МІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ У ПЕЧІНЦІ ТА СЕРЦІ ПЕРЕПЕЛІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТОКСИКОЗУ КЛАТРОХЕЛАТОМ ФЕРУМУ(IV)

Б. В. Борисевич, д-р вет. наук., професор,
В. В. Лісова, канд. вет. наук, доцент,
І. М. Деркач, канд. вет. наук, доцент,
С. С. Деркач, канд. вет. наук, доцент,
В. Б. Духницький, д-р вет. наук, професор,
А. М. Тишківська, аспірантка

Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна
Irinal215@ukr.net

Клатрохелат Феруму(IV) є унікальною сполукою, оскільки містить Ферум у рідкісній високій валентності – IV, характеризується високою стабільністю за високих температур, різних значень рН тощо. Дослідження гострої і хронічної токсичності даної сполуки, розпочаті вперше в Україні, мають важливе теоретичне та практичне значення, оскільки даний комплекс може бути рекомендований як діюча речовина у ферумвмісних лікарських засобах з протианемічною дією.

Нами було досліджено гостру та хронічну токсичність Феруму(IV) на основі макробіциклічного ліганду гексагідрозидного типу для білих мишей, білих щурів та перепелів. Клатрохелат Феруму(IV) відповідає III класу небезпечності згідно класифікації хімічних речовин за ступенем небезпечності (ГОСТ 12.1.007-76), та IV класу і ступеню токсичності – «малотоксичні речовини», відповідно до класифікації речовин за токсичністю. Так, середня смертельна доза клатрохелату Феруму(IV) для перепелів за внутрішнього введення становить $764,3 \pm 32,71$ мг/кг маси тіла.

Доклінічні дослідження нових лікарських засобів включають проведення мікроскопічних досліджень. Установлено, що за умов експериментальної інтоксикації клатрохелатом Феруму(IV) у перепелів розвиваються патологічні зміни, які корелюють із дозою досліджуваної сполуки: чим вищою є доза, тим тяжчі виникають ураження. Наявні зміни у печінці та серці за гістологічного дослідження вказували на порушення метаболічних процесів організмі перепелів дослідних груп, яким застосовували клатрохелат Феруму(IV). Ця сполука спричиняє значне порушення обміну білків, яке за гострого отруєння цією сполукою призводить до утворення вогнищ руйнування та некрозу серцевого м'яза, а за хронічного – до зернистої дистрофії й часткового руйнування саркоплазми м'язових волокон з порушенням їх взаємозв'язку. В ендокарді та епікарді мікроскопічно помітні зміни не виникають.

Ключові слова: ЗАЛІЗО, ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ, ПТИЦЯ, ТОКСИЧНІСТЬ.

MICROSCOPIC CHANGES IN THE LIVER AND THE HEART OF QUAILS DURING THE EXPERIMENTAL TOXICOSIS OF IRON(IV) CLATROCHELATE

*B. V. Borisevych, V. V. Lysova, I. M. Derkach, S. S. Derkach,
V. B. Dukhnytsky, A. M. Tyshkivska*

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
Heroyiv Oborony st., 15, Kyiv, 03041, Ukraine
Irinal215@ukr.net

Iron(IV) clatrochelate is a unique compound because it contains iron in a rare high valence - IV. It is characterized by high stability at high temperatures, different pH values etc. The studies of acute and chronic toxicity of this compound, started for the first time in Ukraine, have the important theoretical and practical significance, as this complex can be recommended as an active substance in iron-containing drugs with antianemic action.

We investigated the acute and chronic toxicity of Iron(IV) based on a macrocyclic ligand of the hexahydrazide type for white mice, white rats and quails. Iron(IV) clatrochelate corresponds to hazard class III according to the classification of chemicals by degree of danger (GOST 12.1.007-76), and class IV and degree of toxicity - "low-toxic substances" according to the classification of substances by toxicity. Thus, the average lethal dose of Iron(IV) clatrochelate for quails when administered orally is 764.3 ± 32.71 mg / kg body weight.

Preclinical studies of new drugs include microscopic studies. It was found that under conditions of experimental intoxication with Iron(IV) clathrochelate, quails develop pathological changes that correlate with the dose of the test compound. The higher the dose, the more severe the lesions. The available changes in the liver and heart on histological examination indicated a violation of metabolic processes in the body of quails of the experimental groups, which used Iron(IV) clatrochelate.

This compound causes a significant disruption of protein metabolism, which during acute poisoning with this compound leads to the formation of areas of destruction and necrosis of the heart muscle, and during chronic - to the granular dystrophy and partial destruction of muscle fibers sarcoplasm with disruption of their relationship. Microscopically noticeable changes do not occur in the endocardium and epicardium.

Keywords: IRON, PATHOMORPHOLOGICAL RESEARCHES, BIRD, TOXICITY.

Ферум за поширеністю у природі займає друге місце серед металів (після Алюмінію) і зустрічається у валентностях II та III, причому тільки у вигляді сполук. Проте в останні десятиріччя такі дані значно розширилися і поглиблюються нині. Зокрема, набули актуальності дослідження Феруму у високих валентностях – IV, V, VI.

Так, Hohenberger et al. (2012) доводять, що оксо- та нітридо-комплекси високовалентного Феруму є активними проміжними продуктами у багатьох біологічних та хімічних процесах у природі. Nam et al. (2014) вивчали реакційну здатність та механізм реакцій окиснення моноядерних негемових оксо-комплексів Феруму(IV). Machalovášišková et al. (2016) досліджували ферати високовалентних форм (Fe (VI), Fe (V) і Fe (IV)) у водному середовищі. В умовах навколишнього середовища високовалентні сполуки Феруму (+4, +5, +6) не здатні спонтанно утворюватися, а отримані синтетично виявляються нестабільними в полярних органічних розчинниках, особливо у водних розчинах, що, в свою чергу, обмежує їх дослідження та використання.

Проте проведено ряд досліджень, за яких синтезовано більш стійкі сполуки високовалентного Феруму. Так, запропоновано синтез комплексів клатрохелату гексагідрозиду Феруму (IV) у лужному водному середовищі з солей Феруму (III),

оксалодигідрозиду та формальдегіду, що супроводжується окисненням повітря. Такі комбінації можуть існувати досить довго в умовах навколишнього середовища без будь-яких ознак розкладання у воді, неводних розчинах та у твердому стані (Tomyn et al., 2017).

Нами раніше вже повідомлялося про дослідження впливу Феруму(IV) на основі макробіциклічного ліганду гексагідрозидного типу на організм білих мишей та щурів (Dukhnisky et al., 2018; 2019; 2020). Щодо дослідження його дії на організм перепелів було вивчено параметри гострої та хронічної токсичності (Dukhnisky et al., 2019).

Встановлено, що середня смертельна доза клатрохелату Феруму(IV) для перепелів за внутрішнього введення становить $764,3 \pm 32,71$ мг/кг маси тіла. Згідно з отриманими даними, клатрохелат Феруму(IV) відповідає III класу небезпечності, згідно з класифікацією хімічних речовин за ступенем небезпечності (ГОСТ 12.1.007-76), та IV класу і ступенем токсичності – «малотоксичні речовини», відповідно до класифікації речовин за токсичністю, що відповідає параметрам гострої токсичності для білих мишей (Dukhnisky et al., 2018).

За вивчення хронічної токсичності досліджено вплив розчинів гексагідрозидного клатрохелату Феруму(IV) у різних концентраціях на організм перепелів із визначенням динаміки маси тіла, відносних коефіцієнтів маси їх внутрішніх органів, морфологічних і біохімічних показників крові та сироватки крові за багаторазового введення досліджуваної речовини у різних дозах.

Аналіз коефіцієнтів маси внутрішніх органів перепелів на 10 добу показав достовірне зменшення маси печінки і серця у птиці дослідних груп, причому за дози 152,86 мг/кг м. т. (III дослідна група) ці зміни є більш вираженими, ніж за дози 76,43 мг/кг м. т., порівняно з показниками у перепелів контрольної групи. На 20 добу встановлена така ж тенденція змін відносних коефіцієнтів маси внутрішніх органів перепелів. Зміни відносних коефіцієнтів маси внутрішніх органів перепелів дослідних груп на 30 добу характеризувалися вираженим зменшенням маси печінки у 2,8 рази ($p < 0,001$) (II дослідна група) і у 3,2 рази ($p < 0,001$) (III дослідна група) порівняно з показниками у птиці контрольної групи. Відносні коефіцієнти маси серця були меншими відповідно на 14 % у перепелів III дослідної групи (за дози 152,86 мг/кг м. т. тіла), порівняно з показниками у птиці контрольної групи, що засвідчує про надмірне навантаження на ці органи перепелів клатрохелату Феруму(IV).

Під час проведення токсикологічних досліджень лікарських засобів на лабораторних тваринах серед різних методів важливе місце займають патоморфологічні дослідження. Вони є необхідним етапом у вивченні біологічної реакції організму тварин на дію лікарських засобів і дозволяють описати характер і важкість перебігу патологічного процесу за дії досліджуваних речовин. Матеріалом для досліджень слугують органи та тканини від спеціально забитих тварин і тих, що загинули у процесі експерименту. Аналіз мікроскопічних змін органів та тканин допомагає встановити причину загибелі тварин у процесі експерименту. У цьому випадку обов'язковими є морфологічні дослідження в динаміці під час експерименту, що допомагає простежити розвиток патологічних і відновлювальних процесів, зрозуміти їх сутність і вагомість (патологію, компенсацію, адаптацію).

Результати впливу ветеринарного лікарського засобу оцінюють після макроскопічного огляду та мікроскопічного дослідження органів тварин контрольної та дослідної груп. Морфологічними методами можна тестувати зміни різних органів і тканин від мінімальних до чітко виражених. Так, за впливу хімічних речовин загальнотоксичної та гепатотропної дії найчастіше спостерігається типова відповідна реакція органу: порушення обміну білків, ліпідів, вуглеводів, зміни біліарної та судинної систем. У цілому процес може носити характер гострої токсичної дистрофії, токсичного персистуючого гепатиту, гепатозу. За інтоксикації кардіотропними речовинами морфологічно тестують зміни в основному дифузного характеру. Частіше реєструють зміни в міокарді у формі розладів метаболізму ліпідів, вуглеводів, білків у серцевому м'язі, що виявляють у еозинофільних, фуксинофільних вогнищах м'язових волокон, міоліз, дрібнозернисту жирову дистрофію, коагуляційний некроз. За різних

інтоксикацій у серці зустрічається жирова дистрофія. Нерідко відзначають збільшення кількості гістіоцитів у стромі, але інтерстиціальний міокардит з клітинними інфільтраатами зустрічається рідко, а його виявлення вказує на важкий ступінь інтоксикації.

Варто зауважити, що проведення мікроскопічних досліджень у тварин за хронічного токсикологічного експерименту має труднощі у зв'язку з необхідністю діагностики мінімальних структурних, структурно-функціональних відхилень в органах, а також визначення ступеня їх виразності.

За малих рівнів впливу досліджуваних сполук морфологічні дослідження слід проводити в динаміці, шляхом евтаназії тварин у різний термін експерименту. За хронічної інтоксикації важливо простежити фазовість морфологічних реакцій, виділяючи ознаки ушкодження та явища регенерації, бажано виявити компенсаторні зсуви та явища адаптації. Більш виражені зсуви активності клітин з явищами проліферації, гіпертрофії, з дифузним посиленням різних ланок метаболізму і загальним підвищенням пластичних процесів і енергетичного обміну свідчать про наявність компенсаторних процесів (Коцюмбас, 2006).

Отже, за проведення доклінічних досліджень нового препарату детальне мікроскопічне дослідження систем і органів експериментальних тварин дає можливість вивчити патогенез інтоксикації досліджуваного лікарського засобу.

Метою роботи було дослідити мікроскопічні зміни у печінці та серці перепелів за гострого та хронічного експериментального токсикозу перепелів клатрохелатом Феруму(IV).

Матеріали і методи. Дослідження хронічної токсичності клатрохелату Феруму(IV) $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{L}-6\text{H})]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (L – макробіциклічний гексагідрозидний ліганд) проводили на перепелах, масою тіла 160–170 г, сформованих у три групи по 15 перепелів у кожній: перепели I групи (контроль) отримували воду; перепелам II дослідної групи випоювали розчин клатрохелату Феруму(IV) із розрахунку 76,43 мг/кг маси тіла (1/10 DL_{50} досліджуваної сполуки); перепелам III дослідної групи випоювали розчин клатрохелату Феруму(IV) із розрахунку 152,86 мг/кг маси тіла (1/5 DL_{50} досліджуваної сполуки).

Птицю утримували в умовах віварію факультету ветеринарної медицини НУБіП України, зі сталою температурою повітря та вологістю у приміщеннях. Годівля перепелів передбачала стандартний раціон з постійним доступом до води / водного розчину клатрохелату Феруму(IV). Перед початком дослідів птиця всіх груп утримувалася в адаптаційному періоді 10 діб. Відхилень у поведінкових реакціях перепелів як у дослідних, так і у контрольній групах не спостерігали.

Усі заходи проводили з урахуванням «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001) та згідно з положеннями Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин (Strasbourg: Council of Europe 18.03.1986).

Основними етапами патоморфологічних досліджень за проведення токсикологічного дослідження були:

- під час вивчення гострої токсичності клатрохелату Феруму (IV) перепелів, які загинули і після евтаназії (в кінці експерименту) розтинали. Проводили макроскопічний огляд, органи вирізували, зважували і фіксували шматочки печінки та серця для гістологічного дослідження;

- під час вивчення хронічної токсичності клатрохелату Феруму(IV) перепелів дослідних та контрольної груп піддавали евтаназії на 10, 20 та 30 доби експерименту; гістологічному дослідженню підлягали органи перепелів I групи (контроль); II дослідної групи (1/10 DL_{50} досліджуваної сполуки); перепели III дослідної групи (1/5 DL_{50} досліджуваної сполуки).

Гістологічні дослідження проводили в умовах лабораторії гістології кафедри анатомії, гістології і патоморфології тварин імені акад. В. Г. Касьяненка факультету ветеринарної медицини Національного університету біоресурсів і природокористування України. З кожної групи птиці у встановлені терміни досліджень було проведено розтин 5 перепелів методом

часткової евісцерації (Zon et al., 2009). Під час проведення патологоанатомічного розтину для гістологічних досліджень відбирали шматочки печінки та серця. Відібрані шматочки фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, зневоднювали в етанолах зростаючої концентрації та через хлороформ заливали в парафін. Зрізи товщиною 6±2 мм одержували за допомогою санного мікротому і фарбували гематоксиліном Караці та еозином. Гідропічну дистрофію від жирової диференціювали шляхом зафарбовування заморожених гістологічних зрізів Суданом-III (Goralsky et al., 2005). Вивчення гістопрепаратів і їх фотографування проводили за допомогою мікроскопа OLYMPUS CX41 і фотокамери OLYMPUS C-5050.

Результати й обговорення. Проведеними гістологічними дослідженнями печінки перепелів контрольної групи в усі строки досліджень було встановлено, що цей орган має типову для птиці мікроскопічну будову. У печінці чітко візуалізувалися портальні тракти, в яких проходили артерії, вени та жовчні протоки печінкових тріад. Поділ на часточки був недосить виразним. У центрі кожної печінкової часточки локалізувалась центральна вена (рис. 1). Усі гепатоцити мали типову мікроскопічну будову – досить великі полігональні клітини з центрально розташованим великим округлим ядром. Будь-які патологічні зміни в печінках усіх досліджених нами перепелів контрольної групи були відсутні.

Рис. 1. Печінка перепела контрольної групи на 10 добу досліджень: 1 – портальний тракт; 2 – печінкова часточка; 3 – центральна вена. Гематоксилін Караці та еозин.

Під час проведення гістологічних досліджень печінок перепелів за гострої токсичності клатрохелатом Феруму(IV) нами були виявлені виразні мікроскопічні зміни. Вени усіх печінкових тріад були виразно розширені, а частина з них – переповнена кров'ю, що свідчило про наявність венозного застою крові. Частина розширених вен містила мало клітин крові, які були зосереджені біля внутрішньої поверхні їх стінок, а оточуючі тканини були інфільтровані цими клітинами. Це свідчило про активну міграцію клітин крові за межі цих кровоносних судин. Навколо виразно розширених вен печінкових тріад, які містили мало клітин крові, виявлявся набряк (рис. 2).

Рис. 2. Печінка перепела за гострої токсичності клатрохелатом Феруму(IV): 1 – артерія печінкової тріади; 2 – розширена, переповнена кров'ю вена печінкової тріади; 3 – розширена вена печінкової тріади з крайовим стоянням клітин крові; 4 – набряк. Гематоксилін Караці та еозин.

Печінка була набрякла, нерівномірно інфільтрована лейкоцитами та відносно невеликою кількістю еритроцитів (рис. 3, 4). Гепатоцити перебували в стані зернистої дистрофії (рис. 3), а місцями – в стані дрібнокрапельної гідропічної дистрофії. Частина дистрофічно змінених гепатоцитів руйнувалась (рис. 4).

Таким чином, характер мікроскопічних змін у печінці перепелів за гострої токсичності клатрохелату Феруму(IV) свідчив про наявність у них гепатиту на фоні виразного білкового гепатозу, який мав первинний характер, оскільки мікроскопічні ознаки такого гепатозу з'являлись раніше за мікроскопічні ознаки запальної реакції. Гістологічними дослідженнями печінок перепелів за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму(IV) у різних дозах нами також були виявлені мікроскопічні зміни, проте вони не були такими виразними, як за гострої токсичності в жоден зі строків наших досліджень.

У перепелів, які одержували $1/5$ DL_{50} клатрохелату Феруму(IV), на 10 добу реєструвався незначний венозний застій крові, а більшість гепатоцитів перебувала в стані зернистої дистрофії (рис. 5). На 20 добу у частини гепатоцитів починала реєструватись гідропічна дистрофія, що свідчило про наростання дистрофічних змін. Також виявлялась гіпеплазія купферовських клітин (рис. 6). На 30 добу кількість гепатоцитів у стані гідропічної дистрофії помітно збільшувалась, гіпеплазія купферовських клітин зберігалась, а місцями виявлялись невеликі скупчення лейкоцитів (рис. 7).

Такі зміни засвідчували про наявність білкового гепатозу та можливий початок розвитку гепатиту. Проте гепатоз у перепелів, які одержували $1/5$ DL_{50} клатрохелату Феруму(IV), був менш виразним, ніж у перепелів за гострої токсичності клатрохелатом Феруму(IV).

У перепелів, які одержували $1/10$ DL_{50} клатрохелату Феруму(IV), гістологічними дослідженнями на 10 добу реєстрували лише венозний застій крові (рис. 8). На 20 добу нами було встановлено зернисту дистрофію переважної більшості гепатоцитів (рис. 9), а на 30 добу на окремих ділянках печінки починали виявлятися гепатоцити в стані гідропічної дистрофії (рис. 10). Гіперплазія купферівських клітин і інфільтрація печінки лейкоцитами не реєструвались. Такі зміни свідчили про наявність у перепелів, які одержували $1/10$ DL_{50}

клатрохелату Феруму(IV), лише білкового гепатозу. Проте гепатоз у цієї групи перепелів був менш виразним, ніж у перепелів, які одержували 1/5 DL_{50} клатрохелату Феруму (IV). Поряд з цим мікроскопічні ознаки гепатиту в перепелів, які одержували 1/10 DL_{50} клатрохелату Феруму(IV), були відсутні.

Рис. 3. Печінка перепела за гострої токсичності клатрохелатом Феруму(IV): 1 – капсула печінки; 2 – зерниста дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін Караці та еозин.

Рис. 4. Печінка перепела за гострої токсичності клатрохелатом Феруму(IV): 1 – набряк; 2 – дрібнокрапельна гідропічна дистрофія гепатоцитів; 3 – руйнування дистрофічно змінених гепатоцитів. Гематоксилін Караці та еозин.

Рис. 5. Печінка перепела за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму(IV) (1/5 DL_{50} досліджуваної сполуки) на 10 добу: зерниста дистрофія гепатоцитів (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин.

Рис. 6. Печінка перепела за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму(IV) (1/5 DL_{50} досліджуваної сполуки) на 20 добу: 1 – капсула печінки; 2 – зерниста дистрофія гепатоцитів; 3 – гідропічна дистрофія гепатоцитів; 4 – купферовська клітина. Гематоксилін Караці та еозин.

Рис. 7. Печінка перепела за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму(IV) (1/5 DL₅₀ досліджуваної сполуки) на 30-й день: 1 – зерниста дистрофія гепатоцитів; 2 – гідропічна дистрофія гепатоцитів; 3 – купферовська клітина. Гематоксилін Караці та еозин.

Узагальнюючи мікроскопічні зміни в печінці перепелів за дії клатрохелату Феруму(IV) можна зробити висновок, що ця сполука спричиняє значне порушення обміну білків, яке ускладнюється розвитком гепатиту. Тяжкість ураження печінки перепелів залежить від дози клатрохелату Феруму(IV) – чим більша доза, тим тяжчі ураження виникають. Гістологічними дослідженнями серця перепелів контрольної групи в усі строки досліджень було встановлено, що цей орган має типову мікроскопічну будову. Будь-які патологічні зміни у серці усіх досліджених нами перепелів контрольної групи були відсутні.

Проведеними гістологічними дослідженнями серця перепелів за гострої токсичності клатрохелатом Феруму(IV) нами були встановлені виразні мікроскопічні зміни в міокарді, натомість в епікарді і ендокарді змін не спостерігали. Вени міокарду були виразно розширені, переповнені кров'ю, що свідчило про наявність венозного застою (рис. 11).

Рис. 8. Печінка перепела за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму(IV) (1/10 DL₅₀ досліджуваної сполуки) на 10 добу: розширені, переповнені кров'ю печінкові вени (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин.

Рис. 9. Печінка перепела за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму(IV) (1/10 DL_{50} досліджуваної сполуки) на 20 добу: зерниста дистрофія гепатоцитів (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин.

Рис. 10. Печінка перепела за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму(IV) (1/10 DL_{50} досліджуваної сполуки) на 30 добу: 1 – розширена, переповнена кров'ю вена; 2 – гідропічна дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін Караці та еозин.

Рис. 11. Серце перепела за гострої токсичності клатрохелатом Феруму(IV): 1 – розширена, переповнена кров'ю вена; 2 – зерниста дистрофія міокардіоцитів; 3 – некроз міокардіоцитів. Гематоксилін Караці та еозин.

Міокард був дифузно виразно набряклий (рис. 12). Більшість міокардіоцитів перебувала в стані зернистої дистрофії. У частинах дистрофічно змінених клітин серцевого м'яза реєструвався розпад саркоплазми на окремі зерна (рис. 13). Місцями виявлялись вогнища руйнування та вогнища некрозу міокардіоцитів (див. рис. 11).

У перепелів, які одержували $1/5 \text{ DL}_{50}$ клатрохелату Феруму(IV), проведеними гістологічними дослідженнями серця на 10 добу було встановлено венозний застій крові та набряк міокарду (рис. 14). Набряк призводив до дисконфлексії частини пучків волокон серцевого м'яза. Частина міокардіоцитів перебувала в стані зернистої дистрофії (рис. 15). Епікард і ендокард мікроскопічних змін не мали. На 20 добу, крім застою крові та набряку міокарду, нами було встановлено тотальну зернисту дистрофію міокардіоцитів і вогнища зернистого розпаду саркоплазми в частині м'язових волокон (рис. 16).

Рис. 12. Серце перепела за гострої токсичності клатрохелатом Феруму(IV): набряк міокарду (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин.

Рис. 13. Серце перепела за гострої токсичності клатрохелатом Феруму(IV): 1 – зерниста дистрофія міокардіоцитів; 2 – зернистий розпад саркоплазми. Гематоксилін Караці та еозин.

Рис. 14. Серце перепела за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму IV) (1/5 DL_{50} досліджуваної сполуки) на 10 добу: набряк міокарду (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин.

На 30 добу в міокарді на фоні зернистої дистрофії та зернистого розпаду саркоплазми міокардіоцитів (рис. 17) вже реєструвалася тотальна дисконплексація та фрагментація пучків м'язових волокон (рис. 18).

Рис. 15. Серце перепела за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму(IV) ($1/5 \text{ DL}_{50}$ досліджуваної сполуки) на 10 добу: 1 – зерниста дистрофія міокардіоцитів; 2 – дисконплексація пучків міокардіоцитів. Гематоксилін Караці та еозин.

Гістологічними дослідженнями серця на 10 добу у перепелів, які одержували $1/10 \text{ DL}_{50}$ клатрохелату Феруму(IV), як і в перепелів, які одержували $1/5 \text{ DL}_{50}$ клатрохелату Феруму(IV), реєструвався венозний застій крові та набряк міокарду (рис. 19).

Рис. 16. Серце перепела за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму(IV) ($1/5 \text{ DL}_{50}$ досліджуваної сполуки) на 20 добу: 1 – зерниста дистрофія гепатоцитів; 2 – зернистий розпад саркоплазми. Гематоксилін Караці та еозин.

На 20 добу на фоні венозного застою крові та набряку міокарду нами було встановлено зернисту дистрофію міокардіоцитів (рис. 20), але вогнища зернистого розпаду саркоплазми в частині м'язових волокон, як це мало місце в перепелів, які одержували 1/5 DL₅₀ клатрохелату Феруму(IV), не виявлялися. На 30 добу мікроскопічні зміни в міокарді були подібні таким на 20 добу.

Узагальнюючи мікроскопічні зміни в серці перепелів за дії клатрохелату Феруму(IV) можна зробити висновок, що ця сполука спричиняє значне порушення обміну білку, яке за гострого отруєння цією сполукою призводить до утворення вогнищ руйнування та некрозу серцевого м'яза, а за хронічного – до зернистої дистрофії й часткового руйнування саркоплазми м'язових волокон з порушенням їх взаємозв'язку. Тяжкість ураження серцевого м'яза перепілок як і їх печінки, залежить від дози клатрохелату Феруму(IV) – чим більша доза, тим тяжчі ураження виникають. У ендокарді та епікарді мікроскопічно помітні зміни не виникають.

Отже, вищеописані зміни вказували на порушення метаболічних процесів в організмі перепелів та підтверджують отримані нами раніше результати досліджень.

Так активність лужної фосфатази у сироватці крові перепелів дослідних груп була вірогідно вищою порівняно з показниками контролю впродовж усього періоду досліджень і на 30 добу в 1,5 раза ($p < 0,001$) перевищувала показник у птиці контрольної групи.

Рис. 17. Серце перепела за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму(IV) (1/5 DL₅₀ досліджуваної сполуки) на 30 добу: 1 – зерниста дистрофія міокардіоцитів; 2 – зернистий розпад саркоплазми. Гематоксилін Караці та еозин.

Рис. 18. Серце перепела за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму(IV) (1/5 DL₅₀ досліджуваної сполуки) на 30 добу: 1 – зерниста дистрофія міокардіоцитів; 2 – дисконплексація та фрагментація пучків м'язових волокон. Гематоксилін Караці та еозин.

Рис. 19. Серце перепела за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму(IV) (1/10 DL₅₀ досліджуваної сполуки) на 10 добу: набряк міокарду (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин.

Рис. 20. Серце перепела за хронічної токсичності клатрохелатом Феруму(IV) (1/10 DL_{50} досліджуваної сполуки) на 10 добу: 1 – зерниста дистрофія міокардіоцитів; 2 – дисконплексація та фрагментація пучків м'язових волокон. Гематоксилін Караці та еозин.

ВИСНОВКИ

1. Експериментальний токсикоз перепелів клатрохелатом Феруму(IV) супроводжується порушенням обміну білків, яке, за гострої форми отруєння цією сполукою, призводить до утворення вогнищ руйнування та некрозу серцевого м'яза, а за хронічної – до зернистої дистрофії й часткового руйнування саркоплазми м'язових волокон із порушенням їх взаємозв'язку.

2. За експериментального отруєння перепелів клатрохелатом Феруму(IV) в ендокарді та епікарді мікроскопічно помітні зміни не виникають.

3. Тяжкість ураження печінки та серця перепелів за експериментального токсикозу клатрохелатом Феруму(IV) знаходиться у прямій залежності від його дози.

Перспективи досліджень. Встановлення мікроскопічних змін в органах лабораторних тварин інших видів за експериментального токсикозу клатрохелатом Феруму(IV).

References

Dukhnitsky, V.B., Derkach, I.M., Plutenko, M.O., Fritsky, I.O., & Derkach, S.S. (2018). Vyznachennja parametriv gostroi toksychnosti ferumu (IV) na bilyh myshah [Determination of the accumulative toxicity parameters of iron (IV) on white mice]. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8 (2), 308–312. DOI: 10.15421/2018_343. [in Ukrainian].

Dukhnitsky, V.B., Derkach, I.M., Derkach, S.S., Fritsky, I.O., & Plutenko, M.O. (2019). Khronichna toksychnist klatrokhelatu Ferumu (IV) dlia bilykh shchuriv [Chronic toxicity of the Iron (IV) clathrochelate complexes for white rats]. *Naukovyj visnyk Lvivskogo nacionalnogo universytetu veterinarnoi medycyny ta biotekhnologij imeni S. Z. Gzhyckogo* [Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences], 21(95), 15–21. DOI: 10.32718/nvlvet9503. [in Ukrainian].

- Dukhnitsky, V.B., Derkach, I.M., Plutenko, M.O., Fritsky, I.O., & Derkach, S.S. (2019). Cumulative properties of Iron(IV) clathrochelate in rats [Kumuliatyvni vlastvosti klatrokhelatu Ferumu (IV) dlia bilykh shchuriv]. *Visnyk PDAA*. [Messenger PDAA], 2, 238–246. DOI: 10.31210/visnyk2019.02.32 [in Ukrainian].
- Dukhnitsky, V.B., Derkach, I.M., Plutenko, M.O., Fritsky, I.O., & Derkach, S.S. (2019). Acute toxicity of the iron clathrochelate complexes. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(3), 276–279. DOI: 10.15421/021942.
- Dukhnitsky, V.B., Derkach, I.M., Derkach, S.S., Plutenko, M.O. & Fritsky, I.O. (2019). Influence of iron (IV) clathrochelate complex on quail blood parameters and weight characteristics. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9 (3), 126–131. DOI: 10.15421/2019_719.
- Dukhnitsky, V.B., Derkach, I.M., Derkach, S.S., Fritsky, I.O., & Plutenko, M.O. (2020). Doslidzhennia podrazniuvanoi dii ta alerhennykh vlastyvostei klatrokhelatu Ferumu(IV) [Investigations of the irritant effect and allergenic properties of Ferum's clathrochelate (IV)]. *Naukovyy visnyk Lvivskogo nacionalnogo universytetu veterynarnoi medycyny ta biotekhnologij imeni S. Z. Gzhyckogo* [Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences], 22(97), 130–135. DOI: 10.32718/nvlvet9721 [in Ukrainian].
- Dukhnitsky, V.B., Kalachniuk L.H., Derkach, I.M., Derkach, S.S., Plutenko, M.O. & Fritsky, I.O. (2020). Iron(IV) hexahydrazide clathrochelate complexes: the chronic toxicity study. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9 (3), 18–23. DOI: 10.15421/2020_3.
- Goralsky, L.P., Khomich, V.T., & Kononsky, O.I. (2005). Osnovy histolohichnoi tekhniky i morfofunktsionalni metody doslidzhennia u normi ta pry patolohii [Fundamentals of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathology]. Zhytomyr. Polissya [in Ukrainian].
- Hohenberger, J., Ray, K., & Meyer, K. (2012). The biology and chemistry of high-valent iron-oxo and iron-nitrido complexes. *Nature communications*, 3, 720. DOI: 10.1038/ncomms1718.
- Kocjumbas, I. Ja. (2006). Doklinichni doslidzhennja vet-erynarnykh likars'kyh zasobiv. L'viv. Triada pljus [in Ukrainian].
- MachalováŠišková, K., Jančula, D., Drahoš, B., Machala, L., Babica, P., Alonso, P.G., Trávníček, Z., Tuček, J., Maršálek, B., Sharma, V.K., & Zbořil, R. (2016). High-valent iron (Fe(VI), Fe(V), and Fe(IV)) species in water: characterization and oxidative transformation of estrogenic hormones. *Physical chemistry chemical physics*, 18(28), 18802–18810. DOI: 10.1039/c6cp02216b.
- Nam, W., Lee, Y.M., & Fukuzumi, S. (2014). Tuning reactivity and mechanism in oxidation reactions by mononuclear nonheme iron(IV)-oxo complexes. *Accounts of chemical research*, 47(4), 1146–1154. DOI: 10.1021/ar400258p.
- Tomyn, S., Shylin, S.I., Bykov, D., Ksenofontov, V., Gumienna-Kontecka, E., Bon, V. & Fritsky, I.O. (2017). Indefinitely stable iron (IV) cage complexes formed in water by air oxidation. *Nature Communications*, 8, 1–8. DOI: 10.1038/ncomms14099.
- Zon, G.A., Skrypka, M.B., & Ivanivska, L.B. (2009). Pathological autopsy of animals [Pathological autopsy of animals]. Donetsk. PP Glazunov R.O. [in Ukrainian].