



Метаболічні процеси в організмі та в кістках експериментальних тварин за умов впливу іонів кадмію та нітритів



Н. С. Хопта, А. Л. Романюк, Л. Я. Нечитайло, А. М. Ерстенюк

nhopta@ifnmu.edu.ua

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

ORCID:

N. S. Khopta <https://orcid.org/0009-0009-1350-2089>
A. L. Romaniuk <https://orcid.org/0009-0002-7667-0484>
L. Ja. Netchitajlo <https://orcid.org/0000-0002-7330-3411>
A. M. Ersteniuk <https://orcid.org/0000-0002-5291-5347>

Authors' Contributions:

KNS: Investigation; Formal analysis; Writing — original draft.

RAL: Writing — review & editing.

NLJ: Data curation.

EAM: Conceptualization; Supervision.

Declaration of Conflict of Interests:

None to declare.

Ethical approval:

The research methodology was approved by the Bioethics Commission of the Ivano-Frankivsk National Medical University (protocol no. 149/25 from 23.01.2025).

Acknowledgements:

None.



Attribution 4.0 International
(CC BY 4.0)

Важкі метали, до яких належить кадмій, а також нітрати й нітрити відносять до найбільш поширених політантів довкілля. Відомо, що стан кісткової тканини визначається узгодженістю процесів де- та ремінералізації, збалансованістю кальцій-фосфатного обміну, вмістом есенціальних біоелементів, активністю ензимів, що забезпечують ступінь мінеральної щільності кісток. В експерименті вивчали маркери кісткового метаболізму у плазмі крові та стегнових кістках білих щурів-самців за умов комплексної дії іонів кадмію і нітритів. Інтоксикацію тварин здійснювали упродовж десяти діб введенням відповідної солі (водний розчин NaNO_2 з питною водою та внутрішньом'язово розчин CdCl_2) у дозі $1/10 \text{ LD}_{50}$ щоденно один раз на добу. Показники кісткового метаболізму досліджували на 1-шу, 14-ту та 28-му доби після завершення введення токсикантів. У плазмі крові визначали концентрацію загального й іонізованого кальцію, магнію, фосфатів, оксипроліну, активності лужної і кислотої фосфатази за стандартизованими методиками. Вміст у стегнових кістках біоелементів кальцію, магнію, цинку, купруму й токсичного кадмію визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115ПК. Мінеральну щільність кісткової тканини (МЩКТ) визначали методом рентгенівської денситометрії. Експеримент проводили з дотриманням вимог біоетики. Результати дослідження показали, що за умов комплексної дії досліджуваних токсикантів у плазмі крові відбуваються суттєві зміни концентрації загального й іонізованого кальцію, магнію, фосфатів. Зростає концентрація оксипроліну та активність кислотої фосфатази як маркерів діяльності остеокластів. Водночас активність лужної фосфатази знижується, що свідчить про пригнічення функції остеобластів. У мінеральній фазі стегнових кісток виявили зменшення вмісту остеотропних біоелементів на тлі зростання токсичного кадмію. Також суттєво знижувалася мінеральна щільність стегнових кісток, особливо в ділянках головки та шийки. Найбільші зміни спостерігали на 14-ту і 28-му доби після введення токсикантів. Одержані результати засвідчують порушення кальцій-фосфатного обміну та процесів ремоделювання кісткової тканини в інтоксикованих щурів, зокрема про переважання процесів остеокластичної резорбції над остеосинтезом.

Ключові слова: кадмію хлорид, натрію нітрит, кісткова тканина, маркери кісткового метаболізму, остеотропні біоелементи, мінеральна щільність

Вступ

У сучасних умовах України, коли на значній території відбуваються активні бойові дії та одночасно ведеться інтенсивне аграрне виробництво із застосуванням мінеральних добрив, загрозливо зростає забруднення довкілля солями важких металів, зокрема кадмію (Cd), а також нітратами й нітридами. Дослідження, проведені в північних областях — Чернігівській, Сумській і Харківській — показали, що ґрунти містять небезпечно високий рівень важких металів, а це створює потенційну загрозу для сільського господарства й екосистем [2, 4]. Однак військові дії не є єдиним чинником впливу на погіршення якості ґрунтів — чимало важить порушення агротехніки, наприклад, надмірне використання мінеральних добрив, зокрема азотних. У відносно екологічно чистому Прикарпатському регіоні забруднення ґрунтів, водою й джерел питної води іонами Cd, а також нітратами й нітридами виявлено поблизу Бурштинської ДРЕС, у районах з інтенсивним агропромисловим і навіть на деяких територіях гірської зони Карпат [14, 15].

Проблема забруднення довкілля важкими металами стоїть на порядку денному у світі вже не одне десятиліття. Зокрема, відомо, що антропогенний чинник поширення сполук Cd в екосистемах утричі перевищує природні джерела надходження [23]. Відповідно, по харчових ланцюгах Cd потрапляє в організм тварин і людини. Аналіз харчових дієт розвинутих країн за даними низки авторів [15] показав, що в організм дорослої людини з їжею надходить від 4 до 84 мкг Cd щоденно, хоча оптимальна його кількість не повинна перевищувати 1–5 мкг/добу, тимчасом порогова токсичність становить 30 мкг/добу [23]. Цигарковий дим також вносить вагому частку в отруєння організму Cd [8, 18]. Механізм токсичного впливу Cd зумовлений його здатністю активувати процеси пероксидації ліпідів і протеїну (при одночасному пригніченні антиоксидантного захисту), порушувати цілісність мембран, інгібувати активність ензимів, що мають важливе значення для підтримання гомеостазу організму [9, 10, 20, 23]. Відома хвороба ітай-ітай — отруєння людей, викликане вживанням рису, що містив сполуки Cd. При цьому розвивається ушкодження нирок та кісток [19, 20].

Поряд з важкими металами нітрати й нітриди вже тривалий час залишаються найпоширенішими політантами довкілля в багатьох країнах світу, зокрема і в Україні. Особливо чутливі до їхньої токсичної дії такі категорії населення: діти, вагітні, хронічно хворі з патологією кардіо- та респіраторної систем [5, 11, 24]. Найнебезпечнішою з точки зору ураження нітратами є вода з колодязів і поверхневих джерел. Гранично допустима концентрація нітратів у воді 50 мг/л, а більш токсичних нітритів — 0,5 мг/л. За деякими даними [4, 5] в окремих сільських місцевостях ще до 2022 року рівень нітратів у криничній воді значно перевищував допустимі показники. Також відомо, що

харчова добавка E250 (натрій нітрит NaNO_2) використовується як консервант і поліпшувач забарвлення рибних і м'ясних продуктів [6]. В організмі значна частина нітратів відновлюються у більш токсичний метаболіт нітрит-іон (NO_2^-), який, як свідчать дослідження [5, 11, 21, 22], сприяє окисненню гемоглобіну до метгемоглобіну, внаслідок чого розвивається гемічна гіпоксія та знижується інтенсивність енергетичного обміну. Ще одним фактором токсичності нітритів є їхня здатність метаболізувати до канцерогенних нітрозамінів. Однак немає достатньої інформації щодо впливу нітритів на стан кісткової тканини.

Зважаючи на сказане вище, актуальним є дослідження впливу іонів Cd^{2+} та NO_2^- на показники метаболічних процесів у кістковій тканині експериментальних тварин. Тому метою цієї роботи було дослідити комплексний вплив кадмію хлориду (CdCl_2) і натрію нітриту (NaNO_2) на показники метаболічних процесів у кістковій тканині білих щурів, вміст остеотропних біоелементів і МЩКТ у різних ділянках стегнових кісток тварин.

Методи дослідження

Експерименти проводили на білих безпородних щурах-самцях ($n=36$) з масою тіла 170–240 г, яких утримували в умовах віварію на стандартному раціоні. Утримання тварин і маніпуляції з ними проводилися з дотриманням вимог біоетики згідно з українським законодавством та відповідно до положень Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин (Страсбург, 1986). Тварин було поділено на чотири групи: перша група — інтактні ($n=12$), служили контролем; друга, третя й четверта — інтоксиковані тварини. Інтактним тваринам вводили фізіологічний розчин (0,9 % розчин NaCl) відповідного об'єму. Інтоксикацію тварин здійснювали протягом десяти діб введенням відповідної солі в дозі $1/10 \text{ LD}_{50}$ щоденно один раз на добу (водний розчин NaNO_2 з питною водою 21 мг/кг та внутрішньом'язово розчин CdCl_2 1,2 мг/кг маси тіла тварини). З метою вивчення показників у різний період адаптації білих щурів до впливу іонів Cd^{2+} та NO_2^- забір матеріалу (кров і стегові кістки) проводили після декапітації під легким ефірним наркозом на 1-шу (друга група тварин), 14-ту (третя група) та 28-му добу (четверта група) після завершення введення токсикантів. У плазмі крові визначали концентрацію загального й іонізованого кальцію (Ca), магнію (Mg), рівень фосфатів, активність лужної (ЛФ) і кислої (КФ) фосфатази за допомогою уніфікованих методик з використанням наборів реактивів «Simko LTD», «Lachema» та «Філісит-Діагностика». МЩКТ вимірювали за допомогою еталонної рентгенівської денситометрії (апарат KUNT CERD-701) у різних ділянках стегнових кісток: діафіза, епіфіза, головки, шийки. Після проведення денситометричних вимірювань стегові кістки озолювали й у золі визначали концентрацію

біоелементів Ca, Mg, цинку (Zn), купруму (Cu), а також Cd на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115ПК. Отримані результати опрацьовано з використанням критерію Стюдента. Усі дані аналізували за допомогою програми *Statistica 8.0* (*StatSoft Inc.*, США). Результати в таблицях показано як $\bar{x} \pm SE$ (середнє значення $\pm$ стандартна похибка). Відмінності між значеннями вважали вірогідними за $P < 0,05$ [23].

Результати й обговорення

Проведені дослідження показали, що за умов комплексної дії іонів Cd^{2+} та NO_2^- в організмі інтоксикованих тварин спостерігаються суттєві зміни активності ензимів, які є маркерними для стану остеобластів та остеокластів (табл. 1). Лужна фосфатаза (ЛФ, гідролаза, шифр КФ 3.1.3.1.) — гомодимерний глікопротеїн, у кожному мономері якого є п'ять залишків цистеїну, два атоми цинку й один магнію, які формують його активний центр. ЛФ дефосфорилює субстрати, активна в лужному середовищі [5, 7]. Кістковий ізоензим лужної фосфатази, глікопротеїн, який локалізується в мембранах остеобластів, характеризує їх діяльність у процесі остеосинтезу (кісткоутворення) та становить значну частину загальної активності ЛФ. Тому визначення загальної активності ЛФ служить маркером ремоделювання кісткової тканини [6]. Дослідження цього показника в різних групах тварин показало, що активність ензиму ЛФ вірогідно знижувалася протягом усього періоду спостереження, а найнижчу активність зафіксовано на 28-му добу — вона на 47 % менша, ніж в інтактних тварин. Кисла фосфатаза (КФ, шифр КФ 3.1.3.2.) — лізосомальний ензим, який дефосфорилює субстрати. КФ монофосфоестераза в активному центрі містить іони Zn^{2+} та окисно-відновну групу $Fe^{2+/3+}$ [19]. Багатоядерні клітини, що беруть участь у резорбції кістки і хряща — остеокласти, секретують кістковий ізоензим кислої фосфатази — тартратрезистентну кислоту фосфатазу (ТРКФ) [13, 16]. Підвищення її активності свідчить про посилення процесів руйнування кісткової тканини [1], а також спостерігається при різних захворюваннях, що супроводжуються посиленою резорбцією кісткової тканини, а саме: при остеопорозі, хворобі Педжета, гіперпаратиреозі, нирковій остеодистрофії. Наші дослідження засвідчили, що вже на 1-шу добу після десятиденного введення токсинів активність цього маркерного ензиму кісткової резорбції підвищувалася вдвічі, а до кінця спостереження (четверта група тварин) у 4,5 раза, порівняно з інтактними щурами. У процесі ремоделювання кісткової тканини важливими є збалансованість процесів резорбції й остеосинтезу. Відображенням цього може служити індекс ЛФ/КФ [8]. Як видно з даних таблиці 1, цей індекс поступово вірогідно знижувався у всіх групах інтоксикованих щурів: у 3,8–4,3 раза відповідно на 1-шу й 14-ту доби та у 9,5 раза на 28-му добу, порівняно з показником інтактних щурів.

За таких обставин важливим є дослідження рівня іонів металів, які виступають активаторами досліджуваних ензимів. Як зазначено вище, для ЛФ такими активаторами є іони Zn^{2+} і Mg^{2+} , які формують структуру його активного центру. Результати дослідження концентрації Mg у плазмі крові уражених тварин засвідчили її вірогідне зниження відповідно від 40 % на 1-шу добу до 54–57 % на 14-ту і 28-му доби, порівняно з інтактними (табл. 2). Це можна пояснити накопиченням токсичних іонів Cd^{2+} , який є відомим антагоністом есенціальних двовалентних металів, зокрема, кальцію, магнію, цинку та інших [9, 19, 20]. Стосовно різкого підвищення активності КФ і концентрації в золі кісток Zn^{2+} (табл. 3), то упродовж експерименту вміст цього біоелемента коливався на 20–31 % нижче за показники інтактних тварин. Можливо, для активності КФ більше значення має концентрація феруму (Fe^{II} та Fe^{III}), що плануємо надалі вивчити.

Зниження активності ЛФ та різке підвищення КФ супроводжувалося неоднозначними змінами концентрації неорганічного фосфату (табл. 2). Найвищий рівень спостерігався на 1-шу добу після десятиденного ураження: на 62 % перевищував значення інтактних тварин. У наступний період (14-та доба) наближався до контрольних значень, а на 28-му добу — на 25 % перевищував контрольні показники. Рівень фосфат-іонів великою мірою визначається співвідношенням активностей ЛФ і КФ, які каталізують гідроліз фосфоестерних зв'язків з утворенням неорганічного фосфату, що має важливе значення для процесів мінералізації кісткової тканини. Можна припустити, що рання фосфатемія пов'язана зі зростанням активності КФ. Активація цього ензиму може відбуватися під впливом субкомпенсованого метаболічного ацидозу, який розвивається при кадмієвій інтоксикації [24]. З іншого боку, концентрація неорганічного фосфату перебуває під контролем паратгормону, кальцитоніну і вітаміну D. Порушення секреції або активності цих регуляторів може призвести до зміни кальцій-фосфатного обміну в організмі експериментальних тварин [10, 21, 25].

Стосовно концентрації загального Ca у плазмі крові інтоксикованих тварин, то ми встановили, що цей показник зростав упродовж перших 14-ти днів після завершення інтоксикації до 21 %, порівняно з контрольною групою (табл. 2). У віддалений період експерименту (28-ма доба) спостерігалось зниження загального вмісту кальцію на 27 %, порівняно з 14-ю добою, та на 12 %, порівняно з інтактними тваринами. Для детальнішої характеристики метаболізму Ca в організмі важливим є дослідження рівня іонізованого кальцію. Відомо, що саме іонізований кальцій плазми визначає біологічну активність цього елемента: іони Ca^{2+} беруть участь у регуляції проникності мембран, у передачі гормональних сигналів, нервового імпульсу, у функціонуванні міокарда, механізмах м'язового скорочення, згортанні крові тощо. Концентрація Ca^{2+} у плазмі крові уражених тварин на 1-шу й 14-ту доби після завершення введення іонів Cd^{2+} та NO_2^- була вищою, ніж у інтактних

на 8–17 %, у пізньому періоді спостереження знижувалася до рівня контрольних показників інтактних щурів. Такі зміни рівня Ca^{2+} у плазмі крові можуть свідчити про порушення функції парацитоподібних залоз, оскільки відомо, що регуляція концентрації іонів Ca^{2+} здійснюється паратгормоном і кальцитоніном. На порушення

функції щитоподібної залози за умов кадмієвої інтоксикації вказують і автори окремих досліджень [3]. Щодо впливу нітритів на обмін Ca , то можна висловити припущення, що іони NO_2^- можуть взаємодіяти з аморфним фосфатом кальцію і спричиняти порушення цілісності мінерального матриксу кісткової тканини.

Таблиця 1. Активність лужної та кислої фосфатаз у плазмі крові білих щурів-самців ($n=36$, $\bar{x} \pm \text{SE}$)

Table 1. Alkaline and acid phosphatase activity in the blood plasma of white male rats ($n=36$, $\bar{x} \pm \text{SE}$)

Досліджувані показники, активність ензиму у мкмоль/с·л Investigated parameters, enzyme activity in $\mu\text{mol/s} \cdot \text{l}$	Групи тварин / Groups of animals			
	Інтактні / Intact	Інтоксиковані / Intoxicated		
	Перша, контроль I, control ($n=12$)	Друга, 1 доба II, 2 nd day ($n=8$)	Третя, 14 доба III, 14 th day ($n=8$)	Четверта, 28 доба IV, 28 th day ($n=8$)
Лужна фосфатаза, ЛФ Alkaline phosphatase, ALP	15,07 $\pm$ 0,08	10,84 $\pm$ 2,28 $P < 0,005$	9,30 $\pm$ 1,23 $P < 0,001$	7,10 $\pm$ 1,95 $P < 0,001$
Тартрат резистентна кисла фосфатаза, ТРКФ Tartrate resistant acid phosphatase, TRACP	0,93 $\pm$ 0,23	1,88 $\pm$ 0,18 $P < 0,01$	2,47 $\pm$ 0,13 $P < 0,01$	4,17 $\pm$ 0,48 $P < 0,001$
Співвідношення активностей ЛФ/КФ Activity ratio ALP/TRACP	16,20 $\pm$ 0,35	5,77 $\pm$ 0,21 $P < 0,05$	3,76 $\pm$ 0,28 $P < 0,001$	1,70 $\pm$ 0,19 $P < 0,005$

Примітка. Тут і в інших таблицях P — ступінь вірогідності, порівняно з інтактними тваринами.

Note. Here and in the next tables P is the significance level compared to the intact animals.

Таблиця 2. Біохімічні показники плазми крові білих щурів-самців ($n=36$, $\bar{x} \pm \text{SE}$)

Table 2. Blood plasma biochemical parameters in white male rats ($n=36$, $\bar{x} \pm \text{SE}$)

Досліджувані показники, ммоль/л Investigated parameters, mmol/l	Групи тварин / Groups of animals			
	Інтактні / Intact	Інтоксиковані / Intoxicated		
	Перша, контроль I, control ($n=12$)	Друга, 1 доба II, 2 nd day ($n=8$)	Третя, 14 доба III, 14 th day ($n=8$)	Четверта, 28 доба IV, 28 th day ($n=8$)
Загальний Ca / Total Calcium	2,34 $\pm$ 0,08	2,68 $\pm$ 0,13 $P < 0,005$	2,83 $\pm$ 0,14 $P < 0,001$	2,08 $\pm$ 0,17 $P < 0,005$
Іонізований Ca^{2+} / Ionized Calcium	0,68 $\pm$ 0,02	0,43 $\pm$ 0,04 $P < 0,005$	0,38 $\pm$ 0,02 $P < 0,001$	0,35 $\pm$ 0,02 $P < 0,01$
Оксипролін / Oxypoline	28,31 $\pm$ 2,79	71,38 $\pm$ 3,23 $P < 0,05$	74,56 $\pm$ 1,39 $P < 0,01$	99,70 $\pm$ 2,94 $P < 0,001$
Фосфати / Phosphates	1,33 $\pm$ 0,05	2,16 $\pm$ 0,24 $P < 0,005$	1,42 $\pm$ 0,08 $P < 0,01$	1,76 $\pm$ 0,15 $P < 0,05$
Магній / Magnesium	0,72 $\pm$ 0,08	0,43 $\pm$ 0,02 $P < 0,01$	0,31 $\pm$ 0,03 $P < 0,001$	0,33 $\pm$ 0,03 $P < 0,005$

Таблиця 3. Концентрація основних біоелементів та кадмію в золі стегнових кісток білих щурів-самців ($n=36$, $\bar{x} \pm \text{SE}$)

Table 3. The concentration of main bioelements and cadmium in the ashes of femurs of white male rats ($n=36$, $\bar{x} \pm \text{SE}$)

Досліджувані показники, маса на 1 г золи Investigated parameters, weight per 1 g of ash	Групи тварин / Groups of animals			
	Інтактні / Intact	Інтоксиковані / Intoxicated		
	Перша, контроль I, control ($n=12$)	Друга, 1 доба II, 2 nd day ($n=8$)	Третя, 14 доба III, 14 th day ($n=8$)	Четверта, 28 доба IV, 28 th day ($n=8$)
Кальцій, мг / Calcium, mg	330,9 $\pm$ 6,25	311,12 $\pm$ 3,31 $P < 0,01$	305,65 $\pm$ 3,28 $P < 0,001$	285,06 $\pm$ 3,47 $P < 0,001$
Магній, мг / Magnesium, mg	38,14 $\pm$ 1,40	51,83 $\pm$ 2,14 $P < 0,001$	34,62 $\pm$ 1,81 $P < 0,01$	45,61 $\pm$ 2,53 $P < 0,001$
Цинк, мкг / Zinc, mkg	458,61 $\pm$ 37,24	314,17 $\pm$ 25,12 $P < 0,001$	252,90 $\pm$ 32,81 $P < 0,001$	369,62 $\pm$ 29,33 $P < 0,001$
Купрум, мкг / Copper, mkg	17,95 $\pm$ 0,88	13,56 $\pm$ 0,72 $P < 0,001$	13,62 $\pm$ 0,72 $P < 0,001$	17,7 $\pm$ 1,05 —
Кадмій, мкг / Cadmium, mkg	2,10 $\pm$ 0,26	8,18 $\pm$ 0,43 $P < 0,001$	8,85 $\pm$ 0,52 $P < 0,001$	37,08 $\pm$ 1,02* $P < 0,001$

Встановлені зміни показників кальцій-фосфатного обміну у плазмі крові спонукали до вивчення кількісного вмісту основних мінеральних компонентів кісткової тканини піддослідних тварин. У результаті дослідження встановлено основні відмінності в хімічному складі мінерального матриксу (табл. 3) інтоксикованих та інтактних тварин, які полягають у тому, що упродовж 28-денного спостереження вміст основного макроелемента кісткової тканини Са знижувався, порівняно з контрольною групою, від 6,3 % на 1-шу добу до 13,8 % на 28-му добу. Стосовно рівня Mg, то ми відзначили зростання його вмісту у стегновій кістці уражених тварин на 35,8 % (1-ша доба), потім вміст дещо знижувався і на 28-му добу на 19,6 % залишається вищим за рівень інтактних. Визначення концентрації остеотропних мікроелементів купруму (Cu) і цинку (Zn) показало, що вміст Cu на 1-шу і 14-ту доби становив тільки 73 % показника інтактних тварин, а на 28-му добу спостерігалася тенденція до нормалізації. Вміст Zn у стегнових кістках тварин, яких піддавали інтоксикації, протягом усього періоду спостереження був суттєво нижчий за показники контрольної групи, найменші значення зафіксовані на 14-ту добу — на 45 % нижче від рівня інтактних тварин. Дослідження вмісту токсичного елементу Cd показало накопичення його в кістковій тканині, починаючи з 1-ї доби (друга група щурів) — у 3,9 раза, на завершення експерименту цей показник перевищував у 17,7 раза контрольні значення інтактних тварин (табл. 3).

Порушення макро- та мікроелементного складу кісткової тканини, яке спостерігалось за умов комбінованого впливу CdCl_2 і NaNO_2 , викликає структурні зміни мінерального матриксу кістки. Крім цього, Cu і Zn виступають у ролі кофакторів ензимів, і тому мають важливе значення в регуляції метаболічних процесів у кістках. Зокрема, в утворенні колагену (Cu^{2+} як активатор проліл- і лізілгідроксилаз), обміні фосфатів (Zn^{2+} як активатор ЛФ і КФ). На тлі таких змін цікаво було дослідити стан колагенової матриці кістки. Колагенові білки I типу становлять 90 % міжклітинної речовини кістки, решта — це основна мінералізована речовина. Амінокислотний склад колагену дуже специфічний: він містить 23 % оксипроліну й оксिलізіну — амінокислот, які не входять до жодного з інших білків організму та утворюються з проліну й лізіну за допомогою гідроксилаз, згаданих вище [22]. Такий склад забезпечує утворення міцних поперечних зв'язків, які, своєю чергою, формують особливий уклад колагенових волокон у кістці, що сприяє її мінералізації. Тому визначення концентрації у плазмі крові оксипроліну, який забезпечує формування міцної колагенової матриці кістки і з'являється в крові та сечі при катаболізмі колагену, доводить руйнування колагену і є одним із загальноприйнятих маркерів кісткової резорбції [1, 25]. В інтоксикованих тварин (друга, третя, четверта групи) концентрація оксипроліну зростала на початку експерименту в 2,7 раза, а в кінці спостереження у 3,5 раз перевищувала значення інтактних

тварин, що узгоджується з різким зростанням активності ТРКФ — лізосомального ензиму остеокластів, які руйнують кісткову тканину.

На тлі таких результатів цікаво було з'ясувати зміни МЩКТ в різних ділянках стегнових кісток інтоксикованих щурів у динаміці експерименту. У підсумку визначено зниження МЩКТ у всіх вивчених ділянках стегнової кістки, а найнижчі значення спостерігалися на 14-ту добу (третя група тварин) у середньому на 48 %. До кінця експерименту МЩКТ дещо відновлювалася, однак була вірогідно нижчою на 21–25 % за контрольні значення інтактних, а найменший показник МЩКТ зафіксовано в голові та шийці стегнової кістки, що узгоджується з іншими результатами, які ми одержали.

Комплексна дія іонів кадмію та нітриту на організм експериментальних тварин (білих щурів-самців) обумовлює значне накопичення в кістковій тканині кадмію, при цьому в мінеральній фазі знижується вміст біоелементів кальцію, магнію, цинку й купруму. Водночас зменшується МЩКТ, особливо в ділянці головки та шийки стегнових кісток. Порушення мінерального складу кістки уражених тварин супроводжується змінами показників кальцій-фосфатного обміну плазми крові, зокрема концентрації кальцію та магнію. Активність лужної фосфатази знижується на тлі зростання активності тартрат резистентної кислої фосфатази, концентрації фосфатів і оксипроліну. Отже, встановлено переважання процесів остеокластичної резорбції в кістках над остеосинтезом. Отримані дані відкривають перспективу подальших досліджень і пошуку ефективних засобів корекції метаболічних процесів в організмі тварин, викликаних впливом органічних і неорганічних поллютантів.

Джерела

1. Boykiv DP. Biochemical indicators in the norm and in pathology: Educational guide. Ed. by Sklyarova OY. Kyiv, Medicine, 2007: 320 p. (in Ukrainian)
2. Briefing on the environmental damage caused by the Russia's war of aggression against Ukraine (February 10 — February 23, 2024). *EcoZagroza*. Official resource of the Ministry of Environmental Protection and Natural Resources of Ukraine, 06.03.2024. Available at: <https://ecozagroza.gov.ua/en/news/141>
3. Chen A, Kim SS, Chung E, Dietrich KN. Thyroid hormones in relation to lead, mercury, and cadmium exposure in the National Health and Nutrition Examination Survey, 2007–2008. *Environ Health Perspect*. 2012; 121 (2): 181–186. DOI: 10.1289/ehp.1205239.
4. Datsko O. The impact of war on agricultural land. Research of the Sumy National Agrarian University. *Ukraine War Environmental Consequences Work Group*. 24.12.2024. Available at: <https://uwecworkgroup.info/uk/seeds-of-metal-how-war-is-polluting-ukraines-farmland-and-threatening-food-security/#more-3917> (in Ukrainian)
5. Donets IM, Yeroshenko HA, Hryhorenko AS, Shevchenko KV, Kinash OV. Impact of sodium nitrite and ponceau 4R on respiratory system: Theoretical grounding and significance at: DOI: 10.31718/2077-1096.21.4.173. (in Ukrainian)
6. Grote-Koska D, Klauke R, Brand K, Schuman G. Alkaline phosphatase activity — pH impact on the measurement result. *Clin Chem Lab Med*. 2017; 55 (7): 146–149. DOI: 10.1515/cclm-2016-0771.

7. Huang L, Zeng X, Sun Z, Wu A, He J, Dang Y, Pan D. Production of a safe cured meat with low residual nitrite using nitrite substitutes. *Meat Sci.* 2020; 162: 108027. DOI: 10.1016/j.meatsci.2019.108027.
8. Janaydeh M, Ismail A, Zulkifli SZ, Omar H. Toxic heavy metal (Pb and Cd) content in tobacco cigarette brands in Selangor state, Peninsular Malaysia. *Environ Monit Assess.* 2019; 191 (10): 637. DOI: 10.1007/s10661-019-7755-y.
9. Khopta NS, Bazalytska IS, Ersteniuk AM. Some aspects of toxic effects of cadmium on organism of experimental. *J Ed, Health Sport.* 2017; 7 (3): 559-69. Available at: <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/4398>
10. Khopta NS, Ersteniuk AM. Metabolic changes in the bone tissue of animals under conditions of experimental cadmosis. *ScienceRise Biol Sci.* 2018; 5 (14): 31-35. DOI: 10.15587/2519-8025.2018.147090. (in Ukrainian)
11. Lemoine A, Pauliat-Desbordes S, Challier P, Tounian P. Adverse reactions to food additives in children: A retrospective study and a prospective survey. *Arch Pédiatr.* 2020; 27 (7): 368-371. DOI: 10.1016/j.arcped.2020.07.005.
12. Millán JL. Alkaline phosphatases: Structure, substrate specificity and functional relatedness to other members of a large superfamily of enzymes. *Purinerg Signall.* 2006; 2: 335-341. DOI: 10.1007/s11302-005-5435-6.
13. Muniyan S, Chaturvedi NK, Dwyer JG, LaGrange CA, Chaney WG, Lin MF. Human prostatic acid phosphatase: Structure, function and regulation. *Intern J Mol Sci.* 2013; 14 (5): 10438-10464. DOI: 10.3390/ijms140510438.
14. Nechytailo L. The content of Cadmium and Zinc in the ecosystem of Carpathian region and the impact of Cadmium intoxication on the trace element status of the body of experimental animals. *Med Clin Chem.* 2018; 20 (4): 60-65. Available at: <https://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/MCC/article/view/9797> (in Ukrainian)
15. Nechytailo L, Danyliv S, Kuras L, Shkurashivska S, Buchko A. Dynamics of changes in cadmium levels in environmental objects and its impact on the bio-elemental composition of living. *Brazil J Biol.* 2024; 84: e271324. DOI: 10.1590/1519-6984.271324.
16. Nenonen A, Cheng S, Ivaska KK, Alatalo SL, Lehtimäki T, Schmidt-Gayk H, Uusi-Rasi K, Heinonen A, Kannus P, Sievänen H, Vuori I, Väänänen HK, Halleen JM. Serum TRACP 5b is a useful marker for monitoring alendronate treatment: comparison with other markers of bone turnover. *J Bone Miner Res.* 2005; 20 (10): 1804-1812. DOI: 10.1359/JBMR.050403.
17. Nosivets DC. Study of the level of bone alkaline phosphatase in blood serum of rats with experimental equivalents of hypothyroidism and osteoarthritis against the background of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and paracetamol. *Ukr J Med Biol Sports.* 2021; 6 (1): 33-36. DOI: 10.26693/jmbs06.01.032. (in Ukrainian)
18. Pinto E, Cruz M, Ramos P, Santos A, Almeida A. Metals transfer from tobacco to cigarette smoke: Evidences in smokers' lung tissue. *J Hazard Mater.* 2017; 325: 31-35. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.11.069.
19. Radike M, Warshawsky D, Caruso J, Goth-Goldstein R, Reilman R, Collins T, Yaeger M, Wang J, Vela N, Olsen L, Schneider J. Distribution and accumulation of a mixture of arsenic, cadmium, chromium, nickel, and vanadium in mouse small intestine, kidneys, pancreas, and femur following oral administration in water or feed. *J Toxicol Environ Health.* 2002; 65 (23): 2029-2052. DOI: 10.1080/00984100290071324.
20. Shatoma VF, Onul NM, Zemlany OA, Stryzhak OV. Changes in the morphogenesis of bone tissue under the influence of heavy metals (review of scientific literature data). *Persp Innov Sci Ser Med.* 2024; 2 (36): 1308-1318. DOI: 10.52058/2786-4952-2024-2(36)-1308-1318. (in Ukrainian)
21. Tiron OI. Main exogenous and endogenous factors that can influence the morphofunctional characteristics of the thyroid gland (literature review). *Rep Vinnytsia Nat Med Univer.* 2018; 22 (4): 760-765. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2018-22(4)-32. (in Ukrainian)
22. Trakhtenberg IM, Babienko VV. Biological consequences of environmental pollution with nitrites and nitrates. *J Integr Anthropol.* 2013; 1 (21): 37-39. Available at: <https://anthropology.odmu.edu.ua/?p=5088&lang=en> (in Ukrainian)
23. Weiß CH. StatSoft, Inc., Tulsa, OK.: *Statistica*, version 8. AStAAdv. Stat. Analysis. 2007; 91 (3): 339-341. DOI: 10.1007/s10182-007-0038-x.
24. Wexler P (ed.). *Encyclopedia of Toxicology*. A reference Work. 3rd ed. Academic Press; 2014: 5220. ISBN 978-0-323-85434-4. Available at: <https://www.sciencedirect.com/referencework/9780323854344/encyclopedia-of-toxicology>
25. Zaitseva OV, Shandrenko SG, Veliky MM. Biochemical markers of collagen type I metabolism in bone tissue. *Ukr Biochem J.* 2015; 87 (1): 21-32. DOI: 10.15407/ubj87.01.021.

Metabolic processes in the body and bones of experimental animals under conditions of exposure by cadmium and nitrite ions

N. S. Khopta, A. L. Romaniuk, L. Ja. Nechitajlo, A. M. Ersteniuk
 nhopta@ifnmu.edu.ua

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

Heavy metals, including cadmium, and also nitrates and nitrites, belong to the most common environmental pollutants. It is known that the condition of bone tissue is determined by the coherence of de- and remineralization processes, the balance of calcium-phosphate metabolism, the content of essential bioelements, and the activity of enzymes that ensure the degree of bone mineral density. The experiment studied markers of bone metabolism in blood plasma and femurs of white male rats under conditions of complex action of cadmium ions and nitrites. Intoxication of animals was carried out for 10 days by administration of the appropriate salt (aqueous solution of NaNO_2 with drinking water and intramuscular solution of CdCl_2) at a dose of $1/10 \text{ LD}_{50}$ daily once a day. Bone metabolism indicators were examined on the 1st, 14th, and 28th day after the end of toxicant administration. The concentration of total and ionized calcium, magnesium, phosphates, oxyproline, activity of alkaline and acid phosphatase were determined in blood plasma by standardized methods. The content of the bioelements calcium, magnesium, zinc, copper, and toxic cadmium in the femurs was determined using a S-115PK atomic absorption spectrophotometer. Bone mineral density (BMD) was determined by X-ray densitometry. The experiment was conducted in compliance with bioethical requirements. The results of the study showed that under the conditions of the complex action of the studied toxicants, significant changes in the concentration of total and ionized calcium, magnesium, and phosphates occur in blood plasma. The concentration of oxyproline and acid phosphatase activity increase as markers of osteoclast activity. At the same time, alkaline phosphatase activity decreases, indicating inhibition of osteoblast function. In the mineral phase of femoral bones, a decrease in the content of osteotropic bioelements was found against the background of an increase in toxic cadmium. The mineral density of the femurs also decreased significantly, especially in the head and neck areas. The greatest changes were observed on the 14th and 28th days after the introduction of toxicants. The obtained results indicate a violation of calcium-phosphate metabolism and bone tissue remodeling processes in intoxicated rats, in particular, the predominance of osteoclastic resorption processes over osteosynthesis.

Key words: cadmium chloride, sodium nitrite, bone tissue, markers of bone metabolism, osteotropic bioelements, bone mineral density