

Gozhenko A. I., Lugovskoy S. P., Samokhina N. A. Дослідження морфофункціональних особливостей розвитку експериментальних металонефропатій = The study of morphofunctional features of the development of experimental metallonephropathy. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016;6(4):287-296. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.50201>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/3473>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).
755 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 20.03.2016. Revised 17.04.2016. Accepted: 17.04.2016.

ДОСЛІДЖЕННЯ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МЕТАЛОНЕФРОПАТІЙ

A. I. Gozhenko, S. P. Lugovskiy, N. A. Samokhina

Державне підприємство «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України», м. Одеса, Україна

Резюме

Проведені експериментальні дослідження щодо тривалого впливу солей кадмію, ртуті, свинцю в дозі 1/50 від DL₅₀ на нирки показали, що важливим аспектом їх дії є зміна показників азотистого обміну, яка проявлялась підвищеним вмістом креатиніну, сечовини та сечової кислоти в сироватці крові, а також високим вмістом білку в сечі. Характерною ознакою ураження нирок є зниження швидкості клубочкової фільтрації, яка визначалась при дії всіх трьох досліджуваних нефротоксикантів: при дії Cd – зниження на 23,6 %, при дії Pb – на 22,1 %, при дії Hg – 28,9 %. Морфологічні дослідження дозволили встановити нові факти, щодо морфологічної характеристики токсичної дії неорганічних сполук Cd, Hg, Pb, які полягають у здатності металів викликати цитопатичну дію на окремі клітини структурних елементів нефрону. Провідним механізмом розвитку експериментальних металонефропатій є ураження епітелію проксимальних канальців нирок, яке зумовлено вибіркоким порушенням клітинних мембран, мітохондрій і лізосом епітелію проксимальних канальців нефрону.

Ключові слова: важкі метали, нирки, металонефропатії, креатинін, сечовина, білок, швидкість клубочкової фільтрації, гістологічне дослідження нирок, канальцевий апарат, епітеліоцити.

THE STUDY OF MORPHOFUNCTIONAL FEATURES OF THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL METALLONEPHROPATHY

A. I. Gozhenko, S. P. Lugovskoy, N. A. Samokhina

Ukrainian Scientific and Research Institute of Transport Medicine, Odessa

Summary

Experimental studies of prolonged exposure of cadmium salts, mercury, lead in the dose of from 1/50 DL₅₀ on the kidney have shown that an important aspect of their actions is the change of indicators of nitrogen metabolism, which was manifested by increased creatinine, urea and uric acid in serum and high urine protein excretion. A characteristic feature of renal disease is the decline in glomerular filtration rate, which was defined when all three of the studied nephrotoxics: under the Cd decrease by 23,6 %, under the action of Pb

- 22,1 %, under the action of Hg – 28,9 %. Morphological studies revealed new facts concerning the morphological characteristics of toxic action of inorganic compounds of Cd, Hg, Pb, which lies in the ability of metals to cause cytopathic effect on individual cells of the structural elements of the nephron. The main mechanism for the development of experimental metallonephropathy is the damage to the epithelium of the proximal tubules of the kidneys, due to a selective disturbance of cellular membranes, mitochondria and lysosomes in the epithelium of the proximal tubules of the nephron.

Key words: heavy metals, kidneys, metallonephropathy, creatinine, urea, protein, glomerular filtration rate, and histological examination of the kidneys, tubular apparatus, the epithelial cells.

ИССЛЕДОВАНИЕ MORFOFUNKЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МЕТАЛЛОНЕФРОПАТИЙ

А. И. Гоженко, С. П. Луговской, Н. А. Самохина

Украинский НДИ медицины транспорта, г.Одесса

Резюме

Проведенные экспериментальные исследования длительного воздействия солей кадмия, ртути, свинца в дозе 1/50 DL₅₀ на почки показали, что важным аспектом их действия является изменение показателей азотистого обмена, которое проявлялось повышенным содержанием креатинина, мочевины и мочевой кислоты в сыворотке крови, а также высоким содержанием белка в моче. Характерным признаком поражения почек является снижение скорости клубочковой фильтрации, которая определялась при действии всех трех исследуемых нефротоксикантов: при действии Cd – снижение на 23,6 %, при действии Pb – на 22,1 %, при действии Hg – 28,9 %. Морфологические исследования позволили установить новые факты, относительно морфологической характеристики токсического действия неорганических соединений Cd, Hg, Pb, которые заключаются в способности металлов вызывать цитопатическое действие на отдельные клетки структурных элементов нефрона. Ведущим механизмом развития экспериментальных металлонефропатий является поражение эпителия проксимальных канальцев почек, которое обусловлено выборочным нарушением клеточных мембран, митохондрий и лизосом эпителия проксимальных канальцев нефрона.

Ключевые слова: тяжелые металлы, почки, металлонефропатии, креатинин, мочевина, белок, скорость клубочковой фильтрации, гистологическое исследование почек, канальцевый аппарат, эпителиоциты.

Актуальність. Проблема токсичної дії важких металів (ВМ) на організм людини є досить актуальною в наш час прогресивного розвитку хімічної промисловості. На сьогоднішній день посилюється екологічне та виробничо-зумовлене хронічне низько дозове навантаження ВМ [1,2], що на рівні популяції призводить до широкого кола патологій, які викликають підвищену чутливість до алергенів, зниження імунітету,

сприяють більш важкому протіканню інтеркурентних захворювань тощо. В клінічних та експериментальних дослідженнях науковці часто стикаються з таким негативним ефектом ВМ, коли рівень впливу (концентрація токсиканта) та очікуваний ефект не відповідають принципу доза-ефект, викликаючи при цьому такі патологічні стани, які етіологічно не пов'язані з прямою дією ксенобіотиків [3,4]. Останні можуть протікати з переважним ураженням нервової, серцево-судинної, гемічної систем. Але найбільш значущою для сучасної токсикології і медицини в цілому слід вважати ураження сечовидільної системи [5,6], яке можна виділити в окрему групу металопатій – металонефропатії.

Металонефропатії (МНП) - вид патології нирок виробничого, побутового і екологічного генезу, що первинно або вторинно розвивається під впливом експозиції організму важкими металами, який обумовлений не стільки їх прямими токсичними властивостями, як проявом інших, важливими серед яких є : модулююча дія (здатність посилювати або послабляти біохімічні процеси), дизрегуляційні ефекти (між токсичними та есенціальними металами, так і з іншими біологічно активними речовинами).

Багато питань щодо механізмів дії ВМ, особливо у малих дозах і концентраціях, а також щодо морфологічних змін у нирках залишаються не достатньо висвітленими. Тому **метою** даного дослідження було вивчення собливостей морфофункціональних змін нирок при тривалому надходженні важких металів до організму.

Матеріали та методи дослідження. Експериментальні дослідження проводились на щурах-самцях вагою 250-300 г, яким на протязі 4-ьох тижнів в/ш вводили солі ВМ - ацетат свинцю ($Pb(CH_3COO)_2$), хлорид ртуті ($HgCl_2$), хлорид кадмію ($CdCl_2$) в дозі 1/50 від DL_{50} . Рівень креатиніну, сечовини та сечової кислоти в крові дослідних тварин визначали за допомогою діагностичного набору фірми «Фелісіт-Діагностика». Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) визначали за ендогенним креатиніном (співвідношення його концентрацій в плазмі крові і сечі) за формулою: $GFR = V \cdot U_{Cr} / P_{Cr}$, де: P_{Cr} - концентрація креатиніну в плазмі крові, U_{Cr} – концентрація креатиніну в сечі, V – діурез. Вміст білка в сечі визначали за допомогою тест-наборів фірми «Фелісіт-Діагностика». Для проведення морфологічних досліджень [7-10].у щурів видаляли праву нирку і поміщали в 10 % розчин формаліну. Через добу формували тканинний блок шляхом відсічення верхнього та нижнього полюсів нирки. Тканину дофіксували протягом 24 год в 4 % розчині параформальдегіду. Фіксований матеріал заливали в парафін за загальноприйнятою методикою. З парафінових блоків

виготовляли зрізи товщиною 3-5 мкм, частину зрізів зафарбовували гематоксилин-еозином. Зрізи досліджували під мікроскопом. Статистичну обробку результатів досліджень проводили методами варіаційного та кореляційного аналізу за стандартним пакетом програм у Microsoft® Office Excel 2003 (ліцензійний № 74017-640-0000106-57490) [11].

Результати досліджень. Вплив ксенобіотиків на живий організм викликає порушення відносної стабільності гомеостазу шляхом дестабілізації біохімічних і фізіологічних процесів [12]. Довгостроковий стрес, що розвивається в результаті тривалої дії малих доз хімічних речовин, може характеризуватися стертими проявами, поступовою мобілізацією та витрачанням адаптаційних резервів [13].

Важливим показником, що відображає ступінь ураження організму в цілому, є зміна маси тіла. Інтегральний показник зміни маси тіла (ΔM_{cp}) у дослідних тварин, експонованих Cd та Hg, наприкінці експерименту достовірно відрізнявся від контрольної групи – зниження на 39,2 % ($p < 0,001$) та 18,8 % ($p < 0,05$). При експозиції організму ацетатом свинцю спостерігалась тенденція до зниження маси тіла.

Поряд із вивченням зміни маси тіла ми визначали вагові коефіцієнти внутрішніх органів (співвідношення маси органа до маси тіла тварини), зокрема печінки та нирок, оскільки функції детоксикаційні також виконує і печінка. Визначення вагових коефіцієнтів нирок, експонованих Cd та Hg, виявило достовірне збільшення даного показника на 19,3 % та 12,2 % ($p < 0,05$), на відміну від експозиції Pb, де спостерігалась тенденція до збільшення.

Таблиця 1

Зміна морфометричних показників у піддослідних тварин після закінчення субхронічної інтоксикації ВМ, ($M \pm m$), $n=8$

Групи тварин	Показник зміни маси тіла, ΔM_{cp}	Вагові коефіцієнти	
		Печінка	Нирки
Контроль	$36,7 \pm 1,4$	$31,9 \pm 1,3$	$5,7 \pm 0,15$
CdCl ₂	$22,3 \pm 2,4^{***}$	$35,4 \pm 2,6$	$6,8 \pm 0,39^*$
Pb(CH ₃ COO) ₂	$34,1 \pm 3,1$	$32,5 \pm 1,9$	$6,1 \pm 0,45$
HgCl ₂	$28,2 \pm 2,9^*$	$36,3 \pm 3,2$	$6,4 \pm 0,25^*$

*/- зміни достовірні по відношенню до контролю ($P < 0,05$)

***/- зміни достовірні по відношенню до контролю ($P < 0,001$)

На відміну від нирок, вагові коефіцієнти печінки (табл.1) при експозиції ВМ не зазнавали значних змін, що підтверджує той факт про більш значні пошкодження нирок при тривалому надходженні до організму токсичних важких металів.

Однією з головних та першою ознакою тривалого ураження нирок є наявність білка в сечі. На рис. 1 наведено результати досліджень, що найбільш показово ілюструють динаміку змін вмісту білка в сечі білих щурів за умови субхронічного введення ВМ. Як видно з наведених на рисунку даних, відмічається прогресивне зростання найбільш інформативного маркера токсичного ушкодження нирок при тривалій дії Cd через 15, 30 днів експерименту на 66,6 % та 140 %, відповідно.

Схожа картина спостерігається і при дії Hg та Pb, в сечі щурів на 30 день було відмічено зростання вмісту білка на 121,4 % та 56,2 %, відповідно. Процес піддається частковому відновленню і через 2 тижні після припинення введення нефротоксикантів вміст білку в сечі не перевищував 64,2 % по відношенню до контролю.

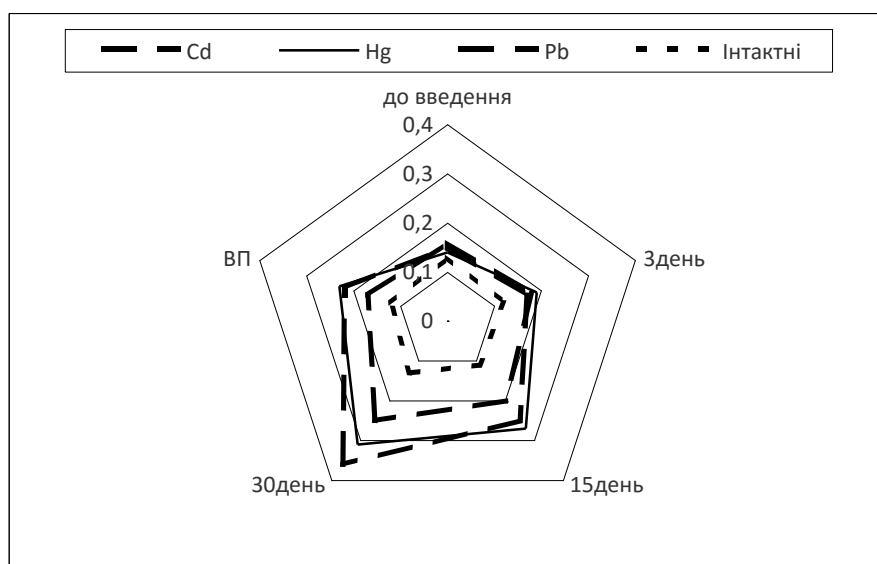


Рис. 1. Динаміка зміни білка в сечі при субхронічному введенні CdCl₂, Pb(CH₃COO)₂, HgCl₂ (мкг/г) в залежності від тривалості експерименту

Однією з найважливіших функцій нирок є азотовидільна, завдяки якій з організму виводяться кінцеві продукти азотистого обміну - креатинін, сечовина та сечова кислота, порушення якої відмічається при токсичному ураженні нирок. Особливого значення в дослідженні азотовидільної функції нирок надають визначенню в сироватці вмісту креатиніну. З представлених в таблиці 2 даних видно, що тривалий вплив Cd на організм сприяв його достовірному підвищенню на 33,3 % в сироватці крові, а при дії Hg – на 41,6 % відносно інтактних тварин. Дія Pb(CH₃COO)₂ також сприяла

підвищенню концентрації креатиніну в сироватці крові на 16,6 %, але ці зміни були недостовірні.

Таблиця 2

Показники азотистого обміну в сироватці крові щурів після субхронічного введення CdCl_2 , $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, HgCl_2 в дозі $1/50 \text{ ЛД}_{50}$, ($M \pm m$), $n = 8$

Групи тварин	Креатинін, мкмоль/л	Сечовина, ммоль/л	Сечова кислота, мкмоль/л
Контроль	$12 \pm 0,4$	$1,53 \pm 0,10$	$130 \pm 7,22$
CdCl_2	$16 \pm 1,8^*$	$2,21 \pm 0,22^*$	$141 \pm 9,1$
$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	$14 \pm 1,2$	$1,75 \pm 0,18$	$162 \pm 10,2^*$
HgCl_2	$17 \pm 1,9^*$	$1,86 \pm 0,19$	$151 \pm 10,0$

*/- зміни достовірні по відношенню до контролю ($p < 0,05$)

Характерною ознакою ураження нирок є зниження ШКФ, яка визначалась при дії всіх трьох досліджуваних нефротоксикантів: при дії Cd – зниження на 23,6 %, при дії Pb – на 22,1 %, при дії Hg – 28,9 %.

Гістологічні дослідження нирок при субхронічній дії HgCl_2 показали, що у піддослідних щурів на відміну від контролю в частині ниркових тілець, переважно юкстамедулярних нефронів, спостерігали сегментарне розширення просвітів капсул, які завжди були заповнені помірною кількістю ацидофільної рідини та/або пухкими аморфними масами. В судинних клубочках цих ниркових тілець спостерігали сегментарне розширення кровоносних капілярів та вогнищеве потовщення базальної мембрани, яке нерідко супроводжувалось ефектом метахромазії. В каналцевому апараті нирок щурів виявляли гіпертрофію проксимальних каналців, просвіти яких були значно розширені, а епітелій сплюсненим. При цьому просвіти каналців були заповнені слабо ацидофільною рідиною та/або аморфними білковими масами. Зміни епітелію проксимальних каналців завжди характеризувались утворенням в апікальній зоні цитоплазми значної кількості дрібних везикул і вакуолей, які зливались між собою, утворюючи вакуолі великого діаметру та пухирі. В дистальних каналцях нирок дистрофічні зміни мали не різко виражений характер і були представлені помірною вакуолізацією цитоплазми епітеліоцитів, її набряком та помірною зернистістю, більш вираженою в базальних відділках клітин. Отже було встановлено, що провідний механізм розвитку ртутної нефропатії реалізується безпосередньо через ураження Hg

епітелію проксимальних каналців нирок, яке зумовлено вибіркоvim ураженням клітинних мембран, мітохондрій і лізосом епітелію проксимальних каналців нефрону.

При гістологічному дослідженні нирок щурів, які зазнавали субхронічного впливу $Pb(CH_3COO)_2$, аналогічно як і при впливі Hg помітних змін зазнавали клубочки юкстамедулярних нефронів. Більш помітних змін при впливі свинцю зазнавали проксимальні каналці нирок. На відміну від контролю в них спостерігали помітне розширення просвітів, заповнення їх ацидофільною рідиною і аморфною масою, сплюснення форми епітелію та його дистрофію. Також було встановлено, що провідний механізм розвитку свинцевої нефропатії реалізується безпосередньо через ураження свинцем (Pb) епітелію проксимальних каналців нирок, яке зумовлено вибірковою кумуляцією металу в ультраструктурах цих клітинах (мембрани мітохондрій, білкові цитоплазматичні включення, вторинні лізосоми). При цьому було встановлено ініціальний момент альтерації клітин при впливі свинцю – ушкодження апікальної цитоплазматичної мембрани, в наслідок чого в клітинах утворювались „вільні проходи” для металу та ушкодження внутрішніх мітохондріальних мембран.

При тривалому впливі $CdCl_2$ в дозі $1/50$ ЛД₅₀, в нирках щурів відмічали фокальне сегментарне ушкодження ниркових клубочків юкстамедулярних нефронів, яке супроводжувалось вогнищевим розширенням просвітів капсул ниркового тільця, проліферацією мезангіальних клітин і ендотелію клубочкових капілярів, гіперплазією подоцитів і його відростків, ніжки яких часто склеювались між собою, а також потовщенням базальної мембрани клубочкових капілярів. Також спостерігали дистрофічні зміни епітелію проксимальних каналців нирок, які виникали внаслідок порушень циркуляції внутрішньоклітинної рідини (внутрішньоклітинний ацидоз, надмірна вакуолізація і набряк цитоплазми з формуванням вогнищ її парціальних некрозів); структурно-функціональних порушень мітохондрій (зерниста дистрофія цитоплазми); та функціональної недостатності лізосом (гіперплазія лізосом та дрібно-крапельна білково-гіалінова дистрофія цитоплазми).

Висновки

1. Проведені дослідження показали, що важливим аспектом вивчення тривалої дії ксенобіотиків є зацікавленість у змінах показників азотистого обміну, що проявлялась підвищеним вмістом креатиніну, сечовини та сечової кислоти в сироватці крові,

2. Першою ознакою тривалого ураження нирок при експозиції ВМ є наявність білка в сечі, який динамічно збільшувався на протязі експерименту, а також зниження ШКФ.

3. Проведені морфологічні дослідження дозволили встановити нові факти, щодо морфологічної характеристики токсичної дії неорганічних сполук Hg, Pb і Cd, які полягають у здатності металів викликати цитопатичну дію на окремі клітини структурних елементів нефрону.

4. Одержані дані створюють єдине системне уявлення щодо розгорнутої патофізіологічної картини цього складного і багатоаспектного виду сучасної екологічної і виробничо зумовленої патології, що підвищує доказовість і аргументованість діагностичних, лікувальних, профілактичних та реабілітаційних заходів.

Література

1. Кундиев Ю.И. Химическая безопасность в Украине / Ю.И. Кундиев, И.М. Трахтенберг // Ежегодные чтения, посвященные памяти Евгения Игнатьевича Гончарука. – К.: Авиценна, 2007. – С.72 .

2. Стусь В.П. Вміст важких металів у нирках мешканців Дніпропетровської обл. / В.П. Стусь // Довкілля та здоров'я. – 2009. - № 2(49). – С. 20-25.

3. Шафран Л.М. Профессионально обусловленные металлонефропатии на транспорте: этиопатогенез, диагностика, профилактика / Л. М. Шафран, А. И. Гоженко // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН - 2009. - № 1 (65). – С. 141-146;

4. Шафран Л.М. Токсикология металлов в решении задач охраны здоровья населения и окружающей среды / Д.В. Большой, Е.Г. Пыхтеева // Ж. Причерноморський екологічний бюлетень, 2003. – № 1(7) – С. 93-100.

5. Шафран Л.М. Содержание тяжелых металлов в биосубстратах больных различного профиля как маркер токсичных нефропатий / Шафран Л.М., Большой Д.В., Пыхтеева Е.Г. // Ж. Актуальные проблемы транспортной медицины - 2009. - № 1 (15). - С. 29-36.

6. Рекомендации Научно-исследовательского института нефрологии Санкт-Петербургского ГМУ: определение, классификация, диагностика и основные направления профилактики хронической болезни почек у взрослых / А.В. Смирнов,

В.А. Добронравов, И.Г. Каюков, А.М. Есян, А.Г. Кучер // Санкт-Петербург. – 2008. – 51 с.

7. Микроскопическая техника. Руководство. / Под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Перова - М.: Медицина. - 1996. - 544 с.

8. Лойда З., Госспрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы: Пер. с англ. – М.: Мир, 1982. – 270 с.

9. Гайер Г. Электронная гистохимия /пер. с немецкого И.Б. Бухвалова; под редакцией Н.Т. Рахлина. - М.: „МИР”, 1974. – 488 с.

10. Бонашевская Т.И. Морфофункциональные исследования в гигиене. / Т.И. Бонашевская, Н.Н. Беяева, Н.Б. Кумпан // АМН СССР. – М.: Медицина, 1984 - 160 с.

11. Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных / М. Ю Антомонов. – Киев, 2006 – 558 с.

12. Matthew W., Discovery of metabolomics biomarkers for early detection of nephrotoxicity / W. Matthew, J Kurt Mitchell // Toxicol Pathol., 2009. - Vol. 37. – No. 3. – P. 280-292.

13. Ara D.Y. The prevalence of hypothyroidism in nephritic syndrome / D.Y. Ara., Z.L. Antonio // *Pediatr. Nephrol.* – 2010/ - № 25. – P. 86.

References

1. Kundiev Y.I. Chemical Safety in Ukraine / Y.I. Kundiev, I.M. Trachtenberg // Annual readings in memory of Eugene Ignatievitch Goncharuk. - K .: Avicenna, 2007. - P.72.

2. Stus V.P. The content of heavy metals in the kidney residents of Dnipropetrovsk region. / V.P. Stus // *Environment and Health.* - 2009. - № 2 (49). - P. 20-25.

3. Shafran L. M. Professionally driven metalloprotein transport: etiopathogenesis, diagnosis, prevention / L. M. Shafran, A. I. Gozhenko // *Bulletin SB RAMS* , - 2009. - № 1 (65). – P. 141-146.

4. Shafran L. M. Toxicology of the metals in the solution of problems of protection of human health and the environment / D. V. Bolshoy, E. G. Pykhteeva // *J. Prichernomorskiy ecology bulletin*, 2003. – № 1(7) – P. 93-100.

5. Shafran L. M. the Content of heavy metals in the substrate of different patients as a marker of toxic nephropathies / L. M. Shafran, D. V. Bolshoy, , E. G. Pykhteeva // *J. Actual problems of transport medicine* - 2009. - № 1 (15). - P. 29-36.

6. The recommendations of the research Institute of Nephrology of St-Petersburg state medical University: definition, classification, diagnosis and the main directions of prevention of chronic kidney disease in adults / A. V. Smirnov, V. A. Dobronravov, I. G. Kayukov, A. M. Yesayan, A. G. Kucher // St. Petersburg. – 2008. – P 51.
7. Microscopic techniques. Guide. / Edited by D. S. Sarkisov and Y. L. Perov, M.: Medicine. - 1996. – P. 544.
8. Lloyd Z., Gossrau R., Scheibler, T. Histochemistry of enzymes. Laboratory methods: TRANS. angl. – M.: Mir, 1982. – P. 270.
9. Geier G E. Electronic histochemistry /transl. from german by I. B. Bukhvalova; edited by N. T. Rakhlin. - M.: MIR, 1974. – P. 488 .
10. Bokashevskaya T. I. Morphofunctional research in hygiene. / T. I. Bokashevskaya, N. N. Belyaeva, N. B. Kumpan // AMS USSR. – M.: Medicine, 1984. – P. 160 .
11. Antomonov J. M. Mathematical processing and analysis of biomedical data / J.M. Antomonov. – Kyiv, 2006. – P. 558.
12. Matthew W., Discovery of metabolomics biomarkers for early detection of nephrotoxicity / W. Matthew, J Kurt Mitchell // Toxicol Pathol., 2009. - Vol. 37. – № 3. – P. 280-292.
13. Ara D.Y. The prevalence of hypothyroidism in nephritic syndrome / D.Y. Ara., Z.L. Antonio // Pediatr. Nephrol. – 2010. - № 25. – P. 86.