

**О.П. Васецька, В.С. Лісовська**

Державне підприємство «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України» м. Київ, Україна

## ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК ЗА ГОСТРОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ N-оксид 2,6-диметилпіридину (ІВІНУ)

**РЕЗЮМЕ.** За впливу на організм пестициди та регулятори росту рослин (PPR) можуть викликати окислювальний стрес, інтенсифікувати перекисне окислення ліпідів, змінювати активність низки ферментів, що за тривалої експозиції може призвести до порушення функцій різних органів і систем організму. У сільському господарстві України широко використовуються PPR на основі метильних похідних N-оксид піридину, їхні механізми токсичної дії ще недостатньо досліджені, зокрема вплив на морфофункціональний стан нирок. Тому з'ясування функціонального стану нирок за впливу метильних похідних N-оксид піридину є актуальним завданням для розробки профілактичних заходів, направлених на запобігання негативних наслідків ксенобіотиків для здоров'я людини.

**Мета.** Вивчити морфофункціональний стан нирок за гострого перорального впливу на організм регулятора росту рослин N-оксид 2,6-диметилпіридину (Івіну).

**Матеріали та методи.** Дослідження проведено на статевозрілих щурів-самців Wistar Han (SPF). N-оксид 2,6-диметилпіридину (Івін), 99,9 % вводили перорально, одноразово у вигляді водного розчину (по 5 тварин в групі) в дозах 650 мг/кг і 13 мг/кг, що відповідає 1/2 і 1/100 від ЛД<sub>50</sub>. Контрольна група отримувала дистильовану воду в тому об'ємі, що і піддослідні групи. Досліджували клінічний стан тварин, масу тіла і приріст маси тіла, абсолютну та відносну масу нирок, показники, що характеризують функціональний стан нирок, проводили макроскопічне та гістологічне дослідження тканин нирок.

**Результати.** За впливу Івіну в дозі 650 мг/кг на 7 добу спостерігалось зниження маси тіла та її приросту, абсолютної маси нирок, підвищення рівня рН сечі. У дозі 13 мг/кг Івін викликав незначне, але вірогідне підвищення вмісту сечовини в сироватці крові на 1 і 7 добу, спостерігалась тенденція до зниження вмісту сечовини та азоту сечовини в сечі на 1 добу досліджень. Виявлено тенденцію до збільшення кліренсу креатиніну в дозі 13 мг/кг через 1 і 7 діб, та в дозі 630 мг/кг на 1 добу досліджень. Токсикологічно значущих макроскопічних і гістологічних змін тканин нирок не зафіксовано.

**Висновки.** Івін за гострого перорального впливу на організм у максимальній дослідженій дозі (650 мг/кг) чинить загальнотоксичну дію на організм щурів-самців, що проявляється зниженням маси тіла та абсолютної маси нирок, зменшенням приросту маси тіла. Івін у досліджених дозах не спричиняє токсикологічно значущих порушень функцій нирок у щурів-самців. Незначне збільшення сечовини в сироватці крові при збереженні функціональної активності нирок може свідчити про підвищення обміну білка, а тенденція до збільшення кліренсу креатиніну - про інтенсифікацію клубочкової фільтрації в нирках, спрямовану на стабілізацію гомеостазу. Морфологічні зміни в тканинах нирок щурів переважно характеризуються слабким або помірним повнокрів'ям у кортикостероїдній зоні та в мозковій речовині, що не є специфічними проявами токсичного впливу Івіну, оскільки вказані ефекти проявляються також у контрольній групі тварин.

**Ключові слова:** регулятор росту рослин, N-оксид 2,6-диметилпіридину, морфо-функціональний стан нирок.

**O. Vasetska, V. Lisovska**

L.I. Medved's Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), Kyiv, Ukraine

## FUNCTIONAL STATE OF KIDNEYS UNDER THE ACUTE ORAL 2.6-dimethylpyridine N-oxide (IVIN) EXPOSURE TO THE ORGANISM

**ABSTRACT.** When exposed to the body, pesticides and plant growth regulators (PGRs) can cause oxidative stress, intensify lipid peroxidation, change the activity of a number of enzymes, which can lead to disruption of the functions of various organs and systems of the body under a long-term exposure. In the agricultural practices of Ukraine, PGRs based on methyl derivatives of pyridine N-oxide are widely applied; the mechanisms of their toxic action have not yet been sufficiently studied, in particular, the effect on the morpho-functional state of kidneys. Therefore, finding out the functional state of kidneys under the exposure to methyl derivatives of pyridine N-oxide of is an urgent task for the development of preventive measures aimed at preventing the negative effects of xenobiotics on human health.

**Aim.** To study the morpho-functional state of kidneys under acute oral exposure to the plant growth regulator 2.6-Dimethylpyridine N-oxide (Ivin).

**Materials and Methods.** The research was conducted on sexually mature male Wistar Han (SPF) rats. 2,6-Dimethylpyridine N-oxide (Ivin), 99.9% was administered orally, at a single dose in the form of an aqueous solution (5 animals in a group) at doses of 650 mg/kg and 13 mg/kg, which corresponds to 1/2 and 1/100 LD<sub>50</sub>. The control group received distilled water at the same volume as the experimental groups. The clinical condition of the animals, body weight and body weight gain, absolute and relative weight of the kidneys, indicators characterizing the functional state of the kidneys were researched, macroscopic and histological examination of kidney tissues was performed.

**The results.** Under the exposure to Ivin at a dose of 650 mg/kg on the 7th day a decrease in body weight and weight gain, in the absolute weight of the kidneys, and an increase in the pH level of urine were observed. At a dose of 13 mg/kg, Ivin caused a slight but probable increase in the content of urea in the blood serum on the 1st and 7th day, a tendency towards a decrease in the content of urea and urea nitrogen in the urine has been observed on the 1st day of the research. A tendency towards an increase in creatinine clearance was registered at a dose of 13 mg/kg after the 1st and 7th days, and at a dose of 630 mg/kg on the 1st day of the research. No toxicologically significant macroscopic and histological changes in kidney tissues were registered.

**Conclusions.** Under the acute oral exposure to the body at the maximum tested dose (650 mg/kg), Ivin has a general toxic effect on the body of male rats, which is manifested by a decrease in body weight and absolute kidney weight, and a decrease in body weight gain. Ivin at the investigated doses does not cause toxicologically significant disruptions of kidney functions in male rats. A slight increase in urea in the blood serum while preserving the functional activity of the kidneys can indicate an increase in protein metabolism, and a tendency towards an increase in creatinine clearance indicates an intensification of glomerular filtration in the kidneys aimed at homeostasis stabilizing. Morphological changes in kidney tissues of rats are mainly characterised by mild or moderate blood plethora in the corticomedullary zone and in the medulla, which are not specific manifestations of the toxic effect of Ivin, since the specified effects are also manifested in the control group of animals.

**Keywords:** plant growth regulator, 2,6-Dimethylpyridine N-oxide, morphofunctional state of kidneys

**Вступ.** Забруднення довкілля хімічними речовинами, зокрема засобами захисту рослин, є однією з причин антропогенного порушення гомеостазу в живих організмах. Відомо, що за впливу на ссавців пестициди та регулятори росту рослин (РРР) можуть викликати окислювальний стрес, інтенсифікувати перекисне окислення ліпідів, змінювати активність низки ферментів, що за тривалої експозиції може призвести до порушення функцій печінки, нирок, інших органів і систем організму [1-4]. Тому дослідження біологічної активності та механізмів токсичної дії засобів захисту рослин є важливими для розробки профілактичних заходів і запобігання негативним наслідкам для здоров'я людини.

У сільському господарстві України широко використовуються РРР на основі метильних похідних N-оксид піридину (Івін, Потеїтин, Триман-1 та ін.). Показано [5], що за субхронічного перорального впливу (3 міс) Івін (N-оксид 2,6-диметилпіридину) підвищував вміст сечовини в сироватці крові та сечі, креатиніну і протеїну в сечі, Триман-1 (комплекс N-оксид-2-метилпіридину з MnCl<sub>2</sub>) за тривалого впливу (6 міс) незначно збільшував вміст креатиніну та сечовини в сечі. Але механізми токсичної дії метильних похідних N-оксид піридину ще недостатньо з'ясовані, зокрема вплив на морфофункціональний стан нирок, що потребує подальших досліджень.

**Introduction.** Pollution of the environment with chemical substances, in particular with plant protection products, is one of the causes of anthropogenic disruption of homeostasis in living organisms. It is known that when exposed to mammals, pesticides and plant growth regulators (PGRs) can cause oxidative stress, intensify lipid peroxidation, and change the activity of a number of enzymes, which, under prolonged exposure, can lead to disruption of liver, kidney, other organs and body systems functions [1-4]. Therefore, the study of biological activity and mechanisms of toxic action of plant protection products is important for the development of preventive measures and prevention of negative effects for human health.

In the agricultural practices of Ukraine, PGRs based on methyl derivatives of pyridine N-oxide (Ivin, Poteitin, Tryman-1, etc.) are widely applied. It was shown [5] that at subchronic oral exposure (3 months) to Ivin (2,6-Dimethylpyridine N-oxide) the content of urea in blood serum and urine, creatinine and protein in urine increased; Tryman-1 (a complex of 2-methyl-pyridine N-oxide with MnCl<sub>2</sub>) at long-term exposure (6 months) caused a slight increase in the content of creatinine and urea in urine. However, the mechanisms of the toxic effect of methyl derivatives of pyridine N-oxide have not yet been sufficiently elucidated, in particular, the effect on the morphofunctional state of the kidneys, which requires further research.

**Мета.** Вивчити морфофункціональний стан нирок за гострого перорального впливу на організм регулятора росту рослин N-оксид 2,6-диметилпіридину (Івіну).

**Матеріали та методи.** У роботі використано РРР N-оксид 2,6-диметилпіридину (Івін), 99,9 % синтезований в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України імені В.П. Кухаря.

Дослідження функціонального стану нирок за гострого впливу РРР Івіну проведено на статевозрілих 30 щурах-самцях Wistar Han (SPF) масою тіла 235-255 г, отриманих із розплідника дрібних лабораторних тварин ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України» та переміщено до SPF віварію зі збереженням статусу тварин.

Щури споживали збалансований гранульований корм 1324 Р виробництва Альтромін (Німеччина) і отримували деіонізовану, незаражену УФ-опроміненням та очищену зворотним осмосом, фільтровану питну воду з пластикових пляшок через металеві наконечники *ad libitum*. Періодично проводився мікробіологічний контроль води та підстеленого матеріалу.

Дослідження на тваринах проведені відповідно до принципів біоетики та вимог Комісії з питань етики медичних та біологічних досліджень Державного підприємства „Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України”.

Досліджувані дози Івіну – 650 мг/кг і 13 мг/кг, що відповідає 1/2 і 1/100 від ЛД<sub>50</sub>. Було сформовано три групи: 1) контроль, 2) піддослідна, що отримувала перорально Івін у дозі 650 мг/кг), 3) піддослідна, що отримувала перорально Івін у дозі 13 мг/кг. У кожній піддослідній групі та контрольній знаходилось по 5 тварин. Івін вводили одноразово, перорально за допомогою металевого зонду у вигляді водного розчину. Контрольна група отримувала дистильовану воду в тому ж об'ємі, що і піддослідні групи. Об'єм введеного розчину або води не більше 1,0 мл/100 г маси тіла.

Досліджували клінічний стан тварин, масу тіла і приріст маси тіла, абсолютну та відносну масу нирок, показники, що характеризують функціональний стан нирок, прово-

**Aim.** To study the morphofunctional state of the kidneys under acute oral exposure to the plant growth regulator 2.6-Dimethylpyridine N-oxide (Ivin).

**Materials and methods.** For the aim of the research PGR 2.6-Dimethylpyridine N-oxide (Ivin), 99.9 % synthesized at “V.P. Kuhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine” was used.

The study of the functional state of the kidneys under acute exposure to PGR Ivin was carried out on 30 sexually mature Wistar Han (SPF) male rats with a body weight of 235-255 g, obtained from a nursery of small laboratory animals of the L.I. Medved's Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), and transferred to the SPF vivarium with preservation of the status of animals.

The animals consumed balanced granulated feed 1324 P manufactured by Altromin (Germany) and received deionized, UV-irradiated and purified with reverse osmosis filtered drinking water *ad libitum*. Periodic microbiological control of water and bedding material was carried out.

The research on animals was conducted in accordance with the principles of bioethics and the requirements of the Commission on the Ethics of Medical and Biological Research of the L.I. Medved's Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise).

The studied doses of Ivin are 650 mg/kg and 13 mg/kg, which corresponds to 1/2 and 1/100 LD<sub>50</sub>. Three groups were formed: 1) control, 2) experimental subject to receiving Ivin orally at a dose of 650 mg/kg), 3) experimental subject to receiving Ivin orally at a dose of 13 mg/kg. There were five animals in each experimental group and in the control group. Ivin was administered once, orally with the help of a metal probe in the form of an aqueous solution. The control group received distilled water at the same volume as the experimental groups. The volume of injected solution or water was not more than 1.0 ml/100 g of body weight.

The clinical condition of the animals, body weight and body weight gain, absolute and relative weight of the kidneys, indicators characterizing the functional state of the kidneys

дили макроскопічне та гістологічне дослідження тканин нирок.

Масу тіла тварин вимірювали безпосередньо перед початком першого введення на 1-у та 7-у добу, приріст маси тіла розраховували на 7-у добу. Щоденно двічі на день проводили клінічне спостереження за станом та поведінкою тварин. Результати загального клінічного обстеження, зміни маси тіла та її приросту, абсолютну та відносну масу нирок використовували як показники загальнотоксичного впливу досліджуваної речовини.

Для збирання добової сечі тваринам за допомогою металевого зонда до шлунка вводили по 5 мл питної води (водне навантаження). Тварин поміщали в окремі метаболічні клітки на 24 години. Добову сечу збирали в мірні посудини, центрифугували протягом 15 хв при 1500 об/хв на центрифугу Elmi CM - 6M.

Для біохімічних досліджень кров забирали зі стегнової вени після седатії вуглекислим газом. Кров швидко збирали в центрифужні пробірки. Для отримання сироватки кров центрифугували на центрифугу Elmi CM - 6M протягом 10 хвилин при 3000 об/хв.

Для оцінки функціонального стану нирок через 1 і 7 діб визначали вміст сечовини та креатиніну в сироватці крові, вміст креатиніну, сечовини й азоту сечовини в сечі, добовий діурез, рН, питому масу сечі та вміст протеїну в сечі.

Дослідження показників сечі (рН, питомої маси) проводили на аналізаторі сечі Conver-gus Urostar 100 з відповідними тестовими смужками. Біохімічні показники в сечі та сироватці крові визначали за допомогою наборів реактивів «Філісіт-Діагностика» (Україна) на спектрофотометрі Helios Thermo.

Розраховували вміст креатиніну та протеїну в добовій сечі за рекомендованими методами в токсикології. Швидкість клубочкової фільтрації оцінювали за кліренсом ендогенного креатиніну, який широко використовується в експериментальній токсикології в якості оптимального маркера функції нирок [6, 7].

Кліренс креатиніну розраховували за формулою:

Кліренс =  $U \times V/S$ , де

U – концентрація креатиніну в сечі, мкмоль/л;

V – об'єм сечі доб., мл/хв;

S – концентрація креатиніну в сироватці крові, мкмоль/л.

were researched, macroscopic and histological examination of kidney tissues was performed.

The body weight of the animals was measured immediately before the start of the first administration on the 1st and 7th day, the body weight gain was calculated on the 7th day. Clinical observation of the condition and behaviour of the animals was carried out twice a day. The results of a general clinical examination, changes in body weight and its gain, absolute and relative weight of the kidneys were used as indicators of the general toxic effect of the investigated substance.

To collect daily urine, 5 ml of drinking water (water load) was injected into the stomach of the animals using a metal probe. Animals were placed in separate metabolic cages for 24 hours. Daily urine was collected in measuring vessels, centrifuged for 15 min at 1500 rpm in a centrifuge Elmi CM - 6M.

For biochemical studies, blood was taken from the femoral vein after sedation with carbon dioxide. Blood was quickly collected in centrifuge tubes. To obtain serum, the blood was centrifuged on an Elmi CM - 6M centrifuge for 10 minutes at 3000 rpm.

To assess the functional state of the kidneys after days one and seven, the content of urea and creatinine in blood serum, the content of creatinine, urea and urea nitrogen in urine, daily diuresis, pH, specific gravity of urine and protein content in urine were determined.

The study of urine parameters (pH, specific gravity) was carried out on a Conver-gus Urostar 100 urine analyser with appropriate test strips. Biochemical indicators in urine and blood serum were determined with Filic-it-Diagnostics reagent kits (Ukraine) on a Helios Thermo spectrophotometer.

The content of creatinine and protein in daily urine was calculated according to the recommended methods in toxicology. The glomerular filtration speed was estimated by the clearance of endogenous creatinine, which is widely used in experimental toxicology as an optimal marker of kidney function [6, 7].

Creatinine clearance was calculated according to the formula:

Clearance =  $U \times V/S$ , where

U – concentration of creatinine in urine,  $\mu\text{mol/l}$ ;

V – daily volume of urine, ml/min;

S – concentration of creatinine in blood serum,  $\mu\text{mol/l}$ .

Макро- і мікроскопічні дослідження тканин нирок проводили на 1-у і 7-у добу. Для гістологічних досліджень відбирали зразки тканин нирок у 5 щурів-самців із кожної групи. Зразки фіксували у 10 % нейтральному формаліні, зневоднювали в батареї спиртів зростаючої концентрації та заливали в парафінові блоки. За допомогою мікротому Microm HM 325 робили зрізи завтовшки 5–7 мкм. Депарафіновані зрізи забарвлювали за стандартною методикою гематоксиліном та еозином (Г&Е) загальноприйнятими в морфологічних дослідженнях методами [8]. Мікроскопію гістологічних препаратів проводили за допомогою світлооптичного мікроскопа OPTON Axioskop (West Germany). Фотофіксацію проводили за допомогою цифрової камери Canon EOS 1000D (Japan).

Отримані дані оброблено з використанням стандартного пакету програмного забезпечення Microsoft® Office Excell 2010 відповідно до статистичних методів у медико-біологічних дослідженнях. Визначали середнє значення (M) вибірки (n), середнє квадратичне відхилення (m), ймовірність помилки (p), критерій Ст'юдента (t). Результати вважали вірогідними при  $p \leq 0,05$ .

**Результати та їхнє обговорення.** За одnorазового перорального впливу Івіну в досліджених дозах клінічних симптомів інтоксикації та загибелі щурів не спостерігалось. Поведінка піддослідних тварин не відрізнялась від контролю. Вони охоче споживали корм і воду. За впливу Івіну в дозі 650 мг/кг на 7 добу спостерігалось зниження маси тіла щурів на 8,87 % ( $P > 0,05$ ), приріст маси тіла в цей період досліджень, по відношенню до контролю, вірогідно знижувався на 117 % (табл. 1). Явних змін маси тіла і приросту маси тіла в щурів, які отримували Івін у дозі 13 мг/кг, не виявлено.

За впливу Івіну в дозі 650 мг/кг вірогідно знижувалась абсолютна маса нирок. На 7-у добу на 12,42 %, відносна маса нирок була на рівні контролю. У меншій дозі Івін не викликав змін як абсолютної, так і відносної маси нирок. Виявлені ефекти свідчать, що Івін у високій дозі чинить загальнотоксичну дію, оскільки змін відносної маси нирок не виявлено, то зниження абсолютної маси нирок можна пояснити зниженням маси тіла тварин у цей період.

Macro and microscopic studies of kidney tissues were performed on the 1st and the 7th day. For histological studies, kidney tissue samples were taken from five male rats from each group. The samples were fixed in 10 % neutral formalin, dehydrated in a battery of alcohols of increasing concentration and embedded in paraffin blocks. Sections with a thickness of 5-7  $\mu\text{m}$  were made using a Microm HM 325 microtome. Deparaffinised sections were stained with haematoxylin and eosin (H&E) according to generally accepted in morphological studies methods [8]. Microscopy of histological preparations was performed using an OPTON Axioskop (West Germany) optical microscope. Photographs were taken using a Canon EOS 1000D (Japan) digital camera.

The obtained data were processed using the standard Microsoft® Office Excel 2010 software package in accordance with statistical methods in medical and biological research. The mean value (M) of the sample (n), square deviation of the mean (m), error probability (p), Student's t-test criterion were determined. The results were considered reliable at  $p \leq 0.05$ .

**Results and their discussion.** Clinical symptoms of intoxication and death of rats were not observed after a single oral exposure to Ivin at the tested doses. The behaviour of the experimental animals did not differ from the control. Animals willingly consumed feed and water. Under the exposure to Ivin at a dose of 650 mg/kg on the 7th day a decrease in the body weight of rats by 8.87 % ( $P > 0.05$ ) was observed, the weight gain during this period of the research, in relation to the control, probably decreased by 117 % (Table 1). There were no obvious changes in body weight and body weight gain in rats treated with Ivin at a dose of 13 mg / kg.

Under the exposure to Ivin at a dose of 650 mg/kg, the absolute weight of the kidneys probably decreased – on the 7th day by 12.42 %; the relative weight of the kidneys was at the control level. At a lower dose, Ivin did not cause changes in both absolute and relative kidney mass. The revealed effects show that Ivin at a high dose has a general toxic effect, since no changes in the relative weight of the kidneys were registered, the decrease in the absolute weight of the kidneys can be

**Маса тіла і нирок за одноразового перорального впливу Івіну  
на організм щурів-самців (n = 5)**

Table 1

**Body and kidney weight after a single oral exposure to Ivin on the body of male rats (n = 5)**

Доза, мг/кг / Dose, mg/kg	Строки дослід- жень, доба / Research peri- ods, days	Маса тіла, г / Body weight, g	Приріст маси тіла, г / Body weight gain, g	Нирки / Kidneys	
				Абсолютна маса, г / Absolute mass, g	Відносна маса, % / Relative mass, %
Контроль / Control	1	245,20 ± 3,31	н/в / n/d	1,63 ± 0,05	0,66 ± 0,02
	7	243,60 ± 9,50	24,80 ± 2,52	1,61 ± 0,06	0,66 ± 0,02
650	1	247,40 ± 3,47	н/в / n/d	1,76 ± 0,03	0,71 ± 0,01
	7	222,00 ± 2,83	-4,40 ± 1,94*	1,41 ± 0,05*	0,63 ± 0,02
13	1	246,80 ± 2,82	н/в / n/d	1,65 ± 0,05	0,67 ± 0,02
	7	249,00 ± 4,48	26,20 ± 2,75	1,55 ± 0,08	0,62 ± 0,02

Примітка: n – кількість тварин у групі; н/в – не визначали; \* –  $P \leq 0,05$ .

Note: n – the number of animals in the group; n/d – not determined; \* –  $P \leq 0.05$ .

Узагальнені дані показників функціонального стану нирок наведено в табл. 2.

Як видно з табл. 2, за впливу Івіну в дозі 650 мг/кг вірогідних токсикологічно значущих змін досліджених показників не виявлено, за винятком підвищення на 7-у добу досліджень величини рН сечі на 13,04 %. У цей період спостерігалась тенденція до зниження діурезу на 24,30 %. Інші досліджені показники були на рівні контролю.

Івін у дозі 13 мг/кг викликав незначне, але вірогідне підвищення вмісту сечовини в сироватці крові на 1-у і 7-у добу на 9,60 % і 12,7 % відповідно, вміст сечовини в сечі не різнився від контролю, але спостерігалась тенденція до зниження вмісту сечовини в сечі та азоту сечовини в сечі до 38,84 % на 1-у добу досліджень.

За впливу обох доз Івіну питома маса сечі та вміст протеїну в сечі на 1-у і 7-у добу досліджень не відрізнялись від контролю. Це засвідчує, що Івін не порушує концентраційну та фільтраційну функції нирок.

Вміст креатиніну в сироватці крові та сечі був на рівні контролю. Кліренс креатиніну за впливу Івіну в дозах 630 мг/кг і 13 мг/кг не змінювався, але спостерігалась тенденція до

explained by the decrease in the body weight of the animals during this period.

Generalized data on indicators of the functional state of the kidneys are given in Table 2.

As can be seen from the Table 2, under the exposure to Ivin at a dose of 650 mg/kg, no likely toxicologically significant changes in the studied indicators were found, except for an increase in the urine pH value by 13.04 % on the 7th day of the research. During this period, a tendency towards a decrease in diuresis by 24.30 % was observed. Other investigated indicators were at the control level.

Ivin at a dose of 13 mg/kg caused a slight but significant increase in the content of urea in the blood serum on the 1st and 7th day by 9.60 % and 12.7 %, respectively, the content of urea in the urine did not differ from the control, but a tendency towards a decrease in the urea in urine and urea nitrogen in urine content was observed up to 38.84% on the 1st day of the research.

Under the exposure to both doses of Ivin, the specific weight of urine and the content of protein in urine on the 1st and 7th day of the research did not differ from the control. This proves that Ivin does not disrupt the concentration and filtration functions of the kidneys.

Creatinine content in blood serum and urine

**Показники функціонального стану нирок щурів-самців за одноразового перорального впливу Івіну на організм (n = 5)**

Table 2

**Indicators of the functional state of the kidneys of male rats after a single oral exposure to Ivin on the body (n = 5)**

Показники / Indexes	Строки дослідження (доба) / Study period (days)	Доза, мг/кг		
		Контроль / Control	650	13
Діурез, мл / Diuresis, ml	1	23,24 ± 4,51	24,72 ± 3,27	25,68 ± 3,77
	7	16,8 ± 1,49	12,72 ± 0,98	18,72 ± 1,66
рН, ум. од. / рН, level	1	7,00 ± 0,00	6,80 ± 0,12	7,00 ± 0,00
	7	6,90 ± 0,10	7,80 ± 0,20*	7,20 ± 0,20
Питома маса, ум. од. / Specific gravity, level	1	1,006 ± 0,002	1,003 ± 0,002	1,007 ± 0,002
	7	1,005 ± 0,003	1,002 ± 0,001	1,000 ± 0,000
Сечовина в сечі, ммоль/л / Urea in urine, mmol/l	1	163,01 ± 27,56	149,84 ± 20,76	99,69 ± 12,98
	7	152,14 ± 26,26	177,78 ± 28,27	157,27 ± 25,30
Сечовина в СК, ммоль/л / Urea in BS, mmol/l	1	9,25 ± 0,48	10,14 ± 0,52	11,36 ± 0,38*
	7	9,64 ± 0,56	10,86 ± 0,42	11,68 ± 0,39*
Азот сечовини в сечі, ммоль/л / Urea nitrogen in urine, mmol/l	1	76,12 ± 12,87	69,98 ± 9,69	46,55 ± 6,06
	7	71,05 ± 12,26	83,02 ± 13,20	73,44 ± 11,81
Креатинін у сечі, мкмоль/л / Creatinine in urine, μmol/l	1	2323,57 ± 360,90	2403,54 ± 121,75	2630,12 ± 464,30
	7	2660,84 ± 105,63	2861,03 ± 552,21	2969,46 ± 303,60
Креатинін у СК, мкмоль/л / Creatinine in BS, μmol/l	1	134,80 ± 1,76	130,04 ± 3,22	135,60 ± 3,75
	7	109,84 ± 4,48	109,92 ± 3,68	110,36 ± 0,83
Вміст креатиніну в добовій сечі, мг / Creatinine content in daily urine, mg	1	5,57 ± 0,53	6,76 ± 1,10	7,07 ± 0,68
	7	5,01 ± 0,37	4,31 ± 0,99	6,20 ± 0,64
Кліренс креатиніну / Creatinine clearance	1	0,255 ± 0,025	0,322 ± 0,053	0,316 ± 0,027
	7	0,282 ± 0,025	0,247 ± 0,058	0,345 ± 0,031
Загальний протеїн у сечі, г/л / Total protein in urine, g/l	1	3,70 ± 0,62	3,16 ± 0,43	4,45 ± 0,79
	7	3,39 ± 0,15	2,58 ± 0,40	2,66 ± 0,54
Загальний протеїн у сечі, г/добу / Total protein in urine, g/day	1	0,08 ± 0,011	0,07 ± 0,007	0,11 ± 0,010
	7	0,06 ± 0,007	0,04 ± 0,007	0,05 ± 0,007

Примітка: n – кількість тварин у групі; СК – сироватка крові; \* – P ≤ 0,05.

Note: n – the number of animals in the group; BS – blood serum; \* – P ≤ 0.05.

збільшення кліренсу креатиніну в дозі 13 мг/кг через 1 і 7 діб на 23,86 % і 22,18 % відповідно, та в дозі 630 мг/кг на 1-у добу на 26,30 %. Отже, можна вважати, що швидкість клубочкової фільтрації креатиніну не порушено.

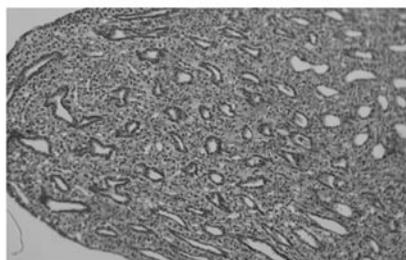
Отримані результати досліджень свідчать, що Івін у досліджених дозах не спричиняє токсикологічно значущих порушень функцій нирок у щурів-самців. Збільшення сечовини в сироватці крові при збереженні функціональної активності нирок може відображати підвищення обміну білка, що є співставним із результатами за субхронічного впливу Івіну на організм щурів [5]. Водночас, тенденція до збільшення кліренсу креатиніну може бути пов'язана з тимчасовою інтенсифікацією клубочкової фільтрації в нирках, спрямованою на стабілізацію гомеостазу.

Макроскопічних змін нирок не виявлено. За даними гістологічного дослідження на 1-у добу експерименту (рис.1) у контрольній групі тварин у 4/5 щурів у кортико-медулярній зоні спостерігалось слабо виражене дифузно-осередкове повнокрів'я перитубулярних капілярів і стоншення епітелію в окремих канальцях, в 1/5 тварин лімфо-лейкоцитарний мікроінфільтрат. У мозковій речовині в 4/5 щурів — слабо/ помірно виражене повнокрів'я і нерівномірне

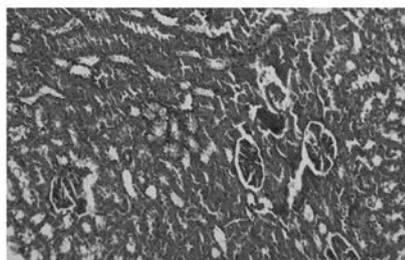
was at the control level. Creatinine clearance under the exposure to Ivin in doses of 630 mg/kg and 13 mg/kg did not change, but there was a tendency towards an increase in creatinine clearance at a dose of 13 mg/kg on the 1st and 7th days by 23.86 % and 22.18 %, respectively, and at a dose of 630 mg/kg on the 1st day by 26.30 %. Therefore, it can be assumed that the rate of glomerular filtration of creatinine is not disturbed.

The obtained research results indicate that Ivin at the studied doses does not cause toxicologically significant disruptions of kidney functions in male rats. An increase in urea in the blood serum while preserving the functional activity of the kidneys may reflect an increase in protein metabolism, which is comparable to the results of subchronic exposure to Ivin of the body of rats [5]. At the same time, the tendency towards an increase in creatinine clearance may be associated with a temporary intensification of glomerular filtration in the kidneys aimed at homeostasis stabilizing.

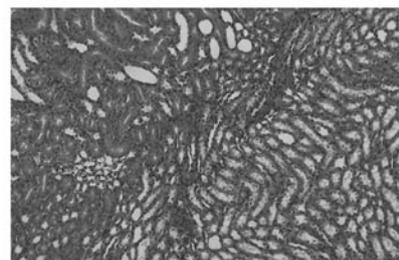
No macroscopic changes in the kidneys were found. According to the data of the histological examination on the 1st day of the experiment (Fig. 1), in the control group of animals, in 4 out of 5 rats in the corticomedullary zone there was a weakly pronounced diffuse focal blood plethora of peritubular capillaries and thinning of the epithelium in some tubules; in 1 out of 5 animals – lympho-leukocyte micro infiltrate. In the medulla of 4 out of 5 rats – weakly/moderately pronounced blood plethora and uneven moderately pro-



Контроль.  
Нерівномірно розширені збірні протоки з еозинофільним вмістом у просвіті, сосочок / Control.  
Irregularly dilated collecting ducts with eosinophilic content in the lumen, papillae.



Івін, доза 650 мг/кг. Тубулярна дегенерація, канальці з вакуолізованими базофільними нефроцитами, кортикальна зона / Ivin, dose 650 mg/kg. Tubular degeneration, tubules with vacuolated basophilic nephrocytes, cortical zone



Івін, доза 13 мг/кг.  
Стоншення епітелію, кортико-медулярна зона / Ivin, dose 13 mg/kg.  
Thinning of the epithelium, corticomedullary zone.

**Рис. 1.** Гістологія нирок щурів-самців на 1-у добу після перорального впливу Івіну (Г&Е. x 100).

**Fig. 1.** Histology of the kidneys of male rats, 1 day after oral exposure to Ivin (H&E. x 100).

помірно виражене розширення збірних протоків з незначною кількістю пінистого еозинофільного вмісту в окремих з них; в 1/5 тварин - поодинокі десквамовані епітеліоцити.

У дозі 650 мг/кг в 1/5 щурів у кортикальній зоні виявлено дегенеративні зміни окремих каналців, що характеризуються вакуолізацією та базофілією цитоплазми нефроцитів. У кортико-медулярній зоні в 4/5 тварин слабо виражене дифузно-осередкове повнокрів'я перитубулярних капілярів, у 2/5 щурів - стоншення епітелію в окремих каналцях. У мозковій речовині в 4/5 тварин слабо виражене повнокрів'я; у окремих збірних протоках мізерна кількість пінистого еозинофільного вмісту.

У дозі 13 мг/кг у 2/5 тварин у кортикальній зоні також виявлено дегенеративні зміни поодиноких каналців. У 5/5 тварин у кортико-медулярній зоні — помірно виражене дифузно-осередкове повнокрів'я перитубулярних капілярів; в окремих каналцях стоншення епітелію та окремі регенераторні тяжі. Мозкова речовина без особливостей.

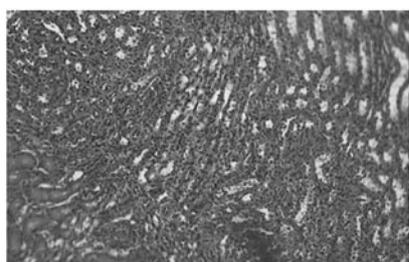
На 7-у добу експерименту (рис. 2) в контрольній групі в 3/5 тварин у кортико-медулярній зоні спостерігалось слабо виражене дифузно-осередкове повнокрів'я перитубулярних капілярів; окремі регенераторні тяжі. В 1/5 тварин – стоншення епітелію в окремих каналцях. У мозковій речовині в 1/5 щурів виявлено слабо виражене повно-

nounced dilation of the collecting ducts with a small amount of foamy eosinophilic content in some of them; in 1 out of 5 animals – single desquamated epitheliocytes.

At a dose of 650 mg/kg, 1 out of 5 of rats showed degenerative changes in individual tubules in the cortical zone, characterized by vacuolization and basophilia of the cytoplasm of nephrocytes. In the corticomedullary zone in 4 out of 5 animals there was a weakly pronounced diffuse focal blood plethora of peritubular capillaries, in 2 out of 5 rats there was thinning of the epithelium in individual tubules. In the medulla of 4 out of 5 animals – weakly expressed blood plethora; in individual collecting ducts – an insignificant amount of foamy eosinophilic content.

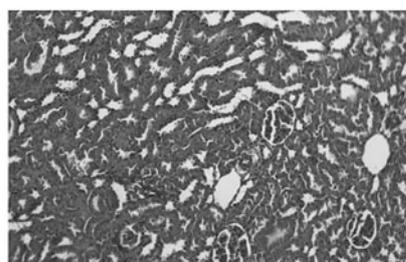
At a dose of 13 mg/kg in 2 out of 5 animals, degenerative changes of individual tubules were also found in the cortical zone. In 5 out of 5 animals, in the corticomedullary zone, there was a moderately expressed diffuse-focal blood plethora of peritubular capillaries; thinning of the epithelium and individual regenerative beams in some tubules. Medulla – without peculiarities.

On the 7th day of the experiment (Fig. 2) in the control group, in 3 out of 5 animals a weakly pronounced diffuse focal blood plethora of the peritubular capillaries was observed in the corticomedullary zone; with



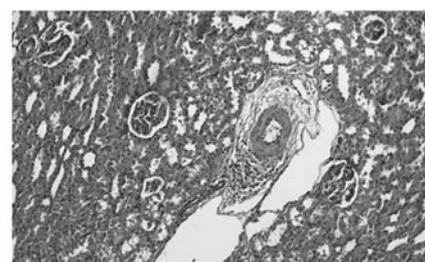
Контроль.

Зміна гемодинаміки, помірно виражене дифузно-осередкове повнокрів'я капілярів, кортико-медулярна зона / Control. Changes in hemodynamics, moderately pronounced diffuse-focal capillary blood plethora, corticomedullary zone.



Івін, доза 650 мг/кг.

Некроз поодиноких нефроцитів, кортикальна зона / Ivin, dose 650 mg/kg. Necrosis of single nephrocytes, cortical zone.



Івін, доза 13 мг/кг.

Периваскулярний лімфо-лейкоцитарний інфільтрат, кортикальна зона / Ivin, dose 13 mg/kg. Perivascular lympho-leukocyte infiltrate, cortical zone.

**Рис. 2.** Гістологія нирок щурів-самців на 7-у добу після перорального впливу Івіну (Г&Е. x 100).

**Fig. 2.** Histology of the kidneys of male rats on the 7th day after oral exposure to Ivin (H&E. x 100).

крів'я; в окремих збірних протоках мізерна кількість пінистого еозинофільного вмісту.

У дозі 650 мг/кг в 1/5 щурів у кортикальній зоні в окремих канальцях виявлено некроз поодиноких нефроцитів. У кортико-медулярній зоні в 4/5 тварин спостерігалось слабо виражене дифузно-осередкове повнокрів'я перитубулярних капілярів; стоншення епітелію в окремих канальцях; поодинокі регенераторні тяжі. У мозковій речовині у 2/5 щурів – слабо виражене повнокрів'я; помірно виражене нерівномірне розширення збірних протоків, в окремих з них пінистий еозинофільний вміст.

У дозі 13 мг/кг в 1/5 щурів відзначалася периваскулярна лімфо-лейкоцитарна інфільтрація. У кортико-медулярній зоні в усіх тварин виявлено слабо виражене дифузно-осередкове повнокрів'я перитубулярних капілярів; у 2/5 тварин – стоншення епітелію в окремих канальцях, у однієї – з розширенням канальців; окремі регенераторні тяжі. У мозковій речовині у 2/5 тварин спостерігалось слабо виражене повнокрів'я, ще у 2/5 тварин – помірно виражене нерівномірне розширення збірних протоків, в окремих з них – десквамовані поодинокі епітеліоцити.

Узагальнюючи результати гістологічних досліджень, можна зробити висновок, що виявлені зміни в тканині нирок як у контрольній групі, так і за впливу Івіну в дозах 650 мг/кг і 13 мг/кг характеризуються слабо/помірно вираженими гемодинамічними порушеннями в кортико-медулярній зоні та в мозковій речовині. Окремі описані гістологічні знахідки (осередки лімфо-лейкоцитарної інфільтрації, розширення збірних протоків і пінистий еозинофільний вміст та/або десквамовані поодинокі епітеліоцити в них) можуть вважатись спонтанними, оскільки не залежали від дози і не пов'язані з дією досліджуваної речовини. Поодинокі випадки вакуолізації та некрозу нефроцитів у щурів, які отримували Івін як у низькій, так і у високій дозах є недостатніми для загального висновку.

Отже, гістологічне дослідження свідчить про відсутність специфічного впливу або більш виразного неспецифічного

individual regenerative beams. In 1 out of 5 animals – thinning of the epithelium in individual tubules. In the medulla of 1 out of 5 rats, weakly expressed blood plethora was found; in individual collecting ducts – an insignificant amount of foamy eosinophilic content.

At a dose of 650 mg/kg, necrosis of single nephrocytes was detected in 1 out of 5 rats in the cortical zone in individual tubules. In the corticomedullary zone in 4 out of 5 animals a weakly pronounced diffuse focal blood plethora of peritubular capillaries was observed; thinning of the epithelium in some tubules; individual regenerative beams. In the medulla of 2 out of 5 rats – weakly expressed blood plethora; moderately pronounced uneven dilation of collecting ducts, with foamy eosinophilic content in some of them.

In a dose of 13 mg/kg perivascular lympho-leukocyte infiltration was noted in 1 out of 5 rats. In the corticomedullary zone in all animals a weakly expressed diffuse-focal blood plethora of peritubular capillaries was found; in 2 out of 5 animals – thinning of the epithelium in individual tubules, in one – with the dilation of tubules; individual regenerative beams. In the medulla of 2 out of 5 animals, a weakly expressed blood plethora was observed, in another 2 out of 5 animals – a moderately pronounced uneven dilation of the collecting ducts, in some of them – desquamated single epitheliocytes.

Summarizing the results of histological studies, it can be concluded that the detected changes in kidney tissue both in the control group and under the exposure to Ivin at doses of 650 mg/kg and 13 mg/kg are characterized by mildly/moderately pronounced hemodynamic disruptions in the corticomedullary zone and in the medulla. Separately described histological findings (cells of lympho-leukocyte infiltration, dilation of collecting ducts and foamy eosinophilic content and/ or desquamated single epitheliocytes in them) can be considered spontaneous, as they did not depend on the dose and are not related to the effect of the investigated substance. Isolated cases of vacuolization and necrosis of nephrocytes in rats treated with Ivin at both low and high doses are insufficient for a general conclusion.

Therefore, the histological study testifies to the absence of a specific effect or a more pro-

впливу на нирки щурів при пероральному введенні Івіну у відповідних дозах у порівнянні з введенням розчинника.

### Висновки

1. Івін за гострого перорального впливу на організм у максимально дослідженій дозі (650 мг/кг) чинить загальнотоксичну дію на організм щурів-самців, що проявляється зниженням маси тіла та абсолютної маси нирок, зменшенням приросту маси тіла.

2. Івін у досліджених дозах не спричиняє токсикологічно значущих порушень функцій нирок у щурів-самців. Незначне збільшення сечовини в сироватці крові при збереженні функціональної активності нирок може свідчити про підвищення обміну білка. Тенденція до збільшення кліренсу креатиніну може свідчити про інтенсифікацію клубочкової фільтрації в нирках, спрямовану на стабілізацію гомеостазу.

3. Морфологічні зміни в тканинах нирок щурів переважно характеризуються слабким або помірним повнокрів'ям у кортико-медулярній зоні та в мозковій речовині, що не є специфічними проявами токсичного впливу Івіну, оскільки вказані ефекти проявляються також у контрольній групі тварин.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

nounced non-specific effect on the kidneys of rats under the oral administration of Ivin at appropriate doses in comparison with the administration of the solvent.

### Conclusions

1. In case of acute oral exposure to the body at the maximum tested dose (650 mg/kg), Ivin has a general toxic effect on the body of male rats, which is manifested by a decrease in body weight and absolute kidney weight, and a decrease in body weight gain.

2. Ivin at the studied doses does not cause toxicologically significant disruptions of kidney functions in male rats. A slight increase in urea in the blood serum while preserving the functional activity of the kidneys may indicate an increase in protein metabolism. The tendency towards an increase in creatinine clearance may indicate the intensification of glomerular filtration in the kidneys, aimed at homeostasis stabilizing.

3. Morphological changes in the kidney tissues of rats are mainly characterized by weak or moderate blood plethora in the corticomedullary zone and in the medulla, which are not specific manifestations of the toxic effect of Ivin, since the specified effects are also manifested in the control group of animals.

**Conflict of Interest.** The author note that there is no conflict of interest.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ/REFERENCES

1. DSouza UJA. Pesticide toxicity and oxidative stress: a review. *Borneo Journal of Medical Sciences*. 2017;11(2):3-13. DOI: 10.51200/bjms.v11i2.466.
2. Пельо ІМ, Бардов ВГ, Омельчук СТ, Сасінович ЛМ.. Кумулятивні властивості та характер токсикодинаміки сумішей пестицидів, що застосовуються в овочівництві. *Современные Проблемы Токсикологии*. 2010;4:19–28. [Pelyo IM, Bardov VG, Omelchuk ST, Sasinovych LM. Cumulative properties and nature of toxicodynamics of pesticide mixtures used in vegetable growing. *Modern problems of toxicology*. 2010;4:19–28].
3. Lushchak VI, Matviishyn NM, Husak VV, Storey JV, Storey KB. Pesticide toxicity: a mechanistic approach. *EXCLI Journal*, 2018;17:1101-36. DOI: 10.17179/excli2018-1710.
4. Tychieva D, Mirkhamidova P, Babakhanova D, Parpieva M, Alimova R. Influence of pesticides on the activity of some enzymes of rat liver and ways of their correction. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020;45(2):8-14.
5. Васецька ОП, Жмілько ПГ. Біологічна активність і токсикологічні властивості регуляторів росту рослин – метильних похідних піридин-N-оксиду. Синтез і біоактивність функціоналізованих азотовмісних гетероциклів, за ред. А.І. Вовка. Київ: Інтерсервіс; 2021. С. 288–324. [Vasetska OP, Zhminko PG. Biological activity and toxicological properties of growth regulators of plants – methyl derivatives of N-oxide pyridine. Book: *Synthesis and bioactivity of functionalized nitrogen-containing heterocycles*, Eds. A.I. Vovk. Kyiv: Interservice; 2021. С. 288–324].
6. Von Hendy-Willson VE, Pressler BM. An overview of glomerular filtration rate testing in dogs and cats. *The Veterinary Journal*. 2011;188(2):156–65. DOI: 10.1016/j.tvjl.2010.05.006.
7. Sandilands EA, Dhaun N, Dear JW, et al. Measurement of renal function in patients with chronic kidney disease.

British journal of clinical pharmacology. 2013; 76(4):504–15. DOI: 10.1111/bcp.1219.

8. Горальський ЛП, Хомич ВГ, Кононський ОІ. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології. Житомир:

Полісся, 2015. 286 с. [Horalskyi LP, Khomych VG, Kononskyi OI. Basics of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathological conditions. Zhytomyr:Polissya, 2015. 286 p.].

### **ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ**

**Васецька Олеся Петрівна** – кандидат біологічних наук, завідувачка відділу «Інститут екотоксикологічних досліджень» Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України». Адреса: вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна. Email: o.vasetska.medved@gmail.com. ORCID 0000-0002-1919-8593.

**Лісовська Вікторія Семенівна** – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України». Адреса: вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна. ORCID: 0009-0004-1040-708X.

### **ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВНЕСОК КОЖНОГО АВТОРА / INFORMATION ON CONTRIBUTION OF EACH AUTHOR**

О.П. Васецька / O. Vasetska<sup>A,B,C,D,E,F,G</sup>

В.С. Лісовська / V. Lisovska<sup>B,C,D,E</sup>

*Стаття надійшла до редакції 24.06.2024 р.*

*Дата рецензування 27.06.2024 р.*

*Дата публікації (оприлюднення) 09.01.2025 р.*

### **INFORMATION ABOUT THE AUTHORS**

**Olesia Vasetska** – Candidate of biological sciences, Head of the Department “Institute of Ecotoxicological Research” of the L.I. Medved’s Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise). Address: 6 Heroiv Oborony str., 03127, Kyiv, Ukraine. Email: o.vasetska.medved@gmail.com. ORCID: 0000-0002-1919-8593.

**Viktoriya Lisovska** – Candidate of biological sciences, senior researcher of the L.I. Medved’s Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise). Address: 6 Heroiv Oborony str., 03127, Kyiv, Ukraine. ORCID: 0009-0004-1040-708X.

*The article was received by the editors on June 24, 2024*

*Review date June, 27, 2024*

*Publication date January, 09, 2025*