

**СТУПІНЬ НАКОПИЧЕННЯ КАДМІЮ ТА ЦИНКУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ-САМЦІВ
ТА ЇХ ВПЛИВ НА АКТИВНІСТЬ ТРАНСАМІНАЗ**

¹Дніпровський державний медичний університет (м. Дніпро, Україна)

²Дніпровський медичний інститут традиційної і нетрадиційної медицини (м. Дніпро, Україна)

Shamelashvili2018@gmail.com

Отруєння кадмієм у людини відбувається при вдиханні сигаретного диму і ковтанні зараженої води та їжі. Токсична дія кадмію впливає на печінку, нирки, легені і ін. Сполуки, що містять цинк, знижують абсорбцію і накопичення кадмію і пом'якшують деякі з його токсичних ефектів.

Метою роботи було визначити ступінь накопичення солей кадмію і сукцинату цинку в печінці щурів лінії Wistar. Вивчення впливу солей кадмію і сукцинату цинку на активність аспартатамінотрансферази (АСТ) та аланінамінотрансферази (АЛТ) в плазмі крові щурів.

Експериментальні дослідження були проведені на самцях щурів лінії Wistar. Для моделювання впливу і токсичної дії експозиції хлоридом кадмію ми впродовж 19-ти діб щодня *per os* вводили розчин хлориду кадмію (в дозі – 2,0 мг/кг). У другій експериментальній групі проводили комбіноване введення хлориду кадмію (в дозі – 2,0 мг/кг) і сукцинату цинку (в дозі – 5,0 мг/кг). Забій проводили на 13-ту і 19-ту добу введення досліджуваних сполук. Кількісне вимірювання вмісту металів в зразках проведено на атомно-емісійному спектрометрі Емас-200 ССД. Ферментативну активність АСТ та АЛТ та визначали відповідно до методу визначення вказаних ферментів за Райтманом-Френкелем. Оцінку достовірності статистичних досліджень проводили за допомогою *t*-критерію Стьюдента.

З'єднання сукцинату цинку здатні знизити вміст кадмію в печінці самців щурів при їх спільному введенні впродовж 19 днів на 10%. У той час як кадмій не робить істотного впливу на накопичення цинку в печінці.

Згідно з отриманими даними, при накопиченні кадмію в печінці відбувається збільшення активності таких ферментів як АСТ і АЛТ, відповідальних за регуляцію потоків метаболітів між органами. АЛТ контролює рівень глюкози, а АСТ компенсує підвищення аміаку. У той же самий час, комбіноване введення хлориду кадмію та сукцината цинку знижує токсичний ефект кадмію до рівня контролю.

Ключові слова: хлорид кадмію, сукцинат цинку, печінка, АЛТ, АСТ.

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

Вступ. Кадмій став одним з найважливіших забруднювачів навколишнього середовища в світі через його широке застосування в різноманітних виробничих процесах. Цей елемент потрапляє в живий організм з забрудненими продуктами харчування, питною водою та при вдиханні забрудненого повітря і є токсичним та небезпечним для людини і тварин [1, 2]. Солі кадмію мають високу здатність до кумуляції, в основному накопичення відбувається в печінці, кістках та нирках [3, 4]. За останні декілька десятиліть численні експериментальні та епідеміологічні дослідження показали, що кадмієва токсичність включає різні цитотоксичні і метаболічні ефекти і множинні механізми, такі як індукція окисного стресу, апоптоз, аберантна експресія генів, змінення ДНК структури, пригнічення вироблення АТФ в мітохондріях, та ін [5].

Багато факторів можуть впливати на метаболізм та токсичність кадмію, до яких можна віднести і речовини, необхідні для нормальної життєдіяльності організму. Численні дослідження показали, що лікування цинком отруєних кадмієм тварин знижує абсорбцію і накопичення кадмію і пом'якшує деякі з його токсичних ефектів [6]. Кадмій і цинк мають токсикологічно-зворотну залежність. Цинк – це один з найпоширеніших металів і незамінних мікроелементів в біологічних системах; антиоксидант, котрий знижує рівень активних форм кисню. Іони цинку є каталітичними компонентами багатьох ферментів і грають структурну роль у великій кількості білків і факторів транскрипції, які контролюють клітинну проліферацію, диференціювання та апоптоз [7]. Цинк має фізико-хімічну схожість з кадмієм і згідно з літературними даними проявляє захисну дію проти токсичної дії кадмію і перешкоджає його накопиченню в живому організмі [5]. Крім того, цинк є потужним індуктором металотіонеїнів і цитозольних, богатих цистеїном білків, які, як вважається, відіграють ключову роль в клітинному захисті від токсичної дії кадмію [6].

Мета дослідження. Визначити ступінь накопичення солей кадмію і сукцинату цинку в печінці щурів лінії Wistar. Вивчення впливу солей кадмію і сукцинату цинку на активність аспартатамінотрансферази (АСТ) та аланінамінотрансферази (АЛТ) в плазмі крові щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження були проведені на дорослих самцях щурів лінії Wistar (розплідник «Далі-2001», м. Київ).

Для моделювання впливу і токсичної дії експозиції хлоридом кадмію ми впродовж 19-ти діб вводили самцям щодня *per os* 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 [8]. Самці були поділені 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 та вилучали печінку, яка підлягала заморожуванню для подальшого визначення вмісту кадмію і цинку у НДІ Медицини транспорту (м.Одеса), згідно договору про наукове співробітництво (рис. 1).

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 повірку 4706ФГ). 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 елементарний 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 мінімальної участі оператора.

Ферментативну активність аспартатамінотрансферази (АСТ) та аланінамінотрансферази (АЛТ) визначали відповідно до методу визначення вказаних ферментів за Райтманом-Френкелем [9, 10]

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).

Результати досліджень та їх обговорення.

Згідно з отриманими даними вміст кадмію в печінці щурів самців за умов хронічного введення збільшується в 94 рази на 13 день введення і в 64 рази на 19 день в порівнянні з контролем (рис. 2).

Така різниця пов'язана з тим, що в контролі вміст кадмію на 19-й день більше в 2,5 рази ніж на 13 добу експерименту. Згідно з літературними даними з часом кількість кадмію, який накопичується, збільшується, що пов'язано з тим, що тварини, в тому числі і лабораторні, вживають рослинну їжу, в складі якої кадмії і потрапляє в живий організм [11].

Введення сукцинату цинку статистично не впливає на концентрацію кадмію при комбінованому їх введенні впродовж 13

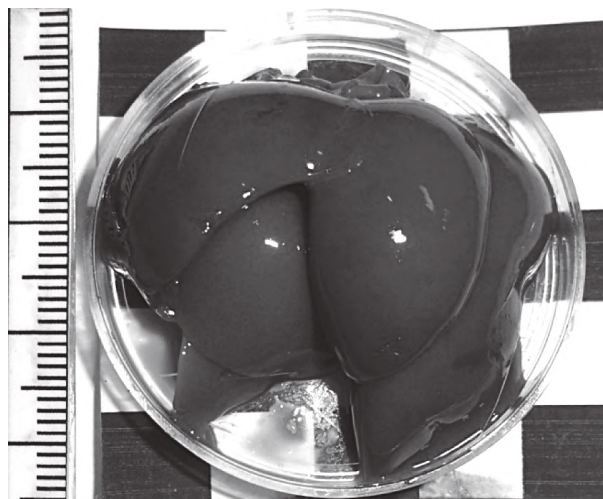


Рисунок 1 – Вилучена оперативним шляхом печінка самця-щура.

днів. Більш тривалий період спільного введення сукцинату цинку і хлориду кадмію призводить до зниження вмісту кадмію в печінці щурів на 10%.

У групі ізольованого введення хлориду кадмію не знайдено статистичної різниці у вмісті цинку в печінці щурів у порівнянні з контролем незалежно від кількості днів введення (13 або 19 діб) (рис. 3).

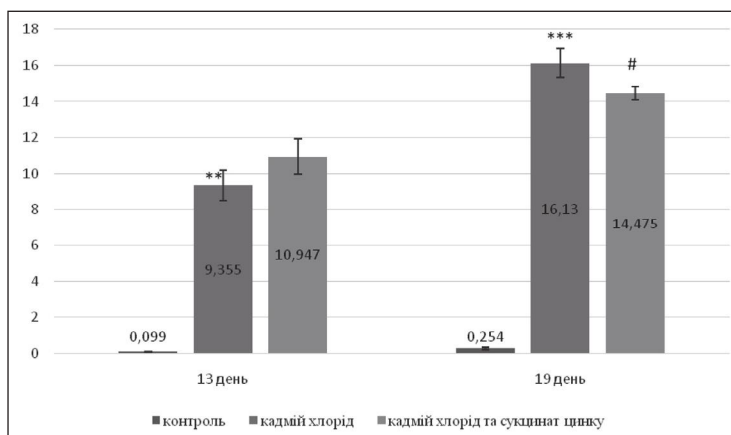


Рисунок 2 – Ступінь накопичення кадмію в печінці самців на 13 і 19 день введення, мг/г.

Примітки: **достовірна різниця порівняно з контрольною групою, p<0,01; *** – p<0,001; # – достовірна різниця порівняно з групою кадмії хлорид p<0,05.

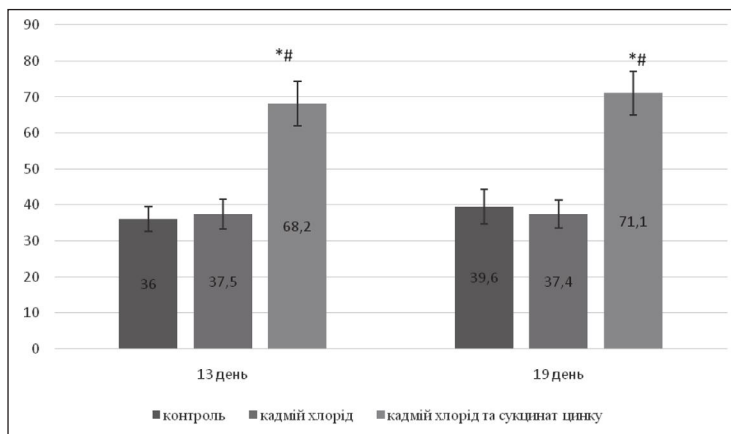


Рисунок 3 – Ступінь накопичення цинку в печінці самців на 13 і 19 день введення, мг/г.

Примітки: *достовірна різниця порівняно з контрольною групою, p<0,05; # – достовірна різниця порівняно з групою кадмії хлорид p<0,05.

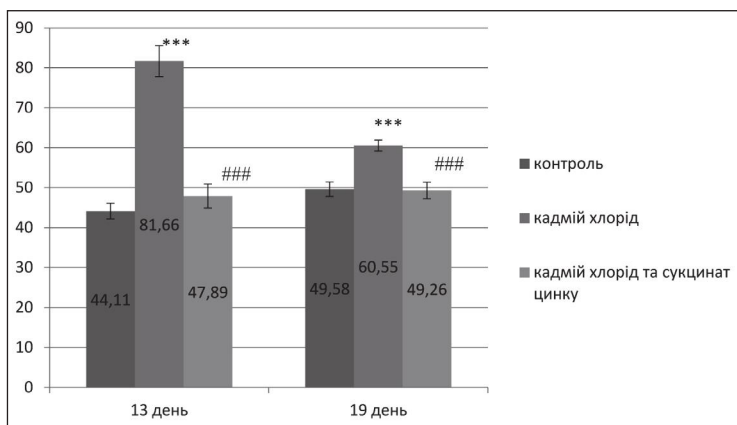


Рисунок 4 – Активність АЛТ в плазмі крові самців щурів при індивідуальному введенні хлориду кадмію та комбінованому введенні хлориду кадмію та сукцинату цинку, Од/л.

Примітки: *** – достовірна різниця порівняно з контрольною групою, $p < 0,001$; ### – достовірна різниця порівняно з групою кадмій хлорид – $p < 0,001$.

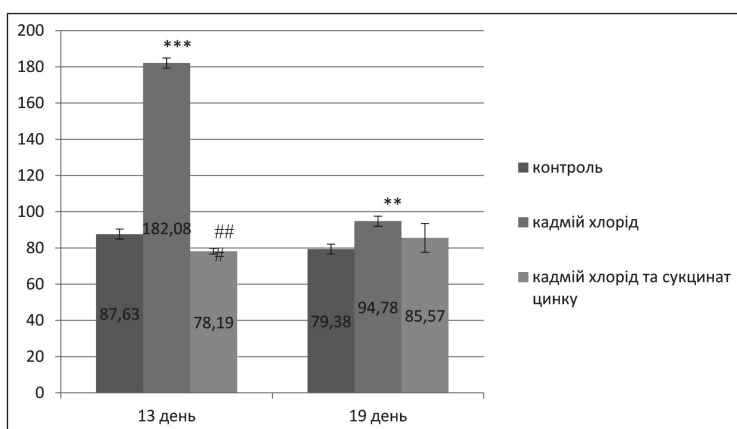


Рисунок 5 – Активність АСТ в плазмі крові самців щурів при індивідуальному введенні хлориду кадмію та комбінованому введенні хлориду кадмію та сукцинату цинку, Од/л.

Примітки: ** – достовірна різниця порівняно з контрольною групою, $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; ### – достовірна різниця порівняно з групою кадмій хлорид $p < 0,001$.

Комбіноване введення хлориду кадмію та сукцинату цинку закономірно призводить до збільшення вмісту цинку в печінці в 1,82 рази при 13-ти денному введенні і в 1,9 р при 19-ти денному в порівнянні з групою ізольованого введення.

Як відомо, одним з органів найбільшого накопичення, а отже і впливу кадмію є печінка. Тому вивчення ферментів АЛТ і АСТ, які є індикаторами гепатотоксичності, було наступним нашим кроком.

Визначення активності АЛТ в плазмі крові широко використовується для діагностики хвороб печінки, так як саме в печінці міститься найбільша кількість цього ферменту. Якщо клітини печінки вражені, то АЛТ потрапляє в кровотік і тим самим активність цього ферменту в плазмі крові зростає [12]. В результаті експерименту нами було встановлено підвищення активності АЛТ в плазмі крові щурів на 85% при

13-ти денному введенні хлориду кадмію в порівнянні з контролем (рис. 4).

При 19-ти денному введенні хлориду кадмію активність АЛТ достовірно збільшується на 22% в порівнянні з контролем. При комбінованому введенні хлориду кадмію і сукцинату цинку спостерігається зниження активності АЛТ в плазмі крові щурів. Таким чином при введенні досліджуваних речовин впродовж 13-ти і 19-ти днів активність АЛТ достовірно знижується, в порівнянні з групами які отримували тільки хлорид кадмію, і наближується до рівня контролю.

Другий фермент, активність якого ми досліджували – АСТ. Цей фермент займає «центральною роль в метаболізмі, сприяє надходженню субстратів в цикл трикарбонових кислот (ЦТК), забезпечує інтенсифікацію як надходження, так і прискорення метаболітів ЦТК, веде до посилення окисного фосфорилування [12].

При введенні експериментальним тваринам хлориду кадмію впродовж 13 днів ми спостерігаємо статистично достовірне збільшення активності АСТ в плазмі крові в 2,25 рази у порівнянні до контролю (рис. 5).

При введенні хлориду кадмію впродовж 19-ти днів ми спостерігаємо збільшення активності ферменту в плазмі крові лише на 20%. Таке збільшення ми спостерігали вище і для АЛТ. Таке зниження активності ферментів з часом є, вочевидь, тонким механізмом, який організм використовує при посиленні або придушенні тих чи інших процесів метаболізму, тим самим адаптуючись до несприятливих умов.

При комбінованому введенні хлориду кадмію та сукцинату цинку ми спостерігаємо зменшення активності АСТ в плазмі крові щурів у порівнянні з групою індивідуального введення хлориду кадмію та наближення цього показника до контролю.

Висновки. З'єднання сукцинату цинку здатні знизити вміст кадмію в печінці самців щурів при їх комбінованому хронічному внутрішньошлунковому введенні, в той час як ізольоване введення кадмію істотно не впливає на накопичення цинку в печінці. Солі кадмію викликають збільшення активності АСТ і АЛТ в плазмі крові щурів, що може бути пов'язано з впливом кадмію на цілісність клітин печінки. Комбіноване внутрішньошлункове введення хлориду кадмію та сукцинату цинку знижує токсичний ефект кадмію до рівня контролю.

Перспективи подальших досліджень. Ми вважаємо перспективним у подальшому проведення гістологічних досліджень печінки з метою виявлення впливу досліджуваних факторів на розвиток печінки.

Література

1. Shamelashvili KL, Shatoma VF. Eksperimental'ne vyznachennya modyfikuyuchoho vplyvu suktsynatu tsynku na embriotoksychnist' khloru dukadmiyu u shchuriv. Vistnyk problem biolohiyi i medytsyny. 2020;3(157):58-61. [in Ukrainian].
2. Shatoma VF, Rudenko KM. Vyznachennya stupenyu embriotoksychnosti khloridu kadmiyu pry enteral'nomu vvedenni vprodovzh vs'oho periodu vahitnosti u shchuriv. Vistnyk problem biolohiyi i medytsyny. 2020;3(157):66-70. [in Ukrainian].
3. García-Sevillano MA, Abril N, Fernández-Cisnal R, García-Barrera T, Pueyo C, López-Barea J, et al. Functional genomics and metabolomic reveal the toxicological effects of cadmium in *Mus musculus* mice. *Metabolomics*. 2015;11(5):1432-50.

4. Wang CC, Si LF, Guo SN, Zheng JL. Negative effects of acute cadmium on stress defense, immunity, and metal homeostasis in liver of zebrafish: The protective role of environmental zinc dpre-exposure. *Chemosphere*. 2019;222:91-97.
5. BulatZ, Đukić-Čosić D, Antonijević B, Buha A, Bulat P, Pavlović Z, et al. Can zinc supplementation ameliorate cadmium-induced alterations in the bioelement content in rabbits? *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*. 2017;68(1):38-45.
6. Hejazy M, Koohi MK. Effects of Nano-zinc on Biochemical Parameters in Cadmium-Exposed Rats. *Biol Trace Element Research*. 2017;180(2):265-274.
7. Timofeyeva SN, Kadikov IR, Khaybullin RR. Vliyaniye tsinka na prirost massy, biokhimicheskiye pokazateli i sodержaniye metallov v organakh pri vozdeystvii kadmia khlorida. *Vestnik mariyskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2020;6(1):59-66. [in Russian].
8. Fedorenko VI. Obhrontuvannya dopustymykh dobovykh doz svyntsuyu i kadmiiyu v dobovykh ratsionakh kharchuvannya. *Profilaktychna medytsyna*. 2019;24(1):73-80. [in Ukrainian].
9. Reitman S, Frankel S. A Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*. 1957;28:56-63.
10. Men'shikov V. Laboratornyye metody issledovaniya v klinike. Moskva: Meditsina; 1987. 368 s. [in Russian].
11. Aloupi M, Karagianni A, Kazantzidis S, Akriotis T. Heavy Metals in Liver and Brain of Water fowl from the Evros Delta, Greece. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2017;72(2):215-234.
12. Stepanova EV, Ignatov VV. Vliyaniye ionov kadmia na aktivnost' transaminaz u potomstva samok belykh kryss. *Izvestiya stavropol'skogo unaiversiteta*. 2007;7(1):57-59. [in Russian].

СТУПІНЬ НАКОПИЧЕННЯ КАДМІЮ ТА ЦИНКУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ-САМЦІВ ТА ЇХ ВПЛИВ НА АКТИВНІСТЬ ТРАНСАМІНАЗ

Шамелашвілі К. Л., Шаторна В. Ф., Топка Е. Г., Коссе В. А., Люлько І. В., Алексеєнко З. К., Філіппов Ю. О.

Резюме. Отруєння кадмієм у людини відбувається при вдиханні сигаретного диму і ковтанні зараженої води та їжі. Токсична дія кадмію впливає на печінку, нирки, легені та ін. Сполуки, що містять цинк, знижують абсорбцію і накопичення кадмію і пом'якшують деякі з його токсичних ефектів.

Мета роботи. Визначити ступінь накопичення солей кадмію і сукцинату цинку на активність аспаратамінотрансферази (АСТ) та аланінамінонотрансферази (АЛТ) в плазмі крові щурів.

Експериментальні дослідження були проведені на самцях щурів лінії Wistar. Для моделювання впливу і токсичної дії експозиції хлоридом кадмію ми впродовж 19-ти діб щодня *per os* вводили розчин хлориду кадмію (в дозі – 2,0 мг/кг). У другій експериментальній групі проводили комбіноване введення хлориду кадмію (в дозі – 2,0 мг/кг) і сукцинату цинку (в дозі – 5,0 мг/кг). Забій проводили на 13-ту і 19-ту добу введення досліджуваних сполук. Кількісне вимірювання вмісту металів в зразках проведено на атомно-емісійному спектрометрі Емас-200 CCD. Ферментативну активність АСТ та АЛТ визначали відповідно до методу визначення вказаних ферментів за Райтманом-Френкелем. Оцінку достовірності статистичних досліджень проводили за допомогою t-критерію Стьюдента.

З'єднання сукцинату цинку здатні знизити вміст кадмію в печінці самців щурів при їх спільному введенні впродовж 19 днів на 10%. У той час як кадмій не робить істотного впливу на накопичення цинку в печінці при ізольованому введенні.

Згідно з отриманими даними, при накопиченні кадмію в печінці відбувається збільшення активності таких ферментів як АСТ і АЛТ, відповідальних за регуляцію потоків метаболітів між органами. АЛТ регулює рівень глюкози, а АСТ компенсує підвищення аміаку. У той же самий час, комбіноване введення хлориду кадмію та сукцинату цинку знижує токсичний ефект кадмію до рівня контролю.

Ключові слова: хлорид кадмію, сукцинат цинку, печінка, АЛТ, АСТ.

THE DEGREE OF ACCUMULATION OF CADMIUM AND ZINC IN THE LIVER OF MALE RATS AND THEIR INFLUENCE ON TRANSAMINAZ ACTIVITY

Shamelashvili K. L., Shatorna V. F., Topka E. G., Kosse V. A., Lyulko I. V., Alekseenko Z. K., Filippov Y. O.

Abstract. Cadmium poisoning in humans occurs through inhalation of cigarette smoke and ingestion of contaminated food and water. The toxic effect of cadmium affects the liver, kidneys, lungs, etc. Zinc-containing compounds reduce the absorption and accumulation of cadmium and mitigate some of its toxic effects.

Purpose of the work. Determine the degree of accumulation of salts of cadmium and zinc succinate in the liver of Wistar rats. Study of the effect of cadmium and zinc succinate salts on the activity of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in the blood plasma of rats.

Experimental studies were carried out on male Wistar rats. To simulate the influence and toxic effect of exposure to cadmium chloride, we injected a solution of cadmium chloride (at a dose of 2.0 mg/kg) daily *per os* throughout 13 and 19 days. 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. The slaughter was carried out on the 13th and 19th days of the introduction of the compounds under study. Quantitative measurement of the content of metals in the samples was carried out on an EMAS-200 CCD atomic emission spectrometer. The enzymatic activity of AST and ALT was determined according to the method of determination of these enzymes by Reitman-Frankel. The assessment of the reliability of statistical studies was carried out using the Student's t-test.

Zinc succinate compounds are able to reduce the content of cadmium in the liver of male rats when administered together for 19 days by 10%. While cadmium does not significantly affect the accumulation of zinc in the liver.

According to the data obtained, the accumulation of cadmium in the liver leads to an increase in the activity of enzymes such as AST and ALT, which are responsible for the regulation of metabolite flows between organs. ALT pumps up glucose, and AST compensates for the increase in ammonia. At the same time, the combined administration of cadmium chloride and zinc succinate reduces the toxic effect of cadmium to a control level.

Key words: cadmium chloride, zinc succinate, liver, ALT, AST.

ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Shamelashvili K. L.: 0000-0001-5509-3011^{ABCDE}

Shatorna V. F.: 0000-0002-5853-9864^{BDEF}

Topka E. G.: 0000-0003-1177-3597^{BCE}

Kosse V. A. : 0000-0002-4620-7563^{BCE}

Lyulko I. V. : 0000-0001-6719-5779^{BCE}

Alekseenko Z. K.: 0000-0001-5601-8232^{BCE}

Filipov Y. O.: 0000-0003-4689-0179^{BCE}

Конфлікт інтересів:

Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Адреса для кореспонденції

Шамелашвілі Карина Леонідівна

Дніпровський державний медичний університет

Адреса: Україна, 49044, м. Дніпро, вул. Володимира Вернадського, 9

Тел.: +380677173867

E-mail: Shamelashvili2018@gmail.com

A – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Рецензент – проф. Небесна З. М.

Стаття надійшла 14.02.2021 року

Стаття прийнята до друку 11.08.2021 року