

УДК 546.48:577.12:611.018.51

ВПЛИВ ХЛОРИДУ КАДМІЮ НА ДЕЯКІ ЛАНКИ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ В ЕРИТРОЦИТАХ І КЛІТИНАХ КІСТКОВОГО МОЗКУ БІЛИХ ЩУРІВ

Г. Л. Антоняк, Ю. В. Жиліщич

Львівський національний університет імені Івана Франка
Львівський національний аграрний університет

Проводили дослідження впливу катіонів кадмію на активність ферментів енергетичного обміну в еритроцитах і еритроїдних клітинах кісткового мозку білих щурів за умов тривалого внутрішньошлункового введення $CdCl_2$ у дозі 3 мг/кг. Встановлено, що впродовж 21-добового експериментального періоду піруваткіназна активність в еритроцитах тварин зростає, а в клітинах кісткового мозку — пригнічується; активність лактатдегідрогенази підвищується, а глюкозо-6-фосфатдегідрогенази — зменшується в обох типах досліджуваних клітин. Отримані результати свідчать про зміни в процесах енергетичного метаболізму в еритроїдних клітинах під впливом катіонів кадмію.

Ключові слова: КАДМІЙ, ЕРИТРОПОЕЗ, ЕРИТРОЦИТ, КІСТКОВИЙ МОЗОК, ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН

Погіршення екологічної ситуації впродовж останніх десятиріч призвело до збільшення негативного впливу важких металів на організм людини і тварин. Сполуки кадмію належать до особливо небезпечних речовин і включені комісією ФАО/ВООЗ до переліку тих, що підлягають обов'язковому контролю [12]. За умов забруднення компонентів довкілля катіони Cd^{2+} можуть надходити до організму людини і тварин з їжею, водою й атмосферним повітрям і здатні викликати негативні біологічні ефекти навіть у малих концентраціях [10, 14].

Як відомо, кадмій зумовлює зміни в процесах кровотворення [5, 6, 10]. Проте вплив кадмію на метаболізм в еритроїдних клітинах майже не з'ясований і є важливою науковою проблемою. Особливо це стосується еритробластів кісткового мозку, метаболічні процеси в яких визначають рівень їхнього остаточного диференціювання до еритроцитів. Оскільки зумовлені кадмієм порушення можуть торкатися енергетичних процесів, метою роботи було дослідити активність ферментів (піруваткінази, лактатдегідрогенази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази), які визначають інтенсивність окремих ланок енергетичного обміну в еритроблестах кісткового мозку та еритроцитах крові щурів, отруєних тривалим введенням хлориду кадмію.

Матеріали і методи

Експерименти проводили на безпородних білих щурах масою 160–180 г, яких утримували за умов віварію. Тварин поділили на групи: контрольну (К, 10 особин) і три

дослідні (Д1, Д2, Д3) по 5 особин у кожній. Щурам дослідних груп щоденно вводили внутрішньо-шлунково розчин хлориду кадмію в дозі 3 мг/кг маси: тваринам групи Д1 — впродовж 7 діб, Д2 — впродовж 14 діб, Д3 — впродовж 21 доби. Щурам контрольної групи вводили фізіологічний розчин у такому ж самому об'ємі.

Матеріалом досліджень була тканина кісткового мозку і кров, отримані після декапітації щурів дослідних і контрольної груп. Евтаназію здійснювали під ефірним наркозом, користуючись правилами поводження з піддослідними тваринами. Еритроцити виділяли з гепаринізованої крові, а еритробласти кісткового мозку — з епіфізів стегнових кісток, користуючись методами [7, 8].

У гемолізатах еритроцитів визначали піруваткіназу, лактатдегідрогеназу, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу активність за допомогою стандартних спектрофотометричних методів із використанням нікотинамідних коферментів [3]. Вміст білка в лізатах визначали за методом Лоурі і співавторів (1951) [7]. Отримані результати опрацьовували статистично за допомогою комп'ютерних програм.

Результати й обговорення

Для з'ясування впливу катіонів кадмію на процеси енергетичного обміну в еритроцитах і клітинах кісткового мозку проаналізовано активність ферментів, які каталізують важливі стадії катаболізму моносахаридів: піруваткінази — одного з ключових ферментів гліколізу, лактатдегідрогенази (ЛДГ) — ферменту завершальної стадії цього процесу і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) — каталізатора початкової стадії пентозофосфатного шляху. Відомо, що моносахариди є головними енергетичними субстратами в еритроїдних клітинах, а проміжні продукти гліколізу впливають на кисень-транспортні властивості гемоглобіну [1, 15]. У зв'язку з цим динаміка вказаних ферментів дає можливість охарактеризувати рівень енергозабезпечення клітин та інші ланки їхньої функціональної активності.

Результати проведених досліджень свідчать про відмінності в метаболічній відповіді еритроцитів і клітин кісткового мозку на тривале надходження до організму тварин катіонів Cd^{2+} . Зокрема, активність піруваткінази в еритроцитах збільшується у 2,2 раза ($p < 0,001$) після 7 діб і в 1,4 раза ($p < 0,05$) після 14 діб уведення щурам хлориду кадмію, а в клітинах кісткового мозку — навпаки, зменшується, відповідно, в 1,8 і 3,4 раза ($p < 0,001$) в зазначені терміни досліджень (рис. 1).



Рис. 1. Вплив хлориду кадмію на піруваткіназну активність в еритроцитах і еритроїдних клітинах кісткового мозку щурів

Примітка: в цій та інших таблицях *, **, *** — вірогідність різниць між контрольною і дослідними групами тварин (* — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$)

Таке явище може зумовлюватись загальними особливостями в процесах енергетичного обміну в досліджуваних типах клітин. Як відомо, еритроїдним клітинам кісткового мозку притаманні різні шляхи енергетичного метаболізму — анаеробний (гліколіз) та аеробний (окиснювальне фосфорилування). Водночас в еритроцитах функціонує лише гліколіз і метаболічно пов'язаний із ним пентозофосфатний шунт [4]. Пригнічення піруваткінази в еритроблестах кісткового мозку під впливом катіонів кадмію може свідчити про зменшення ролі гліколізу в цих клітинах та, можливо, активніше використання в енергетичному метаболізмі інших субстратів [5]. Однак внаслідок інгібування піруваткіназної активності в еритроблестах зменшується рівень утворення піровиноградної кислоти, що, в свою чергу, може призводити до змін у функціонуванні метаболічних процесів, залежних від пірувату.

Натомість активація піруваткінази в еритроцитах свідчить про мобілізацію енергетичних ресурсів для максимального утворення молекул АТФ, необхідних для внутрішньоклітинних і мембранних процесів (підтримання форми еритроцита, цілісності та механічних властивостей плазматичної мембрани, активного трансмембранного транспорту і внутрішньоклітинного градієнта концентрації іонів, фосфорилування білків і фосфоліпідів) [9]. Всі ці процеси відіграють важливу роль у збереженні життєздатності клітин за умов стресового стану, викликаного надходженням до організму катіонів важкого металу.

Водночас із активацією піруваткінази в еритроцитах відбувається підвищення лактатдегідрогеназної активності, причому найбільшого значення цей показник досягає після 14 діб експерименту ($p < 0,001$). Як видно з отриманих результатів, рівень активації ЛДГ реакції у тварин групи Д2 значно більший, ніж піруваткіназної (рис. 2). Такий ефект підтверджує функціональну роль гліколізу в адаптаційних процесах, які відбуваються в еритроцитах тварин, отруєних тривалим введенням хлориду кадмію.

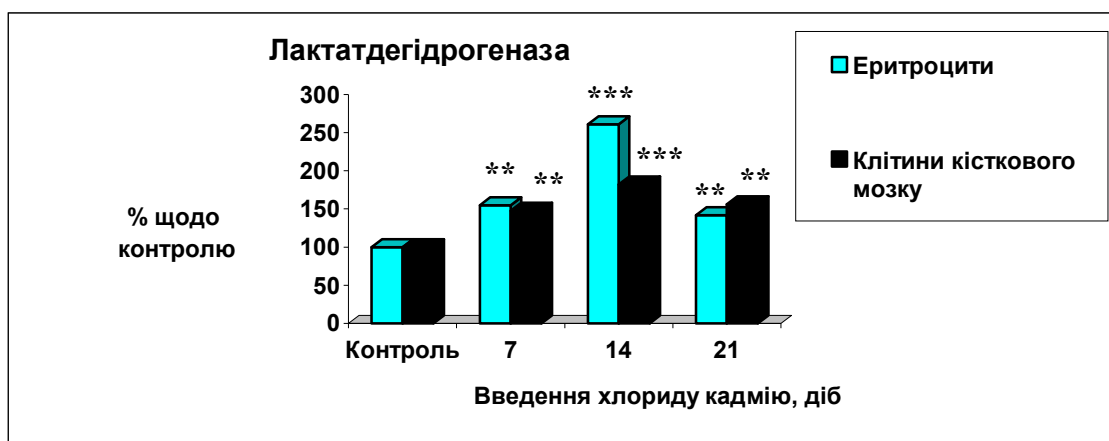


Рис. 2. Вплив хлориду кадмію на лактатдегідрогеназну активність в еритроцитах і еритроїдних клітинах кісткового мозку щурів

Водночас встановлено, що активація ЛДГ відбувається і в клітинах кісткового мозку щурів, особливо групи Д2 ($p < 0,001$), незважаючи на зменшення в них піруваткіназної активності (рис. 2). Відомо, що завдяки особливостям ізоферментного складу ЛДГ каталізує і процес відновлення пірувату до молочної кислоти, і процес окиснення лактату до пірувату, залежно від умов середовища та концентрації в клітинах зазначених компонентів реакції [11]. Оскільки в еритроїдних клітинах кісткового мозку переважають Н-субодиноці ЛДГ, збільшення лактатдегідрогеназної активності може вказувати на зміщення рівноваги

реакції в бік утворення пірувату, що сприяє перетворенню останнього в циклі трикарбонових кислот [2, 13].

У функціонуванні клітин еритроїдного ряду важлива роль належить реакціям пентозофосфатного шунту гліколізу. В еритробластих кісткового мозку продукт цього процесу — рибозо-5-фосфат — необхідний для синтезу пуринових нуклеотидів і, відповідно, нуклеїнових кислот. Отже, підтримання активності реакцій шунту на відповідному рівні має істотне значення для забезпечення пластичним матеріалом проліфераційних процесів у клітинах. Крім того, за участю дегідрогеназ пентозофосфатного шляху відновлюються молекули NADP, які можуть використовуватись під час синтезу жирних кислот або окиснюватись ферментами дихального ланцюга [4]. В еритроцитах основна роль пентозофосфатного шунту гліколізу полягає в утворенні NADPH, необхідного для активності глутатіонредуктази. Таким чином, реалізується зв'язок між метаболізмом моносахаридів і функціонуванням антиоксидантної системи клітин [1, 15].

У процесі досліджень встановлено, що після введення CdCl_2 активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах щурів групи Д1 не відрізняється від контрольних значень, але значно зменшується на наступних стадіях експерименту (у тварин груп Д2 і Д3) (рис. 3). В еритроїдних клітинах кісткового мозку ферментна активність різко пригнічується у щурів групи Д1 — на 7-му добу після початку введення CdCl_2 і впродовж усього досліду не досягає значень, притаманних тваринам контрольної групи (рис. 3).

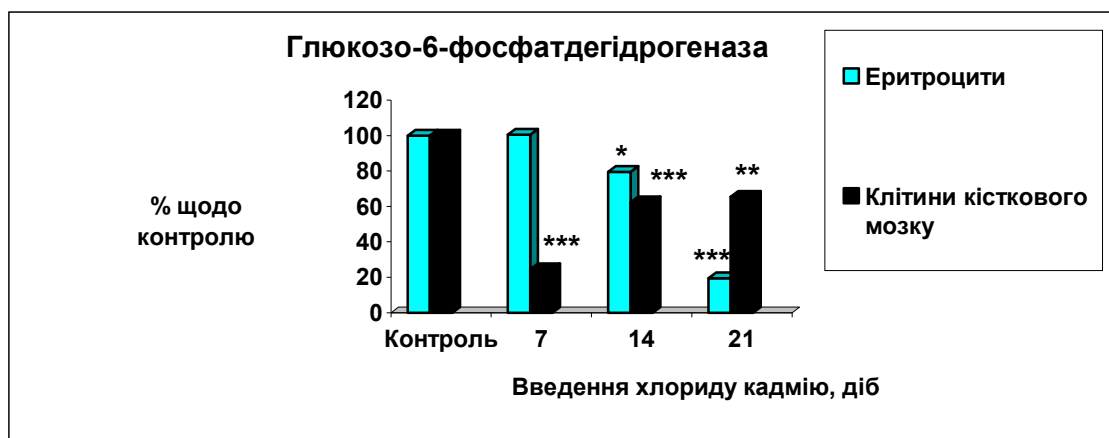


Рис. 3. Вплив хлориду кадмію на активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах і клітинах кісткового мозку щурів

Отримані результати вказують на пригнічення процесів перетворення вуглеводів пентозофосфатним шляхом в обох типах еритроїдних клітин — і в еритроцитах, і в еритробластих кісткового мозку — після тривалого надходження до організму тварин хлориду кадмію. Вірогідно, така ситуація може бути однією з передумов розвитку метаболічних і функціональних порушень в еритроїдних клітинах тварин під впливом тривалого надходження до організму катіонів Cd^{2+} .

Висновки

Під впливом катіонів кадмію відбуваються зміни в процесах енергетичного метаболізму в еритроїдних клітинах крові і кісткового мозку щурів. Зміни ферментної активності в досліджуваних клітинах неоднакові, а їх напрям пов'язаний із притаманним цим клітинам типом метаболізму. В еритроцитах кадмій зумовлює активацію ферментів гліколізу (піруваткіназа, лактатдегідрогеназа) та пригнічення глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної

активності. У клітинах кісткового мозку під впливом кадмію зменшується піруваткіназна та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна і зростає лактатдегідрогеназна активність.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження впливу катіонів кадмію на активність ферментів енергетичного обміну в еритроцитах і еритроїдних клітинах кісткового мозку білих щурів за умов тривалого внутрішньошлункового введення CdCl_2 у різних дозах.

H. L. Antonyak, Yu. V. Zhylyshchych

EFFECTS OF CADMIUM CHLORIDE ON SOME LINKS OF ENERGY METABOLISM IN ERYTHROCYTES AND BONE MARROW CELLS OF WHITE RATS

S u m m a r y

The effects of cadmium cations on activity of energy metabolism enzymes in erythrocytes and erythroid bone marrow cells of white rats under prolonged intragastric introduction of CdCl_2 in a dose of 3 mg/kg were studied. It was established that during the 21-daily trial period pyruvate kinase activity in animal erythrocytes increased, and in bone marrow cells — was inhibited, lactate dehydrogenase activity increased, and glucose-6-phosphate dehydrogenase was reduced in both types of cells studied. The results suggest the changes in erythroid cell energy metabolism under the influence of cadmium cations.

Г. Л. Антоняк, Ю. В. Жилищич

ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА КАДМИЯ НА НЕКОТОРЫЕ ЗВЕНЬЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА В ЭРИТРОЦИТАХ И КЛЕТКАХ КОСТНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС

А н н о т а ц и я

Проводили исследование влияния катионов кадмия на активность ферментов энергетического обмена в эритроцитах и эритроидных клетках костного мозга белых крыс при условиях длительного внутрижелудочного введения CdCl_2 в дозе 3 мг/кг. Установлено, что на протяжении 21-суточного экспериментального периода пируваткиназная активность в эритроцитах животных растёт, а в клетках костного мозга — подавляется; активность лактатдегидрогеназы повышается, а глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы — уменьшается в обоих типах исследуемых клеток. Полученные результаты свидетельствуют об изменениях в процессах энергетического метаболизма в эритроидных клетках под воздействием катионов кадмия.

1. *Антоняк Г. Л.* Особливості гемопоезу у тварин на ранніх стадіях постнатального розвитку : автореф. дис. д-ра біол. наук / Г. Л. Антоняк. — Львів, 2002. — 29 с.

2. *Антоняк Г. Л.* Вплив гормонів на функціональну активність лактатдегідрогенази та її ізоферментів в еритроїдних клітинах тварин раннього віку / Г. Л. Антоняк, В. В. Бальковський, В. В. Снітинський // Вісник Львівського державного аграрного університету. — 2001. — № 5. — С. 536–539. — (Агрономія).

3. *Астауров Б. Л.* Методы биологии развития / Б. Л. Астауров. — М., 1974. — С. 346–433.

4. *Гаврилов О. К.* Клетки костного мозга и периферической крови / О. К. Гаврилов, Г. И. Козинец, Н. В. Черняк. — М. : Медицина, 1985. — 286 с.

5. Жилищич Ю. В. Динаміка гематологічних показників у щурів за умов введення хлориду кадмію / Ю. В. Жилищич, Г. Л. Антоняк // Вісник Львівського державного аграрного університету. — 2007. — № 11. — С. 312–316. — (Агрономія).
6. Панас Н. Є. Акумуляція кадмію в органах білих щурів за умов введення CdCl₂ / Н. Є. Панас, Г. Л. Антоняк, В. В. Снітинський, С. Кондрацький // Біологія тварин. — 2005. — Т. 7. — С. 31–50.
7. Северин С. Е. Практикум по биохимии : изд. 2-е, перераб. и доп. / С. Е. Северин, Г. А. Соловйов. — М. : Изд-во МГУ, 1989. — 509 с.
8. Стародуб Н. Ф. Гетерогенная система гемоглобина / Н. Ф. Стародуб, В. И. Назаренко. — К. : Наукова думка, 1987. — 200 с.
9. Agre P. Red blood cell membranes: structure, function, clinical implications / P. Agre, J. C. Parker // Hematology. — New York : CRC Press, 1989. — Vol. 11. — 733 p.
10. Järup L. Cadmium overload and toxicity / L. Järup // Nephrol. Dial. Transplant. — 2002. — Vol. 17, Suppl. 2. — P. 35–39.
11. Maekawa M. Lactate dehydrogenase isoenzymes / M. Maekawa // J. Chromatogr. — 1988. — Vol. 429. — P. 373–398.
12. Satarug S. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population / S. Satarug, J. R. Baker, S. Urbenjapol et al // Toxicol. Lett. — 2003. — Vol. 137. — P. 65–83.
13. Setchenska M. S. Changes in the lactate dehydrogenase isoenzyme pattern during differentiation of rabbit bone-marrow erythroid cells / M. S. Setchenska, H. R. V. Arnstein // Biochem. J. — 1978. — Vol. 170. — P. 193–201.
14. Sethi P. K. Cadmium exposure: health hazards of silver cottage industry in developing countries / P. K. Sethi, D. J. Khandelwal // Med. Toxicol. — 2006. — Vol. 2. — P. 14–15.
15. Wiback S. J. Extreme pathway analysis of human red blood cell metabolism / S. J. Wiback, B. O. Palsson // Biophys. J. — 2002. — Vol. 83, N 2. — P. 808–818.

Рецензент: головний науковий співробітник лабораторії живлення ВРХ, доктор біологічних наук, професор В. Г. Янович.