

## АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ-АНТИОКСИДАНТІВ У ЛЕЙКОЦИТАХ БІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ

Г. Л. Антопяк<sup>1</sup>, Л. П. Білецька<sup>2</sup>

Львівський національний університет імені Івана Франка<sup>1</sup>  
Львівський національний аграрний університет<sup>2</sup>

*У статті представлені результати досліджень впливу хлориду кадмію (за умов тривалого введення в дозі 3 мг/кг) на активність ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза) в лейкоцитах білих щурів. Установлено, що впродовж 14-добового експериментального періоду ферментна активність в лімфоцитах і нейтрофільних гранулоцитах змінюється неоднозначно, а саме: супероксиддисмутазна і глутатіонпероксидазна активність переважно зростає, а каталазна — знижується.*

**Ключові слова:** КАДМІЙ, ЛЕЙКОЦИТИ, ЛІМФОЦИТИ, НЕЙТРОФІЛЬНІ ГРАНУЛОЦИТИ, АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА.

Упродовж останніх десятиріч значно збільшився рівень забруднення довкілля сполуками кадмію — отруйного важкого металу, який інтенсивно використовується в різних галузях виробництва та нагромаджується в компонентах природного середовища у складі промислових і побутових відходів [1]. Внаслідок цього зростає загроза надходження кадмію до організму людини і тварин. Кадмій становить серйозну небезпеку в зв'язку із здатністю проявляти кумулятивні ефекти, зумовлювати запальні, мутагенні та канцерогенні процеси [1–3].

У механізмах шкідливої дії  $Cd^{2+}$  істотну роль відіграє стимуляція процесів утворення активних форм кисню та пероксидного окиснення ліпідів у клітинах [3–5]. Тому важливе значення має функціональний стан антиоксидантної системи як однієї з ланок у комплексі захисних реакцій організму. Вивченню антиоксидантного статусу клітин різних тканин і органів за умов отруєння кадмієм присвячено багато наукових праць [5–7]. Щодо лейкоцитів крові, то, як відомо з наявних у науковій літературі даних, порушення балансу між вмістом прооксидантів та антиоксидантів у цих клітинах під впливом токсикантів може призводити до пригнічення реакцій клітинного та гуморального імунітету [8]. Однак вплив катіонів кадмію на антиоксидантні процеси в лейкоцитах практично нез'ясований.

У зв'язку з цим метою нашої роботи було дослідити вплив  $Cd^{2+}$  (за умов тривалого введення в формі хлориду кадмію) на активність ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза) в двох фракціях лейкоцитів (лімфоцити, нейтрофільні гранулоцити) крові білих щурів.

### Матеріали і методи

Дослідження проводили на безпородних білих лабораторних щурах-самцях масою 160–180 г, яких утримували за умов віварію. Отруєння тварин катіонами кадмію викликали щодобовим внутрішлунковим введенням хлориду кадмію в дозі 3 мг/кг маси впродовж 14 діб. У процесі експерименту було сформовано три групи тварин: дві дослідні (Д1, Д2) і контрольна (К), по 5 щурів у кожній. Щури групи Д1 отримували  $CdCl_2$  в зазначеній концентрації впродовж семи діб, групи Д2 — впродовж чотирнадцяти діб. Щури контрольної групи отримували фізіологічний розчин за такою самою схемою.

Матеріалом досліджень була периферична кров, яку отримували декапітацією тварин груп Д1 і Д2, відповідно, на сьому та чотирнадцяту доби після початку введення  $CdCl_2$  і щурів контрольної групи. Лейкоцити виділяли з гепаринізованої крові методом

диференціального центрифугування в градієнті густини фіколу і верографіну згідно з загальноприйнятою методикою [9].

У лізатах, приготовлених шляхом трьохкратного заморожування і відтаювання водних суспензій клітин з наступним центрифугуванням, визначали активність ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза). Активність супероксиддисмутази (СОД) досліджували шляхом визначення ступеня інгібування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразолію в присутності НАДН і феназинметасульфату [10], глутатіонпероксидази (ГП — за швидкістю окиснення глутатіону в присутності гідропероксиду третинного бутілу [11], активність каталази досліджували за допомогою стандартної методики, використовуючи пероксид водню як субстрат реакції [12]. Вміст білка в лізатах визначали за методом Лоурі і співавторів (1951). Отримані результати опрацьовували статистично з використанням методів варіаційної статистики.

### **Результати і обговорення**

У процесі досліджень установлено неоднозначну відповідь компонентів антиоксидантної системи лейкоцитів досліджуваних популяцій на оксидативний стрес, зумовлений тривалим надходженням до організму щурів хлориду кадмію. Як видно з представлених даних, каталітична активність супероксиддисмутази лімфоцитів поступово зростає впродовж 14-добового експериментального періоду, збільшуючись у тварин груп Д1 і Д2, відповідно, в 1,6 і 3,4 рази ( $p < 0,05$ – $0,001$ ) (рис. 1). Активність ферменту нейтрофільних гранулоцитів, навпаки, досягає найбільшого рівня у щурів групи Д1 ( $p < 0,05$ ) і нормалізується на завершальній стадії експерименту.

Результати аналізу глутатіонпероксидазної активності свідчать, що цей показник майже не відрізняється від контролю в лімфоцитах щурів групи Д1, але збільшується в 2,4 рази у клітинах тварин групи Д2 ( $p < 0,001$ ) (рис. 2). У нейтрофільних гранулоцитах активність ферменту глутатіонової системи досягає максимального значення у щурів групи Д1, зростаючи після 7-добового періоду введення  $CdCl_2$  в 3,2 рази над контрольним рівнем ( $p < 0,001$ ). На дальшій стадії експерименту активність глутатіонпероксидази в цих клітинах зменшується, хоча й залишається на вищому рівні, ніж у щурів контрольної групи ( $p < 0,05$ ) (рис. 2).

Що стосується каталазної активності лейкоцитів, то цей показник характеризується специфічною динамікою, а саме: стабільністю в лімфоцитах і незначним зменшенням ( $p < 0,05$ ) в нейтрофільних гранулоцитах щурів групи Д1 та різким пригніченням в обох досліджуваних фракціях клітин крові тварин групи Д2 (рис. 2). Вірогідно, в механізмах зменшення каталазної активності важливу роль відіграє інактивація молекул фермента продуктами вільнорадикального окислення ліпідів, що активується під впливом катіонів кадмію [3, 4].

Отже, отримані результати свідчать про особливості динаміки антиоксидантної ферментної активності в різних за походженням і функціями лейкоцитах крові щурів, отруєних тривалим введенням хлориду кадмію. Вірогідно, в зв'язку з цим масштаби зумовленого важким металом оксидативного стресу неоднакові в нейтрофільних гранулоцитах і лімфоцитах піддослідних тварин.

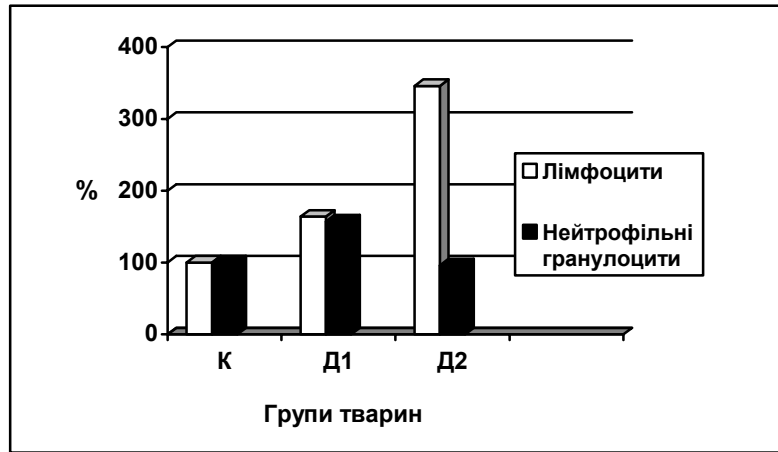


Рис. 1. Активність супероксиддисмутази в лейкоцитах щурів, отруєних хлоридом кадмію

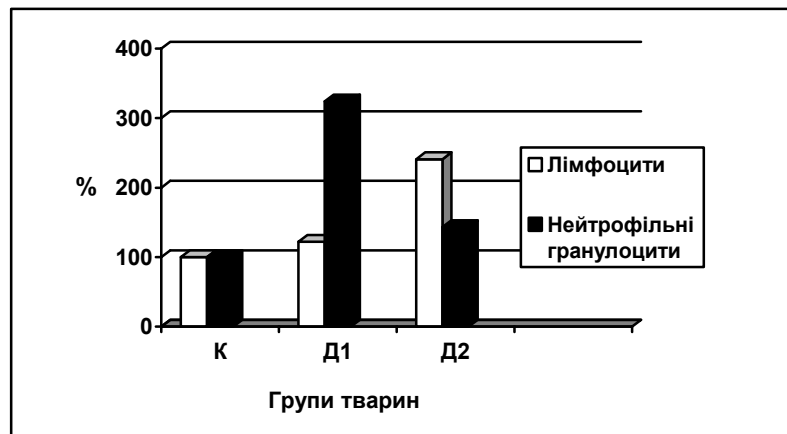


Рис. 2. Активність глутатіонпероксидази в лейкоцитах щурів, отруєних хлоридом кадмію

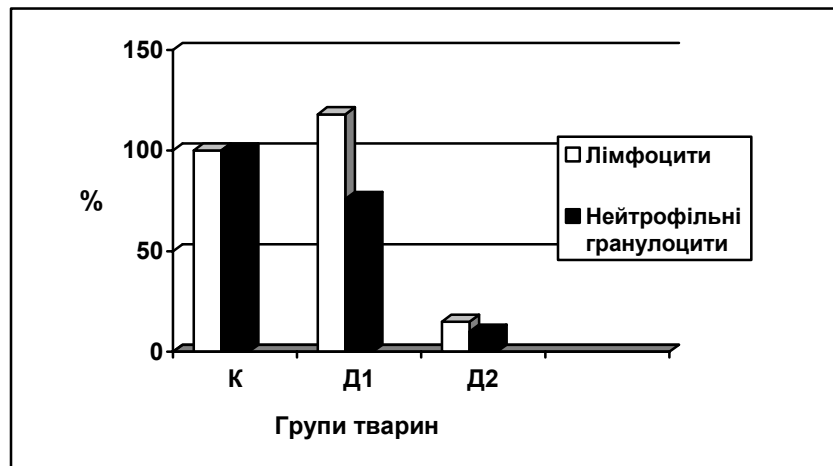


Рис. 3. Активність каталази в лейкоцитах щурів, отруєних хлоридом кадмію

Отже, отримані результати свідчать про особливості динаміки антиоксидантної ферментної активності в різних за походженням і функціями лейкоцитах крові щурів, отруєних тривалим введенням хлориду кадмію. Вірогідно, в зв'язку з цим масштаби зумовленого важким металом оксидативного стресу неоднакові в нейтрофільних гранулоцитах і лімфоцитах піддослідних тварин.

## Висновки

Тривале введення білим щурам хлориду кадмію (3 мг/кг маси, впродовж 14-ти діб) зумовлює неоднозначні зміни активності ферментів-антиоксидантів у лейкоцитах крові, а саме: збільшення супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази активності та зменшення каталазної активності. У нейтрофільних гранулоцитах тварин активність супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази досягає найвищих значень після 7-добового періоду введення CdCl<sub>2</sub>, а в лімфоцитах — після 14-добового експериментального періоду. Каталазна активність пригнічується в обох досліджуваних фракціях лейкоцитів щурів після 14-добового періоду введення хлориду кадмію.

*H. L. Antonyak, L. P. Biletska*

## **CHANGES OF ACTIVITY OF ENZYMES-ANTIOXIDANTS IN LEUCOCYTES OF WHITE RATS AFTER THE LONG-TERM ADMINISTRATION OF CADMIUM CHLORIDE**

### **S u m m a r y**

The effects of prolonged administration (during 14-day period) of cadmium chloride (3 mg/kg body weight) on intensity of enzymes of antioxidant system in leucocytes of white rats were studied. It was established, that under an influence of CdCl<sub>2</sub> enzyme activities in lymphocytes and neutrophilic granulocytes of rats changed in different ways, namely: both the superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities were increased, and catalase activity was diminished.

Lviv Ivan Franko National University, Ukraine

Lviv National Agrarian University, Ukraine

*Г. Л. Антоняк, Л. П. Билецкая*

## **АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ-АНТИОКСИДАНТОВ В ЛЕЙКОЦИТАХ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ХЛОРИДА КАДМИЯ**

### **А н н о т а ц и я**

В статье представлены результаты исследований влияния хлорида кадмия (при условиях длительного введения в дозе 3 мг/кг) на активность ферментов антиоксидантной системы (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза) в лейкоцитах белых крыс. Установлено, что на протяжении 14-суточного экспериментального периода ферментная активность в лимфоцитах и нейтрофильных гранулоцитах изменяется неоднозначно, а именно: супероксиддисмутазная и глутатионпероксидазная активность преимущественно увеличивается, а каталазная — снижается.

1. *Satarug S.* A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population [Tekst] / S. Satarug., J. R. Baker., S. Urbenjapol et al. // *Toxicol. Lett.* — 2003. — Vol. 137. — P. 65–83.

2. *Satarug S.* Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke [Tekst] / S. Satarug., M.R. Moore. // *Environ. Health Perspect.* — 2004. — Vol. 112, N 10. — P. 1099–10103.

3. *Valko M.* Metals, toxicity and oxidative stress [Tekst] / M. Valko., H. Morris., M.T. Cronin. // *Curr. Med. Chem.* — 2005. — Vol. 12, N 10. — P. 1161–1208.

4. *Shaikh Z. A.* Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants [Tekst] / Z.A. Shaikh., T.T. Vu., K. Zaman. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 1999. — Vol. 154, N 3. — P. 256–263.

5. *Антоняк Г. Л.* Вплив сполук важких металів на процеси перекисного окиснення ліпідів та функціональну активність ферментів-антиоксидантів в еритроцитах тварин [Текст] / Г. Л. Антоняк, Н. Є. Панас, О. І. Першин, В. І. Бершадський: Теорія та практика сучасного

природознавства : Збірник наукових праць. — Херсон: ПП Вишемирський В. С., 2005. — С. 7–11.

6. *Ikediobi C. O.* Response of antioxidant enzymes and redox metabolites to cadmium-induced oxidative stress in CRL-1439 normal rat liver cells [Tekst] / C.O. Ikediobi V.L.Badisa., L.T. Ayuk-Takem et al. // *Int. J. Mol. Med.* — 2004. — Vol. 14, N 1. — P. 87–92.

7. *Jurczuk M.* Antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in liver and kidney of rats exposed to cadmium and ethanol [Tekst] / M. Jurczuk., M.M Brzóska., J. Moniuszko-Jakoniuk et al. // *Food Chem. Toxicol.* — 2004. — Vol. 42, N 3. — P. 429–438.

8. *Biser J. A.* Effects of heavy metals on immunocompetence of white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) [Tekst] / J.A. Biser., M.M.Brzóska., J. Moniuszko-Jakoniuk. et al. // *J. Wildlife Dis.* — 2004. — Vol. 40, N 2. — P. 173–184.

9. *Boyum A. A.* A one-stage procedure for isolation of granulocytes and lymphocytes from human blood [Tekst] / A.A. Boyum. // *Scand. J Clin. Lab. Invest.* — 1968. — Vol. 21, Suppl. 97. — P. 51–76.

10. *Дубинина Е. Е.* Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека [Текст] / Е. Е. Дубинина., Л. А. Сальникова., Л. Ф. Ефимова. // *Лаб. дело.* — 1983. — № 10. — С. 30–33.

11. *Моин В. М.* Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах [Текст]. / В.М. Моин // *Лаб. дело.* — 1986. — № 12. — С. 724–727.

12. *Beers R. F., Sizer I. W.* A spectrophotometric method for measuring the breakdown of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by catalase [Tekst] / R. F. Beers., I. W. Sizer // *J. Biol. Chem.* — 1952. — Vol. 195, N 1. — P. 133–140.