

Дослідження протекторних властивостей гідрогелю метилкремнієвої кислоти щодо нейротоксичності, індукованої Cr (VI) в зоровому нерві щурів

О. В. Кузенко ¹, аспірантка; Ю. А. Дьомін ¹, д-р мед. наук, проф.; Кузенко Є.В. ², д-р мед. наук, доцент

¹ Харківська медична академія післядипломної освіти;
Харків (Україна)

² Сумський державний університет, медичний інститут;
Суми (Україна)

E-mail: logvinenok26@gmail.com

Актуальність. Токсична оптична нейропатія найчастіше виникає при впливі екзогенних факторів. При прогресуванні процесу розвивається гостра або хронічна прогресуюча загибель гангліозних клітин сітківки та їх аксонів, що призводить до часткової або повної атрофії зорових нервів з різним ступенем втрати зорових функцій. В умовах існуючої екологічної кризи в усьому світі, пов'язаної з техногенним забрудненням навколишнього середовища Cr(VI), актуальним є вивчення впливу Cr(VI) на зоровий нерв і пошук патогенетично об'єктованих коректорів.

Мета. Вивчити викликані Cr(VI) морфологічні зміни в зоровому нерві щурів та оцінити ефективність використання гідрогелю метилкремнієвої кислоти для корекції отриманих зрушень в експерименті.

Матеріали і методи. Експериментальне дослідження проведено на 72 безпородних білих статевозрілих щурах-самцях, які були розділені на три групи: I – контрольна група інтактних щурів (n = 24), II група – щури (n = 24), які отримували питну воду, збагачену Cr(VI) ($K_2Cr_2O_7$) – 0,02 моль/л і III група – тварини (n=24), які вживали воду, насичену $K_2Cr_2O_7$ і в якості коректора гідрогель метилкремнієву кислоту (Ентеросгель) в дозі 0,8 мг/кг на добу. Контрольні щури отримували звичайну воду. Тварин декапітували під ефірним наркозом і проводили у них забір інтракраніальної частини зорового нерва на 20, 40 і 60 добу експерименту з подальшим аналізом морфологічних змін за допомогою гістоморфометричних та електронно – мікроскопічних методів.

Результати. За даними морфометричного аналізу, через 2 місяці після прийому Cr(VI) в інтракраніальному відділі зорового нерва щурів виникала деформація і фрагментація нервових волокон, набряк сполучнотканинних септ з розвитком дифузного клітинного гліозу. Накопичення Cr(VI) та дисбаланс електролітів в зоровому нерві були виявлені за даними скануючої електронної мікроскопії. Застосування Ентеросгелю повністю нівелювало токсичний вплив Cr(VI) на зоровий нерв щурів на 20 і 40 добу експериментального моделювання, залишаючи лише мінімальні наслідки дисциркуляторних змін на 60 добу.

Ключові слова:

шестивалентний хром, експеримент, токсичність, зоровий нерв, ентеросгель, скануюча електронна мікроскопія

Вступ. Забруднення навколишнього середовища важкими металами (ВМ) зростає з кожним роком [1-4] і викликає серйозне занепокоєння про можливі негативні наслідки [5, 28]. В країнах з низьким та середнім рівнями доходів 1 з 7 смертельних випадків пов'язані з забрудненням довкілля [35]. В цих країнах до найсерйозніших забруднювачів відносять: свинець, радіонукліди, ртуть, шестивалентний хром, пестициди і кадмій, які усі разом взяті чинять негативний вплив на здоров'я 95 мільйонів осіб.

Серед екологічних чинників ризику виникнення атрофії зорових нервів (АЗН), Васюта В. А. наводить шестивалентний хром. А саме, перевищення нормативів гранично допустимих концентрацій Cr(VI) в 1,79 рази в ході дослідження було виявлено у водних басейнах регіону, де проживають пацієнти з АЗН. Автор вважає, що Cr(VI) слід вважати більш загрозливим і не-

сприятливим по відношенню до розвитку АЗН, поряд з іншими досліджуваними екологічними чинниками [6].

Відзначено роль свинцю (Pb), ртуті (Hg), кадмію (Cd) у розвитку глаукоми, катаракти, вікової макулярної дегенерації, синдрому сухого ока [7-10].

Інтерес представляють описані в літературі токсична оптична нейропатія та ретинопатія, яка виникає через кілька років після імплантації ендопротезу, складовими якого є Co(II) та Cr(VI) [11-13]. На думку авторів токсична роль Cr(VI) є спірною, так як залишається не до кінця зрозумілою.

Сучасна офтальмологія дозволяє успішно моделювати на тваринах хронічний екопатогенний вплив різних ксенобіотиків. Змодельовані таким чином захворюван-

ня сітківки та зорового нерва (ЗН) дають можливість отримати інформацію про механізми виникнення і розвитку патології.

Перспективним напрямком для зниження токсичних наслідків після впливу важких металів є пошук коректорів. Наукову зацікавленість представляють дослідження по вивченню впливу продуктів бджільництва, вітамінів Е, С, В1, пробіотиків, симвастатину, фітохімічних препаратів. Різноманітність і відсутність єдиної точки зору у виборі засобів лікування або профілактики залишає це питання відкритим і вимагає експериментальних обґрунтувань.

З огляду на вищевикладене, **метою** нашого дослідження було вивчити викликані Cr(VI) морфологічні зміни в зоровому нерві щурів та оцінити ефективність використання гідрогелю метилкремніевої кислоти для корекції отриманих зрушень в експерименті.

Матеріал та методи

Дослідження проведено на 72 безпородних білих статевозрілих щурах-самцях, які були розділені на 3 групи: I – контрольна група інтактних щурів (n=24), які отримували з їжею звичайну воду; II група – щури (n=24), які отримували питну воду, збагачену Cr(VI) ($K_2Cr_2O_7$) – 0,02 моль/л, яка характерна для північних районів Сумської області [14] і III група – тварини (n=24), які вживали воду, насичену $K_2Cr_2O_7$ (доступ до води був вільним) і в якості коректора гідрогель метилкремніевої кислоти – Ентеросгель (паста для перорального застосування «Ентеросгель», ЕОФ «КРЕОМА-ФАРМ», Україна) в дозі 0,8 мг/кг на добу. Ентеросгель щурам вводили перорально з піпетки 1 раз в день о 9:00 кожного ранку. Протягом 2 годин після цього витримували харчову паузу. Доступ до води був вільним у всіх групах дослідження. Для дорослих людей добова доза Ентеросгелю становить 45 мг на добу. Відповідно [15] рекомендаціям, дозу препарату для щурів розраховували з урахуванням видової приналежності за формулою, запропонованою Ю. Р. Риболовцевим і Р. С. Риболовцевим [16].

Тварин декапітували під ефірним наркозом і проводили у них забір інтракраніальної частини зорового нерва (далі – зоровий нерв). Дослідження змін в зоровому нерві у щурів з модельованою токсичною оптичною нейропатією без введення Ентеросгелю і з введенням Ентеросгелю проводили через 20, 40 і 60 днів експерименту.

Під час експерименту строго дотримувалися умови Гельсінкської декларації (Генеральна асамблея Всесвітньої медичної асоціації, 2008 року), норми і принципи Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986).

Гістологічні препарати фарбували гематоксилином і еозином. Зразки аналізували за допомогою світлового мікроскопа «Carl Zeiss Primo Star» (Німеччина) з цифровою камерою («Zeiss AxioCam ERc 5s» з об'єктивами x4, x10, x40 і біноклем 10), (Німеччина).

Визначити тип гліальних клітин в зоровому нерві (ЗН) з використанням даного забарвлення важко, тому підраховували загальну кількість гліоцитів на мікропрепаратах та перераховували за допомогою формули отримані дані в mm^2 , що дозволяє уникнути похибки, пов'язаної з неоднаковими розмірами поля зору у різних мікроскопів при одному і тому ж збільшенні. Використовували формулу:

$$M = a / (10 * n)$$

де: M – кількість клітин в mm^2 ;

a – кількість клітин в полі зору;

10 – середня товщина зрізу мікропрепарату, мкм;

n – збільшення окуляра;

Визначення мікроелементного складу у відсотках до загальної кількості обраних елементів в зоровому нерві, проводили за допомогою кристалдифракційного і енергодисперсійного спектрофотометрів на скануючому електронному мікроскопі SEM-102E виробництва JCK Selmі (Суми, Україна) з прискорюючою напругою 20-100 кВ. Збільшені (2700-3600) зображення були оброблені програмою Karra Image і цифровою камерою Baumer / Ortronic Тур: CX 05c, картування – Mapping і QuantMap.

Статистична обробка даних проводилася методом варіаційної статистики за допомогою програми Microsoft Excel 2007. Визначення достовірності відмінностей проводилося з використанням t-критерію Стьюдента (t). Результати використаних методів вважали статистично значущими з ймовірністю помилки $p < 0,05$.

Результати дослідження

Проведені гістологічні дослідження ЗН щурів усіх груп спостереження виявили істотні зміни на мікροструктурному рівні в порівнянні з контролем (рис.1).

На гістологічних препаратах на 20 добу експерименту в ЗН щурів, які вживали воду, збагачену Cr (VI) відмічені початкові дегенеративні зміни гліоцитів: ядра гіперхромні, хроматин розташовується у вигляді глибок, ядра розташовуються, в основному, ексцентрично. Зустрічаються клітини з поодинокими світлими грудочками хроматину, розсіяними в ядрах і по їх периферії. (рис. 1 Б). У судинах мікроциркуляторного русла ЗН визначаються поодинокі ділянки розладів кровообігу: повнокров'я капілярів, агрегація еритроцитів, сладж-феномен, крайове стояння лейкоцитів. Навколо анатомічно збереженої цілісності судинної стінки візуалізувався помірний периваскулярний набряк. Ендотеліоцити внутрішньої вистілки деформовані з утворенням різноманітних виступів та базальним розташуванням ядра.

На 40 добу зміни були більш помітними (рис. 1 В). На гістологічному рівні мікроскопічної структури ЗН статевозрілих щурів відбувалася фрагментація пласту нервових волокон (НВ) з деформацією форми. НВ були відокремлені один від одного набряком сполучнотканинних септ і, загалом, приймали хвилеподібний

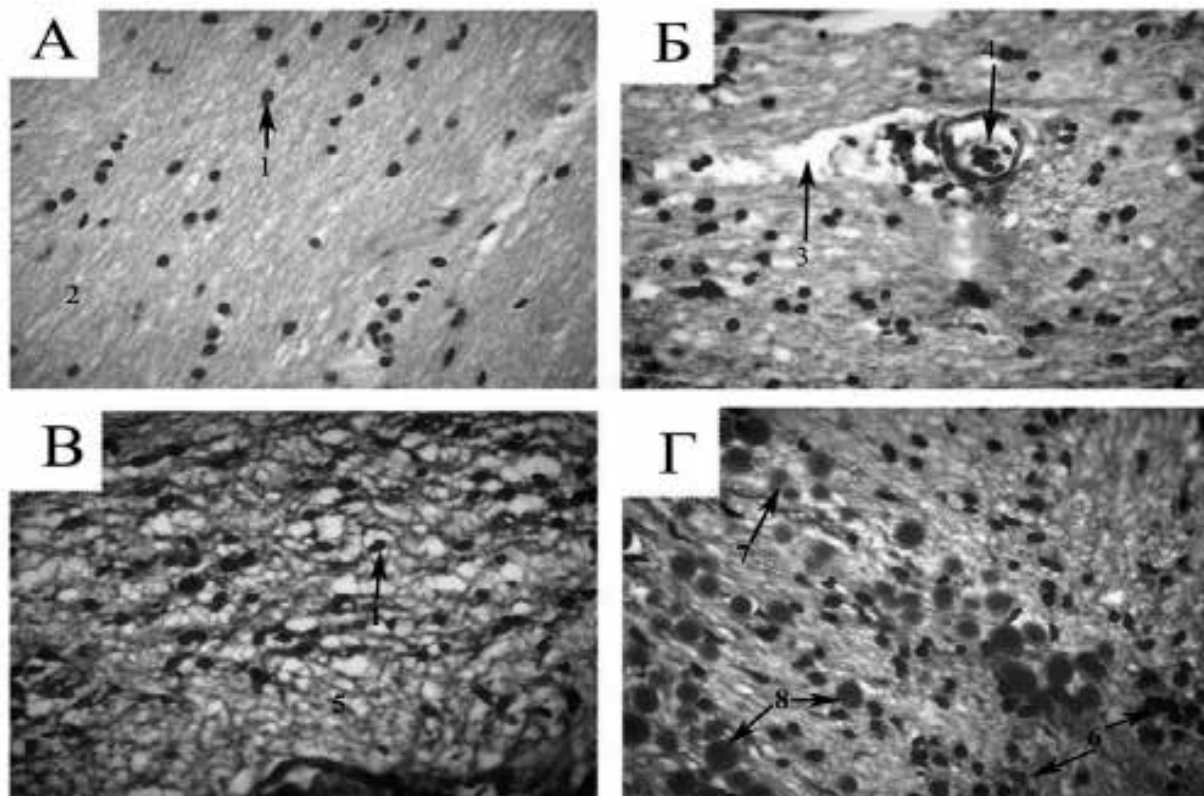


Рис. 1. Зоровий нерв II групи щурів на 20 (Б), 40(В) та 60(Г) добу експериментального вживання Cr(VI). Забарвлення гематоксилін – еозин. Продольний зріз. Збільшення $\times 40; \times 10$. А – контрольна група щурів.

Позначення: 1 – гліоцит, 2 – нервові волокна; 3 – периваскулярні набрякові явища, 4 – повнокров'я та стаз судин, 5 – набряк між нервовими волокнами та їх дезорганізація, 6 – явища гліозу, 7 – апоптотично-дистрофічні зміни гліоцитів, 8 – некротично-дистрофічні зміни в гліоцитах.

вигляд. Гліоцити мали зубчасті контури, клітинна та ядерна мембрана не візуалізувалася або контурувалася слабо, ядро мало слабе забарвлення хроматину.

Після довготривалого впливу Cr (VI) на мікропрепаратах ЗН щурів на 60 добу дослідження відмічені реактивні зміни нейроглії у вигляді помірної проліферації гліоцитів (рис. 1 Г). Частина з яких мала некротично – дистрофічні зміни з ознаками каріорексису і була представлена у вигляді «таючого цукру» і «клітини–тіні». Виявлені апоптотичні тільця в полі зору на світлооптичному рівні є кінцевою стадією запрограмованої клітинної гибелі гліоцитів шляхом апоптозу. Відмічено порушення гістоархітекtonіки інтракраніального відділу ЗН за рахунок частих, але не масивних деформацій НВ, порушення їх паралельного розташування.

Під час підрахунку кількості клітин глії у II групі дослідження виявлені зміни показників за всіма трьома термінами (табл. 1). Найбільш виразні зміни в кількості гліоцитів були на 60 добу експериментального вживання Cr (VI) і дорівнювали 3060 ± 180 кл/мм², що статистично достовірно перевищувало контроль в 1,7 раза ($p = 0,02$).

Гістологічний аналіз зорового нерва тварин III групи, які протягом всього терміну дослідження вживали Cr(VI) та в якості коригуючої терапії Ентеросгель, по-

Таблиця 1. Середнє значення кількості клітин нейроглії у внутрішньочерепному відділі зорового нерва щурів всіх експериментальних груп ($M \pm m$; $n=24$)

Групи дослідження	Тривалість спостереження, доба	Кількість гліоцитів в 1 мм ²
I (К) (n=24)	контроль	1800 ± 60
II (Cr) (n=24)	20	2010 ± 210
	40	$2310 \pm 270^*$
	60	$3060 \pm 180^{**}$
III (Cr +E) (n=24)	20	1680 ± 90
	40	1710 ± 60
	60	1890 ± 90

Примітка: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,02$ – достовірна різниця між порівнюваними вибірками за t-критерієм Стьюдента відносно контролю.

казав зменшення інтенсивності морфологічних перетворень у нейроглії та аксонах гангліозних клітин на противагу щурам серії без коректора (рис. 2 А, Б).

Мікроскопічне вивчення гістологічних препаратів ЗН на 20 та 40 добу одночасного вживання Cr (VI) та

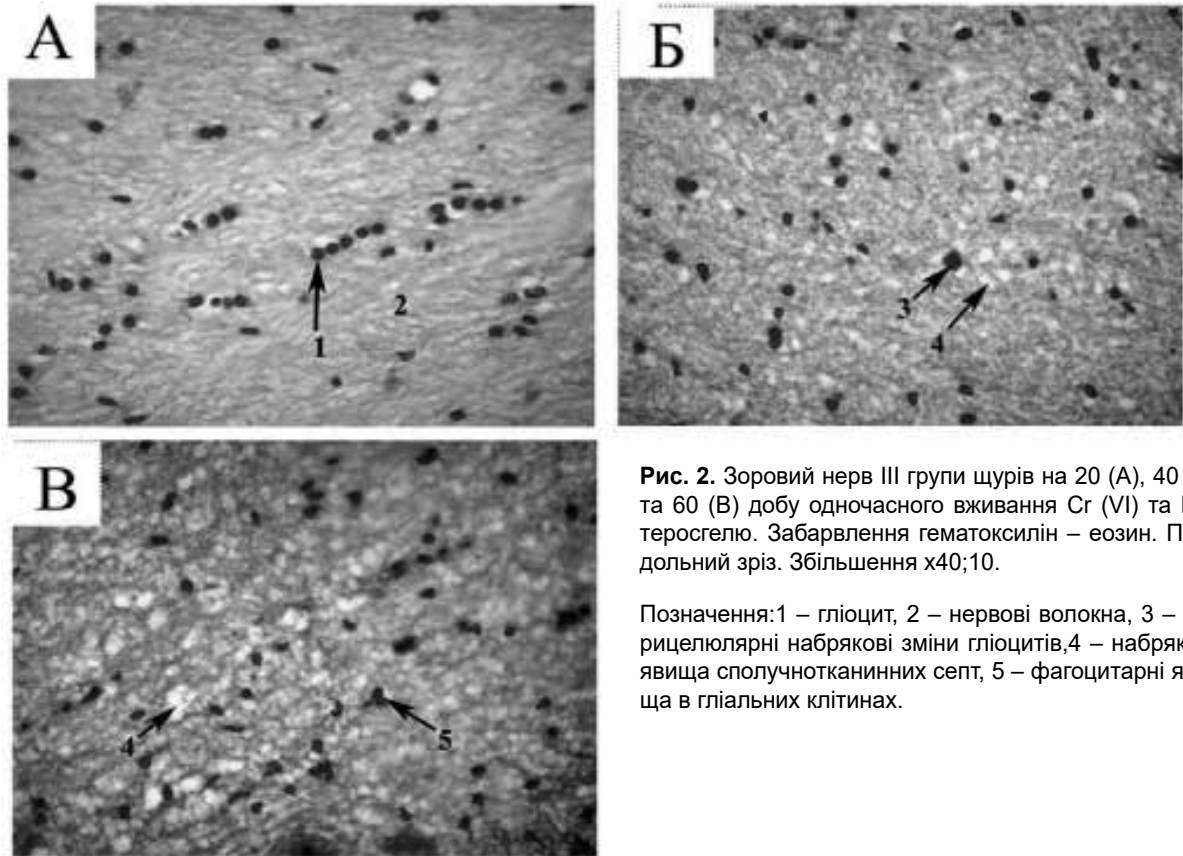


Рис. 2. Зоровий нерв III групи щурів на 20 (А), 40 (Б) та 60 (В) добу одночасного вживання Cr (VI) та Ентеросгелю. Забарвлення гематоксилін – еозин. Продольний зріз. Збільшення $\times 40;10$.

Позначення: 1 – гліоцит, 2 – нервові волокна, 3 – перичелюлярні набрякові зміни гліоцитів, 4 – набрякові явища сполучнотканинних септ, 5 – фагоцитарні явища в гліальних клітинах.

Ентеросгелю виявило реактивні перебудови нервових волокон і клітин нейроглії (рис. 2 А, Б). У цілому, візуалізація чіткого паралельного розташування НВ погіршена за рахунок незначного набряку сполучнотканинних септ, до складу яких входять колагенові, еластичні, ретикулярні волокна, а також фібробласти та численні кровоносні судини. Зустрічаються поодинокі дистрофічно змінені гліоцити з явищами перичелюлярного набряку (рис. 2 Б – 3).

60 доба вживання комбінації Cr (VI) та Ентеросгелю супроводжувалась більш вираженими структурно-морфологічними змінами у ЗН лабораторних тварин (рис. 2 С). На світлооптичному рівні нервовий пласт був представлений сіткою звивистих різнонаправлених та хаотично розміщених нервових волокон завдяки прогресуванню та посиленню набрякових змін в сполучній тканині, яка вкриває пучки НВ зорового нерва.

Кількість гліоцитів в ЗН щурів з пролонгацією експериментального впливу Cr (VI) та застосування коригуючого препарату на 60 добу дорівнювала 1890 ± 90 ($p \geq 0,05$), що майже не відрізняється від контрольних значень 1800 ± 60 ($p \geq 0,05$) (табл. 1), але з помірними дегенеративними змінами. Зустрічались поодинокі гліоцити в процесі фагоцитування макрофагальними клітинами.

В таблиці 2 представлені результати кількісного мікроелементного аналізу внутрішньочерепного відділу зорового нерва експериментальних щурів всіх груп

методом скануючої електронної мікроскопії за допомогою кристалдифракційного та енергодисперсійного спектрофотометрів.

У інтактних тварин II групи на 20 день експерименту в досліджуваних зразках зорового нерва не визначалося накопичення Cr (VI). Зі збільшенням часу дослідження, у щурів II групи відзначається значуще накопичення Cr (VI) в ЗН на 40 добу – $0,13 \pm 0,01$ ($p \geq 0,05$) з подальшим статистично достовірним збільшенням в 9,46 рази на 60 добу – $1,23 \pm 0,1\%$ ($p \leq 0,02$) (табл. 2).

Енергодисперсійний спектрометр дозволив виконати кількісний рентгенівський мікроаналіз складу двох точкових спектрів хімічних елементів в ЗН по площі. Для більш наочної візуалізації ми взяли II групу на 60 добу експерименту. Спектр, отриманий в точці 2, представлений на рисунку 3.

Для підтвердження накопичення Cr (VI) на 60 добу у II дослідній групі було проведено картування (рис. 4 – див. 3 стор. обкладинки). При накладенні карти розподілу хімічних елементів (рис. 4 Б) на мікроструктуру ЗН (рис. 4 А), отримали зелені зерна, що відповідають Cr (VI), червоні зерна – вуглецю (C), фіолетові зерна – фосфору (P), бірюзові зерна – кисню (O) (рис. 4 В). На рис. 4 Б видно локалізацію накопичення Cr (VI) в періневральному просторі ЗН з дифузією в нервові волокна.

Що стосується інших мікроелементів, виявлених в ЗН методом мікрорентгеноспектрального аналізу в II

Таблиця 2. Параметри змін виявлених хімічних елементів у внутрішньочерепному відділі зорового нерва щурів усіх експериментальних груп за даними мікрорентгеноспектрального аналізу

Група дослідження	Термін спостереження, доба	Досліджувані хімічні елементи, %				
		C	O	P	Ca	S
I (K) (n =24)	контроль	50,47±2.76	32,72±1.24	14,85±1,34	4,56±0,79	2,3±0,09
II (Cr) (n =24)	20	50,43±3.31	32,62±1.35	14,7±1,98	4,43±0,73	2,7±0,1
	40	50,36±2.24	32,56±1.38	14,91±1,48	4,23±0,86	2,5±0,15
	60	49,23±3,47	32,65±2.12	14,4±1,56	3,75±0,91*	2,4±0,87
III (Cr +E) (n =24)	20	51,34±2.49	32,71±1.98	14,57±1.23	4,75±0,47	2,4±0,13
	40	50,56±3.21	33,57±1,56	13,47±0,97	3,23±1,15*	2,7±0,79
	60	50,35±2.48	32,44±2,23	14,91±0,94	3,97±1,27*	2,2±0,93

Група дослідження	Термін спостереження, доба	Досліджувані хімічні елементи, %					
		Fe	Mg	K	Cl	Na	Cr
I (K) (n =24)	контроль	0,13±0,03	0,10±0,03	0,08±0,01	0,15±0,03	0,12±0,02	-
II (Cr) (n =24)	20	0,14±0,04	0,12±0,01	0,1±0,03	0,17±0,06	0,13±0,05	-
	40	0,15±0,03	0,13±0,04	0,1±0,02	0,2±0,09	0,23±0,09*	0,13±0,01
	60	0,13±0,06	0,06±0,009	0,07±0,01	0,16±0,01	0,25±0,06*	1,23±0,1**
III (Cr +E) (n =24)	20	0,17±0,08	0,12±0,04	0,1±0,009	0,2±0,04	0,12±0,07	-
	40	0,14±0,05	0,12±0,04	0,1±0,009	0,18±0,08	0,12±0,04	-
	60	0,12±0,09	0,10±0,06	0,09±0,01	0,15±0,09	0,15±0,06	0,26±0,05

Примітка: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,02$ - достовірна різниця між порівнюваними вибірками за t-критерієм Стьюдента відносно контролю.

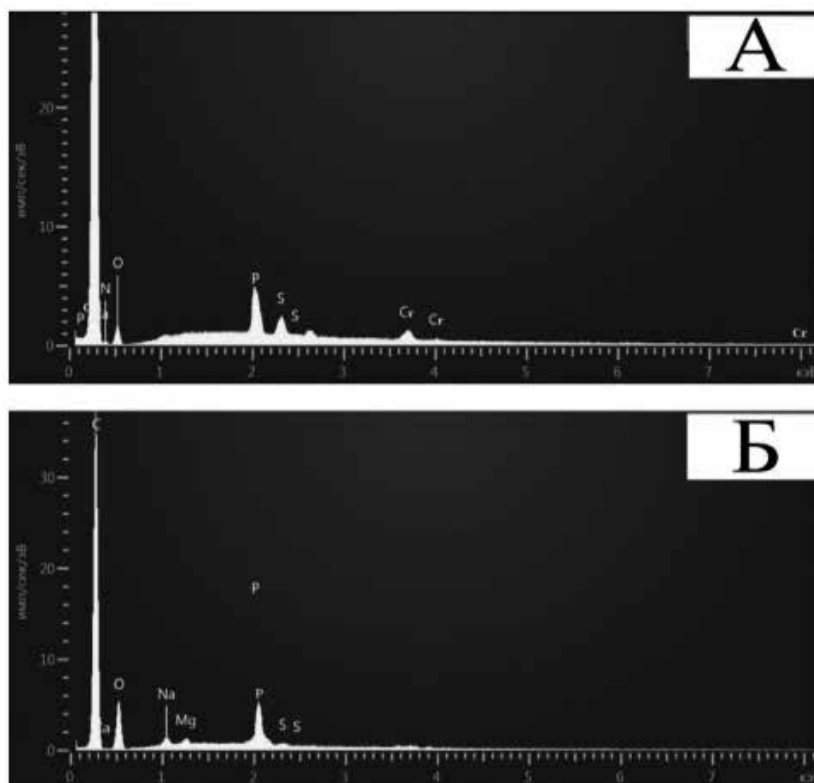


Рис. 3. Загальний вигляд ліній рентгенівського спектра, що показує наявність хімічних елементів в зоровому нерві щурів;

А – II експериментальна група на 60 добу вживання Cr (VI),

Б – III експериментальна група на 40 добу одночасного вживання Cr (VI) та Ентеросгелю.

експериментальній групі, то вони незначно відрізнялися від контрольних тварин (I група), за винятком Ca^{2+} , Mg^{2+} , та Na^{2+} (табл. 2). Стійка тенденція до зниження рівня Ca^{2+} була відзначена на 20 день – $4,43 \pm 0,73\%$ ($p \geq 0,05$) з наступним зменшенням на 60 добу експерименту до $3,75 \pm 0,91\%$ ($p \leq 0,05$) по відношенню до контрольної групи – $4,56 \pm 0,79\%$ ($p \geq 0,05$). Динаміка показників концентрації Mg^{2+} була нестабільною. Спочатку відзначалося поступове підвищення на 20 добу – $0,12 \pm 0,01\%$ ($p \geq 0,05$) і 40 добу – $0,13 \pm 0,04\%$ ($p \geq 0,05$) з подальшим максимальним зниженням в кінці терміну спостереження – $0,06 \pm 0,009\%$ ($p \geq 0,05$) в порівнянні з інтактними тваринами – $0,10 \pm 0,03\%$ ($p \geq 0,05$). Концентрація Na^{2+} в ЗН мала абсолютно протилежну динаміку в порівнянні з Ca^{2+} . Рівень Na^{2+} збільшувався з пролонгацією часу дослідження і на 60 день дорівнював $0,25 \pm 0,06\%$ ($p \leq 0,05$), що в два рази більше від контрольних значень – $0,12 \pm 0,02\%$ ($p \geq 0,05$).

Аналіз даних кількісного мікроелементного складу ЗН III групи, шури якої разом з Cr(VI) отримували гідрогель метилкремнієву кислоту в якості коректора, показав, що Cr(VI) визначався лише на 60 добу – $0,26 \pm 0,05\%$ ($p \geq 0,05$) при повній відсутності його на початку дослідження (20 та 40 доба) (табл. 2). На підтвердження вищесказаного ми не виявили Cr(VI) на карті розподілу хімічних елементів в ЗН щурів на 40 день в III групі (рис. 5 – див. 3 стор. обкладинки).

При вивченні вмісту Ca^{2+} , Mg^{2+} та Na^{2+} в ЗН щурів III групи методом скануючої електронної мікроскопії встановлено, що їх сумарні показники значно коливались протягом усього терміну спостереження, за виключенням 20 доби, де показники зазначених макроелементів дорівнювали нормативним значенням контрольної групи. Рівень Fe^{2+} в ЗН тварин на 20 добу одночасного вживання Cr(VI) та Ентеросгелю – дорівнював $0,17 \pm 0,08\%$ що в процентному співвідношенні вказує на зростання його рівня на $30,76\%$ ($p \geq 0,05$) відносно контролю (табл. 2).

Обговорення

В даній роботі нами вперше досліджувався захисний вплив Ентеросгелю щодо нейротоксичного ураження зорового нерва, індукованого Cr(VI) у щурів. Було виявлено: 1) через 2 місяці після прийому Cr(VI) в інтракраніальному відділі ЗН щурів виникла деформація та фрагментація нервових волокон, набряк сполучнотканинних септ, розвиток дифузного клітинного гліозу та дисбаланс електролітів з накопиченням Cr(VI) в ЗН; 2) одночасне застосування коригуючого препарату зменшувало токсичний вплив Cr(VI) на ЗН на 20 та 40 добу експериментального моделювання, залишаючи лише наслідки дисциркуляторних змін у вигляді помірного набряку колагенових волокон між деформованими нервовими волокнами ЗН на 60 добу.

Отримані гістопатологічні результати частково узгоджуються з роботою Salama A. та співавторів [17], які досліджували розподіл та ефекти Cr(VI) в головному мозку і легнях після інтраназального введення

дихромату калію щурам. Патологічний ефект прямо пропорційно залежав від введеної дози. У щурів, які вдихали Cr(VI) в дозі $0,5$ мг/кг, в головному мозку виявлені ознаки вогнищового гліозу і поодинокі дегенеративні зміни нейронів, пов'язані з нейронофагією. Зі збільшенням дози до 2 мг/кг патологічні зміни проявлялися некрозом нейронів, дифузною проліферацією гліоцитів, сателітозом та обширним крововиливом.

У наших результатах морфологічні зміни були підтверджені наявністю хрому в ЗН щурів, які зазнали впливу $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, у всіх термінах спостереження методом СЕМ. Цей факт можна пояснити здатністю Cr(V) проникати через гематоенцефалічний бар'єр [18].

Шляхи метаболізму і токсичність хрому залежать від його валентного стану – шестивалентний хром (Cr(VI)) у багато разів більш токсичний, ніж сполуки хрому (III) [32]. В клітині під час відновлення Cr(VI) до менш токсичних сполук – Cr(V) , (IV), (III) утворюється багато активних форм кисню (АФК) за рахунок блокади I комплексу дихального ланцюгу в мітохондріях [19], які здатні викликати пошкодження клітинних білків, ліпідів і ДНК [34]. Однак за фізіологічних умов відбувається їх інактивація за допомогою антиоксидантної системи захисту [20]. Зниження активності антиоксидантної системи під впливом Cr(VI) призводить до стану, відомому як оксидативний стрес (ОС) [21,27,31]. Експериментально доведено, що пероральне введення дихромату калію викликало ОС у кроликів, що супроводжувалось значним зниженням вмісту глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази та активності каталази, а також підвищенням рівня малонового альдегіду, кінцевого продукту перекисного окислення ліпідів [22].

Виявлені в нашому дослідженні на клітинному рівні апоптотичні зміни гліоцитів в ЗН щурів, які отримували воду, насичену Cr(VI) , пояснюються попередніми роботами. Хіао F. та співавтори [19], довели, що Cr(VI) активує каспазу – 3, яка є незворотнім ефекторним ензимом у реалізації внутрішнього мітохондріального шляху запрограмованої клітинної гибелі. Cr(VI) , подібно до інших катіонних металів, долає зовнішню мембрану мітохондрій через механізм молекулярної мімікрії [23, 24]. Оскільки багато функцій астроцитів, такі як транспорт іонів і нейротрансмітерів, вимагають енергії [25], мітохондріальна дисфункція може порушувати здатність астроцитів виконувати нейропротекторні функції. Дисфункція або загибель олігодендроцитів головного мозку шляхом апоптозу призводить до демієлінізації та порушення проведення нервового імпульсу. Зниження життєздатності та значне зменшення кількості ліпідів в олігодендроцитах були виявлені в культурах клітин, оброблених субтоксичними дозами Cu^{2+} , Cr^{3+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Al^{3+} [26]. Тривалий вплив підвищеної концентрації важких металів давно пов'язують з низкою неврологічних розладів, включаючи розсіяний склероз, хворобу Паркінсона, хворобу Альцгеймера і м'язову дистрофію [29].

Препаратом вибору в якості коректора нами був обраний ентеросорбент. Згідно даних літератури, Ентеросгель, з одного боку, попереджає розвиток оксидативного стресу в мітохондріях [30], а з іншого, сорбує токсичні речовини з просвіту шлунково-кишкового тракту, не даючи їм потрапити в системний кровообіг [33].

Вперше в нашому досліді, введення Ентеросгелю продемонструвало позитивну дію на патоморфологічні зміни в ЗН, які виникали у щурів під впливом Cr(VI) (по динаміці морфологічних змін та за даними мікрорентгеноспектрального аналізу). А саме, на 20 та 40 добу Ентеросгель повністю нівелює вплив шестивалентного хрому. На 60 добу вживання Cr(VI) і Ентеросгелю з'являються якісні та кількісні зміни токсичного впливу хрому на ЗН, що може свідчити про зрив компенсаторних можливостей в організмі.

На підставі проведеного морфологічного та електронно-мікроскопічного досліджень можна зробити висновок: введення Ентеросгелю в дозі 45 мг/кг повністю припиняє альтеративні процеси в ЗН щурів, викликані Cr(VI) протягом перших 40 діб експерименту.

Практичні рекомендації: Ентеросгель може використовуватися в складі комплексного лікування токсичних уражень зорового нерва.

Література

- Tong S.** Concentration, Spatial Distribution, Contamination Degree and Human Health Risk Assessment of Heavy Metals in Urban Soils across China between 2003 and 2019-A Systematic Review / H. Li, L. Wang, M. Tudi [et al.] // *Int J Environ Res Public Health*. – 2020. – Vol. 17(9) - P. 3099.
- Tytła M.** Assessment of Heavy Metal Pollution and Potential Ecological Risk in Sewage Sludge from Municipal Wastewater Treatment Plant Located in the Most Industrialized Region in Poland-Case Study / M. Tytła // *Int J Environ Res Public Health*. – 2019. - Vol. 16(13). – P. 24-30.
- Стеценко Д. О.** Важкі метали у ґрунтах радіоактивно забруднених лісових екосистем / Д. О. Стеценко // *Пошукова та екологічна геохімія*. – 2009. - № 9. - P. 42-47.
- Білецька Е. М.** Еколого-гігієнічна детермінованість погіршення здоров'я населення промислового / Е. М. Білецька // *Environment & health*. – 2016. -№ 4. – С. 15-18.
- Rahman Z.** The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr(VI)), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview / Z. Rahman, V.P. Singh // *Environ Monit Assess.* – 2019. – Vol. 191(7). – P. 419.
- Васюта В. А.** Медико-соціальне обґрунтування системи медичної допомоги хворим з атрофією зорових нервів: автореф. дис. доктора мед. наук: 14.02.03 / В. А. Васюта. – Киев, 2015. – 361 с.
- Vennam S.** Heavy metal toxicity and the aetiology of glaucoma / S. Vennam, S. Georgoulas, A. Khawaja [et al.] // *Eye (Lond)*. – 2020. – Vol. 34(1). – P. 129-137.
- Shuai-Chun Lin. Association Between Body Levels of Trace Metals and Glaucoma Prevalence / Shuai-Chun Lin, Kuldev Singh, Shan C. Lin. // *JAMA Ophthalmol*. – 2015. – Vol. 133(10). – P. 1144-1150.
- Jung S.J.** Association between Three Heavy Metals and Dry Eye Disease in Korean Adults: Results of the Korean National Health and Nutrition Examination Survey / S.J. Jung, S.H. Lee // *Korean J Ophthalmol*. – 2019. –Vol. 33(1). – P. 26-35.
- Wills N. K.** Human retinal cadmium accumulation as a factor in the etiology of age-related macular degeneration / N K Wills, N Kalariya, V M Sadagopa Ramanujam [et al.] // *Experimental eye research*. – 2009. – Vol. 89. – P. 79-87.
- Apel W.** Cobalt-chromium toxic retinopathy case study / W. Apel, D. Stark, A. Stark [et al.] // *J. Doc Ophthalmol*. – 2013. – Vol. 126(1). – P. 69-78.
- Ng S.K.** Hip-implant related chorio-retinal cobalt toxicity / S.K. Ng, A. Ebnetter, J.S. Gilhotra // *Indian J Ophthalmol*. – 2013. – Vol. 61. – P. 35-37.
- Garcia M. D.** Cobalt toxic optic neuropathy and retinopathy: Case report and review of the literature / M.D. Garcia, M. Hur, J.J. Chen [et al.] // *Am J Ophthalmol Case Rep*. - 2020. – Vol. (17). – P. 100606
- Vashkulat N.P.** Establish levels of heavy metals in soils in Ukraine / N.P. Vashkulat // *Environ Health*. – 2002. – Vol. 2. – P. 44-46.
- Електронний ресурс: https://compendium.com.ua/info/45247/enterosgel_/?gclid=Cj0KCQiAhs79BRD0ARIsAC6XpaWNtWnGca92BMToa94LSBYTztnf8rHzcqqqIYuDB5J18_1AkqghI7gaAvxTEALw_wcB
- Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С.** Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // *Доклады Академии Наук СССР*. – 1979. - Т. 247, № 6. - С. 1513–1516.
- Salama A.** Intranasal Chromium Induces Acute Brain and Lung Injuries in Rats: Assessment of Different Potential Hazardous Effects of Environmental and Occupational Exposure to Chromium and Introduction of a Novel Pharmacological and Toxicological Animal Model / A. Salama, R. Hegazy, A. Hassan // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11(12). – P. 1-20.
- Duckett S.** Abnormal deposits of chromium in the pathological human brain / S. Duckett // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. – 1986. –Vol. 49(3). – P. 296-301.
- Xiao F.** Hexavalent chromium targets mitochondrial respiratory chain complex I to induce reactive oxygen species-dependent caspase-3 activation in L-02 hepatocytes / F. Xiao, Y. Li, L. Dai [et al.] // *Int J Mol Med*. – 2012. – Vol. 30(3). – P. - 629-635.
- Величковский Б.Т.** Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды / Б.Т. Величковский // *Вестник РАМН*. – 2001. - 6. – P. 45-52.
- Kurutas E.B.** The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state / E.B. Kurutas // *Nutr J*. – 2016. – Vol. 15(1). – P. 71.
- Mary Momo C. M.,** Oxidative Effects of Potassium Dichromate on Biochemical, Hematological Characteristics, and Hormonal Levels in Rabbit Doe (*Oryctolagus cuniculus*) / C.M. Mary Momo, N. Ferdinand, N.K. Omer Bebe [et al.] // *Veterinary sciences*. – 2019. - 6(1). – P. 30.
- Bucio L.** Uptake, cellular distribution and DNA damage produced by mercuric chloride in a human fetal hepatic cell line / L. Bucio, C. García, V. Souza // *Mutat Res*. – 1999. – Vol. 423(1-2). – P. 65-72.
- Castellino N.** Intracellular distribution of lead in the liver and kidney of the rat / N. Castellino, S. Aloj // *British journal of industrial medicine*. – 1969. – Vol. 26(2). –P. 139–143.

25. **Hertz L.** Lactate transport and transporters: general principles and functional roles in brain cells / L. Hertz, G.A. Dienel // *J Neurosci Res.* – 2005. – 79(1-2). – P. 11-18.
26. **Maiuolo J.** Myelin Disturbances Produced by Sub-Toxic Concentration of Heavy Metals: The Role of Oligodendrocyte Dysfunction / J. Maiuolo, R. Macri, I. Bava [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20(18). – P. 45-54.
27. **Kotyzová D.** Effect of chromium (VI) exposure on antioxidant defense status and trace element homeostasis in acute experiment in rat / D. Kotyzová, A. Hodková, M. Bludovská [et al.] // *Toxicol Ind Health.* – 2015. – Vol. 31(11). – P. 1044-1050.
28. **Junaid M.** Toxicity and oxidative stress induced by chromium in workers exposed from different occupational settings around the globe: A review / M. Junaid, M. Z.Hashmi, R.N. Malik [et al.] // *Environ Sci Pollut Res Int.* – 2016. – Vol. 23(20). – P. 20151-20167.
29. **Chin-Chan M.** Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases / M. Chin-Chan, J. Navarro-Yepes, B. Quintanilla-Vega // *Front Cell Neurosci.* – 2015. – Vol. 9. – P. 124.
30. **Ніколаєв В.Г.** Застосування препарату Ентеросгель для профілактики оксидативного стресу при гострій крововтраті / В.Г. Ніколаєв, І.М. Кліщ, І.В.Жулкевич // *Вісник наукових досліджень.* – 2009. - № 8. – P. 72-74.
31. **Patlolla A.K.** Oxidative stress, DNA damage, and antioxidant enzyme activity induced by hexavalent chromium in Sprague-Dawley rats / A.K. Patlolla, C. Barnes, C. Yedjou [et al.] // *Environ Toxicol.* – 2009. – Vol. 24(1). – P. 66-73.
32. **Fang Z.** Genotoxicity of tri- and hexavalent chromium compounds in vivo and their modes of action on DNA damage in vitro / Z. Fang, M. Zhao, H. Zhen [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9(8). – P. 103194. doi:10.1371/journal.pone.0103194
33. **Howell C. A.** Investigation of the adsorption capacity of the enterosorbent Enterosgel for a range of bacterial toxins, bile acids and pharmaceutical drugs / C.A. Howell, S.V. Mikhailovsky, E.N. Markaryan [et al.] // *Sci Rep.* – 2019. – Vol. 9(1). – P. 5629.
34. **Sun H.** Oral Chromium Exposure and Toxicity / H. Sun, J. Brocato, M. Costa // *Curr Environ Health Rep.* – 2015. – Vol. 2(3). – P. 295-303.

Автори засвідчують про відсутність конфлікту інтересів, які б могли вплинути на їх думку стосовно предмету чи матеріалів, описаних та обговорених в даному рукопису.

Поступила 20.08.2020

Исследование протекторных свойств гидрогель метилкремниевой кислоты в отношении нейротоксичности, индуцированной Cr (VI) в зрительном нерве крыс

Кузенко Е. В., Демин Ю. А., Кузенко Е.В.

Харьковская медицинская академия последипломного образования; Харьков (Украина);
Сумской государственный университет, медицинский институт; Сумы (Украина)

Актуальность. Токсическая оптическая нейропатия чаще всего возникает при воздействии экзогенных факторов. При прогрессировании процесса развивается острая или хроническая прогрессирующая гибель ганглиозных клеток сетчатки и их аксонов, что приводит к частичной или полной атрофии зрительных нервов с разной степенью потери зрительных функций. В условиях существующего экологического кризиса во всем мире, связанного с техногенным загрязнением окружающей среды Cr (VI), актуальным является изучение влияния Cr (VI) на зрительный нерв и поиск патогенетически обоснованных корректоров.

Цель. Изучить вызванные Cr(VI) морфологические изменения в зрительном нерве крыс и оценить эффективность использования гидрогель метилкремниевой кислоты для коррекции полученных сдвигов в эксперименте.

Материал и методы. Экспериментальное исследование проведено на 72 беспородных белых половозрелых крысах-самцах, которые были разделены на три группы: I – контрольная группа интактных крыс ($n = 24$), II группа – крысы ($n = 24$), которые получали питьевую воду, обогащенную Cr(VI) ($K_2Cr_2O_7$) – 0,02 моль/л и

III группа – животные ($n = 24$), которые употребляли воду, насыщенную $K_2Cr_2O_7$, и в качестве корректора гидрогель метилкремниевую кислоту (Энтеросгель) в дозе 0,8 мг/кг в сутки. Контрольные крысы получали обычную воду. Животных декапитировали под эфирным наркозом и проводили у них забор интракраниальной части зрительного нерва на 20, 40 и 60 сутки эксперимента с последующим анализом морфологических изменений с помощью гистоморфометрических и электронно-микроскопических методов.

Результаты. По данным морфометрического анализа, через 2 месяца после приема Cr (VI) в интракраниальном отделе зрительного нерва крыс возникала деформация и фрагментация нервных волокон, отек соединительнотканых септ с развитием диффузного клеточного глиоза. Накопление Cr (VI) и дисбаланс электролитов в зрительном нерве были выявлены по данным сканирующей электронной микроскопии. Применение Энтеросгеля полностью нивелировало токсическое воздействие Cr (VI) на зрительный нерв крыс на 20 и 40 сутки экспериментального моделирования, оставляя лишь минимальные последствия дисциркуляторных изменений на 60 сутки.

Ключевые слова: шестивалентный хром, эксперимент, токсичность, зрительный нерв, энтеросгель, сканирующая электронная микроскопия