

СТУПІНЬ НАКОПИЧЕННЯ КАДМІЮ ТА ЦИНКУ В ОРГАНАХ ДОРΟΣЛИХ ТА ЕМБРІОНАХ ЩУРІВ

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

Shamelashvili2018@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Експериментальне дослідження виконано у 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 є високотоксичним важким металом, який широко відомий своїм несприятливим впливом на ферментативні системи клітин і окислювальним стресом [0]. При поглинанні, він буде накопичуватися в організмі протягом усього життя. Люди можуть піддаватися впливу цього металу в першу чергу при вдиханні та ковтанні і можуть страждати від гострих і хронічних інтоксикацій. Поширений в навколишньому середовищі кадмій залишатиметься в ґрунтах та відкладеннях протягом декількох десятиліть [0]. Основною мішенню токсичної дії кадмію є нирки та печінка. В цих органах акумулюється найбільша концентрація цього металу [0]. Механізм токсичності кадмію до кінця не вивчений, але його вплив на клітини відомий [0].

Кадмій і цинк мають однакові ступені окислення, тому кадмій витісняє цинк в організмі з біологічно активних структур, наприклад з ферментів і в першу чергу з металотіонеїнів, тим самим перешкоджаючи його дії як поглинача вільних радикалів в клітині [0]. Це викликає синтез нових молекул цього білка і призводить до змін у розподілу цинку в тканинах, тобто до його накопичення в печінці та нирках, а також до зниження його концентрації, наприклад, в кістках [0].

Вважається, що жінки більш схильні до ризику накопичення кадмію, його концентрація в крові, тканинах і сечі вище, ніж у чоловіків, через більш низьку концентрацію заліза [0]. До того ж, кадмій здатен переходити з крові матері до плоду під час вагітності, він здатен накопичуватися в тканинах плода, що може призводити до значних порушень розвитку [0].

Мета дослідження – визначити ступінь накопичення кадмію та цинку в крові, печінці дорослих щурів та в ембріонах щура на тлі впливу кадмієм при ізольованому введенні та в комбінації з сукцинатом цинку.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження були проведені на самицях і самцях 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», зважува-

ли, протоколювали, фотографували та фіксували у 10%- розчині формаліну.

Для моделювання впливу і токсичної дії експозиції хлоридом кадмію ми протягом всієї вагітності самицям щодня *per os* 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 [0]. 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).

Самці були поділені також на три групи: контрольна (n=20); група ізольованого введення хлориду кадмію в дозі 2,0 мг/кг (n=20); експериментальна група комбінованого введення хлориду кадмію (2,0 мг/кг) та сукцинату цинку в дозі 5 мг/кг (n=20). Забій проводили на 13-ту та 19 добу введення сполук.

Пробопідготовка і вимірювання вмісту металів проводилося відповідно до ГОСТ 30823-2002. Кількісне вимірювання вмісту металів в зразках проведено на атомно-емісійному спектрометрі Емас-200 CCD (повірений 30.11.2017, свідоцтво про перевірку 4706-ФГ). В якості розчинника використовувалася стандартна спектральна буферна суміш по ГОСТ 30823-2002. Кількісне визначення кадмію в аналізованих об'єктах проводилося на довжині хвилі 228,802 нм, цинку – 213,856 нм. Сила струму в дузі у всіх випадках становила 15 А, величина оптичної щільності приладу при вимірюванні кадмію та цинку дорівнювала 0,4.

Атомно-емісійний аналіз з дуговою атомізацією дозволяє проводити якісний і кількісний елементний аналіз проб практично будь-якої природи. Атомно-емісійний спектрометр Емас-200 CCD є сучасним аналітичним приладом, управляється комп'ютером і всі необхідні розрахунки виробляє самостійно за мінімальною участі оператора.

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики. Оцінку вірогідності статистичних досліджень проводили за допомогою t-критерію Стьюдента.

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).

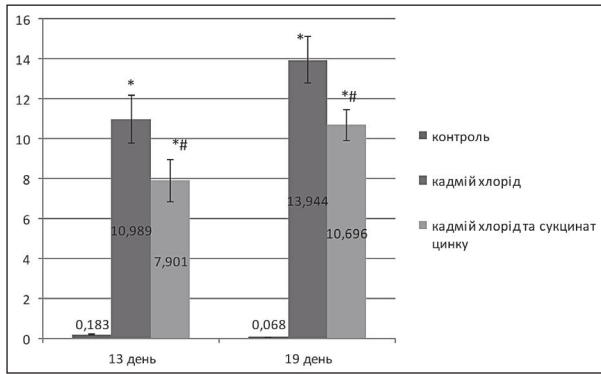


Рисунок 1 – Ступінь накопичення кадмію в печінці самок на 13 і 19 день вагітності, мкг/г.

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

Результати дослідження та їх обговорення. Аналіз результатів експериментальних досліджень виявив, що при введенні кадмію відбувається його значне накопичення в печінці. Кількість кадмію в печінці вагітних самок на 13 день збільшується в 60 разів, а на 19 добу в 83 рази в порівнянні з контрольною групою (рис. 1). Така ж тенденція виявлена і в печінці самців.

При комбінованому введенні хлориду кадмію та сукцината цинку ми спостерігаємо зниження накопичення кадмію в печінці самок: на 13-й день кількість кадмію зменшується на 28%, на 19-й день на 23% у порівнянні з групою ізольованого введення. У самців достовірно зниження рівня кадмію в печінці на 10% в групі комбінованого введення сполук порівняно з ізольованим спостерігається на 19 день.

При вивченні ступеня накопичення цинку в печінці експериментальних тварин ми виявили, що у самок з часом кількість цинку в контрольній групі збільшується в 1,46 рази на 19 день в порівнянні з 13-м (рис. 2).

При індивідуальному введенні хлориду кадмію можна побачити збільшення концентрації цинку в 2,1 рази на 13-й день і на 33% на 19 день вагітності в порівнянні з контролем. При комбінованому введенні кадмію і сукцината цинку, вміст цинку в печінці очікувано зростає як в порівнянні з контролем, так і в порівнянні з індивідуальним введенням хлориду кадмію. Так, на 13-й день вагітності, ступінь накопичення цинку збільшується на 23%, а на 19-й на 10%.

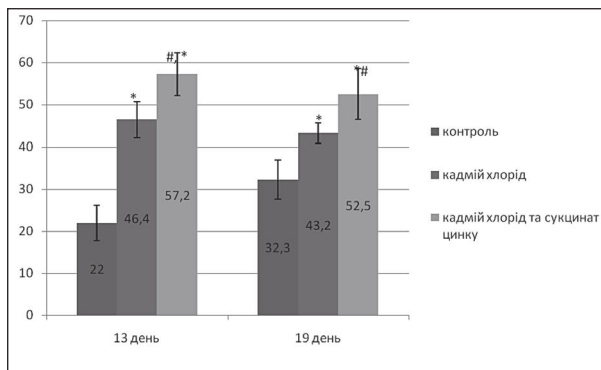


Рисунок 2 – Ступінь накопичення цинку в печінці самок на 13 і 19 день вагітності, мкг/г.

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

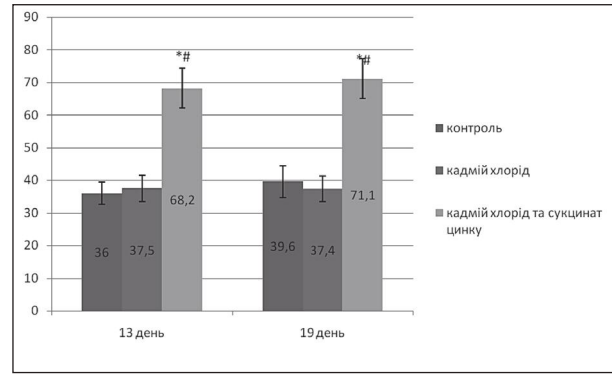


Рисунок 3 – Ступінь накопичення цинку в печінці самців на 13 і 19 день введення, мкг/г.

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

У самців в печінці спостерігається трохи інша картина (рис. 3).

З протягом часу кількість цинку залишається не змінною в контрольній групі. При індивідуальному введенні кадмію не спостерігається достовірного збільшення концентрації цинку в порівнянні з контролем. Проте, при комбінованому введенні хлориду кадмію та сукцината цинку вміст цинку збільшується в середньому в 1,86 разів у порівнянні з контролем і групою індивідуального введення. При цьому достовірної різниці між 13-м днем введення і 19-м не знайдено.

Наступним етапом нашого дослідження було визначення ступеня накопичення кадмію та цинку в крові вагітних самок з датованим терміном вагітності. З отриманих даних видно що кількість кадмію в крові в рази менше ніж в печінці (рис. 4).

У групі ізольованого введення спостерігається збільшення концентрації кадмію в 3 рази на 13-ту та 19-ту добу розвитку вагітності в порівнянні з контролем. Комбіноване введення кадмію і цинку призвело до зниження вмісту кадмію в крові: на 13-й день вагітності кількість кадмію знизилась на 27%, а на 19-й день на 37%. Концентрація цинку в крові також менша, ніж в печінці. У групі ізольованого введення кадмію на 13-й день вміст цинку такий самий як і в контрольній групі. На 19-й день, він зростає на 35% в порівнянні з контролем (рис. 5).

У групі комбінованого введення кадмій хлориду і сукцината цинку спостерігається закономірне збіль-

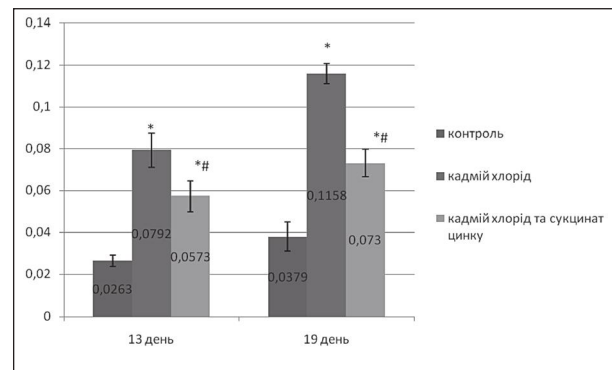


Рисунок 4 – Ступінь накопичення кадмію в крові самок на 13 і 19 день вагітності, мкг/г.

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

шення вмісту цинку в крові в порівнянні з контрольною групою і групою індивідуального введення. Так на 13-у добу вагітності концентрація цинку зростає в 1,73 рази, а на 19-й день в 1,61 рази в порівнянні з групою ізольованого введення кадмію.

При вивченні ембріонів, ми виявили, що на 19-й день ембріонального розвитку, вміст кадмію в них більший ніж у крові, але менше ніж в печінці (рис. 6 А).

Концентрація кадмію при індивідуальному його введенні в ембріонах достовірно збільшується в 11 разів. Комбіноване введення кадмію і сукцината цинку сприяє зменшенню вмісту кадмію в 1,57 рази в порівнянні з ізольованим введенням важкого металу. Концентрація цинку в свою чергу також зростає в групі ізольованого введення кадмію в 1,6 разів, у порівнянні з контролем (рис. 6 Б).

У групі комбінованого введення концентрація цинку збільшується в 10 разів у порівнянні з контролем і в 6,3 рази в порівнянні з групою індивідуального введення.

Висновки. Таким чином спільне введення цинку і кадмію сприяє зменшенню концентрації кадмію в печінці, крові і ембріонах. Найбільший вміст кадмію знайдено в печінці. Виявлено різний ступінь накопичення цинку в печінці самців і вагітних самок. Також ми спостерігаємо що під час вагітності при несприятливих умовах (отруєння солями кадмію) концентрація цинку в печінці зростає. Кадмій і цинк здатні долати плацентарний бар'єр і накопичуватися в ембріонах щурів.

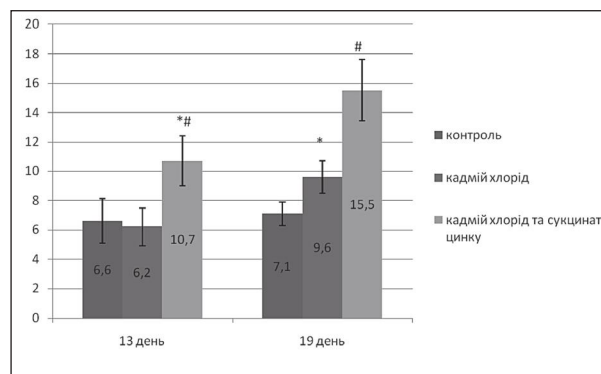


Рисунок 5 – Ступінь накопичення цинку в крові самок на 13 і 19 день вагітності, мг/г.

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

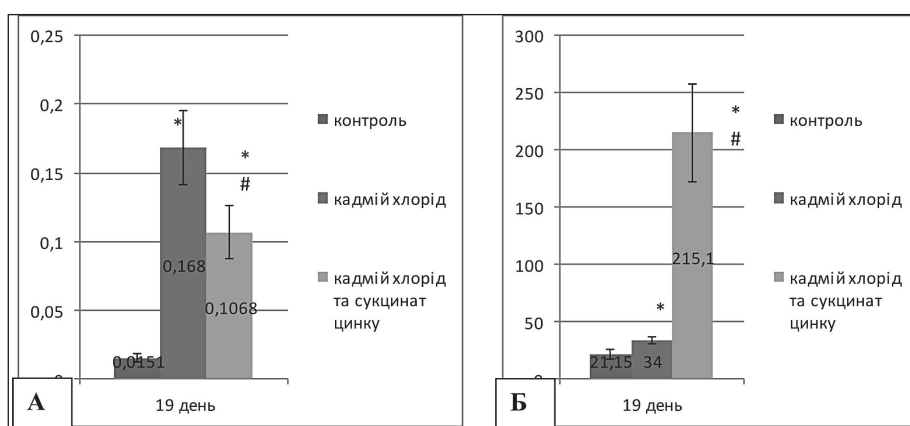


Рисунок 6 – Ступінь накопичення кадмію (А) та цинку (Б) в ембріонах на 19 день розвитку, мг/г.

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

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

Література

- Irfan M, Hayat S, Ahmad A, Alyemeni MN. Soil cadmium enrichment: Allocation and plant physiological manifestations. Saudi J Biol Sci. 2013;20(1):1-10.
- Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. Interdiscip Toxicol. 2014;7(2):60-72.
- Genchi G, Sinicropi MS, Lauria G, Carocci A, Catalano A. The Effects of Cadmium Toxicity. Int J Environ Res Public Health. 2020;17(11):3782.
- Patrick L. Toxic metals and antioxidants: part II. The role of antioxidants in arsenic and cadmium toxicity. Altern Med Rev. 2003;8(2):106-28.
- Pabis K, Gundacker C, Giacconi R, Basso A, Costarelli L, Piacenza F, et al. Zinc supplementation can reduce accumulation of cadmium in aged metallothionein transgenic mice. Chemosphere. 2018;211:855-60.
- Brzozowska A. Harmful elements and iron, zinc and copper: interactions in the animal and human organism. Part III. Cadmium. Rocznik Panstw Zakl Hig. 1991;42(3):269-76.
- Nasiadek M, Danilewicz M, Klimczak M, Stragierowicz J, Kilanowicz A. Subchronic Exposure to Cadmium Causes Persistent Changes in the Reproductive System in Female Wistar Rats. Oxid Med Cell Longev. 2019 Dec 17;2019:6490820. DOI: 10.1155/2019/6490820
- Ostrovskaya SS. Prenatal'noye vozdeystviye kadmiya. Biomedical and biosocial anthropology. 2016;27:196-9. [in Russian].
- Fedorenko VI. Obhrontuvannya dopustymykh dobovykh doz svyntsyu i kadmiyu v dobovykh ratsionakh kharchuvannya. Profilaktychna medytsyna. 2019;24(1):73-80. [in Ukrainian].

СТУПІНЬ НАКОПИЧЕННЯ КАДМІЮ ТА ЦИНКУ В ОРГАНАХ ДОРΟΣЛИХ ТА ЕМБРІОНАХ ЩУРІВ

Шамелашвілі К. Л.

Резюме. Кадмій є токсичним важким металом, який спричиняє шкоду здоров'ю. Він має виражену тенденцію до накопичення в організмі, в тому числі і в печінці. Також надає токсичний вплив на розвиток ембріонів. Здатен конкурувати за місце в біомолекулах з цинком, з яким має однаковий ступінь окиснення.

Мета дослідження – визначити ступінь накопичення кадмію та цинку в крові, печінці дорослих щурів та в ембріонах щура на тлі впливу кадмієм при ізольованому введенні та в комбінації з сукцинатом цинку.

Експериментальні дослідження були проведені на самках та самцях щурів лінії Wistar. Для ембріонального дослідження отримували самок щурів з датованим терміном вагітності, використовуючи метод вагінальних мазків. На 13-й і 19-й день вагітності проводили оперативний забій. Для моделювання впливу і токсичної дії експозиції хлоридом кадмію ми протягом всієї вагітності самкам щодня *per os* вводили розчин хлори-

ду кадмію (в дозі – 2,0 мг/кг). У другій експериментальній групі проводили комбіноване введення хлориду кадмію (в дозі – 2,0 мг/кг) і сукцината цинку (в дозі – 5,0 мг/кг). Самцям вводили дослідні сполуки в тих же концентраціях і той самий час, як і самкам. Забій проводили на 13-у та 19-у добу введення дослідних сполук. Кількісне визначення кадмію та цинку проводили завдяки атомно-емісійному аналізу на спектрометрі EMAS-200 CCD. Оцінку достовірності статистичних досліджень проводили за допомогою t-критерію Ст'юдента.

Згідно з отриманих результатів виявлено, що спільне введення цинку і кадмію сприяє зменшенню концентрації кадмію в печінці, крові і ембріонах. Найбільший вміст кадмію знайдено в печінці. Виявлено різний ступінь накопичення цинку в печінці самців і вагітних самок. Також експериментально визначено, що під час вагітності при несприятливих умовах (отруєння солями кадмію) концентрація цинку в печінці зростає. Кадмій і цинк здатні проникати в ембріони щурів і там накопичуватися.

Ключові слова: хлорид кадмію, сукцинат цинку, ембріогенез, печінка, кров.

СТЕПЕНЬ НАКОПЛЕННЯ КАДМІЯ І ЦИНКА В ОРГАНАХ ВЗРОСЛИХ І ЕМБРІОНАХ КРЫС

Шамелашвили К. Л.

Резюме. Кадмій являється токсичним важким металлом, який причиняє вред здоров'ю. Он имеет выраженную тенденцию к накоплению в организме, в том числе и в печени. Также оказывает токсическое влияние на развитие эмбрионов. Способен конкурировать за место в биомолекулах с цинком, с которым имеет одинаковую степень окисления.

Цель исследования – определить степень накопления кадмия и цинка в крови, печени взрослых крыс и в эмбрионах крысы на фоне влияния кадмием при изолированном введении и в комбинации с сукцинатом цинка.

Экспериментальные исследования были проведены на самках и самцах крыс линии Wistar. Для эмбрионального исследования получали самок крыс с датированным сроком беременности, используя метод влажных мазков. На 13-й и 19-й день беременности проводили оперативный забой. Для моделирования влияния и токсического действия экспозиции хлоридом кадмия мы на протяжении всей беременности самкам ежедневно *per os* вводили раствор хлорида кадмия (в дозе – 2,0 мг/кг). Во второй экспериментальной группе проводили комбинированное введение хлорида кадмия (в дозе – 2,0 мг/кг) и сукцината цинка (в дозе – 5,0 мг/кг). Самцам вводили исследуемые соединения в тех же концентрациях и то же время, как и самкам. Забой проводили на 13-е и 19-е сутки введения исследуемых соединений. Количественное измерение содержания металлов в образцах проведено на атомно-эмиссионном спектрометре ЭМАС-200 CCD. Оценку достоверности статистических исследований проводили с помощью t-критерия Стьюдента.

Согласно полученным результатам выявлено, что совместное введение цинка и кадмия способствует уменьшению концентрации кадмия в печени, крови и эмбрионах. Наибольшее содержание кадмия найдено в печени. Обнаружена разная степень накопления цинка в печени самцов и беременных самок. Также мы наблюдаем, что во время беременности при неблагоприятных условиях (отравления солями кадмия) концентрация цинка в печени возрастает. Кадмий и цинк способны преодолевать плацентарный барьер и накапливаться в эмбрионах крыс.

Ключевые слова: хлорид кадмия, сукцинат цинка, эмбриогенез, печень, кровь.

THE DEGREE OF ACCUMULATION OF CADMIUM AND ZINC IN ADULT AND RAT EMBRYOS

Shamelashvili K. L.

Abstract. Cadmium is a toxic heavy metal that is harmful to health. It has a pronounced tendency to accumulate in the body, including in the liver. Also has a toxic effect on embryo development. Able to compete for a place in biomolecules with zinc, which has the same degree of oxidation.

The aim of the study was to determine the degree of accumulation of cadmium and zinc in the blood, liver of adult rats and in rat embryos against the background of exposure to cadmium in isolated administration and in combination with zinc succinate.

Experimental studies were performed on female and male Wistar rats. For embryonic examination, female rats with a date of gestation were obtained using the method of vaginal swabs. On the 13th and 19th day of pregnancy, an operative slaughter was performed. To simulate the effects and toxic effects of exposure to cadmium chloride, we administered cadmium chloride solution (at a dose of 2.0 mg/kg) per day to females 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 performed. Males were injected with test compounds in the same concentrations and at the same time as females. Slaughter was performed on the 13th and 19th day of administration of experimental compounds. Quantitative determination of cadmium and zinc was performed by atomic emission analysis on an EMAS-200 CCD spectrometer. The reliability of statistical studies was assessed using Student's t-test.

According to the results, it was found that the joint introduction of zinc and cadmium helps to reduce the concentration of cadmium in the liver, blood and embryos. The highest content of cadmium is found in the liver. Different degrees of zinc accumulation in the liver of males and pregnant females were revealed. It has also been experimentally determined that during pregnancy under adverse conditions (cadmium salt poisoning) the concentration of zinc in the liver increases. Cadmium and zinc are able to penetrate into rat embryos and accumulate there.

Key words: cadmium chloride, zinc succinate, embryogenesis, liver, blood.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 26.10.2020 року*