

ВПЛИВ КАТІОНІВ ХРОМУ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТАХ БІЛИХ ЩУРІВ

Г. Л. Антоняк¹, Н. П. Хомич², Н. Є Панас²

¹Львівський національний університет ім. І. Франка, м. Львів

²Львівський національний аграрний університет, м. Дубляни

У статті представлені результати досліджень впливу біхромату калію (за умов тривалого введення в дозі 3мг/кг маси тварин) на активність ферментів антиоксидантної системи в нейтрофільних гранулоцитах білих щурів. Установлено, що із тривалістю надходження до організму катіонів Cr^{6+} концентрація вторинних продуктів ПОЛ у клітинах тварин зростає, а активність ферментів-антиоксидантів змінюється неоднозначно: супероксиддисмутаза і каталаза активність підвищується на початкових стадіях експерименту, а глутатіонпероксидаза — на завершальних стадіях.

Хром — широко розповсюджений у природі важкий метал, який у природних сполуках виявляється, головним чином, у формі Cr^{3+} і Cr^{6+} , що відповідає валентностям Cr (III) і Cr (VI). Як відомо, катіони Cr^{6+} отруйні для живих організмів [1]. У складі різноманітних сполук вони застосовуються в промисловому виробництві (хімічна, металургійна, шкірообробна та інші галузі). За умов надходження в складі забруднень атмосферного повітря, води, харчових продуктів і кормів до організму людини і тварин шестивалентний хром проявляє потужну прооксидантну дію, у зв'язку з чим становить серйозну небезпеку для здоров'я людини і сільськогосподарських тварин. Вплив хрому супроводжується широким спектром токсичних ефектів, таких як збільшення частоти розвитку ракових захворювань, серйозні пошкодження внутрішніх органів (нирки, легені, печінка), зумовлює розвиток фіброзу легень і хронічного бронхіту, виразку шкіри, екземи, алергічні дерматити, порушення функції травної, видільної і нервової систем та канцерогенні ефекти. Установлено, що надходження хрому інгаляційним шляхом (вдихання хромовмісних випарів, диму, пилу, крупинок) зумовлює, перш за все, пошкодження дихальних шляхів, тоді як введення хрому через травний тракт у формі сполук, які засвоюються організмом, пов'язане з токсичністю щодо інших органів, зокрема печінки і селезінки [2].

Незважаючи на те, що токсична дія Cr (VI) нині інтенсивно вивчається, механізми впливу Cr^{6+} на метаболізм і функції клітин крові досліджені недостатньо. Зокрема мало вивчені метаболічні ефекти хрому в клітинах імунної системи. Особливо це стосується нейтрофільних гранулоцитів, які відіграють важливу роль у захисті організму від патогенних впливів, а, крім того, взаємодіють з іншими клітинами в процесі формування запальних реакцій у відповідь на пошкодження. Нейтрофільні гранулоцити мають більшу, ніж інші клітини, здатність утворювати активні форми Оксигену. У зв'язку з цим значний інтерес становить з'ясування стану антиоксидантної системи у цих клітинах за прооксидантного впливу сполук Хрому.

Метою роботи було дослідити динаміку ферментів-антиоксидантів у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів, отруєних тривалим введенням в організм шестивалентного хрому в формі $K_2Cr_2O_7$.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на білих лабораторних щурах самцях, яких утримували за умов віварію. Було сформовано 4 групи тварин — контрольну (15 особин) і 3 дослідні (Д1, Д2, Д3, по 5 особин в кожній). Щури групи Д1 отримували

внутрішлунково $K_2Cr_2O_7$ (3 мг/кг маси щодоби) впродовж семи діб, групи Д2 — 14 діб, Д3 — 21 доби, а контрольної групи — фізіологічний розчин у такому самому об'ємі. Матеріалом досліджень була периферична кров, яку отримували під час декапітації тварин дослідних і контрольної груп.

Декапітацію здійснювали під легким ефірним наркозом. Виділення нейтрофільних гранулоцитів проводили фракціонуванням лейкоцитів у градієнті густини фіколу та верографіну [3].

У лізатах клітин, приготовлених згідно з стандартною методикою, визначали активність ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, каталаза). Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за рівнем гальмування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразолію за присутності NADH і феназинметасульфату [4]. Активність глутатіонпероксидази визначали за швидкістю окиснення глутатіону за присутності гідропероксиду третинного бутілу [5], каталазну активність досліджували, використовуючи гідроген пероксид як субстрат реакції. Активність ферментів обчислювали, здійснюючи перерахунок на 1 мг білка. Вміст білка в лізатах визначали за методом Лоурі і співавторів (1951). Отримані результати опрацьовували статистично з використанням методів варіаційної статистики.

Результати й обговорення. Установлено, що тривале надходження хрому не призводить до істотних змін вмісту вторинних продуктів ПОЛ у клітинах крові піддослідних тварин груп Д1 і Д2. Однак, як свідчать дані графічно представлені на рисунку 1, експериментального періоду концентрація ТБК-активних продуктів у нейтрофільних гранулоцитах піддослідних тварин групи Д3 вірогідно зростає у порівнянні з контролем ($p < 0,01$). Це свідчить про відносно низьку сприйнятливість лейкоцитів до впливу хрому (VI), на відміну інших клітин, де цей елемент проявляє значно виразніші прооксидантні ефекти [6–2].



Рис. 1. Зміни концентрації ТБК-активних речовин у нейтрофільних гранулоцитах щурів під впливом $K_2Cr_2O_7$

Захист клітин від пошкоджень продуктами вільнорадикальних реакцій, рівень яких зростає за умов надходження важких металів, здійснюється за участю багатокомпонентної антиоксидантної системи. Як відомо ферменти-антиоксиданти каталізують детоксикацію активних форм Оксигену — ініціаторів ПОЛ та обмежують інтенсивність цих процесів у клітині [7].

Проте як свідчать результати досліджень, характер змін антиоксидантної ферментної активності в нейтрофільних гранулоцитах щурів дослідних груп, яким вводили біхромат калію, неоднозначний. Так, супероксиддисмутазна активність зростає на 7-му добу експерименту, відтак нормалізується у тварин груп Д2 і Д3 після введення $K_2Cr_2O_7$. Глутатіонпероксидазна активність пригнічується на 7-му та 14-ту доби, а на 21-

шу — зростає до рівня контролю. Каталазна активність — зростає на 7-му добу після введення токсиканта, а відтак пригнічується у порівнянні зі значеннями притаманними клітинам тварин контрольної групи (рис. 2).

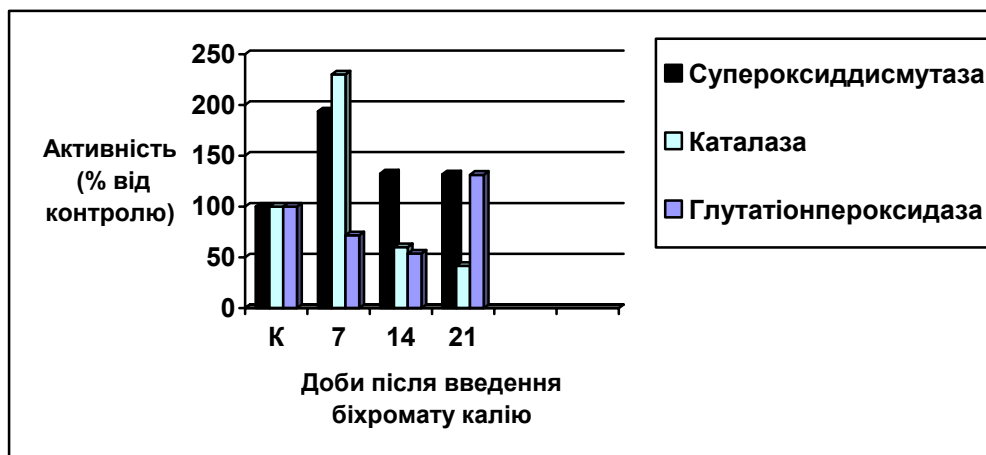


Рис. 2. Вплив $K_2Cr_2O_7$ на активність ферментів у нейтрофільних гранулоцитах

Аналіз отриманих результатів дає підставу вважати, що активація супероксиддисмутази є однією з захисних реакцій досліджуваних клітин, яка протидіє нагромадженню активних форм кисню та запобігає інтенсифікації процесів ПОЛ. Це й підтверджується відносно стабільним рівнем ТБК-активних продуктів у тварин груп Д1 і Д2, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ продовж 7 і 14 діб [8].

Це свідчить про неоднакову роль каталази і глутатіонпероксидази в детоксикації гідроген пероксиду. Каталаза, як відомо є головним H_2O_2 — детоксикуючим ферментом і має вирішальне значення у захисті від цього оксиданта, яким може пошкоджуватись структура мембранних і цитоплазматичних біомолекул, а також компонентів міжклітинного матриксу та сусідніх клітин. Однак на завершальних стадіях експерименту каталазна активність пригнічується внаслідок зростання концентрації продуктів ПОЛ. Тому важливе значення у продовженні тривалого надходження до організму катіонів Cr^{6+} має активація глутатіонпероксидази, яка відіграє компенсаторну роль у детоксикації активних форм кисню у досліджуваних клітинах.

ВИСНОВКИ

Тривале введення катіонів хрому щурам призводить до активації процесів пероксидного окиснення ліпідів та змін активності ферментів антиоксидантної системи в нейтрофільних гранулоцитах, а саме: підвищення активності супероксиддисмутази і каталази в ранній період інтоксикації та зниження активності каталази і активації глутатіонпероксидазної активності під час тривалого періоду отруєння катіонами Cr^{6+} тварин.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть скеровані на вивчення впливу Хрому (VI) на процеси енергетичного метаболізму в лейкоцитах крові тварин.

INFLUENCE OF CHROME CATION ON THE ACTIVITY OF FERMENTS OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN NEUTROPHILE GRANULARCYTES OF WHITE RATS

H. L. Antoniak, N. P. Khomych, N. Ye. Panas

SUMMARY

The article presents results of the research of the influence of potassium bichromate

(under conditions of continuous injection norm of 3 mg/kg of animal mass) on the activity of ferment of antioxidant system in neutrophile granulocytes of white rats. It was proved that in case input of cations Cr^{6+} to body is continuous, concentration of by-products LPO in cells of animal increases, and activity of ferments antioxidants considerably changes: superoxide dismutase and catalysis activity increases at first stages of experiment, and glutathione peroxidase activities — at last stages.

ВЛИЯНИЕ КАТИОНОВ ХРОМА НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦЫТОВ БЕЛЫХ КРЫС

Г. Л. Антоняк, Н. П. Хомич, Н. Э. Панас

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье наведены результаты исследования влияния бихромата калия (при длительном введении в количестве 3 мг/кг массы животных) на активность ферментов антиоксидантной системы нейтрофильных гранулоцитов белых крыс. Установлено, что при длительном поступлении в организм катионов Cr^{6+} концентрация вторичных метаболитов продуктов ПОЛ в клетках животных увеличивается, а активность ферментов-антиоксидантов изменяется неоднозначно, а именно — супероксиддисмутазная и каталазная активность повышается на первоначальных стадиях эксперимента, а глутатионпероксидазная — на заключительных стадиях.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Satarug S.* Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke / S. Satarug // *Environ. Health Perspect.* — 2004. — Vol. 112, N 10. — P. 1099–10103.
2. *Valko M.* Metals, toxicity and oxidantive stress / M. Valko, H. Morris, M. T. Cronin // *Curr. Med. Chem.* — 2005. — Vol. 12, N 10. — P. 1161–1208.
3. *Boyum A. A.* A one-stage procedure for isolation of granulocytes and lymphocytes from human blood / A. A. Boyum // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* — 1968. — Vol. 21, S. 97. — P. 51–76.
4. *Дубинина Е. Е.* Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е. Е. Дубинина, Л. А. Сальникова, Л. Ф. Ефимова // *Лаб. дело.* — 1983. — № 10. — С. 30–33.
5. *Моин В. М.* Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // *Лаб. дело.* — 1986. — № 12. — С. 724–727.
6. *Зенков Н. К.* Окислительный стресс / Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньщикова. — М. : Ин-та теор. и эксп. физики, 2001. — 81 с.
7. *Антоняк Г. Л.* Екоотоксикологічні аспекти впливу кадмію на організм людини і тварини / Г. Л. Антоняк, Н. Є. Панас, Ю. В. Жиліщич, Л. П. Білецька // *Медична хімія.* — 2007. — Т. 9, № 3. — С. 112–119.
8. *Орехович В. Н.* Современные методы в биохимии / В. Н. Орехович. — М. : Медицина, 1977. — 391 с.

Рецензент: старший науковий співробітник лабораторії живлення свиней, кандидат біологічних наук Салига Н. О.