

## ВПЛИВ ХЛОРИДУ КАДМІЮ НА ДЕЯКІ ЛАНКИ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ В ЕРИТРОЦИТАХ І КЛІТИНАХ КІСТКОВОГО МОЗКУ БІЛИХ ЩУРІВ

Г. Л. Антоняк, Ю. В. Жиліщич

Львівський національний університет імені Івана Франка  
Львівський національний аграрний університет

*Проводили дослідження впливу катіонів кадмію на активність ферментів енергетичного обміну в еритроцитах і еритроїдних клітинах кісткового мозку білих щурів за умов тривалого внутрішньошлункового введення CdCl<sub>2</sub> у дозі 3 мг/кг. Встановлено, що впродовж 21-добового експериментального періоду піруваткіназна активність в еритроцитах тварин зростає, а в клітинах кісткового мозку — пригнічується; активність лактатдегідрогенази підвищується, а глюкозо-6-фосфатдегідрогенази — зменшується в обох типах досліджуваних клітин. Отримані результати свідчать про зміни в процесах енергетичного метаболізму в еритроїдних клітинах під впливом катіонів кадмію.*

**Ключові слова:** КАДМІЙ, ЕРИТРОПОЕЗ, ЕРИТРОЦИТ, КІСТКОВИЙ МОЗОК, ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН

Погіршення екологічної ситуації впродовж останніх десятиріч призвело до збільшення негативного впливу важких металів на організм людини і тварин. Сполуки кадмію належать до особливо небезпечних речовин і включені комісією ФАО/ВООЗ до переліку тих, що підлягають обов'язковому контролю [12]. За умов забруднення компонентів довкілля катіони Cd<sup>2+</sup> можуть надходити до організму людини і тварин з їжею, водою й атмосферним повітрям і здатні викликати негативні біологічні ефекти навіть у малих концентраціях [10, 14].

Як відомо, кадмій зумовлює зміни в процесах кровотворення [5, 6, 10]. Проте вплив кадмію на метаболізм в еритроїдних клітинах майже не з'ясований і є важливою науковою проблемою. Особливо це стосується еритробластів кісткового мозку, метаболічні процеси в яких визначають рівень їхнього остаточного диференціювання до еритроцитів. Оскільки зумовлені кадмієм порушення можуть торкатися енергетичних процесів, метою роботи було дослідити активність ферментів (піруваткінази, лактатдегідрогенази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази), які визначають інтенсивність окремих ланок енергетичного обміну в еритробlastах кісткового мозку та еритроцитах крові щурів, отруєних тривалим введенням хлориду кадмію.

### Матеріали і методи

Експерименти проводили на безпородних білих щурах масою 160–180 г, яких утримували за умов віварію. Тварин поділили на групи: контрольну (К, 10 особин) і три дослідні (Д1, Д2, Д3) по 5 особин у кожній. Щурам дослідних груп щоденно вводили внутрішньо-шлунково розчин хлориду кадмію в дозі 3 мг/кг маси: тваринам групи Д1 — впродовж 7 діб, Д2 — впродовж 14 діб, Д3 — впродовж 21 доби. Щурам контрольної групи вводили фізіологічний розчин у такому ж самому об'ємі.

Матеріалом досліджень була тканина кісткового мозку і кров, отримані після декапітації щурів дослідних і контрольної груп. Евтаназію здійснювали під ефірним наркозом, користуючись правилами поводження з піддослідними тваринами. Еритроцити виділяли з гепаринізованої крові, а еритробlastи кісткового мозку — з епіфізів стегнових кісток, користуючись методами [7, 8].

У гемолізатах еритроцитів визначали піруваткіназну, лактатдегідрогеназну, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназну активність за допомогою стандартних спектрофотометричних

методів із використанням нікотинамідних коферментів [3]. Вміст білка в лізатах визначали за методом Лоурі і співавторів (1951) [7]. Отримані результати опрацьовували статистично за допомогою комп’ютерних програм.

## Результати й обговорення

Для з’ясування впливу катіонів кадмію на процеси енергетичного обміну в еритроцитах і клітинах кісткового мозку проаналізовано активність ферментів, які каталізують важливі стадії катаболізму моносахаридів: піруваткінази — одного з ключових ферментів гліколізу, лактатдегідрогенази (ЛДГ) — ферменту завершальної стадії цього процесу і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) — каталізатора початкової стадії пентозофосфатного шляху. Відомо, що моносахариди є головними енергетичними субстратами в еритроїдних клітинах, а проміжні продукти гліколізу впливають на кисень-транспортні властивості гемоглобіну [1, 15]. У зв’язку з цим динаміка вказаних ферментів дає можливість охарактеризувати рівень енергозабезпечення клітин та інші ланки їхньої функціональної активності.

Результати проведених досліджень свідчать про відмінності в метаболічній відповіді еритроцитів і клітин кісткового мозку на тривале надходження до організму тварин катіонів Cd<sup>2+</sup>. Зокрема, активність піруваткінази в еритроцитах збільшується у 2,2 раза ( $p < 0,001$ ) після 7 діб і в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) після 14 діб уведення щурам хлориду кадмію, а в клітинах кісткового мозку — навпаки, зменшується, відповідно, в 1,8 і 3,4 раза ( $p < 0,001$ ) в зазначені терміни досліджень (рис. 1).



Рис. 1. Вплив хлориду кадмію на піруваткіназну активність в еритроцитах і еритроїдних клітинах кісткового мозку щурів

Примітка: в цій та інших таблицях \*, \*\*, \*\*\* — вірогідність різниць між контрольною і дослідними групами тварин (\* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ , \*\*\* —  $p < 0,001$ )

Таке явище може зумовлюватись загальними особливостями в процесах енергетичного обміну в досліджуваних типах клітин. Як відомо, еритроїдним клітинам кісткового мозку притаманні різні шляхи енергетичного метаболізму — анаеробний (гліколіз) та аеробний (окиснювальне фосфорилювання). Водночас в еритроцитах функціонує лише гліколіз і метаболічно пов’язаний із ним пентозофосфатний шунт [4]. Пригнічення піруваткінази в еритробластах кісткового мозку під впливом катіонів кадмію може свідчити про зменшення ролі гліколізу в цих клітинах та, можливо, активніше використання в енергетичному метаболізмі інших субстратів [5]. Однак внаслідок інгібування піруваткіназної активності в еритробlastах зменшується рівень утворення піровиноградної кислоти, що, в свою чергу, може призводити до змін у функціонуванні метаболічних процесів, залежних від пірувату.

Натомість активація піруваткінази в еритроцитах свідчить про мобілізацію енергетичних ресурсів для максимального утворення молекул АТФ, необхідних для внутрішньоклітинних і мембраних процесів (підтримання форми еритроцита, цілісності та механічних властивостей плазматичної мембрани, активного трансмембранного транспорту і

внутрішньоклітинного градієнта концентрації іонів, фосфорилювання білків і фосфоліпідів) [9]. Всі ці процеси відіграють важливу роль у збереженні життєздатності клітин за умов стресового стану, викликаного надходженням до організму катіонів важкого металу.

Водночас із активацією піруваткінази в еритроцитах відбувається підвищення лактатдегідрогеназної активності, причому найбільшого значення цей показник досягає після 14 діб експерименту ( $p < 0,001$ ). Як видно з отриманих результатів, рівень активації ЛДГ реакції у тварин групи Д2 значно більший, ніж піруваткіназної (рис. 2). Такий ефект підтверджує функціональну роль гліколізу в адаптаційних процесах, які відбуваються в еритроцитах тварин, отруєних тривалим введенням хлориду кадмію.

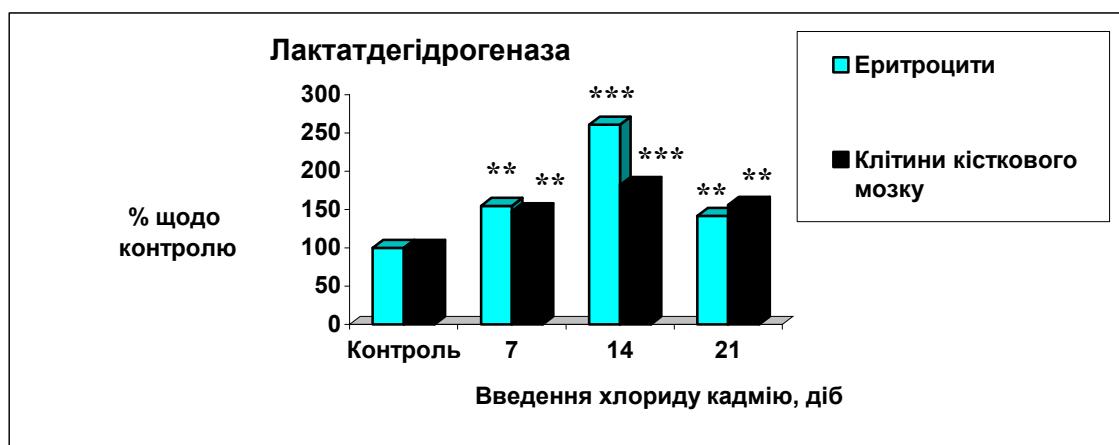


Рис. 2. Вплив хлориду кадмію на лактатдегідрогеназну активність в еритроцитах і еритроїдних клітинах кісткового мозку щурів

Водночас установлено, що активація ЛДГ відбувається і в клітинах кісткового мозку щурів, особливо групи Д2 ( $p < 0,001$ ), незважаючи на зменшення в них піруваткіназної активності (рис. 2). Відомо, що завдяки особливостям ізоферментного складу ЛДГ каталізує і процес відновлення пірувату до молочної кислоти, і процес окиснення лактату до пірувату, залежно від умов середовища та концентрації в клітинах зазначених компонентів реакції [11]. Оскільки в еритроїдних клітинах кісткового мозку переважають Н-субодиниці ЛДГ, збільшення лактатдегідрогеназної активності може вказувати на зміщення рівноваги реакції в бік утворення пірувату, що сприяє перетворенню останнього в циклі трикарбонових кислот [2, 13].

У функціонуванні клітин еритроїдного ряду важлива роль належить реакціям пентозофосфатного шунту гліколізу. В еритробластах кісткового мозку продукт цього процесу — рибозо-5-фосфат — необхідний для синтезу пуринових нуклеотидів і, відповідно, нуклеїнових кислот. Отже, підтримання активності реакцій шунту на відповідному рівні має істотне значення для забезпечення пластичним матеріалом проліфераційних процесів у клітинах. Крім того, за участю дегідрогеназ пентозофосфатного шляху відновлюються молекули NADP, які можуть використовуватись під час синтезу жирних кислот або окиснюватись ферментами дихального ланцюга [4]. В еритроцитах основна роль пентозофосфатного шунту гліколізу полягає в утворенні NADPH, необхідного для активності глутатіонредуктази. Таким чином, реалізується зв’язок між метаболізмом моносахаридів і функціонуванням антиоксидантної системи клітин [1, 15].

У процесі досліджень встановлено, що після введення  $CdCl_2$  активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах щурів групи Д1 не відрізняється від контрольних значень, але значно зменшується на наступних стадіях експерименту (у тварин груп Д2 і Д3) (рис. 3). В еритроїдних клітинах кісткового мозку ферментна активність різко пригнічується у щурів групи Д1 — на 7-му добу після початку введення  $CdCl_2$  і впродовж усього досліду не досягає значень, притаманних тваринам контрольної групи (рис. 3).



*Rис. 3. Вплив хлориду кадмію на активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах і клітинах кісткового мозку щурів*

Отримані результати вказують на пригнічення процесів перетворення вуглеводів пентозофосфатним шляхом в обох типах еритроїдних клітин — і в еритроцитах, і в еритробластах кісткового мозку — після тривалого надходження до організму тварин хлориду кадмію. Вірогідно, така ситуація може бути однією з передумов розвитку метаболічних і функціональних порушень в еритроїдних клітинах тварин під впливом тривалого надходження до організму катіонів Cd<sup>2+</sup>.

### Висновки

Під впливом катіонів кадмію відбуваються зміни в процесах енергетичного метаболізму в еритроїдних клітинах крові і кісткового мозку щурів. Зміни ферментної активності в досліджуваних клітинах неоднакові, а їх напрям пов'язаний із притаманним цим клітинам типом метаболізму. В еритроцитах кадмій зумовлює активацію ферментів гліколізу (піруваткіназа, лактатдегідрогеназа) та пригнічення глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності. У клітинах кісткового мозку під впливом кадмію зменшується піруваткіназна та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна і зростає лактатдегідрогеназна активність.

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідження впливу катіонів кадмію на активність ферментів енергетичного обміну в еритроцитах і еритроїдних клітинах кісткового мозку білих щурів за умов тривалого внутрішньошлункового введення CdCl<sub>2</sub> у різних дозах.

*H. L. Antonyak, Yu. V. Zhylishchych*

### EFFECTS OF CADMIUM CHLORIDE ON SOME LINKS OF ENERGY METABOLISM IN ERYTHROCYTES AND BONE MARROW CELLS OF WHITE RATS

#### Summary

The effects of cadmium cations on activity of energy metabolism enzymes in erythrocytes and erythroid bone marrow cells of white rats under prolonged intragastric introduction of CdCl<sub>2</sub> in a dose of 3 mg/kg were studied. It was established that during the 21-daily trial period pyruvate kinase activity in animal erythrocytes increased, and in bone marrow cells — was inhibited, lactate dehydrogenase activity increased, and glucose-6-phosphate dehydrogenase was reduced in both types of cells studied. The results suggest the changes in erythroid cell energy metabolism under the influence of cadmium cations.

*Г. Л. Антоняк, Ю. В. Жилищич*

# ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА КАДМИЯ НА НЕКОТОРЫЕ ЗВЕНЬЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА В ЭРИТРОЦИТАХ И КЛЕТКАХ КОСТНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС

## Аннотация

Проводили исследование влияния катионов кадмия на активность ферментов энергетического обмена в эритроцитах и эритроидных клетках костного мозга белых крыс при условиях длительного внутрижелудочного введения CdCl<sub>2</sub> в дозе 3 мг/кг. Установлено, что на протяжении 21-суточного экспериментального периода пируваткиназная активность в эритроцитах животных растет, а в клетках костного мозга — подавляется; активность лактатдегидрогеназы повышается, а глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы — уменьшается в обоих типах исследуемых клеток. Полученные результаты свидетельствуют об изменениях в процессах энергетического метаболизма в эритроидных клетках под воздействием катионов кадмия.

1. Антоняк Г. Л. Особливості гемопоезу у тварин на ранніх стадіях постнатального розвитку : автореф. д-ра біол. наук / Г. Л. Антоняк. — Львів, 2002. — 29 с.
2. Антоняк Г. Л. Вплив гормонів на функціональну активність лактатдегідрогенази та її ізоферментів в еритроїдних клітинах тварин раннього віку / Г. Л. Антоняк, В. В. Бальковський, В. В. Снітинський // Вісник Львівського державного аграрного університету. — 2001. — № 5. — С. 536–539. — (Агрономія).
3. Астауров Б. Л. Методы биологии развития / Б. Л. Астауров. — М., 1974. — С. 346–433.
4. Гаврилов О. К. Клетки костного мозга и периферической крови / О. К. Гаврилов, Г. И. Козинец, Н. В. Черняк. — М. : Медицина, 1985. — 286 с.
5. Жиліщич Ю. В. Динаміка гематологічник показників у щурів за умов введення хлориду кадмію / Ю. В. Жиліщич, Г. Л. Антоняк // Вісник Львівського державного аграрного університету. — 2007. — № 11. — С. 312–316. — (Агрономія).
6. Панас Н. Є. Акумуляція кадмію в органах білих щурів за умов введення CdCl<sub>2</sub> / Н. Є. Панас, Г. Л. Антоняк, В. В. Снітинський, С. Кондрацький // Біологія тварин. — 2005. — Т. 7. — С. 31–50.
7. Северин С. Е. Практикум по биохимии : изд. 2-е, перераб. и доп. / С. Е. Северин, Г. А. Соловьев. — М. : Изд-во МГУ, 1989. — 509 с.
8. Стародуб Н. Ф. Гетерогенная система гемоглобина / Н. Ф. Стародуб, В. И. Назаренко. — К. : Наукова думка, 1987. — 200 с.
9. Agre P. Red blood cell membranes: structure, function, clinical implications / P. Agre, J. C. Parker // Hematology. — New York : CRC Press, 1989. — Vol. 11. — 733 p.
10. Järup L. Cadmium overload and toxicity / L. Järup // Nephrol. Dial. Transplant. — 2002. — Vol. 17, Suppl. 2. — P. 35–39.
11. Maekawa M. Lactate dehydrogenase isoenzymes / M. Maekawa // J. Chromatogr. — 1988. — Vol. 429. — P. 373–398.
12. Satarug S. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population / S. Satarug, J. R. Baker, S. Urbenjapol et al // Toxicol. Lett. — 2003. — Vol. 137. — P. 65–83.
13. Setchenska M. S. Changes in the lactate dehydrogenase isoenzyme pattern during differentiation of rabbit bone-marrow erythroid cells / M. S. Setchenska, H. R. V. Arnstein // Biochem. J. — 1978. — Vol. 170. — P. 193–201.
14. Sethi P. K. Cadmium exposure: health hazards of silver cottage industry in developing countries / P. K. Sethi, D. J. Khandelwal // Med. Toxicol. — 2006. — Vol. 2. — P. 14–15.
15. Wiback S. J. Extreme pathway analysis of human red blood cell metabolism / S. J. Wiback, B. O. Palsson // Biophys. J. — 2002. — Vol. 83, N 2. — P. 808–818.

**Рецензент:** головний науковий співробітник лабораторії живлення ВРХ, доктор біологічних наук, професор В. Г. Янович.