



## Елементний склад тканин печінки та нирок щурів за впливу фунгіцидів

С. В. Хижняк, А. О. Велинська, Є. В. Біщук, В. М. Войціцький

khs2014@ukr.net

Національний університет біоресурсів і природокористування України,  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

Широке використання фунгіцидів у різних сферах життєдіяльності людини призводить до негативних наслідків як для людини, так і довкілля. У статті наведено результати дослідження гострого впливу на організм щурів системних фунгіцидів, які належать до хімічного класу триазолу, щодо вмісту макро- та мікроелементів у тканинах нирок та печінки. Вміст хімічних елементів визначали методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно-зв'язаною плазмою. Виявлені зміни вмісту макро- і мікроелементів у тканинах печінки і нирок щурів вказують на тканинну специфічність дії фунгіцидів. Для тканин печінки за впливу фунгіциду, який містить тебуконазол ( $250 \text{ г/дм}^3$ ) чи комбінованого фунгіциду, що містить (тебуконазол,  $125 \text{ г/дм}^3$  + триадимефон,  $100 \text{ г/дм}^3$ ) встановлено вірогідне ( $P < 0.05$ ) зростання вмісту Калію (K), Кальцію (Ca), Хрому (Cr), Феруму (Fe), Купруму (Cu) та Цинку (Zn). Це може призводити до функціонального навантаження на орган. Для тканини нирок спостерігається вірогідне ( $P < 0.05$ ) зниження вмісту мікроелементів (Zn, Mn, Cr), величини відношення Zn:Cu та збільшення вмісту Fe, що може свідчити про порушення окисного метаболізму в органі, а вірогідне зростання вмісту Ca ( $P < 0.05$ ) — характеризувати порушення проникності клітинних мембран. Виявлені зміни рівня макро- та мікроелементів у тканинах нирок та печінки можуть призводити до дисфункції та порушення ефективності реалізації внутрішньоклітинних контролюючих та ефекторних сигналів.

**Ключові слова:** фунгіциди, печінка, нирки, елементи, дисбаланс

Стабільність хімічного складу живого організму є однією з необхідних умов його функціонування. Хімічні елементи забезпечують сталість осмотичного тиску, кислотно-лужного балансу, функціонування клітинних мембран, перебіг реакцій обміну речовин тощо. Зокрема, такі елементи, як Калій, Натрій, Магній, Кальцій та Цинк, вкрай необхідні, незамінні для організму, тому їх нестача або надлишок чи порушення міжорганного перероподілу впливає на обмін речовин. З огляду на це, дисбаланс у вмісті макро- та мікроелементів призводить до різноманітних порушень в органах та системах організму [13].

Одним із негативних екологічних чинників впливу на тваринний організм є пестициди (хімічні речовини), які широко використовують у сільському господарстві для покращення якості та урожайності сільськогосподарських культур. Значну частку застосовуваних у світі пестицидів становлять фунгіциди, зокрема сполуки групи триазолів, які використовують для знищення комплексу фітопатогенів грибової етіології, а також як протруйники насіння. Ефективний системний фунгі-

цид тебуконазол належить до триазолів третього покоління. На сьогодні у «Переліку пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні» є понад сто препаративних форм, які містять тебуконазол [10]. Крім того, сучасні комерційні пестицидні формуляції можуть містити кілька діючих речовин, що обумовлює кумулятивний ефект цих речовин на організм через складні синергетичні та антагоністичні реакції [7].

Широке застосування фунгіцидів створює дедалі більшу загрозу щодо забруднення ґрунтів токсичними речовинами, що призводить до їх подальшої міграції трофічними (харчовими) ланцюгами [3]. Зокрема, потрапляння до раціону сільськогосподарських тварин та птиці тебуконазолу призводить до негативного впливу на метаболічні процеси організму, як наслідок — до зниження продуктивності. Встановлено морфологічні прояви інтоксикації щурів, які перорально отримували тебуконазол. Вплив фунгіциду проявляється ознаками дистрофії гепатоцитів, пошкодженням каналцевого епітелію в нирках, а також мікроциркулярними розладами в надниркових залозах [8].

Печінка — основний гомеостатичний орган в тілі. Порушення її функціонування призводить до дисбалансу білкового та ліпідного обміну, зниження біотрансформації ксенобіотиків, внаслідок чого спостерігається інтоксикація організму [12]. Крім того, печінка є основним органом-депо мінеральних речовин організму, а поряд з нирками відіграє важливу роль у підтриманні обміну речовин. Це зумовлює дослідження макро- та мікроелементного складу тканин печінки і нирок тваринного організму за дії пестицидів.

Мета роботи — дослідити вміст макро- та мікроелементів у тканинах печінки і нирок щурів за гострого впливу фунгіцидів, які містять у своєму складі тебуконазол.

## Матеріали і методи

У дослідженнях використано самок щурів *Wistar Han* з масою тіла 210–240 г, яких утримували у стандартних умовах віварію ДУ «Інститут медицини праці НАМН України» за стандартних температурних та світлових умов. Щурів розділили на три групи по 5 тварин у кожній: 1 група — контрольна, 2 і 3 — дослідні. Тваринам 2- та 3-ї груп за допомогою металевого зонду вводили одноразово перорально 1200 мг/кг водної емульсії відповідних пестицидних формуляцій тебуконазолу. Через 14 діб досліджень тварин виводили з експерименту декапітацією за легкої анестезії. В експерименті використовували печінку та нирки. Маніпуляції з тваринами здійснено відповідно до «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986).

У роботі використано зареєстровані в Україні системні фунгіциди у препаративній формі — концентрат, який емульгується (ЕС): АС, що містить тебуконазол, 125 г/дм<sup>3</sup> + триадимефон, 100 г/дм<sup>3</sup> (група 2) та АК, що містить тебуконазол, 250 г/дм<sup>3</sup> (група 3). Діючі речовини належать до хімічного класу триазолі.

Ідентифікацію та кількісне визначення вмісту хімічних елементів у зразках печінки і нирок проводили після кислотного розкладання проб у мікрохвильовій печі та подальшого застосування методу атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно-зв'язаною плазмою [4]. Для ідентифікації елементів як внутрішні стандарти використовували мультиелементні стандартні розчини для ІЗП-АЕС *Merck ICP multi-element standard solution IX, XVI*. Використано прилад — спектрофотометр атомно-емісійний з індуктивно-зв'язаною плазмою *IRIS Interpid II XSP (Thermo Elemental, США)*.

Статистичну обробку результатів проводили методом варіаційної статистики за допомогою комп'ютерної програми *Origin 6.0, Excel (Microsoft, США)* з використанням *t*-критерію Ст'юдента. Розраховували середні арифметичні величини ( $\bar{M}$ ) і похибки середніх арифметичних величин ( $\pm m$ ). Зміни вважали вірогідними за  $P < 0.05$ .

## Результати й обговорення

Проведені дослідження свідчать, що в тканинах печінки та нирок спостерігається найбільший вміст таких макроелементів, як К і Na. Натрій і Калій залучені до функціонування натрій-калієвого насоса, що забезпечує підтримання трансмембранного градієнта цих елементів і пов'язаного з ним активного транспорту метаболітів. За дії фунгіцидів вміст цих елементів у тканинах змінюється різнонаправлено (більш суттєво — в печінці): для К спостерігається зростання, а Na — зниження (табл. 1, 2). Важливою характеристикою елементного статусу є абсолютний вміст та співвідношення елементів [13]. Величина співвідношення (Na:K) у тканинах печінки знижується на 23 і 31%, а нирок — на 12 і 19% для тварин груп 2 та 3 відповідно щодо контролю.

Виявлено зростання вмісту Кальцію для тварин груп 2 і 3 у печінці (на 40 і 70%,  $P < 0.05$ ) та нирках (на 20 та 29%,  $P < 0.05$ ) щодо контролю (табл. 1, 2) — можливо, внаслідок його реабсорбції за дії досліджуваних фунгіцидів, що може свідчити про ушкодження клітинних мембран та зумовлювати їх проникність для іонів [2]. При цьому величина співвідношення (Na:Ca) у тканинах печінки знижується на 49–42%, а нирок — на 22–33% для тварин груп 2 і 3 відповідно. Порушення систем регуляції гомеостазу Кальцію може обумовити низку патологічних станів і призводить до виникнення багатьох захворювань.

Антагоністами іонам кальцію є іони магнію, що регулюють вміст внутрішньоклітинного Кальцію, який виступає тригером багатьох клітинних процесів [2]. За даними клінічних і фундаментальних досліджень, Магній проявляє гепатопротекторну дію, а видалення Магнію з гепатоцитів може бути пов'язане зі зниженням у них вмісту АТФ [9]. На відміну від значного зростання рівня Кальцію, за умов дослідів вміст Магнію в тканинах не змінюється, а величина співвідношення Ca:Mg зростає для тварин груп 2 і 3 на 56 і 31% відповідно для тканин печінки.

Для тканини нирок, на відміну від печінки, встановлено зниження вмісту життєво необхідних мікроелементів — Mn, Cr, Co та Ni (табл. 2), що може свідчити про порушення метаболізму і розвиток патологічного процесу в нирках. Крім того, у печінці та нирках тварин контрольної групи виявлено такі елементи, як Pb та Cd, що належать до важких металів. Вплив фунгіцидів на щурів призводить до зростання накопичення цих елементів у досліджуваних тканинах.

Стосовно Купруму, то головним органом метаболізму цього елементу є печінка, в якій синтезується протеїн церулоплазмін, що є основним транспортним протеїном Cu у крові [6]. Для печінки встановлено накопичення Купруму на 60 та 70 % ( $P < 0.05$ ) у тваринах груп 2 і 3 відповідно.

Одним із багатофункціональних мікроелементів імунної та сечовидільної систем, а також організму

в цілому є Цинк. Цей елемент впливає на різні ланки обміну речовин, також відзначають його стимулювальний ефект на синтез супероксиддисмутази — ключового ферменту системи антиоксидантного

захисту в тканинах тварин [15]. Встановлено зниження вмісту Цинку в тканинах нирок на 27–18% (табл. 2). Водночас вміст цього елемента в печінці зростає на 31–27% (табл. 1).

**Таблиця 1.** Вміст елементів у тканинах печінки щурів у контролі (група 1), за впливу фунгіцидів АС (група 2) та АК (група 3) ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )  
**Table 1.** The content of elements in the rat liver in control (1<sup>st</sup> group), under the influence of fungicides AC (2<sup>nd</sup> group) and AK (3<sup>rd</sup> group), ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Елементи Elements	Група 1 (контроль) 1 <sup>st</sup> group (control)	Група 2 (дослідна) 2 <sup>nd</sup> group (experimental)		Група 3 (дослідна) 3 <sup>rd</sup> group (experimental)	
	мг/кг сирової маси mg/kg wet weight	мг/кг сирової маси mg/kg wet weight	% щодо контролю % to control	мг/кг сирової маси mg/kg wet weight	% щодо контролю % to control
K	2870,0±120,1	3221,0±261,0	112	3421,3±210,1*	119
Na	1121,0±110,1	981,0±50,9	90	910,3±71,0	90
Fe	441,8±26,5	555,5±28,7*	126	550,5±27,4*	125
Mg	188,9±14,8	210,7±10,1	112	207,6±19,7	110
Ca	24,99±1,93	42,71±1,77*	170	35,33±1,61*	140
Zn	27,57±2,35	36,14 ±2,74*	131	35,04±2,56 *	127
Cu	4,10±1,06	6,38±0,65 *	160	6,89±0,56 *	170
Mn	2,08±0,20	2,25 ±0,24	108	2,07±0,29	100
Cr	0,38±0,04	0,44±0,05	116	0,45±0,03*	118
Cd	0,12±0,02	0,14±0,04	117	0,15±0,04	125
Pb	0,10±0,02	0,13±0,02	130	0,11±0,03	110

*Примітка.* У цій і наступній таблиці вміст елементу в контролі взято за 100%. \* —  $P < 0,05$  — вірогідність щодо контролю.  
*Note.* In this and the following table the content of the element in the control is taken as 100%. \* —  $P < 0.05$  — relative to control.

**Таблиця 2.** Вміст елементів у тканині нирок щурів в контролі (група 1), за впливу фунгіцидів АС (група 2) та АК (група 3) ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )  
**Table 2.** The content of elements in the rat kidneys in control (1<sup>st</sup> group), under the influence of fungicides AC (2<sup>nd</sup> group) and AK (3<sup>rd</sup> group) ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Елементи Elements	Група 1 (контроль) 1 <sup>st</sup> group (control)	Група 2 (дослідна) 2 <sup>nd</sup> group (experimental)		Група 3 (дослідна) 3 <sup>rd</sup> group (experimental)	
	мг/кг сирової маси mg/kg wet weight	мг/кг сирової маси mg/kg wet weight	% щодо контролю % to control	мг/кг сирової маси mg/kg wet weight	% щодо контролю % to control
K	2570,1±205,1	2750,1±216,0	107	2741,1±211,1	107
Na	2091,0±200,0	1951,2±151,0	93	1811,1±150,1*	87
Fe	134,7±26,5	192,1±28,7*	143	178,7±27,5*	133
Mg	166,3±14,9	176,2±10,1	106	177,3±19,76	106
Ca	76,91±1,93	92,51±1,77*	120	99,20±1,61*	129
Zn	40,01±2,35	29,09 ±2,74*	73	32,94±2,56*	82
Cu	11,52±1,06	11,81±0,65	100	13,06±0,56	114
Mn	3,06±0,20	1,62 ±0,14*	52	1,92±0,19*	62
Cr	7,72±0,41	5,45±0,25*	71	6,88±0,36	89
Ni	0,19±0,03	0,14±0,02*	74	0,16±0,02*	84
Co	0,11±0,01	0,10±0,01	91	0,11±0,01	100
Cd	0,41±0,02	0,41±0,04	100	0,38±0,04	93
Pb	0,05±0,02	0,07±0,02*	140	0,08±0,03*	160

У клітинній патології велике значення має розвиток окисного стресу, який можуть ініціювати метали з перемінною валентністю (Fe, Cu, Zn, Mn, Co). Макро- та мікроелементи відіграють вагомую роль у процесах вільнорадикального окиснення. Зокрема, підвищення вмісту Fe може провокувати ПОЛ за пониженої функціональної активності антиоксидантних систем [1]. Отримано результат щодо зростання вмісту Феруму: у печінці — в середньому на 25%, а у нирках — на 43–33% ( $P < 0.05$ ). Причому Fe та Cu активують ланцюги вільнорадикальних реакцій, зокрема окисне ушкодження клітинних культур *in vitro* пов'язують з хронічним навантаженням Cu [5]. З іншого боку, низка мікроелементів (Zn, Cu, Mn) входить до ферментних систем антиоксидантного захисту [1]. У тканинах печінки встановлено зростання вмісту Купруму на 60–70% та Цинку на 27–31% (табл. 1). Концентрація цих мікроелементів значно впливає на активність антиоксидантних ферментів і, отже, на захист від окисного стресу [16]. Для нирок, як зазначали, встановлено зниження вмісту Zn та Mn, що може свідчити про зниження активності антиоксидантних ферментів. Відмічено взаємозв'язок антиоксидантного та мікроелементного статусів [15], що вказує на роль мікроелементів у патогенезі різних захворювань, оскільки саме окисний стрес відіграє провідну роль в розвитку патологічних процесів [1].

Відома роль мікроелементів у процесах програмованої загибелі клітин, зокрема дефіцит Mg та Fe, згідно з гіпотезою програмованої клітинної загибелі, можуть зумовлювати апоптоз та некроз, а вміст Fe, Zn, Se, Mn в оптимальній кількості необхідні для нормальної підтримки клітинного циклу, росту та диференціювання клітин [11, 14]. Залежно від балансу або дисбалансу вмісту елементів, в тканинах переважають процеси регенерації чи загибелі клітин.

Варто зауважити, що за умови надходження до організму щурів фунгіцидів, які містять тебуконазол індивідуально чи у комбінації з триадимефоном, для печінки встановлене зростання вмісту елементів, зокрема K, Ca, Cr, Fe, Cu, Zn, а це характеризує зростання функціонального навантаження на орган. Крім того, збільшення вмісту елементів з перемінною валентністю може призводити до активації окисних процесів в умовах дослідів. Для тканини нирок за впливу досліджуваних фунгіцидів переважає зниження вмісту елементів. При цьому зростання вмісту Ca може характеризувати порушення проникності клітинних мембран, а збільшення вмісту Fe поряд зі зниженням вмісту Zn, Mn та величини Zn:Cu свідчить про активацію окисних процесів.

Таким чином, в умовах надходження до організму щурів фунгіцидів, які належать до хімічного класу триазолу, виявлено тканинозалежні зміни вмісту макро- та мікроелементів, що провокує порушення їхнього обміну. Це може бути основою метаболічних модифікацій, а також причиною дисрегуляторних процесів, змінюючи ефективність реалізації внутрішньоклітинних контролюючих та ефекторних сигналів.

## Висновки

1. Надходження до організму щурів фунгіцидів, що містить тебуконазол (250 г/дм<sup>3</sup>) чи (тебуконазол, 125 г/дм<sup>3</sup> + триадимефон, 100 г/дм<sup>3</sup>), які належать до хімічного класу триазолу, зумовлює зміни вмісту макро- та мікроелементів у печінці та нирках, що відзначається тканинною специфічністю.

2. Для тканин печінки за впливу досліджуваних фунгіцидів встановлено збільшення вмісту макро- та мікроелементів, зокрема K, Ca, Cr, Fe, Cu, Zn, що характеризує зростання функціонального навантаження на орган.

3. Для нирок, переважно за впливу фунгіциду, який містить тебуконазол у комбінації з триадимефоном, спостерігається зниження вмісту життєво необхідних мікроелементів (Mn, Cr, Co та Ni), що вказує на порушення метаболізму в нирках. При цьому зростання вмісту Ca характеризує порушення проникності клітинних мембран, а збільшення вмісту Fe поряд зі зниженням вмісту Zn, Mn та величини відношення Zn:Cu свідчить про активацію окисних процесів.

4. Виявлені зміни вмісту макро- та мікроелементів у тканинах нирок та печінки можуть бути в основі метаболічних змін, а також причиною дисрегуляторних процесів, змінюючи ефективність реалізації внутрішньоклітинних контролюючих та ефекторних сигналів.

## Перспективи подальших досліджень

Доцільним є вивчення окисно-антиоксидантного гомеостазу тканин печінки та нирок за впливу фунгіцидів, враховуючи, що саме окисний стрес відіграє ключову роль в розвитку патологічних процесів в організмі.

1. Baraboy VA. *Bioantioxidants*. Kyiv, Book plus; 2006. 462 p. (in Ukrainian)
2. Clapham DE. Calcium signaling. *Cell*. 2007; 131 (6): 1047–1058. DOI: 10.1016/j.cell.2007.11.028.
3. Cunningham M. Use of pesticides: benefits and problems associated with pesticides. *DSST Environmental Science: Study Guide & Test Prep*. Available at: <https://study.com/academy/lesson/use-of-pesticides-benefits-and-problems-associated-with-pesticides.html>
4. DSTU ISO 11885:2005 Water quality. Determination of 33 elements by atomic emission spectrometry with inductively coupled plasma. Accepted 05.10.2005.
5. Gaetke LM, Chow CK. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicol*. 2003; 189 (1–2): 147–163. DOI: 10.1016/S0300-483X(03)00159-8.
6. Ivanitskaya AI, Lesyk YV, Denys HH. Influence of silicon compounds on the mineral elements content in tissues of rabbits' organism. *Biol. Tvarin*. 2019; 21 (4): 31–37. DOI: 10.15407/animbiol21.04.031. (in Ukrainian)
7. Khyzhnyak SV, Baranov YS, Demchenko VF, Voitsitskiy BM. *Pesticides and their ecological and toxicological assessment*. Kyiv, NULES of Ukraine; 2019: 226 p. (in Ukrainian)

8. Kornuta NO, Reshavska OV. Morphological research in the study of the effects of pesticides on the body of pregnant females and fetal development. *Bull. Probl. Biol. Med.* 2011; 2 (2): 132–135.
9. Laires MJ, Monteiro CP, Bicho V. Role of cellular magnesium in health and human disease. *Front. Biosci. (Landmark ed.)*. 2004; 9 (1): 262–276. DOI: 10.2741/1223.
10. List of pesticides and agrochemicals approved for use in Ukraine. Kyiv, Yunist media, 2018: 1037 p. Available at: <https://agrosience.com.ua>. (in Ukrainian)
11. Maruschak MI, Antonishin IV, Gabor GG, Brzhisky AV. Imbalance influence of microelements on the regulation of apoptosis in rats with alimentary obesity. *Bull. Sci. Res.* 2015; 3: 97–100. DOI: 10.11603/2415-8798.2015.3.5206 (in Ukrainian)
12. Michalopoulos GK, Bhushan B. Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2021;18 (1):40–55. DOI: 10.1038/s41575-020-0342-4.
13. Pogoryelov MV, Bumeyster VI, Tkach GF, Bonchev SD, Sikora VZ, Sukhodub LF, Danylchenko SM. *Macro- and microelements (metabolism, pathology and methods of determination)*. A monograph. Sumy, SumDU. 2010: 147 p. (in Ukrainian)
14. Prasad AS. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2009; 12 (6): 646–652. DOI: 10.1097/MCO.0b013e3283312956.
15. Velichko VO. Effectiveness of microelements in the formation of mechanisms of protection of the body under the influence of environmental stress factors. *Sci. Tech. Bull. State Sci. Res. Contr. Inst. Vet. Med. Prod. Fodder Add. Inst. Anim. Biol.* 2021; 22 (1): 61–67. DOI: 10.36359/sciwp.2021-22-1.05. (in Ukrainian)
16. Wołonciej M, Milewska E, Roszkowska-Jakimiec W. Trace elements as an activator of antioxidant enzymes. *Adv. Hyg. Exp. Med.* 2016; 70: 1483–1498. DOI: 10.5604/17322693.1229074.

## Elemental composition of liver and kidney tissues of rats under the influence of fungicides

S. V. Khyzhnyak, A. O. Velinskaya, E. V. Byschuk, V. M. Voitsitskiy  
khs2014@ukr.net

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,  
15 Heroyiv Oborony str., Kyiv, 03041, Ukraine

Widespread use of fungicides in various spheres of human life leads to negative consequences for both humans and the environment. The article presents the results of a study of the acute effect of systemic fungicides of the chemical class triazoles on the content of macro- and microelements in kidney and liver rat tissues. The content of chemical elements was determined by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. The established changes in the content of macro- and microelements in the rat liver and kidney indicate tissue specificity of the fungicidal action. Under the influence of fungicide containing tebuconazole in amount of 250 g/dm<sup>3</sup> or combined fungicide containing (tebuconazole, 125 g/dm<sup>3</sup> + triadimefon, 100 g/dm<sup>3</sup>) the content of Potassium (K), Calcium (Ca), Chromium (Cr), Iron (Fe), Copper (Cu) and Zinc (Zn) increased significantly ( $P < 0.05$ ) in liver. This can lead to a functional load on the organ. Contrary, in kidney the studied fungicides cause the decrease ( $P < 0.05$ ) in the content of trace elements (Zn, Mn, Cr), Zn:Cu ratio and increase in the Fe content, which may indicate the oxidative metabolic disorders in the organ, but an increase in the Ca content ( $P < 0.05$ ) — characterize the permeability of cell membranes. The detected changes in the content of macro- and microelements in the kidney and liver tissues may be the dysfunction and altering the effectiveness of intracellular control and effector signals.

**Key words:** fungicides, liver, kidneys, elements, dysfunction