

УДК: 577.128: 612.35: 612.46

Вплив хлориду кадмію на деякі показники прооксидантно-антиоксидантного балансу в тканинах щурів

С.М.Охріменко, К.В.Сєдова, О.С.Козлова

*Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна (Харків, Україна)
s.okhrimenko@mail.ru*

У печінці та нирках щурів вивчені показники, що відображають стан прооксидантно-антиоксидантного балансу (вміст ТБК-реагуючих продуктів, білкових і небілкових SH-груп, активність каталази і супероксиддисмутази) при тривалому надходженні в організм малих доз іонів кадмію, разовому введенні більш високої дози, а також при одноразовому введенні такої дози іонів металу на тлі тривалого надходження малих доз. Одноразове введення хлориду кадмію в дозі 0,6 мг/кг маси викликало збільшення вмісту ТБК-реагуючих продуктів у печінці та нирках, зниження вмісту небілкових SH-груп в печінці і білкових SH-груп в нирках, підвищення активності каталази в печінці. Введення малих доз (1 мкг/кг щодня протягом 4-х тижнів) викликало різноспрямовані зміни вмісту SH-груп в печінці. При комбінованій дії в ряді випадків відзначено зниження вмісту SH-груп в печінці та нирках.

Ключові слова: *ТБК-реагуючі продукти, каталаза, супероксиддисмутаза, SH-групи, кадмій, печінка, нирки, щури.*

Влияние хлорида кадмия на некоторые показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса в тканях крыс

С.М.Охрименко, К.В.Сєдова, О.С.Козлова

В печени и почках крыс изучены показатели, отражающие состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса (содержание ТБК-реагирующих продуктов, белковых и небелковых SH-групп, активность каталазы и супероксиддисмутаза) при длительном поступлении в организм малых доз ионов кадмия, разовом введении более высокой дозы, а также при однократном введении такой дозы ионов металла на фоне длительного поступления малых доз. Однократное введение хлорида кадмия в дозе 0,6 мг/кг массы вызывало увеличение содержания ТБК-реагирующих продуктов в печени и почках, снижение содержания небелковых SH-групп в печени и белковых SH-групп в почках, повышение активности каталазы в печени. Введение малых доз (1 мкг/кг ежедневно в течение 4-х недель) вызывало разнонаправленные изменения содержания SH-групп в печени. При комбинированном воздействии в ряде случаев отмечено снижение содержания SH-групп в печени и почках.

Ключевые слова: *ТБК-реагирующие продукты, каталаза, супероксиддисмутаза, SH-группы, кадмий, печень, почки, крысы.*

Influence of cadmium chloride on some parameters of prooxidant-antioxidant balance in the tissues of rats

S.M.Okhrimenko, K.V.Sedova, O.S.Kozlova

In the liver and kidney of rats there have been studied parameters reflecting the state of prooxidant-antioxidant metabolism (the content of TBA-reactive products, protein and non-protein SH-groups, the activity of catalase and superoxide dismutase) at prolonged intake of small doses of cadmium ions, single intake of a higher dose and single intake of high doses of metal ions on a background of prolonged influence of low doses. A single intake of cadmium chloride at a dose of 0.6 mg/kg caused increase of TBA-reactive products in the liver and kidneys, decrease the content of non-protein SH-groups in the liver and protein SH-groups in the kidneys, increase the activity of catalase in the liver. Application of low doses (1 mg/kg during 4 weeks) resulted in different changes of the content of SH-groups in the liver. The combined action in some cases decreased the content of SH-groups in the liver and kidneys.

Key words: *TBA-reactive products, catalase, superoxide dismutase, SH-groups, cadmium, liver, kidney, rats.*

Вступ

Кадмій є одним з найпоширеніших токсикантів, небезпека якого полягає в тому, що при надходженні до організму він не підлягає суттєвим перетворенням та дуже повільно виводиться з

нього (Давыдова, Тагась, 2002). Найбільше накопичення кадмію спостерігається в нирках (30–60 % всієї кількості) та печінці (20–25 %). Також кадмій міститься в підшлунковій залозі, селезінці, трубкових кістках, інших органах та тканинах (Крестовников, 2000). Токсичні ефекти сполук кадмію виявляються залежно від його кількості та тривалості надходження, що спричинює його накопичення. Всесвітньою організацією охорони здоров'я встановлено показник тимчасового припустимого споживання, що складає для кадмію 7 мкг/кг маси тіла людини протягом тижня (в середньому 1 мкг/кг на добу). Летальна разова доза для кадмію може складати 350–3500 мг (Лудевиг, Лос, 2004). Гостре харчове отруєння кадмієм спостерігається при надходженні великих разових доз з їжею (15–30 мг) або з водою (13–15 мг). Кадмій не спричинює гепатотоксичність при однократному парентеральному введенні гризунам в дозах 2 мг/кг та менше. Проте при ін'єкціях кадмію в дозах 3,5–3,9 мг/кг виявляють запалення, фіброз та некроз в печінці тварин. За умов перорального надходження некроз печінки виникає тільки при дуже високих дозах цього металу (30–138 мг/кг за добу (Антоняк и др., 2010а)). В основі механізму токсичної дії іонів кадмію лежить їх взаємодія з компонентами клітин, молекулами клітинних органел та мембран (Куценко, 2002). Один з механізмів токсичної дії кадмію полягає у його здатності посилювати вільнорадикальні процеси, що призводить до утворення надмірної кількості активних форм кисню та розвитку оксидативного стресу (Liu et al., 2009). Важливими складовими системи антиоксидантного захисту є тіолові сполуки та ферменти, що приймають участь у знешкодженні активних форм кисню (Меньшикова и др., 2006; Барабой, Сутковой, 1997). Актуальним є питання про можливість формування стійкості організму до токсичних доз важких металів на тлі їх попереднього хронічного надходження в малих дозах. У зв'язку з вищеподаним метою роботи було вивчення впливу різних доз хлориду кадмію за умов разового та хронічного введення на стан перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), вміст небілкових та білкових тіолів, а також активність каталази та супероксиддисмутази (СОД) в печінці та нирках щурів.

Методика

Об'єкт дослідження – щури-самці лінії Wistar вагою 240–330 г, що утримувались у стандартних умовах віварію Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна. Тварин було розділено на 4 групи: 1 – контроль, що отримували воду щодобово протягом 28 днів; 2 – тварини, які отримували розчин хлориду кадмію з розрахунку 1 мкг/кг щодобово протягом 28 днів (хронічна дія); 3 – тварини, що отримували щодобово воду 27 днів, а потім за добу до забою отримували розчин хлориду кадмію з розрахунку 0,6 мг/кг (гостра дія); 4 – тварини, що протягом 27 днів отримували розчин хлориду кадмію у дозі 1 мкг/кг, а за добу до забою їм вводили розчин хлориду кадмію у дозі 0,6 мг/кг. Всі розчини та вода вводились перорально за допомогою зонду. Після 28 днів експерименту тварин декапітували під легким ефірним наркозом. Печінку та нирки перфузували фізіологічним розчином, після чого готували гомогенати на 0,2 М фосфатному буфері (рН 7,4). У гомогенатах визначали кількість ТБК-реагуючих продуктів за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (Ohkawa et al., 1979), активність каталази визначали за допомогою кольорової реакції на пероксид водню (Корольюк и др., 1988), активність супероксиддисмутази – за допомогою реакції окиснення кверцетину (Костюк, 1990), вміст білка визначали за методом Лоури (Lowry et al., 1951). Вміст загальних, небілкових та білкових SH-груп визначали за допомогою реактиву Елмана (Sedlak, Lindsay, 1968). Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали за допомогою стандартних пакетів Excel та Past. У групах з нормальним розподілом для оцінки вірогідності змін застосовували t-критерій Стьюдента.

Результати

Дані про вплив іонів кадмію на процеси ПОЛ та активність антиоксидантних ферментів у печінці та нирках щурів наведені в табл. 1 та 2. Так, встановлено, що хронічне введення хлориду кадмію в дозі 1 мкг/кг щоденно протягом 28 днів не спричинювало змін вмісту ТБК-реагуючих продуктів, а також активності каталази та СОД в печінці та нирках. Одноразове введення хлориду кадмію в дозі 0,6 мг/кг спричинювало підвищення вмісту ТБК-реагуючих продуктів в печінці та нирках, а також підвищення активності каталази в печінці. При цьому встановлено вірогідну різницю між показниками інтенсивності ПОЛ в печінці та нирках при хронічному та разовому надходженні іонів кадмію. Введення хлориду кадмію в разовій дозі 0,6 мг/кг на тлі попереднього хронічного введення цієї солі в дозі 1 мкг/кг спричинювало підвищення вмісту ТБК-реагуючих продуктів в нирках як відносно контрольної групи, так і відносно цього показника у щурів, що тривало отримували низькі дози хлориду кадмію.

Про вміст небілкових та білкових SH-груп в печінці та нирках при введенні солей кадмію свідчать дані табл. 3 та 4. Так, тривале надходження в організм хлориду кадмію в дозі 1 мкг/кг щоденно протягом 28 днів спричинювало зниження вмісту небілкових та підвищення вмісту білкових SH-груп в печінці, тоді як в нирках змін не виявлено. Одноразове введення хлориду кадмію в дозі 0,6 мкг/кг спричинювало зниження вмісту небілкових SH-груп в печінці та білкових у нирках. При разовому введенні хлориду кадмію в дозі 0,6 мкг/кг на фоні попереднього щоденного хронічного введення солі в дозі 1 мкг/кг встановлено зниження вмісту небілкових SH-груп в печінці та білкових у нирках. При цьому в нирках обидва показники вірогідно зменшувались відносно показників при хронічній дії хлориду кадмію.

Таблиця 1.

Вміст ТБК-реагуючих продуктів та активність антиоксидантних ферментів у печінці щурів при введенні хлориду кадмію

	1 група	2 група	3 група	4 група
ТБК-реагуючі продукти, нмоль/мг білка	0,52±0,01	0,54±0,01	0,73±0,02*#	0,68±0,03
Активність каталази, мкмольH ₂ O ₂ /хв на мг білка	0,245±0,020	0,281±0,036	0,309±0,015*	0,273±0,016
Активність СОД, од./хв на мг білка	0,987±0,127	0,978±0,226	1,221±0,123	1,076±0,064

Примітка: тут та далі * – $p \leq 0,05$ порівняно з 1 групою (контроль); # – $p \leq 0,05$ порівняно з 2 групою (хронічна дія).

Таблиця 2.

Вміст ТБК-реагуючих продуктів та активність антиоксидантних ферментів у нирках щурів при введенні хлориду кадмію

	1 група	2 група	3 група	4 група
ТБК-реагуючі продукти, нмоль/мг білка	0,57±0,04	0,69±0,01	1,05±0,10* #	0,87±0,05*#
Активність каталази, мкмольH ₂ O ₂ /хв на мг білка	0,1±0,011	0,326±0,119	0,135±0,016	0,094±0,01
Активність СОД, од./хв на мг білка	1,168±0,161	0,914±0,155	0,989±0,082	0,981±0,087

Таблиця 3.

Вміст SH-груп в печінці щурів при введенні хлориду кадмію, мкмоль/г тканини

	1 група	2 група	3 група	4 група
Небілкові SH-групи	21,7±3,8	9,8±1,6*	3,5±0,8*	7,0±1,3*
Білкові SH-групи	35,8±4,6	55,1±2,0*	36,7±5,6	33,2±4,4

Таблиця 4.

Вміст SH-груп в нирках щурів при введенні хлориду кадмію, мкмоль/г тканини

	1 група	2 група	3 група	4 група
Небілкові SH-групи	9,7±1,3	15,8±3,7	8,0±1,0	8,0±1,3#
Білкові SH-групи	21,2±3,8	18,1±2,3	9,0±2,2*	11,0±1,8*#

Обговорення

Виходячи з наших даних, показники ПОЛ в тканинах змінюються при надходженні до організму хлориду кадмію вже в межах доз 30–600 мкг/кг. Підвищення вмісту ТБК-реагуючих продуктів в печінці та нирках при введенні хлориду кадмію в дозі 0,6 мкг/кг свідчить про посилення ПОЛ, що є відображенням активації вільнорадикальних процесів та утворення активних форм кисню. Відомо, що іони кадмію належать до стрес-факторів, що посилюють утворення активних форм кисню, стимулюють ПОЛ в різних типах тканин та спричинюють розвиток оксидативного стресу (Liu et al., 2009; Santos et al., 2005; Кирилів, 2013). Відсутність змін показників ПОЛ в нашому експерименті при хронічному

введенні низької дози хлориду кадмію, враховуючи його здатність накопичуватись в органах, може свідчити на користь даних про зв'язування іонів кадмію в крові та тканинах сірковмісними білками металотіонеїнами (МТ) (Savigni, Morgan, 1998). Відомо, що кадмій є сильним індуктором синтезу металотіонеїнів у клітинах печінки, нирок та кишківника тварин (Антоняк и др., 2010б). Інтенсивність синтезу металотіонеїнів в гепатоцитах у відповідь на надходження іонів кадмію вища, ніж в інших клітинах (Антоняк, 2010), чим можна пояснити відсутність змін вмісту продуктів ПОЛ в печінці та їх наявність в нирках при застосуванні комбінованої схеми введення хлориду кадмію. Після зв'язування кадмію молекулами металотіонеїнів комплекси Cd-металотіонеїн транспортуються в нирки, де майже повністю реадсорбуються і швидко деградують із звільненням іонів кадмію (Антоняк и др., 2010б), що, можливо, сприяє пошкодженню нирок. Про посилення утворення активних форм кисню при надходженні в організм тварин хлориду кадмію в дозі 0,6 мг/кг свідчать дані про підвищення активності каталази в печінці, що порівняно з СОД виявилась більш чутливою. Відомо, що підвищення активності каталази при оксидативному стресі пов'язано з індукцією її синтезу активними формами кисню (Мирошніченко, 1992). Введення такої ж дози солі на фоні тривалого постійного її надходження в дозі 1 мкг/кг не спричинило змін в активності каталази в печінці, що, як і у випадку з продуктами ПОЛ, може бути пов'язано з посиленням синтезу металотіонеїнів протягом хронічної дії іонів кадмію, що утворюють комплекси Cd-МТ та обмежують прооксидантні ефекти іонів кадмію. Ці дані узгоджуються з нашими результатами про підвищення вмісту білкових SH-груп в печінці при хронічному введенні малих доз хлориду кадмію, що може свідчити про посилення синтезу сірковмісних білків, зокрема металотіонеїнів, за цих умов. Зниження вмісту небілкових SH-груп у печінці у всіх випадках введення хлориду кадмію та білкових SH-груп у нирках при одноразовому та комбінованому введенні є свідченням посилення окисних процесів, що підтверджує наведені нами вище дані. Про зниження вмісту білкових та небілкових SH-груп, в тому числі глутатіону в тканинах щурів при оксидативному стресі, йдеться в роботах (Гутий, 2013; Каліман, Охріменко, 2012). В нирках тривале введення малих доз хлориду кадмію не впливало на вміст сірковмісних речовин, що може свідчити про більшу порівняно з печінкою ємність SH-складової системи антиоксидантного захисту. При комбінованій дії хлориду кадмію, коли кількість іонів кадмію, що надходить до організму, значно зростає, ємність SH-складової системи антиоксидантного захисту в нирках виявляється недостатньою, що призводить до зниження її показників порівняно з хронічною дією.

В цілому, результати даного дослідження не заперечують тезу про те, що хронічне надходження до організму сполук важких металів в малих дозах може спричинювати певну стійкість до подальшої інтоксикації гострими дозами, але в нашому варіанті таке твердження стосується тільки печінки і тільки окремих показників.

Список літератури

- Антоняк Г.Л., Бабич О.Н., Білецька Л.П. Кадмій в організмі людини і тварин. Вплив на функціональну активність органів і систем // Біологічні студії. – 2010а. – Т.4, №3. – С. 390–400. /Antonyak G.L., Babych O.N., Bilets'ka L.P. Kadmii v organizmi lyudyny i tvaryn. Vplyv na funktsional'nu aktyvnist' organiv i system // Biologichni studii. – 2010a. – Т.4, №3. – С. 390–400./
- Антоняк Г.Л., Бабич О.Н., Білецька Л.П. Кадмій в організмі людини і тварин. Надходження до клітин і акумуляція // Біологічні студії. – 2010б. – Т.4, №2. – С. 39–52. /Antonyak G.L., Babych O.N., Bilets'ka L.P. Kadmii v organizmi lyudyny i tvaryn. Nadkhodzhennya do klityn i akumulyatsiya // Biologichni studii. – 2010b. – Т.4, №2.- С. 39–52./
- Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. – 428с. /Baraboy V.A., Sutkovoy D.A. Okislitel'no-antioksidantnyy gomeostaz v norme i patologii. – К.: Chernobyl'interinform, 1997. – 428s./
- Гутий Б.В. Вплив хлориду кадмію на стан антиоксидантної системи у печінці щурів // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2013. – №2. – С. 102–104. /Guty B.V. Vplyv khlorydu kadmiiyu na stan antyoksydantnoyi systemy u pechintsy shchuriv // Visnyk Poltavs'koi derzhavnoi agrarnoi akademii. – 2013. – №2. – С. 102–104./
- Давыдова С.Л., Тагась В.И. Тяжелые металлы как супертоксиканты XXI века. – М.: Изд-во Российского университета дружбы народов, 2002. – 140с. /Davydova S.L., Tagas' V.I. Tyazhelye metally kak supertoksikanty XXI veka. – М.: Izd-vo Rossiyskogo universiteta druzhby narodov, 2002. – 140s./
- Каліман П.А., Охріменко С.М. Стан вуглеводного та азотистого метаболізму в тканинах щурів за експериментального рабдоміолізу // Укр. біохім. журн. – 2012. – Т.84, №1. – С. 79–85. /Kaliman P.A., Okhrimenko S.M. Stan vuglevodnogo ta azotystogo metabolizmu v tkanyakh shchuriv za eksperymental'nogo rabdomiolizu // Ukr. biokhim. zhurn. – 2012. – Т.84, №1. – С. 79–85./

- Кирилів М.В. Оксидативний стрес у білих щурів за умов токсичного впливу іонів кадмію // Медична хімія. – 2013. – Т.15, №4. – С. 74–78. /Kyryliv M.V. Oksydatyvnyy stres u bilykh shchuriv za umov toksychnogo vplyvu ioniv kadmiiyu // Medychna khimiya. – 2013. – Т.15, №4. – С. 74–78./
- Корольок М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16–19. /Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G. i dr. Metod opredeleniya aktivnosti katalazy // Lab. delo. – 1988. – №1. – С. 16–19./
- Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопросы мед. химии. – 1990. – Т.36, №2. – С. 28–35. /Kostyuk V.A. Prostoy i chuvstvitel'nyy metod opredeleniya aktivnosti superoksidismutazy, osnovannyy na reaktsii okisleniya kvvertsetina // Voprosy med. khimii. – 1990. – Т.36, №2. – С. 28–35./
- Крестовников А.Н. Кадмий. – М.: Цветметиздат, 2000. – 145с. /Krestovnikov A.N. Kadmiiy. – M.: Tsvetmetizdat, 2000. – 145s./
- Куценко С.А. Основы токсикологии. – 2002. /Kutsenko S.A. Osnovy toksikologii. – 2002./ (http://biochem.vsmu.edu.ua/biochem_common_u/toxicology.pdf).
- Лудевиг Р., Лос К. Острые отравления. – М.: Медицина, 2004. – 250с. /Ludevig R., Los K. Ostryye otravleniya. – M.: Meditsina, 2004. – 250s./
- Меньшикова Е.Б., Зеньков Н.К., Ланкин В.З. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. – М.: Слово, 2006. – 556с. /Men'shikova E.B., Zen'kov N.K., Lankin V.Z. i dr. Okislitel'nyy stress. Prooksidanty i antioksidanty. – M.: Slovo, 2006. – 556s./
- Мирошниченко О.С. Биогенез, физиологическая роль и свойства каталазы // Биополимеры и клетка. – 1992. – Т.8, №6. – С. 3–25. /Miroshnichenko O.S. Biogenez, fiziologicheskaya rol' i svoystva katalazy // Biopolimery i kletka. – 1992. – Т.8, №6. – С. 3–25./
- Liu J., Qu W., Kadiiska M.V. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2009. – Vol.238, №3. – P. 159–165.
- Lowry O.B., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al. Protein measurement with Folin phenol reagent // Biological Chemistry. – 1951. – Vol.193. – P. 265–273.
- Ohkawa H., Ohani K., Jadi K. Assay for peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Anal. Biochem. – 1979. – Vol.95, №2. – P. 351–358.
- Santos F.W., Zeni G., Rocha J.B. et al. Diphenil disulenic reverses cadmium-induced oxidative damage on mice tissues // Chem. Biol. Interact. – 2005. – Vol.151, №3. – P. 159–165.
- Savigni D.L., Morgan E.H. Transport mechanisms for iron and other transition metals in rat and rabbit erythroid cells // J. Physiol. 1998. – Vol.508, №3. – P. 837–850.
- Sedlak J., Lindsay R. Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellmanys reagent // Analit. Biochem. – 1968. – Vol.25, №1. – P. 192–205.

Представлено: О.П.Білозоров / Presented by: A.P.Belozorov

Рецензент: Н.І.Буланкіна / Reviewer: N.I.Bulankina

Подано до редакції / Received: 12.10.2014