

## ФІЗІОЛОГІЯ ТВАРИН І ЛЮДИНИ

УДК 591.133.13:577.122:546.76

**Р.Я. Іскра**

Інститут біології тварин НААН,  
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034

### МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ В ОРГАНІЗМІ КРОЛИКІВ ЗА ДІЇ ХРОМ ХЛОРИДУ

*Кролики, хром хлорид, антиоксидантна система, глікоген, аміотрансферази.*

Тривалентний хром (Cr) – незамінний мікроелемент для життєдіяльності людини і тварин, необхідний для підтримання нормального рівня глюкози в крові, за що його було названо «фактором толерантності до глюкози» (GTF) [8]. Показано, що Cr відіграє важливу роль у зниженні рівня холестеролу і тригліцеролів у крові, інгібує розвиток окисного стресу та секрецію запальних цитокінів [2]. Він активує окремі ензими і стабілізує білки та нуклеїнові кислоти, сприяє росту і регенерації тканин, підвищує імунітет [10]. За додавання Cr до раціону щурів збільшується вміст амінокислот у тканинах, а також посилюється їх включення в білки міокарда [6]. Cr є важливим регулятором процесів перекисного окиснення ліпідів та активності антиоксидантної системи в організмі. Проте, як елемент зі змінною валентністю, він може, за певних умов, як ініціювати пероксидні процеси [4], так і підвищувати активність антиоксидантної системи [7].

Проте, результати досліджень метаболічних ефектів хрому в кроликів є обмеженими [5, 9] і в більшості стосуються визначення вмісту хрому в тканинах і токсичності його сполук. Тому метою досліджень було встановити вплив різних доз хром хлориду на стан системи антиоксидантного захисту в крові, вуглеводний обмін і активність аміотрансфераз у печінці та скелетних м'язах кроликів.

#### Матеріал і методика досліджень

Дослідження проводили на самцях кроликів породи сірий велетень, які у 80-добовому віці були поділені на чотири групи (контрольну і три дослідних), по 4 тварини у кожній. Кроликам контрольної групи згодовували стандартний гранульований комбікорм К-92-1, вироблений за торговою маркою фірми «Мультигейн». Тварини дослідних груп з 90-добового віку отримували комбікорм з введенням у раціон добавки хрому у вигляді  $\text{CrCl}_3 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ : перша дослідна група – в кількості 50 мкг Cr/кг маси комбікорму, друга – в кількості 100 мкг Cr/кг маси комбікорму і третя – в кількості 150 мкг Cr/кг маси комбікорму. На 174 добу життя

## ФІЗІОЛОГІЯ ТВАРИН І ЛЮДИНИ

проводили забій кроликів з відбиранням крові та зразків тканин печінки і скелетних м'язів. За загальноприйнятими методиками визначали активність супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.1.15.1.), глутатіонпероксидази (ГП, КФ 1.11.1.9), каталази (КТ, КФ 1.11.1.6), глутатіонредуктази (ГР, КФ 1.6.4.2), лактатдегідрогенази (ЛДГ, КФ 1.1.1.27), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ, КФ 1.1.1.49), аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), вміст відновленого глутатіону, вітаміну Е, глікогену [1]. Одержані цифрові дані опрацьовували статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували t-критерій Стьюдента.

### Результати досліджень та їх обговорення

Біохімічний склад крові характеризує стан організму в цілому, саме з неї надходять до клітин багатьох тканин організму поживні речовини, а також життєво важливі мікроелементи, зокрема хром, який зумовлює зміну метаболічних процесів в організмі.

У дослідженнях виявлені зміни показників системи антиоксидантного захисту в крові кроликів після згодовування їм сполуки хром хлориду у різних кількостях (табл. 1). За впливу хром хлориду в кількості 50 мкг Cr /кг корму в крові виявлено зростання вмісту вітаміну Е на 11,3% ( $P<0,05$ ) та відновленого глутатіону на 41,2% ( $P<0,05$ ). За умов згодовування хром хлориду в кількості 100 мкг Cr /кг корму в крові кроликів зростала супероксиддисмутаза (на 15,5%,  $P<0,01$ ) і глутатіонредуктаза (на 44,3%,  $P<0,01$ ) активність. За дії хром хлориду в кількості 150 мкг Cr /кг корму в крові зростала супероксиддисмутаза (на 10,5%,  $P<0,05$ ), проте знижувалася глутатіонпероксидаза (на 24,2%,  $P<0,05$ ) активність. Підвищення активності ензимів антиоксидантного захисту в крові тварин першої і другої дослідних груп свідчить про позитивний антиоксидантний ефект сполуки хрому в кількостях 50- і 100 мкг Cr /кг. Однак, вірогідне зростання активності СОД та зниження ГП в крові тварин третьої дослідної групи може свідчити про можливе наростання прооксидантних процесів в крові кроликів за умов згодовування хром хлориду в кількості 150 мкг Cr /кг.

*Таблиця 1.*

Показники антиоксидантної системи в крові кроликів за дії різних доз хром хлориду ( $M\pm m$ ,  $n=4$ )

Показник	Група тварин			
	Контрольна	Дослідна-1	Дослідна-2	Дослідна-3
Супероксиддисмутаза, ум. од./мг протеїну	15,71±0,56	14,45±0,83	18,15±0,28**	17,36±0,35*
Глутатіонпероксидаза, мкмоль/хв х мг протеїну	44,22±2,59	42,18±0,74	41,02±0,24	33,53±2,78*
Глутатіонредуктаза, мкмоль/хв х мг протеїну	0,61±0,02	0,63±0,27	0,88±0,07**	0,62±0,15
Каталаза, ммоль/хв х мг протеїну	2,88±0,10	2,92±0,15	2,78±0,02	2,59±0,17
Відновлений глутатіон, ммоль/л	0,17±0,02	0,24±0,02*	0,19±0,03	0,21±0,02
Вітамін Е, мкг/мл	8,9±0,12	9,91±0,38*	9,19±0,67	9,08±0,34

*Примітка: у цій і наступних таблицях вірогідні різниці показників дослідних груп порівняно до контрольної: \* -  $p<0,05$ , \*\* -  $p<0,01$ , \*\*\* -  $p<0,001$ .*

## ФІЗІОЛОГІЯ ТВАРИН І ЛЮДИНИ

У результаті дослідження метаболічних процесів, які протікають у тканинах тварин дослідних груп, виявлено зростання вмісту глікогену у печінці за дії хром хлориду в кількості 100- і 150 мкг Cr /кг (табл. 2), відповідно на 9,8% ( $P<0,01$ ) і 8,8% ( $P<0,05$ ), проте зниження за дії хром хлориду в кількості 50 мкг Cr /кг на 9,3% ( $P<0,05$ ). Водночас у скелетних м'язах вміст глікогену зріс лише у тварин третьої дослідної групи на 11,9% ( $P<0,05$ ) порівняно з контролем (табл. 2).

Таблиця 2.

Вміст глікогену в тканинах кроликів за дії хром хлориду ( $M\pm m$ ,  $n=4$ )

Тканина	Група тварин			
	Контрольна	Дослідна-1	Дослідна-2	Дослідна-3
Печінка	967,5±23,51	877,5±14,36*	1062±9,16**	1052,25±21,26*
Скелетні м'язи	582,0±12,08	555,25±12,02	610,0±10,0	651,25±22,39*

Варто вказати, що фізіологічну концентрацію глюкози в крові підтримує глікоген печінки, що досягається регуляцією співвідношення між його синтезом і розпадом. Розпад глікогену до вільної глюкози відбувається у печінці завдяки наявності глюкозо-6-фосфатази, яка відсутня в м'язах. Однак, надлишок глюкозо-6-фосфату, який не використаний на утворення глюкози крові і глікогену печінки, розщеплюється шляхом гліколізу або пентозофосфатного шляху. Це підтверджують отримані результати досліджень активності лактатдегідрогенази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в гомогенатах печінки (табл. 3). Відсутність змін активності ЛДГ в гомогенатах свідчить про нормальне протікання гліколізу в досліджуваній тканині та відсутність токсичних впливів на гепатоцити. Водночас зростання активності Г-6-ФДГ за дії хром хлориду в кількості 100 мкг Cr /кг свідчить про інтенсифікацію пентозофосфатного шляху у печінці, в якому синтезується НАДФН і пентози. НАДФН у подальшому використовується як донор гідрогену і електронів при відновлювальних біосинтезах, а пентози є компонентами АТФ, РНК і ДНК.

Таблиця 3.

Активність вуглеводних ензимів у печінці кроликів за дії хром хлориду ( $M\pm m$ ,  $n=4$ )

Показник	Група тварин			
	Контроль	Дослідна-1	Дослідна-2	Дослідна-3
Лактатдегідрогеназа, мкмоль/хв х мг протеїну	0,94±0,06	1,08±0,14	0,73±0,12	1,07±0,13
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, мкмоль /хв х мг протеїну	1,63±0,15	2,05±0,20	3,35±0,26**	2,68±0,67

Важливим біохімічним тестом для оцінки стану паренхіматозних органів, зокрема печінки, є активність амінотрансфераз у крові тварин. Різне підвищення активності цих ензимів може спостерігатися при токсичних станах організму, внаслідок посиленого вивільнення амінотрансфераз у кров'яне русло з поражених гепатоцитів. У наших експериментах не виявлено вірогідних змін активності амінотрансфераз у крові кроликів за дії хром хлориду, що свідчить про відсутність токсичного впливу сполуки у досліджуваних концентраціях (табл. 4).

Активність амінотрансфераз у кроликів за дії різних доз хром хлориду ( $M \pm m$ ,  $n=4$ )

Тканина	Показник	Група тварин			
		Контрольна	Дослідна-1	Дослідна-2	Дослідна-3
Кров	АлАТ	0,351±0,084	0,370±0,060	0,359±0,078	0,344±0,094
	АсАТ	0,213±0,069	0,221±0,037	0,199±0,057	0,207±0,073
Печінка	АлАТ	0,204±0,010	0,193±0,067	0,145±0,018*	0,134±0,021*
	АсАТ	1,835±0,059	1,887±0,059	1,733±0,075	1,920±0,056
М'язи	АлАТ	0,170±0,012	0,150±0,005	0,129±0,005*	0,127±0,008*
	АсАТ	1,932±0,035	1,820±0,015*	1,803±0,035*	1,797±0,027*

Проте, у печінці та м'язах тварин виявлено вірогідне зниження активності АлАТ за дії хром хлориду в кількостях 100- і 150 мкг/кг. Так, у печінці тварин другої дослідної групи активність ензиму знижується на 28,9% ( $P < 0,05$ ), а третьої – на 34,3% ( $P < 0,05$ ). У скелетних м'язах активність АлАТ знижується у тварин другої дослідної групи на 24,1% ( $P < 0,05$ ), а третьої – на 25,3% ( $P < 0,05$ ). Зниження активності АлАТ у тканинах свідчить про пригнічення процесів переамінування аланіну у цих тканинах за дії сполуки хрому. Це може призводити до пригнічення утворення глутамату, який є одним з основних елементів системи знешкодження токсичного для організму аміаку. Крім цього відомо, що АлАТ може використовуватися в якості маркера пошкодження тканини печінки або гепатотоксичності у людей і тварин, а також біо-маркера адаптивних реакцій [3]. Тому, зниження активності АлАТ у тканинах могло б свідчити про руйнування клітин та вихід молекул ензиму в кров. Однак, активність АлАТ у крові тварин дослідних груп вірогідно не змінювалася, що вказує на відсутність токсичного впливу хром хлориду на організм кроликів і потребує додаткових досліджень для з'ясування механізмів такого впливу.

Дослідження АсАТ – ключового ензиму обміну речовин, який забезпечує надходження субстратів в цикл трикарбонових кислот, займаючи «центрально» роль у метаболізмі, свідчать про певний вплив Cr на перебіг цих процесів. Виявлено зменшення активності АсАТ у скелетних м'язах тварин на 5,8% ( $P < 0,05$ ) – у першій, на 6,7% ( $P < 0,05$ ) – у другій і на 7,0% ( $P < 0,05$ ) – у третій дослідних групах (табл. 4). Це можна пояснити тим, що під дією іонів хрому відбувається посилення синтезу білків у м'язах, що зменшує вміст вільних амінокислот – «субстрату» для трансамінування. Крім цього, зниження активності амінотрансфераз за дії хрому може відбуватися за рахунок зменшення кількості молекул ензиму під час гальмування його синтезу на рівні як транскрипції, так і трансляції, а також може змінюватися швидкість його розщеплення. Також хром може істотно знизити активність ензимних молекул шляхом інгібуючої дії на функцію активного центру ензиму – піридоксаль 5'-фосфату.

### Висновки

1. Отримані результати досліджень свідчать про позитивний антиоксидантний ефект хром хлориду в кількостях 50- і 100 мкг Cr /кг, про що свідчить підвищення вмісту відновленого глутатіону ( $P < 0,05$ ) і вітаміну Е ( $P < 0,05$ ) в крові тварин першої дослідної групи та активності супероксиддисмутази ( $P < 0,01$ ) і глутатіонредуктази ( $P < 0,01$ ) у крові тварин другої дослідної групи. Однак, згодовування хром хлориду в кількості 150 мкг Cr /кг призводить до зростання активності СОД ( $P < 0,05$ ) та зниження ГП ( $P < 0,05$ ) в крові, що може свідчити про незначне наростання прооксидантних процесів в організмі кроликів третьої дослідної групи.

2. За дії хром хлориду в кількості 100- і 150 мкг Сг /кг виявлено зростання вмісту глікогену у печінці ( $P<0,01-0,05$ ) та зниження його рівня за дії хром хлориду в кількості 50 мкг Сг /кг ( $P<0,05$ ). У скелетних м'язах вміст глікогену зростає лише у тварин третьої дослідної групи ( $P<0,05$ ) стосовно контролю. За дії хром хлориду в кількості 100 мкг Сг /кг зростає активність Г-6-ФДГ ( $P<0,01$ ) у печінці тварин, що свідчить про інтенсифікацію пентозофосфатного шляху.

3. У печінці та м'язах тварин виявлено зниження активності АлАТ ( $P<0,05$ ) за дії хром хлориду в кількостях 100- і 150 мкг/кг, а АсАТ – у м'язах тварин усіх дослідних груп ( $P<0,05$ ). Проте зниження активності амінотрансфераз у тканинах не супроводжується змінами їх активності у крові, що свідчить про відсутність токсичного впливу хром хлориду у досліджуваних концентраціях.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Влізла В.В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Довідник / [В.В. Влізла, Р.С. Федорук, І.Б. Ратич та ін.]; за ред. В.В. Влізла. – Львів, 2012 – 764 с.
2. Jain S. K. High glucose and ketosis (acetoacetate) increases, and chromium niacinate decreases, IL-6, IL-8, and MCP-1 secretion and oxidative stress in U937 monocytes / S. K. Jain, J. L. Rains, J. L. Croad // *Antioxid Redox Signal.* – 2007. – V. 9. – P. 1581–1590.
3. Lindblom P. Isoforms of alanine aminotransferases in human tissues and serum-Differential tissue expression using novel antibodies / P. Lindblom, I. Rafter, C. Copley [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2007. – V. 466. – P.66–77.
4. Lushchak O. V. Trivalent chromium induces oxidative stress in goldfish brain / O. V. Lushchak, O. I. Kubrak, I. M. Torous // *Chemosphere.* – 2009. –V. 75. – P. 56–62.
5. Moersen T. J. Relation of dietary carbohydrate to lipid metabolism and the status of zinc and chromium in rabbits / T. J. Moersen, R. F. Borgman // *Am. J. Vet. Res.* – 1984. – 45. – P. 1238–1241.
6. Roginski E. F. Effects of chromium (III) supplementation on glucose and amino acid metabolism in rats fed a low protein diet / E. F. Roginski, W. Mertz // *Journal of Nutrition.* – 1969. – V.97. – P. 525–530.
7. Sahin K. Effects of chromium and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites, and antioxidant status of broiler chickens reared at a high ambient temperature. / K. Sahin, N. Sahin, O. Kucuka // *Nutr. Res.* – 2003. – V. 23. – P. 225-238.
8. Schwarz K. Chromium (III) and the glucose tolerance factor / K. Schwarz, W. Mertz // *Arch Biochem Biophys.* – 1959. – V. 85. – P. 292–295.
9. Tandon S. K. Comparative toxicity of trivalent and hexavalent chromium / S. K.Tandon, D. K. Saxena, J. S. Gaur, S. A. Chandra // *Environ. Res.* – 1978. –V.15. – P.90–99.
10. Vincent J. B. The Nutritional Biochemistry of Chromium(III) / Vincent J. B. – Department of Chemistry The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 2007. – 280 p.

**Р.Я. Искра**

### МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ОРГАНИЗМЕ КРОЛИКОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ХЛОРИДА ХРОМА

В исследованиях установлен положительный антиоксидантный эффект хлорида хрома в количествах 50- и 100 мкг Сг/кг, о чем свидетельствует повышение содержания восстановленного глутатиона ( $P<0,05$ ) и витамина Е ( $P<0,05$ ) в крови животных первой опытной группы и активности супероксиддисмутазы ( $P<0,01$ ) и глутатионредуктазы

( $P < 0,01$ ) в крови животных второй опытной группы. Скармливание кроликам хлорида хрома в количестве 150 мкг Cr/kg приводит к нарастанию прооксидантных процессов в организме, о чем свидетельствует повышение активности СОД ( $P < 0,05$ ) и снижение ГП ( $P < 0,05$ ) в крови животных третьей опытной группы. Установлено повышение содержания гликогена в печени ( $P < 0,01-0,05$ ) при действии хлорида хрома в количествах 100 - и 150 мкг Cr/kg и скелетных мышцах – в дозе 150 мкг/kg ( $P < 0,05$ ). В печени и мышцах животных обнаружено снижение активности АлАТ ( $P < 0,05$ ) при действии хрома в количествах 100- и 150 мкг/kg и АсАТ ( $P < 0,05$ ) – в мышцах животных всех опытных групп. Однако снижение активности аминотрансфераз в тканях не сопровождается изменениями их активности в крови, что свидетельствует об отсутствии токсического влияния хлорида хрома в исследуемых концентрациях.

**R. Ja. Iskra**

### **THE METABOLISM IN RABBIT UNDER ACTION OF CHROME CHLORIDE**

The studies shown positive antioxidant effect of chromium chloride of 50- and 100  $\mu\text{g}$  Cr/kg, as evidenced by the increase in the content of reduced glutathione ( $P < 0.05$ ) and vitamin E ( $P < 0.05$ ) in the blood of animals of first research group and activity of superoxide dismutase ( $P < 0.01$ ) and glutathione reductase ( $P < 0.01$ ) in the blood of animals of second experimental group. Feeding chromium chloride in an amount of 150  $\mu\text{g}$  Cr/kg for lead to increase of prooxidant processes in the body, as evidenced by increased activity of SOD ( $P < 0.05$ ) and reduced GP ( $P < 0.05$ ) in the blood of animals of third experimental group. The increase of liver glycogen content ( $P < 0.01-0.05$ ) for quantities of chromium in the 100- and 150  $\mu\text{g}$  Cr/kg and skeletal muscles – at a dose of 150  $\mu\text{g}$  / kg ( $P < 0.05$ ) were shown. In the liver and muscles of the animals found probable decrease in ALT activity ( $P < 0.05$ ) for the action of chromium in amounts 100- and 150  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and AST ( $P < 0.05$ ) – in the muscles of animals of all experimental groups. However, the reduction of amino transferase activity in tissues is not accompanied by changes in their activation in the blood that indicates a lack of toxicity of chromium chloride in studied concentrations.

Надійшла 18.06.2012 р.