

УДК 577.1:577.151:613.6

## ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ ДОЗ КАДМИЯ НА АКТИВНОСТЬ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В СЕРДЦЕ, МОЗГЕ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС

<sup>1</sup> Фоменко О. З. (fomenko.oz@dma.dp.ua), <sup>1</sup> Шаульская О. Э. (gruntik07@mail.ru),

<sup>2</sup> Кот Ю. Г. (kot.juriy@gmail.com), <sup>3</sup> Ушакова Г. А. (ushakova\_g@ukr.net),

<sup>1</sup> Шевцова А. И. (shevtsova-a@mail.ru)

<sup>1</sup> ГУ «Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины», Днепропетровск, Украина

<sup>2</sup> Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Харьков, Украина

<sup>3</sup> Днепропетровский национальный университет имени Олеса Гончара, Днепропетровск, Украина

*Кадмий (Cd) не является элементом, необходимым для обеспечения метаболических процессов в клетке, его накопление в организме может привести к нарушению жизнедеятельности органов и систем, поэтому молекулярные механизмы его действия активно исследуются в последнее время. Целью работы было изучение влияния разных доз кадмия (0,1 мкг/кг и 1 мкг/кг) на активность двух ферментов из семейства матриксных металлопротеиназ – желатиназы А (ММП2) и желатиназы В (ММП9) – в мозге, сердце и сыворотке крови крыс. Для оценки активности этих ферментов использовался метод желатин-зимографии. Показано, что низкие дозы экзогенного кадмия (0,1 мкг/кг) приводят к снижению активности латентной и зрелой форм ММП9 в сыворотке крови и миокарде при практически неизменной активности данных ферментов в мозге. Высокие дозы кадмия (1 мкг/кг) вызывают достоверное увеличение активности обеих желатиназ в миокарде и снижение ММП2 в мозге. Полученные результаты свидетельствуют о дозозависимом и тканеспецифическом влиянии кадмия на процессы ММП-зависимой деградации белков.*

**Ключевые слова:** кадмий, ММП2, ММП9, мозг, сердце, сыворотка крови

Постоянно возрастающая антропогенная нагрузка на окружающую среду может приводить к ухудшению здоровья человека и развитию ряда патологических состояний (аутоиммунных, аллергических, сердечно-сосудистых и неврологических). Среди экзогенных факторов риска развития этих заболеваний следует обратить внимание на кадмий (Cd) – металл, широко используемый в промышленном производстве сплавов, пигментов, электротехнической промышленности. Его источником в воздухе могут быть побочные продукты плавки свинца и цинка, сжигания пластмасс и нарушение утилизации кадмиево-никелевых батареек. Поступление Cd в организм возможно также с сигаретным дымом и с пищей [18, 19, 13]. При вдыхании абсорбируется в кровь до 40-50% Cd, при поступлении через пищу – до 3-7% [24]. Он может проходить через плацентарный барьер из крови матери, а также передаваться с молоком матери, оказывая токсический эффект на ребенка [16]. Этот тяжелый металл может накапливаться в костях, почках, панкреатической и предстательной железах, яичках и плаценте [15]. Увеличение его содержания в тканях приводит к развитию почечной недостаточности, эмфиземы легких, повышению риска развития коронарной недостаточности, раковых и нейродегенеративных заболеваний [9]. Действие Cd пролонгировано во времени, так как он медленно выводится из организма: период его полувыведения из печени достигает 19 лет, из почек – 38 лет [7].

Среди механизмов, обуславливающих токсичность Cd, следует выделить его способность вытеснять ионы цинка и меди из металлосодержащих ферментов, таких как супероксиддисмутаза, алкогольдегидрогеназа, карбоангидраза и некоторых протеолитических ферментов панкреатической железы, что приводит к угнетению их активности и развитию патологических состояний [21]. Однако влияние Cd на активность Zn<sup>2+</sup>-содержащих матриксных металлопротеиназ (ММП) практически не исследовалось. Лишь в последние годы появились работы, свидетельствующие о способности Cd<sup>2+</sup>

ингибировать некоторые ферменты из семейства ММП [11]. Между тем, эти ферменты участвуют не только в деградации межклеточного матрикса, но и в процессах роста и миграции клеток, регуляции сигнальных путей, формировании эндотелия и атеросклеротической бляшки. С нарушением активности ММП связывают многие патологические процессы: онкогенез, атеросклероз, фиброзирование тканей. Особого внимания заслуживают желатиназы А (ММП2) и В (ММП9), проявляющие достаточно широкую субстратную специфичность и играющие важную роль в развитии сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний [10, 17, 22].

**Целью** нашей работы было изучение влияния разных доз Cd на активность ММП2 и ММП9 в мозге, сердце и сыворотке крови крыс.

### Материалы и методы

Исследования проводились на крысах линии Вистар, которые содержались в условиях вивария с естественным дневным циклом и стандартной диетой. Животные были поделены случайным образом на три группы, каждая из которых состояла из 6 особей: 1 – контрольная группа, крысы в которой получали питьевую воду для детей «Малютко» (Эконика, Украина), не содержащую Cd; во 2 группе перед кормлением животные получали раствор Cd в дозе 0,1 мкг/кг веса; в 3 группе получали перед кормлением раствор Cd в дозе 1 мкг/кг веса. Для приготовления раствора кадмия использовался высокоочищенный CdCl<sub>2</sub>·2,5 H<sub>2</sub>O (Sigma, США), который растворяли в воде «Малютко». Перед каждым введением Cd животные взвешивались, на основании этих данных рассчитывался объем вводимого интрагастрально раствора. Эксперимент длился 37 дней и был проведен в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» [5]. В конце эксперимента была произведена декаптация животных под анестезией изофлураном (3,5%).

Для исследования получали сыворотку крови и

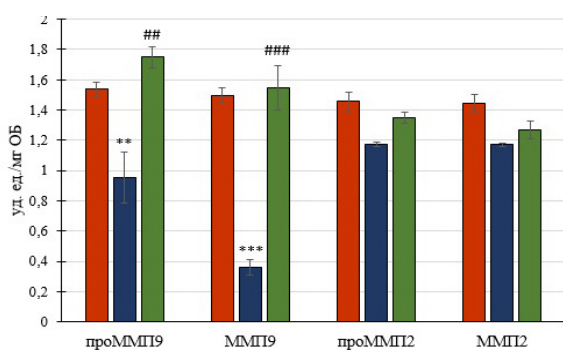
фракцию растворимых белков тканей мозга и сердца. Гомогенизацию тканей проводили в соотношении 1:10 в буфере, содержащем трис-HCl – 25 мМ, рН 7,4, ЭДТА – 1 мМ, бета-меркаптоэтанол – 2 мМ, фенилметилсульфонилфторид – 0,2 мМ, мертиолят – 0,01%. Центрифугирование гомогената проводили при 20000 г в течение 60 мин., супернатант отбирали и использовали для дальнейших исследований.

Для оценки активности ММП2 и ММП9 использовался метод прямой энзим-зимографии в геле, содержащем 0,1% желатина [23]. В качестве контрольного образца использовали пул из 20 сывороток крови интактных животных, активность желатиназ в котором была принята за 100 уд. ед. Содержание общего белка (ОБ) оценивали по методу Бредфорд [4]. Активность ММП выражали в относительных единицах с учетом содержания общего белка (уд. ед/мг ОБ). Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel, достоверность разницы оценивали по критерию Манна-Уитни для малых выборок.

### Результаты и обсуждение

Полученные в ходе исследования результаты показали, что при длительном употреблении кадмия происходят изменения активности ММП2/ММП9 в тканях и сыворотке крови крыс.

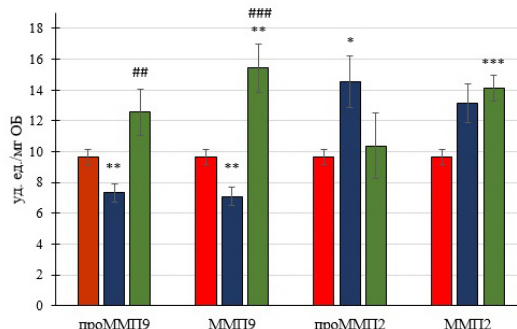
В сыворотке крови крыс, длительно получавших низкую (0,1 мкг/кг) дозу Cd, значительно уменьшалась относительная активность проММП9 и ММП9, составляя, соответственно,  $0,95 \pm 0,2$  уд. ед/мг ОБ и  $0,35 \pm 0,05$  уд. ед/мг ОБ при норме  $1,54 \pm 0,05$  уд. ед/мг ОБ и  $1,49 \pm 0,05$  уд. ед/мг ОБ. Активность проММП2 и ММП2 уменьшалась до  $1,18 \pm 0,02$  уд. ед/мг ОБ и  $1,17 \pm 0,01$  уд. ед/мг ОБ, соответственно, в то время как в контрольной группе эти величины составляли  $1,46 \pm 0,06$  уд. ед/мг ОБ и  $1,45 \pm 0,06$  уд. ед/мг ОБ. Другая картина наблюдалась у крыс, получавших большую дозу кадмия (1 мкг/кг): активность всех исследуемых энзимов в сыворотке крови практически не изменилась по сравнению с контрольной группой. Следует отметить достоверное увеличение активности как латентной, так и зрелой форм ММП9 у этой группы крыс по сравнению с группой, получавшей низкие дозы кадмия (рис. 1).



**Рисунок 1.** – Относительная активность желатиназ (уд. ед/мг ОБ) в сыворотке крови крыс: – контрольная группа, – группа, получавшая кадмий в дозе 0,1 мкг/кг и – группа, получавшая кадмий в дозе 1 мкг/кг,  $n = 6$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  (по сравнению с контрольной группой), ## –  $p < 0,01$ , ### –  $p < 0,001$  (достоверность различий между 2-й и 3-й группами)

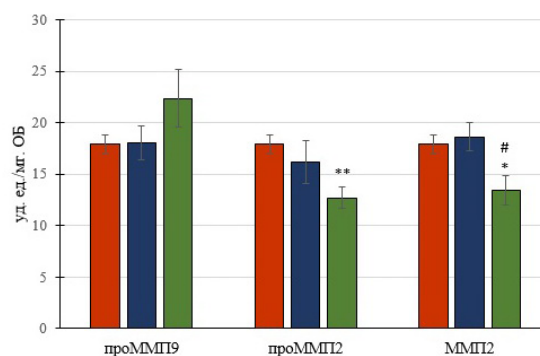
В сердечной мышце происходили разнонаправленные изменения активности обеих желатиназ и их проформ, зависящие от дозы вводимого Cd. Если при

длительном употреблении низкой дозы Cd (0,1 мкг/кг) активность проММП9 и ММП9 снизилась до значений  $7,3 \pm 0,6$  уд. ед/мг ОБ и  $7,1 \pm 0,6$  уд. ед/мг ОБ (при норме  $9,67 \pm 0,4$  уд. ед/мг ОБ и  $9,7 \pm 0,5$  уд. ед/мг ОБ), то под действием высоких доз (1 мкг/кг) активность проММП9 возросла до  $12,6 \pm 1,5$  уд. ед/мг ОБ, ММП9 –  $15,4 \pm 1,6$  уд. ед/мг ОБ. Иные изменения были найдены для желатиназы А: низкие дозы Cd увеличивали активность проММП2 и ММП2 до  $14,5 \pm 1,6$  уд. ед/мг ОБ и  $13,1 \pm 1,4$  уд. ед/мг ОБ (значения в контрольной группе  $9,784 \pm 0,6$  уд. ед/мг ОБ и  $9,65 \pm 0,4$  уд. ед/мг ОБ), а высокие дозы сказывались лишь на зрелой форме этой желатиназы, активность которой возросла до значений  $14,1 \pm 0,8$  уд. ед/мг ОБ (рис. 2).



**Рисунок 2.** – Относительная активность желатиназ (уд. ед/мг ОБ) во фракции растворимых белков миокарда крыс: – контрольная группа, – группа, получавшая кадмий в дозе 0,1 мкг/кг и – группа, получавшая кадмий в дозе 1 мкг/кг,  $n = 6$ , \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  (по сравнению с контрольной группой), ## –  $p < 0,01$ , ### –  $p < 0,001$  (достоверность различий между 2-й и 3-й группами)

Относительная активность желатиназ во фракции растворимых белков мозга у крыс, получавших длительное время кадмий в дозе 0,1 мкг/кг, практически не изменялась. В то же время у крыс, получавших кадмий в дозе 1 мкг/кг, активность проММП9 увеличилась до  $22,4 \pm 2,8$  уд. ед/мг ОБ (при норме  $17,9 \pm 0,8$  уд. ед/мг ОБ), при уменьшении активности латентной и зрелой формы ММП2 до значений  $12,7 \pm 1,0$  уд. ед/мг ОБ и  $13,4 \pm 1,5$  уд. ед/мг ОБ, соответственно, в то время как значения в контрольной группе были  $18,1 \pm 0,9$  уд. ед/мг ОБ и  $17,8 \pm 0,7$  уд. ед/мг ОБ (рис. 3).



**Рисунок 3.** – Относительная активность желатиназ (уд. ед/мг ОБ) во фракции растворимых белков мозга крыс: – контрольная группа, – группа, получавшая кадмий в дозе 0,1 мкг/кг и – группа, получавшая кадмий в дозе 1 мкг/кг,  $n = 6$ , \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  (по сравнению с контрольной группой), # –  $p < 0,05$  (достоверность различий между 2-й и 3-й группами)

Анализ данных, представленных на рисунках 1-3, свидетельствует о том, что желатиназа В является более «чувствительным» ферментом к действию кадмия по сравнению с желатиназой А. Для всех исследуемых тканей была отмечена тенденция к увеличению относительной активности желатиназы В и ее зимогена в группе крыс, получавших Cd в дозе 1 мкг/кг. При этом отмечалось снижение активности данных ферментов в миокарде и сыворотке крови у крыс, которые получали кадмий в дозе 0,1 мкг/кг. Что касается желатиназы А, то ее активность в мозге и сыворотке крови крыс, которые получали Cd в дозе 0,1 мкг/кг, практически не менялась, но она увеличилась в миокарде, а у крыс, получавших кадмий в дозе 1 мкг/кг, наблюдались разнонаправленные изменения активности ее латентной и зрелой форм в сердце и мозге.

Поступление кадмия в организм происходит через дыхательный и пищеварительный тракт при помощи специфических транспортеров металлов (цинка, железа, магния и кальция), таких как Zrt, Irt-подобный протеин (ZIP-8) белок-переносчик двухвалентных металлов (DMT-1) [15, 6]. С током крови кадмий транспортируется в комплексе с металлоионами, обладающими большим сродством к тяжелым металлам и выполняющими протекторную роль [8, 21]. Накопление этого металла в тканях сердца и мозга может влиять на состояние матричных белков и изменять межклеточные взаимодействия, вследствие чего развивается патологический процесс.

Известно, что токсичные металлы-ксенобиотики - ртуть, свинец, мышьяк, кадмий – способны формировать ковалентные связи с сульфгидрильными группами глутатиона, цистеина, гомоцистеина, снижая антиоксидантное действие последних. При этом увеличивается количество активных форм кислорода, что в свою очередь приводит к активации перекисного окисления липидов, повреждению клеточной мембраны и микротрубочек, окислению аминокислот в составе протеинов, изменению их конформации и биологической активности [26, 28, 29].

Помимо того, Cd имитирует действие цинка и таким образом может принимать участие в тех процессах, в которых в норме принимает участие цинк. Как известно, переход матричных металлопротеиназ из зимогенной формы в активную происходит с участием цинка [27]. Было показано, что Cd<sup>2+</sup> замещает ионы цинка в факторе транскрипции p53, что приводит к угнетению его связывания с ДНК с последующей остановкой клеточного цикла [14].

При исследовании действия Cd на эпителиальные клетки простаты было показано, что он вызывает их перерождение в опухолевые клетки, сопровождающееся значительным повышением активности желатиназ – активность ММП2 возрастала в 2,5 раза, а ММП9 - в 4 раза [1]. Подобное исследование проводилось на культуре эпителиальных клеток бронхов, где

### Литература

1. Achanzar, W. E. Cadmium-induced malignant transformation of human prostate epithelial cells / W. E. Achanzar, B. A. Diwan, J. Liu [et al.] // Cancer Res. – 2001. – Vol. 61, № 2. – P. 455–458.
2. Auld, D. S. Removal and replacement of metal ions in metalloproteinases / D. S. Auld // Meth. Enzymol. – 1995. – Vol. 248. – P. 228–242.
3. Baroni, T. In vitro cadmium effects on ECM gene expression in human bronchial epithelial cells / T. Baroni, C.

также было показано влияние как токсических, так и субтоксических доз Cd на уменьшение количества коллагена I типа и увеличение уровня желатиназ [3].

В то же время в работе Lacorte L.M. и др. [11] было показано, что получение крысами малых доз кадмия (15 ppm) в течение 20 недель приводило к снижению активности ММП2 и ММП9 в простате, а экспозиция с 5 мкМ или 20 мМ раствором CdCl<sub>2</sub> вызывала торможение их активности, соответственно, на 80% и 100%. Ингибирующее действие ионов двухвалентных металлов на активность желатиназ было продемонстрировано также в работах по исследованию влияния амальгамы на активность гингивальных ферментов; было показано, что избыток ионов цинка и низких концентраций меди снижают активность ММП2 [25]. Полагают, что ионы двухвалентных металлов проявляют ингибирующий эффект путем конформационных изменений каталитического домена металлозависимых ферментов [2].

При исследовании влияния Cd на активность ММП9 в эндотелиальных клетках обнаружено, что он увеличивает как продукцию реактивных форм кислорода, так и фосфорилирование эпидермального фактора роста EGFR. Это в свою очередь приводит к активации киназ Erk1/2 и JNK1/2, фосфорилированию фактора транскрипции AP-1, активации протеинкиназы Akt и фактора транскрипции NF-κB, что в конечном счете, индуцирует увеличение уровня ММП9 [12].

Возможный механизм влияния различных доз кадмия на экспрессию и активность желатиназ может быть связан как с увеличением продукции реактивных форм кислорода, так и с замещением цинка в активном центре активации этих ферментов. Последующие исследования в этом направлении позволят выявить биохимические механизмы разнонаправленного действия Cd на активность матрикс-деградирующих ферментов и его кардио- и нейротоксическое действие.

Полученные нами данные свидетельствуют о дозозависимом и тканеспецифическом влиянии кадмия на процессы деградации белков под действием матричных металлопротеиназ.

### Выводы

1. Низкие дозы экзогенного кадмия (0,1 мкг/кг) приводят к снижению активности латентной и зрелой форм ММП9 в сыворотке крови и миокарде при практически неизменной активности данных ферментов в мозге.
2. Высокие дозы кадмия (1 мкг/кг) вызывают достоверное увеличение активности ММП9 в миокарде и слабо влияют на его активность в мозге и сыворотке крови.
3. Кадмий оказывает менее выраженное действие на ММП2: под влиянием высоких доз кадмия происходит достоверное увеличение активности данного фермента в миокарде и снижение этого показателя в мозге.

### Literatura

1. Achanzar, W. E. Cadmium-induced malignant transformation of human prostate epithelial cells / W. E. Achanzar, B. A. Diwan, J. Liu [et al.] // Cancer Res. – 2001. – Vol. 61, № 2. – P. 455–458.
2. Auld, D. S. Removal and replacement of metal ions in metalloproteinases / D.S. Auld // Meth. Enzymol. – 1995. – Vol. 248. – P. 228–242.
3. Baroni, T. In vitro cadmium effects on ECM gene expression in human bronchial epithelial cells / T. Baroni,

- Lilli, C. Bellucci [et al.] // *Cytokine*. – 2015. – Vol. 72, № 1. – P. 9–16.
4. Bradford M. Rapid and sensitive methods for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. Bradford // *Anal. Biochem.* – 1985. – Vol. 72. – P. 248–254.
  5. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. – CETS No.123. – Strasbourg, 1986.
  6. Himeno, S. The role of zinc transporters in cadmium and manganese transport in mammalian cells / S. Himeno, T. Yanagiya, H. Fujishiro // *Biochimie*. – 2009. – Vol. 91, № 10. – P. 1218–1222.
  7. Jarup, L. Health effects of cadmium exposure—a review of the literature and a risk estimate / L. Jarup, M. Berglund, C. G. Elinder [et al.] // *Scandinavian journal of work, environment & health*. – 1998. – Vol. 24, Suppl. 1 – P. 1–51.
  8. Jin, T. Toxicokinetics and biochemistry of cadmium with special emphasis on the role of metallothionein / T. Jin, J. Lu, M. Nordberg // *Neurotoxicology*. – 1998. – Vol. 19, № 4–5. – P. 529–535.
  9. Kirschvink, N. Repeated cadmium nebulizations induce pulmonary MMP-2 and MMP-9 production and emphysema in rats / N. Kirschvink, G. Vincke, L. Fiévez [et al.] // *Toxicology*. – 2005. – Vol. 211, № 1–2. – P. 36–48.
  10. Kousios, A. Matrix Metalloproteinases and Subclinical Atherosclerosis in Chronic Kidney Disease: A Systematic Review / A. Kousios, P. Kouis, A. G. Panayiotou // *Int J Nephrol*. – 2016. – Vol. 2016. – ID: 9498013.
  11. Lacorte, L. M. Cadmium exposure inhibits MMP2 and MMP9 activities in the prostate and testis / L. M. Lacorte, J. C. Rinaldi, L. A. Justulin Jr [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2015. – Vol. 20, № 457(4). – P. 538–541.
  12. Lian, S. Cadmium induces matrix metalloproteinase-9 expression via ROS-dependent EGFR, NF- $\kappa$ B, and AP-1 pathways in human endothelial cells/ S. Lian, Y. Xia, P. N. Khoi [et al.] // *Toxicology*. – 2015. – Vol. 338. – P. 104–116.
  13. Martelli, A. Cadmium toxicity in animal cells by interference with essential metals / A. Martelli, E. Rousselet, C. Dycke [et al.] // *Biochimie*. – 2006. – Vol. 88 - P. 1807 - 1814.
  14. Meplan, C. Cadmium induces conformational modifications of wild-type p53 and suppresses p53 response to DNA damage in cultured cells / C. Meplan, K. Mann, P. J. Hainaut // *Biol. Chem.* - 1999. -Vol. 274 -P. 31663–31670.
  15. Nordberg, G. F. Cadmium. Third Edition / G. F. Nordberg, B.A. Fowler, M. Nordberg; Friberg, LT., editors // Elsevier: Handbook on the Toxicology of Metals. - 2007. - P. 445–486.
  16. Olszowski, T. Cadmium Concentration in Mother's Blood, Milk, and Newborn's Blood and Its Correlation with Fatty Acids, Anthropometric Characteristics, and Mother's Smoking Status / T. Olszowski, I. Baranowska-Bosiacka, E. Rębacz-Marón [et al.] // *Biol Trace Elem Res*. - 2016 Apr 4. [Epub ahead of print]
  17. Pardo, A. Role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis / A. Pardo, S. Cabrera, M. Maldonado, M. Selman // *Respir Res*. - 2016. - Vol. 4. - P. 17-23.
  18. Rizwan, M. Cadmium minimization in wheat: A critical review / Rizwan M., Ali S., Abbas T. [et al.] // *Ecotoxicol Environ Saf*. – 2016. – Vol. 130. -P. 43–53.
  19. Rizwan, M. Cadmium stress in rice: toxic effects, tolerance mechanisms, and management: a critical review / Rizwan M., Ali S., Adrees M., et al. // *Environ Sci Pollut Res Int*. – 2016 Mar 21. [Epub ahead of print]
  20. Shiyntum, H. N. Protective/detoxicative function of metallothionein in the rat brain and blood induced by controlled cadmium doses / H. N. Shiyntum, G. A. Ushakova // *Visnyk of C. Lilli, C. Bellucci [et al.] // Cytokine*. – 2015. – Vol. 72, № 1. – P. 9–16.
  4. Bradford M. Rapid and sensitive methods for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. Bradford // *Anal. Biochem*. – 1985. – Vol. 72. – P. 248–254.
  5. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. – CETS No.123. – Strasbourg, 1986.
  6. Himeno, S. The role of zinc transporters in cadmium and manganese transport in mammalian cells / S. Himeno, T. Yanagiya, H. Fujishiro // *Biochimie*. – 2009. – Vol. 91, № 10. – P. 1218–1222.
  7. Jarup, L. Health effects of cadmium exposure—a review of the literature and a risk estimate / L. Jarup, M. Berglund, C. G. Elinder [et al.] // *Scandinavian journal of work, environment & health*. – 1998. – Vol. 24, Suppl. 1 – P. 1–51.
  8. Jin, T. Toxicokinetics and biochemistry of cadmium with special emphasis on the role of metallothionein / T. Jin, J. Lu, M. Nordberg // *Neurotoxicology*. – 1998. – Vol. 19, № 4–5. – P. 529–535.
  9. Kirschvink, N. Repeated cadmium nebulizations induce pulmonary MMP-2 and MMP-9 production and emphysema in rats / N. Kirschvink, G. Vincke, L. Fiévez [et al.] // *Toxicology*. – 2005. – Vol. 211, № 1–2. – P. 36–48.
  10. Kousios, A. Matrix Metalloproteinases and Subclinical Atherosclerosis in Chronic Kidney Disease: A Systematic Review / A. Kousios, P. Kouis, A. G. Panayiotou // *Int J Nephrol*. – 2016. – Vol. 2016. – ID: 9498013.
  11. Lacorte, L. M. Cadmium exposure inhibits MMP2 and MMP9 activities in the prostate and testis / L. M. Lacorte, J. C. Rinaldi, L. A. Justulin Jr [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2015. – Vol. 20, № 457(4). – P. 538–541.
  12. Lian, S. Cadmium induces matrix metalloproteinase-9 expression via ROS-dependent EGFR, NF- $\kappa$ B, and AP-1 pathways in human endothelial cells/ S. Lian, Y. Xia, P. N. Khoi [et al.] // *Toxicology*. - 2015. - Vol. 338. - P. 104–116.
  13. Martelli, A. Cadmium toxicity in animal cells by interference with essential metals / A. Martelli, E. Rousselet, C. Dycke [et al.] // *Biochimie*. – 2006. – Vol. 88 - P. 1807 - 1814.
  14. Meplan, C. Cadmium induces conformational modifications of wild-type p53 and suppresses p53 response to DNA damage in cultured cells / C. Meplan, K. Mann, P. J. Hainaut // *Biol. Chem.* - 1999. -Vol. 274 - P. 31663–31670.
  15. Nordberg, G. F. Cadmium. Third Edition / G. F. Nordberg, B.A. Fowler, M. Nordberg; Friberg, LT., editors // Elsevier: Handbook on the Toxicology of Metals. - 2007. - P. 445–486.
  16. Olszowski, T. Cadmium Concentration in Mother's Blood, Milk, and Newborn's Blood and Its Correlation with Fatty Acids, Anthropometric Characteristics, and Mother's Smoking Status / T. Olszowski, I. Baranowska-Bosiacka, E. Rębacz-Marón [et al.] // *Biol Trace Elem Res*. □ 2016 Apr 4. [Epub ahead of print]
  17. Pardo, A. Role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis / A. Pardo, S. Cabrera, M. Maldonado, M. Selman // *Respir Res*. - 2016. - Vol. 4. - P. 17-23.
  18. Rizwan, M. Cadmium minimization in wheat: A critical review / Rizwan M., Ali S., Abbas T. [et al.] // *Ecotoxicol Environ Saf*. – 2016. – Vol. 130. -P. 43–53.
  19. Rizwan, M. Cadmium stress in rice: toxic effects, tolerance mechanisms, and management: a critical review / Rizwan M., Ali S., Adrees M., et al. // *Environ Sci Pollut Res Int*. – 2016 Mar 21. [Epub ahead of print]
  20. Shiyntum, H. N. Protective/detoxicative function of metallothionein in the rat brain and blood induced by controlled cadmium doses / H. N. Shiyntum, G. A. Ushakova // *Visnyk of*

Dnipropetrovsk University. Biology, medicine – 2015. - Vol. 6, № 2. - P. 103-107.

21. Shimada, H. Acute, nontoxic cadmium exposure inhibits pancreatic protease activities in the mouse / H. Shimada, T. Funakoshi, M. P. Waalkes // *Toxicol Sci.* – 2000. – Vol. 53, № 2. – P. 474-480.

22. Small, C. D. Matrix metalloproteinases in neural development: a phylogenetically diverse perspective / C. D. Small, B. D. Crawford // *Neural Regen Res.* – 2016. – Vol. 11, № 3. – P. 357-362.

23. Snoek-van Beurden, P. A. Zymographic techniques for the analysis of matrix metalloproteinases and their inhibitors / P. A. Snoek-van Beurden, J. W. Von den Hoff // *Biotechniques.* – 2005. – Vol. 38, № 1. – P. 73–83.

24. Solenkova, N. V. Metal Pollutants and Cardiovascular Disease: Mechanisms and Consequences of Exposure / N. V. Solenkova, J. D. Newman, J. S. Berger [et al.] // *Am Heart J.* – 2014. – Vol. 168, № 6. – P. 812–822.

25. Souza, A. P. Inhibition of human gingival gelatinases (MMP-2 and 9) by metal salts / A.P. Souza, R.F. Gerlach, S. R. P. Line // *Dent. Mater.* -2000. - Vol. 16, № 2. - P. 103-108.

26. Valko, M. Metals, toxicity and oxidative stress / M. Valko, H. Morris, M. T. Cronin // *Current medicinal chemistry.* – 2005. – Vol. 12, № 10. - P. 1161–1208.

27. Van Wart, H. E. The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family / H. E. Van Wart, H. Birkedal-Hansen // *Proc Natl Acad Sci USA.* - 1990. - Vol. 87 - P. 5578–5582.

28. Yiin, S. J. Lead-catalyzed peroxidation of essential unsaturated fatty acid / S. J. Yiin, T. H. Lin // *Biological trace element research.* - 1995. - Vol. 50, № 2. - P. 167–172.

29. Yucebiligic, G. Effects of lead on Na(+)-K(+) ATPase and Ca(+2) ATPase activities and lipid peroxidation in blood of workers / G. Yucebiligic, R. Bilgin, L. Tamer, S. Tukul // *International journal of toxicology.* - 2003. - Vol. 22, № 2. - P. 95–97.

metallothionein in the rat brain and blood induced by controlled cadmium doses / H. N. Shiyntum, G. A. Ushakova // *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, medicine* – 2015. - Vol. 6, № 2. - P. 103-107.

21. Shimada, H. Acute, nontoxic cadmium exposure inhibits pancreatic protease activities in the mouse / H. Shimada, T. Funakoshi, M. P. Waalkes // *Toxicol Sci.* – 2000. – Vol. 53, № 2. – P. 474-480.

22. Small, C. D. Matrix metalloproteinases in neural development: a phylogenetically diverse perspective / C. D. Small, B. D. Crawford // *Neural Regen Res.* – 2016. – Vol. 11, № 3. – P. 357-362.

23. Snoek-van Beurden, P. A. Zymographic techniques for the analysis of matrix metalloproteinases and their inhibitors / P. A. Snoek-van Beurden, J. W. Von den Hoff // *Biotechniques.* – 2005. – Vol. 38, № 1. – P. 73–83.

24. Solenkova, N. V. Metal Pollutants and Cardiovascular Disease: Mechanisms and Consequences of Exposure / N. V. Solenkova, J. D. Newman, J. S. Berger [et al.] // *Am Heart J.* – 2014. – Vol. 168, № 6. – P. 812–822.

25. Souza, A. P. Inhibition of human gingival gelatinases (MMP-2 and 9) by metal salts / A. P. Souza, R. F. Gerlach, S. R. P. Line // *Dent. Mater.* -2000. - Vol. 16, № 2. - P. 103-108.

26. Valko, M. Metals, toxicity and oxidative stress / M. Valko, H. Morris, M. T. Cronin // *Current medicinal chemistry.* – 2005. – Vol. 12, № 10. - P. 1161–1208.

27. Van Wart, H. E. The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family / H. E. Van Wart, H. Birkedal-Hansen // *Proc Natl Acad Sci USA.* - 1990. - Vol. 87 - P. 5578–5582.

28. Yiin, S. J. Lead-catalyzed peroxidation of essential unsaturated fatty acid / S. J. Yiin, T. H. Lin // *Biological trace element research.* - 1995. - Vol. 50, № 2. - P. 167–172.

29. Yucebiligic, G. Effects of lead on Na(+)-K(+) ATPase and Ca(+2) ATPase activities and lipid peroxidation in blood of workers / G. Yucebiligic, R. Bilgin, L. Tamer, S. Tukul // *International journal of toxicology.* - 2003. - Vol. 22, № 2. - P. 95–97.

## EFFECT OF DIFFERENT DOSES OF CADMIUM ON MATRIX METALLOPROTEINASE ACTIVITY IN THE HEART, BRAIN AND BLOOD SERUM OF RATS

<sup>1</sup>Fomenko O. Z., <sup>1</sup>Shaullskaya O. E., <sup>2</sup>Kot Yu. G., <sup>3</sup>Ushakova G. A., <sup>1</sup>Shevtsova A. I.

<sup>1</sup>State Establishment “Dnipropetrovsk Medical Academy”, Dnipropetrovsk, Ukraine

<sup>2</sup>Educational Establishment “V. N. Karazin Kharkiv National University”, Kharkiv, Ukraine

<sup>3</sup>Educational Establishment “Oles Honchar Dnipropetrovsk National University”, Dnipropetrovsk, Ukraine

*Cadmium (Cd) is not an element necessary for metabolic processes in the cell; its accumulation in the body can lead to disruption of vital functions of organs and systems, therefore, the molecular mechanisms of its action have been actively studied in recent years. The objective was to study the effect of cadmium in different doses (0.1 mkg/kg and 1 mkg/kg) on the activity of the two enzymes of matrix metalloproteinase family – gelatinase A (MMP2) and gelatinase B (MMP9) in the brain, heart and blood serum of rats. The method of gelatin zymography was used to evaluate the activity of these enzymes. We demonstrated that low doses of exogenous cadmium (0.1 mkg/kg) lead to reduced activity of latent and mature MMP9 in serum and myocardium, but the activity of these enzymes is almost constant in the brain. High doses of cadmium (1 mkg/kg) cause a significant increase in the activity of both gelatinases in the myocardium and decreased MMP2 activity in the brain. The received results indicate the dose-dependent and tissue-specific effect of cadmium on MMP-dependent protein degradation.*

**Keywords:** cadmium, MMP2, MMP9, brain, heart, blood serum.

Поступила: 19.05.2016

Отрецензирована: 27.05.2016