



## Енергозабезпечення тканин лабораторних щурів за умов поєднаної дії кадмій хлориду та натрій нітриту

Л. Д. Курас, Г. М. Ерстенюк

kuras1205@ukr.net

Івано-Франківський національний медичний університет,  
вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, 76018, Україна

Механізм впливу Кадмію та нітритів різний: Кадмій пригнічує ферментні системи енергозабезпечення заміщенням двовалентних металів, а нітрити посилюють утворення метгемоглобіну, що призводить до порушення транспорту кисню до клітин. На сьогодні недостатньо з'ясованою залишається поєднана дія цих ксенобіотиків, зокрема на енергетичний обмін. Метою дослідження було з'ясувати стан енергетичного обміну у головному мозку та печінці щурів за умов поєднаної дії кадмій хлориду та натрій нітриту. Інтوكсикацію моделювали таким чином: кадмію хлорид вводили внутрішньом'язово, натрію нітрит — з питною водою у дозі  $1/10 LD_{50}$  один раз на день упродовж 10 діб. Тварин розділено на дві групи: інтактні та дослідні. Збір матеріалу проводили після декапітації під тіопенталовим наркозом на 1-, 14-, 28-у доби після завершення введення токсикантів. Показники енергетичного обміну визначали таким чином: активності АТФ-ази, лактатдегідрогенази — ензиматичним методом; концентрацію глюкози — глюкозооксидазним методом; рівень піровиноградної, молочної, аденозинтрифосфорної (АТФ) кислот — спектрофотометрично; вміст Zn, Cu, Mg — за допомогою атомно-абсорбційного аналізатора. Проведені дослідження вказують на порушення енергетичного забезпечення тканин головного мозку та печінки за кадмієво-нітритної інтоксикації, що підтверджується активацією аеробного окиснення глюкози у головному мозку, зростанням вмісту АТФ та активності АТФ-ази у досліджуваних органах.

**Ключові слова:** щури, енергетичний обмін, кадмій хлорид, натрій нітрит,  $Na^+$ ,  $K^+$ -активуюча,  $Mg^{2+}$ -залежна АТФ-аза, аденозинтрифосфорна кислота, глюкоза, лактатдегідрогеназа, печінка, головний мозок

У навколишньому середовищі живі організми можуть зазнавати поєднаних впливів шкідливих чинників різних за хімічною природою і механізмом дії. З наукової літератури відомо про роздільну дію іонів Кадмію [2] та нітритів [1] на організм тварин. Токсична дія Кадмію проявляється політропним впливом на організм тварин і людини, зокрема активацією процесів пероксидації ліпідів та білків, порушенням антиоксидантного захисту, системи гемостазу [5, 10, 12]. При нітритній інтоксикації відбувається інтенсивне утворення метгемоглобіну, порушення транспорту кисню до клітин, зміни у вуглеводному та ліпідному обміні [1, 6, 11]. Однак поєднана дія цих ксенобіотиків залишається недостатньо з'ясованою.

Враховуючи вищесказане, метою дослідження було з'ясувати стан енергетичного обміну у головному мозку та печінці щурів за умов поєднаної дії кадмій хлориду та натрій нітриту.

### Матеріали і методи

Дослідження проводили на 48 білих безпородних лабораторних щурах-самцях масою тіла 180–220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Токсичне ураження викликали кадмій хлоридом ( $CdCl_2$ ) та натрій нітритом ( $NaNO_2$ ). Інттоксикацію моделювали таким чином: кадмію хлорид вводили внутрішньом'язово в дозі 1,2 мг/кг маси тіла тварини ( $1/10 LD_{50}$ ), а натрій нітрит випоювали з питною водою з розрахунку 2,1 мг/кг маси тіла тварини в дозі  $1/10 LD_{50}$  один раз на день протягом 10 діб [14]. Інттактним тваринам водночас вводили відповідну кількість 0,9 % розчину натрій хлориду. Досліджуваних тварин було розділено на 2 групи: I група (12 особин) — інтактні тварини; II група — тварини, інтоксиковані кадмій хлоридом та натрій нітритом (по 12 особин на 1-у, 14-у та 28-у доби дослідження).

Для досліджень використовували гомогенати головного мозку та печінки. Забір матеріалу проводили згідно з правилами Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин (Страсбург, 1986), після декапітації під тіопенталовим наркозом на 1-, 14-, 28-у доби після завершення введення токсикантів. Показники енергетичного обміну визначали таким чином: активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -активуючої,  $\text{Mg}^{2+}$ -залежної АТФ-ази визначали за різницею активностей у присутності та відсутності оубайну (строфантину) [4]; активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) — спектрофотометрично за набором «Філісіт-Діагностика» (Україна); концентрацію глюкози — глюкооксидазним методом за допомогою набору «Філісіт-Діагностика» (Україна); вміст піровиноградної кислоти — за кількістю похідних 2,4-динітрофенілгідрозону (2,4-ДНФГ) [13]; рівень молочної кислоти — за реакцією з параоксидифенілом [7]; АТФ — за кількістю Фосфору, модифікованою методикою Алейникова і Рубцова [9]. Вміст Магнію, Купруму, Цинку визначали за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра С-115 ПК [3, 10]. Отримані результати підлягали статистичному аналізу за загальноприйнятою методикою за допомогою програми *Statistica 8,0* та

пакета статистичних функцій програми *Microsoft Excel 2016*. Кореляційний аналіз проводили за коефіцієнтом Пірсона. Для опису кількісних ознак використовували середнє арифметичне ( $M$ ), стандартну похибку ( $\pm m$ ), медіану ( $Me$ ) та інтерквартильний розмах — нижній-верхній квартиль ( $LQ-HQ$ ) [8].

## Результати й обговорення

Дослідження концентрації АТФ у гомогенатах головного мозку та печінки за умов поєднаної дії Кадмію хлориду та Натрій нітриту дозволили встановити зростання цього показника у гомогенаті головного мозку у 2,3 разу на 28-у добу досліду порівняно з інтактними тваринами. Як показали наші дослідження, у гомогенаті печінки спостерігали вірогідне ( $P \leq 0,001$ ) зростання упродовж всього періоду дослідження у 3–6 разів порівняно з контрольною групою (табл. 1). Визначення АТФ-азної активності дозволило встановити вірогідне ( $P \leq 0,001$ ) зростання цього показника у 2–13 разів у досліджуваних тканинах упродовж усього періоду експерименту порівняно з контролем.

**Таблиця 1.** Показники енергетичного обміну у головному мозку та печінці щурів за умов поєднаного впливу кадмію хлориду ( $\text{CdCl}_2$ ) та натрій нітриту ( $\text{NaNO}_2$ ) ( $M \pm m$ ,  $n=12$ )

**Table 1.** Parameters of energy metabolism in the brain and liver of rats under the combined influence of cadmium chloride ( $\text{CdCl}_2$ ) and sodium nitrite ( $\text{NaNO}_2$ ) ( $M \pm m$ ,  $n=12$ )

Показники / Parameters	Тканина Tissue	I група 1 <sup>st</sup> group	II група 2 <sup>nd</sup> group	III група 3 <sup>rd</sup> group	IV група 4 <sup>th</sup> group
АТФ, мкмоль/г тканини ATP, $\mu\text{mol/g}$ of tissue	Головний мозок Brain	3,09 $\pm$ 0,29	3,54 $\pm$ 0,97	2,38 $\pm$ 0,36	7,37 $\pm$ 2,16*
	Печінка Liver	1,02 $\pm$ 0,03	6,19 $\pm$ 1,51*	3,01 $\pm$ 0,73*	5,95 $\pm$ 1,28*
АТФ-аза, мкмоль $\times$ P <sub>н</sub> /мг <sub>білка</sub> $\times$ год ATPase, $\mu\text{mol}\times\text{P}_i/\text{mg}_{\text{protein}}\times\text{hour}$	Головний мозок Brain	251,30 $\pm$ 53,04	2452,30 $\pm$ 647,27*	2710,38 $\pm$ 798,13*	486,22 $\pm$ 256,19
	Печінка Liver	274,13 $\pm$ 40,74	3645,75 $\pm$ 525,42*	424,49 $\pm$ 104,62	448,85 $\pm$ 92,19*

*Примітка.* I група — інтактні тварини; II група — забір матеріалу на 1-у добу; III група — забір матеріалу на 14-у добу; IV група — забір матеріалу на 28-у добу після завершення введення кадмію хлориду та натрій нітриту.

Тут і далі статистично вірогідна різниця щодо контролю \* —  $P \leq 0,001$  за критерієм Ст'юдента.

*Note.* 1<sup>st</sup> group — intact animals; 2<sup>nd</sup> group — probe on the 1<sup>st</sup> day; 3<sup>rd</sup> group — probe on the 14<sup>th</sup> day;

4<sup>th</sup> group — probe on the 28<sup>th</sup> day after cadmium chloride and sodium nitrite was completed.

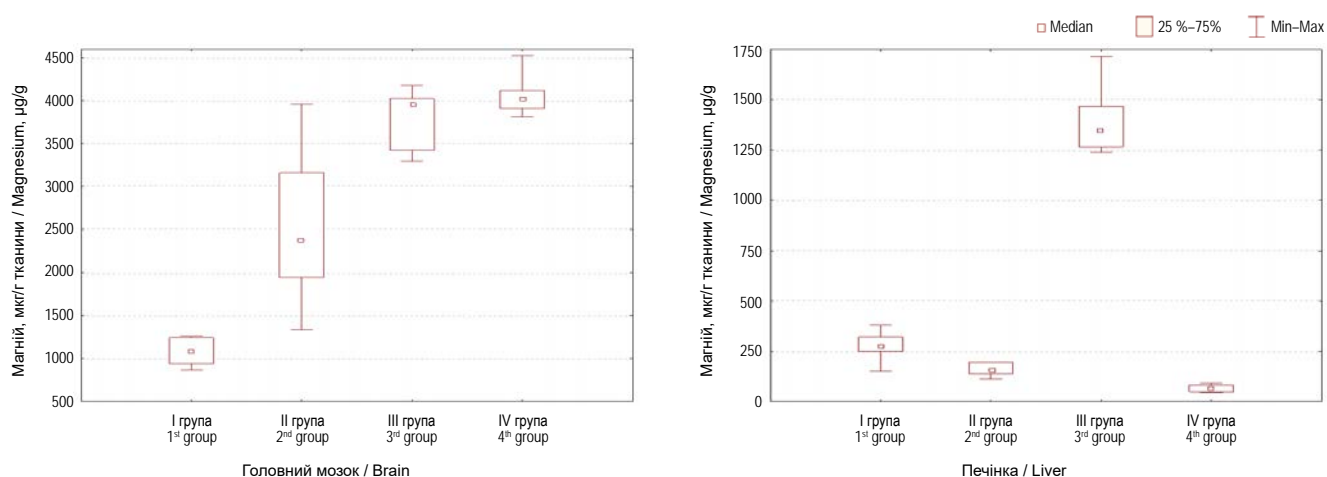
Here and further the statistically significant difference compared control \* —  $P \leq 0,001$  according to Student's criterion.

Оскільки іони Магнію є активаторами АТФ-ази, важливим є дослідження вмісту цього елемента в тканинах головного мозку та печінки. Встановлено, що концентрація Магнію вірогідно зростала ( $P \leq 0,001$ ) у головному мозку — у 2,3–3,7 разу впродовж усього періоду дослідження. У печінці рівень Магнію мав різнонаправлений характер: знижувався на 1- та 28-у доби у 1,7 і 4 рази відповідно, а на 14-у добу, навпаки, спостерігали зростання його вмісту у 5 разів (рис. 1).

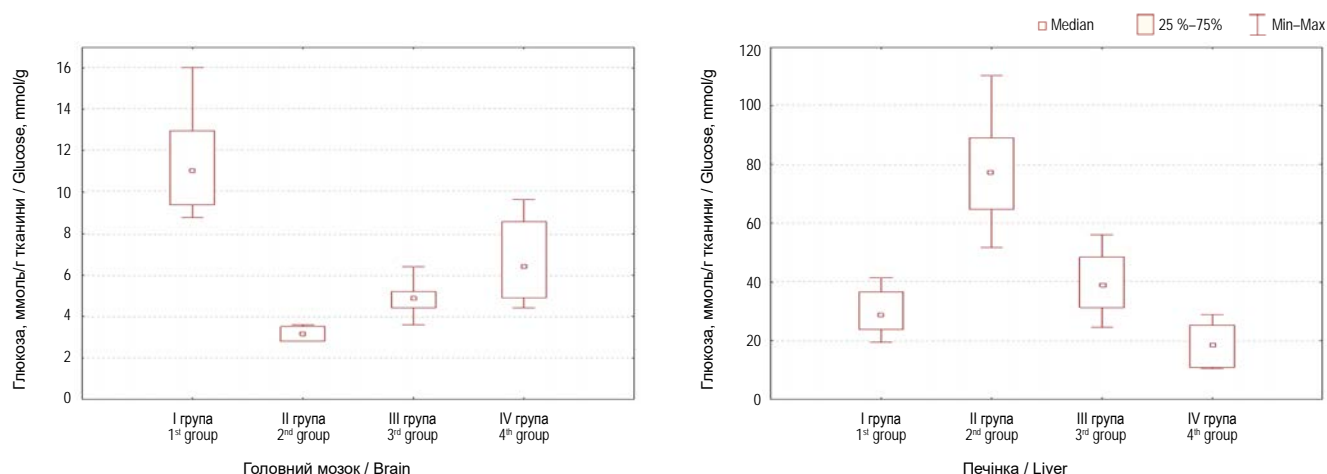
Основним джерелом енергії для досліджуваних тканин — головного мозку та печінки — є глюкоза. Отримані результати показали різнонаправлені зміни концентрації глюкози: у головному мозку — вірогідно ( $P \leq 0,001$ ) зниження у 3,5; 2,3 та 1,7 разу на 1-у, 14-у

і 28-у добу дослідження відповідно. У печінці спостерігали зростання концентрації глюкози у 2,6 разу на 1-у добу, незначне зростання на 14-у добу та зниження на 36 % у пізній період дослідження (рис. 2).

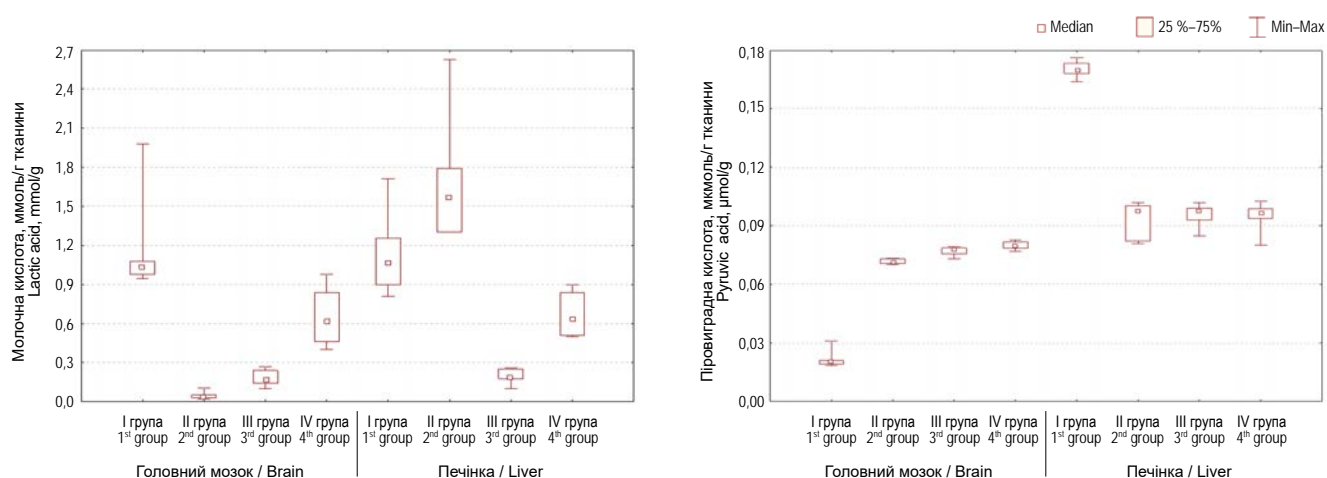
Дослідження метаболітів вуглеводного обміну засвідчило вірогідне ( $P \leq 0,001$ ) зниження рівня молочної кислоти: у головному мозку — упродовж усього періоду дослідження, у 24, 6 та 1,75 разу на 1-, 14- та 28-у доби; у печінці — в 5,8 і 1,7 разу на 14- та 28-у доби дослідження відповідно. Водночас концентрація піровиноградної кислоти у головному мозку вірогідно ( $P \leq 0,001$ ) зростала у 3–3,5 разу впродовж усього періоду дослідження. У печінці цей показник вірогідно ( $P \leq 0,001$ ) знижувався протягом усього досліджуваного періоду в 1,8 разу (рис. 3).



**Рис. 1.** Вплив кадмію хлориду ( $\text{CdCl}_2$ ) та натрій нітриту ( $\text{NaNO}_2$ ) на вміст Магнію (мкг/г тканини) у головному мозку та печінці щурів  
**Fig. 1.** Influence of cadmium chloride ( $\text{CdCl}_2$ ) and sodium nitrite ( $\text{NaNO}_2$ ) on the concentration of Magnesium ( $\mu\text{g/g}$ ) in the brain and liver of rats



**Рис. 2.** Вплив кадмію хлориду ( $\text{CdCl}_2$ ) та натрій нітриту ( $\text{NaNO}_2$ ) на концентрацію глюкози (ммоль/г тканини) у головному мозку та печінці щурів  
**Fig. 2.** Influence of cadmium chloride ( $\text{CdCl}_2$ ) and sodium nitrite ( $\text{NaNO}_2$ ) on glucose concentration (mmol/g) in the brain and liver of rats



**Рис. 3.** Вплив Кадмію хлориду ( $\text{CdCl}_2$ ) та Натрій нітриту ( $\text{NaNO}_2$ ) на концентрацію молочної (ммоль/г тканини) та піровиграної (мкмоль/г тканини) кислот у головному мозку та печінці щурів  
**Fig. 3.** Influence of cadmium chloride ( $\text{CdCl}_2$ ) and sodium nitrite ( $\text{NaNO}_2$ ) on the concentration of lactic (mmol/g) and pyruvic ( $\mu\text{mol/g}$ ) acids in the brain and liver of rats.

**Таблиця 2.** Активність лактатдегідрогенази та вміст Цинку і Купруму в органах щурів за умов поєднаного впливу кадмію хлориду ( $\text{CdCl}_2$ ) та натрію нітриту ( $\text{NaNO}_2$ ) ( $M \pm m$ ,  $n=12$ )

**Table 2.** Lactate dehydrogenase in brain and liver of rats under the combined influence of cadmium chloride ( $\text{CdCl}_2$ ) and sodium nitrite ( $\text{NaNO}_2$ ) ( $M \pm m$ ,  $n=12$ )

Показники / Parameters	Тканина Tissue	I група 1 <sup>st</sup> group	II група 2 <sup>nd</sup> group	III група 3 <sup>rd</sup> group	IV група 4 <sup>th</sup> group
Лактатдегідрогеназа, мкмоль/с×г тканини Lactate dehydrogenase, $\mu\text{mol/s} \times \text{g}$ of tissue	Головний мозок Brain	2,099 $\pm$ 0,78	0,98 $\pm$ 0,26	0,52 $\pm$ 0,21*	0,99 $\pm$ 0,17
	Печінка Liver	1,35 $\pm$ 0,46	0,21 $\pm$ 0,08*	0,19 $\pm$ 0,04*	0,65 $\pm$ 0,19
Цинк, мкг/г тканини Zinc, $\mu\text{g/g}$ of tissue	Головний мозок Brain	787,6 $\pm$ 217,6	522,58 $\pm$ 137,22	1291,49 $\pm$ 530,18	663,14 $\pm$ 214,59
	Печінка Liver	399,6 $\pm$ 95,5	519,7 $\pm$ 76,2	913,5 $\pm$ 98,2*	311,04 $\pm$ 92,9
Купрум, мкг/г тканини Cuprum, $\mu\text{g/g}$ of tissue	Головний мозок Brain	155,17 $\pm$ 12,66	150,65 $\pm$ 58,47	177,45 $\pm$ 13,05	150,44 $\pm$ 37,61
	Печінка Liver	141,9 $\pm$ 34,8	90,5 $\pm$ 15,7	217,7 $\pm$ 27,8*	191,7 $\pm$ 21,4

Визначення лактатдегідрогеназної активності у головному мозку показало її зниження, найістотніші зміни спостерігали на 14-у добу дослідження — у 4 рази порівняно з контрольною групою тварин. У печінці також спостерігали суттєве її зниження, зокрема на 1- та 14-у доби — у 6,5 та 7 разів порівняно з інтактними тваринами (табл. 2).

Дослідження концентрації мікроелементів Цинку та Купруму, які виступають активаторами лактатдегідрогенази, показали такі зміни у головному мозку щурів: зниження рівня Цинку на 1- та 28-у доби спостереження, на 14-у добу нами встановлено зростання цього показника в 1,6 разу. Подібну закономірність спостерігали і щодо рівня Купруму у головному мозку. У печінці рівень Цинку зростав упродовж 1–14 діб — у 2 рази, на 28-у добу був нижчим від показників контрольної групи, вміст Купруму різко знижувався на 1-у добу — на 36 %, у наступні періоди спостерігали вірогідне зростання, зокрема найбільш істотне на 14-у добу — в 1,5 разу.

Отримані результати вказують на різний характер змін в енергетичному обміні у тканинах головного мозку і печінці залежно від періоду досліджень.

У головному мозку за поєднаної дії токсикантів вміст АТФ суттєво знижувався на 14-у добу і різко зростав у пізньому періоді. При цьому варто зазначити про найнижчий рівень глюкози на 1-у добу, впродовж всього експерименту цей показник був вірогідно нижчим від контрольної групи. Водночас спостерігали зростання рівня пірувату і зниження лактату, що може вказувати на активацію аеробного гліколізу і підтверджується низькою активністю ЛДГ упродовж всього періоду досліджень. У головному мозку на 28-у добу концентрація лактату і активність ЛДГ знижувалась, а коефіцієнт кореляції становив  $r = -0,86$ .

У печінці за умов кадмієво-нітритної інтоксикації спостерігали значне зростання концентрації АТФ і активності АТФ-ази впродовж усього періоду дослідження. При цьому варто зазначити, що рівень глюкози в ранній період зростає, а в подальші періоди дослідження — знижується. Також спостерігали позитивний

кореляційний зв'язок між зниження концентрації глюкози і зростання вмісту АТФ — коефіцієнт кореляції становив  $r=0,81$ . Щодо проміжних метаболітів обміну глюкози — молочної та піровиноградної кислот, то їх концентрація і активність лактатдегідрогенази у гомогенаті печінки вірогідно ( $P \leq 0,001$ ) знижувалась упродовж експерименту. Це може свідчити про посилене використання лактату і пірувату у процесі глюконеогенезу для забезпечення енергетичних потреб організму при адаптації до впливу досліджуваних ксенобіотиків.

## Висновки

1. Поєднаний вплив кадмію хлориду та натрію нітриту на організм лабораторних щурів призводив до зростання рівня АТФ та АТФ-азної активності на 28-у добу дослідження у тканинах головного мозку та печінки, що можна розглядати як прояв адаптації енергетичного обміну за дії досліджуваних токсикантів.

2. Зниження концентрації глюкози та молочної кислоти і зростання пірувату в головному мозку лабораторних щурів впродовж усього періоду дослідження можуть вказувати на активацію процесів аеробного окиснення за умов інтоксикації кадмію хлоридом та натрію нітритом. Водночас така інтоксикація супроводжується зростанням глюкози та зниженням рівня лактату і пірувату у печінці, що може свідчити про активацію процесу глюконеогенезу і в такий спосіб забезпечити підтримання енергетичних потреб організму, зокрема головного мозку.

## Перспективи подальших досліджень

Отримані результати вказують на порушення процесів енергетичного обміну у печінці та головному мозку лабораторних щурів за умов кадмієво-нітритної інтоксикації і потребують подальшого поглибленого вивчення (морфологічного, генетичного та ін.) та пошуків корекції виявлених порушень.

1. Al-Rasheed NM, Fadda LM, Attia HA, Ali HM, Al-Rasheed NM. Quercetin inhibits sodium nitrite-induced inflammation and apoptosis in different rats organs by suppressing Bax, HIF1- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , Smad-2, and AKT pathways. *Biochem Mol Toxicol*. 2017; 31(5): 55–60. DOI: 10.1002/jbt.21883.
2. Bahri S, Kaddour H, Karoui D, Bouraoui S, Amri M, Mokni M. Protective role of vitamin E against cadmium induced oxidative stress into the rat liver. *Tunis Med*. 2019; 97(1): 100–105.
3. Chmylenko FO, Derkach TM. *Methods of atomic spectroscopy: Atomic-absorption spectral analysis: teaching manual*. Dnipro, RVV DNU; 2002: 120 p. (in Ukrainian)
4. Danilovich GV, Gruzina TG, Ulberg ZR, Kosterin SO. Identification and catalytic properties of Mg<sup>2+</sup>-dependent ATP-hydrolase of plasmic membrane of *Bacillus* sp. B4253 capable to gold accumulation. *Ukr. Biochem. Jour*. 2004; 76(5): 45–51. (in Ukrainian)
5. Derecha LM. Macro- and trace elements: modern ideas about their functional significance in the warm-blooded organism. *Experimental and Clinical Medicine*. 2007; 4: 21–27. (in Ukrainian)
6. Hunchak VM. To the toxicology of nitrates and nitrites in animals. *Scientific Bulletin of the S. Z. Gzytsky*. 2013; 15(3/1): 62–70. (in Ukrainian)
7. Levchenko VI, Holovakha VI, Kondrakhin IP. *Methods of laboratory clinical diagnostics of animal diseases*. Kyiv, Aharna osvita. 2010: 437 p. (in Ukrainian)
8. Maiboroda R. *Computer statistics — professional start*. Kyiv, Kyivskyi universytet. 2018: 482 p. (in Ukrainian)
9. Melnychuk DO, Melnychuk SD, Kalachniuk LH, Shevriakov MV, Kalachniuk HI. *Biochemistry: a workshop*. Kyiv, NULES of Ukraine. 2012: 528 p. (in Ukrainian)
10. Pohorielov MV, Bumeister VI, Tkach HF, Bonchev SD, Sikora VZ. *Macro- and microelements (metabolism, pathology and methods of determination): monograph*. Sumy, SumDU Publ., 2010: 147 p. (in Ukrainian)
11. Salama MF, Abbas A, Darweish MM, El-Hawwary AA, Al-Gayyar MMH. Hepatoprotective effects of cod liver oil against sodium nitrite toxicity in rats. *Pharm Biol*. 2013; 51(11): 1435–43. DOI: 10.3109/13880209.2013.796564.
12. Skalnyy AV, Rudakov IA. *Bioelements in medicine*. Moscow, ONIX 21 Century Publishing House. 2004: 272 p. (in Russian)
13. Skliarov OY, Fartushok NV, Soika LD, Smachylo IS. *Biological chemistry with biochemical methods of research: textbook*. Kyiv, Medicine. 2009: 352 p. (in Ukrainian)
14. Trakhtenberg I.M. *Problems of norm in toxicology: modern concepts and methodical approaches, basic parameters and constants*. Moscow, Meditsina. 1991: 206 p. (in Russian)

## Energy supply of laboratory rats tissues at combined action of cadmium chloride and sodium nitrite

L. D. Kuras, H. M. Erstenyuk  
kuras1205@ukr.net

Ivano-Frankivsk National Medical University,  
2 Halytska str., Ivano-Frankivsk, 76018, Ukraine

The mechanism of action of Cadmium and nitrites is different: Cadmium inhibits the enzyme systems of energy supply by replacing divalent metals; and nitrites enhance the formation of methemoglobin, which disrupts oxygen transport to cells. However, to date, the combined effect of these xenobiotics, in particular on energy metabolism, remains poorly understood. Taking into account the foregoing, the purpose of this study was to find out the state of energy metabolism in the brain and liver of rats under conditions of combined action of cadmium chloride and sodium nitrite. The intoxication was modeled as follows: cadmium chloride was administered intramuscularly. Sodium nitrite was administered with drinking water at a dose of 1/10 of LD<sub>50</sub> once a day for 10 days. Animals were divided into two groups: intact and experimental. The material was collected after decapitation under thiopental anesthesia at 1<sup>st</sup>, 14<sup>th</sup>, 28<sup>th</sup> day after the completion of the introduction of toxicants. Indicators of energy metabolism were determined as follows: activity of ATPase, lactate dehydrogenase — enzymatic method; glucose concentration — glucose oxidase method; the level of pyruvic, lactic, adenosine triphosphate (ATP) acids — spectrophotometrically; content of Zn, Cu, Mg — by atomic absorption spectrophotometer. The conducted researches indicate disturbance of energy supply of brain and liver tissues by cadmium-nitrite intoxication, which is confirmed by activation of aerobic oxidation of glucose in the brain, increase of ATP content and activity of ATPase in the investigated organs.

**Key words:** rats, energy metabolism, cadmium chloride, sodium nitrite, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-activation, Mg<sup>2+</sup>-dependent ATPase, adenosine triphosphate, glucose, lactate dehydrogenase, liver, brain