

## ІНТЕНСИВНІСТЬ ПЕРОКСИДНИХ ПРОЦЕСІВ І АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ЕНЗИМІВ У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ЗА ПІДВИЩЕНОГО РІВНЯ ХРОМУ В РАЦІОНІ

Р. Я. ІСКРА, В. Г. ЯНОВИЧ

*Інститут біології тварин НААН, Львів, Україна;  
e-mail: ruslana\_iskra@inenbiol.com.ua*

*Наведені дані про вплив хрому в різних тканинах щурів у разі споживання його з комбікормом у вигляді  $\text{CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$  на інтенсивність пероксидних процесів та активність антиоксидантних ензимів. Встановлено ступінь підвищення вмісту хрому в досліджуваних тканинах щурів під час додавання його до комбікорму в кількості 200 мкг/кг протягом 30 днів. Вміст хрому у досліджуваних тканинах щурів зменшується в ряду: селезінка, серце, нирки, легені, мозок, печінка, скелетний м'яз.*

*В усіх тканинах щурів, яким згодували комбікорм із добавкою хрому, за винятком скелетних м'язів, зменшується вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) — гідропероксидів і ТБК-активних продуктів (вторинних продуктів ПОЛ, які утворюються в реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою). Найбільше зменшується вміст продуктів ПОЛ у селезінці, нирках, печінці і легенях. При цьому в усіх органах і тканинах щурів за дії хрому підвищується активність глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази і каталази. У мозку і нирках зростає вміст відновленого глутатіону. Активність супероксиддисмутази більша лише в серцевому і скелетному м'язах тварин, приблизно однакова в легенях і печінці, а в інших органах — мозку, нирках і селезінці у тварин дослідної групи активність ензиму нижча, ніж у тварин контрольної групи. Одержані результати свідчать про регуляторний вплив хрому на активність ензимів антиоксидантної системи в органах і тканинах щурів, про органно-тканинні особливості цього впливу.*

*Ключові слова: хром, гідропероксидази, ТБК-активні продукти, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, каталаза, відновлений глутатіон, супероксиддисмутаза.*

**В** останні роки встановлено вплив органічних і неорганічних сполук хрому за додавання їх до раціону лабораторних і сільськогосподарських тварин на різні ланки обміну речовин [1] і фізіологічні функції [2]. Згідно з нормами (NRC) Національного наукового товариства в США, хром є есенціальним мікроелементом для лабораторних тварин [2] і людини [3]. Біологічно активною формою хрому в організмі є хромодулін, основна функціональна ознака якого — здатність підсилювати ефект інсуліну щодо перетворення глюкози [2]. У разі недостатності надходження хрому з їжею в організмі виникають метаболічні порушення, симптоми яких подібні до тих, що спостерігаються при діабеті і серцево-судинних захворюваннях [4, 5]. Цим зумовлена актуальність вивчення вмісту хрому в окремих органах і тканинах тварин під час підвищення його рівня в раціоні та його впливу на інтенсивність пероксидних процесів і активність антиоксидантних ензимів. Вивчення цього питання становить інтерес у зв'язку з тим, що хром як метал зі змінною

валентністю може ініціювати пероксидні процеси в організмі тварин [6–9]. Крім того, у дослідях на щурах встановлено, що хром підвищує активність антиоксидантної системи [10–12]. Подвійна дія Cr(III) як антиоксиданта, так і прооксиданта може ґрунтуватись на його здатності брати участь в окисно-відновних реакціях [2]. Ймовірно, реакції сполук Cr(III) з пероксидами ліпідів відповідальні за здатність цих сполук зменшувати рівень ПОЛ [13]. Проте літературних даних про механізми зв'язку хрому з інтенсивністю пероксидних процесів і активністю антиоксидантної системи в окремих органах і тканинах тварин недостатньо. Тому метою нашої роботи було дослідження впливу хрому за підвищення його рівня в раціоні білих лабораторних щурів на його вміст та вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів і активність антиоксидантних ензимів в різних органах і тканинах.

### Матеріали і методи

Дослід проведений на двох групах білих лабораторних щурів самців лінії Вістар ма-

сою 180–200 г, по 6 тварин у групі. Тваринам згодовували стандартний комбікорм, в якому містилося 820 мкг хрому/кг. Тварини першої групи одержували стандартний комбікорм без добавок хрому і вважалися контролем. Тварини другої групи (дослідні) одержували комбікорм із додатковою добавкою хрому в кількості 200 мкг/кг у вигляді  $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Тривалість досліду – 1 місяць. Після закінчення досліду тварин всіх груп за анестезії ефіром декапітували і одержували зразки тканин: легень, серця, мозку, нирок, печінки, селезінки, скелетних м'язів; заморожували в рідкому азоті і використовували в дослідженнях.

Вміст хрому у тканинах визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі після мінералізації зразків [14]. У порцелянові тиглі поміщали зразки тканин масою 5–10 г і висушували протягом чотирьох годин у сушильній шафі за температури 70–80 °С. Після цього температуру у сушильній шафі підвищували до 150–200 °С і продовжували висушувати ще протягом двох годин.

Після висушування зразків тканин органів і порцелянові тиглі переносили в муфельну піч для озолення. Температуру в муфельній печі поступово доводили до 450 °С. Через кожні 30 хв озолення температуру підвищували на 50 °С. Мінералізацію зразків проводили від 10 до 15 годин до утворення білої або блідо-рожевої золи, без обвуглених частинок, що вказувало на повне видалення органічних речовин.

Якщо не вдалось досягти повної мінералізації зразків тканин, то в попередньо охолоджений тигель із золою додавали 1 см<sup>3</sup> концентрованої соляної кислоти і 1 см<sup>3</sup> концентрованої сірчаної кислоти. Тигель із сумішшю ставили на піщану баню і висушували зразок при температурі від 200 до 300 °С. В подальшому висушений зразок розчиняли у невеликій кількості розведеної соляної кислоти (1 см<sup>3</sup>  $\text{HCl}$  : 3 см<sup>3</sup>  $\text{H}_2\text{O}$ ). Зразок фільтрували в мірну колбу об'ємом 10 см<sup>3</sup>. Тигель ополіскували цим самим розчином 2–4 рази у цю ж колбу. Об'єм у колбі доводили до мітки розчином соляної кислоти. Одержаний розчин є придатним для визначення вмісту хрому на атомно-абсорбційному спектрофотометрі. Використовували резонансну лінію на 357,9 нм, спектральну щілину – 0,7 нм.

Після визначення кількості хрому у зразку за калібрувальним графіком за абсорбцією дослідного зразка розраховували кількість досліджуваного мікроелемента в міліграмах на 1 кг тканини.

Вміст гідропероксидів ліпідів у гомогенаті тканини визначали методом [15], згідно з яким до 0,2 мл гомогенату тканини додавали 2,8 мл етанолу та 0,05 мл 50%-го розчину ТХО і струшували протягом 5 хв. Відбирали 1,5 мл супернатанта і до нього додавали 1,2 мл етанолу, 0,02 мл концентрованої  $\text{HCl}$ , 0,03 мл 1%-го розчину солі Мора в 3%-му розчині  $\text{HCl}$ , струшували і через 30 с додавали 0,2 мл 20%-го розчину тіоціанату амонію. Абсорбцію вимірювали при  $\lambda = 480$  нм. Вміст гідропероксидів ліпідів визначали за різницею між дослідним зразком і контролем, в який замість гомогенату тканини додавали відповідну кількість бідистильованої води. Концентрацію гідропероксидів ліпідів виражали в умовних одиницях на 1 г тканини.

Концентрацію ТБК-активних продуктів у гомогенатах тканин визначали за методом Е. Н. Коробейникової [16]. Для осадження протеїнів до 1 мл гомогенату тканини додавали 4,5 мл 20%-ї фосфорновольфрамкової кислоти і проби центрифугували. Надосадову рідину зливали, а до осаду додавали 1,0 мл 0,8%-го розчину тіобарбітурової кислоти (ТБК) і витримували протягом 1 год на водяній бані при температурі 100 °С. Після цього пробірки охолоджували і центрифугували. В одержаному центрифугаті вимірювали абсорбцію при 535 і 580 нм проти контрольної проби, яка замість гомогенату містила бідистильовану воду. Дворазове вимірювання абсорбції дозволяє виключити поглинання забарвлених комплексів ТБК-речовинами неліпідної природи. Вміст ТБК-активних продуктів розраховували за рівнянням регресії:  $C = 0,21 + 26,5\Delta D$ , де  $C$  – концентрація ТБК-активних продуктів,  $\Delta D$  – показник  $D_{535} - D_{580}$  в центрифугаті. Концентрацію ТБК-активних продуктів у зразку виражали в нмоль МДА на 1 грам тканини, використовуючи коефіцієнт молярного поглинання, який дорівнює  $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ .

Активність супероксиддисмутази (КФ 1.1.15.1.) визначали методом [17], згідно з яким до 0,2 мл гомогенату тканини додавали 0,5 мл етанолу і 0,3 мл хлороформу, інтенсивно перемішували та центрифугували. Далі до 0,1 мл супернатанту додавали 0,1 мл 1 мкМ розчину ЕДТА, 0,1 мл 1%-го розчину желатину, 0,1 мл 1,8 мкМ розчину феназинметасульфату, 0,1 мл 0,4 мкМ розчину нітротетразолію синього і 0,1 мл 1,0 мМ розчину  $\text{NADH}$ . Загальний об'єм суміші доводили 0,15 М фосфатним буфером (рН 7,8) до 3,0 мл та інкубували при кімнатній температурі у темному місці впродовж 30 хв, після чого при  $\lambda = 540$  нм вимірювали абсорбцію. У контрольний зра-

зок замість гомогенату тканини вносили дистильовану воду. Активність СОД виражали в умовних одиницях на 1 мг протеїну тканини.

Активність глутатіонпероксидази (КФ 1.11.1.9) визначали за швидкістю окислення відновленого глутатіону (ВГ) до і після інкубації з гідропероксидом третинного бутілу (ГТБ) за допомогою кольорової реакції з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою (ДТНБК), внаслідок чого утворюється забарвлений продукт – тіонітрофенільний аніон (ТНФА) [18]. Кількість останнього прямо пропорційна кількості SH-груп, що прореагували з ДТНБК. 0,2 мл гомогенату тканин інкубували на водяній бані при 37 °С протягом 10 хв з 0,85 мл 4,8 мМ розчину ВГ, який готували в 0,1 М трис-НСІ буфері (рН 8,5), що містив 6 мМ розчин ЕДТА і 12 мМ розчин азиду натрію. Потім додавали 0,05 мл 20 мМ розчину ГТБ і ще раз інкубували протягом 5 хв. Реакцію зупиняли додаванням 0,4 мл 10%-го розчину ТХО, після чого осаджували протеїни центрифугуванням. Далі до 0,1 мл супернатанту додавали 5 мл 0,1 М трис-НСІ буфера (рН 8,5), 0,1 мл реактиву Елманна (0,01 М розчин ДТНБК на метанолі), перемішували і через 5 хв вимірювали абсорбцію зразка при  $\lambda = 412$  нм. Активність ензиму виражали в мкмоль ВГ/хв на 1 мг протеїну.

Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визначали за методом Корольок М.А. [19]. Реакцію запускали додаванням 2 мл пероксиду водню до 0,1 мл гомогенату тканини. У холодий зразок замість гомогенату вносили 0,1 мл дистильованої води. Реакцію зупиняли через 10 хв додаванням 1,0 мл 4%-го молібдату амонію. Інтенсивність забарвлення вимірювали при  $\lambda = 410$  нм проти контрольного зразка, в який замість пероксиду додавали 2,0 мл дистильованої води. Активність ензиму виражали в нмоль  $\text{H}_2\text{O}_2$ /хв на 1 мг протеїну гомогенату тканини, використовуючи коефіцієнт молярного поглинання, який дорівнює  $22,2 \times 10^3 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ .

Активність глутатіонредуктази (КФ 1.6.4.2) визначали в реакційному середовищі, яке містило 2,5 мл фосфатного буфера (0,15 М фосфатний буфер, рН 7,4), 0,2 мл окисленого глутатіону (7,5 мМ), 0,1 мл гомогенату тканин, 0,1 мл NADPH (1,2 мМ). Активність ензиму визначали за зниженням вмісту NADPH при 37 °С протягом 1 хв на спектрофотометрі при  $\lambda = 340$  нм. Активність ГР виражали в мкмоль NADPH/хв на 1 мг протеїну гомогенату тканини [20].

З метою визначення вмісту відновленого глутатіону до 1 мл гомогенату тканин перед

центрифугуванням додавали 1,5 мл 0,01 М НСООН та гомогенізували його на льоду для осадження протеїнів. До 0,5 мл супернатанту додавали 2 мл 0,1 М фосфатного буфера. Після витримання проби 5 хв при кімнатній температурі реакцію запускали додаванням 100 мкл ортофталевого альдегіду. Абсорбцію проб вимірювали при  $\lambda = 420$  нм на спектрофотометрі [21].

Одержані цифрові дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

### Результати та обговорення

Проведені дослідження, результати яких наведено на рис. 1 показали, що вміст хрому у досліджуваних тканинах щурів контрольної групи, яким згодовували стандартний комбікорм без добавок хрому широко коливається: найбільший він у селезінці (0,42 мг/кг), серці (0,3 мг/кг), нирках (0,27 мг/кг), легенях (0,18 мг/кг), менший – у мозку (0,08 мг/кг), печінці (0,03 мг/кг), м'язі (0,01 мг/кг). Ці результати в основному узгоджуються з даними, наявними в літературі [1] про високий вміст хрому в селезінці, нирках і печінці тварин, тобто в паренхіматозних органах, які характеризуються високою метаболічною активністю. З цих даних випливає, що хром постійно міститься у тканинах тварин внаслідок засвоєння його з кормом.

Вміст хрому у тканинах тварин дослідної групи був у кілька разів більшим, ніж у тканинах тварин контрольної групи: у м'язах – в 16 разів, в печінці – в 11, мозку – в 4,4, серці – в 2,7, легенях – в 2,5, селезінці – в 2,2, нирках – в 2,1. Вміст хрому у тканинах тварин дослідної групи зменшується в ряду: селезінка (0,91 мг/кг), серце (0,81 мг/кг), нирки (0,57 мг/кг), легені (0,46 мг/кг), мозок (0,35 мг/кг), печінка (0,33 мг/кг), скелетний м'яз (0,16 мг/кг).

З наведених на рис. 2 даних видно, що вміст гідропероксидів у всіх досліджуваних тканинах, за винятком скелетних м'язів, у щурів дослідної групи був значно меншим, ніж у тканинах тварин контрольної групи. Зменшення вмісту гідропероксидів у тварин дослідної групи, порівняно з їхнім вмістом у тварин контрольної групи, виявлено в легенях, нирках і селезінці; далі – у печінці, серці і мозку. Ці дані свідчать про пригнічення ПОЛ, в основному, в паренхіматозних органах, які

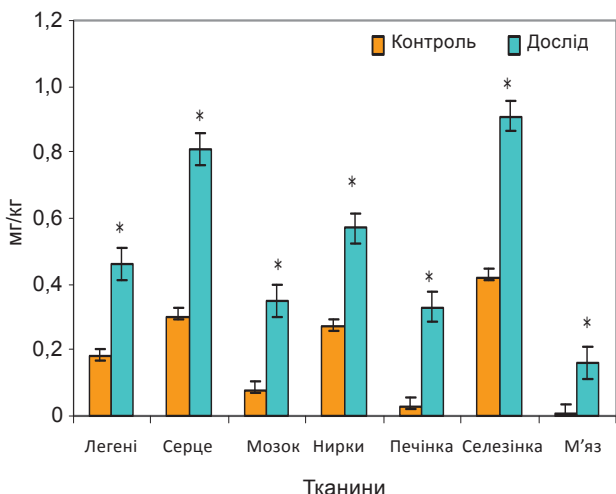


Рис. 1. Вміст хрому у тканинах щурів. Тут і на рис. 2–8 \* статистична достовірність різниць між показниками у тварин дослідної групи порівняно до контрольної: \*  $P < 0,05$

характеризуються, з одного боку, – високим вмістом хрому, а з другого, – високим вмістом поліненасичених жирних кислот у складі ліпідів і високою метаболічною активністю [22]. Загалом одержані результати вказують на зв'язок між вмістом гідропероксидів і вмістом хрому у досліджуваних органах і тканинах тварин та, очевидно, свідчать про прискорення деградації пероксидів за дії хрому у разі підвищення його поглинання із крові за збільшеного споживання.

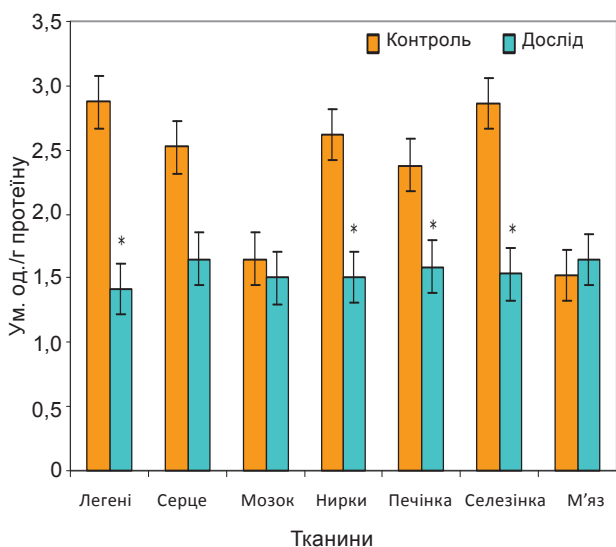


Рис. 2. Вміст гідропероксидів ліпідів у тканинах щурів за дії хрому

З наведених на рис. 3 даних видно, що залежність між вмістом хрому та вмістом ТБК-активних продуктів у досліджуваних органах і тканинах щурів виражена меншою мірою, ніж залежність між вмістом хрому і гідропероксидів. Вміст ТБК-активних продуктів у легенях, серці, мозку, нирках, печінці і селезінці у тварин дослідної групи є вірогідно нижчий, порівняно з тваринами контрольної групи. А різниця у вмісті ТБК-активних продуктів у тканинах тварин дослідної і контрольної групи, подібна до різниці у вмісті в них гідропероксидів. Ці дані можуть свідчити про інгібувальний вплив хрому у разі збільшення його поглинання і вмісту у тканинах щурів на синтез ТБК-активних продуктів, насамперед малонового діальдегіду і кетонів, або їхню прискорену деградацію.

Загалом, одержані результати свідчать про інгібувальний вплив хрому за підвищеного його споживання білими щурами на пероксидні процеси у більшості досліджуваних органів і тканинах щурів і про значну органно-тканинну різницю у ступені цього інгібування. Наші результати узгоджуються з наявними в літературі даними про інгібувальний вплив хрому на пероксидні процеси в організмі різних тварин – щурів [12], птиці [23], риб [6, 7, 24] і людини [3].

Пояснення механізмів інгібувального впливу хрому на пероксидні процеси в органах і тканинах щурів слід шукати в активації антиоксидантної ензиматичної системи. Ланки

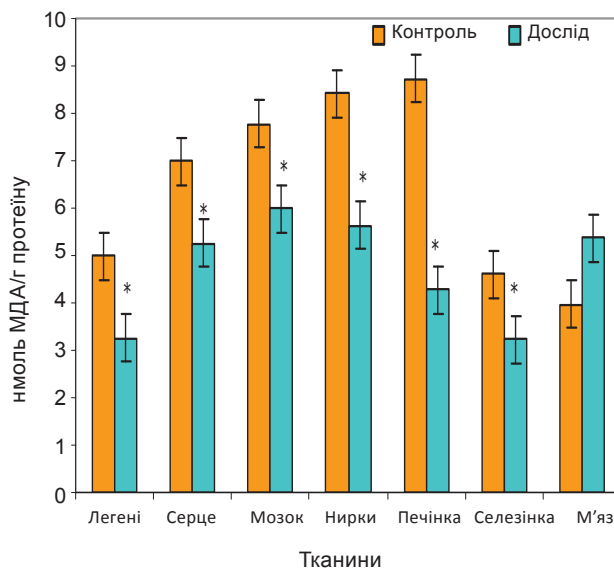


Рис. 3. Вміст ТБК-активних продуктів у тканинах щурів за дії хрому

антиоксидантних реакцій в механізмі захисних процесів є провідними і найпотужнішими, оскільки вони запобігають не тільки розвитку вільнорадикальних реакцій, накопиченню супероксид-аніонів та пероксидів, але й підтримують високу активність окисно-відновних процесів, забезпечують елімінацію кінцевих кисневих метаболітів із залученням їх до енергетичного обміну і активації процесів синтезу [25]. Метаболічна відповідь клітини на дію подразника залежить від її окисно-відновного стану, який через варіабельність рівня відновленості низькомолекулярних сполук і протеїнів (тіоредоксину, глутатіону та ін.) і ефективності системи антиоксидантного захисту здатен впливати на формування адаптаційних реакцій [26]. Збільшення активності ензимів АОС за дії хрому відбувається як за рахунок синтезу нових молекул антиоксидантних ензимів, так і за рахунок прямої активації їхньої ензиматичної активності [6].

У деяких дослідженнях спостерігали активацію глутатіонзалежної антиоксидантної ензиматичної системи, яка нейтралізує пероксиди ліпідів і підтримує у відновленому стані SH-групи протеїнів, забезпечуючи цим їхню функціональну активність [27]. Глутатіонпероксидаза — один із основних ензимів цієї системи, що каталізує відновлення пероксиду водню та інших органічних гідрпероксидів до води та спиртів з одночасним окисненням відновленого глутатіону. Результати наших досліджень (рис. 4) свідчать про значно вищу активність глутатіонпероксидази в легенях, серці, мозку та селезінці щурів дослідної групи, порівняно з активністю їх у тканинах тварин контрольної групи. Вони узгоджуються з наявними в літературі даними про зниження вмісту продуктів ПОЛ в органах і тканинах риб під впливом селену, який різко підвищує синтез глутатіонпероксидази [24], до складу якої входить цей мікроелемент, тоді як активність супероксиддисмутази при цьому суттєво не змінюється. Крім цього, є дані, які показують, що хром зменшує ураження печінки у щурів при хронічному холестазі. Цю гепатопротекторну дію хрому пов'язують з його антиоксидантними властивостями [28].

У наших дослідженнях звертає на себе увагу також значно вища активність глутатіонредуктази (рис. 5), яка здійснює відновлення глутатіону з його дисульфідної форми, у всіх органах і тканинах тварин дослідної групи, порівняно з тваринами контрольної групи.

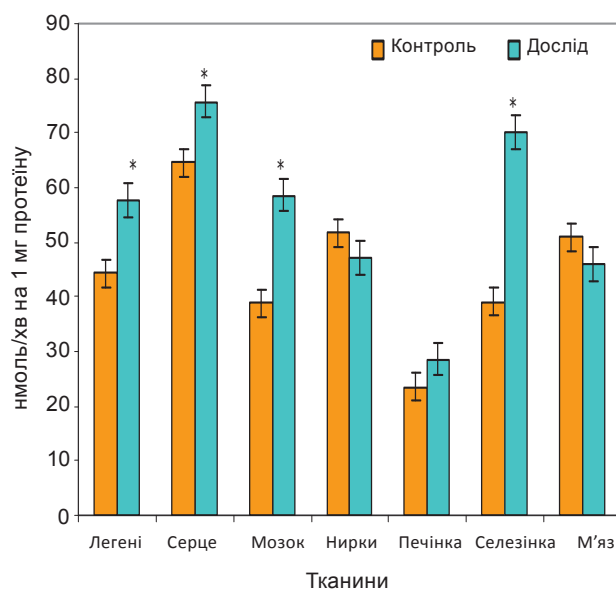


Рис. 4. Активність глутатіонпероксидази у тканинах щурів за дії хрому

Концентрація ж самого відновленого глутатіону вірогідно зростає лише у мозку і нирках, а в інших органах і тканинах щурів дослідної групи має тенденцію до зростання порівняно з контрольною групою (рис. 6). Зростання вмісту відновленого глутатіону у клітинах тканин залежить від таких протилежно спрямованих процесів, як його синтез *de novo* за участю  $\gamma$ -глутаміл-цистеїнсинтетази і виведення у позаклітинний простір, та регенерація за рахунок відновлення окислено-

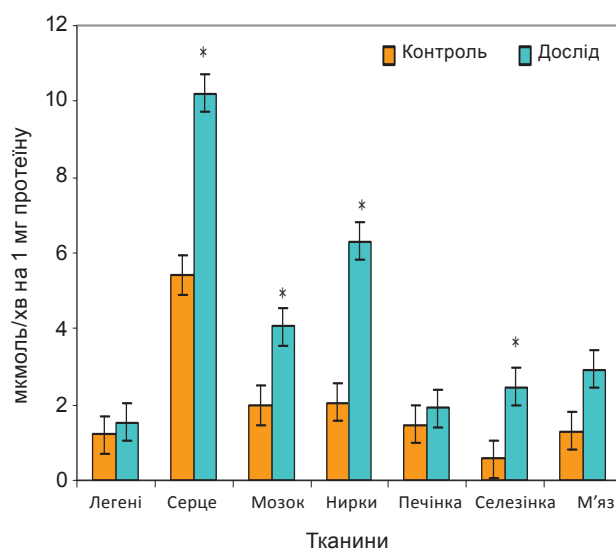


Рис. 5. Активність глутатіонредуктази у тканинах щурів за дії хрому

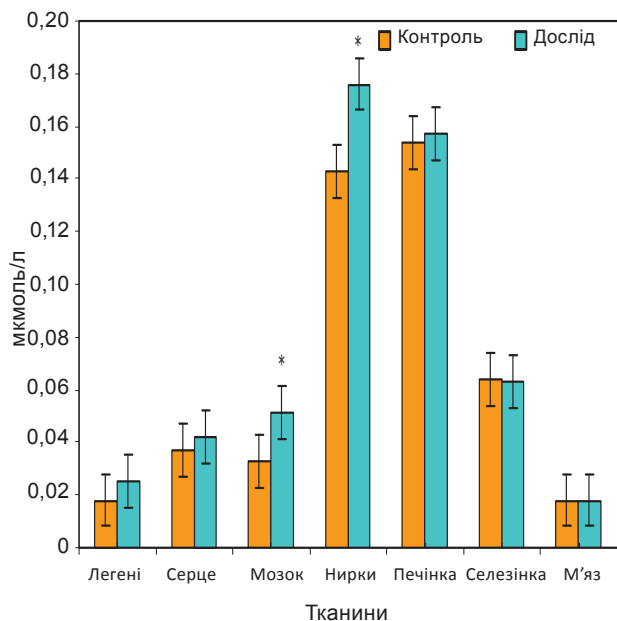


Рис. 6. Вміст відновленого глутатіону у тканинах щурів за дії хрому

го глутатіону і споживання для нейтралізації  $H_2O_2$  і вторинних продуктів пероксидації [29].

Разом з тим, в цих органах і тканинах щурів дослідної групи порівняно зі щурами контрольної групи виявлено значно вищу активність каталази (рис. 7), яка так само, як глутатіонпероксидаза розщеплює  $H_2O_2$ , що утворюється внаслідок дисмутації супероксидного радикала. Відомо, що каталаза разом із супероксиддисмутазою є ключовими ферментами антиоксидантного захисту. Послідовність

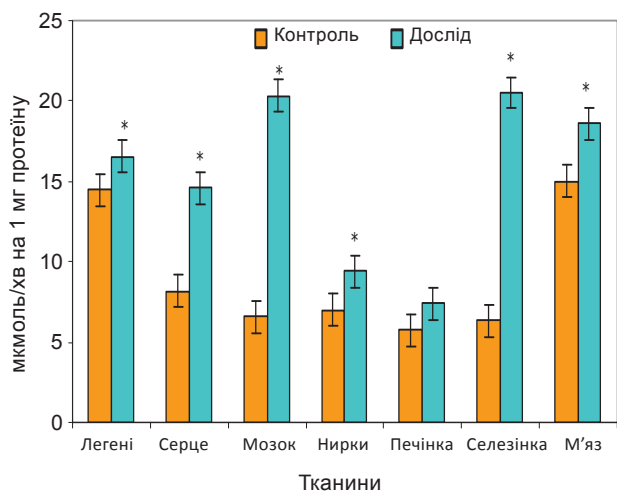


Рис. 7. Активність каталази у тканинах щурів за дії хрому

та злагодженість у роботі цих двох ферментів забезпечують стаціонарний рівень концентрації вільних радикалів. Проте, активність супероксиддисмутази (рис. 8), яка знешкоджує супероксидний радикал і започатковує процеси пероксидації, у наших дослідженнях була достовірно більша лише в серцевому і скелетному м'язах тварин дослідної групи, ніж у тварин контрольної групи та приблизно однакова у легенях і печінці. В інших органах – мозку, нирках і селезінці у тварин дослідної групи активність супероксиддисмутази була значно нижча, ніж у тварин контрольної групи. Очевидно, зростання активності каталази та глутатіонпероксидази на фоні незмінної, а навіть спадаючої активності супероксиддисмутази в деяких тканинах щурів може бути пов'язано із різною потужністю антиоксидантних систем у різних тканинах організму. Проте, з'ясування причинно-наслідкового значення різниць в активності супероксиддисмутази в досліджуваних органах і тканинах тварин вимагає дальших досліджень.

Таким чином, споживання щурами комбікорму з добавкою хрому в кількості 200 мг/кг у вигляді  $CrCl_3 \cdot 6H_2O$  протягом 30 днів приводить до збільшення його вмісту в органах і тканинах. Накопичення хрому у тканинах зменшується в ряду: селезінка > серце > нирки > легені > мозок > печінка > м'яз.

Збільшення вмісту хрому у тканинах щурів приводить до зменшення в них продуктів ПОЛ – гідропероксидів, ТБК-активних продуктів, до збільшення вмісту відновленого глутатіону,

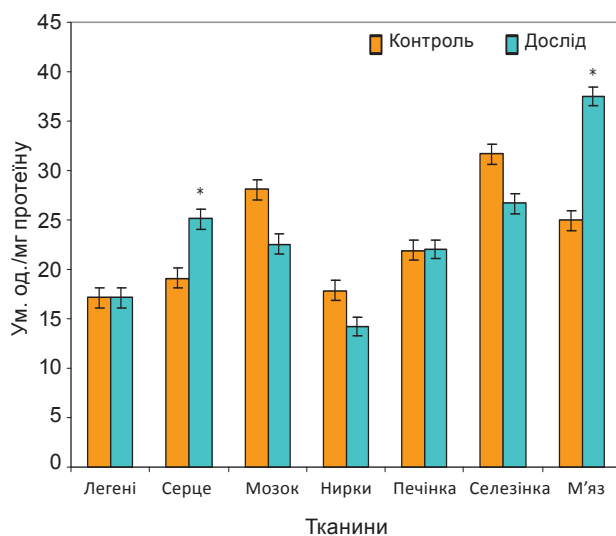


Рис. 8. Активність супероксиддисмутази у тканинах щурів за дії хрому

підвищення активності глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази і каталази та супероксиддисмутази лише в серцевому та скелетному м'язах.

Загалом, одержані результати свідчать, з одного боку, про інгібувальний вплив іонів хрому, у разі підвищення їхнього вмісту у тканинах щурів на інтенсивність процесів пероксидації шляхом активації глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази і каталази, а з іншого, здатність сполук хрому реагувати з пероксидами ліпідів та, імовірно, зменшувати рівень окислення ліпідів [2].

Під час аналізу літератури ми виявили, що хром (III), у зв'язку зі здатністю брати участь в окисно-відновних процесах, може спричинити збільшення рівня активних форм кисню та розвиток окисного стресу [6]. Таким чином, припускаємо можливість посилення прооксидантних процесів на початкових етапах дії хрому (III), що в подальшому супроводжується зростанням експресії ензимів синтезу та збільшенням активності ензимів антиоксидантного захисту, а отже і зниженням рівня продуктів ПОЛ.

#### **ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРОКСИДНЫХ ПРОЦЕССОВ И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ЭНЗИМОВ В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ ПОВЫШЕННОМ УРОВНЕ ХРОМА В РАЦИОНЕ**

*Р. Я. Искра, В. Г. Янович*

Институт биологии животных  
НААН, Львов, Украина;  
e-mail: ruslana\_iskra@inenbiol.com.ua

Приведены данные о влиянии скармливания хрому с комбикормом в виде  $\text{CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$  на интенсивность пероксидных процессов и активность антиоксидантных энзимов в разных тканях крыс. Установлена степень повышения содержания хрому в исследуемых тканях крыс при добавлении его в комбикорм в количестве 200 мкг/кг на протяжении 30 суток. Содержание хрому в исследуемых тканях крыс, получавших  $\text{CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ , уменьшается в ряду: селезенка, сердце, почки, легкие, мозг, печень, скелетные мышцы.

Во всех органах и тканях крыс, которым скармливали комбикорм с добавкой хрому, за исключением скелетных мышц, достоверно уменьшается содержание продуктов ПОЛ – гидропероксидов и ТБК-активных продуктов. Больше всего уменьшается содержание продук-

тов ПОЛ в селезенке, почках, печени и легких. При этом во всех органах и тканях крыс при действии хрому повышается активность глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и каталазы. В мозгу и почках возрастает содержание восстановленного глутатиона. Активность супероксиддисмутази больше только в сердечной и скелетной мышцах животных, приблизительно одинаковая в легких и печени, а в других органах – мозгу, почках, селезенке у животных испытываемой группы активность энзима ниже, чем у животных контрольной группы. Полученные результаты свидетельствуют о регуляторном влиянии хрому по отношению к активности энзимов антиоксидантной системы в органах и тканях крыс и об органно-тканевых особенностях этого влияния.

**Ключевые слова:** хром, гидропероксида, ТБК-активные продукты, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, каталаза, восстановленный глутатион, супероксиддисмутаза.

#### **INTENSITY OF PEROXIDATION PROCESSES AND ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN RAT TISSUES AT HIGH CHROMIUM LEVEL IN THE DIET**

*R. Ya. Iskra, V. G. Yanovych*

Institute of Animal Biology, National Academy  
of Agrarian Sciences, Lviv, Ukraine;  
e-mail: ruslana\_iskra@inenbiol.com.ua

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

The data on the influence of chromium in different tissues of rats at its consumption with mixed fodder in the form of  $\text{CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$  on the intensity of peroxidation processes and activity of antioxidant enzymes are presented. The degree of high chromium content in the studied tissues of rats at its addition to mixed fodder in the amount of 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  during 30 days was established. Chromium content in the rat tissues decreased in the order: the spleen, heart, kidneys, lungs, brain, liver, skeletal muscle. In all tissues of rats fed with mixed fodder with chromium addition, except for skeletal muscles, content of lipid peroxidation products – hydroperoxide and TBARS-products decreased. The content of lipid peroxidation products decreased in the spleen, kidneys, liver and lungs. Also in all organs and tissues of rats the activity of glutathione peroxidase, glutathione reductase and catalase increased at the action of chromium. In the brain and kidneys the level of reduced glu-

tathione increased. Superoxide dismutase activity was significantly higher not only in the heart and skeletal muscles of animals and is probably equal in the lungs and liver, and in other organs – the brain, kidneys and spleen in animals of the studied group the enzyme activity was lower as compared to animals of the control group. Obtained results demonstrate the regulatory influence of chromium on free radical process in the rat tissues.

**Key words:** chromium, hydroperoxides, TBRS, glutathione peroxidase, glutathione reductase, catalase, reduced glutathione, superoxide dismutase.

1. Сологуб Л. І., Антоняк Г. Л., Бабич Н. О. Хром в організмі людини і тварин. Біохімічні, імунологічні та екологічні аспекти. – Львів: Євросвіт, 2007. – 28 с.
2. Vincent J. B. The Nutritional Biochemistry of Chromium(III). – Department of Chemistry The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 2007. – 277 p.
3. Guerrero-Romero F., Rodriguez-Morán M. // Arch. Med. Research. – 2005. – 36. – P. 250–257.
4. Anderson R. A. // J. Am. Coll. Nutr. – 1998. – 17. – P. 548–555.
5. Бабенко И. Г. Обмен хрома при сахарном диабете по данным клинических и экспериментальных исследований. Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Киев, 1989. – 21 с.
6. Lushchak O. V., Kubrak O. I., Torous I. M. et al. // Chemosphere. – 2009. – 75. – P. 56–62.
7. Lushchak O. V., Kubraka O. I., Lozinskya O. V. et al. // Aquatic Toxicology. – 2009. – 93. – P. 45–52.
8. Lushchak V. I. // Aquatic Toxicology. – 2011. – 101. – P. 13–30.
9. Susa N., Ueno S., Furukawa Y., Sugiyama M. // Arch. toxic. – 2010. – 84. – P. 20–24.
10. Tezuka M, Ishii S, Okada S. // J. Inorganic Biochem. – 1991. – 44. – P. 261–265.
11. Preuss H. G., Jarrell S. T., Scheckenbach R. et al. // J. Am. Coll. Nutr. – 1998. – 17. – P. 116–123.
12. Ueno S., Susa N., Furukawa Y. et al. // Jpn. J. Sci. – 1998. – 50. – P. 45–52.
13. Cheng H. H., Lai M. H., Hou W. C., Huang C. L. // J. Agric. Food Chem. – 2004. – 52. – P. 1385–1389.
14. ГОСТ 30178-96. Межгосударственный стандарт «Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсических продуктов». – Введ. 1998.01.01. – Минск: Изд-во стандартов, 2003. – 11 с.
15. А. с. № 1084681 СССР, МКИ G № 33/48. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / Мирончик В. В. (СССР). – № 3468369/2813; заявл. 08.07.82; опубл. 07.04.84. Бюл. № 13.
16. Коробейникова Э. Н. // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–9.
17. Дубинина Е. Е., Сальникова Л. Я., Ефимова Л. Ф. // Там же. – 1983. – № 10. – С. 30–33.
18. Моин В. М. // Там же. – 1986. – № 12. – С. 724–727.
19. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. // Там же. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
20. Антоняк Г. Л. Методики досліджень з фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин. – Львів, 1998 р. – С. 91.
21. Hissin P. J., Hilf R. A. // Analyt. Biochem. – 1976. – 74. – P. 214–226.
22. Грициняк І. І., Смолянінов К. Б., Янович В. Г. Обмін ліпідів у риб. – Львів: Тріада плюс, 2010. – 276 с.
23. Ненич Н. П., Куртяк Б. М. // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин та ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – 2010. – Вип. 11, № 1. – С. 123–126.
24. Мерва А. В., Янович В. Г. // Біологія тварин. – 2004. – 6, № 1–2. – С. 144–147.
25. Кобилянська Л. І., Тимочко М. Ф. // Експер. клін. фізіол. біохім. – 2000. – 12, № 4. – С. 52–57.
26. Кулинский В. И., Колесниченко Л. С. // Успехи совр. биол. – 1993. – 113, № 1. – С. 107–122.
27. Гула Н. М., Горідько Т. М., Стогній Н. А. та ін. // Укр. біохім. журн. – 2010. – 82, № 2. – С. 42–52.
28. Wen-Ying Chen, Chun-Jung Chen, Jiunn-Wang Liao, Frank Chiahung Mao // Life Sciences. – 2009. – 84. – P. 606–614.
29. Кулинский В. И., Колесниченко Л. С. // Успехи биол. химии. – 1990. – 31. – С. 157–179.

Отримано 14.02.2011