

## АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ ТА ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ В КРОВІ ВАГІТНИХ САМОК ЩУРІВ ЗА ДІЇ ЦИТРАТУ НАНОХРОМУ

©Р. Я. Іскра

Інститут біології тварин НААН

**РЕЗЮМЕ.** Досліджували вплив цитрату нанохрому в дозі 10 мкг  $\text{Cr}^{3+}$ /кг маси тіла на активність ензимів гліколізу, пентозофосфатного шляху та глутатіонового пулу в крові вагітних самок щурів. Встановлено підвищення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, лактатдегідрогенази, а також глутатіонредуктази та вмісту відновленого глутатіону в крові самок за дії нанохрому.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** щур, хром, вуглеводний обмін, глутатіонова система.

**Вступ.** В організмі під час вагітності у зв'язку зі зростанням основного обміну і збільшенням споживання кисню в крові матері відбувається низка значних біохімічних змін: підвищується концентрація нейтрального жиру та холестеролу, збільшується активність фосфоліпази  $A_2$  [1]. У результаті в крові підвищується концентрація ненасичених жирних кислот, які є безпосереднім субстратом для перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). У здоровому організмі активні форми кисню і антиоксиданти перебувають в рівновазі. Коли рівень активних форм кисню збільшується, цей баланс порушується і виникає окисний стрес. Сучасні дані літератури свідчать про участь окисного стресу в патофізіології безпліддя [5].

Важливим регулятором процесів ПОЛ і активності антиоксидантної системи (АОС) в організмі у період вагітності є хром ( $\text{Cr}^{3+}$ ). Реакції сполук  $\text{Cr}^{3+}$  з перекисами ліпідів, ймовірно, відповідальні за їх здатність знижувати рівень перекисного окиснення ліпідів [6]. Є дані, що добавки  $\text{Cr}^{3+}$  викликають більше зниження інтенсивності ПОЛ у крові пацієнтів з високим рівнем глюкози, ніж у пацієнтів, які мають низький її вміст [6].

Важливим джерелом мікроелементів, в т.ч. хрому, можуть бути нові наноматеріали, зокрема цитрати гідратованих наночастинок. Застосування хрому у вигляді наночастинок, в яких присутність елемента зведена до мінімуму із збереженням його високої біологічної активності, є перспективним науковим напрямком.

**Метою досліджень** було з'ясувати вплив цитрату нанохрому на інтенсивність перебігу гліколітичного і пентозофосфатного шляху окиснення глюкози та визначити стан глутатіонового пулу в крові вагітних самок щурів.

**Матеріали та методи дослідження.** Дослідження проведені на 12 самках білих щурів лінії Вістар, масою 180–200 г, згідно з вимогами етики, передбаченими положеннями Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Тварини перебували у виварії Інституту біо-

логії тварин НААН за відповідних умов освітлення, температурного режиму та стандартного раціону. Самки були поділені на дві групи – контрольну і дослідну, по 6 тварин у кожній. Від початку спаровування самкам щурів дослідної групи, на відміну від контрольної, до води, яку випоювали, протягом 20 днів додавали розчин цитрату нанохрому, в дозі 10 мкг  $\text{Cr}^{3+}$ /кг маси тіла, з розрахунку 2 мкг/тварину/добу. Розчин цитрату нанохрому був одержаний методом Косінова М. В., Каплуненка В. Г. [4]. Суть цього методу полягає в отриманні водного колоїдного розчину наночастинок хрому за допомогою електроімпульсної нанотехнології.

Через 20 днів після спаровування здійснювали забій самок під ефірним наркозом. Матеріалом для досліджень була кров, у якій досліджували: вміст відновленого глутатіону – за рівнем утворення тіонітрофенільного аніону в результаті взаємодії SH-груп глутатіону з 5,5-дитіобіс, 2-нітробензойною кислотою; активність глутатіонпероксидази (КФ 1.11.1.9) – за швидкістю окиснення відновленого глутатіону; активність глутатіонредуктази (КФ 1.6.4.2) – за інтенсивністю відновлення глутатіону в присутності NADPH; активність лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27) і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (КФ 1.1.1.49) – за методами, що базуються на використанні спряжених систем окиснення або відновлення нікотинамідних коензимів [2].

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

**Результати й обговорення.** У результаті проведених досліджень встановлено підвищений рівень глюкози у плазмі крові самок щурів контрольної групи, тоді як за випоювання самкам цитрату нанохрому в дозі 10 мкг  $\text{Cr}^{3+}$ /кг маси тіла спостерігаємо зниження рівня глюкози в плазмі крові тварин дослідної групи на 22,0 %, що, очевидно, зумовлено кращим надходженням глюкози до клітин крові. За цих умов в еритроцитах підсилюється гліколітичний шлях окиснення глюкози, що підтверджується зростанням лактатдегідрогеназ-

ної активності на 16,7 %. Активація гліколізу в еритроцитах має позитивний ефект, оскільки генерується АТФ, який використовується для активного транспорту катіонів через мембрану та збереження її цілісності. Крім цього, у процесі гліколізу за дії нанохрому, очевидно, збільшується синтез  $\text{NADH}_2$ , який є кофактором метгемоглобінредуктази – ензиму, що каталізує перехід мет-Нb в Нb, а також кофактором лактатдегідрогенази і постачальником протонів для супероксиддисмутазної реакції.

Еритроцити на шляху гліколізу використовують 90 % глюкози, тоді як у пентозофосфатному – 10 %. Активність ензиму пентозофосфатного шунта (ПФШ) – глюкозо-6-фосфатдегідрогенази за дії цитрату нанохрому в еритроцитах самок підвищується на 38,3 % (табл. 1). Очевидно, це свідчить про посилення окисного шляху фосфорилування глюкози в крові вагітних самок за дії наноцит-

рату хрому. У процесі пентозофосфатного шунту генерується NADPH, який використовується для відновлення глутатіону у глутатіонредуктазній реакції. Таким чином, реалізується метаболічний зв'язок між енергетичними процесами та функціональною здатністю антиоксидантної системи в крові. Отже, підвищення активності ензиму ПФШ сприятиме активації глутатіонредуктазної реакції в крові вагітних самок, оскільки каталітична активність глутатіонредуктази – ензиму, відповідального за поповнення внутрішньоклітинного пулу відновленого глутатіону, залежить від регенерації NADPH. Це підтверджується підвищенням активності глутатіонредуктази у вагітних самок за дії цитрату нанохрому на 13,0 %.

Внаслідок активації синтезу відновленого глутатіону, його вміст в еритроцитах самок за дії наносполуки хрому зріс на 24,3 %.

Таблиця 1. Вуглеводні та антиоксидантні показники крові вагітних щурів ( $M \pm m$ ,  $n=6$ ).

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Глюкоза, ммоль/л	9,44±0,96	7,36±1,59
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, мкмоль NADPH/хв х мг протеїну	2,37±0,46	3,84±0,68
Лактатдегідрогеназа, мкмоль NAD /хв х мг протеїну	33,83±1,35	40,63±1,55**
Відновлений глутатіон, мкмоль/л	0,25±0,03	0,33±0,04
Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв х мг протеїну	40,28±4,60	40,95±0,63
Глутатіонредуктаза, мкмоль/хв х мг протеїну	0,27±0,03	0,31±0,02

Примітка: достовірність різниць показників порівняно до контролю: \*\* –  $p < 0,01$ .

Активність глутатіонпероксидази в крові вагітних самок за дії нанохрому не змінюється, незважаючи на високий рівень внутрішньоклітинного відновленого глутатіону, який виконує роль не лише субстрату реакцій, але й фактора, необхідного для постійного відновлення розміщених у каталітичному центрі ензиму селенольних груп, що окиснюються у цій реакції [3]. Стабільна активність в еритроцитах самок глутатіонпероксидази – ензиму, що відновлює  $\text{H}_2\text{O}_2$  до води, а органічні гідропероксиди до гідросполук, на тлі підвищеного вмісту відновленого глутатіону, свідчить про те, що відновлений глутатіон, як субстрат, очевидно, може бути використаний глутатіон-S-трансферазою, яка є конкурентом глутатіонпероксидази, а це можна розглядати як компенсаторну реакцію, спрямова-

ну на нейтралізацію вторинних метаболітів кисню. Отже, узгоджена дія всіх компонентів глутатіонової системи сприяє встановленню оптимального рівня пероксидних сполук і збереженню антиоксидантного гомеостазу в організмі вагітних самок щурів.

**Висновки.** Проведені експериментальні дослідження свідчать про інтенсифікацію гліколітичного і пентозофосфатного шляхів окиснення глюкози та активацію глутатіонового пулу в крові вагітних самок щурів за дії цитрату нанохрому в дозі 10 мкг  $\text{Cr}^{3+}$ /кг маси тіла.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у визначенні впливу наносполуки хрому на активність ензимів антиоксидантної системи в тканинах самок щурів під час вагітності та їх плодів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Афанасьєва Н. В. Результати вагітності та пологів при фетоплацентарній недостатності різного ступеня тяжкості / Н. В. Афанасьєва, А. Н. Стрижак // Питання гінекології, акушерства та перинатології. – 2007. – Т. 3, № 2. – С. 7–13.
2. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник /

Влізло В. В., Федорук Р. С., Макар І. А. [та ін.]. – Львів : видавництво «ВМС», 2004. – 399 с.

3. Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатионпероксидазы / В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко // Усп. совр. биол. – 1993. – Т. 113. – С. 107–121.

4. Патент 29856 UA. МПК (2006): B01J 13/00, B82B 3/00. Спосіб отримання аквахелатів нанометалів «Еро-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, короткі повідомлення

зійно-вибухова нанотехнологія отримання аквахелатів нанометалів» / Косінов М. В., Каплуненко В. Г. – Опубл. 25.01.2008; Бюл. № 2/2008.

5. Agarwal A. Role of oxidative stress in female reproduction / A. Agarwal, S. Gupta, R. K. Sharma // Reproductive

Biology and Endocrinology. – 2005. –Vol. 3. – P. 28–30.

6. Antioxidant effects of chromium supplementation with type 2 diabetes mellitus and euglycemic subjects / H. H. Cheng, M. H. Lai, W. C. Hou, C. L. Huang // J. Agric. Food Chem. – 2004. – Vol. 52. – P. 1385–1389.

## **ACTIVITY OF ENZYMES OF CARBOHYDRATE METABOLISM AND GLUTATHIONE SYSTEM IN BLOOD OF PREGNANT FEMALE RATS UNDER THE ACTION OF CITRATE NANOHROMIUM**

©R. Ya. Iskra

*Institute of Animal Biology of NAAS*

**SUMMARY.** The effect of citrate nanohromium dose of 10 mg Cr<sup>3+</sup>/kg body weight on the activity of enzymes of glycolysis, pentose phosphate pathway and glutathione pool in blood of pregnant female rats was studied. The increasing activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase and glutathione reductase and reduced glutathione content in blood of females by nanohromium was shown.

**KEY WORDS:** rat, chromium, carbohydrate metabolism, glutathione system.