

УДК 577.121.2:599.323.4

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЛІМФОЦИТІВ БІЛИХ ЩУРІВ ЗА ДІЇ СПОЛУК ХРОМУ

Н. Хомич¹, здобувач, Г. Антоняк², д.б.н.

Н. Панас¹, к.б.н., О. Скаб¹, асистент

¹Львівський національний аграрний університет

²Львівський національний університет ім. І.Франка

Постановка проблеми. Хром – широко розповсюджений у природі важкий метал, який у природних сполуках виявляється здебільшого у формі Cr^{3+} і Cr^{6+} , що відповідає валентностям Cr (III) і Cr (VI). Як відомо, катіони Cr^{6+} отруйні для більшості живих організмів. За умови надходження до організму тварин і людини вони мають потужний оксидантний вплив, проявляють мутагенні, канцерогенні й тератогенні ефекти. Незважаючи на те, що токсичну дію важких металів нині інтенсивно вивчають, механізми впливу шестивалентного хрому на метаболізм і функції клітин крові досліджені недостатньо.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Стосовно клітин системи лімфопоезу, то можливість прояву в них прооксидантних ефектів хрому не вивчена. Не з'ясовані й механізми антиоксидантної відповіді лімфоцитів крові на дію сполук хрому за умови гострого отруєння організму цим важким металом. Однак ця проблема становить значний інтерес, оскільки відомо, що сполуки хрому спричиняють порушення функціональної активності [2; 3].

Постановка завдання. Наше завдання – дослідити вплив Cr^{6+} на активність ферментів антиоксидантної системи в лімфоцитах крові щурів за умов тривалого введення біхромату калію ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$).

Виклад основного матеріалу. Дослідження проводили на білих лабораторних щурах самцях, яких утримували в умовах віварію. Було сформовано чотири групи тварин – контрольну і дослідні. Щурам дослідної групи внутрішньошлунково вводили розчин $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (3 мг/кг маси щодоби), а щурам контрольної групи – фізіологічний розчин у такому самому об'ємі. Матеріалом досліджень була периферична кров, яку отримували за декапітації тварин на 7-, 14- і 21-шу доби після введення $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Лімфоцити з гепаринізованої крові виділяли методом диференціального центрифугування в градієнті густини фіколу і верографіну згідно зі загальноприйнятою методикою [7].

У лізатах, приготовлених триразовим заморожуванням-відтаванням водних суспензій клітин, визначали активність ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, каталаза). Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за рівнем гальмування ферментом процесу

відновлення нітросинього тетразолію в присутності NADH і феназинметасульфату [1]. Активність глутатіонпероксидази визначали за швидкістю окиснення глутатіону в присутності гідропероксида третинного бутилу [3], каталазну активність досліджували за стандартною методикою, використовуючи гідроген пероксид як субстрат реакції. Активність ферментів обчислювали, здійснюючи перерахунок на 1 мг білка. Вміст білка в лізатах визначали за методом Лоурі та співавторів (1951). Отримані результати опрацьовували статистично з використанням методів варіаційної статистики.

Хром, як і інші важкі метали, належить до стресових чинників, які стимулюють процеси утворення АФК в різних типах клітин [4]. Результати проведених досліджень дають підставу вважати, що інтенсифікація процесів утворення АФК та пероксидного окиснення ліпідів під впливом Cr^{6+} відбувається також і в клітинах крові.

Відомо, що за умов активації процесів ПОЛ під впливом стресових чинників важливе значення має функціональна активність внутрішньоклітинних захисних систем. До них передусім належить антиоксидантна система – комплекс неферментних антиоксидантів і спеціалізованих ферментів-антиоксидантів (супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, каталаза) [5; 8]. Із результатів досліджень випливає, що прооксидантні ефекти сполук хрому в лімфоцитах значною мірою пов'язані зі змінами в антиоксидантному статусі цих клітин. Однак метаболічна відповідь компонентів антиоксидантної системи лімфоцитів на дію катіонів Cr^{6+} характеризується певними особливостями. Зокрема супероксиддисмутазна активність, яка є першою ланкою механізму захисту від шкідливої дії активних форм молекул кисню, істотно зростає в досліджуваних клітинах на 7-му і 14-ту доби після введення тваринам біхромату калію (див. рис.).

Як відомо, глутатіонредуктаза каталізує процес відновлення глутатіону, необхідного для функціональної активності глутатіонпероксидази – іншого важливого ферменту антиоксидантної системи. Згідно з отриманими результатами глутатіонпероксидазна активність у лімфоцитах інтоксикованих біхроматом калію щурів характеризується стабільністю впродовж усього періоду досліджень – не суттєво відрізняється від показників у контролі (див. рис.).

Отримані результати свідчать про певну специфічність прояву антиоксидантних ефектів у лімфоцитах тварин, отруєних $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, порівняно з іншими типами клітин, зокрема еритроцитів [4]. Під час аналізу результатів досліджень передусім привертає увагу відсутність інгібуючого впливу сполук хрому на активність важливого ферменту антиоксидантного захисту лімфоцитів – глутатіонпероксидази. Можливо, це зумовлено такими відомими ефектами АФК, інтенсивність утворення яких зростає за умов інтоксикації хромом, як індукція синтезу ферментів антиоксидантної системи.

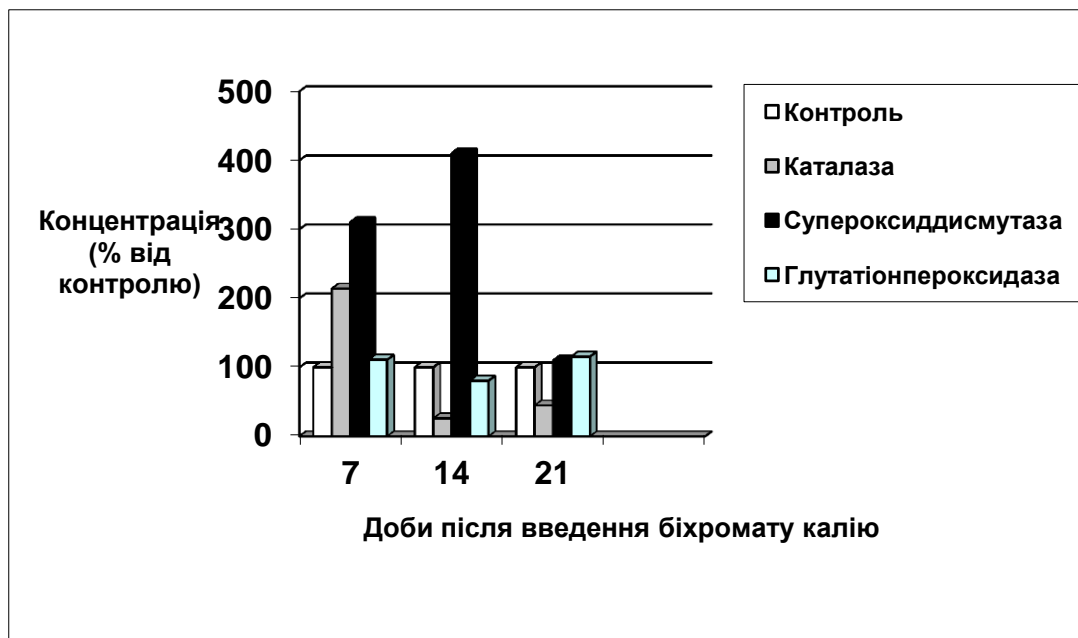


Рис. Вплив $K_2Cr_2O_7$ на активність ферментів у лімфоцитах білих щурів.

З іншого боку, відомо про низку особливостей метаболізму лімфоїдних клітин. У них, зокрема, інтенсивно здійснюється обмін глутамінової кислоти, що може забезпечувати підтримання рівня глутатіону в цих клітинах і зумовлювати певну стабільність пов'язаних із глутатіоном ферментів, передусім глутатіонпероксидази [6]. Водночас стабільний рівень глутатіонпероксидазної активності може відігравати компенсаторну роль у токсикованих хромом лімфоцитах за умов характерного для цих клітин пригнічення супероксиддисмутази.

Загалом, аналізуючи отримані результати, необхідно відзначити меншу амплітуду пригнічення активності антиоксидантних ферментів у лімфоцитах інтоксованих біхроматом калію щурів порівняно з еритроцитами крові [4]. Це може вказувати на меншу порівняно з іншими клітинами крові чутливість лімфоцитів до оксидативного стресу, зумовленого катіонами хрому.

Висновки. Під впливом сполук хрому в лімфоцитах щурів пригнічується функціональна активність каталази, ферменту антиоксидантної системи, супероксиддисмутазна активність різко зростає, а глутатіонпероксидазна – залишається стабільною впродовж експериментального періоду.

Бібліографічний список

1. Дубинина Е. Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е. Е. Дубинина, Л. А. Сальникова, Л. Ф. Ефимова // Лабораторное дело. – 1983. – № 10. – С. 30–33.
2. Коробейников Е. Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК / Е. Н. Коробейников // Лабораторное дело. – 1989. – № 7. – С. 8–9.
3. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // Лабораторное дело. – 1986. – № 12. – С. 724–727.
4. Першин О. І. Вплив іонів свинцю на пероксидну окисацію ліпідів та активність ферментів антиоксидантної системи в еритроцитах щурів / О. І. Першин, Г. Л. Антоняк // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2005. – № 3. – С. 19–24.
5. Beckman K. The free radical theory of aging matures / K. Beckman, B.N. Ames // *Physiol. Rev.* – 1998. – Vol. 78, N 2. – P. 547–581.
6. Antioxidant status and glutathione metabolism in peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic hepatitis C / [P. Boya, de la Pena A., Belouqui O. et al.] // *J. Hepatol.* – 1999. – Vol. 31, N 5. – P. 808–814.
7. A one- stage procedure for isolation of granulocytes and lymphocytes from human blood / A. A. Boyum // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 1968. – Vol. 21, Suppl, 97. – P. 51–76.
8. Free radicals in the physiological control of cell function / W. Droge // *Physiol. Rev.* – 2002. – Vol. 82, N 1. – P. 47–95.

Хомич Н., Антоняк Г., Панас Н., Скаб О. Зміни активності ферментів антиоксидантної системи лімфоцитів білих щурів за дії сполук хрому

Проведено дослідження активності ферментів антиоксидантної системи в лімфоцитах білих щурів за дії біхромату калію. Під впливом сполук хрому в лімфоцитах щурів пригнічується функціональна активність каталази, супероксиддисмутазна активність різко зростає, а глутатионпероксидазна – залишається стабільною впродовж експериментального періоду.

Ключові слова: хром, лімфоцити, каталаза, глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза, антиоксидантна система.

Khomich N., Antoniak H., Panas N., Scab O. The Modification of Ferment Activity in Antioxidant System of Lymphocytes of White Rat under the Influence of Chromic Compounds.

The article deals with the results of experiment of ferment activity in antioxidant system of lymphocytes of white rat under the influence of potassium bichromate. The influence of chromic compounds decrease the functional activity of catalase in lymphocytes of white rats, but superoxide dismutase activity recently increases and glutathione peroxidase stays stable during the whole period of experiment.

Key words: chromium, lymphocytes, catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, antioxidant system.

Хомич Н., Антоняк Г., Панас Н., Скаб О. Изменения активности ферментов антиоксидантной системы лимфоцитов белых крыс за действия соединений хрома

Проведены исследования активности ферментов антиоксидантной системы в лимфоцитах белых крыс при действии бихромата калия. Под влиянием соединений хрома в лимфоцитах крыс угнетается функциональная активность каталазы, стремительно растет активность супероксиддисмутазы, а глутатионпероксидазная активность остается стабильной на протяжении всего эксперимента.

Ключевые слова: хром, лимфоциты, каталаза, глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза, антиоксидантная система.