

## ОСОБЛИВОСТІ ЦИТОТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ КАДМІЙ ХЛОРИДУ НА КЛІТИНИ *IN VITRO*

О. В. Штапенко, І. І. Гевкан, Ю. І. Сливчук

Інститут біології тварин НААН,  
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

Досліджено динаміку змін проліферативних і метаболічних процесів у клітинах ембріонального фібробласту плодів корів за різної тривалості дії хлориду кадмію. Встановлено залежність росту клітин від тривалості культивування з хлоридом кадмію. За присутності хлориду кадмію у культуральному середовищі спостерігалось відновлення проліферативного росту клітин впродовж 3 та 6 год, тоді як тривала дія сполуки (48 та 72 год) викликала цитотоксичний вплив. Зниження інтенсивності проліферації клітин, зумовленої хлоридом кадмію, супроводжувалася змінами метаболічних процесів у культурі клітин. На початку стресової дії значних змін у вмісті загального протеїну у кондиційному середовищі контрольної та дослідної груп не спостерігали, проте 24-, 48- та 72-годинна дія хлориду кадмію призводила до вірогідного зниження вмісту протеїну. За дії хлориду кадмію вміст глюкози у кондиційному середовищі дослідної групи вірогідно зростає ( $P < 0,001$ ), що зумовлено незначним рівнем споживання глюкози внаслідок зниження рівня біосинтетичних процесів. Зниження рівня обмінних процесів за дії хлориду кадмію підтверджується і динамікою змін концентрації Кальцію та Фосфору. На 48–72 годину досліджень спостерігалось вірогідне підвищення вмісту Фосфору ( $P < 0,001$ ) та зниження Кальцію у кондиційному середовищі дослідної групи, що збігається зі зниженням проліферативної активності клітин у ці періоди культивування.

Результати досліджень показали, що дія хлориду кадмію призводить до зниження проліферативного росту та життєздатності культури клітин ембріонального фібробласту плодів впродовж усього періоду культивування, однак більш виражений вплив виявлено за тривалої дії сполуки.

**Ключові слова:** КУЛЬТУРА КЛІТИН, КАДМІЙ ХЛОРИД, ПРОЛІФЕРАЦІЯ, ЦИТОТОКСИЧНІСТЬ

## TIME-DEPENDENT CYTOTOXICITY OF CADMIUM CHLORIDE ON CELLS *IN VITRO*

O. V. Shtapenko, I. I. Gevkan, Yu. I. Sliyechuk

Institute of Animal Biology NAAS,  
38 V. Stus str., Lviv 79034, Ukraine

The dynamics of changes of proliferative and metabolic processes in culture of cow fetus embryonic fibroblast cells at different time of influence of cadmium chloride was evaluated. The dependence of cell growth at time of cultivation with cadmium chloride has been established. The proliferative growth of cells was restored after 3 and 6 h of cultivation cells with cadmium chloride, while the prolonger cultivation to 48 and 72 h caused cytotoxic effect. The decrease of cells viability and proliferation after adding the cadmium chloride to the culture medium was accompanied with the metabolism inhibition in cell culture. At the beginning of the stressful action, the total protein content in conditional medium was similar in control and experimental group, whereas prolonged cultivation cells with cadmium chloride for 24, 48 and 72 h led to significant decrease in total protein compared to the control. The glucose content was significantly higher ( $P < 0.001$ ) in conditional medium of the experimental group that indicating about the insignificant level of glucose consumption through a lower level of biosynthetic processes in treatment cells. The decrease the level of exchange processes by the influence of cadmium chloride is confirmed by the dynamics of changes in the concentration of Calcium and Phosphorus. Thus, in experimental group the Phosphorus content in the conditional medium was significantly higher ( $P < 0.001$ ) at 48 h and 72 h of cultivation compared to the control.

The result of our studies indicate that the decline cells viability and proliferation after adding the cadmium chloride to the culture of cow fetus embryonic fibroblast cells cultivation was observed during 24–72 h of cultivation however, a more pronounced effect was detected in the long-term effect of the compound.

**Keywords:** CELL CULTURE, CADMIUM CHLORIDE, PROLIFERATIVE ACTIVITY, CYTOTOXICITY

## ОСОБЕННОСТИ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ КАДМИЙ ХЛОРИДА НА КЛЕТКИ *IN VITRO*

О. В. Штапенко, И. И. Гевкан, Ю. И. Сливчук

Институт биологии животных НААН,  
ул. В. Стуса, 38, г. Львов, 79034, Украина

*Исследована динамика изменений пролиферативных и метаболических процессов в клетках эмбрионального фибробласта плодов коров при разной продолжительности действия хлорида кадмия. Установлена зависимость роста клеток от продолжительности культивирования с хлоридом кадмия. В присутствии хлорида кадмия в культуральной среде наблюдалось восстановление пролиферативного роста клеток в течение 3 и 6 часов, тогда как длительное воздействие соединения (48 и 72 часа) вызвало цитотоксическое влияние. Снижение интенсивности пролиферации клеток, обусловленной хлоридом кадмия, сопровождалась изменениями метаболических процессов в культуре клеток. В начале стрессового воздействия значительных изменений в содержании общего протеина кондиционной среды контрольной и опытной групп не наблюдалось, однако 24-, 48- и 72-часовое действие хлорида кадмия приводило к достоверному снижению содержания протеина. При действии хлорида кадмия содержание глюкозы в кондиционной среде опытной группы достоверно возрастало ( $P < 0.001$ ), это обусловлено незначительным уровнем потребления глюкозы вследствие снижения уровня биосинтетических процессов. Снижение уровня обменных процессов при действии хлорида кадмия подтверждается и динамикой изменений концентрации Кальция и Фосфора. На 48–72 час исследований наблюдалось достоверное повышение содержания Фосфора ( $P < 0.001$ ) и снижение Кальция в кондиционной среде опытной группы, что совпадает со снижением пролиферативной активности клеток у этих периоды культивирования.*

*Результаты исследований показали, что действие хлорида кадмия приводит к снижению пролиферативного роста и жизнеспособности культуры клеток эмбрионального фибробласта плодов в течении всего периода культивирования, однако более выраженное влияние выявлено при длительном воздействии соединения.*

**Ключевые слова:** КУЛЬТУРА КЛЕТОК, КАДМИЙ ХЛОРИД, ПРОЛИФЕРАЦИЯ, ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ

Провідне місце серед антропогенних забруднювачів докілька посідає Кадмій. Через високу токсичність та міграційну здатність, схильність до біокумуляції та повільного виведення з організму, Кадмій виявляє шкідливий вплив на стан здоров'я, особливо при вагітності [14, 26].

Забруднення Кадмієм пов'язане з переробкою побутових і промислових відходів, металургійним виробництвом, гальванопокриттям, викидами автотранспорту, виробництвом люмінофорів для кольорових телевізорів і рентгенівських екранів, антикорозійних покриттів, проте основним джерелом забруднення є тютюновий дим [25]. Кожна цигарка може містити 1–2 мкг Кадмію і 40–60 % цієї кількості надходить разом із вдихуванням димом через легеневий епітелій у кровоносне русло. Ретенція Кадмію в організмі курців у 1,5–2 рази вища порівняно з тими, хто не курить. Кадмій здатен накопичуватися в організмі з періодом напіврозпаду 10–30 років [8]. В організмі Кадмій перебуває в основному у зв'язаному стані — у комплексі з металотіонеїном [24]. Його надлишкове над-

ходження індукуює синтез цинк-, кадмій-металотіонеїнів, що виснажує цю систему і викликає сайт-специфічну деградацію ДНК [22].

Хронічна експозиція Кадмію призводить до розвитку анемії, уражень печінки і нирок, кардіопатій, остеопорозу, гіпертонії, змін імунної системи [2, 15]. Високу нефрон- та гепатотоксичну дію кадмій хлориду виявлено за надходження токсиканту у дозах малої інтенсивності, особливо в молодому віці [8]. Ембріотоксична дія Кадмію проявляється патологією будови скелета, лиць, нервової трубки плодів, важкими формами олігогідрамніонії [23]. Інгаляційне надходження Кадмію в період вагітності викликає тератогенний та ембріотоксичний ефекти [10, 19]. Встановлено, що у плаценті концентрація Кадмію вища у 10 разів, ніж у материнській крові та у 59 раз, ніж в пуповинній [12]. Поза тим встановлено, що плацента слугує надійним або майже надійним бар'єром для проходу токсичних мікроелементів [21].

Висока накопичувальна здатність кадмій хлориду за низьких доз виявлена у парен-

хіматозних органах шурів з градієнтом розподілу: нирки — печінка — серце — скелетний м'яз — мозок, особливо в молодому віці при надходженні токсиканту в дозах малої інтенсивності [8].

Епігеномні механізми Кадмію пов'язані з індукцією мутацій, перекисним окисненням ліпідів, заміною іонів Цинку в «фінгерних» білках та інших нуклеопротейдах; конкуренцією з Кальцієм в кальційзалежних процесах реплікації, транскрипції, фосфорилування і ДНК-фрагментації [3, 22].

Встановлено, що іони Кадмію, зв'язуючи сульфгідрильні групи глутатіону та білків, призводять до активації процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) клітинних мембран, що викликає порушення їх функцій та призводить до утворення активних форм Оксигену [2]. Кінцевим етапом є порушення морфофункціонального стану мембран, вихід із лізосом кислих гідролаз, загальне посилення гідролітичних процесів у тканинах, накопичення токсичних продуктів аутолізу, порушення синтезу ДНК, дезінтеграція мембран, загибель клітини [27].

Одним з механізмів токсичного впливу Кадмію на регуляторні процеси в клітині є його конкуренція з іонами інших металів. Так, Кадмій витісняє Кальцій, а відтак опосередковано впливає на ензими, передусім — на протеїнази [20]. Кадмій також конкурує з Цинком за можливість зв'язуватись з протеїнами, що призводить до порушення важливих ензиматичних реакцій. Токсичність Кадмію знижується в присутності іонів Цинку та Купруму, здатних конкурентно інгібувати його захоплення гепатоцитами й інтестинальними клітинами та накопичення в проксимальних каналцях нирок. Хронічна експозиція Кадмію поступово індуктує селективний синтез цинк-, кадмій-металотіонеїн, що виснажує цю систему і викликає сайт-специфічну деградацію ДНК. При зниженні концентрації Купруму та Цинку посилюється всмоктуванням Кадмію з шлунково-кишкового тракту. Надлишок Кадмію призводить також до дефіциту Селену [3].

Встановлено, що Кадмій належить до ендокринних деструкторів і здатний проявляти естрогенну й андрогенну активність [9].

Використання культур клітин різних типів для дослідження впливу сполук Кадмію в експериментах *in vitro* дозволяє з'ясувати механізми дії екополютанта на клітинному рівні і дає можливість досліджувати цито- та органоспецифічну токсичності. У наших дослідженнях для встановлення органоспецифічної дії кадмій хлориду використано первинну культуру клітин ембріональних фібробластів плодів корів.

Метою роботи було вивчення особливостей впливу кадмій хлориду на культуру клітин ембріонального фібробласта корів за різної тривалості його дії.

## Матеріали і методи

Експериментальні дослідження виконані на первинній культурі клітин ембріонального фібробласту плодів корів, яку отримували в асептичних умовах у лабораторії Інституту біології тварин НААН. Тканини механічно подрібнювали, відмивали від крові розчином Хенкса з додаванням гентаміцину (10 мкг/мл) та ресуспендували [16].

Клітини культивували в поживному середовищі 199 з додаванням 10 % фетальної сироватки телят, 40 мкг/мл гентаміцину при 37 °С в атмосфері 5 % CO<sub>2</sub> за 100 % вологості.

Для оцінки цитотоксичної дії хлориду кадмію клітини у концентрації  $1,2 \times 10^6$  клітин/мл висівали у 6-лункові планшети. Для визначення часової експозиції впливу, водний розчин кадмій хлориду у концентрації 100 мкг/мл одноразово вносили у культуральне середовище з клітинами ембріонального фібробласта корів дослідних груп та інкубували за присутності сполуки впродовж 3-х годин (1 дослідна група), 6-ти годин (2 дослідна група), 24-х годин (3 дослідна група), 48-ми годин (4 дослідна група) та 72-х годин (5 дослідна група). Через зазначені проміжки часу (3, 6, 24, 48 та 72 год) проводили заміну середовища на чисте і продовжували культивування до 72 год. Клітини, що не зазнавали впливу сполуки, були взяті за контроль.

Оцінку проліферації та метаболічної здатності клітин проводили на 3, 6, 24, 48 та 72 год культивування, підраховуючи кількість клітин після забарвлення трипановим синім та визначення біохімічних показників

(загального білка, глюкози, Кальцію, Фосфору) у кондиційному середовищі на біохімічному аналізаторі *Humalyzer 2000*. Дослід проводили у трьох паралелях. Результати опрацьовували за *t*-критерієм Стюдента та пакетів прикладних програм *Microsoft Excel*.

### Результати й обговорення

Порівняння результатів короткотривалого (3–24 год) та довготривалого (48–72 год) культивування клітин ембріонального фібробласту з хлоридом кадмію показали залежність токсичного впливу від тривалості дії сполуки (рис. 1). Після короткотривалої дії хлориду кадмію впродовж 3 та 6 год. (1 та 2 дослідні групи) спостерігали відновлення проліферативного росту клітин вже на першу добу культивування, порівняно з іншими дослідними групами з тривалішою дією хлориду кадмію, хоча, порівняно з контрольною групою, ці показники були вірогідно ( $P < 0,001$ ) нижчими. Це вказує на можливість регенерації проліферативних процесів та функціональної здатності клітин після короткотривалого токсичного впливу Кадмію.

Отримані дані узгоджуються з результатами інших дослідників [11], в яких показана здатність невисоких концентрацій кадмій хлориду ініціювати адаптивну відповідь у клітинах людини. Іншими авторами встановлено, що малі дози кадмій хлориду не викликають значних цитогенетичних змін та проліферативної активності клітин епітелію ротової порожнини, а ферментативні реплікаційні та репараційні системи зберігали високу активність, що забезпечувало захист клітин від виникнення хромосомних перебудов [1].

У 3-й дослідній групі культивування клітин з кадмій хлоридом впродовж 24 год спричиняло гальмування проліферативного росту клітин ембріонального фібробласту на першу та другу доби, тоді як на третю добу спостереження кількість клітин зросла у 2,9 та 2,3 разу порівняно з показниками на 24 та 48 год досліджень. Очевидно, відновлення поділу клітин пов'язано з тим, що дія низьких концентрацій іонів Кадмію компенсується завдяки репараційним та преадаптивним структурно-функціональним можливостям клітин.

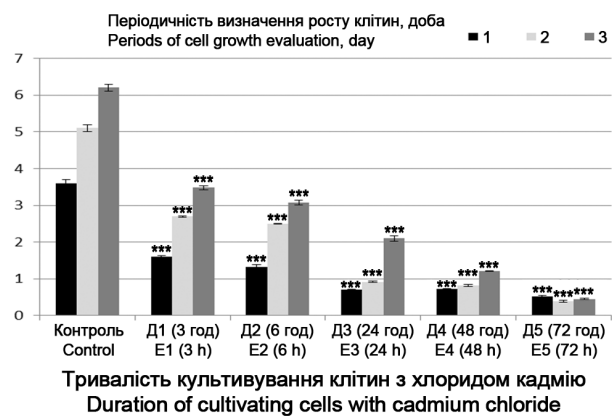


Рис. 1. Вплив часової експозиції кадмій хлориду на проліферативний ріст культури клітин ембріонального фібробласту плодів впродовж 72 год культивування ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )

Fig. 1. Effect of cadmium chloride on the proliferative growth of embryonic fibroblasts of fetuses of cows at different exposure times during 72 h of cultivation (data mean  $\pm$  SD,  $n=3$ )

Примітка: \*\*\* —  $P < 0,001$  — вірогідна різниця між контролем та дослідними групами.

Note: \*\*\* — the significant changes was shown as  $P < 0,001$  between control and experimental groups.

Один із механізмів, що регулює обмін Кадмію, пов'язаний із низькомолекулярним білком — металотіонеїном, який містить значну кількість вільних сульфгідрильних груп [24]. Відомо, що Кадмій у клітині зв'язується з металотіонеїном [6]. Ймовірно, надходження Кадмію активує генетично обумовлену індукцію генів, які відповідають за продукцію окремих металотіонеїнів, що до певної міри сприяє толерантності клітин до токсичної дії Кадмію.

За тривалої дії кадмій хлориду впродовж 48 год у 4-й дослідній групі спостерігали пригнічення росту клітин, тоді як у 5-й дослідній групі за експозиції 72 год відбувалося повне припинення проліферації клітин, що підтверджується результатами біохімічних досліджень.

Аналогічні результати, отримані іншими авторами [1], показали, що тривала дія малих доз Кадмію викликає цитотоксичний ефект на епітеліальні клітини і призводить до підвищення активності каріолізу та перенуклеарній вакуолізації, порушення клітинного гомеостазу та індукції апоптозу.

Основний з механізмів токсичної дії іонів Кадмію полягає у їхній здатності підсилювати процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), утворення надлишкової кількості актив-



Таблиця

Динаміка вмісту загального протеїну та Кальцію у кондиційному середовищі за інкубації клітин ембріонального фібробласту плодів корів з кадмій хлоридом впродовж 72 год культивування ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )  
Dynamics of the content of total protein and calcium in the conditioned medium during 72 of cultivation of embryonic fibroblasts cells of cows fetuses with cadmium chloride

Групи / Groups	Тривалість культивування, год Time of cultivation, h	Показники / Parameters	
		Загальний білок, г/л Total protein, g/L	Кальцій, ммоль/л Calcium, mmol/L
Основне середовище (ОС) Basal medium (BM)	—	13,01±0,05	1,76±0,1
Контрольна Control	3	12,7±0,3	2,05±0,15
	6	13,0±0,2	2,12±0,1
	24	13,8±0,3	2,02±0,05
	48	13,4±0,25	1,9±0,1
	72	12,9±0,3	1,83±0,3
Дослідна (ОС+CdCl <sub>2</sub> ) Experimental (BM+CdCl <sub>2</sub> )	3	12,4±0,13	2,0±0,13
	6	12,5±0,2	2,2±0,06
	24	12,8±0,13*	1,83±0,06
	48	12,4±0,21*	1,9±0,02
	72	11,6±0,2*	1,57±0,03

Примітка: \* —  $P < 0,05$  — вірогідні зміни відносно контролю.

Note: \* —  $P < 0.05$  — the significant changes compared to the control.

них форм Оксигену (АФК) і розвитку оксидативного стресу на фоні збільшення концентрації іонів Кадмію в клітині [2]. Встановлено, що іони Кадмію, зв'язуючи сульфгідрильні групи глутатіону та білків, активують процеси перекисного окиснення ліпідів клітинних мембран, що викликає порушення їх функцій та призводить до утворення активних форм Оксигену [7]. Кінцевим етапом є порушення морфофункціонального стану мембран, вихід із лізосом кислих гідролаз, загальне посилення гідролітичних

процесів у тканинах, накопичення токсичних продуктів аутолізу, порушення синтезу ДНК, дезінтеграція мембран, загибель клітини [4, 13].

Проведений аналіз біохімічних показників кондиційного середовища за умов додавання кадмій хлориду показав (табл.), що вміст загального протеїну у контрольній групі впродовж всього періоду культивування не змінювався і був на рівні відповідного показника основного середовища, тоді як вміст загального протеїну в дослідній групі на 24, 48 та 72 год спостереження вірогідно знижувався порівняно з аналогічними показниками контрольної групи, що зумовлено зниженням проліферативного росту клітин за цитотоксичного впливу кадмій хлориду.

У контрольній і дослідних групах у кондиційному середовищі, відібраному на 3 год культивування, вміст глюкози був однаковим, тоді за 6 год виявлено зниження вмісту глюкози в 1,5 разу у дослідній групі (рис. 2).

Зниження рівня глюкози у контрольній групі зберігалось впродовж 72-годинного культивування, тоді як у дослідній групі спостерігалось зниження рівня біосинтетичних процесів, що проявлялось незначним рівнем споживання глюкози. Негативний вплив на клітини зумовлений здатністю іонів Кадмію за тривалої дії блокувати активність ферментних систем аеробного і анаеробного окиснення, інгібувати сульф-

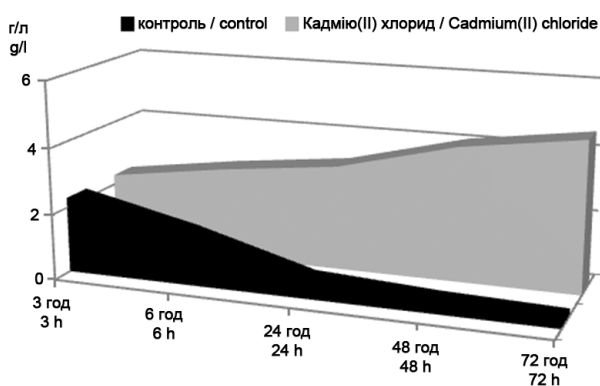


Рис. 2. Вплив кадмій хлориду за різного часу експозиції на концентрацію глюкози у кондиційному середовищі при культивуванні культури клітин ембріонального фібробласту корів впродовж 72 год  
Fig. 2. Effect of cadmium chloride on glucose concentration in conditioned medium of embryonic fibroblasts of fetuses of cows at different exposure times during 72 h of cultivation

гідрильні групи цистеїнових протеїназ, взаємодіючи з активними центрами ферментів [18, 28].

Зниження рівня обмінних процесів у дослідній групі за умов дії хлориду кадмію підтверджується і динамікою зміни концентрації Кальцію та Фосфору у кондиційному середовищі. На відміну від контрольної групи, в дослідній групі рівень Кальцію за додавання кадмій хлориду на 72 год знижувався (табл.), а вміст Фосфору — вірогідно підвищувався на 24, 48 та 72 год спостереження (рис. 3), що збігається зі зниженням проліферативної активності клітин у ці періоди культивування.

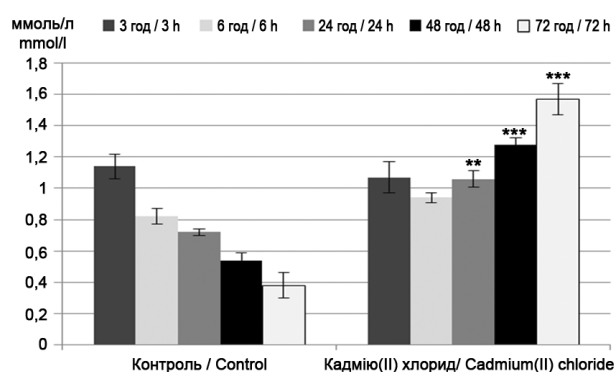


Рис. 3. Вміст Фосфору в кондиційному середовищі за впливу різного часу експозиції кадмій хлориду на культуру клітин ембріонального фібробласту плодів корів впродовж 72 год культивування ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )

Fig. 3. Content of phosphorus in conditioned medium of embryonic fibroblasts of fetuses of cows due to exposure to cadmium chloride at different exposure times during 72 h cultivation ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )

Примітка: \*\* —  $P < 0.01$ ; \*\*\* —  $P < 0.001$  — вірогідні зміни відносно контролю.

Note: \*\* —  $P < 0.01$ ; \*\*\* —  $P < 0.001$  — the significant changes compared to the control.

Одним з перших механізмів цитотоксичності важких металів і зокрема Кадмію є порушення функцій мітохондрій. Було підтверджено, що іони Кадмію підвищують проникність мембран мітохондрій для іонів Гідрогену, Калію, Магнію та інгібують мітохондріальні ензими, які регулюють швидкість дихання [5]. Йони Кадмію зв'язуються з білковими структурами мітохондріального матриксу, що обумовлює дисфункцію субклітинних структур [17] внаслідок порушення іонного транспорту у клітині, зокрема Кальцію, і призводить до запуску каспаз-3 та 9, протеолізу білків та фрагментації ДНК [29].

Отже, у результаті проведених досліджень нами встановлено, що хлорид кадмію

здійснює токсичний ефект на проліферативний ріст та метаболічні процеси життєдіяльності клітини. Цитотоксичний вплив кадмій хлориду на культуру клітин ембріонального фібробласту плодів корів більш виражений за тривалої дії сполуки.

## Висновки

1. Хлорид кадмію за концентрації 100 мкг/мл викликає зниження інтенсивності проліферативного росту культури клітин ембріонального фібробласту плодів корів впродовж 72 год культивування, що вказує на його цитостатичний/цитотоксичний ефект.

2. Встановлена залежність росту клітин від часу культивування з кадмій хлоридом. Відновлення проліферативного росту клітин спостерігалось при короткотривалій дії кадмій хлориду впродовж 3 та 6 год культивування, тоді як на 48 та 72 год культивування проліферація клітин майже зовсім пригнічується.

3. У культурі клітин ембріонального фібробласту плодів відбувається гальмування утилізації глюкози, зниження інтенсивності споживання Фосфору, активності лужної фосфатази, рівня Кальцію та відповідно проліферативної активності клітин за дії хлориду кадмію впродовж тривалого культивування клітин.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у комплексній оцінці особливостей часової динаміки токсичної дії хлориду кадмію *in vitro* та врахування отриманих результатів при проведенні досліджень на моделях *in vivo*.

1. Agbalyan E. V., Shynkaruk E. V. Characterization of the genotoxic and citotoxic effects of small doses of cadmium. *International journal of Applied and Fundamental Research*, 2015, 6–3, pp. 427–431. (in Russian)

2. Antonyak H. L., Babych N. O., Biletska L. P., Panas N. E. Cadmium in human and animal organisms. III. Effect on reproductive system. *Studia Biologica*, 2011, vol. 5, no. 2, pp. 141–152. (in Ukrainian)

3. Arustamian O. M., Tkachyshyn V. S., Aleksii-chuk O. Yu. Influence of cadmium compounds on the human body. *Journal of Emergency Medicine*, 2016, no. 7, pp. 109–114. DOI: 10.22141/2224-0586.7.78.2016.86103. (in Ukrainian)

4. Aziz R., Rafiq M. T., Yang Jie, Liu Di, Lu L., He Z., Daud M. K., Li T., Yang X. Impact assessment of cadmium toxicity and its bioavailability in human cell lines (Caco-2 and HL-7702). *BioMed Research*

*International*, 2014, p. 8. Article ID 839538, DOI: 10.1155/2014/839538.

5. Belyaeva E. A. Cd<sup>2+</sup>-promoted mitochondrial permeability transition: a comparison with other heavy metals. *Acta Biochimica Polonica*, 2004, vol. 51, no. 2, pp. 545–551.

6. Bezruchko N. V., Rubtsov G. K., Grigorieva O. M. Metallothionein: relationship with oxidative modification of proteins and lipids, monitoring methods. *Bulletin of Tomsk state university*, 2015, vol. 11, no. 164, pp. 161–168. (in Russian)

7. Dmytrukha N. N. On the problem of immunotoxicity lead and cadmium (literature review). *Modern problems of toxicology*, 2009, 1, pp. 4–9.

8. Gordienko V. V. Features of cadmium accumulation in rats of different ages in case of long-term exposition to the salt of metal in low intensity doses. *Clinical & Experimental Pathology*, 2015, T. XIV, vol. 1, no. 51, pp. 40–43. (in Ukrainian)

9. Grintsova N. B., Romaniuk A. M. Functional state of pituitary-ovary system of mature female rats following long-term influence of heavy metals salts and non-hormonal injection. *ScienceRise: Biological Science*, 2017, vol. 3, no. 6, pp. 4–7. (in Ukrainian)

10. Gzhegotsky M. R., Sukhodolska N. V. Influence of cooper, zinc, cadmium and lead on arising threat of miscarriage in women. *Reproductive health. Eastern Europe*, 2014, no. 1, pp. 11–17. (in Russian)

11. Kaminskaya I. A. Adaptive response in human cells with different ability to repair DNA damage Autoref. of PhD thesis in biol. science. Moscow, 1999, 21 p. (in Russian)

12. Kippler M., Hoque A. M., Raqib R. Accumulation of cadmium in human placenta interacts with the transport of micronutrients to the fetus. *Toxicol. Let. J.*, 2010, vol. 192, pp. 162–168. DOI: 10.1016/j.toxlet.2009.10.018.

13. Khyzhnyak S. V. Cell functioning under cadmium intoxication. *Modern problems of toxicology*, 2009, no. 1, pp. 54–58.

14. Kolosova I. I. Effect of lead acetate, salts of heavy metals on reproduction. *Bulletin of problems in biology and medicine*, 2013, vol. 3, no. 6, pp. 4–7. (in Ukrainian)

15. Krishna A. K., Mohan K. R. Risk assessment of heavy metals and their source distribution in waters of a contaminated industrial site. *Environmen. Sci. Pollut. Res. Int.*, 2013. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24277434>.

16. Madich A., Sheremeta V., Hevkan I., Shtapenko O., Fedorova S., Slyvchuk Yu. *Cell culture and its possible use in embryonic biotechnology*. A manual for basic technique. Kyiv, ArtEkom, 2012. 144 p. (in Ukrainian)

17. Marchenko M. L., Bezdenezhnykh N. A., Kudriavets Y. I. Comparative characteristics of the effect of heavy metal compounds on human cells cultivated *in*

*vitro*. *Ukrainian Journal of Occupational health problems*, 2008, vol. 3, no. 15, pp. 27–34. Available at: <http://opb.org.ua/id/eprint/2479>.

18. Moulis J. M. Cellular mechanisms of cadmium toxicity related to the homeostasis of essential metals. *J. M. Moulis Biometals.*, 2010, vol. 23, no. 5, pp. 877–896. DOI: 10.1007/s10534-010-9336-y.

19. Mykhashula G., Sukhodolska N. Maternal and umbilical cord blood levels of lead, cadmium, copper and zinc. Proceeding of the 10th Bialystok International Medical Congress for Young Scientists, Bialystok, 2015, p. 388.

20. Podolyanska V. V. A complex estimation of children's health conditions that live on the territory, which is polluted by fluoride and salt of heavy metals. Autoref. of PhD thesis in medical science. Kharkiv, 2001, 16 p. (in Ukrainian)

21. Pollack A. Z., Ranasinghe S., Sjaarda L. A., Mumford S. L. Cadmium and reproductive health in women: a systematic review of the epidemiologic evidence. *Curr. Environ. Health. Rep.*, 2014, vol. 1, no. 2, pp. 172–184. DOI: 10.1007/s40572-014-0013-0.

22. Rudenko I. V. The role of macro- and microelements in development of congenital malformations. *Achievements of Biology and Medicine*, 2009, vol. 1, no. 13, pp. 94–98. (in Ukrainian)

23. Sakamoto M., Yasutake A., Domingo J. L. Relationships between trace element concentrations in chorionic tissue of placenta and umbilical cord tissue: potential use as indicators for prenatal exposure. *Environ. Int. J.*, 2013, vol. 60, pp. 106–111. DOI: 10.1016/j.envint.2013.08.007.

24. Shafran L. M., Pykhteev D. M., Bolshoy D. V. Metallothionein as a biomarker in experiment and clinic. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*, 2011, no. 9, pp. 60–64. (in Russian)

25. Sukhodolska N. V. Content of zinc, copper lead and cadmium in system mother-placenta-fetus. *Experimental and Clinical Physiology and Biochemistry*, 2015, no. 2, pp. 69–77. (in Ukrainian)

26. Ventskiivsky B. M., Osadchuk S. V. Heavy metal content in biological substrates of “Mother-Placenta-Fetus” with the syndrome of fetal growth retardation. *J. Medication of Ukraine*, 2010, vol. 3, no. 12, pp. 38–41. (in Ukrainian)

27. Vladimirov Yu. A. Biological membranes and non-programmed cell death. *Soros Educational Journal*, 2000, no 9, pp. 11–16. (in Russian)

28. Wan L., Zhang H. Cadmium toxicity: effects on cytoskeleton, vesicular trafficking and cell wall construction. *Plant Signal Behav.*, 2012, vol. 7, no. 3, pp. 345–348. DOI: 10.4161/psb.18992.

29. Wang C., Youle R. J. The role of mitochondria in apoptosis. *Annual Review of Genetics*, 2009, vol. 43, pp. 95–118. DOI: 10.1146/annurev-genet-102108-134850.