

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-316

**ВОЗДЕЙСТВИЕ ХЛОРИДА КАДМИЯ В ТЕЧЕНИЕ 48 И 72 ЧАСОВ
ВЛИЯЕТ НА МИТОТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК HEPG2 И HEK293*****CADMIUM CHLORIDE EXPOSURE FOR 48 AND 72 HOURS
AFFECTS THE MITOTIC ACTIVITY OF HEPG2 AND HEK293 CELLS**

Н. И. Дергачева, И. О. Сучкова, Л. К. Сасина, Е. Л. Паткин

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

N. I. Dergacheva, I. O. Suchkova, L. K. Sasina, E. L. Patkin

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg

✉ natalia-9999@mail.ru

Аннотация

Работа посвящена исследованию влияния малых доз хлорида кадмия на пролиферативную активность клеток человека HepG2 и HEK293.

Abstract

The work is devoted to the study of the effect of the small doses of cadmium chloride on the proliferative activity of human cells HepG2 and HEK293.

Введение

В токсикологических исследованиях методы оценки генотоксичности и цитотоксичности веществ с использованием культур клеток находят широкое применение, поскольку позволяют точно контролировать дозы и продолжительность воздействия, а также значительно сокращают продолжительность исследования.

Кадмий является одним из тяжелых металлов, оказывающих токсическое воздействие на живые организмы. Он обладает высокой кумулятивной активностью, канцерогенным и мутагенным действием. Растворимые соединения кадмия после всасывания в кровь поражают различные системы и органы, при этом основной «удар» приходится на печень и почки. Этот ксенобиотик затрагивает широкий спектр внутриклеточных процессов, в частности, клеточный цикл [1, 2, 3].

Цель — оценить влияние малых доз хлорида кадмия на митотическую активность клеток печени и почек человека.

Материалы и методы

Клетки HepG2 (карцинома печени) и HEK293 (трансформированные клетки почки эмбриона) культивировали в течение 24 ч до достижения 25–30 % конfluence. Затем в опытные образцы добавляли CdCl₂ (конечные концентрации — 0,5 мкМ, 1 мкМ, 2 мкМ, 5 мкМ, 10 мкМ) и продолжали культивирование еще в течение 48 и 72 ч. За 2 ч до снятия культуры во флаконы вносили колхицин (конечная концентрация 0,2 мкг/мл). Гипотоническая обработка — 0,5 % KCl, 37 °C, 30 мин. Фиксатор — метанол:уксусная кислота (3:1). Микроскопию проводили с использованием фазово-контрастного микроскопа Axio Lab.A1 (объектив ×20, окуляр ×10). Вычисляли митотический индекс (МИ) — процент делящихся клеток от общего числа проанализированных клеток. МИ определяли на 5000 зарегистрированных клеток. Статистическую значимость различий между опытом и контролем оценивали с помощью таблицы сопряженности 2 × 2, используя критерий Хи²-Пирсона. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В линии HepG2 воздействие CdCl₂ в течение 48 ч привело к повышению митотической активности клеток в 2,4 раза при дозах 5 мкМ ($p < 0,001$) и 10 мкМ ($p < 0,001$), и в 1,5 раза — при 2 мкМ ($p < 0,001$). В последующие 24 ч эта тенденция сохранилась: МИ повышен в 1,7 раза при дозе 5 мкМ ($p < 0,001$), в 1,6 раза — при дозе 10 мкМ

* Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ № FGWG-2022-0012.

© Н. И. Дергачева, И. О. Сучкова, Л. К. Сасина, Е. Л. Паткин, 2024

($p < 0,001$) и в 1,1 раза — при дозе 2 мкМ ($p = 0,004$). Однако в отличие от 48 ч воздействия через 72 ч инкубации клеток в присутствии $CdCl_2$ наблюдалось также и снижение МИ в 1,4 раза при дозах 0,5 мкМ и 1 мкМ ($p < 0,001$) по сравнению с контролем (табл. 1). В линии НЕК293 воздействие $CdCl_2$ в течение 48 ч понизило МИ в 1,5 раза при дозе 1 мкМ ($p < 0,001$) и в 1,2 раза — при 10 мкМ ($p = 0,020$). В последующие 24 ч эта тенденция также сохранилась: МИ был снижен в 1,7 раза при дозе 1 мкМ ($p < 0,001$) и в 1,2 раза — при дозе 10 мкМ ($p = 0,014$), а также в 1,8 раза — для дозы 2 мкМ ($p < 0,001$) (табл. 2).

Таблица 1

Влияние $CdCl_2$ на митотическую активность клеток НерG2

Доза	Продолжительность воздействия			
	48 ч		72 ч	
	МИ, % (95% ДИ)	p^*	МИ, % (95% ДИ)	p^*
Контроль	1,99 (1,82–2,18)	–	3,53 (3,40–3,67)	–
0,5 мкМ	1,79 (1,56–2,05)	0,199	2,57 (2,32–2,85)	$< 0,001$
1 мкМ	1,77 (1,53–2,05)	0,170	2,54 (2,38–2,71)	$< 0,001$
2 мкМ	2,90 (2,56–3,29)	$< 0,001$	3,87 (3,69–4,06)	0,004
5 мкМ	4,69 (3,95–5,57)	$< 0,001$	5,93 (5,50–6,39)	$< 0,001$
10 мкМ	4,79 (4,01–5,71)	$< 0,001$	5,73 (5,26–6,24)	$< 0,001$

Таблица 2

Влияние $CdCl_2$ на митотическую активность клеток НЕК293

Доза	Продолжительность воздействия			
	48 ч		72 ч	
	МИ, % (95% ДИ)	p^*	МИ, % (95% ДИ)	p^*
Контроль	3,53 (3,16–3,96)	–	2,91 (2,61–3,24)	–
0,5 мкМ	3,25 (2,92–3,61)	0,290	2,56 (2,28–2,88)	0,113
1 мкМ	2,31 (2,02–2,64)	$< 0,001$	1,73 (1,52–1,97)	$< 0,001$
2 мкМ	3,03 (2,74–3,35)	0,049	1,58 (1,38–1,81)	$< 0,001$
5 мкМ	3,21 (2,86–3,60)	0,242	2,72 (2,45–3,02)	0,374
10 мкМ	2,85 (2,47–3,29)	0,020	2,41 (2,17–2,68)	0,014

В ряде работ на многих типах клеток было отмечено, что кадмий влияет на репарационные процессы ДНК и клеточный цикл, как повышая, так и снижая пролиферативную активность [4], либо не оказывает на пролиферацию видимого эффекта [5] или даже «включает» адаптивные механизмы клеток [6].

Заключение

Полученные результаты указывают на то, что низкие дозы $CdCl_2$ влияют на клеточный цикл иммортализованных клеток печени (НерG2) и почек человека (Нек293) в зависимости от типа клеток, дозы токсиканта и продолжительности воздействия.

Литература

1. Малов А. М., Сибиряков В. К., Иваненко А. А. Накопление кадмия в некоторых органах и тканях крыс // Клиническая токсикология. 2013. Т. 14. С. 228–240.
2. Ахполова В. О., Брин В. Б. Современные представления о кинетике и патогенезе токсического воздействия тяжелых металлов // Вестник новых медицинских технологий. 2020. Т. 27. № 1. С. 55–61.
3. Fowler B. A. Monitoring of human populations for early markers of cadmium toxicity // Toxicol. Appl. Pharmacol. 2009. Vol. 238. P. 294–300.
4. Chen Y. Y., Zhu J. Y., Chan K. M. Effects of cadmium on cell proliferation, apoptosis, and proto-oncogene expression in zebrafish liver cells // Aquatic Toxicology. 2014. Vol. 157. P. 196–206.
5. Агбалян Е. В., Шинкарук Е. В. Характеристика генотоксических и цитотоксических эффектов малых доз кадмия // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015. № 6 (часть 3). С. 427–431.
6. Ye S., Yuan D., Xie Y. et al. Role of DNA methylation in the adaptive responses induced in a human B lymphoblast cell line by long-term low-dose exposures to γ -rays and cadmium // Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen. 2014. Vol. 773. P. 34–38.