

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ, БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ТА МОРФОЛОГІЧНІ СПОСОБИ ПІДВИЩЕННЯ ПРОДУКТИВНОСТІ ТВАРИН

PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL AND BIOTECHNOLOGICAL WAYS OF ANIMAL PRODUCTIVITY INCREASING

УДК 577.121.2:599.323.4

Антоняк Г.Л.¹, Жиліщич Ю.В.², Панас Н.Є.²©

¹Львівський національний університет імені Івана Франка,

²Львівський національний аграрний університет

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ЕРИТРОЦИТАХ ТВАРИН ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ

Досліджували вплив хлориду кадмію (за умов введення в дозі 3 мг/кг впродовж 21 доби) на стан антиоксидантної системи в еритроцитах кролів. Установлено, що водночас із збільшенням вмісту ТБК-активних продуктів активність ферментів-антиоксидантів змінюється неоднозначно. На 14-ту добу введення CdCl₂ супероксиддисмутазна активність пригнічується, а каталазна і глутатіонпероксидазна – зростає. Наприкінці експерименту відбувається нормалізація активності супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази.

Ключові слова: кадмій, пероксидне окиснення ліпідів, супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, каталаза

Вступ. У зв'язку з погіршенням екологічної ситуації за умов сьогодення організм людини і тварин постійно зазнає впливу шкідливих речовин техногенного походження. Особливу небезпеку для організму становлять сполуки важких металів, здатні спричинити різноманітні токсичні ефекти, а також процеси канцерогенезу [6, 9]. Одним з найшкідливіших важких металів є кадмій у зв'язку з його високою здатністю до акумуляції в клітинах тканин [8, 9]. Органами-мішенями цього металу є нирки, печінка, статеві залози, легені,

кістки, селезінка, де катіони кадмію нагромаджуються у складі комплексів із металозв'язувальним білком металотіонеїном [5]. За умов надходження кадмію в організмі тварин і людини активуються процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), що призводить до посиленого витрачання антиоксидантів у відповідь на утворення вільних радикалів [7]. Важливим є те, що сполуки кадмію належать до так званих „тіолових отрут“, які блокують сульфгідрильні групи білків і цим пригнічують їхні антиоксидантні властивості.

Активуючий вплив Кадмію на процеси пероксидного окиснення ліпідів виявляють в клітинах низки органів і тканин (гепатоцити, клітини мозку, статеві клітини, еритроцити) [7, 8]. Тому актуальною проблемою є дослідження функціонального стану антиоксидантної системи в організмі тварин за умов тривалого впливу катіонів цього важкого металу.

Матеріали і Методи. Експерименти проводили на кролях тримісячного віку, яких утримували за умов віварію. В дослідженнях використовували дві групи тварин – контрольну (К) і дослідну (Д), по 5 особин кожна. Тваринам дослідної групи внутрішньо шлунково вводили розчин $CdCl_2$ в дозі 3 мг/кг маси щодоби впродовж 21 доби. Щурам контрольної групи вводили фізіологічний розчин в такому ж самому об'ємі. Матеріалом досліджень була кров кролів контрольної і дослідної груп, яку отримували з вушної вени після 14 і 21 доби введення токсиканта. З гепаринізованої крові отримували еритроцити центрифугуванням на рефрижераторній центрифугі при 2500 g впродовж 15 хв. Плазму відбирали, а клітини трикратно промивали фізіологічним розчином (0,85% NaCl) з наступним центрифугуванням при 3000 g впродовж 5 хв. Гемолізати отримували трикратним заморожуванням і відтаюванням водних суспензій еритроцитів.

У гемолізатах визначали активність ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, каталаза) і вміст продуктів, які реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти) за допомогою загальноприйнятих методик [2-4]. Активність ферментів обчислювали, здійснюючи перерахунок на 1мг білка. Вміст білка в гемолізатах визначали за методом Лоурі і співавторів (1951). Отримані результати опрацьовували статистично за допомогою комп'ютерної програми.

Результати і обговорення. Як відомо, вплив на організм важких металів, у тому числі кадмію, належить до стресових чинників, які сприяють інтенсифікації процесів утворення активних форм кисню (АФО) та збільшенню вмісту продуктів ПОЛ у клітинах тканин і плазмі крові. У зв'язку з цим еритроцити є особливо вразливими до дії оксидативного стресу, зумовленого тривалим надходженням токсичних металів в організм тварин. Метаболічні зміни, що виникають у цих клітинах під впливом стресових чинників, можуть призводити до порушення структури плазматичних мембран та інших шкідливих ефектів, зменшуючи здатність еритроцитів до транспорту молекул O_2 [1].

У процесі досліджень встановлено, що за умов тривалого введення $CdCl_2$ в еритроцитах тварин нагромаджуються продукти ПОЛ, які реагують з

тіобарбітуровою кислотою (рис.1). Потрібно зазначити, що на 14-ту добу експерименту зміни цього показника виразніші, ніж на 21-шу добу. На вказаних стадіях досліджень вміст ТБК-активних продуктів збільшується, відповідно, в 1,41 ($p<0,01$) і 1,25 ($p<0,05$) рази порівняно з контролем.

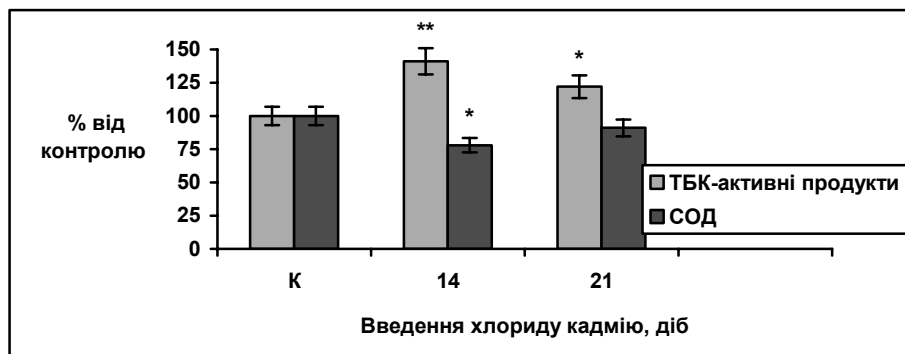


Рис. 1. Динаміка вмісту ТБК-активних продуктів і активності супероксиддисмутази в еритроцитах кролів, яким вводили $CdCl_2$

Примітка: *, ** - вірогідність різниць між контрольною і дослідними групами тварин (* - $p<0,05$, ** - $p<0,01$).

За таких умов надзвичайно важливе значення має функціональна активність антиоксидантної системи, компоненти якої захищають еритроцити від дії реакційно активних форм кисню і продуктів ПОЛ [10]. Результати досліджень вказують на неоднозначну відповідь ферментів антиоксидантної системи еритроцитів на надходження в організм тварин Cd^{2+} . Установлено, що супероксиддисмутазна (СОД) активність еритроцитів зменшується у тварин дослідної групи після 14-ти діб введення $CdCl_2$ ($p<0,05$) і нормалізується наприкінці експерименту (рис. 1). Характерна для еритроцитів динаміка СОД на початковій стадії досліджень може зумовлюватись нагромадженням у клітинах продуктів ПОЛ, які пригнічують активність ферменту.

Продукт супероксиддисмутазної реакції – гідроген пероксид – надалі метаболізується за участю ферментів каталази і глутатіонпероксидази (ГП), спорідненість яких до H_2O_2 неоднакова. Отримані результати свідчать, що каталазна активність в еритроцитах щурів дослідної групи значно зростає на обох стадіях експерименту (рис. 2). Після 14 діб введення $CdCl_2$ активність ферменту збільшується в 3,8 рази, а після 21 доби – втричі ($p<0,001$).

Що стосується глутатіонпероксидази, то, як свідчать отримані результати, у тварин дослідної групи ферментна активність в еритроцитах зростає в 3,3 рази після 14 діб введення $CdCl_2$ ($p<0,001$), а наприкінці експерименту – нормалізується (рис. 2).

Отримані результати вказують на неоднакову роль ферментів антиоксидантної системи в знешкодженні АФО в еритроцитах тварин, отруєних тривалим введенням хлориду кадмію. Вірогідно, що на початковій стадії експерименту захист клітин забезпечується активацією і каталази, яка сприяє детоксикації H_2O_2 , і глутатіонпероксидази, яка метаболізує, головним чином,

гідропероксида ліпідів [10]. На завершальній стадії експерименту основну роль у захисті еритроцитів від дії оксидативного стресу, зумовленого тривалим надходженням Cd^{2+} , відіграє функціональна активність каталази.

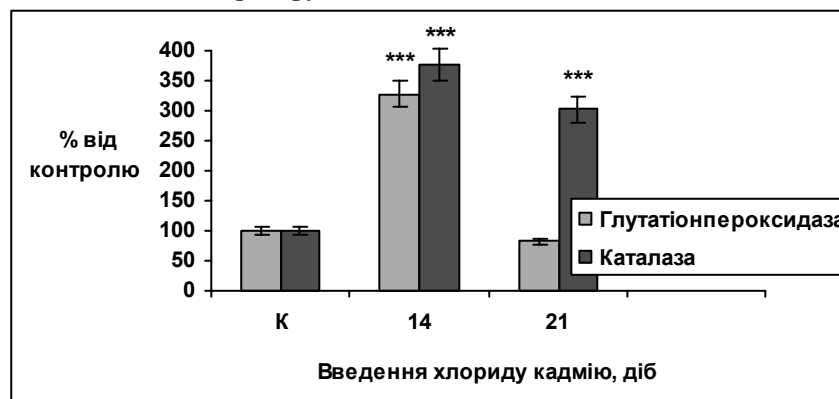


Рис. 2. Динаміка активності глутатіонпероксидази і каталази в еритроцитах кролів, яким вводили CdCl_2

Примітка: *** - вірогідність різниць між контрольною і дослідною групами тварин ($p < 0,001$).

Висновки. За умов тривалого введення (впродовж 21 доби) хлориду кадмію в еритроцитах кролів зростає інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів, що проявляється в збільшенні вмісту ТБК-активних продуктів упродовж усього періоду експерименту. За таких умов активність ферментів антиоксидантної системи в еритроцитах тварин змінюється по-різному. На 14-ту добу введення CdCl_2 супероксиддисмутазна активність пригнічується, а глутатіонпероксидазна і каталазна – зростає. На завершальній стадії досліджень активність каталази залишається на підвищеному рівні, а СОД і глутатіонпероксидазна активність нормалізується.

Література

1. Антоняк Г.Л. Особливості гемопоезу у тварин на ранніх стадіях постнатального розвитку. Автореф. дис.. д-ра біол. наук: Львів, 2002. 29 с.
2. Дубинина Е.Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е.Е. Дубинина, Л.А. Сальникова, Л.Ф. Ефимова // Лаб. дело. – 1983. – № 10. – С. 30-33.
3. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В.М. Моин // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 724-727.
4. Орехович В.Н. Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – 391 с.
5. He L. Discovery of ZIP transporters that participate in cadmium damage to testis and kidney / L. He, B. Wang, E.B. Nay, D.W. Nebert // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2009. – Vol. 238, N 3. – P. 250-257.

6. He Z.L. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment / Z.L. He, X.E. Yang, P.J. Stoffella // J. Trace Elem. Med. Biol. – 2005. – Vol. 19, N 2-3. – P. 125-140.
7. Li K.G. Intracellular oxidative stress and cadmium ions release induce cytotoxicity of unmodified cadmium sulfide quantum dots / K.G. Li, J.T. Chen, S.S. Bai et al. // Toxicol. In Vitro. – 2009. – Vol. 23, N 6. – P. 1007-1013.
8. Liu J. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis / J. Liu, W. Qu, M.B. Kadiiska // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2009. – Vol. 238, N 3. – P. 209-214.
9. 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.
10. Valko M. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease / M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M.T. Cronin, M. Mazur, J. Telser // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2007. – Vol. 39, N 1. – P. 44-84.

Summary

H.L. Antonyak¹, J.V. Zhylishchych², N.E. Panas²

¹Lviv Ivan Franko National University, ²Lviv National Agrarian University

FUNCTIONAL STATE OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM IN ERYTHROCYTES OF ANIMALS UNDER PROLONGED TREATMENT WITH CADMIUM CHLORIDE

The effect of cadmium chloride (3 mg/kg during 21 days) on functional state of antioxidant system in erythrocytes of rabbits were studied. While the TBA-active products increased, antioxidant enzyme activities changes diversely. On the 14th day of CdCl₂ administration superoxide dismutase activity was inhibited, and catalase and glutathione peroxidase activities were increased. At the end of experiment SOD and glutathione peroxidase activities were normalized.

Key words: cadmium, lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase.

Стаття надійшла до редакції 12.09.2010