

УДК: 615.91

ИЗМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ СУБХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ХЛОРИДА КАДМИЯ НА ФОНЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

Шабардина Лада Владимировна, Сахаутдинова Рената Рашидовна

ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий»

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Кадмий – распространенный элемент в различных отраслях промышленности. Накопление этого металла в организме ведет к полисистемным нарушениям. Физическая активность, с одной стороны, способствует более быстрой элиминации токсикантов, а с другой стороны – является причиной ухудшения состояния здоровья, особенно в сочетании с экспозицией к токсическим агентам. **Цель исследования** – оценка изменений показателей печени крыс после интраперитонеального введения хлорида кадмия на фоне физической нагрузки в ходе субхронического эксперимента. **Материал и методы.** На протяжении 6 недель самцы крыс получали интраперитонеальные инъекции хлорида кадмия в сочетании с физической нагрузкой. В конце эксперимента было проведено морфометрическое и цитологическое исследование печени, методом отгисской цитологии. Статистическую обработку осуществляли с помощью t-критерия Стьюдента, $p < 0,05$. **Результаты.** Интраперитонеальное введение хлорида кадмия привело к изменению морфометрических и цитологических показателей печени: возросло количество нейтрофилов, эозинофилов и клеток Купфера; отмечалось повышение относительной массы печени. Цитологическое исследование мазков-отпечатков печени выявило статистически значимое снижение доли гепатоцитов у всех опытных групп. Физическая нагрузка в данном случае оказала неоднозначное воздействие. **Выводы.** После субхронического воздействия кадмия на фоне физической нагрузки у крыс изменяются морфометрические и цитологические показатели печени. Однако часть этих изменений была нивелирована, а другая, наоборот, усилена дополнительной физической активностью, что подтверждает неоднозначное влияние данного фактора на развитие кадмиевой интоксикации.

Ключевые слова: кадмий; физическая нагрузка; сочетанное действие; субхронический эксперимент

CHANGES IN SOME INDICATORS OF THE LIVER OF RATS AFTER SUBCHRONIC EXPOSURE TO CADMIUM CHLORIDE DURING PHYSICAL LOAD

Shabardina Lada Vladimirovna, Sakhautdinova Renata Rashidovna

Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers

Yekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. Cadmium is a common industrial element. The accumulation of this metal in the body leads to multisystem disorders. Physical activity promotes faster elimination of toxicants at the same time it is a cause of deterioration of health especially in combination with exposure to toxic agents. **The aim of the study** is to evaluate the changes in some indicators of the liver of rats after intraperitoneal administration of cadmium chloride against the background of physical activity during a subchronic experiment. **Material and methods.** Male rats treated intraperitoneal injections of cadmium chloride in combination with exercise for 6 weeks. At the end of the experiment, morphometric and cytological study of the liver was carried out using the impression cytology method. We estimated the statistical significance of differences between the groups in the mean values of the indices by Student's t-test, $p < 0,05$. **Results.** Intraperitoneal administration of cadmium chloride led to changes in the morphometric and cytological parameters of the liver: the number of neutrophils, eosinophils and Kupffer cells increased; an increase in the standard of living of the population was noted. A cytological study of liver smears revealed characteristic features of a decrease in the proportion of hepatocytes in all experimental groups. The physical impact in this case has an ambiguous effect. **Conclusion.** Morphometric and cytological parameters of the liver in rats changed after subchronic exposure to cadmium during physical activity. However, some of these changes were leveled out, while others, on the contrary, were enhanced by additional physical activity. This confirms the ambiguous influence of this factor on the development of cadmium intoxication.

Keywords: cadmium; physical load; combined action, subchronic experiment

ВВЕДЕНИЕ

Кадмий является токсичным элементом, широко используемым в различных отраслях промышленности. Ввиду отсутствия физиологических функций в человеческом организме и длительного периода полураспада кадмий и его соединения представляют серьезный риск для здоровья рабочих, подверженных экспозиции к данным поллютантам в ходе своей трудовой деятельности. Накопление этого металла в организме ведет к полисистемным нарушениям, особенно сильно подвержены им печень, почки и кости [1].

По данным мировой и отечественной научной литературы кадмий индуцирует развитие окислительного стресса, нарушая работу антиоксидантной системы, вызывает повреждение структуры ДНК, тем самым приводя к структурным и метаболическим нарушениям в печени [1]. Кадмий относится к группе тиоловых ядов, он обладает способностью связываться с SH-группами белковых молекул, замещать эссенциальные микроэлементы, входящие в состав многих ферментов, тем самым ингибируя ряд важных метаболических реакций, а также нарушать структуру клеточных мембран путем взаимодействия с их компонентами [2].

Кроме того, реальные условия труда на промышленных предприятиях часто сопряжены не только с химическим воздействием на организм, но и с физической нагрузкой. Физическая работа в таком контексте играет неоднозначную роль, выступая, с одной стороны, как протектор, усиливающий интенсивность кровообращения и обменные процессы, тем самым способствуя более быстрой элиминации токсикантов, а с другой стороны – эти же механизмы могут усугублять воздействие химических агентов, а также увеличивать их поступление посредством чрезмерной легочной вентиляции.

Цель исследования – оценка изменений показателей печени крыс после интраперитонеального введения хлорида кадмия на фоне физической нагрузки в ходе субхронического эксперимента.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент был проведён на аутбредных крысах-самцах возрастом 3-4 месяцев и весом около 300 г (разброс не превышал $\pm 20\%$). Животные были разделены на четыре группы по 14 особей в каждой: первая группа («Контроль») – контрольная и получала только инъекции изотонического раствора хлорида натрия; вторая группа («Cd») – интраперитонеально получала инъекции раствора хлорида кадмия третья группа («ФН») – подвергалась воздействию физической нагрузки; четвертая группа («Cd+ФН») – подвергалась сочетанному воздействию двух этих факторов. Крысам второй и четвертой группы интраперитонеально вводили 2,5-водный раствор хлорида кадмия в разовой дозе 0,77 мг/кг м.т. 3 раза в неделю, в течение 6 недель. Физическую нагрузку животным групп «ФН» и «Cd+ФН» моделировали с использованием беговой дорожки для крыс «TSE Treadmill System GmbH» («TSE Systems International Group», Германия), 10 мин в день, 5 дней в неделю на скорости 25 м/мин, в течение 6 недель. Животные содержались в специально оборудованном помещении вивария ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора. Условия содержания соответствовали «Международным руководящим принципам по этическим аспектам биомедицинских исследований на животных», разработанных CIOMS и ICLAS (2012). Эксперименты выполняли согласно требованиям этического комитета

После выведения животных из эксперимента была проведена аутопсия с макроскопическим осмотром органов и регистрацией их массы как в абсолютных величинах, так и в пересчёте на 100 грамм массы тела животного. Печень была использована для изготовления препаратов мазков-отпечатков. Для приготовления препаратов использовали стандартные, обезжиренные, сухие стекла. Подготовленные препараты окрашивали красителем Лейшмана в течение 3 мин, промывали под проточной водой и после окрашивали красителем (40 мл 0,1 % красителя азур II, 30 мл 0,1 % водорастворимого эозина и 70 мл дистиллированной воды) в течение 30 мин. Микроскопирование осуществляли с использованием микроскопа Carl Zeiss Primo Star на увеличении x100 и x1000. При микроскопировании препаратов печени, подсчитывали 200 клеток с каждого мазка. Построение графиков осуществлялась с использованием методов статистического анализа в пакетах прикладных программ MS Excel 2013. Статистическая значимость межгрупповых различий средних значений всех полученных показателей оценивалась с помощью t-критерия Стьюдента с поправкой на множественные сравнения, различия считались статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Интраперитонеальное введение хлорида кадмия привело к изменению 71,4 % морфометрических и цитологических показателей печени, физическая нагрузка в данном

случае оказала неоднозначное воздействие: в 28,5 % случаев она нивелировала токсические эффекты кадмиевой интоксикации, в 42,8 % не способствовала улучшению, а в 14,3 % усугубляла воздействие химического фактора.

Оценка массовых показателей выявила статистически значимое повышение относительной массы печени во всех группах животных, подвергавшихся инъекциям хлорида кадмия (Рис. 1).

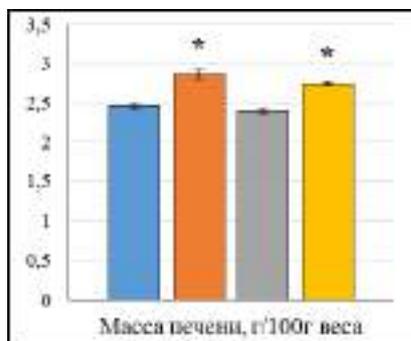


Рис. 1 Относительная масса (на 100 г массы тела) печени крыс, подвергшихся сочетанному либо изолированному воздействию кадмия и физической нагрузки. Голубым цветом – «Контроль», оранжевым – «Сb», серым – «ФН», желтым – «Сb+ФН». Значком «*» обозначены статистически значимые различия с группой «Контроль» .

Цитологическое исследование мазков-отпечатков печени выявило статистически значимое снижение доли гепатоцитов у всех опытных групп. Отмечалось достоверное увеличение дегенеративно измененных гепатоцитов в группе сочетанного действия. У животных, подверженных изолированному действию кадмия наряду со статистически значимым возрастанием количества нейтрофилов и эозинофилов отмечался рост числа клеток Купфера. В то же время, повышение гранулоцитов было нивелировано в группе с дополнительной физической нагрузкой. Стоит отметить, что среди крыс, подвергавшихся только беговой активности показатели нейтрофилов и эозинофилов, были самыми высокими (Рис. 2).

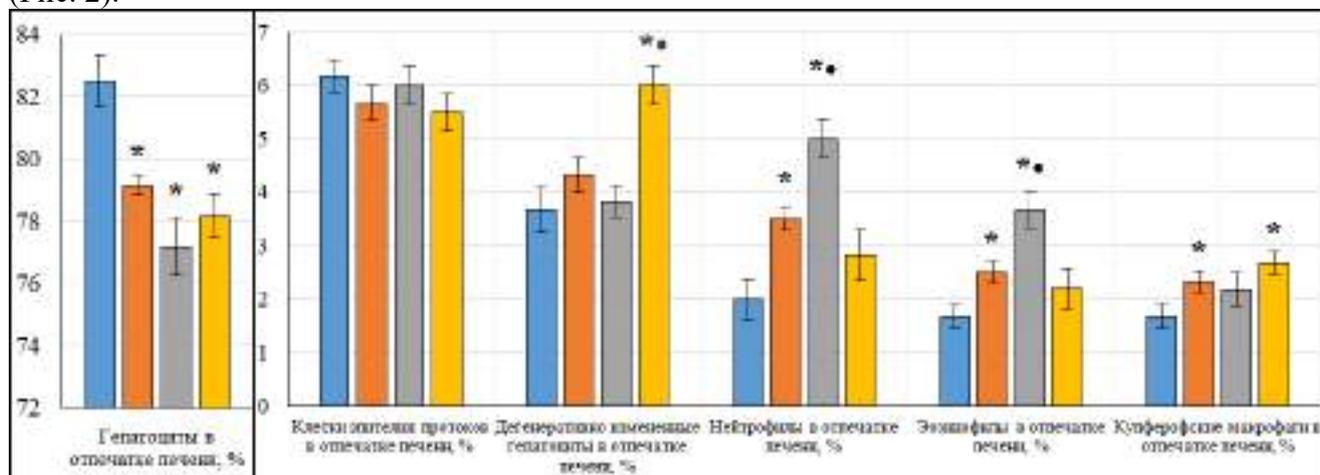


Рис. 2 Цитологические показатели печени крыс, подвергшихся сочетанному либо изолированному воздействию кадмия и физической нагрузки. Голубым цветом – «Контроль», оранжевым – «Сb», серым – «ФН», желтым – «Сb+ФН». Значком «*» обозначены статистически значимые различия с группой «Контроль», «**» - статистически значимые различия с группой «Сd»

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что печень является одним из основных органов, осуществляющим метаболизм и обезвреживание токсикантов, что в свою очередь делает ее и основной мишенью их негативного воздействия. В основе гепатотоксического действия кадмия лежат два механизма – первичный, путем развития окислительного стресса, связывания кадмия с SH-группами, изменения проницаемости митохондрий и дальнейшего развития их дисфункции и вторичный через запуск воспалительных реакций посредством активации Купферовских клеток и высвобождения провоспалительных хемокинов и цитокинов [2].

Провоспалительные эффекты кадмия были подтверждены в ходе моделирования субхронической кадмиевой интоксикации. Интраперитонеальное введение токсиканта вызывало в печени увеличение количества Купферовских клеток, нейтрофилов и эозинофилов, что может быть следствием формирования защитной реакции в организме [3].

Хорошо известно, что развитие патологии печени сопровождается заметным увеличением дегенеративно измененных клеток, что часто связано с дистрофическими процессами. Чрезмерное возрастание дегенеративно измененных клеток в группе сочетанного воздействия может быть вызвано повышением проницаемости клеточных мембран и усиленным кровообращением, что в совокупности вело к более интенсивному контакту с токсикантом и его проникновению внутрь клеток [4].

Статистически значимое возрастание числа нейтрофилов и эозинофилов у животных группы «ФН» согласуется с данными о том, что физические упражнения могут быть сопряжены с воспалением и способствуют выработке интерлейкинов, а также увеличению циркулирующих нейтрофилов и эозинофилов [5, 6]. Отсутствие данного эффекта у крыс группы сочетанного действия может свидетельствовать об усилении на фоне физической активности кадмий-индуцированного снижения числа гранулоцитов [7].

ВЫВОДЫ

Анализ морфометрических и цитологических показателей печени крыс после сочетанного воздействия кадмия и физической нагрузки выявил:

1. увеличение повышение относительной массы печени у животных, подвергнутых как изолированному воздействию кадмия, так в сочетании с физической нагрузкой.

2. воздействие кадмия индуцирует возрастание числа нейтрофилов, эозинофилов и Купферовских клеток в печени крыс.

3. часть морфометрических и цитологических изменений в печени была нивелирована у животных с дополнительной физической активностью – нейтрофилы и эозинофилы в мазках-отпечатках, а другая, наоборот, усилена – дегенеративно измененные гепатоциты.

Полученные результаты еще раз подтверждают неоднозначное влияние физической нагрузки на организм в условиях экспозиции ко вредным поллютантам.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. The Effect of Oxidative Stress-Induced Autophagy by Cadmium Exposure in Kidney, Liver, and Bone Damage, and Neurotoxicity / Y. Ma, Q. Su, C. Yue [и др.] // *Int J Mol Sci.* – 2022. – Vol. 23. № 21. – P. 13491.
2. Insight into the oxidative stress induced by lead and/or cadmium in blood, liver and kidneys / V. Matović, A. Buha, D. Đukić-Ćosić [et al.] // *Food Chem Toxicol.* – 2015. – Vol. 78. – P. 130-40.
3. Применение цитологического метода исследования мазков у экспериментальных животных для оценки токсического действия металлосодержащих наночастиц / Р.Р. Сахаутдинова, М.П. Сутункова, И.А. Минигалиева [и др.] // *Гигиена и санитария.* – 2020. – Т. 1. – С. 120-124.
4. Влияние интенсивных физических нагрузок на биохимические показатели систем антиоксидантной защиты и оксида азота у спортсменов-пловцов / Т.В. Блинова, Л.А. Страхова, С.А. Колесов // *Мед. труда и пром. экол.* – 2019. – Т. 10. – С. 860-865.
5. da Silva, F.O.C. Physical exercise, inflammatory process and adaptive condition: an overview / F.O.C. da Silva, D.V. Macedo // *Rev. bras. cineantropom. desempenho hum.* – 2011. – Т. 13. № 4.
6. Recovery of the immune system after exercise / J.M. Peake, O. Neubauer, N.P. Walsh [et al.] // *J Appl Physiol.* – 2017. – Vol. 122, № 5. – P. 1077-1087.
7. Blood cell responses and metallothionein in the liver, kidney and muscles of bullfrog tadpoles, *Lithobates catesbeianus*, following exposure to different metals / C.S. Carvalho, H.S.M. Utsunomiya, T. Pasquato [et al.] // *Environ Pollut.* – 2017. – Vol. 221. – P. 445-452.

Сведения об авторах

Л.В. Шабардина* – младший научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики

Р.Р. Сахаутдинова – заведующая ДЛО НПО Лабораторно-диагностических технологий

Information about the authors

L.V. Shabardina* – Researcher of the Department of Toxicology and Bioprophylaxis

R.R. Sakhautdinova – Head of the DLD RPD «Laboratory diagnostic technologies»

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

Lada.shabardina@mail.ru