

## АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ТА ДЕЗІНТОКСИКАЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ОРГАНІЗМУ ЩУРІВ ЗА ЗГОДОВУВАННЯ ЦИТРАТІВ ХРОМУ, СЕЛЕНУ ТА ГЕРМАНІЮ

*М. І. Храбко*

Інститут біології тварин НААН

*У статті представлені результати досліджень дезінтоксикаційної функції та активності ферментів антиоксидантного захисту в крові та тканинах щурів за впоювання розчину цитратів хрому, селену та германію. Встановлено, що тривале впоювання цитратів цих мікроелементів безпосередньо впливає на сумарне збільшення рівня фенолів у тканинах печінки та скелетних м'язах приплоду самок щурів дослідних груп. Такі зміни зумовлені, в основному, зростанням концентрації фенолсульфатів і фенолглюкуронідів. Що стосується активності ферментів антиоксидантного захисту в тканинах печінки та скелетних м'язах приплоду самок щурів за впоювання розчину цитратів хрому, селену та германію, то активність каталази та супероксиддисмутази зростала порівняно до цих показників контрольної групи.*

Зниження природної резистентності організму тварин створює передумови для розвитку інфекційних та інвазійних захворювань [11]. Одним зі шляхів зменшення такого негативного впливу є забезпечення додаткового надходження до організму тварин мікроелементів, які володіють антиоксидантними властивостями та регулюють фізіологічні процеси організму [12]. У тваринництві на сьогодні перспективним є використання Хрому, Селену та Германію у вигляді цитратів. Як відомо, тривалентний Хром бере участь у функціонуванні численних фізіологічних систем, впливає на обмін вуглеводів, ліпідів і білків. Метаболічний ефект Хрому значною мірою полягає в активації гормону підшлункової залози – інсуліну, який забезпечує метаболізм глюкози у клітині, регулюванні обміну холестеролу та активації деяких ферментів [13]. Окисно-відновні реакції мають вирішальне значення для нормального функціонування та цілісності клітин і тканин в організмі. Пероксидному пошкодженню клітинних структур запобігає антиоксидантна система, яка регулює реакції пероксидації ліпідів у мембранах, контролює вміст активних форм кисню, вільних радикалів і кінцевих продуктів обміну речовин. Важливим регулятором процесів перекисного окиснення ліпідів і активності антиоксидантної системи в організмі є Хром (III).

Окрім цього, є дані, що Хром впливає на обмін ліпідів — знижує вміст холестеролу, проте збільшує вміст тріацилгліцеролів, які менше підлягають перекисному окисненню ліпідів завдяки своїй хімічній будові [9]. Дефіцит Хрому може спричинити тяжкі форми атеросклерозу та порушити ліпідний профіль крові [1, 8]. Хром є одним із важливих для організму мікроелементів, які впливають на функціональну активність імунної системи та підвищують стійкість тварин до захворювань [9]. У дослідженнях показано, що додавання до корму сполук Хрому зумовлює збільшення інтенсивності проліферації лімфоцитів у відповідь на дію міогенів. Водночас, установлено, що Хром істотно не впливає на здатність клітин до фагоцитозу [14].

У свою чергу Селен є активним мікроелементом, який відіграє важливе значення у життєдіяльності тварин, а також інтенсивно включається в обмінні процеси клітин. Селен характеризується високою біологічною активністю, що має велике значення для профілактики і лікування різноманітних захворювань [4].

Селен діє як у вигляді вільного іона, так і входить до складу багатьох білків, зокрема глутатіонпероксидази та інших пероксидаз. Глутатіонпероксидаза руйнує утворені при поліпептидному окисненні ліпідів ендпероксидази, такі як гідрпероксидази та алкілпероксидази,

утворені внаслідок діоксигеназних реакцій безпосереднього включення атома кисню в біомолекули [6]. Глутатіонпероксидаза не лише забезпечує захист ненасичених жирних кислот фосфоліпідів мембран клітин від дії токсичних продуктів поліпептидного окиснення ліпідів, стабілізує мембранні структури і генетичний апарат клітин, а й видаляє вільні радикали з організму. Дефіцит Селену підсилює продукцію активних форм кисню, синтез тромбоксинів, збільшує агрегацію тромбоцитів та інгібує продукцію простагліцину – чинника захисту ендотелію [2, 15]. Селен активізує клітинну, гуморальну і фагоцитарну ланки імунітету, сприяє підвищенню неспецифічної резистентності організму [3, 5]. При дефіциті Селену відмічають зниження функціональної активності нейтрофілів та їх кількості, збільшення титру антитіл до бактеріальних і грибкових антигенів.

Як відомо з літературних джерел, серед біологічних властивостей органічного Германію можна відмітити його здатності виконувати в організмі унікальні функції, зокрема, каталітичну, структурну, регуляторну. Германій володіє імуностимулюючими, антигіпертензивними, протизапальними, знеболюючими, антиоксидантними, протипухлинними, противірусними, протигрибковими та антибактеріальними властивостями. Зокрема, Ge як імуномодулятор стимулює активність природних кілерних клітин, збільшує виробництво гамма-інтерферону, при канцерогенезі підвищує активність протипухлинного імунітету. Також, при недостатньому надходженні Германію в організм людини підвищується ризик виникнення захворювань ішемічної хвороби серця, інсульту та остеопорозу [9]. Завдяки таким властивостям органічні сполуки германію застосовуються в медицині у якості імуномодуляторів, онкопротекторів та для покращення загального стану організму, а також при терапії онкологічних захворювань.

У зв'язку з цим, метою досліджень було вивчити ефективність біологічної дії різних доз розчинів цитрату хрому, селену та германію на антиоксидантні та дезінтоксикаційні процеси в організмі щурів.

**Матеріали і методи.** Для досліджень використовували розчини цитратів хрому, селену та германію, що був отриманий методом нанотехнологій [7] в Українському державному науково-дослідному інституті нанобіотехнологій та ресурсозбереження. Дослідження проведені у віварії Інституту біології тварин НААН на статевозрілих (4 міс.) самках щурів, розділених на 3 групи (по 4 самки у кожній). Самок I групи (контрольної) утримували на збалансованому стандартному раціоні (СР) впродовж усього періоду досліджень. Щурі II групи за місяць до запліднення, а також 3 місяці після родів одержували крім СР з питною водою цитрат хрому та селену, у кількості 50 мкг/кг м.т./добу та цитрат германію — 1,5 мг Ge/кг м.т./добу. Тварини III дослідної групи у ці періоди отримували СР та з питною водою цитрат хрому та германію у кількості 50 мкг/кг м.т./добу. Отриманий приплід залишався на раціонах самок відповідних груп до 4 місяців життя.

За періодами досліджень контролювалися показники маси тіла самок (до початку та на 30, 60 і 90 доби згодовування добавок) та приплоду (щодакдно), життєздатність щуренят, процент збереженості. Після закінчення досліду самок та по 5 щуренят з приплоду декапітували для взяття тканин та проведення подальших біохімічних досліджень. Евтаназію проводили під легким ефірним наркозом, без порушень норм гуманного поводження з лабораторними тваринами, з урахуванням загальноприйнятих біоетичних норм і дотримання положень Міжнародної Конвенції роботи з тваринами та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Для визначення інтенсивності перебігу дезінтоксикаційних процесів у тканинах м'язів і печінки досліджували вміст фракцій фенолів. Для вивчення рівня антиоксидантного захисту визначали активність супероксиддисмутази (СОД) та каталази. Отриманий цифровий матеріал опрацьовували методом варіаційної статистики з використанням комп'ютерного пакету програм Microsoft Office Excel.

**Результати й обговорення.** Отримані результати досліджень дезінтоксикаційної функції організму щуренят за впоювання розчину цитратів хрому, селену та германію свідчить про їхній безпосередній вплив на сумарне збільшення фенолів у тканинах печінки

та скелетних м'язів тварин дослідних груп, в основному, за рахунок фенолсульфатів і фенолглюкуронідів. Зокрема, у тканинах печінки щуренят II групи вміст фенолсульфатів збільшувався на 9,8 %, а в м'язах на 10,7 % (табл. 1). Також зростав рівень фенолглюкуронідів у тканинах скелетних м'язів щуренят на 5,5 % порівняно до контролю. Визначення фракцій фенолів показало, що їхня кон'югація у більшій мірі проходить з глюкуроною кислотою порівняно з сульфатною кислотою, на що вказує вищий вміст фенолглюкуронідів у досліджуваних тканинах. Це може зумовлюватися їхньою різною фізіологічною активністю. Біологічний вплив цитратів хрому та германію супроводжувався збільшенням вмісту фенолсульфатів на 7,9 і 9,7 % відповідно у тканинах печінки та скелетних м'язів щуренят III групи (табл. 1). Вищий рівень як вільних, так і зв'язаних фенолів вказує на напруження дезінтоксикаційних процесів у тканинах печінки тварин дослідних груп.

Таблиця 1

**Фракції фенолів тканин приплоду самок щурів за випоювання розчину цитратів хрому, селену і германію, ( $M \pm m$ ,  $n=4$ )**

Тканини	Групи	Вміст вільних фенолів, мкмоль/л	Вміст фенолсульфатів, мкмоль/л	Вміст фенолглюкуронідів, мкмоль/л
Печінка	I	64,29 ± 1,01	77,75 ± 1,44	194,82 ± 2,09
	II	66,77 ± 0,96	85,30 ± 1,30**	199,21 ± 2,55
	III	64,78 ± 0,32	83,90 ± 1,53*	201,24 ± 2,75
М'язи	I	66,02 ± 0,78	70,62 ± 1,71	123,58 ± 2,09
	II	68,01 ± 0,73	78,17 ± 1,05**	130,33 ± 1,29*
	III	67,02 ± 0,90	77,47 ± 1,52*	124,59 ± 2,01

*Примітка:* у цій та наступних таблицях різниця статистично вірогідна порівняно з першою групою  
\* –  $P \leq 0,05$ ; \*\* –  $P \leq 0,01$

Результати досліджень системи антиоксидантного захисту тварин свідчать, що включення до раціону самок щурів II групи за місяць до запліднення, а також 3 місяці після родів цитратів хрому, селену та германію, сприяло зростанню каталазної та супероксиддисмутазної активності тканин печінки на 20,5 та 30,1 %, відповідно, порівняно до контролю (табл. 2). Тоді як каталазна активність тканин скелетних м'язів самок щурів II групи зростала на 42,1 %, а супероксиддисмутазна — на 30,1 %, порівняно з цими показниками для тварин контрольної групи.

Таблиця 2

**Антиоксидантна активність тканин печінки та скелетних м'язів самок щурів за випоювання розчинів цитратів хрому, селену і германію, ( $M \pm m$ ,  $n=4$ )**

Групи	Активність каталази, ммоль/мг білка за хв.		Активність супероксиддисмутази, у.о./мг білка	
	Печінка	М'яз	Печінка	М'яз
I	6,55 ± 0,32	4,28 ± 0,30	3,08 ± 0,13	2,90 ± 0,23
II	7,89 ± 0,25*	6,08 ± 0,47*	4,01 ± 0,27*	3,77 ± 0,21*
III	7,66 ± 0,27*	5,84 ± 0,57	3,59 ± 0,18	3,12 ± 0,42

За умов випоювання самкам щурів III групи розчину цитрату хрому та германію у кількості 50 мкг/кг м.т./добу зростала каталазна активність тканин печінки на 16,9 % та спостерігалась тенденція до зростання супероксиддисмутазної активності тканин скелетних м'язів порівняно до контролю. З літературних джерел відомо, що Хром та Селен підвищують активність антиоксидантної системи. Германій завдяки здатності до переносу електронів знижує активність процесів пероксидації, а також може підвищувати рівень відновленого глутатіону та активність ендогенних ферментів — глутатіонпероксидази та супероксиддисмутази. Як видно з результатів досліджень, поєднання цих трьох мікроелементів проявляє однонапрямлену дію на стан антиоксидантного захисту.

Підтвердженням виражених антиоксидантних властивостей розчину цитратів хрому, селену і германію є також вірогідні міжгрупові різниці антиоксидантної активності тканин печінки та скелетних м'язів приплоду самок щурів (табл. 3). Зокрема, зростала каталазна активність тканин печінки щуренят II групи на 26,0 % ( $P \leq 0,01$ ), а III — на 23,7 % ( $P \leq 0,02$ ). Каталазна активність тканин скелетних м'язів щуренят II групи була вищою на 35,4 % порівняно з цим показником для тварин контрольної групи. Відомо, що каталаза відіграє важливу функцію в окисно-відновних реакціях організму тварин, тому її вища активність у тканинах дослідних груп може свідчити про посилення окисно-відновних процесів за умов надходження в організм Хрому, Селену та Германію.

Таблиця 3

**Антиоксидантна активність тканин печінки та скелетних м'язів приплоду самок щурів за впоювання розчину цитратів хрому, селену і германію, ( $M \pm m$ ,  $n=4$ )**

Групи	Активність каталази, ммоль/мг білка за хв.		Активність супероксиддисмутази, у.о./мг білка	
	печінка	м'язи	Печінка	м'язи
I	6,02 ± 0,37	5,87 ± 0,35	3,33 ± 0,12	2,91 ± 0,10
II	7,64 ± 0,21**	7,95 ± 0,41**	4,52 ± 0,20**	3,78 ± 0,19**
III	7,45 ± 0,32*	5,22 ± 0,22	3,95 ± 0,18*	3,10 ± 0,13

Визначення антиоксидантної активності показало, що впоювання розчину цитратів хрому, селену та германію щуренят II групи сприяло підвищенню супероксиддисмутазної активності тканин печінки на 35,7 %, а тканин скелетних м'язів — на 30,0 %. Тоді як цей показник у щуренят III групи зостав лише для тканин печінки на 18,6 % порівняно до контролю (табл. 3). Це в свою чергу свідчить про синергічну дію цитратів хрому, селену та германію порівняно із впливом цитратів хрому та германію. Що також узгоджується з даними літератури, що свідчать про синергічний вплив Селену на біологічну активність сполук Германію [16].

## ВИСНОВКИ

Отже, проведеними дослідженнями встановлено, що комплексна фізіологічна дія цитратної сполуки трьох елементів – Хрому, Селену і Германію за впоювання самкам щурів, а також їхньому приплоду має більше виражений стимулюючий вплив на дезінтоксикаційні процеси в організмі щуренят, порівняно з впливом впоювання розчину цитрату хрому та германію. Підтвердженням цього є підвищений синтез фенолсульфатів та фенолглюкуронідів у тканинах печінки та скелетних м'язах приплоду самок щурів II групи.

Таким чином, одержані результати також вказують на однакову спрямованість антиоксидантної дії Хрому, Селену і Германію в організмі самок і щуренят, проте більш вираженим цей вплив був на організм дорослих щурів. Відмінності дії цитратів Хрому, Селену і Германію на організм самок та щуренят, можуть також зумовлюватися різним періодом їхнього впоювання, який для самок становив 5 місяців.

**Перспективи подальших досліджень.** Доцільним може бути вивчення у наступні періоди морфологічних і гістологічних показників внутрішніх органів щурів у період застосування різних кількостей Германію та його поєднання з цитратами інших мікроелементів.

## **ANTIOXIDANT ACTIVITY AND DETOXICATION ABILITY OF THE ORGANISMS OF RATS WHEN FEEDING THEM WITH DIFFERENT AMOUNTS OF GERMANIUM CITRATE**

*M. I. Khrabko*

Institute of Animal Biology of NAAS

## S U M M A R Y

This article presents the results of the study of the content of phenols fraction and activity of antioxidant enzymes in blood and tissues of rats when feeding them solution Chromium, Selenium and Germanium citrates. It was determined that long-term feeding with solution citrate these microelements showed increases total phenols in liver tissue and skeletal muscle of the offspring of female rats of research groups. These changes are caused mainly by an increase in fenolsulfate's and fenolglucuronide's fraction. As for the activity of antioxidant enzymes in liver tissue and skeletal muscle of the offspring of female rats by watering citrate solution chromium, selenium and germanium, the activity of catalase and superoxide dismutase increased compared to these parameters in the control group.

### **АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ И ДЕЗИНТОКСИКАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ОРГАНИЗМА КРЫС ПРИ СКАРМЛИВАНИИ ЦИТРАТОВ ХРОМА, СЕЛЕНА И ГЕРМАНИЯ**

*М. И. Храбко*

Институт биологии животных НААН

#### А Н Н О Т А Ц И Я

В статье представлены результаты исследований дезинтоксикационной функции и активности ферментов антиоксидантной защиты в крови и тканях крыс в условиях выпаивания раствора цитратов хрома, селена и германия. Установлено, что длительная выпойка цитратов этих микроэлементов непосредственно влияет на суммарное увеличение уровня фенолов в тканях печени и скелетных мышцах приплода самок крыс опытных групп. Такие изменения обусловлены, в основном, возрастанием концентрации фенолсульфатов и фенолглюкуронидов. Что касается активности ферментов антиоксидантной защиты в тканях печени и скелетных мышцах приплода самок крыс при выпаивании раствора цитратов хрома, селена и германия, то активность каталазы и супероксиддисмутаза возросла по сравнению с этими показателями у животных контрольной группы.

#### Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Апатенко В.* Підвищення збереженості поросят / В. Апатенко, В. Самохин // Ветеринарна медицина України, 1997. — № 5. — 20 с.
2. *Брускова О. Б.* Биологическая функция селена в организме животных / О. Б. Брускова // Сборник научных трудов. Современные проблемы биотехнологии и биологии продуктивных животных. — Боровск. — 2000. — Т. 39. — С. 376 – 386.
3. *Горбачев А. Л.* Физиологическая роль селена и вариации его содержания в организме жителей Северо-Востока России / А. Л. Горбачев, А. В. Скальный, А. В. Ефимова // Микроэлементы в медицине. — 2001. — № 2 (4). — С. 31 – 36.
4. *Гореликова Г. А.* Нутрицевтик селен: недостаточность в питании, меры профилактики / Г. А. Гореликова, Л. А. Маюрникова, В. М. Позняковский // Вопр. Питания. — 1997. — № 5. — С. 18 – 21.
5. *Кравців Р. Й.* Роль селену в життєдіяльності тварин (біологічні, ветеринарно-медичні, екологічні аспекти) / Р. Й. Кравців, Д. О. Янович // Біологія тварин. — 2003. — Т. 5, № 1–2. — С. 23 – 38.
6. *Лешовська Н. М.* Роль селену і вітамінів А, D<sub>3</sub>, Е в імунній функції людини і тварини / Н. М. Лешовська, О. І. Віщур // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин. — 2004. — № 1–2. — Вип. 5. — С. 148.

7. Патент України на корисну модель No 29856. Спосіб отримання аквахелатів нанометалів «Ерозійно-вибухова нанотехнологія отримання аквахелатів нанометалів» / Косінов М. В., Каплуненко В. Г. // МПК (2006): B01J 13/00, B82B 3/00. Опубл. 25.01.2008, бюл. № 2/2008.
8. *Снітинський В. В.* Біологічна роль Хрому в організмі людини і тварин / В. В. Снітинський, Л. І. Сологуб, Г. Л. Антоняк, Д. М. Копачук, М. Г. Герасимів // Укр. біохім. журн. — 1999. — Т. 71, № 2. — С. 5 – 9.
9. *Сологуб Л. І.* Хром в організмі людини і тварин. Біохімічні, імунологічні та екологічні аспекти / Л. І. Сологуб, Г. Л. Антоняк, Н. О. Бабич. — Львів: Євросвіт, 2007. — С. 49 – 55.
10. *Стадник А. М.* Біологічна роль германію в організмі тварин та людини / А. М. Стадник, Г. О. Биць, О. А. Стадник // Науковий Вісник ЛНАВМ імені С. З. Гжицького. — 2006. — Т. 8, № 2, Ч. 1. — С. 185 – 174.
11. *Федорук Р. С.* Фізіологічні механізми адаптації тварин до умов середовища / Р. С. Федорук, Р. Й. Кравців // Біологія тварин. — 2001. — Т. 5, № 1–2. — С. 75 – 82.
12. *Хомин М. М.* Антиоксидантний профіль організму кролів за згодовування добавок хрому та селену у початковий період лактації / М. М. Хомин, Р. С. Федорук // Наук. вісн. Львівського нац. ун-ту вет. мед. та біотехнології ім. С. З. Гжицького. — 2010. — Т. 2, № 2 (44), Ч. 3. — С. 258 – 262.
13. *Anderson R. A.* Stability and absorption of chromium and absorption of chromium histidinate complexes by humans / R. A. Anderson, M. M. Polonsky, N. A. Bryden // Biol. Trace. Elem. Res. — 2004. — Vol. 101. — №3. — P. 211 – 218.
14. *Anderson Richard T.* International symposium on the health effects of dietary chromium / Anderson Richard T // J. Trace Elem. Exp. Med. — 1999. — 12, № 2. — P. 53 – 54.
15. *Salvi S. S.* Acute exposure to diesel exhaust increases IL-8 and GRO-alpha production in healthy human airways / S. S. Salvi, C. Nordenhall, A. Blomberg et al. // American Journal of Respiratory Care Medicine. — 2000. — Vol. 161. — P. 550 – 557.
16. *Xie W.* Effects of selenium and germanium on lipid peroxidation in rats fed with low-selenium grain / W. Xie, X. Chen, K. Yang // Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi. — 1996. — 30 (2). — P. 88–90.