

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИЗНАЧЕННЯ МОДИФІКУЮЧОГО ВПЛИВУ СУКЦИНАТУ ЦИНКУ НА ЕМБРІОТОКСИЧНІСТЬ ХЛОРИДУ КАДМІЮ У ЩУРІВ

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпро)

verashatornaya67@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Експериментальне дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки ДЗ «ДМА» «Біологічні основи морфогенезу органів та тварин під впливом мікроелементів та ультрамікроелементів в експерименті» (№ державної реєстрації 0118U006635).

Вступ. Кадмій – один із найбільш токсичних важких металів, який відносять до другого класу небезпеки – високо небезпечні речовини [1]. Він потрапляє до організму людини через шлунок та при інгаляції. Найбільше накопичення відбувається в тканинах нирок та печінки, але його токсична дія поширюється на весь організм [2]. Сполуки кадмію здатні негативно впливати на ембріогенез живих організмів, доведено, що введення кадмію збільшує ембріональну смертність, тобто має ембріотоксичний ефект [3].

Актуальним є пошук речовин які б могли пригнітити негативну дію сполук кадмію та бути його біоантогоністами. Такою речовиною може бути комплекс бурштинової кислоти та цинку. Янтарна кислота виконує функцію регулятора фізіологічних і біохімічних процесів, проявляє антиоксидантні властивості та інгібує процеси перекисного окиснення ліпідів. Бурштинова кислота широко використовується в тваринництві для підвищення відсотку збереження молодняку і збільшення продуктивності тварин [4].

Області застосування бурштинової кислоти вельми різноманітні і включають кардіологію, неврологію, ендокринологію, токсикологію і наркологію, інфекційні хвороби, педіатрію, відновну медицину. Досить успішно використовують ці препарати в хірургії, пульмонології, гематології, дерматології, акушерстві та гінекології. Таке різноманіття областей застосування бурштинової кислоти обумовлено безпосередньою участю сукцината в процесах тканинного дихання і окисного фосфорилування в мітохондріях [5].

Цинк є незамінним мінералом, що бере участь в багатьох аспектах клітинного метаболізму. Він необхідний для каталітичної активності багатьох ферментів [6] і грає роль в синтезі білка, синтезі ДНК, і поділі клітин [7]. Цинк також підтримує нормальний розвиток під час вагітності, дитинства та юності [8,9,10]. Не дивлячись на те, що іони кадмію здатні заміщати іони цинку в біологічних молекулах, і за хімічними властивостями подібні цинку, спільне використання цих двох металів призводить до зниження ембріотоксичного ефекту викликаного кадмієм [11].

Згідно з літературних даних додавання цинку під час впливу кадмію може надавати захисну дію на метаболізм ліпідів, що полягає в його здатності запобігати гиперліпемії, включаючи особливо гіперхолестеринемію, і захищати від перекисного окислення ліпідів. Отримані дані свідчать про те, що підвищене введення цинку в раціон під час впливу кадмію, запо-

бігає змінам стану ліпідів у організмі, може, принаймні частково, захистити від деяких ефектів токсичності кадмію, включаючи окисне пошкодження клітинних мембран [12,13].

Бурштинова кислота здатна зв'язувати іони металів в хелатні комплекси, що може посилювати їх біологічну дію та виключати антагонізм між ними [14]. Тому актуальним є дослідження впливу сукцинатів цинку на ступінь ембріотоксичності солей кадмію.

Мета дослідження – експериментально визначити модифікуючу дію сукцинатів цинку на ембріотоксичність хлориду кадмію при хронічному внутрішньошлунковому введенні впродовж всього періоду вагітності у щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження були проведені на самицях щурів лінії Wistar (розплідник «Далі-2001», м. Київ). Для ембріонального дослідження отримували самиць щурів з датованим терміном вагітності, використовуючи метод вагінальних мазків. На стадії проеструс та еструс підсаджували самців в клітки з самицями з розрахунку 1:3, перший день вагітності встановлювали на підставі виявлення сперматозоїдів у вагінальному мазку. На 13-й та 19-й день вагітності проводили оперативний забій. Щурят вилучали з матки, перевіряли на тест «живі-мертві», зважували, протоколювали, фотографували та фіксували у 10%- розчині формаліну.

Для моделювання впливу і токсичної дії експозиції хлоридом кадмію ми протягом всієї вагітності самицям щодня *peros* вводили розчин хлориду кадмію (в дозі – 2,0 мг/кг). Нами обрано дозу, що в 100 разів менша за LD_{50} і в два рази більша за таку, яка може надходити в організм із навколишнього середовища при кадмієвому забрудненні довкілля [15]. Окрім контрольної групи (n самиць=20; n ембріонів=235), моделювалась група ізольованого введення хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг (n самиць=20; n ембріонів=182) та експериментальна група комбінованого введення хлориду кадмію (2,0 мг/кг) та сукцинату цинку в дозі 5 мг/кг (n самиць=20; n ембріонів=221). Відповідно до умов і вимог проведення ембріональних експериментів ми забезпечили повноцінний харчовий раціон, воду для пиття і ретельний догляд самицям; введення розчинів металів (зондуванням) проводили з першого дня вагітності щоденно в один і той же час доби (з 10 до 12 години).

Про можливу негативну дію досліджуваної речовини на ембріональний розвиток судили за здатністю підвищувати рівень ембріональної смертності; загальний розвиток плодів оцінювали за показниками кількості ембріонів (середнє значення в групі), кількості жовтих тіл вагітності яєчників самиць, маси тіла ембріона, його відповідності стадії розвитку за загальноприйнятими критеріями ембріонального розвитку щурів. Ембріотоксичну дію досліджуваних речовин оцінювали за наступними показниками:

1. Загальна ембріональна смертність = $3CE=(B-A)/V$
де А – кількість живих плодів, В – кількість жовтих тіл вагітності.

2. Предімплантаційна смертність = $ПІС=(B-(A+B))/V$
де А – кількість живих плодів, В – кількість загиблих (резорбованих) плодів, В – кількість жовтих тіл вагітності.

3. Постімплантаційна смертність = $ПостІС=B/(A+B)$
де А – кількість живих плодів, В – кількість загиблих (резорбованих) плодів.

4. Кількість плодів на 1 самку в групі (середнє значення).

Під час оперування підраховували кількість плодів в кожному розі матки та відповідність їх кількості жовтих тіл в яєчнику з відповідного боку.

Підрахування жовтих тіл в яєчниках самоць дозволяло визначати доімплантаційну смертність ембріонів: якщо кількість жовтих тіл вагітності в яєчниках була вищою за кількість ембріонів у відповідному розі матки, це свідчило про ембріотоксичний вплив досліджуваного чинника на процес імплантації та наступну загибель ембріона щура – доімплантаційну смертність, а постімплантаційну смертність визначали за різницею міст імплантації (резорбції ембріонів) в рогах матки та кількістю виживших ембріонів. Дані показники є базовими показниками для обрахування загальної ембріональної смертності та визначення ембріотоксичності досліджуваних сполук.

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики. Оцінку вірогідності статистичних досліджень проводили за допомогою t-критерію Ст'юдента.

Дослідження на тваринах проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), які узгоджуються з Європейською конвенцією про захист експериментальних тварин (Страсбург, 1985).

Результати дослідження та їх обговорення. Згідно з отриманих даних ізольоване введення хлориду кадмію в зазначеній дозі призводить до достовірного зниження ($p<0,05$) кількості живих ембріонів в порівнянні з контрольною групою. При комбінованому впливі хлориду кадмію та сукцинату цинку кількість живих плодів наближується до рівня контролю та спостерігається достовірне підвищення ($p<0,05$) кількості ембріонів порівняно з групою ізольованого введення.

Як показав аналіз отриманих даних, на 13 добу вагітності кількість живих ембріонів збільшено на 23% порівняно з групою ізольованого введення хлориду кадмію, а на 19 добу – на 20% (рис. 1). Тобто комбіноване введення хлориду кадмію та сукцинату цинку має позитивну дію на показники ембріотоксичності кадмію як на 13-ту так і на 19-ту добу ембріонального розвитку у щурів. Кількість ембріонів в групі комбінованого введення не мала достовірної різниці з контролем, в той час як в групі ізольованого введення хлориду кадмію в зазначеній дозі досліджуваного показник знижувався з достовірністю $p<0,05$.

Важливим критерієм ембріотоксичності є показники загальної ембріональної смертності та доімплантаційної і післяімплантаційної смертності. Обрахування показників загальної ембріональної смертності показало, що при ізольованому введенні хлориду кадмію відбувається значне збільшення цього показника як на 13 добу вагітності, так і на 19-ту. Вивчення отрима-

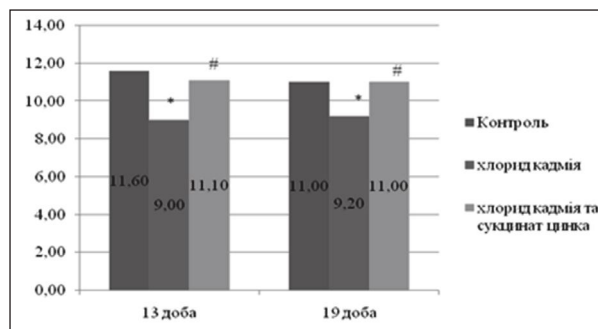


Рисунок 1 – Середні показники кількості живих ембріонів щурів на 13-й та 19-й добі ембріонального розвитку в контрольній та експериментальних групах.

Примітки: * - $p<0,05$ відносно контрольної групи; # – $p<0,05$ відносно групи кадмій хлорид.

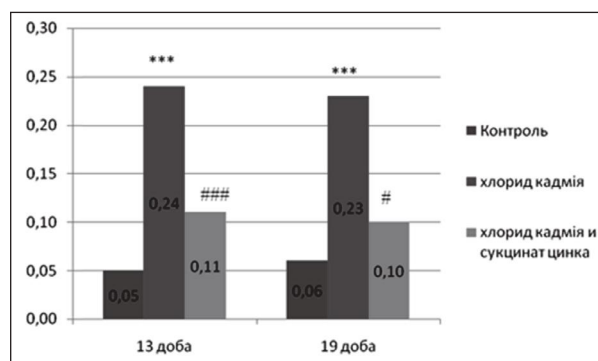


Рисунок 2 – Середні показники загальної ембріональної смертності на 13-й та 19-й добі ембріонального розвитку щурів в контрольній та експериментальних групах, n=10.

Примітки: * – $p<0,05$; *** – $p<0,001$ відносно контрольної групи; # – $p<0,05$; ### – $p<0,05$ відносно групи кадмій хлорид.

них даних показало, що комбіноване введення хлориду кадмію та сукцинату цинку призводить до збільшення показника загальної ембріональної смертності в порівнянні до контрольних значень, але визначається модифікуюча дія сукцинату цинку на даний показник при комбінованому введенні (рис. 2). Так, на 13-ту добу ембріогенезу, показник загальної ембріональної смертності збільшено в 2 рази, а на 19-ту добу на 66 %. В той же самий час відбувається достовірне ($p<0,05$) зниження ембріональної смертності в порівнянні з групою впливу хлориду кадмію. Тобто, загальна ембріональна смертність в групі введення хлориду кадмію та сукцинату цинку на 13-ту добу вагітності становить $0,11\pm 0,03$. Це в 2,18 рази нижче за групу введення хлориду кадмію (рис. 2).

На 19-й добі ембріогенезу за введення хлориду кадмію та сукцинату цинку ембріональна смертність становить $0,10\pm 0,02$, що в 2,3 рази нижче за групу введення хлориду кадмію. Тобто сукцинат цинку здатен до зменшення ембріотоксичного впливу хлориду кадмію, та дозволяє знизити ембріональну смертність плодів.

Проаналізували обрахування доімплантаційної та постімплантаційної ембріональної смертності для дослідних груп. В контрольній групі відмічається незначна як доімплантаційна ($0,03\pm 0,01$ на 13-ту добу, $0,04\pm 0,02$ на 19-ту добу), так і постімплантаційна смертність ($0,02\pm 0,01$ на 13-ту добу, $0,01\pm 0,01$ на 19-ту добу). При ізольованому впливі хлориду кадмію доімплантаційна та постімплантаційна смертність збільшуються в кілька разів в порівнянні з контролем.

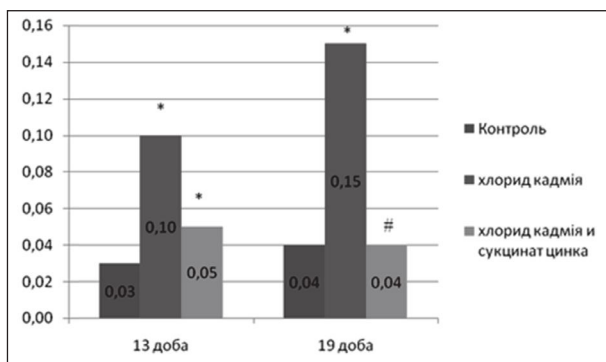


Рисунок 3 – Середні показники доімплантаційної ембріональної смертності на 13-й та 19-й добі ембріонального розвитку щурів в контрольній та експериментальних групах, n=10.

Примітки: * – $p < 0,05$; відносно контрольної групи; # – $p < 0,05$; відносно групи кадмій хлорид.

При комбінованому введенні дослідних сполук показник доімплантаційної смертності знижено в 2 рази для 13-ти денного строку вагітності, та в 3,75 рази для 20-ти денного строку в порівнянні з групою ізольованого впливу, та майже наближається до рівня контролю (рис. 3).

Показник постімплантаційної смертності при комбінованому введенні хлориду кадмію та сукцинату цинку майже однаковий для різного терміну вагітності та становить $0,06 \pm 0,01$ (13-та доба) та $0,06 \pm 0,02$ (19-та доба). Це в свою чергу в 3 рази більше за контрольні показники для 13-ї доби та в 6 разів, для 19-ї (рис. 4).

Але якщо порівнювати показник постімплантаційної ембріональної смертності при ізольованому та комбінованому введенні дослідних сполук, ми бачимо що комбіноване введення знижує постімплантаційну смертність в кілька разів. Так при введенні кадмій хлориду та сукцинату цинку цей показник знижено в 2,33 рази для 13-тої доби вагітності, та в 1,5 рази для 19-тої, в порівнянні з ізольованим введенням хлориду кадмію.

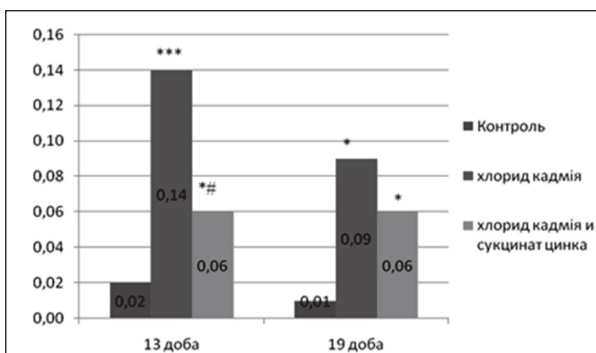


Рисунок 4 – Середні показники постімплантаційної ембріональної смертності на 13-й та 19-й добі ембріонального розвитку щурів в контрольній та експериментальних групах n=10.

Примітки: * – $p < 0,05$; відносно контрольної групи; # – $p < 0,05$; відносно групи кадмій хлорид.

риду та сукцинату цинку цей показник знижено в 2,33 рази для 13-тої доби вагітності, та в 1,5 рази для 19-тої, в порівнянні з ізольованим введенням хлориду кадмію.

Висновки. Таким чином, отримані результати доводять, що комплекс бурштинової кислоти з цинком має виражену модифікуючу дію на ембріотоксичні показники хлориду кадмію. Компенсаторна дія на ембріотоксичність хлориду кадмію в досліджуваній дозі проявляється в збільшенні кількості ембріонів, зниженні усіх видів ембріональної смертності при комбінованому введенні хлориду кадмію та сукцинату цинку в експерименті на щурах.

Перспективи подальшого досліджень. Перспективним у подальшому є гістологічні дослідження ранніх ембріонів з метою виявлення впливу досліджуваних факторів на органогенез.

Література

- Arustamyan OM, Tkachishin VS, Aluksiychuk OYu. Vpliv spolk kadmiyu na organizm lyudini. Medetsina nevidkladnikh staniv. 2016;7(78):109-14. [in Ukrainian].
- Nasiadek M, Danilewicz M, Sitarek K, Świątkowska E, Daragó A, Stragierowicz J, et al. The effect of repeated cadmium oral exposure on the level of sex hormones, estrous cyclicity, and endometrium morphometry in female rats. Environmental Science and Pollution Research. 2018;25:28025-38.
- Hussey MR, Burt A, Deyssenroth MA, Jackson BP, Ke Hao, Peng S, et al. Placental lncRNA expression associated with placental cadmium concentrations and birth weight. Environmental Epigenetics. 2020;6(1):1-10.
- Bezborodova YeA. Vliyaniye yantarnoy kisloty na produktivnost' svinomatok i ikh potomstva. Voprosy veterinarnoy biologii: sbornik nauchnykh trudov. Moskva: Izd-vo MVA im. K.I. Skryabina; 1994. s. 148-55. [in Russian].
- Smirnov AV, Nesterova OB, Golubev RV. Yantarnaya kisloty i yeye primeneniye v meditsine. Chast' II. Primeneniye yantarnoy kisloty v meditsine. Nefrologiya. 2014;18(4):12-24. [in Russian].
- Sandstead HH. Understanding zinc: recent observations and interpretations. J Lab Clin Med. 1994;124:322-7.
- Prasad AS. Zinc: an overview. Nutrition. 1995;11:93-9.
- Fabris N, Mocchegiani E. Zinc, human diseases and aging. Aging (Milano). 1995;7:77-93.
- Maret W, Sandstead HH. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. J Trace Elem Med Biol. 2006;20:3-18.
- Simmer K, Thompson RP. Zinc in the fetus and newborn. Acta Paediatr Scand Suppl. 1985;319:158-63.
- Ferm VH, Hanlon DP. Inhibition of Cadmium Teratogenesis by a Mercaptoacrylic Acid (MFA). Experientia. 1987;43(2):208-10.
- Rogalska J, Pilat-Marcinkiewicz B, Brzóška MM. Protective effect of zinc against cadmium hepatotoxicity depends on this bioelement intake and level of cadmium exposure: A study in a rat model. Chem Biol Interact. 2011;193:191-203.
- Rogalska J, Brzóška MM, Roszczenko A, Moniuszko-Jakoniuk J. Enhanced zinc consumption prevents cadmium induced alterations in lipid metabolism in male rats. Chem Biol Interact. 2009;177(2):142-52.
- Shvets OM. Teoreticheskoye i eksperimental'noye obosnovaniye primeneniya yantarnoy kisloty dlya potentsirovaniya biologicheskoy aktivnosti immunomodulyatorov i ikh klinicheskaya effektivnost' [dissertatsiya]. Kursk: Federal'noye gosudarstvennoye byudzhethnoye obrazovatel'noye uchrezhdeniye vysshogo professional'nogo obrazovaniya «Kurskaya gosudarstvennaya sel'skokhozyaystvennaya akademiya imeni professora I.I. Ivanova»; 2012. 322 s. [in Russian].
- Fedorenko VI. Obgruntuvannya dopustymykh dobovykh doz svyntsyu i kadmiyu v dobovykh ratsionakh kharchuvannya. Profilaktychna medytsyna. 2019;24(1):73-80. [in Ukrainian].

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИЗНАЧЕННЯ МОДИФІКУЮЧОГО ВПЛИВУ СУКЦИНАТУ ЦИНКУ НА ЕМБРІОТОКСИЧНІСТЬ ХЛОРИДУ КАДМІЮ У ЩУРІВ

Шамелашвілі К. Л., Шаторна В. Ф.

Резюме. Основною проблемою сьогодення, є забруднення навколишнього середовища важкими металами, одним з яких є кадмій, що потрапляє до організму з їжею та повітрям та накопичується у внутрішніх

органов. Актуальним напрямком експериментальних досліджень, є пошук сполук, які можуть протидіяти токсичному впливу кадмію на організм.

Мета дослідження – експериментально визначити модифікуючу дію сукцинатів цинку на ембріотоксичність хлориду кадмію при внутрішньо шлунковому введенні впродовж всього періоду вагітності у щурів.

Згідно з отриманими результатами комплекс бурштинової кислоти з цинком здатен до зниження негативної дії кадмію. Це виражається в збільшенні кількості ембріонів, в порівнянні з ізольованого введення кадмію. Обрахування отриманих результатів продемонструвало вагоме зниження ембріональної смертності при комбінованому введенні хлориду кадмію та сукцинату цинку, що свідчить про модифікуючу дію сукцинатів цинку на ембріотоксичність хлориду кадмію.

Ключові слова: хлорид кадмію, сукцинат цинку, ембріогенез, ембріотоксичність, ембріональна смертність.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОДИФИЦИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ СУКЦИНАТА ЦИНКА НА ЭМБРИОТОКСИЧНОСТЬ ХЛОРИДА КАДМИЯ У КРЫС

Шамелашвили К. Л., Шаторная В. Ф.

Резюме. Основной проблемой современности является загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами, одним из которых является кадмий, который попадает в организм с пищей и воздухом и накапливается во внутренних органах. Актуальным направлением экспериментальных исследований является поиск соединений, которые могут противодействовать токсическому воздействию кадмия на организм.

Цель исследования – экспериментально определить модифицирующее действие сукцината цинка на эмбриотоксичность хлорида кадмия при внутрижелудочном введении в течение всего периода беременности у крыс.

Согласно полученным результатам, комплекс янтарной кислоты с цинком способен к снижению негативного воздействия кадмия. Это выражается в увеличении количества эмбрионов, по сравнению с изолированным введением кадмия. Обсчет полученных результатов показал весомое снижение эмбриональной смертности при комбинированном введении хлорида кадмия и сукцината цинка, что свидетельствует о модифицирующем действии сукцината цинка на эмбриотоксичность хлорида кадмия.

Ключевые слова: хлорид кадмия, сукцинат цинка, эмбриогенез, эмбриотоксичность, эмбриональная смертность.

EXPERIMENTAL DETERMINATION OF THE MODIFYING INFLUENCE OF ZINC SUCCINATE ON EMBRYOTOXICITY OF CADMIUM CHLORIDE IN RATS

Shamelashvili K. L., Shatorna V. F.

Abstract. The main problem of our time is the pollution of the environment with heavy metals, one of which is cadmium, which enters the body with food and air and accumulates in internal organs. A topical direction of experimental research is the search for compounds that can counteract the toxic effects of cadmium on the body.

The aim of the investigation was to experimentally determine the modifying effect of zinc succinate on the embryotoxicity of cadmium chloride after intragastric administration during the entire period of pregnancy in rats.

Object and research methods. Experimental studies were carried out on female Wistar rats. For embryonic studies, female rats with dated gestational age were obtained using the vaginal smear method. From the first day of pregnancy, the test substances were administered. To simulate the influence and toxic effect of exposure to cadmium chloride, we injected females daily per os with a solution of cadmium chloride (at a dose of 2.0 mg/kg) throughout pregnancy. In the second experimental group, a combined administration of cadmium chloride (at a dose of 2.0 mg/kg) and zinc succinate (at a dose of 5.0 mg/kg) was carried out. On the 13th and 19th days of pregnancy, surgical slaughter was performed. The number of embryos, the number of corpus luteum in the ovaries of the female were counted to determine the total, pre-implantation and post-implantation mortality of embryos. The research results were processed statistically using the Student's test.

Research results and their discussion. According to the results obtained, the dose and method of administration of cadmium chloride have a high level of embryotoxicity, which is expressed in a decrease in the number of embryos in a litter, an increase in the total, pre-implantation and post-implantation embryonic mortality. Analysis and comparison of the data obtained proved that the complex of succinic acid with zinc is capable of reducing the negative effect of cadmium on the course of embryogenesis in rats. This is reflected in an increase in the number of embryos by 23% on the 13th day of pregnancy, and by 20% on the 19th day, compared with the isolated administration of cadmium chloride. The calculation of the results obtained showed a significant decrease (by 2 times on the 13th day and by 66% on the 19th day of pregnancy) in embryonic mortality with the combined administration of cadmium chloride and zinc succinate, which indicates the modifying effect of zinc succinate on the embryotoxicity of cadmium chloride in the experiment on rats.

Conclusions. Thus, the results obtained prove that the complex of succinic acid with zinc has a pronounced modifying effect on the embryotoxic parameters of cadmium chloride. The compensatory effect on embryotoxicity of cadmium chloride in the studied dose is manifested in an increase in the number of embryos, a decrease in all types of embryonic mortality with the combined administration of cadmium chloride and zinc succinate in an experiment on rats.

Key words: cadmium chloride, zinc succinate, embryogenesis, embryotoxicity, embryonic mortality.

Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 18.08.2020 року