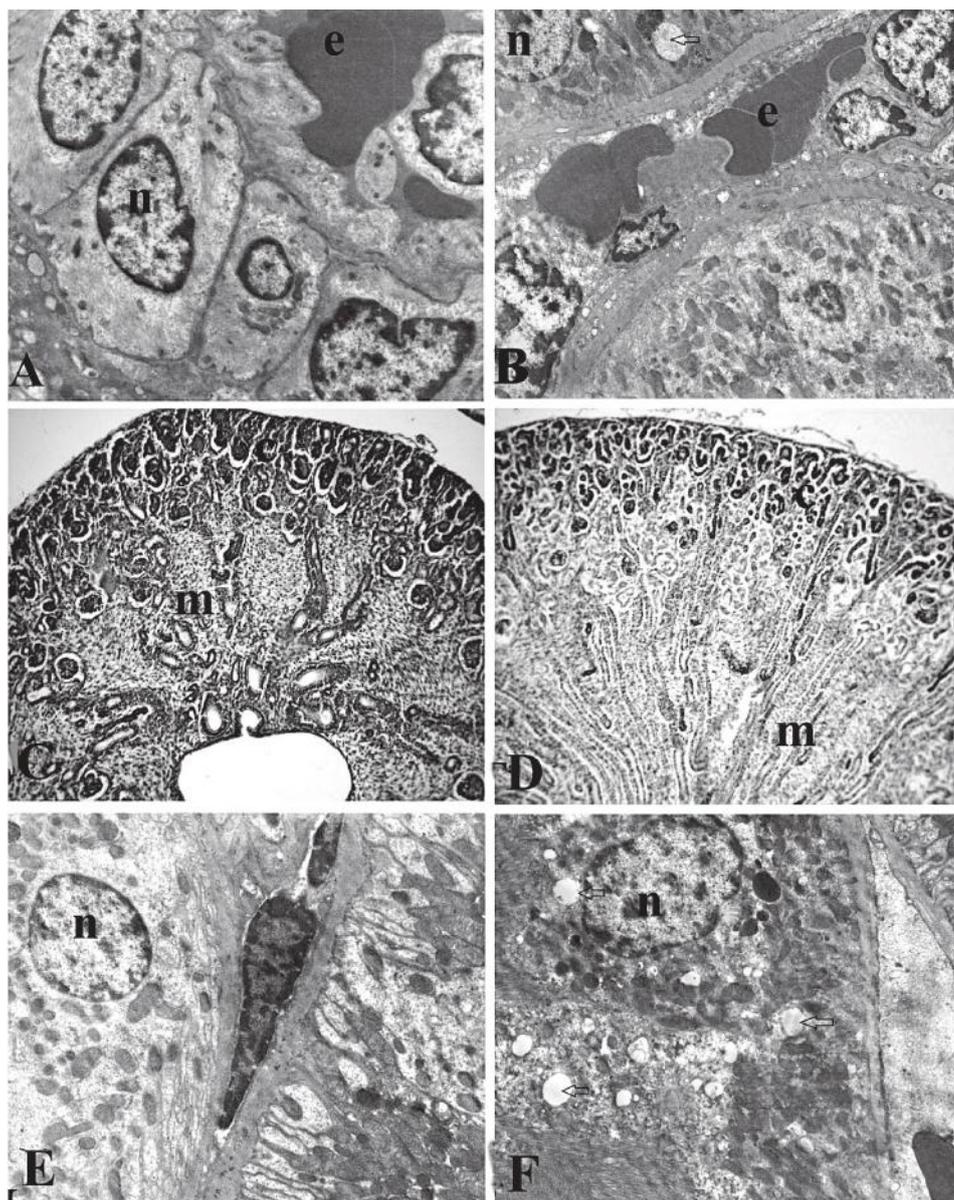


Figure 2 – Changes in the kidneys on the background of exposure to lead acetate. 1 and 7 days of postnatal development. A – control, 1 day (TEM, increase: x5000); B – lead acetate, 1 day (TEM, increase: x3000); C – control, 7 days (light microscopy, hematoxylin-eosin staining, increase: x100); D – lead acetate, 7 days (light microscopy, hematoxylin-eosin staining, increase: x100); E – control, 7 days (TEM, increase: x5000); F – lead acetate, 7 days (TEM, increase: x4000). Marking: e – erythrocyte; n – nucleus of the epitheliocyte of the tubules; m – medulla; c – cortex ← atypical vesicles.

Conclusions. Following exposure to lead acetate before and during pregnancy, renal morphogenesis is impaired at the histological and ultrastructural levels. During the first week of life, the offspring do not complete the differentiation of the glomeruli and tubulovascular system of the kidneys. After exposure to the toxicant, glomerular perfusion and filtration processes are disrupted, which begins with erythrocyte stasis and has consequences in the form of dystrophic changes in endothelial cells and podocytes. Ultrastructural changes in the epithelium of the tubules are swelling of mito-

chondria, although the integrity of the epithelial layer is preserved.

Prospects for further research. Features of impaired prenatal and postnatal development of the kidneys in chronic lead intoxication remain poorly understood due to the relatively small number of studies and limited capabilities of general morphological research methods. Therefore, it is essential to assess the dose-dependent effect of lead compounds and determine morphofunctional reactions in the epithelium of the nephrons, which immunohistochemical methods can detect.

References

1. Nakhaee S, Amirabadizadeh A, Brent J, Mehrpour O. Impact of chronic lead exposure on liver and kidney function and haematologic parameters. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2019;124(5):621-628.
2. Andjelkovic M, Buha Djordjevic A, Antonijevic E, Antonijevic B, Stanic M, Kotur-Stevuljevic J, et al. Toxic effect of acute cadmium and lead exposure in rat blood, liver, and kidney. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16(2):274.
3. Possomato-Vieira JS, Gonçalves-Rizzi VH, do Nascimento RA, Wandekin RR, Caldeira-Dias M, Chimini JS, et al. Clinical and experimental evidences of hydrogen sulfide involvement in lead-induced hypertension. *Biomed Res Int.* 2018;2018:4627391.

- Bertram JF, Young RJ, Spencer K, Gordon I. Quantitative analysis of the developing rat kidney: absolute and relative volumes and growth curves. *Anat Rec.* 2000;258(2):128-35.
- Dkhil M, Al-Khalifa M, Al-Quraishy S, Zrieq R, Moneim A. Indigofera oblongifolia mitigates lead-acetate-induced kidney damage and apoptosis in a rat model. *Drug Des Devel Ther.* 2016;10:1847-1856.
- Ezejiofor AN, Orisakwe OE. Nephroprotective effect of Costus afer on lead induced kidney damage in albino rats. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2019;11(2):36-44.
- Simões MR, Azevedo BF, Alonso MJ, Saldaña M, Vassallo DV. Chronic low-level lead exposure increases mesenteric vascular reactivity: role of Cyclooxygenase-2-derived prostanoids. *Front Physiol.* 2021;11:590308.
- Korpela H, Loueniva R, Yrjänheikki E, Kauppila A. Lead and cadmium concentrations in maternal and umbilical cord blood, amniotic fluid, placenta, and amniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1986;155(5):1086-1089.
- Zhang H, Bai X, Zheng X. Distribution of lead in fetal rat tissue at different days of pregnancy. *Wei Sheng Yan Jiu.* 1999;28(2):88-90.
- Maric C, Ryan GB, Alcorn D. Embryonic and postnatal development of the rat renal interstitium. *Anat Embryol (Berl).* 1997;195(6):503-14.
- Errede M, Elia G, Bertossi M, Mulas ML, Riva A, Virgintino D, et al. Developmental effects of lead acetate on the chick embryo metanephros. *J Submicrosc Cytol Pathol.* 2001;33(3):261-273.
- El-Shabaka H, Abu-Sinna G, Al-Henzab N. Lead-induced malformations and kidney destruction of developing chick embryos. *Qatar Univ Sci J.* 1993;13:271-275.
- Mohamed N, Saleh S. Effect of pre and postnatal exposure to lead acetate on the kidney of male albino rat : a light and electron microscopic study. *Egypt J Histol.* 2010;33:365-379.

МОРФОГЕНЕЗ НИРКИ ЩУРА В РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ РОЗВИТКУ ПІД ВПЛИВОМ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ **Довгаль Г. В., Савочкіна М. В., Довгаль М. А.**

Резюме. Мета дослідження – виявити зміни морфогенезу нирок щура у ранньому постнатальному розвитку в умовах токсичної дії ацетату свинцю протягом пренатального періоду, а також до настання вагітності.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження проводилися на щурах самках лінії Wistar вагою 200-220 г. Самки дослідної групи отримували 2,5% водний розчин ацетату свинцю з розрахунку 50 мг/кг маси тіла один раз на добу протягом двох тижнів перед настанням вагітності та протягом усього терміну експерименту. На 1 та 7 добу постнатального розвитку досліджували гістологічну та ультраструктурну будову нирок.

Результати. На 1 та 7 добу диференціація клубочків та тубуло-васкулярної системи не завершилася. У динаміці зменшується кількісна інтерстиція і збільшується щільність ниркових тілець і каналців. Встановлено порушення клубочкової перфузії та фільтрації, що полягало у стазі еритроцитів, виявлені ознаки дистрофічних змін ендотеліоцитів та подоцитів. Після впливу ацетату свинцю виявлено більшу кількість інтенстицію у мозковій речовині, різке кровонаповнення судин, особливо на межі з кірковою речовиною. Ультраструктурні зміни епітелію каналців полягали в набуханні мітохондрій, хоча цілісність епітеліального шару зберігалася. На люмінальній поверхні ендотеліоцитів виявлено збільшення інвагінацій і кавеол. Базальна мембрана неоднорідна за своєю структурою за рахунок чергування ділянок типової тришарової будови і розширених зон набряку. Зміни подоцитів мозаїчні: деякі мають електроннощільну цитоплазму, в інших порушувався патерн розвитку цитоподій, товщина фільтраційного бар'єру була нерівномірною. У складі каналцевого апарату зміни виражені помірно і пов'язані з набряком і деструкцією мітохондрій, внаслідок чого у клітинах рееструються різного діаметру атипичні везикули.

Висновки. Зроблено висновок про нефротоксичний вплив ацетату свинцю, дія якого полягає у пошкодженні мембранних органел, особливо мітохондрій, на тканинному рівні свинець викликає ушкодження ендотелію мікросудин.

Ключові слова: нирки, щури, морфогенез, свинець, токсичність.

MORPHOGENESIS OF RAT KIDNEY IN EARLY POSTNATAL DEVELOPMENT UNDER THE INFLUENCE OF LEAD ACETATE

Dovhal H. V., Savochkina M. V., Dovhal M. A.

Abstract. The aim of research was to study the changes in the morphogenesis of the rat kidneys in early postnatal development under the toxic effect of lead acetate during the prenatal period, as well as before pregnancy.

Material and methods. Experimental studies were carried out on female rats of the Wistar line weighing 200-220 g. The females of the experimental group received a 2.5% aqueous solution of lead acetate at the dosage of 50 mg/kg once a day for two weeks before the onset of pregnancy and during the pregnancy. On days 1 and 7 of postnatal development, the histological and ultrastructural study of the kidneys was performed.

Results. On days 1 and 7, the differentiation of the glomeruli and the tubulo-vascular system was not completed. The number of interstitial space has decreased and the density of the renal glomeruli and tubules has increased. The violations of glomerular perfusion and filtration were observed, as well as the stasis of erythrocytes. The dystrophic changes in endotheliocytes and podocytes were noticed. After exposure to lead acetate, more severe disorders were found in the medullar layer, a blood overflow to the vessels, especially on the border with the cortical layer. The ultrastructural changes in the epithelium of the tubules were noticed as swelling of mitochondria, although the integrity of the epithelial layer was safe. The increase of the number of invaginations and caveolae was found on the luminal surface of endotheliocytes. The basement membrane was heterogeneous in its structure due to the alternation of typical three-layer structure and extended areas of edema. The changes of podocyte were mosaic: some of them had electron-dense cytoplasm, others demonstrated abnormal pattern of cytopodia development, and the thickness of the filtration barrier was irregular. The disorders in the tubular apparatus were moderate and associated with edema and destruction of mitochondria, resulting in the atypical vesicles of different diameters.

Conclusion. The most prominent nephrotoxic impact of lead acetate is the damage of membrane organelles, especially mitochondria, in the epithelium of the tubules, and also the destruction of the microvessels endothelium.

Key words: kidneys, rats, morphogenesis, lead, toxicity.

ORCID and contributionship:

Dovhal H. V.: 0000-0002-0594-7370 ^{ABEF}
Savochkina M. V.: 0000-0003-3897-1307 ^{BCD}
Dovhal M. A.: 0000-0003-4919-5673 ^{BCD}

Conflict of interest:

The Authors declare no conflict of interest.

Corresponding author

Dovhal Hennadiy Volodymyrovych
Dnipro State Medical University
Ukraine, 49044, Dnipro, 9, Vernadsky str.
Tel.: 0960222408
E-mail: dovgalgem@i.ua

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

Received 28.11.2021
Accepted 02.05.2022

DOI 10.29254/2077-4214-2022-2-2-165-50-58

УДК 611.61.013.,611.61.018,611.06.,611.1/.8

¹Довгаль Г. В., ¹Савочкіна М. В., ²Довгаль М. А.

МОРФОГЕНЕЗ НИРКИ ЩУРА В РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ РОЗВИТКУ ПІД ВПЛИВОМ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ

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

²Приватний заклад вищої освіти «Дніпровський інститут медицини та громадського здоров'я» (м. Дніпро, Україна)

dovgalgem@i.ua

Свинець є розповсюдженим забруднювачем навколишнього середовища, потрапляння якого в організм людини та тварин негативно позначається на широкому спектрі біохімічних та фізіологічних показників. Пренатальний вплив сполук свинцю викликає порушення морфогенезу органів, що має наслідки і в постнатальному житті. Мета дослідження була у виявленні відхилень морфогенезу нирок щура у ранньому постнатальному розвитку в умовах дії ацетату свинцю протягом пренатального періоду, а також при впливі токсиканту до настання вагітності у матерів. Експериментальні дослідження виконані на щурах самках лінії Wistar. Самки дослідної групи отримували 2,5% водний розчин ацетату свинцю з розрахунку 50 мг/кг маси тіла один раз на добу протягом двох тижнів перед настанням вагітності та протягом вагітності. На 1 та 7 добу постнатального розвитку досліджували гістологічну та ультраструктурну будову нирок. Встановлено, що на 1 та 7 добу життя диференціація клубочків та тубуло-васкулярної системи не завершується в нормі та в експериментальній групі. У постнатальній динаміці зменшується кількісна інтерстиція і збільшується щільність ниркових тілець і каналців. Вплив токсиканту видбився у порушеннях клубочкової перфузії та фільтрації, морфологічно це відзначилося стазом еритроцитів, дистрофічними змінами ендотеліоцитів та подоцитів. Порушення в епітелії каналців на ультраструктурному рівні полягали в набуханні мітохондрій при збереженні цілісності епітеліального шару. Зроблено висновок про нефротоксичний вплив ацетату свинцю, дія якого полягає у пошкодженні мембранних органел, особливо мітохондрій, на тканинному рівні токсикант викликає ушкодження ендотелію мікросудин.

Ключові слова: нирки, щури, морфогенез, свинець, токсичність.

Зв'язок публікацій з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження виконано згідно теми наукової роботи кафедри анатомії людини Дніпровського державного медичного університету: «Морфогенез органів та систем організму людини та експериментальних тварин в онтогенезі в нормі та під впливом зовнішніх чинників», № державної реєстрації 01170006976.

Вступ. Свинець є дуже поширеним забруднювачем навколишнього середовища, для якого характерні значні токсичні ефекти, які, як відомо, негативно позначаються на широкому спектрі біохімічних та фізіологічних показниках організму людини та тварин [1]. Свинець за біохімічними та фізико-хімічними властивостями подібний до кальцію, тому в організмі може включатися у різні реакції і здатний депонуватися у кістковій тканині і зберігатися в ній

у значних кількостях впродовж десятиріч; у значних кількостях свинець відкладається також у головному мозку, печінці, нирках [2, 3]. Нирки особливо чутливі до впливу свинцю через їх важливу роль у виведенні свинцю з організму [4]. Свинець легко видаляється клітинами проксимальних канальців, викликає пошкодження епітелію нирок, де він порушує структуру і функцію мітохондрій, генерує активні форми кисню і переокисне окиснення молекул, впливає на реабсорбцію, що спричиняє ниркову недостатність [5, 6]. Активні форми кисню, що генеруються внаслідок цього, інгібують продукцію сульфгідрильних груп, порушують синтез гема, спричиняють запалення ендотелію судин, а також пошкоджують нуклеїнові кислоти, інгібування зв'язування ДНК з факторами транскрипції, інгібують репарацію ДНК, клітинний ріст та диференціювання, хромосомну структуру [3, 7]. Під час вагітності потреби організму в кальції підвищені, внаслідок цього може мобілізуватися кісткове депо свинцю [1]. Вміст свинцю в пуповинній крові новонароджених корелює з вмістом його у материнській крові, а показник вмісту свинцю в амніотичній рідині значно перевищує такий як у материнській, так і в пуповинній крові [8]. У основі ембріо- та фетотоксичності сполук свинцю лежить велика кількість спричинених ним токсичних ефектів. Надзвичайно мало наукових даних присвячено впливу свинцю на ембріогенез нирок. Плацента є проникною для свинцю, цей важкий метал може накопичуватися у тканинах ембріону та плоду, чинячи свою шкідливу дію на організм, що розвивається [9].

Мета дослідження – дослідити морфологічні зміни нирок в ранньому постнатальному розвитку за умов токсичної дії ацетату свинцю.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження проводилися на щурах самках лінії Wistar вагою 200-220 г. Тварин утримували за стандартних умов виварію: температура повітря $22 \pm 2^\circ\text{C}$, вологість повітря $55 \pm 15\%$, 12-годинний світлий/темний цикл, вільний доступ до води та їжі. Дослідження проведені із дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Самці дослідної групи отримували 2,5% водний розчин ацетату свинцю внутрішньошлунково через зонд у розрахунку 50 мг/кг маси тіла один раз на добу впродовж двох тижнів перед настанням вагітності і впродовж усього терміну експерименту. Контрольну групу склали інтактні тварини. Матеріалом дослідження слугували зразки нирок щурів на 1 та 7 добу постнатального розвитку. Висновки про токсичну дію ацетату свинцю отримували на основі результатів гістологічного та електронно-мікроскопічного дослідження. Для гістологічного дослідження зразки нирок фіксували у 10%-му розчині формаліну на фосфатному буфері (pH 7,4), зневоднювали і ущільнювали у парафіні. На мікро-

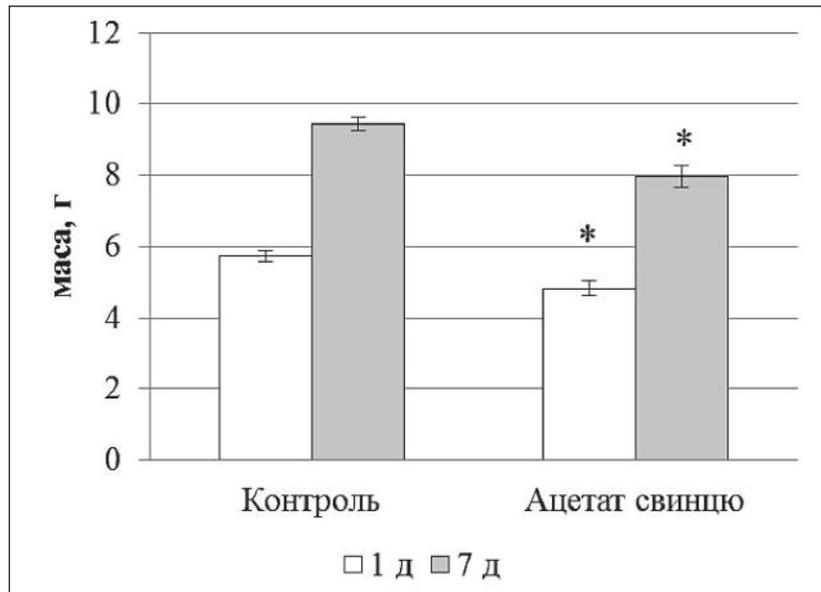


Рисунок 1 - Маса щурів на 1 і 7 добу постнатального розвитку.

Примітка: * достовірно відрізняється від контролю (P<0,05).

томі одержували парафінові зрізи і забарвлювали гематоксилином та еозином.

Зразки тканин для трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) фіксували за температури $+4^\circ\text{C}$ у 2,5%-ому розчині глутаральдегіду на фосфатному буфері (pH 7,4) з наступною дофіксацією у 1% забуференому розчині тетроксиду осмію («SPI», США). Зразки зневоднювали і заливали в епоксидну смолу Епон-812 («SPI-PonTM 812 Epoxy Embedding Kit», США), з епоксидних блоків на ультрамікротомі УМТП-6М («SELMI», Україна) виготовляли ультратонкі зрізи і досліджували за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЭМ-100-01 («SELMI», Україна).

Результати дослідження та їх обговорення. В експерименті не виявлено летальності вагітних тварин і новонароджених щурів, хоча за умов експозиції ацетатом свинцю встановлено достовірно меншу масу потомства (рис. 1). За результатами гістологічних досліджень у нирці на 1 добу і тим більше на 7 добу постнатального розвитку можна було виявити умовну межу між кірковою та мозковою речовиною нирки, і чітко окреслену капсулу органу (рис. 2). Кора щільно заповнена клубочковими структурами на різних етапах розвитку: виявляються як сформовані клубочки з гемокapілярною сіткою, так і недиференційовані клубочки, без капілярів, чіткою капсули і з клітинами в різних фазах мітозу. Між групами клубочків виявлено інтерстиційну тканину з недиференційованими клітинами, нещільною сіткою волокнистих структур. Одночасно з цим мозкова речовина містить значну кількість інтерстицію, які пронизані окремими тубуло-судинними одиницями від мозкової речовини у сосочок нирки. Виявлено такі трубочки, що відкриваються безпосередньо у миску.

На 7 добу кіркова речовина нирки містить більшу кількість зрілих клубочків і канальців, що все ще розвиваються, у мозковій речовині чітко прослідковуються мозкові промені. Кількість інтерстицію у мозковій речовині візуально зменшилась, а в кірковій речовині нирки щільність мезенхімальних клітин істотно зменшилась. У кірковій речовині за допомогою методу світлової мікроскопії не завжди

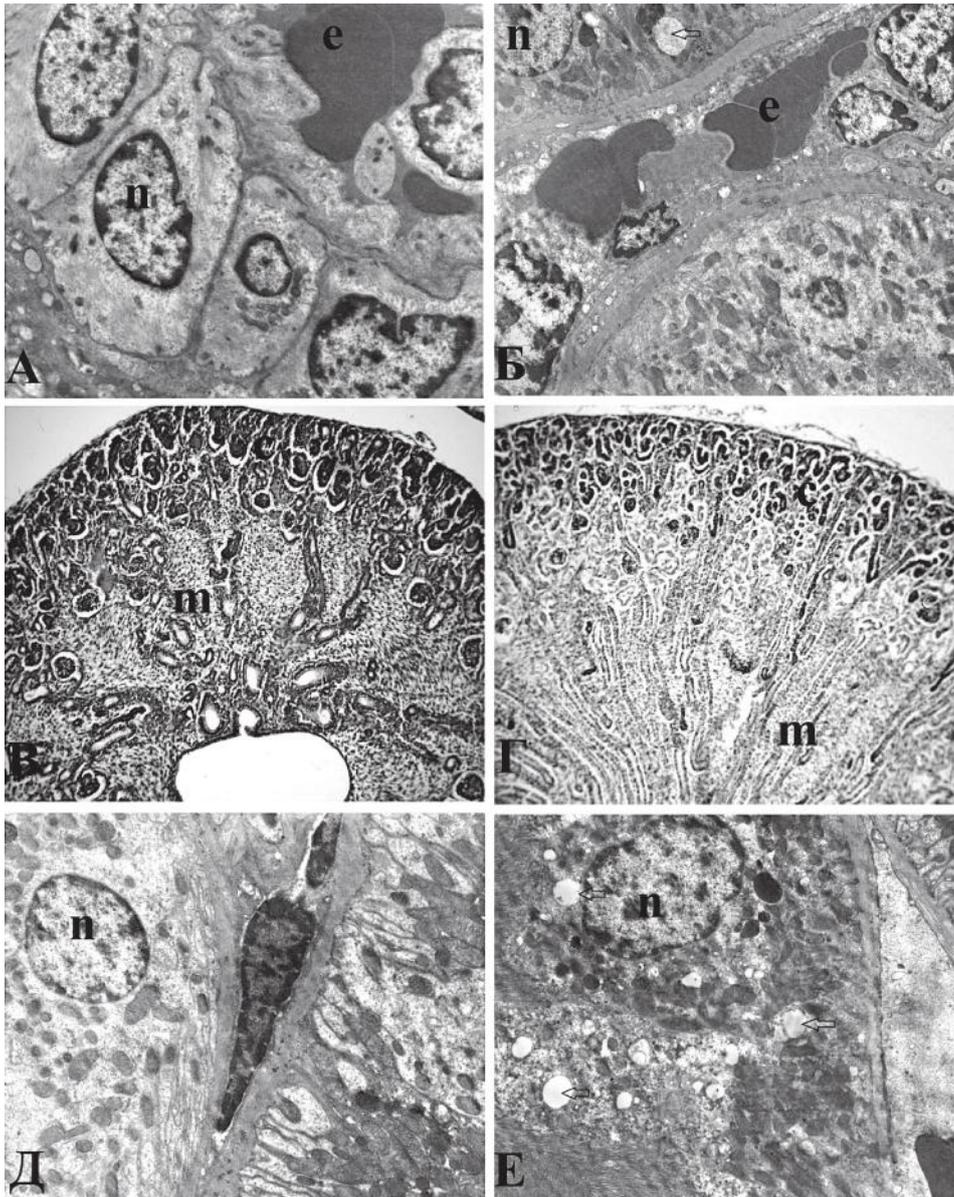


Рисунок 2 – Зміни у нирках на тлі експозицію ацетату свинцю. 1 і 7 доба постнатального розвитку. А – контроль, 1 доба (ТЕМ, зб.: x5000); Б – ацетат свинцю, 1 доба (ТЕМ, зб.: x3000); В – контроль, 7 доба (світлова мікроскопія, забарвлення гематоксилін-еозин, зб.: x100); Г – ацетат свинцю, 7 доба (світлова мікроскопія, забарвлення гематоксилін-еозин, зб.: x100); Д – контроль, 7 доба (ТЕМ, зб.: x5000); Е – ацетат свинцю, 7 доба (ТЕМ, зб.: x4000). Позначення: е – еритроцит; п – ядро епітеліоцита каналців; м – мозкова речовина; с – кіркова речовина; ← атипові везикули.

вдається розрізнити тип каналців, оскільки епітеліоцити мають форму від кубічної до трапецеївидної, просвіт каналців досить вузький. Ангіоархітектоніка нирки характеризувалась стрімкішим розвитком судин мозкової речовини, з формуванням кровонаповнених судин з великим просвітом, тоді як у мозковій речовині поодинокі гемокапіляри у більшості випадків виявлено у ниркових тільцях, в меншій мірі у інтерстиції. За результатами гістологічних досліджень після впливу ацетату свинцю виявлено більшу кількість інтерстицію у мозковій речовині, різке кровонаповнення судин, особливо на межі з кірковою речовиною. Пошкодження клітин епітелію виявлено методом трансмісійної електронної мікроскопії (рис. 2). Так у просвітах гемокапілярів клубочків виявлено стаз еритроцитів, а у ендотеліоцитах – набряк мітохондрій. На люмінальній поверхні ендотеліоцитів виявлено збільшення інвагінацій і кавеол. Базальна

мембрана неоднорідна за своєю структурою за рахунок чергування ділянок типової тришарової будови і розширених зон набряку. Ультраструктурні зміни подоцитів мозаїчні: деякі мають електроннощільну цитоплазму, інші нерівномірно розвинені цитоподії. В результаті цього товщина фільтраційного бар'єру нерівномірна. У складі каналцевого апарату зміни виражені помірно і головним чином пов'язані з набряком і деструкцією мітохондрій, в результаті чого у клітинах реєструються різного діаметру атипові везикули. При цьому епітелій каналців щільно контактує з базальною мембраною, цілісність епітеліального шару збережена.

Як показали результати власних досліджень, дія ацетату свинцю позначилась на морфогенезі нирки, викликавши токсичне пошкодження ендотелію мікросудин, пошкодження епітелію нефронів. Деякі експериментальні роботи дають можливість поясни-

ти токсичну дію свинцю на ембріогенез нирки [10]. Так, експерименти, проведені на курячих зародках, показали, що введення свинцю не впливає на загальне диференціювання нефронів метанефросу, хоча клітини проксимальних канальців зазнають дегенеративних змін [11]. Надходження нітрату свинцю до курячого зародка, що розвивається, викликало деструкцію клітин проксимальних і дистальних канальців, збірних трубочок: вони були виражено дилатовані з порушеною морфологією епітелію, в тому числі апоптозом.

Свинець викликає пошкодження мікроциркуляції у нирках, зокрема нерівномірне кровонаповнення перитубулярних капілярів [12]. Описано облітерація простору Боумена-Шумлянського в пренатальному розвитку нирку у щурів, вакуолізацію у епітелії проксимальних канальців цитоплазми, часткова втрата щіткової облямівки та базальної складчастості, фокальну деструкцію апікальних мікроворсинок, каріопікноз епітеліоцитів [13]. Як і в інших дослідників, що вивчали розвиток нирок після впливу важких металів в пренатальному та постнатальному періоді, наші спостереження вказували на пошкодження інтерстиційних мезенхімальних клітин нирки [12]. Ці зміни вказують на порушення фільтраційного бар'єру та токсичне ураження епітелію нефронів. Токсична дія ацетату свинцю у досліджуваній дозі не викликала

летальності щурів, токсичного некрозу органу і тому морфогенез структурних утворень нирки продовжувався, але з явними структурними змінами.

Висновки. Після впливу ацетату свинцю до настання вагітності та протягом вагітності морфогенез нирок порушується на гістологічному та ультраструктурному рівнях. Протягом першого тижня життя у потомства не завершується диференціація клубочків та тубуло-васкулярної системи нирок. Після впливу токсиканту порушуються процеси клубочкової перфузії та фільтрації, що починається зі стази еритроцитів, та має наслідки у вигляді дистрофічних змін ендотеліоцитів та подоцитів. Ультраструктурні зміни епітелію канальців полягають у набуханні мітохондрій, хоча цілісність епітеліального шару зберігається.

Перспективи подальших досліджень. Особливості порушення пренатального та постнатального розвитку нирок за умов хронічної свинцевої інтоксикації залишаються недостатньо вивченими, що зумовлене відносно невеликою кількістю проведених досліджень і обмеженими можливостями загально-морфологічних методів дослідження. Тому актуальним є оцінка дозозалежного ефекту сполук свинцю та визначення морфофункціональних реакцій у епітелії нефронів, які можна виявити імуногістохімічними методами.

Література

1. Nakhaee S, Amirabadizadeh A, Brent J, Mehrpour O. Impact of chronic lead exposure on liver and kidney function and haematologic parameters. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2019;124(5):621-628.
2. Andjelkovic M, Buha Djordjevic A, Antonijevic E, Antonijevic B, Stanic M, Kotur-Stevuljevic J, et al. Toxic effect of acute cadmium and lead exposure in rat blood, liver, and kidney. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16(2):274.
3. Possomato-Vieira JS, Gonçalves-Rizzi VH, do Nascimento RA, Wandekin RR, Caldeira-Dias M, Chimini JS, et al. Clinical and experimental evidences of hydrogen sulfide involvement in lead-induced hypertension. *Biomed Res Int.* 2018;2018:4627391.
4. Bertram JF, Young RJ, Spencer K, Gordon I. Quantitative analysis of the developing rat kidney: absolute and relative volumes and growth curves. *Anat Rec.* 2000;258(2):128-35.
5. Dkhil M, Al-Khalifa M, Al-Quraishy S, Zrieq R, Moneim A. Indigofera oblongifolia mitigates lead-acetate-induced kidney damage and apoptosis in a rat model. *Drug Des Devel Ther.* 2016;10:1847-1856.
6. Ezejiofor AN, Orisakwe OE. Nephroprotective effect of Costus afer on lead induced kidney damage in albino rats. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2019;11(2):36-44.
7. Simões MR, Azevedo BF, Alonso MJ, Salaiques M, Vassallo DV. Chronic low-level lead exposure increases mesenteric vascular reactivity: role of Cyclooxygenase-2-derived prostanoids. *Front Physiol.* 2021;11:590308.
8. Korpela H, Loueniva R, Yrjänheikki E, Kauppila A. Lead and cadmium concentrations in maternal and umbilical cord blood, amniotic fluid, placenta, and amniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1986;155(5):1086-1089.
9. Zhang H, Bai X, Zheng X. Distribution of lead in fetal rat tissue at different days of pregnancy. *Wei Sheng Yan Jiu.* 1999;28(2):88-90.
10. Maric C, Ryan GB, Alcorn D. Embryonic and postnatal development of the rat renal interstitium. *Anat Embryol (Berl).* 1997;195(6):503-14.
11. Errede M, Elia G, Bertossi M, Mulas ML, Riva A, Virgintino D, et al. Developmental effects of lead acetate on the chick embryo metanephros. *J Submicrosc Cytol Pathol.* 2001;33(3):261-273.
12. El-Shabaka H, Abu-Sinna G, Al-Henzab N. Lead-induced malformations and kidney destruction of developing chick embryos. *Qatar Univ Sci J.* 1993;13:271-275.
13. Mohamed N, Saleh S. Effect of pre and postnatal exposure to lead acetate on the kidney of male albino rat : a light and electron microscopic study. *Egypt J Histol.* 2010;33:365-379.

МОРФОГЕНЕЗ НИРКИ ЩУРА В РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ РОЗВИТКУ ПІД ВПЛИВОМ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ Довгаль Г. В., Савочкіна М. В., Довгаль М. А.

Резюме. Мета дослідження – виявити зміни морфогенезу нирок щура у ранньому постнатальному розвитку в умовах токсичної дії ацетату свинцю протягом пренатального періоду, а також до настання вагітності.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження проводилися на щурах самках лінії Wistar вагою 200-220 г. Самки дослідної групи отримували 2,5% водний розчин ацетату свинцю з розрахунку 50 мг/кг маси тіла один раз на добу протягом двох тижнів перед настанням вагітності та протягом усього терміну експерименту. На 1 та 7 добу постнатального розвитку досліджували гістологічну та ультраструктурну будову нирок.

Результати. На 1 та 7 добу диференціація клубочків та тубуло-васкулярної системи не завершилася. У динаміці зменшується кількісна інтерстиція і збільшується щільність ниркових тілець і канальців. Встановлено порушення клубочкової перфузії та фільтрації, що полягало у стазі еритроцитів, виявлені ознаки дистрофічних змін ендотеліоцитів та подоцитів. Після впливу ацетату свинцю виявлено більшу кількість інтенстицію у мозковій речовині, різке кровонаповнення судин, особливо на межі з кірковою речовиною. Ультраструктурні зміни епітелію канальців полягали в набуханні мітохондрій, хоча цілісність епітеліального шару зберігалася.

На люмінальній поверхні ендотеліоцитів виявлено збільшення інвагінацій і кавеол. Базальна мембрана неоднорідна за своєю структурою за рахунок чергування ділянок типової тришарової будови і розширених зон набряку. Зміни подоцитів мозаїчні: деякі мають електроннощільну цитоплазму, в інших порушувався патерн розвитку цитоподій, товщина фільтраційного бар'єру була нерівномірною. У складі канальцевого апарату зміни виражені помірно і пов'язані з набряком і деструкцією мітохондрій, внаслідок чого у клітинах реєструються різного діаметру атипові везикули.

Висновки. Зроблено висновок про нефротоксичний вплив ацетату свинцю, дія якого полягає у пошкодженні мембранних органел, особливо мітохондрій, на тканинному рівні свинець викликає ушкодження ендотелію мікросудин.

Ключові слова: нирки, щури, морфогенез, свинець, токсичність.

MORPHOGENESIS OF RAT KIDNEY IN EARLY POSTNATAL DEVELOPMENT UNDER THE INFLUENCE OF LEAD ACETATE

Dovhal H. V., Savochkina M. V., Dovhal M. A.

Abstract. *The aim of research* was to study the changes in the morphogenesis of the rat kidneys in early postnatal development under the toxic effect of lead acetate during the prenatal period, as well as before pregnancy.

Material and methods. Experimental studies were carried out on female rats of the Wistar line weighing 200-220 g. The females of the experimental group received a 2.5% aqueous solution of lead acetate at the dosage of 50 mg/kg once a day for two weeks before the onset of pregnancy and during the pregnancy. On days 1 and 7 of postnatal development, the histological and ultrastructural study of the kidneys was performed.

Results. On days 1 and 7, the differentiation of the glomeruli and the tubulo-vascular system was not completed. The number of interstitial space has decreased and the density of the renal glomeruli and tubules has increased. The violations of glomerular perfusion and filtration were observed, as well as the stasis of erythrocytes. The dystrophic changes in endotheliocytes and podocytes were noticed. After exposure to lead acetate, more severe disorders were found in the medullar layer, a blood overflow to the vessels, especially on the border with the cortical layer. The ultrastructural changes in the epithelium of the tubules were noticed as swelling of mitochondria, although the integrity of the epithelial layer was safe. The increase of the number of invaginations and caveolae was found on the luminal surface of endotheliocytes. The basement membrane was heterogeneous in its structure due to the alternation of typical three-layer structure and extended areas of edema. The changes of podocyte were mosaic: some of them had electron-dense cytoplasm, others demonstrated abnormal pattern of cytopodia development, and the thickness of the filtration barrier was irregular. The disorders in the tubular apparatus were moderate and associated with edema and destruction of mitochondria, resulting in the atypical vesicles of different diameters.

Conclusion. The most prominent nephrotoxic impact of lead acetate is the damage of membrane organelles, especially mitochondria, in the epithelium of the tubules, and also the destruction of the microvessels endothelium.

Key words: kidneys, rats, morphogenesis, lead, toxicity.

ORCID авторів та їх внесок до статті:

Dovhal H. V.: 0000-0002-0594-7370 ^{ABEF}

Savochkina M. V.: 0000-0003-3897-1307 ^{BCD}

Dovhal M. A.: 0000-0003-4919-5673 ^{BCD}

Конфлікт інтересів:

Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Адреса для кореспонденції

Довгаль Геннадій Володимирович

Дніпровський державний медичний університет

Адреса: Україна, 49044, м. Дніпро, вул. Вернадського 9

Тел.: 0960222408

E-mail: dovgalgem@i.ua

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.

Стаття надійшла 28.11.2021 року
Стаття прийнята до друку 02.05.2022 року