

## CHAPTER «BIOLOGICAL SCIENCES»

### EFFECT OF L-TOCOPHEROL-CORRECTOR ON MORPHO-FUNCTIONAL ADJUSTMENT OF RAT'S ADRENAL GLANDS UNDER CONDITIONS OF READAPTATION TO LONG-TERM EXPOSURE OF HEAVY METAL SALTS

### ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ-КОРЕКТОРА L-ТОКОФЕРОЛУ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ПЕРЕБУДОВИ НАДНИРНИКІВ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВИ РЕАДАПТАЦІЇ ДО ДОВГОТРИВАЛОГО ВПЛИВУ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Nataliia Hryntsova<sup>1</sup>

DOI: <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-190-9-2>

**Abstract.** The monograph presents a theoretical generalization and scientific solution of a comprehensive study of the structural components state of the mature rats adrenal cortex under conditions of adaptation to the long-term influence of heavy metal salts and correction with L-tocopherol. The experiment was carried out on 24 white sexually mature male rats at the age of 7-8 months. The animals of the experimental group consumed ordinary drinking water for 30 days with the corrector drug L-tocopherol after 90 days of receiving water saturated with a combination of salts of heavy metals: zinc ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) – 5 mg/l, ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) – 1 mg/l, iron ( $FeSO_4$ ) – 10 mg/l, manganese ( $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ ) – 0.1 mg/l, lead ( $Pb(NO_3)_2$ ) – 0.1 mg/l and chromium ( $K_2Cr_2O_7$ ) – 0.1 mg/l. The keeping of animals and all manipulations over them were carried out in accordance with national and international bioethical standards. To study morphological rearrangements in the adrenal cortex, histological,

---

<sup>1</sup> Candidate of Biological Sciences,  
Associate Professor at Department of Morphology,  
Sumy State University, Ukraine

morphometric, immunohistochemical and biochemical research methods were used. Sections were stained with hematoxylin-eosin, Einarson, and Van Gieson's. The expression of the proliferation marker Ki-67 and the heat shock marker 90 (Hsp90 $\alpha$ ) was determined on dewaxed sections 4-5  $\mu$ m thick according to the manufacturer's recommendations. The restoration of the histostructure of the adrenal cortex testified to the development of adaptive and regenerative processes in the organ, aimed at neutralizing the stress response and a number of hypoxic phenomena caused by the long-term influence of heavy metal salts. Adaptive rearrangements affected morphological changes in all structural components of the adrenal glands of experimental animals: stromal, vascular, and parenchymal. The corrector drug L-tocopherol had a bright protective effect on the structural components of the adrenal glands, taking into account its antioxidant properties, membrane-protective effect, etc. The positive adaptive morphological rearrangements in the adrenal glands can include a slight compensatory hypertrophy of the adrenal cortex, an increase in the functional activity index of the glomerular and reticular zones, a decrease in the severity of the fibrous component of the connective tissue of the stroma, the disappearance of stromal edema, stabilization of the circulatory system and rheological properties of the blood, improvement of the cytoarchitectonics of all zones cortex, the appearance of mitotic figures in the cells. There was a significant improvement in the state of the chromatin network of the nuclei of corticocytes and the appearance of nucleoli in most of the nuclei. The mechanisms of endocrine regulation of adaptive processes after prolonged exposure to salts of heavy metals in the body of experimental animals also worked due to the activation of the synthesis of sex hormones. An increase in Hsp90 $\alpha$  expression in adrenal corticocytes also indicated active adaptive processes in their cytoplasm aimed at restoring synthetic activity. Despite the positive rearrangements in the adrenal cortex, negative signs should also be noted, namely: stromal edema and moderate vascular plethora were still present in the reticular zone, although the severity of these morphological rearrangements decreased in comparison with the indicators of animals with a 90-day period of consumption of heavy metal salts. The positive dynamics of the development of adaptive processes in the adrenal glands suggests that in the future, an increase in the timing of readaptation with the use of L-tocopherol can positively affect the achievement of homeostasis

in the organ and lead to full or partial compensation for the action of the damaging agent on the organism of experimental animals.

### 1. Вступ

Розвиток патології окремих органів та систем організму викликають несприятливі фактори навколишнього середовища, що негативно впливають на здоров'я населення. Солі важких металів, кількість яких у екосистемі постійно зростає, привертають особливу увагу дослідників [1, с. 52; 2, с. 790; 3, с. 63; 4, с. 324]. В окремих північних районах України відмічене підвищення в ґрунті та питній воді солей цинку, хрому, свинцю, марганцю, міді та заліза, що зустрічаються в різних комбінаціях в залежності від регіону та чинять несприятливий вплив на здоров'я населення [5, с. 4]. У формуванні регуляції механізму компенсації на різні екстремальні фактори, що впливають на організм, ендокринній системі відводиться одна з провідних ролей. Адекватність, характер пристосувальних змін організму залежить від змін гормональної секреції, що забезпечують гомеостаз організму. Тривалий і багаторазовий стрес може стати основою стрес-індукованого розвитку патології [6, с. 179–181].

Наднирники є найбільш важливою ланкою в системі ендокринної регуляції більшості життєво важливих функцій організму. В той же час, наднирник є найбільш уразливим органом-мішенню для токсичності в ендокринній системі, і фактори, що сприяють цій уразливості, були визнані [7, с. 107; 8, с. 116]. Із літературних джерел відомо про вплив на наднирники негативних чинників зовнішнього середовища та вивчено механізми адренкортикальної токсичності [7, с. 110; 9, с. 121–122; 10, с. 82; 11, с. 30; 12, с. 618–621]. Так, була зроблена спроба розглянути вплив свинцю, ртуті, кадмію, міді, миш'яку і нікелю на стероїдогенез надниркових залоз організму людини і тварин. Токсичні метали можуть викликати структурні і функціональні зміни в надниркових залозах [13, с. 1–14]. Важкі метали, включаючи ртуть, кадмій, кобальт і мідь, чинять несприятливий вплив на життєздатність ізольованих наднирників щурів, причому ртуть є найбільш сильнодіючою. Результати показали пряму токсичну дію цих важких металів на спонгіцити наднирників. Інші протестовані метали (свинець, цинк, алюміній, хром, залізо, нікель і літій) не надали будь-якого

шкідливого впливу на життєздатність клітин або гормон-індукований стероїдогенез в клітинах надниркових залоз при тестуванні до концентрації 100 мкМ [14, с. 24–28]. Крім того, відомо, що велика кількість хімічних речовин перешкоджає стероїдогенезу в корі надниркових залоз і інших тканинах: ксенобіотики метірапон, спіронолактон, канренон, а також чотирихлористий вуглець та кадмій [15, с. 119–127]. На сьогоднішній день доведено негативну дію солей важких металів, як на організм, так і на наднирники [16, с. 1445–58]. Однак, інформація щодо комплексного вивчення впливу L-токоферолу на адаптаційні перебудови у наднирниках статевозрілих щурів після довготривалого впливу комплексу солей важких металів носить поодинокий характер, або включає лише відомості про адаптацію після впливу одного важкого металу на організм. Крім того, цікавим є вивчення експресії фактору проліферації Ki-67 у клітинах наднирників, а також експресії білка теплового шоку Hsp90. Відомо, що цей білок синтезується в певній кількості постійно в будь-яких ядерних клітинах, у безлічі внутрішньоклітинних структур (цитоплазмі, ядрі, ендоплазматичній сітці, мітохондріях), у всіх багатоклітинних організмів. Підвищення внутрішньоклітинного синтезу білків теплового шоку відбувається не тільки на тепловий шок, але і на будь-який стресовий вплив: ультрафіолетове опромінення, тепловий шок, важкі метали, амінокислоти, вірусні, бактеріальні та паразитарні інфекції, лихоманка, запалення, злаякісна трансформація, аутоімунні реакції або навіть ростові фактори, клітинна диференціація, гормональна стимуляція, ріст тканин, тощо. Синтез білків теплового шоку є універсальною неспецифічною відповіддю клітини на стрес, і, за сучасними даними, немає такого виду клітинного стресу, при якому не відбувалося б синтезу цього виду білка [17, с. 125]. Тому, **метою роботи** було комплексне вивчення впливу препарату-коректора L-токоферолу на морфофункціональні перебудови наднирників статевозрілих щурів за умови реадптації до довготривалого впливу комплексу солей важких металів.

## 2. Матеріали та методи

Експеримент проведений на 24 білих статевозрілих щурах-самцях масою 250-300 г, віком 7-8 місяців, що були розподілені на 2 групи (контрольну та експериментальну). Щури обох груп утримувалися

у звичайних умовах віварію, на стандартному питному та харчовому раціоні. Експериментальну групу склали щури, які на протязі 30 діб вживали звичайну питну воду з препаратом-коректором L-токоферолом після 90-то добового отримання до раціону води, насиченої комбінацією солей важких металів: цинку ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) – 5 мг/л, міді ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) – 1 мг/л, заліза ( $FeSO_4$ ) – 10 мг/л, марганцю ( $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ ) – 0,1 мг/л, свинцю ( $Pb(NO_3)_2$ ) – 0,1 мг/л та хрому ( $K_2Cr_2O_7$ ) – 0,1 мг/л. З метою корекції впливу негативної дії суміші солей важких металів у підвищених концентраціях використовували синтетичний препарат з діючою речовиною альфа-токоферолу ацетат (вітамін Е) у вигляді 10% (100 мг/мл) масляного розчину (20 мл в флаконі). Згідно рекомендацій виробника добова середня доза для дорослої людини становить 100 мг. Для розрахунку дози для лабораторного щура [18, с. 1513–16] дозу вітаміну Е розраховували з врахуванням видової приналежності за формулою: Доза для щура (на 1 кг маси) =  $r \times$ доза для людини / ( $R \times 70$ ). Де  $r$  – коефіцієнт видової приналежності для щура ( $r = 3,62$ ),  $R$  – коефіцієнт видової приналежності для людини ( $R = 0,57$ ). Так як середня терапевтична доза препарату для людини середньою масою 70 кг складає 100 мг/кг, то кількість вітаміну Е для щурів буде наступною: Доза для щура =  $3,62 \times 100$  мг / ( $0,57 \times 70$  кг) = 9,1 мг/кг. Така кількість препарату для щура відповідної маси становить 2,0 мг /1 раз на добу (відповідно 1 крапля препарату з очної піпетки, як додаток до звичайної питної води). Групи піддослідних тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом на 120-ту добу від початку досліду. З черевної порожнини щурів вилучали наднирники. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006, ст. 26), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013). Для вивчення морфологічних перебудов у корі надниркових залоз застосовували гістологічний, морфометричний, імуногістохімічний та біохімічний методи дослідження. Зрізи фарбували гематоксилін-еозином, Ейнарсоном та за Ван-Гізеном. Визначення експресії маркера проліферації Ki-67 та маркера теплового

шоку 90 (Hsp90 $\alpha$ ) проводили на депарафінованих зрізах завтовшки 4-5 мкм згідно з рекомендаціями виробника. Демаскування антигенів проходило у водяній бані «ВБ-4» при температурі 97-980С. Реакція антиген-антитіло була візуалізована з використанням системи детекції «UltraVision Quanto Detection System HRP DAB Chromogen» («Thermo scientific», США), яка включала блокування ендогенної активності пероксидази перекиснем водню, блокування неспецифічного фонового забарвлення з використанням «Ultra V block», посилення реакції «Primary Antibody Amplifier Quanto» та кінцева візуалізація діамінобензидином (ДАБ) з дозabarвленням ядер гематоксиліном Маєра [19, с. 41]. Для імуногістохімічної реакції використовували панель антитіл («Thermo scientific», США): кролячі моноклональні антитіла (клон SP6) з титром 1:100 та кролячі поліклональні антитіла до білка Hsp90 $\alpha$  з титром 1:200 згідно рекомендацій виробника. Оцінку експресії маркера проліферації Ki-67 проводили по кількості забарвлених ядер. Результат виражався у відсотках і оцінювався за прийнятою шкалою: 1) негативна реакція (-), 2) 0-20% – слабкий рівень експресії (+), 3) 21-50% – помірний рівень експресії (++), 4) 51-100% – значний рівень експресії (+++) [20, с. 176]. Оцінку експресії маркера Hsp90 $\alpha$  проводили по кількості забарвлених ядер та цитоплазми клітин залози. Результат виражався у відсотках і оцінювався за прийнятою шкалою у випадку позитивної реакції: слабопозитивна (1 бал), помірнопозитивна (2 бали) та сильнопозитивна (3 бали) реакція, враховуючи кількість клітин та інтенсивність їх забарвлення [19, с. 43]. Забір крові у шурів для біохімічних досліджень проводили шляхом пункції хвостової вени безпосередньо перед декапітацією в ранковий час, з 6 до 8 годин, у осінньо-зимовий період. Кров забирали в пробірки, центрифугували 20 хв при +4 °С (1000 g), після чого здійснювали відбір сироватки. Всі зразки були проаналізовані в двох повторях. У сироватці периферійної крові дослідних тварин (методом ІФА) визначали кількісні показники та оптичну щільність наступних гормонів: кортизолу СОР (нмоль/л), прогестерону (нмоль/л), естрадіолу (пмоль/л), загального (нмоль/л) та вільного (пг/мл) тестостерону (TES). Використовували наборів реагентів фірми Siemens на автоматичному імунохемолумінесцентному аналізаторі Immulite 1000 Siemens Healthcare Global. Обробка цифрових результатів виконувалася прикладними статистичними методами

за допомогою текстового редактора Microsoft Word Excell 2010 з додатком AtteStat 12.0.5. Достовірність розходження експериментальних і контрольних даних морфометричних показників оцінювали з використанням критерію Стьюдента, достатньою вважали ймовірність похибки менше 5% ( $p \leq 0,05$ ). Загальний морфологічний та морфометричний аналіз проводили за допомогою світлооптичного мікроскопа «Zeiss Primo Star», з об'єктивами  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$ , біокулярами 7, 10. Фотодокументування отриманих результатів проводили цифровою відеокамерою «AxioCam ERC 5S Zeiss».

### 3. Результати та їх обговорення

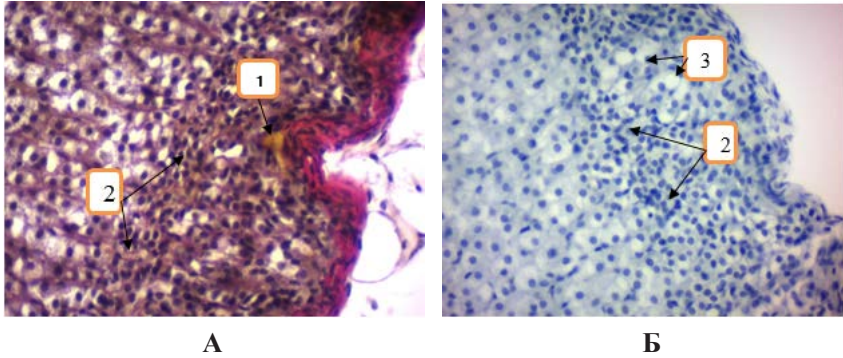
#### **3.1. Морфофункціональні перебудови клубочкової зони кори наднирників статевозрілих щурів за умови 30-ти добового терміну реадптації (корекції L-токоферолом) до довготривалого впливу комплексу солей важких металів**

Досліджено стан структурних компонентів кіркової речовини наднирників після 30-ти добового терміну реадптації L-токоферолом до довготривалого 90-ти добового впливу комбінації солей важких металів. Визначалися позитивні морфофункціональні перебудови, що торкалися усіх складових компонентів кіркової речовини наднирників. Спостерігалось чітке розмежування зон кори, але виразність фетальної зони знизилася мозаїчності: на одних ділянках площа цієї зони була збільшена, а на інших, навпаки, зменшена. У зв'язку з адаптивними процесами у залозі ширина клубочкової зони збільшувалася у порівнянні з контролем на 28,8% ( $P < 0,05$ ,  $t = 2,32$ ) (табл. 1). При дослідженні гістологічних препаратів фарбуванням за Ван-Гізеном спостерігалось суттєве зменшення виразності волокнистого компонента сполучної тканини капсули та міжтрабекулярних просторів в усіх зонах кори наднирників. Зникав стромальний набряк, однак, стінка приносних судин капсули залишалася потовщеною. Товщина капсули залози була меншою за показники контрольних тварин на 5,5% ( $P > 0,05$ ) (табл. 1). На 30-ту добу реадптивних змін з L-токоферолом відмічалася стабілізація системи кровообігу, площа основної маси судин мало чим відрізнялася від контрольних, але на декотрих ділянках клубочкової зони, в основному субкапсулярно, ще виявлялися розширені судини. Так, площа просвіту судин клубочкової зони перевищувала показники контрольних тварин на 54,1% ( $P < 0,01$ ,

$t=4,13$ ) (табл. 2). Порушень зі сторони реологічних властивостей крові не спостерігалось. Однією із позитивних ознак 30-ти добового терміну реадаптації L-токоферолом можливо вважати суттєве поліпшення і цитоархітектоніки клітинних трабекул усіх зон кори наднирника. Під капсулою виявлялися скупчення клітин з початковими ознаками диференціювання (рис. 1). Морфологія кортикоцитів клубочкової та пучкової зон і надалі мала спільні ознаки, а саме: просвітлення та вакуолізація цитоплазми, фігури мітозів. Клітини клубочкової зони перебували у стані активних адаптивних перебудов. Вони мали збільшені показники площі ядер та цитоплазми у порівнянні з контролем. Але, середній діаметр каріона (СДК) зменшувався відносно показників контрольних тварин на 5,9% ( $P>0,05$ ) за рахунок зменшення лінійних показників ядер кортикоцитів клубочкової зони (табл. 2). Основну масу клітин клубочкової зони складали клітини з гіперхромною цитоплазмою та овальними, в основному, нормохромними ядрами. Загальні показники ядерно-цитоплазматичного співвідношення у клітинах склали 1:0,51 – зменшувалися на 40,7% ( $P>0,05$ ) відносно показників контрольних тварин (табл. 2). При дослідженні мікроскопічних препаратів кори наднирників при фарбуванні за Ейнарсоном виявлялося значне поліпшення стану хроматинової сітки ядер у клітинах клубочкової зони, практично зникла конденсація хроматину, у більшості ядер з'являлися ядерця. Змінювалися лінійні показники тіл та ядер кортикоцитів клубочкової зони. Вакуолізовані клітини мали цитоплазму, що була перерозтягнута однією великою вакуолею. Ядра у таких клітинах мали нормальну структуру хроматину та розміри. У міжтрабекулярних просторах та цитоплазмі клітин з просвітленою цитоплазмою візуалізувалися мілкі множинні оксифільні гранули секрету (рис. 1).

Показник великого діаметра ядер клітин клубочкової зони збільшувався на 5% ( $P>0,05$ ), а показник малого діаметра ядер зменшувався на 15,9% ( $P<0,05$ ,  $t=2,34$ ) стосовно показників контрольних тварин. Показник великого діаметра тіл клітин збільшувався на 2,9% ( $P>0,05$ ), а малого діаметра, навпаки, зменшувався на 11,1% ( $P>0,05$ ) стосовно показників контрольних тварин. Показники площі перетину тіл та цитоплазми кортикоцитів збільшувалися, відповідно, на 54,9% ( $P<0,001$ ,  $t=5,09$ ) та 90,7% ( $P<0,001$ ,  $t=12,43$ ) відносно показників контрольних тварин. Показники площі перетину ядер кортикоцитів збіль-





**Рис. 1. Кіркова речовина наднирників експериментальних тварин за умови 30-ти добового терміну реадaptaції L-токоферолом до 90-добового надходження в організм комбінації солей важких металів: 1– локальне повнокров'я у судині клубочкової зони; 2 – ділянки проліферації клітин клубочкової зони; 3 – вакуолізовані клітини. Фарбування: А – за Ван-Гізоном; Б – за Ейнарсоном. X 400**

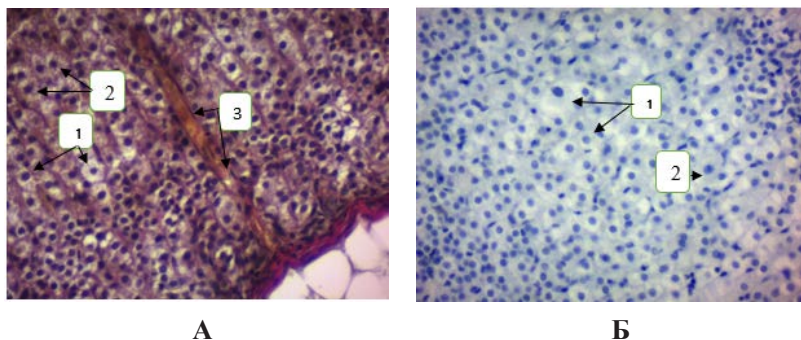
шувалися на 12,8% ( $P>0,05$ ) відносно показників контрольних тварин. Оптична щільність ядер кортикоцитів була більша за показники контрольних тварин на 68,4% ( $P<0,001$ ,  $t=37,92$ ), а оптична щільність цитоплазми кортикоцитів була більша за показники контрольних тварин на 67,5% ( $P<0,001$ ,  $t=6,48$ ). Індекс функціональної активності клубочкової зони збільшувався відносно показників контрольних тварин на 20,9% ( $P>0,05$ ) (табл. 2).

### **3.2. Морфофункціональні перебудови пучкової зони кори наднирників статевозрілих шурів за умови 30-ти добового терміну реадaptaції (корекції L-токоферолом) до довготривалого впливу комплексу солей важких металів**

L-токоферол чинить позитивну протекторну дію і на стан морфометричних та морфологічних ознак структурних компонентів пучкової зони кори наднирників. Так, ширина пучкової зони зменшувалася на 15,2% ( $P<0,001$ ,  $t=23,22$ ) відносно показників контрольних тварин (табл. 1). До позитивних адаптивних морфологічних перебудов у пуч-

ковій зоні можливо віднести зникнення стромального набряку та суттєве зменшення судинного повнокров'я, хоча на декотрих ділянках все ж виявлялося локальне розширення поодиноких судин. Однак, ступінь кровонаповнення судин зростала у напрямку до сітчастої зони (рис. 2). Ендотеліоцити капілярів пучкової зони та вен добре контурвалися, мали збільшені розміри та гіперхромні ядра, що випиналися у судинний просвіт. Показники реологічних властивостей крові практично наближалися до показників контрольних тварин. Так, площа просвіту судин збільшувалася відносно показників контрольних тварин на 9,3% ( $P > 0,05$ ) (табл. 2). Основу пучкової зони складали ендокриноцити з оксифільною, гіпертрофованою цитоплазмою та округлими базофільними, збільшеним у розмірах ядрами, які часто мали ядерця. Ступінь конденсації хроматину зменшувалася у порівнянні з показниками тварин, що отримували 90 діб солі важких металів. Кількість ядер з ядерцями збільшувалася, але у препаратах ще зустрічалися ядра з крайовою маргінацією хроматина. Незначна частина ядер перебувала у стані повного, або часткового лізису (рис. 2). При фарбуванні препаратів за Ейнарсоном виявлялося, що стан більшості ядер клітин практично наближався до показників контрольних тварин. Безперечно, що такі клітини пучкової зони перебували у стані активних адаптивних перебудов до довгострокового впливу солей важких металів. Так, середній діаметр каріона практично не відрізнявся від показників контрольних тварин. Загальні показники ядерно-цитоплазматичного співвідношення у клітинах складала 1:0,3 та не відрізнялися від показників контрольних тварин (табл. 2). У цитоплазмі кортикоцитів пучкової зони виявлялася мілка оксифільна зернистість секреторних гранул гормону, що при фарбуванні гематоксилін-еозином мали вигляд мілких оксифільних гранул, а при фарбуванні за Ван-Гізеном та Ейнарсоном –напиленості сірого кольору різної інтенсивності. Часто у клітинах виявлялися фігури мітозів (рис. 2). Морфометричні показники кортикоцитів пучкової зони вказували на декотре зменшення напруження зі сторони цієї зони кори наднирників. Показник великого діаметра ядер клітин зменшувався на 2,5% ( $P > 0,05$ ), а показник малого діаметра ядер збільшувався на 6,5% ( $P > 0,05$ ) стосовно показників контрольних тварин. Показник великого діаметра тіл клітин зменшувався на 11,8% ( $P > 0,05$ ), а показник малого діаметра тіл клітин збільшувався на 1,8% ( $P > 0,05$ ) відносно показни-

ків контрольних тварин. Показники площі перетину тіл та цитоплазми кортикоцитів зменшувалися, відповідно, на 15,9% ( $P>0,05$ ) та на 19,6% ( $P<0,001$ ,  $t=7,51$ ) відносно показників контрольних тварин. Площа ядра зменшувалася відносно показників контрольних тварин на 1,6% ( $P>0,05$ ). Оптична щільність ядер кортикоцитів збільшувалася відносно показників контрольних тварин на 24,4% ( $P<0,05$ ,  $t=2,47$ ), а оптична щільність цитоплазми кортикоцитів збільшувалася відносно показників контрольних тварин на 18,6% ( $P<0,001$ ,  $t=6,31$ ). Індекс функціональної активності пучкової зони зменшувався відносно показників контрольних тварин на 13,7% ( $P>0,05$ ) (табл. 2).



**Рис. 2.** Кіркова речовина наднирників експериментальних тварин за умови 30-ти добового терміну реадаптації L-токоферолом до 90-добового надходження в організм комбінації солей важких металів: 1 – вакуолізовані клітини у пучковій зоні; 2 – напilenість у цитоплазмі клітин пучкової зони; 3 – локальне повнокров'я у судині клубочкової та пучкової зон кори. Фарбування: А – за Ван-Гізоном; Б – за Ейнарсоном. X 400

### **3.3. Морфофункціональні перебудови сітчастої зони кори наднирників статевозрілих щурів за умови 30-ти добового терміну реадаптації (корекції L-токоферолом) до довготривалого впливу комплексу солей важких металів**

На відміну від розмірів пучкової зони, ширина сітчастої зони достовірно збільшувалася на 50,7% ( $P<0,01$ ,  $t=29,83$ ), а товщина кіркової речовини наднирників тварин 30-ти добового терміну реадаптації

L-токоферолом збільшувалася на 17,6% ( $P < 0,001$ ,  $t = 20,23$ ) відносно показників контрольних тварин (табл. 1).

Таблиця 1

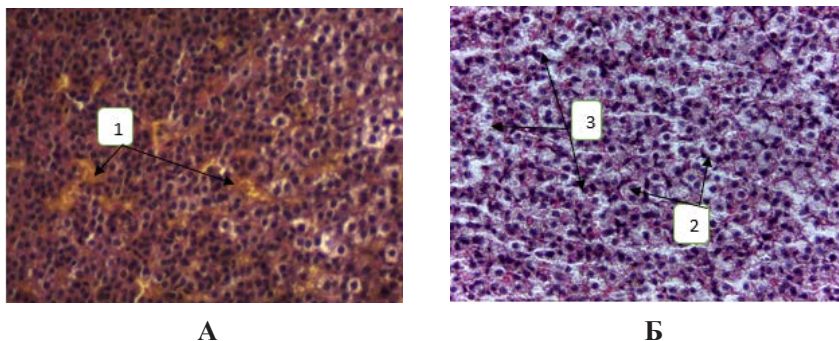
**Результати морфометрії кори наднирників експериментальних тварин за умови 30-ти добового терміну адаптації (корекції L-токоферолом) до довготривалого впливу солей важких металів ( $X \pm S_x$ )**

Показник	Серії тварин	
	Контрольна група (n=6)	Експериментальна група (n=6)
Ширина клубочкової зони, мкм	60,75±1,51	78,27±7,4*
Ширина пучкової зони, мкм	244,05±1,23	206,95±1,02***
Ширина сітчастої зони, мкм	222,03±1,95	334,57±3,23***
Товщина кіркової речовини, мкм	526,83±2,17	619,79±4,05***
Товщина капсули, мкм	7,26±0,54	6,86±0,45

**Примітка:** різниця між показниками контролю і експерименту: \*  $\leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$

Це, безперечно вказувало на активні адаптивні процеси у корі наднирників під впливом L-токоферолу. У сітчастій зоні кори ще зберігався стромальний набряк та найбільш виразне судинне повнокров'я серед усіх зон кори, хоча на межі з мозковою речовиною його ступінь дещо зменшувалася. Площа просвіту судин сітчастої зони перевищувала показники контрольних тварин на 55,3% ( $P < 0,01$ ,  $t = 3,76$ ) (табл. 2). У сітчастій зоні кори поліпшувався стан реологічних властивостей крові та стан судинної стінки, показники котрих практично наближалися до показників контрольних тварин. Значення сполучнотканинного компонента стінки судин практично не відрізнялося від показників контрольних тварин. Морфологія клітин сітчастої зони мала ознаки адаптивних процесів. Кортикоцити сітчастої зони мали гіпертрофовані тіла та ядра та, в основному, просвітлену цитоплазму, частина клітин зазнавала вакуолізації. Цитоплазма світлих клітин була заповнена мілкою оксифільною зернистістю, що контурувалася і у міжтрабекулярних просторах. Поліпшувався і стан ядерного апарату кортикоцитів: зменшувалася ступінь конденсації хроматину, хроматинова сітка ставала більш просвітленою, більшість з ядер мали ядерця. У частині

ядер клітин ще зберігалися ознаки дрібнодисперсної конденсації хроматину та його маргінації до внутрішньої ядерної мембрани. Часто клітини сітчастої зони мали фігури мітозів (рис. 3).



**Рис. 3.** Сітчаста зона кіркової речовини наднирників експериментальних тварин за умов 30-ти добового терміну реадaptaції L-токоферолом до 90-добового надходження в організм комбінації солей важких металів: 1 – повнокров'я у судинному руслі сітчастої зони; 2 – вакуолізовані клітини; 3 – стромальний набряк. Фарбування: А – за Ван-Гізоном; Б – гематоксилін-еозин X 400

Змінювалися лінійні показники тіл та ядер кортикоцитів сітчастої зони. Показники великого та малого діаметра ядер клітин зменшувалися, відповідно, на 10% ( $P > 0,05$ ) та на 9% ( $P > 0,05$ ) стосовно показників контрольних тварин. Показники великого та малого діаметра тіл клітин збільшувалися на 9,4% ( $P > 0,05$ ) та на 21% ( $P > 0,05$ ) відносно показників контрольних тварин. Показники площі перетину тіл та цитоплазми кортикоцитів збільшувалися, відповідно, на 72,7% ( $P < 0,05$ ,  $t = 2,67$ ) та на 94,5% ( $P < 0,001$ ,  $t = 27,21$ ) відносно показників контрольних тварин. Площа ядра була більша за показники контрольних тварин на 18,3% ( $P > 0,05$ ), але середній діаметр каріона зменшувався відносно показників контрольних тварин на 9,1% ( $P > 0,05$ ). Загальні показники ядерно-цитоплазматичного співвідношення у клітинах складали 1:0,24 – зменшувалися відносно показників контрольних тварин на 40% ( $P > 0,05$ ). Оптична щільність ядер та цитоплазми

кортикоцитів зменшувалися відносно показників контрольних тварин, відповідно, на 13,4% ( $P>0,05$ ) та на 3% ( $P>0,05$ ). Індекс функціональної активності сітчастої зони збільшувався відносно показників контрольних тварин на 36,8% ( $P>0,05$ ) (табл. 2).

### **3.4. Імуногістохімічні показники (Ki-67, Hsp90 $\alpha$ ) клітин кори наднирників статевозрілих щурів за умови 30-ти добового терміну реадaptaції (корекції L-токоферолом) до довготривалого впливу комплексу солей важких металів**

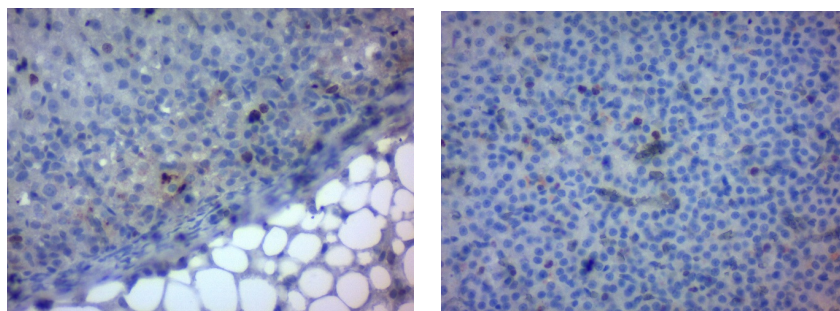
У наднирниках тварин 30-ти добового терміну реадaptaції  $\alpha$ -токоферолом спостерігалось суттєве посилення проліферативної активності кортикоцитів клубочкової зони (до 10%). У пучковій та сітчастій зонах кори ступінь проліферативної активності залишався на слабо-позитивному рівні експресії до Ki-67, відповідно, 3-4% та 2-4%. Крім того, спостерігався і слабопозитивний рівень (+) експресії до Ki-67 у ядрах фіброblastів капсули та сполучнотканинних прошарків усіх зон (рис. 4).

L-токоферол виявляв активну протекторну дію і на стан експресії Hsp90 $\alpha$  у кортикоцитах наднирників експериментальної групи тварин. У кортикоцитах клубочкової зони наднирників тварин 30-ти добового терміну реадaptaції  $\alpha$ -токоферолом спостерігався слабо-(+) та помірно-позитивний (++) рівень експресії Hsp90 $\alpha$  у цитоплазмі 70-84% клітин, причому, виявлялася мозаїчність виявлених зон експресії Hsp90 $\alpha$ . У пучковій та сітчастій зоні виявлявся слабо-позитивний рівень експресії до Hsp90 (+) у цитоплазмі 56-61% клітин, при чому у сітчастій зоні позитивні до маркеру клітини розміщувалися у вигляді острівців, часто-периваскулярно. Помірно-позитивний рівень експресії до Hsp90(++) виявлявся і у цитоплазмі ендотеліоцитів капілярів (рис. 5).

### **3.5. Результати визначення гормонів у сироватці крові експериментальних та контрольних щурів за умови 30-ти добового терміну реадaptaції (корекції L-токоферолом) до довготривалого впливу комплексу солей важких металів**

Аналізуючи 30-ти добовий термін реадaptaції L-токоферолом кори наднирників піддослідних тварин до 90-добового впливу комплексу солей важких металів встановлено наступне: У експериментальних щурів



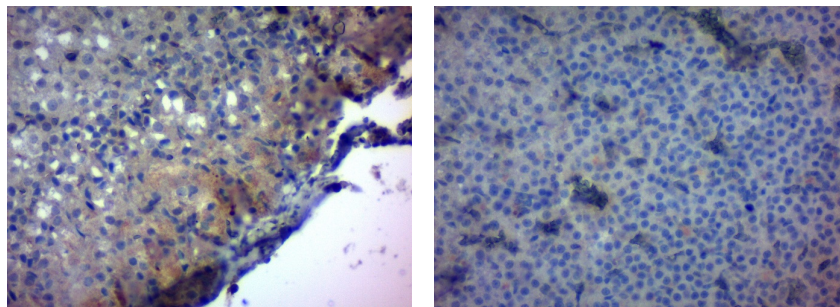


**А**

**Б**

**Рис. 4. Експресія Кі-67 у ядрах кортикоцитів наднирників експериментальних тварин за умови 30-ти добової реадаптації а-токоферолом до 90-ти добового впливу солей важких металів:**

**А – слабопозитивний рівень експресії у клітинах клубочкової зони; Б – слабопозитивний рівень експресії у клітинах сітчастої зони; × 400**



**А**

**Б**

**Рис. 5. Наднирник піддослідних тварин на 30-ту (А, Б) добу реадаптації L-токоферолом до 90-то добового впливу солей важких металів: А – Помірно-позитивний рівень експресії hsp90a у цитоплазмі кортикоцитів клубочкової зони; Б – слабо-позитивний рівень експресії кортикоцитів у периваскулярних ділянках сітчастої зони. Імуногістохімічне дослідження експресії hsp90a. Збільшення ×400**

Таблиця 2

Результати морфометричного дослідження кори надирників ставевозрілих шурів за умови 30-ти добового терміну адаптації (корекції L-токоферолом) до доготиривалою впливу солей важких металів (X±Sx)

Показник	Клубочкова зона			Пучкова зона			Сітчаста зона		
	Контр. тварини (n=6)	Експер. тварини (n=6)	Контр. тварини (n=6)	Експер. тварини (n=6)	Контр. тварини (n=6)	Експер. тварини (n=6)	Контр. тварини (n=6)	Експер. тварини (n=6)	
Великий діаметр тіла клітин, мкм	4,52±0,18	4,65±0,29	6,36±0,53	5,61±0,28	4,13±0,28	4,52±0,3	4,13±0,28	4,52±0,3	
Малий діаметр тіла клітин, мкм	3,07±0,24	2,73±0,27	3,87±0,4	3,94±0,36	2,9±0,18	3,51±0,29	2,9±0,18	3,51±0,29	
Площа перетину тіл клітин, мкм <sup>2</sup>	94,74±10,07	146,75±1,72***	205,72±12,36	173,09±13,96	117,68±13,56	203,23±28,98*	117,68±13,56	203,23±28,98*	
Великий діаметр ядер клітин, мкм	2,57±0,17	2,7±0,07	2,34±0,11	2,28±0,07	2,3±0,12	2,07±0,1	2,3±0,12	2,07±0,1	
Малий діаметр ядер клітин, мкм	1,89±0,1	1,59±0,08*	2,16±0,14	2,3±0,12	1,89±0,12	1,72±0,04	1,89±0,12	1,72±0,04	
Площа перетину ядер клітин, мкм <sup>2</sup>	43,92±2,44	49,54±3,25	42,95±2,5	42,25±4,79	33,65±1,58	39,8±3,59	33,65±1,58	39,8±3,59	
Площа цитоплазми клітин, мкм <sup>2</sup>	50,82±3,02	96,91±2,15***	162,77±3,59	130,84±2,28***	84,03±2,17	163,43±1,95***	84,03±2,17	163,43±1,95***	
Ядерно-цитопл. співвідношення	1:0,86±2,11	1:0,51±2,13	1:0,3±2,06	1:0,3±2,74	1:0,4±1,02	1:0,24±2,07	1:0,4±1,02	1:0,24±2,07	
Оптична щільність ядра, у.о.	76,49±1,35	128,85±0,29***	91,76±3,99	114,12±8,12*	115,51±4,43	100±8,92	115,51±4,43	100±8,92	
Оптична щільність цитоплазми, у.о.	96,46±6,14	161,57±7,95***	127,18±3,57	150,81±1,13***	152,65±4,09	148,04±6,47	152,65±4,09	148,04±6,47	
Середній діаметр каріона (СДК)	2,2±0,83	2,07±1,16	2,25±0,82	2,29±1,45	2,08±0,76	1,89±1,11	2,08±0,76	1,89±1,11	
Площа судин, мкм <sup>2</sup>	83,06 ±9,64	128,01±5,02**	74,24±10,49	81,17±9,16	114,96±16,55	178,53±3,38**	114,96±16,55	178,53±3,38**	
Індекс функціональної активності зони (ІФА)	1,34±0,25	1,62±1,05	5,49±2,79	4,74±2,96	4,62±2,08	6,32±2,07	4,62±2,08	6,32±2,07	

Примітка: різниця між показниками контролю і експерименту: \* ≤ 0,05; \*\* p ≤ 0,01; \*\*\* p ≤ 0,001.



Таблиця 3  
**Результати визначення гормонів у сироватці крові експериментальних та контрольних щурів (M±m), n=6**

Показник		Вміст гормонів у сироватці крові							
Групи тварин	ЛГ мМОд/мЛ	ФСГ мМОд/мЛ	Прогестерон нмоль/л	Естрадіол нмоль/л	АКТГ пг/мл	DHS мкмоль/л	Кортизол COR нмоль/л	Тесто-стерон загал. нмоль/л	Тесто-стерон вільний пг/мл
Контр. тварини	<0,1	<0,1	27,47±0,28	87,19±1,84	591,0±1,83	<0,407	73,0±1,48	2,31±0,62	2,0 ± 1,1
Експер. тварини	<0,1	<0,1	30,07±0,95*	59,48±1,49***	128,0±1,79***	<0,407	51,3±±9,5*	4,705±0,52	9,44±0,79**

**Примітка:** різниця між показниками контролю та експерименту \* – p≤0,05; \*\* – p≤0,01; \*\*\* – p≤0,001

концентрація гормона наднирників кортизола COR суттєво знижувалася стосовно показників контрольних тварин на 30% ( $t = 2,256986$ ,  $p < 0,05$ ). Концентрація DHS, гормону сітчастої зони наднирників залишалася практично незмінною і мала показники  $< 0,407$  мкмоль/л в сироватці крові як піддослідних так і контрольних щурів. Але, показник оптичної щільності цього гормону у експериментальних щурів ( $29,275 \pm 0,85$  у.о) зазнав зниження на 1% ( $p > 0,05$ ) у порівнянні з показниками контрольних тварин ( $29,577 \pm 0,48$  у.о.). Рівень ФСГ у експериментальних тварин падав, що виявлялося у зменшенні рівня естрадіола у тварин з 30-ти добовим терміном реадаптаційних перебудов у порівнянні з показниками контрольних тварин на: 32% ( $t = 11,70366$ ,  $p < 0,001$ ). На 120-ту добу експерименту вміст прогестерона в сироватці крові експериментальних щурів достовірно підвищувався стосовно показників контрольних тварин на 9,5% ( $t = 2,625191$ ,  $p < 0,05$ ). Показник загального TES у експериментальних щурів зазнавав підвищення стосовно показників контрольних тварин у 2 рази ( $p > 0,05$ ). Вживання експериментальними щурами вітаміну Е чинив позитивний вплив на біодоступність тестостерону, що виявлялося у збільшенні рівня вільного тестостерону в їх орга-

нізмі стосовно показників контрольних тварин у 4,7 рази ( $t = 5,493656$ ,  $p < 0,01$ ) (табл. 3).

### 4. Обговорення

За умови 30-ти добового терміну реадаптації з препаратом-коректором L-токоферолом до довготривалої дії комплексу солей важких металів, у структурних компонентах кори наднирників розвивалися морфологічні перебудови, що носили неспецифічний поліморфний характер. Довготривалий вплив солей важких металів на організм піддослідних тварин викликав у організмі щурів розвиток загального адаптаційного синдрому. При цьому, дисфункція у одній з ланок системи адаптації потребує включення резервних можливостей у інших ланках.

Відновлення гістоструктури кори наднирників свідчило про розвиток у органі адаптаційних та регенераторних процесів, направлених на нівелювання стрес-реакції та низки гіпоксичних явищ, викликаних попереднім впливом солей важких металів [21, с. 350–355]. Безперечно, препарат-коректор L-токоферол виявив яскраву протекторну дію на структурні компоненти наднирників, враховуючи його антиоксидантні властивості, мембранопротекторну дію, участь токоферолу в біосинтезі гема, захисті клітин та їх проліферації, процесах клітинного дихання та живлення, транспорті електронів та протонів, стимуляції синтезу гормонів, регенерації тканин, стимуляції імунної відповіді, захисті судин, утворенні капілярів, синтезі колагенових і еластичних волокон, покращенні кровообігу, протидії коагуляції крові та розвитку анемії. Саме тому, даний препарат використовується для профілактики та лікування багатьох захворювань (атеросклероз, катаракта, онкопатологія, хвороба Альцгеймера, патологія вагітних та інші) завдяки впливу практично на всі системи і органи людини [22, с. 50–51].

До позитивних адаптивних морфологічних перебудов у наднирниках можливо віднести зменшення виразності низки негативних морфологічних явищ, що були присутні у наднирниках тварин при 90-то добовому терміні надходження до організму солей важких металів [23, с. 54–58]. Перш за все спостерігалася незначна компенсаторна гіпертрофія кіркової речовини наднирників за рахунок збільшення ширини клубочкової та сітчастої зон кори. Але, ширина пучкової зони зменшувалася відносно показників контрольних тварин, що нега-

тивно вплинуло на показник індексу функціональної активності цієї зони, котрий зменшувався відносно показників контрольних тварин. Даний факт можливо пояснити активними адаптивними процесами у цій зоні залози у відповідь на довготривалу дію солей важких металів та активною участю кортизолу у реалізації процесів стрес-реакції під час впливу солей важких металів. Результати морфологічних досліджень підтверджувалися результатами біохімічних досліджень рівня гормону кортизола у сироватці крові піддослідних тварин, котрий знижувався відносно показників контрольних тварин.

Однак, індекс функціональної активності клубочкової та сітчастої зони кори зростали [24, с. 1–5], що пояснювалося активною участю гормонів клубочкової зони та статевих гормонів статевих залоз та сітчастої зони у реалізації процесів реадативних перебудов після довготривалого впливу солей важких металів [25, с. 224–236]. Результати морфометричних досліджень підтверджувалися результатами біохімічних досліджень рівня статевих гормонів у сироватці крові піддослідних тварин, концентрація котрих на 30-ту добу реадптації підвищувалася, або практично не відрізнялася відносно показників контрольних тварин.

Отже, згідно результатів біохімічних та органометричних досліджень, можливо припустити, що механізми ендокринної регуляції адаптивних процесів після довготривалого впливу солей важких металів у організмі експериментальних тварин працювали за рахунок і активації репродуктивної ланки організма щурів. На нашу думку, L-токоферол чинив виразний протекторний ефект не лише на секрецію тестостерона, але і на його біодоступність, адже більша частина цього стероїдного гормона у організмі піддослідних щурів перебувала у активному, вільному стані [25, с. 224–236]. Підвищення концентрації у плазмі крові піддослідних тварин прогестерона, що є попередником тестостерона та кортизола, викликано, на нашу думку, збільшеним вмістом тестостерона відносно показників контрольних тварин. Зниження рівня естрадіола в сироватці крові піддослідних тварин викликана неспецифічними, антистресорними властивостями цього стероїдного гормона. Адже, при стресі саме естрадіол, а не андрогени найбільш реактивні та чинять модулюючий ефект на секрецію стрес-гормонів, в тому числі і кортизолу, рівень котрого в експерименті зменшувався [25, с. 224–236].

Яскрава протекторна дія L-токоферолу виявлялася також і у суттєвому зменшенні виразності волокнистого компонента сполучної тканини капсули та міжтрабекулярних просторів в усіх зонах кори наднирників. Зникав стромальний набряк, однак, стінка приносних судин капсули залишалася потовщеною. На 30-ту добу реадaptивних змін з L-токоферолом відмічалася стабілізація системи кровообігу, площа основної маси судин мало чим відрізнялася від контрольних.

Порушень зі сторони реологічних властивостей крові не спостерігалося. Однією із позитивних ознак 30-ти добового терміну реадaptації L-токоферолом можливо також вважати суттєве поліпшення і цитоархітектоніки клітинних трабекул усіх зон кори наднирника. У кожній з зон кори виявлялися клітини з фігурами мітозів, а також скупчення клітин з початковими ознаками диференціювання у субкапсулярній зоні кори. Клітини пучкової та клубочкової зони перебували у стані активних адаптивних перебудов до довгострокового впливу солей важких металів. Так, середній діаметр каріона клітин пучкової зони практично не відрізнявся від показників контрольних тварин. Виявлялося значне поліпшення стану хроматинової сітки ядер у клітинах клубочкової зони, практично зникала конденсація хроматину, у більшості ядер з'являлися ядерця, що прямо чи опосередковано може вказувати на поліпшення синтетичних процесів у кортикоцитах клубочкової зони.

Згідно результатів імуногістохімічних досліджень, виявлялося незначне збільшення проліферативної активності кортикоцитів усіх зон, що можливо пояснити не лише адаптивними процесами у корі наднирників, але і індукуючою роллю важких металів що до процесів проліферації [19, с. 1–188]. L-токоферол виявляв активну протекторну дію і впливав на стан експресії Hsp90α у кортикоцитах наднирників експериментальної групи тварин. Виявлялося незначне збільшення експресії рецепторів Hsp90α у цитоплазмі кортикоцитів у порівнянні з тваринами 90-то добового терміну вживання солей важких металів.

Але, не зважаючи на позитивні перебудови, необхідно відмітити і негативні ознаки, а саме: у сітчастій зоні ще зберігався стромальний набряк та помірне судинне повнокров'я, хоча ступінь виразності цих морфологічних перебудов дещо зменшувалася у порівнянні з показниками тварин з 90-то добовим терміном споживання солей важких металів.

## 5. Висновки

Отже, комплексне дослідження структурних компонентів наднирників піддослідних тварин за умови 30-ти добового терміну реадптації з препаратом-коректором L-токоферолом до довготривалих термінів споживання солей важких металів, безумовно, вказують на низку адаптаційних та регенераторних морфофункціональних змін, що направлені на нівелювання низки негативних явищ та зменшення напруження адаптивних процесів зі сторони наднирників у відповідь на відміну дії стресорного фактору. Наведена позитивна динаміка розвитку адаптивних процесів у наднирниках дає змогу припустити, що в подальшому, збільшення термінів реадптації з застосуванням L-токоферолу може позитивно вплинути на досягнення гомеостазу у органі та призведе до повної або часткової компенсації дії пошкоджуючого агента на організм піддослідних тварин.

Перспективи подальших досліджень базуються на проведенні комплексних досліджень процесів адаптації у наднирниках експериментальних тварин після довготривалого впливу солей важких металів за умов збільшення термінів реадптації.

## Список літератури:

1. Gupta, V. K., Singh, S., Agrawal, A., Siddiqi, N. J., and Sharma, B. (2015). Phytochemicals mediated remediation of neurotoxicity induced by heavy metals. *Biochem. Res. Int.*: 534769. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/534769>
2. Hamid, A., Riaz, H., Akhtar, S., Ahmad, S. R. (2016). Heavy Metal Contamination in Vegetables, Soil and Water and Potential Health Risk Assessment. *Am-Euras. J. Agric. & Environ. Sci.*, № 16(4): 786–94.
3. Jaishankar, M., Tseten, T. Jun (2013). *Biomed. Res. Int.*, 7(2), 60–72. DOI: <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>
4. Sharma, B., Singh, S., Siddiqi, N. J. (2014). Biomedical implications of heavy metals induced imbalances in redox systems. *Biomed. Res. Int.*, 2014: 640754. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/640754>
5. Гринцова Н. Б. Морфологічні перебудови структурних компонентів проміжної частки гіпофіза статевозрілих щурів-самиць в умовах впливу солей важких металів. *European Conference on Innovations in Technical and Natural Sciences. 15-th International scientific conference 20-th July 2017, «East West», Vienna, Austria:* 3–8.
6. Hryntsova N. B., Khomenko I. V., Romanyuk A. M., Bumeister V. I., Kravtsova I. A. (2019). Morphological and morphometric rearrangements of the rat adenohypophysial – thyroid system under the experimental extracellular dehydration. *Світ медицини та біології*, 2(68), 178–183.

7. Harvey, P. W., Everett, D. J., Springall, C. J. (2007). Adrenal toxicology; a strategy for assessment of functional toxicity to the adrenal cortex and steroidogenesis. *J. Appl. Toxicol.*, 27, 103–115.
8. Hinson, J. P., Raven, P. W. (2006). Effects of endocrine-disrupting chemicals on adrenal function. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 20, 111–120.
9. Everds, N. E., Snyder, P. W., Rosol, T. J., Creasy, D. M., Bailey, K. L., Bolon, B., Foley, G. L., Sellers, T. (2013). Stress during routine nonclinical safety studies: a review of its impact and assessment. *Toxicol. Pathol.* (in press).
10. Hallberg, E. (1990). Metabolism and toxicity of xenobiotics in the adrenal cortex, with particular reference to 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. *J. Biochem. Toxicol.*, 5, 71–90.
11. Harvey, P. W., Everett, D. J., Springall, C. J. (2009). Adrenal toxicology: Molecular targets, endocrine mechanisms, hormonal interactions, assessment models and species differences in toxicity. In: Harvey, P. W., Everett, D. J., Springall, C. J. (Eds.), *Adrenal Toxicology. Informa Healthcare*. New York, NY: 3–35.
12. Harvey, P. W., Sutcliffe, C. (2010). Adrenocortical hypertrophy: Establishing cause and toxicological significance. *J. Appl. Toxicol.*, 30, 617–626.
13. Rana, S. V. S. (2014). Perspectives in endocrine toxicity of heavy metal. *Biological Trace Element Research*, 160(1), 1–14.
14. Ng, T. B., Liu, W. K. (1990). Toxic effect of heavy metals on cells isolated from the rat adrenal and testis. *In Vitro Cellular & Development Biology*, 26(1), 24–28.
15. Colby, H. D. (1981) Chemical suppression of steroidogenesis. *Environmental Health Perspectives*, 38, 119–127.
16. Rastogi, R. B., Singhai, R. L. (2015). Effect of Chronic Cadmium Treatment on Rat Adrenal Catecholamines. *Environmental Toxicology*, 30(12), 1445–1458.
17. Никитин К. Д. Белки теплового шока: биологические функции и перспективы применения. *Клиническая онкогематология*. 2008. № 1(2). С. 125–130.
18. Риболовлев Ю. Р., Риболовлев Р. С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. *Доклад АН СССР*. 1979. № 6. С. 1513–16.
19. Линдін М. С. Морфогенез інфільтративного протокового раку молочної залози в умовах забруднення довкілля солями важких металів. (Текст дисертації на здобуття ступеня канд. мед. наук, спеціальність 14.03.02-патологічна анатомія). Суми : Сумський державний університет, 2015. 188 с.
20. Луцик С. О., Ященко А. М. Імуногістохімічне дослідження надниркових залоз нащадків шурів, що розвивались в умовах експериментального гіпотазі гіпертиреозу материнського організму. *Світ медицини та біології*. 2018. № 4(66). С. 175–180.
21. Серов В. В., Ярыгин Н. Е., Пауков В. С. Патологическая анатомия (атлас). Москва : Медицина, 1986. 367с.
22. Сікора В. В. Морфологічні зміни в сечовому міхурі за умов впливу солей важких металів. (Текст дисертації на здобуття ступеня канд. мед. наук, спеціальність 14.03.02-патологічна анатомія). Суми : Сумський державний університет, 2018. 244 с.

23. Гринцова Н. Б., Романюк А. М., Бумейстер В. І., Кіптенко Л. І., Пернаков М. С. Морфофункціональні перебудови кіркової речовини наднирників статевозрілих щурів за умов довготривалого впливу солей важких металів. *Вісник Вінницького Національного медичного університету*. 2019. № 1 (Т. 23). С. 54–58.

24. Volkov, V. P. (2014). Functional morphology of the pineal gland in antipsychotic therapy. *Universum: Medicine and Pharmacology electron. Scientific*. № 9(10). URL: <http://7universum.com/en/med/archive/item/1590>

25. Романюк А. М., Москаленко Ю. В. Морфологічні особливості становлення ендокринного компонента сім'яників щурів у ранньому постнатальному онтогенезі в умовах впливу сполук важких металів. *Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень*. 2014. № 2(2). С. 224–236.

### References:

1. Gupta, V. K., Singh, S., Agrawal, A., Siddiqi, N. J., and Sharma, B. (2015). Phytochemicals mediated remediation of neurotoxicity induced by heavy metals. *Biochem. Res. Int.*: 534769. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/534769>

2. Hamid, A., Riaz, H., Akhtar, S., Ahmad, S.R. (2016). Heavy Metal Contamination in Vegetables, Soil and Water and Potential Health Risk Assessment. *Am-Euras. J. Agric. & Environ. Sci.*, 16(4): 786–94.

3. Jaishankar, M., Tseten, T. Jun (2013). *Biomed. Res. Int.*, 7(2), 60–72. DOI: <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>

4. Sharma, B., Singh, S., Siddiqi, N. J. (2014). Biomedical implications of heavy metals induced imbalances in redox systems. *Biomed. Res. Int.*, 2014:640754. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/640754>

5. Hryntsova N. B. (2017). Morfologhichni perebudovy strukturnykh komponentiv promizhnoji chastky ghipofiza statevozriilykh shhuriv-samycj v umovakh vplyvu solej vazhkykh metaliv [Morphological rearrangements of structural components of the intermediate pituitary gland of adult female rats under the influence of heavy metal salts]. *European Conference on Innovations in Technical and Natural Sciences. 15th International Scientific Conference July 20, 2017*, East West, Vienna, Austria: 3–8.

6. Hryntsova N. B., Khomenko I. V., Romanyuk A. M., Bumeister V. I., Kravtsova I. A. (2019). Morphological and morphometric rearrangements of the rat adenohipophysial – thyroid system under the experimental extracellular dehydration. *Світ медицини та біології*, 2(68), 178–183.

7. Harvey, P. W., Everett, D. J., Springall, C. J. (2007). Adrenal toxicology; a strategy for assessment of functional toxicity to the adrenal cortex and steroidogenesis. *J. Appl. Toxicol.*, 27, 103–115.

8. Hinson, J. P., Raven, P. W. (2006). Effects of endocrine-disrupting chemicals on adrenal function. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 20, 111–120.

9. Everds, N. E., Snyder, P. W., Rosol, T. J., Creasy, D. M., Bailey, K. L., Bolon, B., Foley, G. L., Sellers, T. (2013). Stress during routine nonclinical safety studies: a review of its impact and assessment. *Toxicol. Pathol.* (in press).



10. Hallberg, E. (1990). Metabolism and toxicity of xenobiotics in the adrenal cortex, with particular reference to 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. *J. Biochem. Toxicol.*, 5, 71–90.

11. Harvey, P. W., Everett, D. J., Springall, C. J. (2009). Adrenal toxicology: Molecular targets, endocrine mechanisms, hormonal interactions, assessment models and species differences in toxicity. In: Harvey, P.W., Everett, D.J., Springall, C.J. (Eds.), *Adrenal Toxicology. Informa Healthcare*. New York, NY: 3–35.

12. Harvey, P. W., Sutcliffe, C. (2010). Adrenocortical hypertrophy: Establishing cause and toxicological significance. *J. Appl. Toxicol.*, 30, 617–626.

13. Rana, S. V. S. (2014). Perspectives in endocrine toxicity of heavy metal. *Biological Trace Element Research*, 160(1), 1–14.

14. Ng, T. B., Liu, W. K. (1990). Toxic effect of heavy metals on cells isolated from the rat adrenal and testis. *In Vitro Cellular & Development Biology*, 26(1), 24–28.

15. Colby, H. D. (1981). Chemical suppression of steroidogenesis. *Environmental Health Perspectives*, 38, 119–127.

16. Rastogi, R. B., Singhai, R. L. (2015). Effect of Chronic Cadmium Treatment on Rat Adrenal Catecholamines. *Environmental Toxicology*, 30(12), 1445–1458.

17. Nyktytn K. D. (2008). Belky teplovogho shoka: byologhycheskye funkcyi y perspektyvni pryomenenya [Heat shock proteins: biological functions and application prospects]. *Clinical Oncohematology*, 1(2), 125–130.

18. Rybolovlev Ju. R., Rybolovlev R. S. (1979). Dozyrovanye veshhestv dlja mlekopytajushhykh po konstantam byologhycheskoj aktyvnosti [Dosing of substances for mammals according to the constants of biological activity]. *Report of the USSR Academy of Sciences*, 6, 1513–16.

19. Lyndin M. S. (2015). Morfogenez infiltratyvnogho protokovogho raku molochnoji zalozy v umovakh zabrudnennja dovkillja soljamy vazhkykh metaliv [Morphogenesis of infiltrative duct cancer of the breast in conditions of environmental pollution by salts of heavy metals] (Text of the dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences, specialty 14.03.02-pathological anatomy), Sumy: Sumy State University: 188.

20. Lucyk S. O., Jashhenko A.M. (2018). Imunohistokhimichne doslidzhennja nadnyrkovykh zaloz nashhadkiv shhuriv, shho rozvyvalysj v umovakh eksperymentaljnogho ghipo- ta ghipertyreozu materynsjkogho orghanizmu. [Immunohistochemical study of the adrenal glands of the offspring of rats that developed under conditions of experimental hypo- and hyperthyroidism of the maternal organism]. *World of Medicine and Biology*, 4(66), 175–180.

21. Serov V.V., Jaryghyn N.E., Paukov V.S. (1986). Patologhycheskaja anatomyja (atlas) [Pathological anatomy (atlas)]. Moscow: Medicine, 367s.

22. Sikora V. V. (2018). Morfologhichni zminy v sechovomu mikhuri za umov vplyvu solej vazhkykh metaliv [Morphological changes in the bladder under the influence of heavy metal salts] (The text of the dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences, specialty 14.03.02-pathological anatomy), Sumy: Sumy State University: 244.

23. Hryncova N. B., Romanjuk A. M., Bumejster V. I., Kiptenko L. I., Pernakov M. S. (2019). Morfofunkcionaljni perebudovy kirkovoji rechovyny



nadnyrnykiv statevozrylykh shhuriv za umov dovghotryvalogho vplyvu solej vazhkykh metaliv [Morphofunctional rearrangements of the cortical substance of the adrenal glands of adult rats under conditions of long-term exposure to salts of heavy metals]. *Bulletin of Vinnytsia National Medical University*, 1 (Vol. 23), 54–58.

24. Volkov, V. P. (2014). Functional morphology of the pineal gland in anti-psychotic therapy. *Universum: Medicine and Pharmacology electron. Scientific*, no. 9(10). Available at: <http://7universum.com/en/med/archive/item/1590>

25. Romanjuk A. M., Moskalenko Ju. V. (2014). Morfologhichni osoblyvosti stanovlennja endokrynnogho komponenta sim'janykiv shhuri v u rannjomu postnatal'nomu ontogenezi v umovakh vplyvu spoluk vazhkykh metaliv [Morphological features of endocrine component formation of rat testes in early postnatal ontogenesis under the influence of heavy metal compounds]. *Journal of Clinical and Experimental Medical Research*, 2(2), 224–236.