

Histological, histochemical and ultrastructural changes in the kidneys and live of Red-eared sliders (*Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839)) as a result of Gentamicin parenteral injection

R. Dankovych | V. Chuliuk✉

Article infoCorrespondence Author
V. Chuliuk
E-mail:
danco1802@gmail.comStepan Gzhytskyi National
University of Veterinary
Medicine and
Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50,
Lviv, 79010,
Ukraine**Citation:** Dankovych, R., & Chuliuk, V. (2023). Histological, histochemical and ultrastructural changes in the kidneys and live of Red-eared sliders (*Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839)) as a result of Gentamicin parenteral injection. *Scientific Progress & Innovations*, 26 (3), 113–118. doi: 10.31210/spi2023.26.03.20

Reptiles belonging to the vertebrate poikilothermic animals quite often contract non-communicable, infectious and invasive diseases. The principles of treatment of reptiles differ significantly from drug therapy for mammals and birds. For the purpose of studying the nephro- and hepatotoxic effects of aminoglycosides, histological, histochemical and ultrastructural examinations of the kidneys and liver of Red-eared slider were conducted. The turtles were injected with gentamicin at a dose of 10 mg/kg into thoracic limb muscles. Histological sections were made using a sledge microtome and a cryostat. The histological sections were stained with hematoxylin and eosin as well as Sudan III, and the PAS staining was performed according to McManus. For the detection of DNA and RNA, the methyl green and pyronin staining according to Brachet was performed. The kidneys examination of Red-eared slider, which received gentamicin, revealed that most of the capillary loops of the renal glomeruli were spasmodic while the glomerular basement membranes were thickened and intensely PAS-positive. In some renal glomeruli, deformation and fusion of the adjacent haemocapillary loops were discovered. Transmission electron microscopy revealed structural changes in the filtration barrier, characterised by heterogeneous size of the cytoplasmic fenestras of the renal glomerular endothelial cells, swelling of cytopedicles and heterogeneous reduction in the width of filtration slits. The mesangial matrix was expanded, thickened, and hypercellular. Tubular damage of the renal tubuli was most pronounced in the proximal segments of the nephron and was characterised by the development of hyaline-drop and, in some nephrocytes, vacuolar dystrophy, necrosis and apoptosis. Ultrastructural examination of the proximal tubuli revealed destruction of the brush border, accumulation of cytosomes and phagosomes in the cytoplasm, damage to mitochondria. Degenerative changes in hepatocytes were characterised by a decrease in the number of glycogen granules, destruction of the rough endoplasmic reticulum ribosomes and a reduced RNA content of the cytoplasm of the hepatic parenchymal cells. Necrotic lesions of hepatocytes and the development of apoptosis were also detected. Dyscirculatory changes were characterised by the development of vessels hyperaemia of the venous bed of the liver.

Keywords: reptiles, gentamicin, toxicity, electron microscopic examinations, endotheliocyte, microstructure.**Гістологічні, гістохімічні, ультраструктурні зміни нирок та печінки червоновухих прісноводних черепах (*Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839)) при парентеральному введенні гентаміцину**

Р. С. Данкович | В. І. Чулюк

Львівський національний
університет ветеринарної
медицини та біотехнологій
імені С. З Гжицького
м. Львів, Україна

У плазунів, які належать до хребетних пойкилотермних тварин, досить часто реєструються незаразні, інфекційні та інвазійні хвороби. Принципи лікування плазунів значно відрізняються від медикаментозної терапії у ссавців та птахів. З метою вивчення нефро- та гепатотоксичної дії аміноглікозидів, проведено гістологічне, гістохімічне та ультраструктурне дослідження нирок та печінки Червоновухих прісноводних черепах, яким в м'язи грудної кінцівки вводили гентаміцин (в дозі 10 мг/кг). Виготовлення гістозрізів проводили за допомогою санного мікротому та мікротома-криостата. Гістозрізи фарбували гематоксином та еозином, суданом III, PAS-реакцію провели за Мак-Манусом. Для виявлення ДНК та РНК проводили фарбування метиловим зеленим та піроніном за Браше. У результаті проведеного дослідження нирок Червоновухих прісноводних черепах, яким вводили гентаміцин встановили, що більшість капілярних петель ниркових клубочка були спазмовані, гломерулярні базальні мембрани потовщені, інтенсивно PAS-позитивні. В окремих ниркових клубочках відзначали деформацію та злиття сусідніх петель гемокапілярів. За проведення трансмісійної електронної мікроскопії виявили структурні зміни в фільтраційному бар'єрі, які характеризувались неоднорідним розміром фенестр цитоплазми ендотеліальних клітин ниркових клубочків, набуханням цитопедикул та неоднорідним зменшенням ширини фільтраційних щілин. Мезангіальний матрикс був розширений, потовщений, гіперцелюлярний. Тубулярне пошкодження ниркових каналців були найбільш вираженими в проксимальному сегменті нефрону і характеризувалось розвитком гіаліново-крапельної, а в окремих нефроцитах вакуольної дистрофії, некрозом та апоптозом. За ультраструктурного дослідження в проксимальних каналцях виявили руйнування шітокової облямівки, нагромадження в цитоплазмі цитосом, фагосом, пошкодження мітохондрій. Дегенеративні зміни гепатоцитів супроводжувались зниженням кількості гранул глікогену, руйнуванням гранулярної ендоплазматичної сітки та зниженням вмісту РНК цитоплазми паренхіматозних клітин печінки. Також виявили некротичні ураження гепатоцитів, розвиток апоптозу. Дисциркуляторні зміни характеризувались розвитком гіперемії судин венозного русла печінки.

Ключові слова: рептилії, гентаміцин, токсичність, електронномікроскопічні дослідження, ендотеліоцит, мікроскопічна будова.**Бібліографічний опис для цитування:** Данкович Р. С., Чулюк В. І. Гістологічні, гістохімічні, ультраструктурні зміни нирок та печінки червоновухих прісноводних черепах (*Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839)) при парентеральному введенні гентаміцину. *Scientific Progress & Innovations*. 2023. № 26 (3). С. 113–118.

Вступ

Рептилії належать до хребетних пойкилотермних тварин, які в еволюційному відношенні є досить унікальною групою, представники якої успішно колонізували значну частину суші нашої планети, а також прісноводні водойми, моря та океани, а завдяки розвитку низки адаптацій до різноманітних умов існування, заселили деякі з найсуворіших і екологічно нестабільних екосистем на Землі (пустелі, болота, тощо) [1, 2].

У плазунів досить часто реєструються незаразні, інфекційні та інвазійні хвороби [3–5]. Слід зазначити, що патологічні стани рептилій можуть розвиватись під час перебування тварин в межах їх природного ареалу, їх частота значно зростає при неадекватних умовах утримання та неповноцінній годівлі в умовах зоопарків та домашніх тераріумів, скупченому утриманні, а також при транспортуванні плазунів [6–8].

Принципи лікування плазунів значно відрізняються від медикаментозної терапії у ссавців та птахів, що насамперед пов'язано з анатомічними та фізіологічними особливостями пойкилотермних тварин. Під час лікування інфекційних хвороб рептилій використовується гентаміцин, що володіє вираженою нефротоксичною, а також гепатотоксичною дією [9–11]. На сьогоднішній день нефрота гепатотоксичність аміноглікозидів в рептилій досліджена недостатньо. У зв'язку з цим, вивчення гістологічних, гістохімічних та ультраструктурних змін, які розвиваються в нирках та печінці Червоновухих прісноводних черепах (*Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839)) за парентерального введення гентаміцину є актуальним питанням, яке має не лише наукове, але й практичне значення.

Мета дослідження

Метою роботи було детально дослідити структурні зміни (гістологічні, гістохімічні, ультраструктурні) зміни, що розвиваються в нирках та печінці Червоновухих прісноводних черепах (*Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839)) за парентерального введення гентаміцину.

Матеріали і методи

Дослідження провели на статевозрілих Червоновухих прісноводних черепах (*Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839)). Дослід проведено в весняно-осінній період року. Для контролю підбирали клінічно здорових тварин (за принципом аналогів). Дослідні (n=4) та контрольні (n=4) тварини утримувались в оптимальних умовах мікроклімату. Годівля була збалансованою, відповідала критеріям, які рекомендовані для даного виду рептилій. Дослідним тваринам кожні 48 годин вводили гентаміцин в м'язи грудної кінцівки (в дозі 10 мг/кг). Тварин дослідної групи виводили з експерименту на 14 добу досліді. Під час проведення досліджень дотримувались рекомендацій “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що

використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18 березня, 1986 року)” [12].

Евтаназію черепах здійснювали за допомогою ін'єкції тіопенталу натрію в грудно-черевну порожнину (в дозі 100 мг/кг). Для гістологічного дослідження шматочки органів фіксували в 10% забуференому розчині нейтрального формаліну, рідині Карнуа і в 96% етиловому спирті. Виготовлення гістозрізів проводили за допомогою санного мікротома та мікротома-криостата. Гістозрізи фарбували гематоксиліном та еозинном, суданом III, PAS-реакцію провели за Мак-Манусом. Для виявлення ДНК та РНК гістозрізи фарбували метиловим зеленими та піроніном за Браше [13, 14]. Фотографування мікропрепаратів проводили з використанням мікроскопа Leica DM-2500 (Switzerland), фотокамери Leica DFC450C і програмного забезпечення Leica Application Suite Version.

Для проведення трансмісійної електронної мікроскопії фрагменти нирок та печінки фіксували у 2% розчині OsO₄ у фосфатному буфері (pH 7,36). Ультратонкі зрізи виготовляли за допомогою ультрамікротома УМП-3М, монтували на опорні сітки та контрастували у 2% розчині ураніацетату [15]. Електронномікроскопічне дослідження проводили за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-100-01.

Результати та їх обговорення

У результаті проведеного дослідження нирок Червоновухих прісноводних черепах (*Trachemys scripta elegans* (Wied, 1839)), яким парентерально вводили гентаміцин (в дозі 10 мг/кг) впродовж 14 днів, встановили, що в більшості ниркових тілець капілярні петлі були спазмовані, гломерулярні базальні мембрани потовщені, інтенсивно PAS-позитивні (рис. 1).

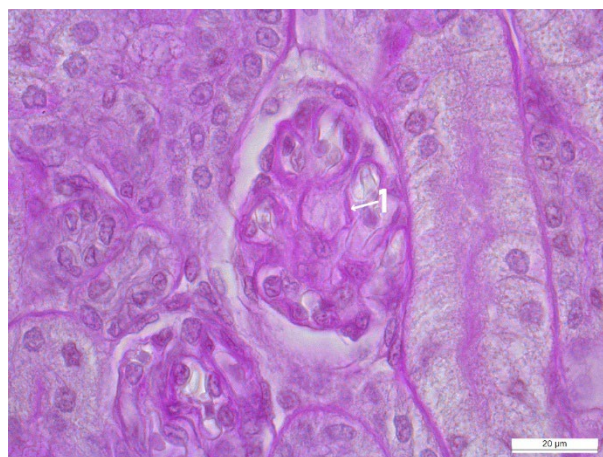


Рис. 1. Потовщення гломерулярної базальної мембрани ниркового клубочка та нагромадження в ній PAS-позитивних речовин (1).
PAS-реакція за Мак-Манусом

Мезангіальний матрикс був розширений, гіперцелюлярний. У ниркових клубочках також відзначали злиття сусідніх петель гемокапілярів та їх деформацію. Лише в окремих гемокапілярах

ниркових клубочків візуалізувались еритроцити та маси плазми крові.

За проведення трансмісійної електронної мікроскопії виявили структурні зміни в фільтраційному бар'єрі, які характеризувались потовщенням гломерулярної базальної мембрани (рис. 2), неоднорідним розміром фенестр цитоплазми ендотеліальних клітин ниркових клубочків (переважна більшість фенестр були звужені, лише в окремих з них візуалізувався просвіт).

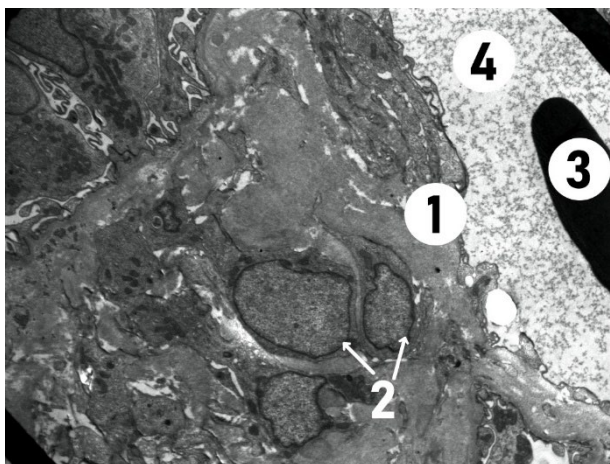


Рис. 2. Потовщення гломерулярної базальної мембрани ниркового клубочка (1), щільно розташовані ядра мезангіальних клітин (2). Еритроцит (3) та плазма крові (4) в просвіті гемокapілярів ниркового клубочка (4).

Електроннограма ×2200

Також спостерігали ураження подоцитів, які характеризувались набуханням та злиттям окремих відростків цих клітин, що спричинило формування ділянок суцільної цитоплазми подоцитів. Цитопедикнули подоцитів також неоднорідно потовщувались, що супроводжувалось зміною розміру (переважно неоднорідним звуженням) фільтраційних щілин. Щілинні діафрагми мали неоднорідну електронну щільність. У розширеному мезангіальному матриксі локалізувались щільно розташовані ядра мезангіоцитів.

В каналцевому сегменті нефрона виявили альтеративні зміни нефроцитів, що були найбільш вираженими в проксимальних каналцях. В окремих нефроцитах проксимальних каналців цитоплазма містила дрібні інтенсивноосміофільні ацидофільні гіаліноподібні краплі. Кількість PAS-позитивних речовин в ділянці щіткової облямівки проксимальних каналців знижувалась, лише в окремих ділянках щіткової облямівки спостерігали вогнищеве нагромадження PAS-позитивних речовин. Окрім цього, в деяких нефроцитах проксимальних та дистальних каналців цитоплазма була просвітлена, неоднорідно ваколізована, що свідчить про розвиток вакуольної дистрофії. У зазначених ділянках ваколізованої цитоплазми нефроцитів нейтральних жирів не виявили. При фарбуванні гістохімічних метиловим зеленим та піроніном за Браше в дистрофічно змінених нефроцитах відзначали зниження піронінофільності цитоплазми.

Також реєстрували розвиток некрогичних змін каналцевого епітелію. Ядра некротизованих

епітеліоцитів зазнавали пікнотичних змін, а некротизовані епітеліоцити десквамувались в просвіт ниркових каналців, у якому також нагромаджувались ацидофільні маси. У проксимальних каналцях спостерігали появу апоптичних тілець.

За електронномікроскопічного дослідження встановили, що дегенеративні зміни нефроцитів проксимальних каналців супроводжувались вогнищеву деструкцію щіткової облямівки (рис. 3 та 4).



Рис. 3. Вогнищева деструкція щіткової облямівки (1) епітеліоцита проксимального каналця.

Електроннограма × 4000

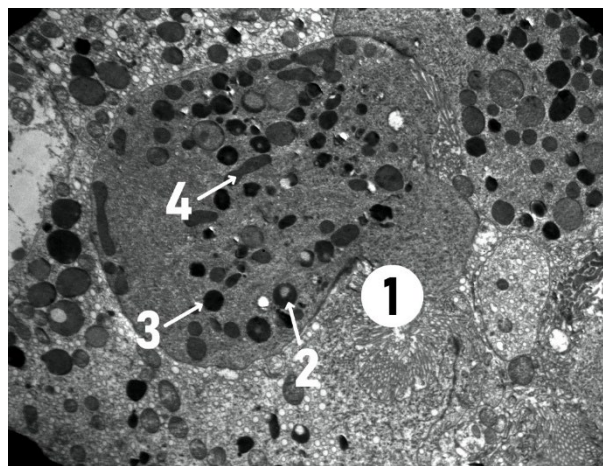


Рис. 4. Вогнищева деструкція щіткової облямівки (1) проксимального каналця. Значна кількість фагосом (2), лізосом (3) в цитоплазмі епітелію проксимального каналця. Деструкція крист мітохондрій (4).

Електроннограма × 2200

За розвитку дегенеративних змін нефроцитів за типом гіаліново-крапельної дистрофії в цитоплазмі нефроцитів нагромаджувалась значна кількість лізосом, фагосом, цитосом, що були заповнені матеріалом високої електронної щільності або гетероморфним вмістом (рис. 4). Дегенеративні зміни супроводжувались розширенням каналців гладкої та гранулярної ендоплазматичної сітки, деструкцією рибосом, набуханням мітохондрій, деструкцію їх крист. Базальна мембрана в проксимальних каналцях неоднорідно

потовщувалась. За вакуольної дистрофії в цитоплазмі нефроцитів візуалізувались ваколі, що були заповнені електронно-світлим вмістом.

За розвитку некротичних змін нефроцитів ядро епітеліоцита зменшувалось в об'ємі, переповнювалось інтенсивноконденсованим хроматином, цитоплазма та цитоплазматичні органели зазнавали вираженої деструкції, візуалізувались лише їх фрагменти.

При гістологічному дослідженні печінки черепах, яким парентерально вводили гентаміцин, виявляли розвиток альтеративних змін гепатоцитів, а також дисциркуляторні зміни. Унаслідок розвитку дегенеративних та некротичних змін гепатоцитів в окремих ділянках відзначали дисконкомплексцію гістологічної структури печінки (рис. 5).

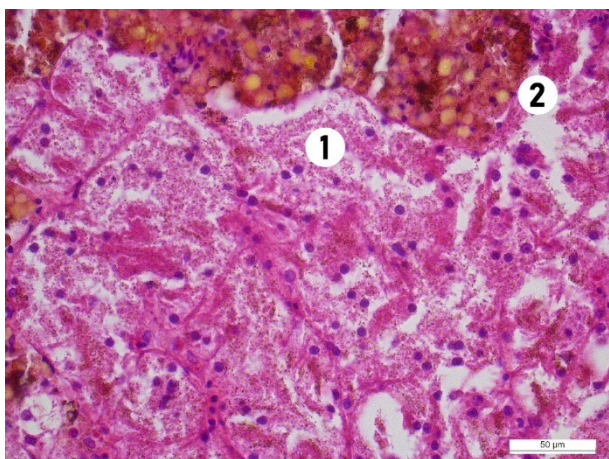


Рис. 5. Дисконкомплексія (1) гістоструктури печінки. Зниження щільності розташування меланомacroфагальних комплексів (2).
Гематоксилін та еозин

У порівнянні з контролем реєстрували зменшення кількості та зниження щільності розташування меланомacroфагальних комплексів. Слід зазначити, що фізіологічним явищем у черепах є наявність значної кількості нейтральних жирів в цитоплазмі гепатоцитів. За розвитку дегенеративних змін, що були спричинені парентеральним введенням гентаміцину, виявили неоднорідне, а подекуди досить виражене зменшення вмісту в цитоплазмі гепатоцитів жирових вакуолей, що виявили при фарбуванні гісто-зрізів, які були виготовлені на мікротомі-криостаті та пофарбовані суданом III (рис. 6).

Окрім цього, в цитоплазмі гепатоцитів виразно знижувався вміст глікогену, що було виявлено за проведення PAS-реакції (рис. 7), а також за трансмісійної електронної мікроскопії.

При гістохімічному виявленні РНК та ДНК (за фарбування метиловим зеленим та піроніном за Браше) цитоплазма гепатоцитів у черепах, яким парентерально вводили гентаміцин, була менш піронінофільною (рис. 8), у порівнянні з контролем.

За проведення трансмісійної електронної мікроскопії печінки виявили просвітлення матриксу цитоплазми окремих гепатоцитів, деструкцію рибосом гранулярної ендоплазматичної сітки (рис. 9).

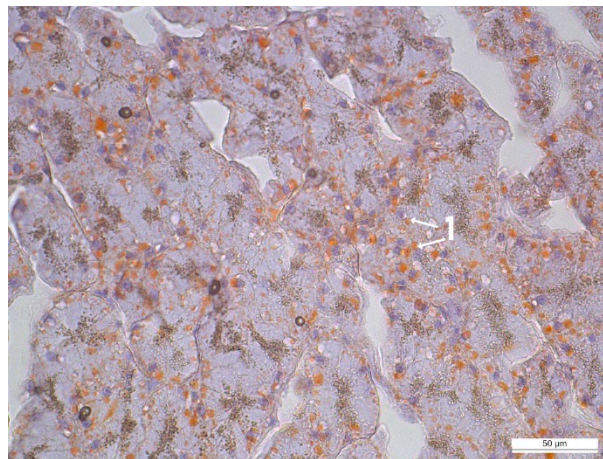


Рис. 6. Виражене зменшення кількості жирових вакуолей (1) в цитоплазмі гепатоцитів.
Судан III.

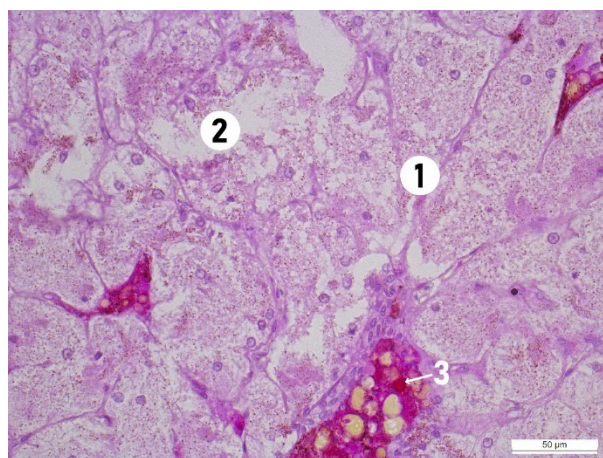


Рис. 7. Зменшення кількості глікогену (1) в цитоплазмі гепатоцитів. Дисконкомплексія гістоструктури печінки (2). PAS-позитивні речовини в меланомacroфагальних комплексів (3).
PAS-реакція за Мак-Манусом

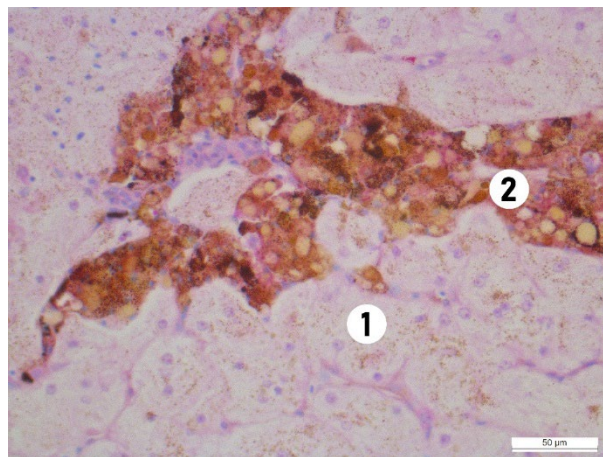


Рис. 8. Незначна піронінофільність (1) цитоплазми гепатоцитів. Зниження щільності розташування меланомacroфагальних комплексів (2).
Метиловий зелений та піронін за Браше.

Контури пошкоджених рибосом були нечіткими. Деякі рибосоми зазнавали лізису. Також у дослідних черепах виявили дисциркуляторні зміни, які характеризувались розширенням та переповненням

еритроцитами судин венозного русла. Окрім дегенеративних змін, виявляли некротичні ураження гепатоцитів унаслідок яких реєстрували пікноз ядра та виражена деструкцію цитоплазми. В печінці подекуди локалізувались поодинокі апоптичні тільця, що вказує на розвиток апоптозу за парентерального введення гентаміцину.

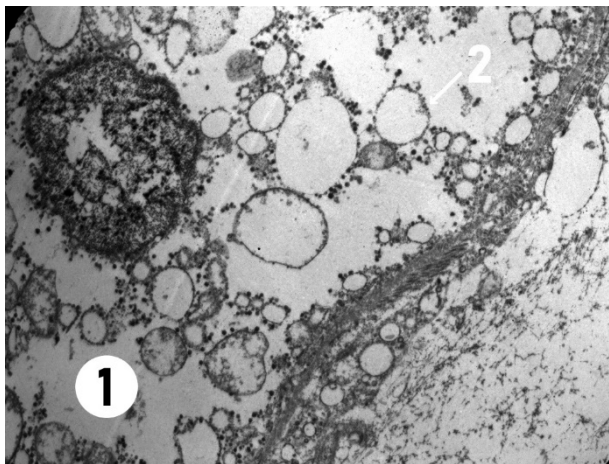


Рис. 9. Просвітлення матриксу цитоплазми гепатоцитів (1). Деструкція рибосом гранулярної ендоплазматичної сітки (2).
Електронограма × 4500

Гентаміцин належить до аміноглікозидів II покоління, володіє нефро- та гепатотоксичною дією [16, 17, 18, 19]. Слід зазначити, що більшість аміноглікозидів, в тому числі гентаміцин, виводяться нирками шляхом клубочкової фільтрації [20, 21]. При цьому в ниркових клубочках розвиваються структурні зміни, які також були виявлені в процесі проведеного нами дослідження. Зокрема, ми спостерігали звуження та деструкцію капілярних петель ниркових клубочків, а також ураження структурних компонентів фільтраційного бар'єру, що характеризувались звуженням фенестр в ендотелії, потовщенням гломерулярної базальної мембрани та обмеженням просвіту фільтраційних щілин. На нашу думку, описані структурні зміни, що індуковані парентеральним введенням гентаміцину, негативно впливають на клубочкову фільтрацію в нирках.

Ще більш виражені структурні зміни виявили в ниркових канальцях, що характеризувалась некротичними змінами епітелію проксимальних, в дещо меншій мірі дистальних канальців. Також відзначали розвиток апоптозу нефроцитів. На нашу думку, домінуючими та найбільш вираженими змінами, які виникають за парентерального введення, є альтеративні зміни в епітелії проксимальних канальців.

Окрім гентаміцинової нефропатії ми також виявили ураження печінки, яке характеризувалось альтеративними змінами гепатоцитів, які супроводжувались зниженням вмісту глікогену та РНК в цитоплазмі паренхіматозних елементів. Також реєстрували розвиток дисциркуляторних процесів.

Розвиток дегенеративних процесів в печінці, які супроводжувались зниженням вмісту глікогену в цитоплазмі гепатоцитів у своїх дослідженнях при дії гентаміцину встановили [22]. При проведенні гісто-

хімічних досліджень (PAS-реакції) ми також виявили зниження вмісту глікогену в цитоплазмі гепатоцитів за парентерального введення гентаміцину. Під час проведення трансмісійної електронної мікроскопії також зареєстрували зниження кількості гранул глікогену в цитоплазмі гепатоцитів. Окрім цього, пошкодження гепатоцитів супроводжувалось деструкцією рибосом гранулярної ендоплазматичної сітки. Рибосоми у своєму складі містять значну кількість РНК. Наслідком руйнування рибосом було зниження піронінофільності цитоплазми гепатоцитів, яку ми виявили при проведенні гістохімічного виявлення РНК та ДНК метиловим зеленим та піроніном за Браше.

Висновки

У результаті проведеного гістологічного, гістохімічного та ультраструктурного дослідження нирок та печінки черепах, яким парентерально вводили гентаміцин, встановлено ураження ниркових тілець, що супроводжувались змінами структурних компонентів фільтраційного бар'єру, розширенням мезангіального матриксу, збільшенням кількості мезангіальних клітин, спазмом капілярних петель більшості ниркових клубочків, а також вираженими альтеративними змінами ниркових канальців. Тубулярне пошкодження ниркових канальців були найбільш вираженими в проксимальному сегменті нефрону і характеризувались розвитком гіаліновокрапельної, а в окремих ділянках канальців вакуольної дистрофії нефроцитів, їх некрозом та апоптозом.

У печінці зафіксовано розвиток дисциркуляторних змін (венозної гіперемії), зниження щільності розташування меланомacroфагальних комплексів, розвиток дегенеративних, некротичних та апоптичних змін гепатоцитів. Альтеративні зміни гепатоцитів супроводжувались деструкцією крист мітохондрій, рибосом гранулярної ендоплазматичної сітки, зниженням вмісту нейтральних жирів, глікогену та РНК в цитоплазмі гепатоцитів.

Перспективи подальших досліджень полягають у проведенні комплексного вивчення токсичності антибіотиків з метою встановлення безпечності та визначення оптимальних доз антибактеріальних препаратів для рептилій. Також потребують уточнення способи та ділянки введення антибіотиків в організм плазунів. Під час вивчення патогенезу патологічних процесів, які розвиваються у внутрішніх органах плазунів за дії антибіотиків необхідно використовувати комплекс клінічних та патологоанатомічних досліджень, з використанням імуногістохімічних методів.

Конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їхнього викладу та результатів досліджень.

References

1. Pincheira-Donoso, D., Bauer, A. M., Meiri, S., & Uetz, P. (2013). Global Taxonomic Diversity of Living Reptiles. *PLoS ONE*, 8 (3), e59741. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059741>

2. Shine, R. (2005). Life-history evolution in reptiles. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36 (1), 23–46. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.102003.152631>
3. Tul, O. I. (2020). Pathomorphological changes in the sand lizard (*Lacerta agilis*) organism during the associated course of escherichiosis and staphylococcosis. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 5, 192–197. <https://doi.org/10.31890/vtpp.2020.05.34>
4. Stepanenko, H. O. (2014). Rol metabolichnykh osteopatii u vynyknenni patolohichnykh perelomiv u reptylii. *Naukovyi visnyk veterynarnoi medytsyny*, 13 (108), 240–242. [in Ukrainian]
5. Yermolenko, S. V., Gasso, V. Y., Spirina, V. A., & Huslysty, A. O. (2021). Influence of pyrethroid and neonicotinoid insecticides on lizards (Reptilia, Squamata) (a review). *Issues of Steppe Forestry and Forest Reclamation of Soils*, 50, 81–90. <https://doi.org/10.15421/442109>
6. Kotsyumbas, G. I., Dankovych, R. S., Stronskyi, Yu. S., Shcheben-tovska, O. M., & Zaitsev, O. O. (2012). *Khvoroby reptylii ta yikh patomorfologichna diahnozytika*. Lviv: Afisha [in Ukrainian]
7. Stoyanov, L. A., & Stoyanova, V. Yu. (2018). *Parasitic diseases of reptiles*. Dnipro.
8. Peredera, S. B., Skrypka, M. V., & Saulin, P. I. (2018). Patomorfologichni zminy v orhanakh vydilnoi systemy chervonovukhykh cherepakh za latentnoho perebihu asotsiovanoi infektsii. *Ahrarnyi Visnyk Prychornomia*, 91, 11–29 [in Ukrainian]
9. Balakumar, P., Rohilla, A., & Thangathirupathi, A. (2010). Gentamicin-induced nephrotoxicity: Do we have a promising therapeutic approach to blunt it? *Pharmacological Research*, 62 (3), 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2010.04.004>
10. Bulboacă, A. E., Porfire, A. S., Rus, V., Nicula, C. A., Bulboacă, C. A., & Bolboacă, S. D. (2022). Protective Effect of liposomal epigallocatechin-gallate in experimental gentamicin-induced hepatotoxicity. *Antioxidants*, 11 (2), 412. <https://doi.org/10.3390/antiox11020412>
11. Babaeenezhad, E., Nouryazdan, N., Nasri, M., Ahmadvand, H., & Moradi Sarabi, M. (2021). Cinnamic acid ameliorate gentamicin-induced liver dysfunctions and nephrotoxicity in rats through induction of antioxidant activities. *Heliyon*, 7 (7), e07465. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07465>
12. Riezniuk, O. (2001). Problemy etyky pry provedenni eksperymentalnykh medychnykh i biolohichnykh dosli-dzhen na tvarynakh. *Visnyk Natsionalnoi Akademii Nauk Ukrainy*, 11, 30–33. Retrieved from: file:///D:/download/vnanu_2001_11_7.pdf [in Ukrainian]
13. Mulisch, M., & Welsch, U. (Eds.). (2015). *Romeis - Mikroskopische Technik*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-55190-1>
14. Horalskyi, L. P., Khomych, V. T., & Kononskyi, O. I. (2015). *Osnovy histolohichnoi tekhniki i morfofunk-tsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii: navchalnyi posibnyk*. Zhytomyr: Polissia [in Ukrainian]
15. Glauert, A. M. (1975). *Fixation, dehydration and embedding of biological specimens: Practical methods in electron microscopy*. North-Holland: American Elsevier.
16. Montali, R. J., Bush, M., & Smeller, J. M. (1979). The Pathology of nephrotoxicity of Gentamicin in Snakes. *Veterinary Pathology*, 16 (1), 108–115. <https://doi.org/10.1177/030098587901600111>
17. Fauzi, A., Titisari, N., Sutarso, & Mellisa, V. (2020). Gentamicin nephrotoxicity in animal model: study of kidney histopathology and physiological functions. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 465 (1), 012005. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/465/1/012005>
18. Mishra, R., & Shrivastava, V. K. (2019). Gentamicin induced hepatotoxicity an approach of hepatoprotection by Garlic. *International Journal of Scientific Research in Biological Sciences*, 5 (6), 150–156. <https://doi.org/10.26438/ijrsbs/v5i6.150156>
19. Mahmood, N., Haleh, M., Mohammad, P., Mohsen, F., & Hossein, K. J. (2014). Pathological changes of gentamicin in liver tissue and antioxidant property of cinnamon extract on Wistar Rats. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 7 (1), 341–347. <https://doi.org/10.13005/bpj/496>
20. Doneley, B., Monks, D., Johnson, R., & Carmel, B. (2018) *Reptile medicine and surgery in clinical practice*. Wiley-Blackwell.
21. Mader, D. R. (2006). *Reptile Medicine and Surgery*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b0-7216-9327-x/x5001-9>
22. Stojiljkovic, N., & Stojiljkovic, M. (2006). Micromorphological and histochemical with gentamicin. *Acta Medica Medianae*, 45 (3), 24–28.

ORCID

R. Dankovych  <https://orcid.org/0000-0003-3254-0506>

V. Chuliuk  <https://orcid.org/0000-0002-3082-7215>



© 2023 Dankovych R. and Chuliuk V. This is an open-access article distributed under the Creative Commons Attribution License <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.