

УДК 577.122:614.449

Іскра Р. Я.

ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ ТА ІМУННОГО СТАТУСУ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ЦИТРАТУ НАНОХРОМУ

Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна;
e-mail: iskra_r@ukr.net

Ключові слова: щур, білковий обмін, амінотрансфераза, імунний статус.

Результати наукових досліджень [8, 10] свідчать про важливу роль хрому (Cr^{3+}) в процесах життєдіяльності людей і тварин, підтримання гомеостазу в їх організмі, нормального функціонування вуглеводного, ліпідного і білкового обміну. Доведено, що Cr^{3+} як мікроелемент, регулює активність ензимів, стабільність білків, ріст і регенерацію тканин, впливає на імунітет та процеси кровотворення [10]. Додавання Cr^{3+} до раціону щурів збільшує вміст амінокислот у тканинах, а також посилює їх включення в білки тканин серця [9]. Cr^{3+} має вплив на експресію генів. Зв'язуючись з хроматином він викликає збільшення ініціювання локусів і, отже, інтенсифікацію синтезу РНК. Отже дія Cr^{3+} пов'язана з індукцією синтезу білка в ядрі та ядерною активацією хроматину [6]. Однак, вплив хрому у вигляді наночастинок, біологічна активність яких є значно вищою, ніж звичайних сполук, на ці процеси не вивчена. Зустрічаються дані, що хром у наноформі, залежно від дози, збільшує середньодобові прирости щурів [11]. Результати досліджень інших авторів [12] показують, що добавки хрому, у вигляді наночастинок впливають на імунний статус організму щурів, які зазнали теплового стресу, збільшуючи в крові вміст імуноглобулінів G, проліферативну відповідь лімфоцитів та фагоцитарну активність макрофагів.

Метою досліджень було з'ясувати вплив цитрату нанохрому в дозі 10 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла на інтенсивність протікання білкового обміну та імунну реактивність в організмі щурів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проведені на 8 самцях білих лабораторних щурів лінії Вістар, масою 180-200 г, які перебували у віварії за відповідних умов освітлення, температурного режиму та стандартного раціону.

Тварини були поділені на дві групи – контрольну і дослідну, по 4 тварини у кожній. Щурам дослідної групи, на відміну від контрольної, до води додавали розчин цитрату нанохрому, в дозі 10 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла, який був одержаний методом ерозійно вибухової нанотехнології [5].

На 30 добу експерименту здійснювали забій самців під ефірним наркозом із дотриманням біоетичних принципів. Матеріалом для досліджень служили кров та тканини щурів: печінка, нирки, селезінка, легені, мозок, серце, м'язи. У крові та гомогенатах тканин щурів визначали вміст білка, активність амінотрансфераз, кількість клітин крові, вміст гемоглобіну, циркулюючих імунних комплексів та фагоцитарну активність лейкоцитів [2]. Статистичну обробку одержаних даних проводили за допомогою програми Statistica 6.0 (StatSoft, Inc. 1984–2001), використовуючи критерій Манна – Уїтні (Mann – Whitney U-test). Статистично вірогідною різницю вважали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведених досліджень за дії цитрату нанохрому встановлено тенденцію до зростання вмісту білка в крові на 6,7%, що свідчить про незначну стимуляцію білок синтезуючих процесів в організмі щурів (табл. 1), що підтверджено дослідженнями інших авторів [3, 6, 11].

Вивчення активності амінотрансфераз у крові тварин є важливим фізіолого-біохімічним тестом для оцінки стану внутрішніх органів та широко застосовується в медичній практиці для діагностики їх ушкоджень. Оскільки максимальна кількість аланінамінотрансферази (АлАТ) міститься в печінці, тому визначення активності ензиму в сироватці крові використовується для діагностики хвороб печінки. Тоді як значне підвищення активності аспартатамінотрансферази (АсАТ) в сироватці крові відзначається при інфаркті міокарда.

За дії цитрату нанохрому у крові щурів зростає активність АлАТ – на 16,6 % та АсАТ – на 16,9 %, що свідчить про можливий вихід ензимів в кров'яне русло з пошкоджених клітин тканин організму (табл. 1). Проте, активність ензимів в крові тварин дослідної групи не виходить за рівні фізіологічних норм. У той же час, в наших попередніх дослідженнях не було виявлено змін активності амінотрансфераз у крові поросят, яким до раціону вводили культуральну рідину дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, що містить біокомплекси хрому [3].

Таблиця 1. Показники білкового обміну в крові щурів за дії цитрату нанохрому (n = 4)

Показники крові	Контрольна група	Дослідна група
Загальний білок (г/л)	73,4 ± 2,73	78,7 ± 2,46
Аланінамінотрансфераза (Е/л)	64,4 ± 2,75	77,2 ± 2,69*
Аспаратамінотрансфераза (Е/л)	122,8 ± 3,21	147,8 ± 4,45*

Примітка: у цій і наступних таблицях вірогідність різниць показників порівняно до контролю: * - p < 0,05.

Реакції трансамінування, які каталізуються амінотрансферазами, активно відбуваються в багатьох органах. За дії нанохрому вірогідно зростає активність АлАТ в печінці, та має тенденцію до зростання у нирках, селезінці, мозку, серці та скелетних м'язах. Це свідчить про стимулюючий вплив цієї сполуки на білково-вуглеводний обмін, оскільки АлАТ – ензим, що каталізує обернений перенос аміногруп з аланіну на α-кетоглутарову кислоту з утворенням пірувату, забезпечує роботу глюкозо-аланінового шунта, завдяки якому глюкоза може перетворюватися на аланін, і навпаки [7]. АлАТ контролює рівень вуглеводів і білків в крові та займає периферичну зону катаболізму порівняно з АсАТ. Збільшення активності АлАТ у тканинах може бути наслідком того, що відбувається активація даного ензиму іонами хрому, очевидно, на рівні трансляції [7].

Таблиця 2. Активність амінотрансфераз у тканинах щурів самців за дії цитрату нанохрому (n = 4)

Тканина	Група	Аланінамінотрансфераза (Е/л)	Аспаратамінотрансфераза (Е/л)
Печінка	К	0,58 ± 0,017	1,69 ± 0,040
	Д	0,76 ± 0,017*	1,60 ± 0,028
Нирки	К	1,71 ± 0,118	2,36 ± 0,013
	Д	2,43 ± 0,053	2,12 ± 0,055*
Селезінка	К	0,29 ± 0,035	2,27 ± 0,077
	Д	0,34 ± 0,014	1,92 ± 0,092
Легені	К	0,27 ± 0,034	2,08 ± 0,066
	Д	0,22 ± 0,016	1,78 ± 0,010*
Мозок	К	0,34 ± 0,046	2,23 ± 0,064
	Д	0,58 ± 0,010	1,99 ± 0,050*
Серце	К	0,11 ± 0,002	2,11 ± 0,038
	Д	0,16 ± 0,009	1,90 ± 0,017
Скелетні м'язи	К	0,17 ± 0,015	1,92 ± 0,022
	Д	0,25 ± 0,021	1,64 ± 0,049*

Можна припустити, що реакція переамінування аланіну при цьому протікає інтенсивніше, що призводить до збільшення утворення

глутамату, який є одним з основних елементів системи знешкодження аміаку в організмі. У результаті в організмі може відбуватися зменшення вмісту аміаку в клітинах, який є токсичним для організму і знешкоджується, в цьому бере участь ензим АсАТ [4].

АсАТ – ключовий ензим обміну речовин, каталізує обернений перенос аміногрупи з аспартату на α -кетоглутарову кислоту з утворенням оксалоацетату, саме він забезпечує надходження субстратів в цикл трикарбонових кислот (ЦТК), займаючи «центрально» роль у метаболізмі. Субстрати цього ензиму: аспартат, α -кетоглутарат, оксалоацетат і глутамат присутні у всіх біологічних об'єктах і відіграють ключову роль в обміні речовин. АсАТ забезпечує надходження метаболітів у ЦТК, прискорює його роботу, що і веде до посилення окисного фосфорилування [7].

У ході дослідження було виявлено зменшення активності АсАТ у тканинах щурів. Активність ензиму вірогідно знижується в нирках, легнях, мозку та скелетних м'язах. Зниження у тканинах активності АсАТ, очевидно, свідчить про пригнічення процесу переамінування аспартату, відповідно гальмування інтенсивності протікання циклу трикарбонових кислот і незначний вихід цих ензимних білків з клітин тканин у кров.

Це зменшення можна пояснити тим, що, можливо, у тканинах відбувається послаблення синтезу ензиму АсАТ, внаслідок активації синтезу білків під дією іонів хрому, що зменшує вміст вільних амінокислот в організмі, як «субстрату» для трансамінування. Крім цього, зменшення активності АсАТ у тканинах, очевидно, є компенсаторним на збільшення синтезу глутамату в результаті активації АлАТ-реакції.

Зниження активності АсАТ та зростання АлАТ у тканинах щурів вказує на гальмування центральних шляхів обміну речовин при одночасній стимуляції периферичних шляхів за дії цитрату нанохрому.

Крім білкового обміну наночитрат хрому виявляє вплив і на гематологічні показники організму. Зокрема, за дії нанохрому в крові щурів кількість еритроцитів суттєво не змінюється, проте, кількість лейкоцитів має тенденцію до зростання (табл. 3), що свідчить про активацію лейкоцитопоезу. Незначний лейкоцитоз, який спостерігався у щурів, очевидно, є базовою захисною реакцією організму на введення нанохрому в дозі 10 мкг Cr^{3+} /кг.

У той же час, на тлі стабільного вмісту еритроцитів за дії хрому вірогідно зменшується вміст гемоглобіну – білка, що відіграє визначальну роль у процесах транспорту кисню. Такий ефект може

зумовлюватись пригнічувальною дією хрому на синтез гемоглобіну або гему.

Таблиця 3. Гематологічні та імунологічні показники організму самців щурів за дії цитрату нанохрому (n = 4)

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Еритроцити, Т/л	5,77 ± 0,26	5,83 ± 0,21
Лейкоцити, Г/л	5,06 ± 0,39	6,31 ± 0,35
Гемоглобін, г/л	148,1 ± 4,71	125,4 ± 4,54*
НСТ-тест, %	6,36 ± 0,39	5,42 ± 0,15
ЦК, мМоль/мл	85,0 ± 5,00	49,0 ± 1,00*

Оскільки відомо, що хром конкурує із залізом за місця зв'язування з трансферинном, який транспортує залізо в крові до рецепторів на еритрокаріоцитах кісткового мозку, де і відбувається синтез гему.

Таким чином, особливості впливу хрому можуть відігравати вирішальну роль у змінах інтенсивності процесу надходження кисню до клітин. Незначні фізіологічні зміни, які спостерігаються в організмі за введення цитрату нанохрому супроводжуються зниженням гемоглобіну та незначним лейкоцитозом у крові щурів.

Відомо, що хром є одним із мікроелементів, які впливають на функціональну активність імунної системи. Вважається, що вплив хрому на активність імунного захисту може проходити через регуляцію активності мононуклеарних клітин периферичної крові та активацію цитокінів [8].

Неспецифічну реактивність організму щурів оцінювали вивчаючи НСТ-тест, який визнано як один із найбільш об'єктивних критеріїв оцінки функціонального стану поліморфноядерних лейкоцитів периферичної крові [1]. При дослідженні функціональної активності нейтрофілів за дії цитрату нанохрому встановлено тенденцію до зниження її на 14,8 % (табл. 3). Це свідчить про зниження в організмі резервних можливостей окисно-відновних метаболічних процесів нейтрофілів, а відтак зниження їх клінінгової активності.

Кінцевим результатом імунної відповіді в організмі тварин є утворення циркулюючих імунних комплексів антиген-антитіло (ЦК), які в свою чергу, беруть участь у регуляції активності імунокомпетентних клітин. У дослідженнях виявлено вірогідно нижчий вміст ЦК у сироватці крові щурів дослідної групи на 42,3 %, порівняно з їх рівнем у тварин контрольної групи (табл. 3), що свідчить про пригнічення імунної відповіді, яка спрямована на

видалення з організму генетично чужих антигенів, за дії цитрату нанохрому.

ВИСНОВКИ

Таким чином, результати досліджень, які проведені на самцях білих лабораторних щурів лінії Вістар, свідчать про вплив цитрату нанохрому в дозі 10 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла на збільшення вмісту білка в організмі, підвищення активності АлАТ та зниження АсАТ у тканинах, що вказує на стимуляцію периферичних шляхів обміну речовин при одночасному гальмуванні центральних. Зростання активності трансаміназ в крові дослідних щурів, очевидно, свідчить про незначний вихід ензимів в кров'яне русло з клітин тканин організму. Крім цього, за дії цитрату нанохрому в організмі щурів відбуваються гематологічні та імунологічні зміни, які супроводжуються незначним лейкоцитозом, зниженням вмісту гемоглобіну, циркулюючих імунних комплексів та інгібуванням функціональної активності лейкоцитів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дмитруха Н.М., Покровська Т.М. Токсична дія свинцю та кадмію на імунокомпетентні клітини крові щурів в умовах *in vitro* // Современные проблемы токсикологии. – 2007. – Т. 2. – С. 9-13.
2. Довідник: Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / Влізло В.В., Федорук Р.С., Макар І.А. та ін. – Львів: ВМС, 2004. – 399 с.
3. Іскра Р.Я., Гончар М.В., Нечай Г.І., Максимович І.Я. Метаболічні показники крові поросят за умов згодовування їм культуральної рідини дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, яка містить біокомплекси хрому // Біотехнологія. – 2011. – Т.4, №4. – С. 50-58.
4. Магарламов А.Г. Аспартат-і аланінамінотрансферазная активність в печінці та сироватці крові щурів при парентеральному азотистом харчуванні на тлі білкового голодування // Український біохімічний журнал. – 1980. – № 6. – С. 720-725.
5. Патент 29856 UA. МПК (2006): B01J 13/00, B82B 3/00. Спосіб отримання аквахелатів нанометалів «Ерозійно-вибухова нанотехнологія отримання аквахелатів нанометалів» / Косінов М. В., Каплуненко В. Г. – Опубл. 25.01.2008; Бюл. № 2/2008.
6. Okada S., Tsukada H., Tezuka M. Effect of chromium (III) on nuclear RNA-synthesis. // Biological Trace Element Research. – 1989. – V.21. – P. 35-39.
7. Park G.J., Lin B.P., Ngu M.C. et al. Aspartate aminotransferase: alanine aminotransferase ratio in chronic hepatitis C infection: is it a useful predictor of cirrhosi // J. Gastroenterol Hepatol. – 2000. – V. 15(4). – P. 386-390.
8. Pechova A., Pavlata L. Chromium as an essential nutrient: a review // Veterinarni Medicina. – 2007. – V. 52 (1). – P. 1-18.

9. Roginski E. F., Mertz W. Effects of chromium (III) supplementation on glucose and amino acid metabolism in rats fed a low protein diet // Journal of Nutrition. – 1969. – V.97. – P. 525-530.
10. Vincent J. B. The Nutritional Biochemistry of Chromium(III). – Department of Chemistry The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 2007. – 277 p.
11. Zha L. Y, Xu Z. R, Wang M. Q, Gu L. Y. Effects of chromium nanoparticle dosage on growth, body composition, serum hormones and tissue chromium in Sprague-Dawley rats. // J. Zhejiang Univ Sci B. – 2007. – V.8(5). – P. 323-330.
12. Zha L., Zeng J., Sun S. et al. Chromium(III) nanoparticles affect hormone and immune responses in heat-stressed rats // Biological Trace Element Research. – 2009. – V. 129, N 1–3. – P. 157-169.

Іскра Р. Я.

**ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ ТА ІМУННОГО
СТАТУСУ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ
ЗА ДІЇ ЦИТРАТУ НАНОХРОМУ.**

Ключові слова: щур, білковий обмін, амінотрансфераза, імунний статус.

Досліджували вплив цитрату нанохрому в дозі 10 мкг Cr³⁺/кг маси тіла на вміст білка, активність амінотрансфераз та імунологічні показники в організмі щурів. Встановлено, що за дії нанохрому зростає активність амінотрансфераз в крові, проте у тканинах зростає активність аланінамінотрансферази та знижується аспартатамінотрансферази. Крім цього, за дії цитрату нанохрому в організмі щурів підвищується вміст лейкоцитів, знижується – гемоглобіну, циркулюючих імунних комплексів та функціональна активність лейкоцитів.

Iskra R. Ja.

**THE INDICES OF PROTEIN METABOLISM
AND IMMUNE STATUS UNDER THE ACTION
CITRATE NANOCHROMIUM.**

Keywords: rat, protein metabolism, aminotransferases, immune status.

The effect of citrate nanochromium in dose of 10 µg Cr³⁺/kg body weight on the content of protein, amino transferase activity and immunological parameters in the organism of rats was studied. It was found that by increasing the activity of nanochromium amino transferases levels, but increased activity in tissues and reduced alaninamino transferases and aspartateamino transferase – decreaseas. Moreover, for the action of citrate nanohromu in the body of rats increases the content of leukocytes, hemoglobin, circulating immune complexes and functional activity of leukocytes decreases.