

СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТАХ ЩУРІВ ЗА ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ

Г. Л. Антоняк, Л. П. Білецька

Інститут біології тварин УААН

У статті представлено результати досліджень впливу хлориду кадмію (за умов тривалого введення в дозі 3 мг/кг маси тварин) на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активність ферментів антиоксидантної системи в нейтрофільних гранулоцитах білих щурів. Установлено, що під впливом катіонів кадмію концентрація вторинних продуктів ПОЛ у клітинах тварин зростає, а активність ферментів-антиоксидантів змінюється неоднозначно: супероксиддисмутазна активність підвищується, а каталазна і глутатіонпероксидазна — знижується.

Ключові слова: КАДМІЙ, ЛЕЙКОЦИТИ, НЕЙТРОФІЛЬНІ ГРАНУЛОЦИТИ, АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА

Кадмій — це отруйний важкий метал, що входить до переліку найнебезпечніших забрудників промислового походження. В останні роки цей елемент виявляють у підвищених концентраціях не тільки в компонентах навколишнього середовища, а й у кормах і деяких продуктах харчування [1, 2]. Надходження кадмію до організму людини і тварин приводить до акумулювання катіонів металу в клітинах тканин і органів, що з часом призводить до порушень їхньої функціональної активності [2, 3].

З'ясуванню механізмів впливу кадмію на клітинний метаболізм присвячено багато наукових робіт, у яких встановлено шкідливі ефекти цього елемента в гепатоцитах, клітинах нирки, легень, статевих залоз, еритроцитах. Однією з ланок у механізмах дії катіонів металу є стимуляція вільнорадикальних процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [3–5]. Згідно з сучасними уявленнями, це один з основних механізмів клітинної патології, який опосередковує шкідливі ефекти різноманітних чинників щодо життєвоважливих органів і систем [4, 6]. Масштаби розвитку негативних змін у функціонуванні останніх значною мірою залежать від вмісту антиоксидантів та активності ферментів антиоксидантної системи [3, 5].

Аналіз наявної літератури свідчить, що метаболічні ефекти кадмію в клітинах імунної системи вивчені недостатньо. Особливо це стосується нейтрофільних гранулоцитів, які становлять «передню лінію» захисту організму від патогенних впливів, а, крім того, взаємодіють з іншими клітинами в процесі формування запальних реакцій у відповідь на пошкодження [7]. Нейтрофільні гранулоцити мають більшу, ніж інші клітини, здатність утворювати активні форми кисню [7]. У зв'язку з цим значний інтерес становить з'ясування активності антиоксидантної системи у цих клітинах за прооксидантного впливу сполук кадмію.

Метою роботи було дослідити динаміку процесів ПОЛ і ферментів-антиоксидантів у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів, отруєних тривалим введенням в організм катіонів кадмію в формі CdCl_2 .

Матеріали і методи

Дослідження проведені на безпородних білих лабораторних щурах-самцях масою 160–180 г, яким згодовували стандартний раціон за умов віварію. Було сформовано дві групи тварин: дослідна (Д) і контрольна (К), по 7 щурів у кожній. Щурам дослідної групи внутрішньошлунково вводили розчин CdCl_2 (3 мг/кг маси) впродовж 21 доби, щурам контрольної групи — фізіологічний розчин.

Для досліджень від тварин обох груп брали кров під час декапітації їх під легким ефірним наркозом. Виділення нейтрофільних гранулоцитів проводили за стандартною методикою фракціонування лейкоцитів у градієнті густини фіколу та верографіну [8]. Цілісність і життєздатність виділених клітин становила не менше 95 %.

Лізис нейтрофільних гранулоцитів викликали шляхом трикратного заморожування у рідкому азоті та відтаюванням водних суспензій клітин з наступним центрифугуванням. У лізатах визначали концентрацію вторинних продуктів ПОЛ за інтенсивністю утворення забарвленого комплексу в реакції з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти) [9] та активністю ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза). Супероксиддисмутазну активність визначали за рівнем гальмування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразолію за присутності NADH і феназинметасульфату [10]. Каталазну активність досліджували за стандартною методикою, використовуючи гідроген пероксид як субстрат реакції [11], глутатіонпероксидазну — за швидкістю окиснення глутатіону за присутності гідропероксиду третинного бутілу [12]. Вміст білка в лізатах визначали за методом Лоурі і співавторів (1951). Отримані результати опрацьовували статистично з використанням методів варіаційної статистики.

Результати й обговорення

У процесі вивчення метаболічних ефектів кадмію в нейтрофільних гранулоцитах щурів встановлено, що тривале надходження катіонів важкого металу призводить до істотного збільшення вмісту вторинних продуктів ПОЛ у клітинах крові піддослідних тварин. З наведених у таблиці даних видно, що після 21-добового експериментального періоду концентрація ТБК-активних продуктів у нейтрофільних гранулоцитах щурів, яким вводили CdCl_2 , зростає в 1,7 раза порівняно з контролем ($p < 0,01$). Це свідчить про високу сприйнятливність досліджуваних клітин до впливу кадмію — прооксиданта, який стимулює процеси пероксидного окиснення [4–6].

Як відомо, захист клітин від пошкоджень продуктами вільнорадикальних реакцій, рівень яких зростає за умов надходження важких металів, здійснюється за участю багатокомпонентної антиоксидантної системи. Особливо важливе значення мають ферменти-антиоксиданти, які каталізують детоксикацію активних форм кисню — ініціаторів ПОЛ та обмежують інтенсивність цих процесів у клітині [3, 5].

Проте, як свідчать результати досліджень, характер змін антиоксидантної ферментної активності в нейтрофільних гранулоцитах щурів, яким вводили хлорид кадмію, неоднозначний, а саме: супероксиддисмутазна активність зростає в 1,3 раза ($p < 0,05$), а каталазна і глутатіонпероксидазна — знижується, відповідно, вдвічі та в 1,4 раза ($p < 0,05$) порівняно з клітинами тварин контрольної групи (рис.).

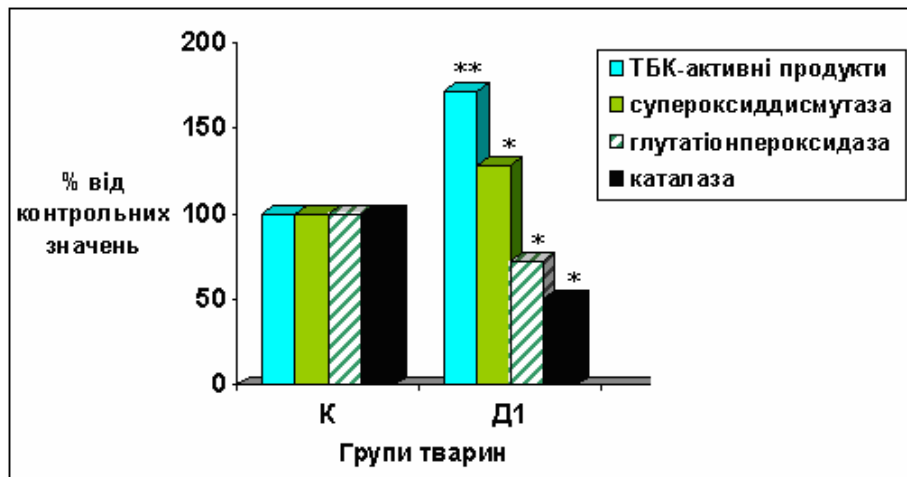


Рис. Відносні зміни концентрації ТБК-активних продуктів та активності ферментів-антиоксидантів в нейтрофільних гранулоцитах щурів, отруєних тривалим введенням хлориду кадмію

Аналіз отриманих результатів дає підставу вважати, що активація супероксиддисмутази є однією з адаптаційних реакцій досліджуваних клітин на прооксидантний вплив катіонів кадмію. Таке явище спостерігається і в інших клітинах тварин за умов тривалого надходження до організму сполук важких металів [4].

Однак активність ферментів, які каталізують процес відновлення утвореного в супероксиддисмутазній реакції H_2O_2 (каталаза, глутатіонпероксидаза), в нейтрофільних гранулоцитах тварин дослідної групи пригнічується. Це створює умови для нагромадження гідроген пероксиду, за участю якого може пошкоджуватись структура мембранних і цитоплазматичних біомолекул, а також компонентів міжклітинного матриксу та сусідніх клітин [6]. Крім того, гідроген пероксид може використовуватись у нейтрофільних гранулоцитах як субстрат мієлопероксидазної реакції для активного утворення гіпохлориду, який також характеризується сильною окиснювальною дією. Вірогідно, що в кінцевому результаті такі ефекти можуть посилювати роль нейтрофільних гранулоцитів у пошкодженні інших клітин та сприяти розвитку запальних процесів у тканинах організму, отруєного тривалим надходженням катіонів кадмію.

Висновки

Тривале введення катіонів кадмію щурам призводить до активації процесів пероксидного окиснення ліпідів та до змін активності ферментів антиоксидантної системи в нейтрофільних гранулоцитах: до підвищення активності супероксиддисмутази та зниження активності каталази і глутатіонпероксидази. Установлені ефекти можуть, з одного боку, призводити до порушення функціональної активності лейкоцитів, а з другого — посилювати деструктивну дію нейтрофільних гранулоцитів на інші клітини та розвиток запальних процесів в організмі тварин за інтоксикації катіонами кадмію.

Перспективи подальших досліджень. Враховуючи важливу роль нейтрофільних гранулоцитів у розвитку імунної відповіді організму, подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення впливу іонів кадмію (Cd) на показники функціональної активності цих клітин (здатність до міграції, фагоцитозу), а також інших ланок внутрішньоклітинного метаболізму.

Н. Л. Antonyak, Л. Р. Biletska

DYNAMICS OF LIPID PEROXIDATION PROCESS AND ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES IN NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF RATS UNDER CONDITIONS OF PROLONGED INTRODUCTION OF CADMIUM CHLORIDE

Summary

The results of studies of cadmium chloride effects (under prolonged introduction in a dose of 3 mg/kg weight) on intensity of lipid peroxidation process (LPO), and activities of antioxidant enzymes in neutrophilic granulocytes of white rats are presented in the article. It is established that under the influence of cadmium cations concentration of LPO secondary products in the cells of animals increases, and the activity of antioxidant enzymes varies differently: superoxide dismutase activity increases, catalase and glutathione peroxidase activities — decreases.

Г. Л. Антоняк, Л. П. Билецкая

ДИНАМИКА ПРОЦЕССОВ ПОЛ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ-АНТИОКСИДАНТОВ В НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТАХ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ХЛОРИДА КАДМИЯ

Аннотация

В статье представлены результаты исследований влияния хлорида кадмия (в условиях длительного введения в дозе 3 мг/кг массы животных) на интенсивность процессов пероксидного окисления липидов (ПОЛ) и активность ферментов антиоксидантной системы в нейтрофильных гранулоцитах белых крыс. Установлено, что под влиянием катионов кадмия концентрация вторичных продуктов ПОЛ в клетках животных возрастает, а активность ферментов-антиоксидантов меняется неоднозначно: супероксиддисмутазная активность увеличивается, каталазная и глутатионпероксидазная — снижается.

1. *Satarug S.* A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population / Satarug S., Baker J. R., Urbanjapol S. 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 / Satarug S., Moore M. R. // *Environ. Health Perspect.* — 2004. — Vol. 112, N 10. — P. 1099–10103.

3. *Антоняк Г. Л.* Екоотоксикологічні аспекти впливу кадмію на організм людини і тварин / Антоняк Г. Л., Панас Н. Є., Жиліщич Ю. В., Білецька Л. П. // *Медична хімія.* — 2007. — Т. 9, № 3. — С. 112–119.

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

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

6. *Зенков Н. К.* Окислительный стресс / Зенков Н. К., Ланкин В. З., Меньщикова Е. Б. — М. : Ин-та теор. и эксп. физики, 2001. — 81 с.

7. *El-Benna J.* Phagocyte NADPH oxidase: a multicomponent enzyme essential for host defenses / El-Benna J., Dang P. M., Gougerot-Pocidallo M. A., Elbim C. // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz).* — 2005. — Vol. 53, N 3. — P. 199–206.

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

9. Орехович В. Н. Современные методы в биохимии / Орехович В. Н. — М. : Медицина, 1977. — 391 с.
10. Дубинина Е. Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Дубинина Е. Е., Сальникова Л. А., Ефимова Л. Ф. // Лаб. дело. — 1983. — № 10. — С. 30–33.
11. Beers R. F. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of H₂O₂ by catalase / Beers R. F., Sizer I. W. // J. Biol. Chem. — 1952. — Vol. 195, N 1. — P. 133–140.
12. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / Моин В. М. // Лаб. дело. — 1986. — № 12. — С. 724–727.

Рецензент: головний науковий співробітник НВЦ з вивчення пріонних інфекцій, доктор сільськогосподарських наук Остапів Д. Д.