

CHAPTER «BIOLOGICAL SCIENCES»

ACID-ALKALINE STATE OF THE ORGANISM AS A REGULATOR OF THE MINERAL STATUS OF RATS' BLOOD AT CADMIUM POISONING

КИСЛОТНО-ЛУЖНИЙ СТАН ОРГАНІЗМА ЯК РЕГУЛЯТОР МІНЕРАЛЬНОГО СТАТУСУ КРОВІ ЩУРІВ В УМОВАХ ОТРУЄННЯ КАДМІЄМ

Natalia Voroshylova¹

Nelia Melnikova²

DOI: <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-021-6-29>

Abstract. The work is devoted to the study of the influence of changes in the acid-base state on the indices of mineral metabolism in the body of cadmium sulphate-poisoned 6 months age-rats. It is known that the entry of cadmium salts into the body causes disorders of protein, lipid, carbohydrate, and mineral metabolism. As well-known, the endotoxigants affect cellular structures and activate lysosomal enzymes, block mitochondrial oxidation and ribosomal synthesis, initiate free radical processes, that are accompanied by disturbance of rheology and blood coagulation, micro- and macro-circulation, water-electrolyte balance. Such caused alterations in macro- and microelement composition of poisoned animals' organisms disrupt the course of numerous metabolic processes. The research was conducted on the basis of the Department of Biochemistry and Vivarium of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine using adult 6 months-age outbred rats breeding of the Research and Production Center of Laboratory Animal Husbandry of Educational

¹ Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher,
SI prof. O.S. Kolomyichenko Institute of Otolaryngology,
National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Ukraine

² Candidate of Biological Sciences, Professor,
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Ukraine

and Scientific Institute of Veterinary Medicine and Quality and Safety of Livestock Products. Biological models of introduction of rats into the state of experimental metabolic acidosis and alkalosis before and after cadmium sulphate poisoning have been developed, as well as indices of acid-base status and mineral metabolism of the developed experimental models have been studied. The influence of the changes of parameters of acid-base state of the body on the content in the blood of poisoned rats of macronutrients (sodium, potassium, calcium, magnesium, inorganic phosphorus) and trace elements (copper, zinc, and iron). At compare of the changes in parameters of acid-base status of the blood of cadmium sulfate-poisoned animals, it was noted that the state of experimental metabolic acidosis is more expressed than alkalosis, that is more effective for correction and normalization of mineral metabolism in poisoned rats.

1. Вступ

Постійність кислотно-лужного стану (КЛС) організму є необхідною умовою його повноцінної життєдіяльності, що пов'язана з високою біохімічною реактивністю іонів гідрогену, від концентрації яких залежить активність багатьох ферментів, функціональна діяльність органів і систем. Під впливом несприятливих умов зовнішнього середовища виснажуються буферна ємність і лужний резерв у тканинах, виникає функціональна напруженість в органах та системах, які беруть участь у регуляції кислотно-лужного стану в організмі тварин. Порушення кислотно-лужного гомеостазу як у бік ацидозу, так і алкалозу, пов'язані із цілою низкою метаболічних перетворень, які впливають на фізіологічні функції та загальний стан організму [1, с. 623–629].

На сьогодні серед важких металів особливу небезпеку викликає кадмій. Відомо, що кадмій активує процеси пероксидного окиснення ліпідів, також є важливим етапом токсичного прояву інтоксикації, внаслідок чого порушується активність мембранозв'язаних ферментів, транспорт іонів і проникність клітинних мембран. Зміни структури та проникності біомембран за умов токсичної дії солей кадмію є однією із причин виникнення дисбалансу ензимних систем у клітині, що призводить до порушень гомеостазу організму. Біохімічний механізм токсичного впливу кадмію на організм тісно пов'язаний з інактивацією функціонально важливих тілових сполук, із дезорганізацією

енергоперетворюючих процесів та порушенням структури й проникності клітинних мембран [2, с. 15–20]. Деякі метали, зокрема кадмій, накопичуються в значних кількостях в окремих органах й тканинах, утворюють комплекси з високомолекулярними сполуками (білками, нуклеїновими кислотами, полісахаридами) та іншими речовинами, блокують сульфгідрильні, карбоксильні та амінні групи. Такі біохімічні перетворення завжди є складним біокінетичним процесом. У багатьох випадках він залежить від шляхів біотрансформації кадмію в органах і тканинах та швидкості елімінації з них. У зв'язку з цим пошук засобів, які сприяють зменшенню токсичної дії кадмію на організм, є актуальним завданням із позицій сучасної біохімії. З цієї метою нині застосовуються хелатори, антиоксиданти, комплексонони та інші препарати. Хелатна концепція токсичності та детоксикації кадмію в організмі зводиться до здатності катіонів металу утворювати комплекси з макро- і мікромолекулярними органічними сполуками, виведення яких відбувається дуже повільно [3, с. 40–47]. У сучасній науковій літературі не з'ясовано вплив кадмієвої інтоксикації на мінеральний обмін отруєних щурів і способи її корекції шляхом зміни параметрів кислотно-лужного стану організму. Цим зумовлено актуальність та пріоритетність досліджень, спрямованих на вивчення впливу КЛС організму з метою корекції мінерального статусу крові щурів, в умовах отруєння кадмієм.

Мета роботи – дослідити вплив змін параметрів кислотно-лужного стану крові на корекцію мінерального статусу крові щурів в умовах отруєння кадмієм.

2. Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводились на базі кафедри біохімії та віварію Національного університету біоресурсів і природокористування України під керівництвом професора Мельникової Н.М. У дослідках було використано безпородних щурів розводки науково-виробничого центру лабораторного тваринництва Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва 6-місячного віку (періоду статевої зрілості, дорослі). Тварин утримували на стандартному раціоні віварію, який включав згодовування повнораціонного комбікорму виробника АОЗТ “Фенікс”. Отруєння щурів проводилось упродовж 14 діб внутрішньочеревним уведенням ка-

дмію сульфату, який попередньо розчиняли в 0,9 % розчині натрію хлориду, з розрахунку 0,134 мг/100г маси тіла тварини, що становить 1/50 LD₅₀. Стан експериментального метаболічного ацидозу та алкалозу моделювали шляхом внутрішньочеревного введення відповідно амонію хлориду та натрію бікарбонату [4, с. 106–108]. Щурам інтактно́ї групи вводили відповідний об'єм 0,9 % розчину натрію хлориду. Експериментальні дослідження проводилися за наступною схемою: I група – інтактні щури; II – щури, отруєні кадмію сульфатом; III – щури, отруєні кадмію сульфатом, а починаючи із 15 доби, введені у стан експериментального метаболічного ацидозу; IV – щури, які знаходились у стані експериментального метаболічного ацидозу, а починаючи із 15 доби, отруєні кадмію сульфатом; V – щури, отруєні кадмію сульфатом, а починаючи із 15 доби, введені у стан експериментального метаболічного алкалозу; VI – щури, які знаходились у стані експериментального метаболічного алкалозу, а починаючи із 15 доби, отруєні кадмію сульфатом. В кожній групі було по 10 тварин. Експерименти проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовували в наукових цілях. У гепаринізованих зразках крові визначали показники кислотно-лужного стану на мікроаналізаторі газів Blood Gas Analyzer “Radelkis” (Угорщина). На приладі досліджували основні показники – величину рН, парціальний тиск вуглекислого газу і кисню – pCO₂, pO₂, величину зсуву буферних основ (ЗБО), концентрацію HCO₃⁻ та загальної вуглекислоти (CO_{2sar}) у крові дослідних тварин. Дослідження макроелементного складу крові, а саме вмісту натрію, калію, кальцію, магнію та неорганічного фосфору проводилось на біохімічному аналізаторі “Microlab 200” (Нідерланди) за методиками, які визначені інструкціями, із застосуванням стандартних наборів реактивів фірми HUMAN UKRAINE (Україна). Дослідження мікроелементного складу, а саме вмісту купруму, цинку та феруму в крові, печінці нирках й селезінці проводилось за допомогою спектрохімічного методу, використовуючи режим абсорбції на атомно-абсорбційному спектрофотометрі AAS-30 (Німеччина). Проводили мінералізацію зразків крові, печінки та нирок у муфельній печі, поступово доводячи температуру до 450⁰ С. Останню вважали закінченою тоді, коли зола набувала білого кольору. Тиглі з золю охолоджували та змочували по краплям 56 % розчином азотної кислоти, яку розводили

у співвідношенні 1:1. В якості контрольних розчинів використовували стандартні зразки розчинів металів фірми „Альфарус” (Україна). Результати досліджень оброблено за загальноприйнятими методами варіаційної статистики за допомогою комп’ютерної програми MS Excel, із використанням t-критерію Ст’юдента [5, с. 55–60]. Результати вважали достовірними при $p < 0,05$.

3. Створення експериментальних моделей змін КЛС організму в умовах отруєнь кадмієм

У медичній та ветеринарній практиці найчастіше зустрічається така форма порушень КЛС, як метаболічний ацидоз з різним ступенем компенсації. Так відомо, що в умовах метаболічного ацидозу відбуваються порушення азотного, енергетичного, мінерального обміну, анаболічних процесів у тканинах, а також ряду фізіологічних функцій організму. На тлі метаболічного ацидозу розвивається ендогенна інтоксикація за рахунок накопичення таких метаболітів як молочна, піровиноградна, сечова кислоти [1, с. 623–629]. Але відомо, що змінюючи величину рН крові можна впливати на ступінь дисоціації важких металів та їхню розчинність і це в подальшому зменшує їх токсичну дію на організм [4, с. 15–20]. Результатами проведених досліджень було встановлено, що за умов отруєння тварин сульфатом кадмію в організмі виникає стан метаболічного ацидозу, про що свідчить зниження величини рН крові, рівня CO_2 , концентрації HCO_3^- та дефіцит буферних основ порівняно з цими показниками в інтактних тварин (табл. 1).

Таблиця 1

Показники кислотно-лужного стану крові щурів, отруєних кадмію сульфатом, ($M \pm m$, $n = 10$)

Показники	Інтактні	Отруєні
pH	$7,38 \pm 0,06$	$7,32 \pm 0,05$
$p\text{CO}_2$, мм рт.ст.	$33,50 \pm 2,30$	$27,15 \pm 1,90^*$
$p\text{O}_2$, мм рт.ст.	$74,37 \pm 4,18$	$71,40 \pm 4,51$
$[\text{HCO}_3^-]$, ммоль/л	$19,32 \pm 1,40$	$16,80 \pm 1,20^*$
CO_2 зап., ммоль/л	$18,34 \pm 1,25$	$15,40 \pm 1,10^*$
ЗБО, ммоль/л	$- 3,30 \pm 0,29$	$- 9,60 \pm 0,70^*$

Примітка: * – зміни вірогідні відносно показників інтактних щурів ($P < 0,05$).

Нами була створена модель введення отруєних тварин у стан експериментального метаболічного ацидозу й алкалозу шляхом внутрішньочеревного введення амонію хлориду та натрію бікарбонату відповідно. Результати представлені в табл. 2.

Таблиця 2

Показники кислотно-лужного стану крові щурів, отруєних кадмію сульфатом та за умов його змін ($M \pm m, n = 10$)

Показники	Групи тварин				
	тварини, отруєні CdSO ₄	CdSO ₄ + метаб. ацидоз	метаб. ацидоз+ CdSO ₄	CdSO ₄ + метаб. алкалоз	метаб. алкалоз + CdSO ₄
pH	7,32 ± 0,05	7,21 ± 0,06	7,19 ± 0,05	7,54 ± 0,06	7,50 ± 0,07
pCO ₂ , мм рт.ст.	27,15 ± 1,90	19,40 ± 1,40*	24,20 ± 1,75	37,42 ± 2,70*	35,80 ± 2,65*
pO ₂ , мм рт.ст.	71,40 ± 4,51	50,22 ± 3,81*	49,45 ± 3,27*	52,31 ± 4,48*	51,72 ± 4,31*
[HCO ₃ ⁻], ммоль/л	16,80 ± 1,20	9,80 ± 0,78*	10,30 ± 0,78*	22,15 ± 1,55*	20,90 ± 1,42*
CO ₂ заг., ммоль/л	15,40 ± 1,10	11,22 ± 0,78*	12,32 ± 0,90*	21,22 ± 1,45*	22,93 ± 1,65*
ЗБО, ммоль/л	- 9,62 ± 0,70	- 16,20 ± 1,10*	- 15,30 ± 1,20*	11,74 ± 0,90*	9,82 ± 0,72

Примітка: * – зміни вірогідні відносно показників щурів, отруєних кадмію сульфатом (P<0,05)

Результати, наведені в табл. 2, свідчать, що у щурів отруєних кадмію сульфатом і введених у стан метаболічного ацидозу, величина рН крові становить 7,21 ± 0,06 порівняно з величиною рН крові у тільки отруєних тварин 7,32 ± 0,05. Рівень pCO₂ крові вірогідно зменшується на 28,5 %, концентрація HCO₃⁻ – на 41,7 %, уміст загальної вуглекислоти – на 27,2 %, величина ЗБО крові знижена з – 9,62 ± 0,70 до – 16,20 ± 1,10 ммоль/л, у порівнянні з цими показниками у тільки отруєних тварин, що свідчить про посилення у щурів стану метаболічного ацидозу. За умов уведення щурів у стан метаболічного ацидозу і отруєння кадмію сульфатом, величина рН крові становить 7,19 ± 0,05 порівняно з величиною рН крові у тільки отруєних тварин 7,32 ± 0,05. Така спрямованість змін відзначається у концентрації HCO₃⁻ та загальної

вуглекислоти. Так, у крові концентрація HCO_3^- вірогідно зменшується на 38,7 %, уміст загальної вуглекислоти – на 20 % відносно цих показників у тільки отруєних тварин. Зменшується також і рівень pO_2 крові на 30,7 %. Відзначається, що у щурів, отруєних кадмію сульфатом й введених у стан метаболічного алкалозу, величина рН крові становить $7,54 \pm 0,06$ порівняно з величиною рН крові у тільки отруєних тварин $7,32 \pm 0,05$. Вірогідно підвищуються рівень pCO_2 крові на 37,8 %, концентрація HCO_3^- – на 31,8 %, уміст загальної вуглекислоти – на 37,8 % порівняно із цими показниками у тільки отруєних тварин. Про надлишок буферних основ крові свідчить величина ЗБО, яка у щурів, отруєних кадмію сульфатом і введених у стан метаболічного алкалозу, становить $11,74 \pm 0,90$ порівняно із цією величиною у тільки отруєних тварин – $9,62 \pm 0,70$ ммоль/л. За умов введення щурів у стан метаболічного алкалозу і отруєння кадмію сульфатом, встановлено подібний характер змін досліджуваних показників. Можливо, ключовою реакцією ацидотичного стану, який виникає за умов отруєння щурів кадмію сульфатом та додаткового введення амонію хлориду, є активація ліполізу та накопичення недоокиснених продуктів за зменшення функціонування ЦТК [2, с. 33–37]. Згідно з концепцією метаболічної системи кислотно-лужного гомеостазу, істотну роль у змінах параметрів КЛС відіграють перетворення метаболітів проміжного обміну. Додаткове введення амонію хлориду отруєним щурам сприяє більшому посиленню глюконеогенезу, на що вказує активація його ключових ферментів – фруктозо-фосфатази, глюкозо-6-фосфатази. Знижується також активність гексокінази, піруваткінази, НАД-залежних ізоцитратдегідрогенази та малатдегідрогенази в тканинах, що вказує на зниження функціонування гліколізу та ЦТК [4, с. 68–84]. Результати проведених досліджень свідчать про виникнення ацидотичного стану в організмі отруєних щурів, який утримується навіть за умов введення натрію бікарбонату (див. табл. 2). Можливо, такий напрямок змін показників КЛС крові відбувається за допомогою накопичення відновлених сполук (ізоцитрату, малату, лактату), у тканинах збільшуються відновні властивості – саме такі спостерігаються при моделюванні у тварин метаболічного ацидозу. Але результати досліджень показників КЛС крові при цій експериментальній моделі вказують на зсув їх у бік метаболічного алкалозу.

Нами показано, що експериментальне застосування амонію хлориду, як кислотоутворювального агенту, посилює стан метаболічного ацидозу, який виникає за отруєння щурів кадмію сульфатом. Це дозволило зробити припущення, що у такому стані, кадмій, можливо, переходить в іонізовану (вільну) форму, що зумовлює його рухливість та здатність зв'язуватись з білками та утворювати міцні комплекси [6, с. 31–33].

4. КЛС як регулятор макроелементного статусу в організмі отруєних тварин

Відомо, що КЛС організму знаходиться у тісному зв'язку з мінеральним обміном. Актуальність дослідження вмісту макро- та мікроелементів крові визначається їх участю у багатьох біохімічних процесах, таких як мінералізації, активації ензимів, процесах згортання крові, окисного фосфорилування, гліколізу, амонієгенезу, впливом на проникність клітинних мембран тощо. Також макроелементи є складовою буферних систем крові, які забезпечують постійність кислотно-лужного стану організму [7, с. 120–134; 8, pp. 560–579]. Враховуючи вищесказане, нами було проведено дослідження по застосуванню експериментальних моделей змін параметрів КЛС як можливого коректору вмісту мінеральних речовин в крові отруєних щурів. Вміст макроелементів у крові щурів, отруєних кадмію сульфатом та за умов змін параметрів КЛС представлені в табл. 3. З представлених даних видно, що в крові отруєних щурів уміст макроелементів змінюється таким чином. У крові отруєних щурів уміст калію та кальцію підвищується на 20 % та 34,7 %, магнію – на 19 % відповідно порівняно з такими показниками в крові інтактних тварин. При цьому вміст неорганічного фосфору вірогідно знижується на 30,4 % відповідно. Вірогідних змін вмісту натрію не відмічається.

Результати проведених досліджень свідчать, що підвищення вмісту кальцію та магнію у крові отруєних тварин, ймовірно, можна пояснити, з одного боку, тим, що у нирках утворюється активний метаболіт вітаміну D₃, який впливає на утворення кальційзв'язуючого білка і мінералізацію кісткової тканини. За ураження нирок, внаслідок дії кадмію сульфату, порушується синтез активного метаболіту вітаміну D₃, в результаті чого зміню-

Вміст макроелементів у крові щурів, отруєних кадмію сульфатом, та за умов змін параметрів кислотно-лужного стану, ммоль/л (M ± m, n = 10)

Показники	Групи тварин					
	інтактні тварини	отруєні CdSO ₄	CdSO ₄ + метаб. ацидоз	метаб. ацидоз + CdSO ₄	CdSO ₄ + метаб. алкалоз	метаб. алкалоз + CdSO ₄
Натрій	145,0 ± 10,2	130,2 ± 9,4	140,0 ± 10,7	136,5 ± 10,0	135,2 ± 9,6	136,8 ± 9,6
Калій	6,50 ± 0,44	7,80 ± 0,50*	6,80 ± 0,50	8,20 ± 0,63*	7,40 ± 0,57*	7,50 ± 0,50*
Кальцій	1,93 ± 0,15	2,60 ± 0,18*	1,90 ± 0,13**	2,00 ± 0,14**	2,20 ± 0,15*	2,40 ± 0,18*
Магній	1,77 ± 0,13	2,10 ± 0,17*	1,80 ± 0,13**	1,80 ± 0,14**	1,92 ± 0,13	1,95 ± 0,15
Фосфор неорг.	2,20 ± 0,14	1,53 ± 0,12*	1,70 ± 0,12*	1,60 ± 0,12*	1,50 ± 0,10*	1,60 ± 0,11*

Примітка: * – зміни вірогідні відносно інтактних щурів (P<0,05);

** – зміни вірогідні відносно показників щурів, отруєних кадмію сульфатом (P<0,05).

ється фосфорно-кальцієвий обмін. З іншого боку, механізм кадмієвого ушкодження на кальцієвий обмін може бути наступний: гіпоксія → падіння мембранного потенціалу мітохондрій → вихід кальцію із клітини → активація фосфоліпази А → гідроліз фосфоліпідів → збільшення іонної проникності мембран → роз'єднання окиснювального фосфорилування → загибель клітини. Крім того, відомо, що підвищення вмісту кальцію у крові призводить до зниження вмісту фосфору і навпаки [8, pp. 560–579]. Застосування різних моделей уведення отруєних щурів у стан експериментального метаболічного ацидозу сприяє вірогідному зменшенню вмісту кальцію та магнію на 27% та 14,3% відповідно порівняно з цими показниками в крові лише отруєних тварин. При цьому вміст натрію, калію та неорганічного фосфору змінюється, але на рівні тенденції. При застосуванні різних моделей уведення отруєних щурів у стан експериментального метаболічного алкалозу достовірно статистичних змін досліджуваних макроелементів у крові не встановлено. Відомо, що токсичний вплив сполук кадмію сприяє остеопластичним та остеопорозним змінам кісткової тканини, що пов'язано з порушенням

абсорбції кальцію у кишечнику та ендокринним розладам [3, с. 26–27]. Також токсичний ефект кадмію сприяє втраті магнію організмом за рахунок впливу катехоламінів на магнієвий гомеокінез. За рахунок послаблення токсичного ефекту кадмію, шляхом введення тварин у стан експериментального метаболічного ацидозу, з одного боку, можливо, посилюється гормональна регуляція посиленим виведенням магнію нирками та зменшується вміст кальцію та магнію у крові тварин. А з іншого боку, механізм вказаних змін може бути зумовлено підвищенням синтезу активного метаболіту вітаміну D₃ у нирках, внаслідок чого нормалізується фосфорно-кальцієвий обмін.

5. КЛС як регулятор мікроелементного статусу в організмі отруєних тварин

Відомо, що купрум впливає на кальцій-фосфорний обмін в кістковій тканині, бере участь в процесах мінералізації білкових матриць кісток, активує кокарбоксілазу, біологічно активну форму вітаміну B₁, яка впливає на декарбоксілювання піровиноградної кислоти й перетворенні її на цитрат, що застосовується при окостинінні. Також приймає участь в імунних процесах, у ліпідному обміні, є складовою церулоплазмїна – мультифункціонального білка, який відіграє роль реактанту гострої фази запалення тощо [9, с. 46–51]. Вміст купруму в крові щурів, отруєних кадмію сульфатом та за умов змін параметрів кислотно-лужного стану представлені на рис. 1.

Як видно з даних рис. 1 вміст купруму в крові отруєних щурів зростає в 1,7 рази порівняно з показником інтактних тварин. Відомо, що купрум у крові знаходиться у зв'язаному з білками стані (церулоплазмїні), які виконують транспортну функцію, активно регулюючи його баланс у крові, що за умов отруєння може призвести до збільшення вмісту даного мікроелементу. За різних умов уведення отруєних щурів у стан експериментального ацидозу та алкалозу вірогідних змін досліджуваного мікроелементу не встановлено порівняно з отруєними тваринами. Результати досліджень вмісту купруму в печінці, нирках та селезінці підсумовані в табл. 4. Як видно з представлених даних, вміст купруму в печінці зростає в 1,5 рази, у нирках – в 6 разів порівняно з його вмістом у інтактних тварин. Натомість у селезінці його вміст виявився зменшеним в 1,5 рази відповідно.

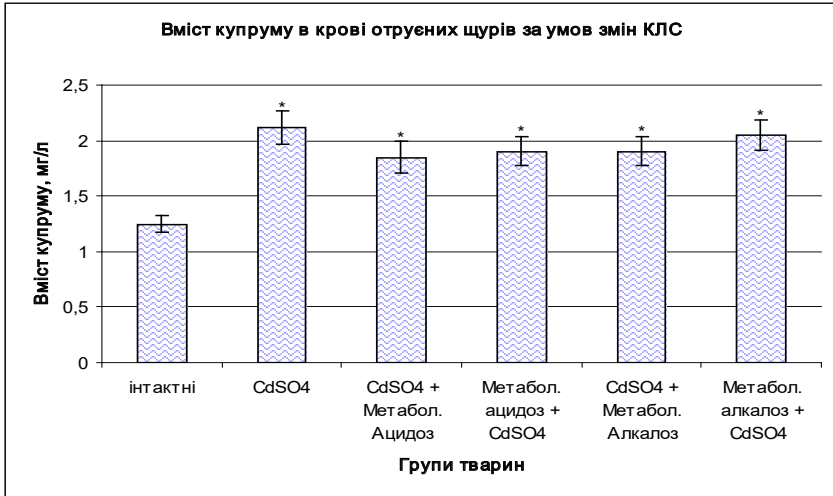


Рис. 1. Вміст купруму в крові щурів, отруєних кадмію сульфатом та за умов змін параметрів кислотно-лужного стану, мг/л, ($M \pm m$, $n = 10$)

Примітка тут і далі в рисунках й таблицях: * – зміни вірогідні відносно інтактних щурів ($P < 0,05$); ** – зміни вірогідні відносно показників щурів, отруєних кадмію сульфатом ($P < 0,05$).

Таблиця 4

Вміст купруму в печінці, нирках та селезінці щурів, отруєних кадмію сульфатом та за умов змін параметрів кислотно-лужного стану, мг/кг ($M \pm m$, $n = 10$)

Органи	Групи тварин					
	інтактні тварини	отруєні CdSO ₄	CdSO ₄ + метабо. ацидоз	метабо. ацидоз + CdSO ₄	CdSO ₄ + метабо. алкалоз	метабо. алкалоз + CdSO ₄
Печінка	2,90 ± 0,20	4,40 ± 0,32*	3,20 ± 0,22**	3,70 ± 0,26*, **	3,80 ± 0,28*	3,85 ± 0,27*
Нирки	3,50 ± 0,25	20,80 ± 1,48*	15,10 ± 1,10*, **	15,50 ± 1,10*, **	18,10 ± 1,29*	19,55 ± 1,40*
Селезінка	1,49 ± 0,11	0,97 ± 0,07*	1,00 ± 0,07	1,12 ± 0,06*	1,05 ± 0,07*	1,00 ± 0,09*

Відомо, що провідну роль в метаболізмі купруму відіграє печінка, оскільки в ній синтезується білок церулоплазмін, який має ферментативну активність та регулює гомеостаз купруму в організмі [9, с. 46–51]. У щурів, отруєних кадмію сульфатом і введених у стан метаболічного ацидозу, у печінці та нирках вміст досліджуваного мікроелементу знижується в середньому на 27 % порівняно з показником лише отруєних тварин. За умов введення щурів у стан метаболічного ацидозу і отруєння кадмію сульфатом, у печінці та нирках вміст купруму вірогідно знижується на 16 та 25,5 % відповідно порівняно з лише отруєними тваринами. За різних умов уведення отруєних тварин в стан експериментального метаболічного алкалозу, в печінці, нирках і селезінці вірогідних змін вмісту купруму не встановлено.

Таким чином, досліджуючи вміст купруму в організмі отруєних щурів можна відмітити, що даний мікроелемент має різноспрямований характер змін. Ймовірно, проявляється певний антагонізм між кадмієм та купрумом, їх ролі у змінах метаболічних процесів, які виникають під впливом важкого металу. Змінюється як активність купрумзалежних ферментів, так і посилюється пероксидація. Зміна параметрів кислотно-лужного стану організму дозволяє, деякою мірою, впливати на зменшення токсичного впливу кадмію, тим самим забезпечуючи баланс купруму в організмі тварин.

Відомо, що цинк бере участь у процесі росту та поділу клітин, кератогенезу, імунних процесах, входить до складу лужної фосфатази, має стабілізуючий вплив на цитоплазматичні мембрани тощо [10, pp. 131–136]. Вміст цинку в крові щурів, отруєних кадмію сульфатом та за умов змін параметрів кислотно-лужного стану представлені на рис. 2.

Як видно з представлених даних рис. 2, у крові отруєних щурів вміст цинку виявився збільшеним в 2,1 рази порівняно з показником інтактних тварин, що, ймовірно, обумовлено активізацією деяких купрум- та цинквмісних ферментів гемосинтезу, а також церулоплазміну, який відіграє роль в окисно-відновних реакціях, транспорті й метаболізмі купруму. А також відомо, що кадмій хімічно близький до цинку і здатний заміщувати його у біохімічних реакціях, наприклад, виступати як псевдоактиватор чи навпаки, інгібітор цинквмісних білків та ферментів [8, pp. 560–579]. У крові щурів, отруєних кадмієм та введених у стан експериментального ацидозу, вміст цинку вірогідно

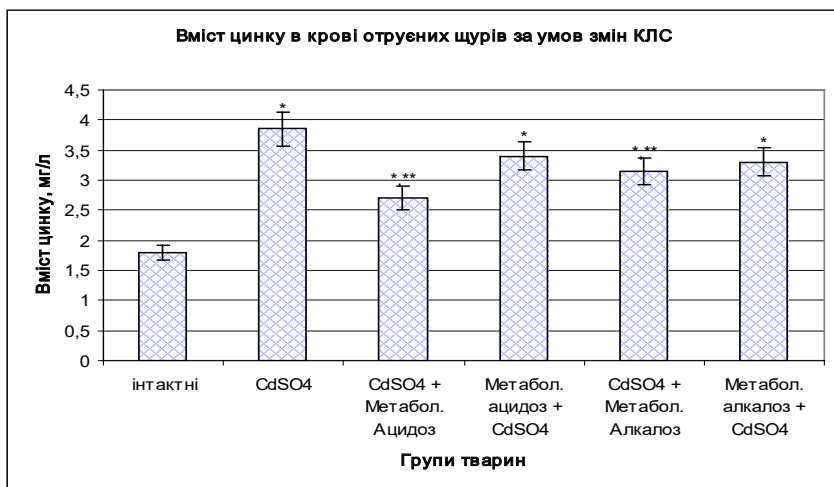


Рис. 2. Вміст цинку в крові щурів, отруєних кадмію сульфатом та за умов змін параметрів кислотно-лужного стану, мг/л, ($M \pm m$, $n = 10$)

зменшився на 32% порівняно з таким показником в отруєних тварин. Цікавим, виявилось також достовірне зменшення вмісту цинку в крові отруєних щурів й введених у стан експериментального метаболічного алкалозу на 18% порівняно з показником отруєних тварин. Відомо, що у крові цинк утворює сполуки з білками (альбумінами, глобулінами), в тканинах зв'язується з металотіонеїнами, утворює міцні зв'язки в металоферментах, а також входить до складу активних центрів близько 30 ферментів [10, pp. 131–136]. Одним з таких ферментів є карбоангідраза, яка приймає участь у функціонуванні гідрокарбонатної буферної системи крові. За умов уведення щурів у стан експериментального метаболічного ацидозу та алкалозу з послідуєчим отруєнням, вміст цинку зменшувався, але на рівні тенденції. Тому, можливо, зменшення вмісту цинку у крові отруєних тварин обумовлено непрямою його участю в регуляції КЛС організму. Результати досліджень вмісту цинку в печінці, нирках та селезінці підсумовані в табл. 5.

Як видно з представлених даних табл. 5, вміст цинку в печінці та нирках виявився в середньому в 2 рази вищим, натомість у селезінці – зменшеним в 1,6 рази порівняно з показником інтактних тварин.

**Вміст цинку в печінці, нирках та селезінці щурів,
отруєних кадмію сульфатом та за умов змін параметрів
кислотно-лужного стану, мг/к ($M \pm m$, $n = 10$)**

Органи	Групи тварин					
	інтактні тварини	отруєні CdSO ₄	CdSO ₄ + метабо. ацидоз	метабо. ацидоз + CdSO ₄	CdSO ₄ + метабо. алкалоз	метабо. алкалоз + CdSO ₄
Печінка	18,10 ± 1,30	33,50 ± 2,38*	20,00 ± 1,45**	24,40 ± 1,73**	22,10 ± 1,56*, **	30,10 ± 2,12*
Нирки	10,50 ± 0,77	22,10 ± 1,60*	16,30 ± 1,15*, **	14,40 ± 1,10*, **	16,90 ± 1,25*, **	19,00 ± 1,36*
Селезінка	13,25 ± 0,97	8,43 ± 0,62*	10,05 ± 0,74*, **	11,14 ± 0,80*, **	10,50 ± 0,74*, **	9,25 ± 0,64*

У щурів, отруєних кадмію сульфатом і введених у стан метаболічного ацидозу, в печінці вміст цинку вірогідно знижується на 40,3 %, а у нирках – на 26,2 % порівняно з показником у лише отруєних тварин. Тоді як, у селезінці вміст цинку підвищується на 19,2 % порівняно з лише отруєними тваринами. За умов введення щурів в стан метаболічного ацидозу і отруєння кадмію сульфатом теж відзначається корекція досліджуваного мікроелементу. Так, у печінці та нирках вміст цинку вірогідно знижується на 27 та 35 % відповідно, порівняно з його вмістом у лише отруєних тварин. Тоді як, у селезінці вміст цинку відповідно зростає на 32 %. У щурів, отруєних кадмію сульфатом і введених у стан метаболічного алкалозу, у печінці та нирках вміст цинку вірогідно знижується на 34 та 23,5 % відповідно порівняно з лише отруєними тваринами. У селезінці вміст цинку вірогідно підвищується на 24,6 % порівняно з лише отруєними тваринами. За умов введення щурів у стан метаболічного алкалозу і отруєння кадмію сульфатом, в усіх досліджуваних органах вірогідних змін вмісту цинку не встановлено.

Загальнобіологічна дія феруму на організм широко відома. Ферум бере участь у біосинтезі гемоглобіну, входить до складу ферментів антиоксидантного захисту організму, у крові циркулює у вигляді білка трансферину. Відомо, що кадмій може в значній мірі впливати на метаболізм феруму. При кадмієвій інтоксикації ушкоджуються нирки, печінка, тестикулярна тканина, розвивається анемія [11, с. 120–123].

Вміст феруму в крові щурів, отруєних кадмію сульфатом та за умов змін параметрів кислотно-лужного стану представлені на рис. 3.

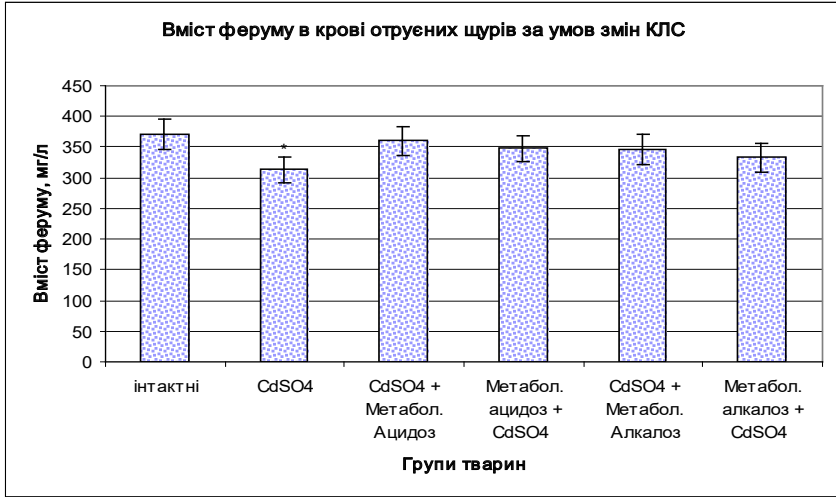


Рис. 3. Вміст феруму в крові щурів, отруєних кадмію сульфатом та з а умов змін параметрів кислотно-лужного стану, мг/л, ($M \pm m$, $n = 10$)

Як видно з представлених даних рис. 3 у крові отруєних щурів вміст феруму виявився достовірно зменшений в 1,2 рази порівняно з показником інтактних тварин. За різних умов уведення отруєних щурів у стан експериментального метаболічного ацидозу й алкалозу, відзначалося зростання вмісту феруму, але на рівні тенденції. Результати досліджень вмісту феруму в печінці, нирках та селезінці підсумовані в табл. 6.

Як видно з представлених даних табл. 6, у печінці отруєних щурів вміст феруму зростає в 1,3 рази, але при цьому в селезінці зменшується у 1,5 рази порівняно з інтактними тваринами. В нирках вміст феруму також збільшується, але на рівні тенденції. Відомо, що у селезінці постійно відбувається фагоцитоз зрілих еритроцитів та руйнування гемоглобіну. Звільнений при цьому ферум накопичується у складі білка феритину. Ці ж функції здійснюються печінкою та нирками [12, с. 23–28]. Тому, ймовірно, в умовах отруєння кадмію суль-

фатом, підвищення вмісту феруму у печінці, нирках і зниження його вмісту в селезінці, можна вважати як перерозподіл ферумдепонуючої функції між цими органами.

Таблиця 6

Вміст феруму в печінці, нирках та селезінці щурів, отруєних кадмію сульфатом та за умов змін параметрів кислотно-лужного стану, мг/кг ($M \pm m$, $n = 10$)

Органи	Групи тварин					
	інтактні тварини	отруєні CdSO ₄	CdSO ₄ + метаб. ацидоз	метаб. ацидоз + CdSO ₄	CdSO ₄ + метаб. алкалоз	метаб. алкалоз + CdSO ₄
Печінка	71,60 ± 5,15	91,00 ± 6,43*	73,10 ± 5,21**	62,20 ± 4,44**	73,40 ± 5,16**	73,40 ± 5,15**
Нирки	32,40 ± 2,32	36,10 ± 2,50	34,18 ± 2,43	36,05 ± 2,55	34,85 ± 2,45	35,40 ± 2,50
Селезінка	116,50 ± 8,16	75,50 ± 5,30*	103,80 ± 7,27**	85,20 ± 6,10*	92,80 ± 6,56*, **	82,70 ± 5,76*

За різних умов введення отруєних щурів у стан метаболічного ацидозу, у печінці вміст феруму вірогідно зменшений на 31,6 % та 19,7 % відповідно порівняно з його вмістом у лише отруєних тварин. За умов отруєння щурів кадмію сульфатом і введення у стан метаболічного ацидозу, у селезінці вміст цього мікроелементу вірогідно підвищується на 37,5 % і практично наближається до показника контрольних тварин. За різних умов введення отруєних щурів в стан метаболічного алкалозу, у печінці вміст феруму знижується в середньому на 19,3 % відносно його вмісту у лише отруєних тварин. За умов отруєння щурів кадмію сульфатом і введення у стан експериментального метаболічного алкалозу, у селезінці вміст феруму вірогідно підвищується на 23 % порівняно з його вмістом у лише отруєних тварин. При застосуванні різних моделей змін КЛС отруєних щурів у нирках відповідно вірогідних змін досліджуваного мікроелементу не відмічено. Відомо, що сполуки кадмію впливають на мікроструктури організму, викликаючи їх деструктивні зміни, в тому числі посилення гемолізу еритроцитів [13, с. 34–35; 14, с. 26–28]. Зміна резистентності еритроцитів може бути наслідком як прямого, так і опосередкованого впливу

кадмію на мембрану еритроцитів. Прямий вплив токсиканту полягає в посиленні перекисного окислення фосфоліпідів мембран клітин крові. Опосередкований вплив пов'язано з накопиченням продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [15, pp. 83–89; 16, pp. 136–143; 17, pp. 46–52]. Посилений гемоліз еритроцитів збільшує кількість вільного феруму в крові, що, в свою чергу, призводить до підвищення насичення трансферину ферумом і кількості сироваткового феритину, який депонує ферум. Важливе біологічне значення феритину для організму визначається його захисною функцією, тобто здатністю зменшувати до мінімуму кількість вільного феруму, що міститься в крові, а також у тканинах. Ферум як метал зі змінною валентністю ініціює процеси ліпопероксидації. Посилений гемоліз еритроцитів збільшує кількість вільного феруму в крові, що, в свою чергу, призводить до підвищення насичення трансферину ферумом. Таким чином, виникає порочне коло: кадмій активує процеси ПОЛ мембран клітин, зокрема, еритроцитів. В результаті спостерігається посилення гемолізу еритроцитів, що приводить до вивільнення великої кількості феруму, який також посилює процеси ПОЛ. Тому, ймовірно, в таких складних біохімічних процесах зміна параметрів КЛС організму дозволяє, в деякій мірі, регулювати постійність мінерального балансу в організмі отруєних тварин.

6. Висновки

Отже, підсумовуючи результати проведених досліджень, можна зробити такі висновки.

1. Розроблено біологічні моделі введення шурів у стан експериментального метаболічного ацидозу та алкалозу до та після отруєння кадмію сульфатом. В умовах стану експериментального метаболічного ацидозу та алкалозу, викликаного шляхом отруєння кадмію сульфатом шурів спостерігається:

а) посилення стану метаболічного ацидозу шляхом введення шурам амонію хлориду після отруєння кадмієм, на що вказує зменшення величини рН крові, рівня pCO_2 , концентрації HCO_3^- та вмісту загальної вуглекислоти, порівняно із цими показниками у лише отруєних тварин;

б) виникнення стану метаболічного алкалозу шляхом введення шурам натрію бікарбонату як до, так і після отруєння кадмієм, супро-

воджується зміною показників КЛС крові, характерних для цього стану порівняно з такими показниками у лише отруєних тварин.

2. Встановлено певні особливості в показниках мінерального обміну в організмі щурів, як отруєних кадмію сульфатом, так і за умов змін параметрів КЛС:

а) за умов отруєння кадмію сульфатом у крові щурів спостерігаються односпрямовані кількісні зміни макроелементного складу: підвищується вміст калію, кальцію, магнію, знижується – натрію та неорганічного фосфору, відносно їхнього вмісту в інтактних тварин, що свідчить про зміни буферної ємності крові;

б) відзначено більш виражені зміни вмісту кальцію та магнію у крові щурів за моделі стану метаболічного ацидозу, який посилюється після отруєння: так, вміст кальцію вірогідно знижується на 27 %, магнію – на 14,3 % порівняно з цими показниками у лише отруєних тварин.

3. За умов отруєння щурів кадмію сульфатом спостерігаються односпрямовані зміни вмісту мікроелементів: у крові вміст купруму, цинку вірогідно підвищується, а вміст феруму знижується; у печінці та нирках підвищується вміст вказаних елементів порівняно з цими показниками в інтактних тварин. Встановлено також зміни вмісту купруму, цинку та феруму в селезінці щурів, отруєних кадмію сульфатом, що вказує на порушення обміну цих мікроелементів в організмі тварин.

4. Виражену корекцію вмісту мікроелементів в організмі отруєних щурів відзначено за моделі стану експериментального метаболічного ацидозу, який посилюється після отруєння кадмієм.

5. Показано, що біологічна модель стану експериментального метаболічного ацидозу, який посилюється після отруєння кадмію сульфатом, є найбільш ефективною для корекції показників мінерального обміну.

Таким чином, виявлення закономірностей в обміні речовин пов'язаних із зміною КЛС на тлі отруєння важкими металами може підкріплюватися тим, що міграційна здатність важких металів в значній мірі залежить від величини рН середовища, в якому вони знаходяться. Відомо, що одним із найважливіших показників біохімічного стану організму є КЛС крові, який впливає на метаболічний стан у клітині, змінюючи при цьому адсорбцію, ступінь зв'язування важких металів з органічними лігандами. Разом з тим, використовуючи показники КЛС, можна впливати на зв'язування та виведення важких металів із живого

організму. Узагальнюючи теоретичні положення та аналіз власних експериментальних досліджень, експериментальні моделі змін показників КЛС можуть бути використані для корекції токсичного впливу важких металів в організмі тварин. Результати проведених досліджень поглиблюють сучасні знання механізмів дії важких металів на організм, відкривають можливості для вдосконалення шляхів детоксикації і сприяють розробці сучасних ефективних методів послаблення токсичного впливу солей важких металів на організм тварин і людини. А також отримані результати досліджень можуть слугувати основою для науково обґрунтованої корекції мінерального обміну отруєних важкими металами тварин, які перебувають на забруднених територіях.

Список літератури:

1. Лисенко О. (2016). Кислотно-лужний стан організму як діагностичний, прогностичний, патогенетичний маркер формування клітинного резерву при патологічних станах. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика*: (25): 623–629.
2. Хижняк С. (2010). Клітинні механізми токсичності кадмію: 213 с.
3. Мельникова Н., Кліх Л., Деркач Є. та ін., під редакцією професора Мельникової Н. (2015). Важкі метали: біохімічні механізми токсичного впливу на організм: Монографія: 289 с.
4. Мельникова Н., Ворошилова Н. (2016). Кадмій: вплив кислотно-лужного стану на метаболічні процеси в організмі: монографія: 250 с.
5. Урбах В. (2012). Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях: 110 с.
6. Мельничук Д., Мельникова Н., Калінін І. та ін. (2005). Показники кислотно-лужного стану шурів різних вікових груп токсикованих кадмієм. *Вісник аграрної науки*, 9: 31–33.
7. Трахтенберг І. (2011). Профілактична токсикологія та медична екологія. Вибрані лекції для науковців, лікарів та студентів / за редакцією академіка НАМН України І.М. Трахтенберга: 320 с.
8. Reis L., Pardo P., Camargos A. (2010). Mineral element and heavy metal poisoning in animals. *Journal of medicine and medical Sciences*, 1(12): 560–579.
9. Рыспекова Н., Нурмухамбетов А., Аскарва А. (2013). Роль тяжелых металлов в развитии анемий (обзор литературы). *Вестник КазНМУ*, 3(2): 46–51.
10. Staneviciene I., Sadasuskiene I., Lesauskaite V. et al. (2008). Subacute effects of cadmium and zink ions on protein synthesis and cell death in mouse liver. *Medicina (Kaunas)*, 44: 131–136.
11. Гайсина А., Каюмова А. (2009). Особенности обмена железа в организме крыс при интоксикации полихлорированными бифенилами. *Пермский медицинский журнал*, 26(3): 120–123.

12. Щербинина С., Романова Е., Левина А. и др. (2005). Диагностическое значение комплексного исследования показателей метаболизма железа в клинической практике. *Гематология и трансфузиология*, 50(5): 23–28.
13. Мельничук Д., Мельникова Н., Ворошилова Н. (2005). Мінеральний склад крові щурів в умовах введення сульфату кадмію, а також при зміні кислотно-лужного стану. *Ветеринарна медицина України*, 9: 34–35.
14. Мельникова Н., Ворошилова Н. (2008). Вплив метаболічного алкалозу на вміст мікроелементів у крові щурів, отруєних кадмію сульфатом. *Современные проблемы токсикологии*, 4: 26–28.
15. Ambica P. Jangid, John P., Yadav D. et al. (2012). Impact of chronic lead exposure on selected Biological markers. *Indian journal of clinical biochemistry*, 27(1): 83–89.
16. Mohammad D., Camel's M. (2009). Protects Against Cadmium Chloride-Induced Hypochromic Microcytic Anemia and Oxidative Stress in Red Blood Cells of White Albino Rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 4(4): 136–143.
17. Kumar A., Tivari M., Abbas Ali Mahdi, Zahra F. et al. (2012). Evaluation of low blood lead levels and its association with oxidative stress in pregnant anemic women: a comparative prospective study. *Indian journal of clinical biochemistry*, 27(3): 46–52.

References:

1. Lysenko O. (2016) Kyslotno-luzhnyj stan organizmu yak diagnostychnyj, prognostychnyj, patogenetychnyj marker formuvannya klitynnogo rezervu pry patologichnyx stanax [Acid-base state of the organism as a diagnostic, prognostic, pathogenetic marker of cell reserve formation in pathological conditions]. *Collection of scientific works of NMAPE named after P. L. Shupika*, vol. 25, pp. 623–629.
2. Xyzhnyak S. (2010) Klitynni mexanizmy toksychnosti kadmiyu [Cellular mechanisms of cadmium toxicity]. Kyiv: LATGK. (in Ukrainian)
3. Melnykova N., Klix L., Derkach Ye. ta in. / pid redakciyeyu profesora Melnykovoyi N. (2015) Vazhki metaly: bioximichni mexanizmy toksychnogo vplyvu na organizm [Heavy metals: biochemical mechanisms of toxic effects on the body: Monograph]. Kyiv: CP Kompyrnt. (in Ukrainian)
4. Melnykova N., Voroshylova N. (2016) Kadmij: vplyv kyslotno-luzhnogo stanu na metabolichni procesy v organizmi [Cadmium: the influence of acid-base state on metabolic processes in the body: monograph]. Kyiv: CP Kompyrnt. (in Ukrainian)
5. Urbah V. (2012) Statisticheskij analiz v biologicheskix i meditsinskix issledovaniyah [Statistical analysis in biological and medical research]. Moscow: EE Medya. (in Russian)
6. Melnychuk D., Melnykova N., Kalinin I. ta in. (2005) Pokaznyky kyslotno-luzhnogo stanu shhuriv riznyx vikovyx grup toksykovanyx kadmiyem [Indicators of acid-base status of rats of different age groups toxic to cadmium]. *Bulletin of Agrarian Science*, no. 9, pp. 31–33.

7. Traxtenberg I. (2011) Profilaktychna toksykologiya ta medychna ekologiya. Vybrani lekciyi dlya naukovciv, likariv ta studentiv / za redakciyeyu akademika NAMN Ukrayiny I.M. Traxtenberga [Preventive toxicology and medical ecology. Selected lectures for scientists, doctors and students: edited by Academician of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine IM Trachtenberg]. Kyiv: VD Avicena. (in Ukrainian)
8. Reis L., Pardo P., Camargos A. (2010) Mineral element and heavy metal poisoning in animals. *Journal of medicine and medical Sciences*, 1(12): 560–579.
9. Ryspekova N., Nurmuhambetov A., Askarova A. (2013) Rol tyazheliyh metalliv v razvitii anemuy (obzor literaturyi) [The role of heavy metals in the development of anemia (literature review)]. *Bulletin of KazNMU*, vol. 3, no. 2, pp. 46–51.
10. Staneviciene I., Sadasuskiene I., Lesauskaite V. et al. (2008) Subacute effects of cadmium and zink ions on protein synthesis and cell death in mouse liver. *Medicina (Kaunas)*, 44: 131–136.
11. Gaysina A., Kayumova A. (2009) Osobennosti obmena zheleza v organizme kryis pri intoksikatsii polihlorirovannyimi bifenilami [Features of iron metabolism in rats in intoxication with polychlorinated biphenyls]. *Perm Medical Journal*, vol. 26, no. 3, pp. 120–123.
12. Scherbinina S., Romanova E., Levina A. i dr. (2005) Diagnosticheskoe znachenie kompleksnogo issledovaniya pokazately metabolizma zheleza v klinicheskoy praktike [Diagnostic value of complex research of indicators of iron metabolism in clinical practice]. *Hematology and Transfusiology*, vol. 50, no. 5, pp. 23–28.
13. Melnychuk D., Melnykova N., Voroshylova N. (2005) Mineralnyj sklad krovi shhuriv v umovax vvedennya sulfatu kadmiyu, a takozh pry zmyni kyslotno-luzhnogo stanu [The mineral composition of the blood of rats in the introduction of cadmium sulfate, as well as changes in acid-base status]. *Veterinary Medicine of Ukraine*, no. 9, pp. 34–35.
14. Melnykova N., Voroshylova N. (2008) Vplyv metabolichnogo alkalozu na vmist mikroelementiv u krovi shhuriv, otruyenykh kadmiyu sulfatom [The effect of metabolic alkalosis on the content of trace elements in the blood of rats poisoned with cadmium sulfate]. *Contemporary Problems of Toxicology*, no. 4, pp. 26–28.
15. Ambica P. Jangid, John P., Yadav D. et al. (2012) Impact of chronic lead exposure on selected Biological markers. *Indian journal of clinical biochemistry*, 27(1): 83–89.
16. Mohammad D., Camels M. (2009) Protects Against Cadmium Chloride-Induced Hypochromic Microcytic Anemia and Oxidative Stress in Red Blood Cells of White Albino Rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 4(4): 136–143.
17. Kumar A., Tivari M., Abbas Ali Mahdi, Zahra F. et al. (2012) Evaluation of low blood lead levels and its association with oxidative stress in pregnant anemic women: a comparative prospective study. *Indian journal of clinical biochemistry*, 27(3): 46–52.