



УДК 636.4: 678.048

СТАН АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ТКАНИНАХ ПОРОСЯТ ЗА ДІЇ ХРОМУ (III)

Р.Я. Іскра, кандидат сільськогосподарських наук
В.В.Влізло, академік НААН України

Інститут біології тварин НААН

Наведено дані про вплив хрому в дозі 250 мкг/кг, за споживання його з комбікормом у вигляді $\text{CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$, на інтенсивність перекисних процесів та активність антиоксидантних ензимів у тканинах поросят. Встановлено, що за умов уведення до раціону поросят хрому, збільшується накопичення елементу в паренхіматозних тканинах — печінці, нирках і селезінці. В усіх тканинах, крім мозку, за дії хрому зменшується вміст гідроперекисів ліпідів і ТБК-активних продуктів перекисного окиснення ліпідів та збільшується вміст відновленого глутатіону. Активність ензимів антиоксидантної системи — глутатіонпероксидази та каталази — зростає в усіх тканинах, окрім скелетного і серцевого м'язів.

Вступ. Хром (Cr^{3+}) — важливий мінеральний елемент, який міститься в живих організмах і є життєво необхідним для людей та тварин [1]. Він підтримує гомеостаз в їхньому організмі, сприяє нормальному функціонуванню вуглеводного, ліпідного і білкового обмінів [2]. Основна роль Cr^{3+} у метаболізмі організму полягає в зниженні рівня глюкози в крові [3]. Він також активує деякі ферменти, стабілізує білки та нуклеїнові кислоти [4]. Додатки хрому знижують негативні наслідки екологічного стресу в тварин [5]. Є повідомлення, які підтверджують зниження чутливості до стресів у тварин, яким додавали до кормів добавки хрому, через зниження концентрації кортизолу в їх крові [6]. Деякі роботи присвячено вивченню особливостей функціонування системи антиоксидантного захисту тварин за дії хрому [7]. Ан-

тиоксидантна система організму запобігає розвитку не тільки вільнорадикальних реакцій, накопиченню супероксиданіонів та пероксидів, але й підтримує високу активність окисно-відновних процесів, забезпечує елімінацію кінцевих кисневих метаболітів із залученням їх до енергетичного обміну та активації процесів синтезу. За результатами досліджень деяких авторів було встановлено, що тривалентний хром має антиоксидантну та антиапоптичну дію [8].

Разом з тим, в літературі зустрічаються суперечливі дані щодо впливу хрому на систему антиоксидантного захисту та механізмів цього впливу. Є дані, що хром може виступати і антиоксидантом, і прооксидантом [9]. Хром, як метал зі змінною валентністю, може ініціювати пероксидні процеси в організмі тварин [10]. Цей ефект пояснюється здатністю



йонів хрому приймати участь в окисно-відновних реакціях через віддачу/приймання електронів [9]. Проте інші дослідники стверджують, що хром підвищує активність антиоксидантної системи в тварин [11, 12]. Реакції сполук Cr^{3+} з перекисами ліпідів, ймовірно, відповідальні за здатність цих сполук зменшувати рівень перекисного окиснення ліпідів [7]. Деякими авторами встановлено, що добавки хлориду хрому мають антиоксидантні властивості, оскільки зменшують секрецію фактора некрозу пухлини- α , окиснювальний стрес і перекисне окиснення ліпідів за високого рівня глюкози і H_2O_2 в культурах U_{937} моноцитів клітин [13].

Наведене вище свідчить про актуальність вивчення впливу хлориду хрому, при додатковому введенні його в раціон, на інтенсивність пероксидних процесів і активність антиоксидантних ензимів у тканинах поросят.

Матеріали і методи. Дослідження проводились на двох групах поросят великої білої породи по 5 тварин у кожній, від 30 до 90 доби життя. Тваринам контрольної групи згодовували комбікорм, збалансований за всіма елементами живлення, з вільним доступом до води. Вміст хрому в комбікормі становив 609,8 мкг/кг. Тваринам дослідної групи згодовували аналогічний комбікорм, до якого додатково додавали хром у кількості 250 мкг/кг корму у вигляді $\text{CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$. На 90 добу життя було проведено забій тварин з метою дослідження зразків тканин внутрішніх органів на вміст хрому, продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активність ензимів антиоксидантної системи (АОС).

Вміст хрому в тканинах визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі "СП 115-ПК" після сухої мінералізації зразків [14]. У гомогенатах тканин визначали вміст гідроперекисів ліпідів за

методом, принцип якого полягає в осадженні протеїну трихлороцтовою кислотою з наступним внесенням у середовище тіоціанату амонію [15]. Концентрацію ТБК-активних продуктів вимірювали за допомогою кольорової реакції малонowego діальдегіду з тіобарбітуровою кислотою [16]. Активність глутатіонпероксидази (ГП, КФ 1.11.1.9) визначали за швидкістю окиснення відновленого глутатіону [17], активність каталази (КТ, КФ 1.11.1.6) — за допомогою здатності пероксиду водню утворювати із солями молібдену стійкий кольоровий комплекс [18]. Вміст відновленого глутатіону (ВГ) визначали загальноприйнятим методом з ортофталевим альдегідом [19]. Одержані експериментальні дані опрацьовували статистично з використанням методів варіаційної статистики.

Результати досліджень та їх обговорення. Згідно результатів досліджень найбільший вміст хрому в організмі 3-місячних поросят контрольної групи виявлено в печінці, менший — у мозку, селезінці, легенях, нирках, серці та скелетних м'язах (рис. 1). Отримані дані щодо тенденції Cr^{3+} накопичуватися в паренхіматозних тканинах корів підтверджуються дослідженнями інших авторів [6]. Накопичення його в інших тканинах, особливо в м'язах, є обмеженим або відсутнім.

При додаванні протягом двох місяців хлориду хрому до комбікорму дослідних поросят, у їх тканинах зростає вміст хрому (рис. 1), причому найбільше — в селезінці, печінці та нирках ($P < 0,05$).

У результаті проведених досліджень встановлено, що за дії хрому в крові тварин знижується вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Зокрема, гідроперекиси ліпідів, які утворюються в результаті взаємодії перекисних радикалів із молекулами жирних кислот знижуються у всіх досліджуваних тканинах

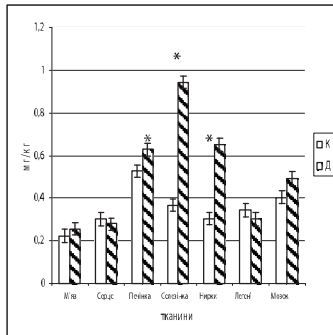


Рис. 1. Вміст хрому в тканинах поросят за дії хлориду хрому

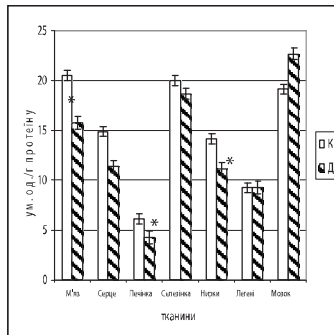


Рис. 2. Вміст гідроперекисів ліпідів у тканинах поросят за дії хлориду хрому

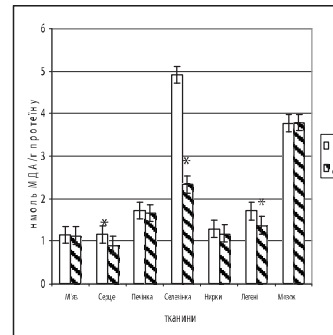


Рис. 3. Вміст ТБК-активних продуктів у тканинах поросят за дії хлориду хрому

за винятком легень та мозку поросят (рис. 2). Вірогідне зниження вмісту гідроперекисів у тварин дослідної групи, порівняно до контрольної, виявлено у печінці (в 1,4 рази, $p < 0,05$), нирках (в 1,3 рази, $P < 0,05$) та скелетному м'язі (в 1,3 рази, $P < 0,01$). Ці дані свідчать про пригнічення ПОЛ в паренхіматозних органах (крім скелетного м'яза), які характеризуються, з одного боку — високим накопиченням хрому, а з другого — високим вмістом поліненасичених жирних кислот у складі ліпідів і високою метаболічною активністю [20].

Вміст ТБК-активних продуктів, які є кінцевими метаболітами ПОЛ, є нижчим в усіх тканинах поросят дослідної групи, за винятком мозку, порівняно з контрольною групою (рис. 3). Вірогідна різниця спостерігається в серці (в 1,3 рази, $P < 0,01$), селезінці (в 2,1 рази, $P < 0,001$) і легенях (в 1,2 рази, $P < 0,01$). Ці дані можуть свідчити про те, що хром інгібує синтез ТБК-активних продуктів, насамперед малонового діальдегіду і кетонів, або ж прискорює їх деградацію.

Одержані результати свідчать про інгібуючий вплив хрому при підвищенні його споживання поросятами на пероксидні процеси в більшості досліджуваних тканин і про значні органно-тканин-

ні різниці у ступені цього інгібування. Ці результати узгоджуються з наявними в літературі даними про інгібуючий вплив хрому на ПОЛ в організмі щурів [12] та людей [21].

Важливе значення в захисті тканин поросят від вільнорадикального пошкодження відіграє антиоксидантна система. Особливе положення в ній займає глутатіон, оскільки він приймає участь в утилізації пероксиду водню і органічних пероксидів, а також у кон'югації цитотоксичних карбонільних продуктів метаболізму [22].

Згідно результатів наших досліджень вміст ВГ зростає за дії хлориду хрому практично в усіх тканинах, за винятком мозку (рис. 4), проте вірогідна різниця спостерігається в скелетному м'язі (в 1,5 рази, $P < 0,05$), серці (в 2,1 рази, $P < 0,025$) і легенях (в 1,1 рази, $P < 0,01$). Отримані нами дані підтверджуються дослідженнями інших авторів, які встановили, що добавки CrCl_3 (250 мг/кг маси тіла) підвищують вміст ВГ в легенях щурів з гіперліпідемією [23].

Відомо, що вміст ВГ всередині клітин залежить від збалансованості швидкості таких протилежно спрямованих процесів, як його синтез *de novo* за участю γ -глутаміл-цистеїнсинтетази і виведення в по-

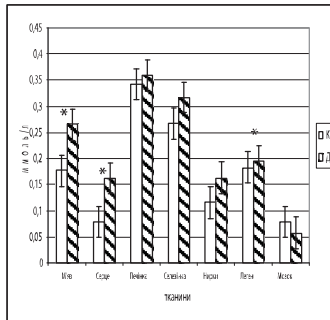


Рис. 4. Вміст відновленого глутатіону в тканинах поросят за дії хлориду хрому

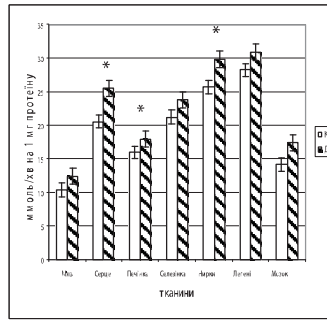


Рис. 5. Активність глутатіонпероксидази в тканинах поросят за дії хлориду хрому

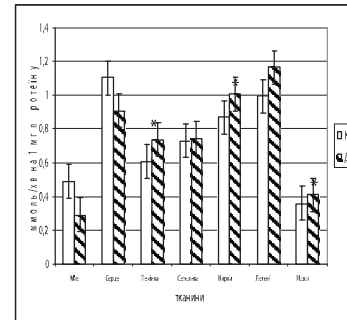


Рис. 6. Активність каталази в тканинах поросят за дії хлориду хрому

заклітинний простір, та регенерація за рахунок відновлення окисненого глутатіону і споживання для нейтралізації H_2O_2 і вторинних продуктів пероксидації [24].

Ензимом, що відновлює H_2O_2 до води, а органічні гідропероксиди — до гідросполук і перериває ланцюгові реакції внутрішньоклітинного переокиснення, є глутатіонпероксидаза. Нами виявлено тенденцію до підвищення активності ГП в усіх тканинах тварин дослідної групи (рис. 5). Вірогідне зростання активності ГП спостерігаємо в тканинах печінки (в 1,1 рази, $P<0,002$), нирок (в 1,2 рази, $P<0,025$) та серця (1,2 рази, $P<0,001$). Таке підвищення активності ензиму за дії хрому свідчить про швидку активацію ГП, спрямовану на елімінацію H_2O_2 , який легко проникає через плазматичну мембрану всередину клітини [25]. Проте тривала активація ензиму можлива лише за умов підтримання достатньо високого рівня внутрішньоклітинного ВГ, який виконує роль не лише субстрату реакцій, але й фактора, необхідного для постійного відновлення розміщених у каталітичному центрі ензиму селенольних груп, що окиснюються у процесі глутатіонпероксидазної реакції [26]. Окрім того, ГП може запобігати накопиченню вторинних продуктів пероксидації, але,

на відміну від глутатіонтрансферази, не може забезпечити подальшого знешкодження вже утворених органічних гідропероксидів.

Разом з іншими антиоксидантними ензимами в інактивації активних форм кисню, особливо пероксиду водню, бере участь каталаза, активність якої зростає в печінці (в 1,2 рази, $P<0,05$), нирках (в 1,2 рази, $P<0,01$) та мозку (в 1,1 рази, $P<0,01$) поросят дослідної групи (рис. 6). Таке зростання активності ензиму, очевидно, зумовлене збільшенням транскрипції гену, який відповідає за його синтез [27].

У той же час, незначне зниження активності каталази спостерігали в скелетному та серцевому м'язах дослідних тварин (рис. 6). Очевидно це зумовлено компенсаторною реакцією організму в зв'язку з інтенсивною метаболічною активністю в цих тканинах ензимів глутатіонової системи, а також незначним накопиченням хрому в м'язових тканинах.

Висновки

За умов додаткового введення до раціону 1–3-місячних поросят хлориду хрому в дозі $250 \text{ мкг } Cr^{3+}/\text{кг}$ комбікорму збільшується кількість хрому в паренхіматозних тканинах — печінці, нирках і селезінці. За дії хрому вміст гідропероксидів та ТБК-активних продуктів ПОЛ



зменшується, а відновленого глутатіону — збільшується в усіх тканинах, окрім мозку. У той же час, активність ензимів АОС — глутатіонпероксидази та каталази — (крім скелетного і серцевого м'язів) зростає в усіх тканинах. Отже, за дії хрому збільшується активність ензимів антиоксидантної системи та зменшується вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у їх тканинах, що зумовлює підвищення резистентності та адаптаційної здатності їх організму.

Успішне рішення проблеми вільнорадикального окиснювання в тканинах поросят за допомогою сполук хрому, дозволить розробити нові, ефективні методи ранньої діагностики, допоможе вести цілеспрямований, науково обґрунтований пошук оптимальних шляхів удосконалення способів профілактики захворювань і підвищення резистентності організму свиней.

У перспективі планується опрацювати дози хрому для раціону свиней різних вікових категорій та фізіологічних періодів.

Література

1. Lindeman M.D. Organic Chromium - the missing link in farm animal nutrition? // *Feeding Times*. — 1996. — **1**. — P. 8–16.
2. Pechova A., Pavlata L. Chromium as an essential nutrient: a review // *Vet. Med.* — 2007. — **52** (1). — P. 1–18.
3. Davis C.M., Vincent J.B. Chromium oligopeptide activates insulin receptor tyro-sine kinase activity // *Biochemistry*. — 1997. — **36**. — P. 4382–4385.
4. Anderson R.A. Stress effects on chromium nutrition of humans and farm animals / In: *Biotechnology in the Feed Industry* (Lyons, TP & Jacques, KA, eds.) / University Press, Nottingham, UK, 1994. — P. 267–274.
5. Sahin K., Kucuk O., Sahin N. Effects of dietary chromium picolinate supplementation on performance, insulin and corticosterone in laying hens under low ambient temperature // *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* — 2001. — **85**. — P. 142–147.
6. Pechova A., Pavlata L., Illek J. Metabolic effects of chromium administration to dairy cows in the period of stress // *Czech. J. Animal. Sci.* — 2002. — **47**. — P. 1–7.
7. Antioxidant effects of chromium supplementation with type 2 diabetes mellitus and euglycemic subjects / Cheng H.H., Lai M.H., Hou W.C., Huang C.L. // *J. Agric. Food Chem.* — 2004. — **52**. — P. 1385–1389.
8. Comparing metabolic effects of six different commercial trivalent chromium compounds / G.H. Preuss, B. Echard, V.N. Perricone et al // *Journal of Inorganic Biochemistry*. — 2008. — **102**. — P. 1986–1990.
9. Vincent J.B. The Nutritional Biochemistry of Chromium (III) - Department of Chemistry The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 2007. — 277 p.
10. Chromium (III) induces oxidative stress in goldfish liver and kidney / O.V. Lushchak, O.I. Kubraka, O.V. Lozinskaya et al. // *Aquatic Toxicology*. — 2009. — **93**. — P. 45–52.
11. Comparative effects of chromium, vanadium and gymnema sylvestre on sugar-induced blood pressure elevations in SHR / H.G. Preuss, S.T. Jarrell, R. Scheck-enbach et al // *J. Am. Coll. Nutr.* — 1998. — **17**. — P. 116–123.
12. Effects of chromium in lipid peroxidation in isolated hepatocytes / S. Ueno, N. Susa, Y. Furukawa et al // *Jpn J Sci.* — 1998. — **50**. — P. 45–52.
13. Jain S.K., Kannan K. Chromium Chloride Inhibits Oxidative Stress and TNF- α Secretion Caused by Exposure to High Glucose in Cultured U937 Monocytes // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. — 2001. — **289**. — P. 687–691.
14. Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсических продуктов: ГОСТ 30178-96. - [Введ. 1998-01-01]. — Минск: Межгосударственный стандарт, 2003. — 11с.
15. А.с. 1084681 СССР, МКИ G № 33/48. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / В. В. Мирончик (СССР). № 3468369/2813; заявл. 08.07.82; опубл. 07.04.84, бюл. № 13.



16. Коробейникова Э.Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК // Лабор. дело. — 1989. — № 7. — С. 8–10.
17. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глута-тионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. — 1986. — №12. — С. 724–727.
18. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лабор. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–18.
19. Hissin P.J., Hilf R.A. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // Analytical Biochem. — 1976. — **74**. — P. 214–226.
20. Янович В.Г., Лагодюк П.З. Обмен липидов у животных в онтогенезе. — М.: Агропромиздат, 1991. — 317 с.
21. Guerrero-Romero F., Rodr'guez-Mora M. Complementary therapies for diabetes: the case for chromium, magnesium, and antioxidants // Archives of Medical Research. — 2005. — **36**. — P. 250–257.
22. Швец В.Н., Давыдов В.В. Возрастные особенности изменений в системе глутатиона в сердце крыс при иммобилизационном стрессе // Укр. біохім. журн. — 2008. — **80**, № 6. — С. 74–78.
23. Yanardag R., Peksel A., Yesilyaprak B. Effects of a combination of niacin and chromium(III)-chloride on the skin and lungs of hyperlipemic rats // Biological Trace Element Research. — 2005. — **103**, №3. — P. 249–260.
24. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Обмен глутатиона // Успехи биол. химии. — 1990. — **31**. — С.157–179.
25. Коваль Т.В., Назарова О.О., Матишевська О.П. Зміна вмісту глутатіону в тимocyтах щурів за індукції апоптозу під впливом H_2O_2 або радіації // Укр. біохім. журн. — 2008. — **80**, № 2. — С. 114–119.
26. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатионпероксидазы // Усп. совр. биол. — 1993. — **113**. — С. 107–121.
27. Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants / L.A. Tartaglia, G. Storz, S.B. Farr, B. Ames — NY: Academic Press Ltd, 1991. — P. 155–169.

АННОТАЦІЯ

Іскра Р.Я., Влізло В.В. Состояние системы антиоксидантной защиты в тканях поросят при действии хрома (III) // Биоресурсы и природопользование. — 2012. — 4, № 3–4. — С. 72–77.

Приведены данные о влиянии хрома в дозе 250 мкг / кг, при потреблении его с комбикормом в виде $CrCl_3 \times 6H_2O$, на интенсивность перекисных процессов и активность антиоксидантных ферментов в тканях поросят. Установлено, что при условиях введения в рацион поросят хрома, увеличивается накопление элемента в паренхиматозных тканях — печени, почках и селезенке. Во всех тканях, кроме мозга, при действии хрома уменьшается содержание гидроперекисей липидов и ТБК-активных продуктов перекисного окисления липидов и увеличивается содержание восстановленного глутатиона. Активность ферментов антиоксидантной системы — глутатионпероксидазы и каталазы (кроме скелетной и сердечной мышцы) возрастает во всех тканях.

SUMMARY

R. Iskra, V. Vlizlo. Antioxidant defence state in pigs' tissues at chromium (III) action // Biological Resources and Nature Management. — 2012. — 4, № 3–4. — P. 72–77.

Data on chromium influence in dose 250 mcg/kg at its consumption with mixed fodder as $CrCl_3 \times 6H_2O$, on lipid peroxidation processes and antioxidant enzymes activity in pigs' tissues are presented. It was determined that at introduction of chromium into the pigs' ration the accumulation of element increases in parenchymatose tissues — liver, kidneys, spleen. In all tissues, except brain, at chromium action lipid hydroperoxides content and TBC-active products decreases, reduced glutathione content increases. Enzymatic activity of antioxidant system — glutathioneperoxidase and catalase (except skeletal and heart muscle) increases in all tissues.