



УДК 636.92:661.875:678.048

## АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ОРГАНІЗМІ КРОЛИКА ЗА ДІЇ СПОЛУК ХРОМУ

**Р. Я. Іскра**

*Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса, 38, Львів 79034, Україна  
e-mail: iskra\_r@ukr.net*

Досліджували вплив наночастинок Хром цитрату в дозі 3,0 мкг  $\text{Cr}^{3+}$ /кг маси тіла та Хром хлориду в дозі 4,0 мкг  $\text{Cr}^{3+}$ /кг маси тіла, які випоювали кроликам, на вміст вітаміну Е і відновленого глутатіону та на активність ензимів антиоксидантної системи у крові і тканинах печінки, легені, нирки та м'язів. Встановлено, що за дії цих сполук Хрому в крові кроликів підвищується вміст вітаміну Е та зростає активність глутатіонредуктази. За дії наночастинок Хром цитрату в печінці підвищується вміст відновленого глутатіону та зростає активність глутатіонредуктази, а в легені – активність глутатіонпероксидази і каталази. За дії Хром хлориду зростає активність супероксиддисмутази і глутатіонредуктази в усіх тканинах, а зростання активності каталази відбувається в легені та нирці. Вміст гідроперекисів ліпідів у тканинах знижується за дії наночастинок Хром цитрату, ТБК-активних продуктів – за дії Хром хлориду.

**Ключові слова:** Хром, кров, тканина, гідроперекис ліпідів, ТБК-активний продукт, супероксиддисмутаза, каталаза, система глутатіону.

### ВСТУП

Хром ( $\text{Cr}^{3+}$ ) – незамінний мікроелемент для життєдіяльності людини і тварин, необхідний для підтримання нормального рівня глюкози у крові, за що його було названо „фактором толерантності до глюкози,“ (GTF) [26]. Показано, що  $\text{Cr}^{3+}$  відіграє важливу роль у зниженні рівня холестеролу і тригліцеролів у крові, інгібує розвиток окисного стресу та секрецію запальних цитокінів [19].

Хром є важливим регулятором процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і активності антиоксидантної системи в організмі. Крім цього, як елемент зі змінною валентністю, він може за певних умов як ініціювати пероксидні процеси [20], так і підвищувати активність антиоксидантної системи [24]. Подвійна дія  $\text{Cr}^{3+}$  як антиоксиданта і прооксиданта може бути обґрунтована його здатністю брати участь в окисно-відновних реакціях [28]. Реакції сполук Хрому з перекисами ліпідів, імовірно, забезпечують здатність знижувати рівень перекисного окиснення ліпідів [28]. Разом з тим, є дані, що добавки Хрому викликають більше зниження інтенсивності ПОЛ у крові пацієнтів із високим рівнем глюкози, ніж у пацієнтів, які мають низький її вміст [16].

Біодоступність Хрому залежить від сполук, у яких він міститься у природному середовищі. У дослідженні з використанням радіоактивного  $^{51}\text{Cr}$  виявлено, що

неорганічні сполуки Хрому у вигляді хлоридів гірше засвоюються в організмі, ніж його органічні сполуки, такі як Хром нікотинат чи піколінат [22].

Обґрунтування використання Хрому у вигляді наночастинок у біології, медицині й тваринництві є новим, перспективним науковим напрямом. Завдяки наногідратній оболонці наночастинок Хрому мають можливість легко проникати крізь мембрани клітин і виходити з них, що створює умови для їхньої високої фізіологічної активності в організмі [14]. Використання їх у вигляді такої органічної сполуки як цитрат, що є природним метаболітом в організмі ссавців, знімає проблему ризику застосування високо реакційноспроможних і важко контрольованих наночастинок.

Проведені нами експериментальні дослідження на щурах [6] і свинях [5] із застосуванням наночастинок Хром цитрату підтвердили широкий спектр біологічного впливу цієї сполуки у тварин. Вивчення впливу наночастинок Хрому на метаболічні показники кролика проведено вперше. Враховуючи можливі відмінності впливу різних сполук хрому на організм кролика, метою цього дослідження було порівняти стан системи антиоксидантного захисту в організмі кролика за умов впоювання розчинів наночастинок Хром цитрату і Хром хлориду.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження було проведене в 2011 році на 12 кроликах породи сірий велетень, масою 3,0–3,2 кг, у кролівничому господарстві с. Демня Миколаївського району Львівської області, на трьох групах: контрольній і двох дослідних, по 4 тварини у кожній. Кроликам згодовували стандартний гранульований комбікорм К-92-1 (основний раціон, виробник фірма „Мультігейн”). Тваринам дослідних груп впоювали з 80-ї доби життя розчини: першій – наночастинок Хром цитрату ( $C_6H_5O_7Cr$ ), в дозі 3,0 мкг  $Cr^{3+}$ /кг маси тіла, другій – Хром хлориду ( $CrCl_3 \times 6 H_2O$ ), в дозі 4,0 мкг  $Cr^{3+}$ /кг маси тіла. Колоїдний розчин наночастинок Хром цитрату був одержаний ТОВ „Наноматеріали і нанотехнології” методом ерозійно-вибухової технології [13]. Тривалість досліду 63 доби, у т. ч. підготовчий період 10 діб, дослідний – 53 доби. Після закінчення досліду тварин усіх груп піддавали анестезії та декапітували із дотриманням положень „Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики. У крові та гомогенатах тканин визначали вміст вітаміну Е, відновленого глутатіону, активність антиоксидантних ферментів – каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, вміст гідроперекисів і ТБК-активних продуктів ПОЛ.

Вміст вітаміну Е у крові тварин визначали за допомогою вискоефективної рідинної хроматографії на хроматографі „Міліхром-4” („Научприбор”, Росія) [12]. Для цього у пробірки вносили по 0,5 мл плазми і таку ж кількість 1 н розчину КОН з метою омилення цієї суміші на водяній бані за 60°C протягом 60 хв під струменем азоту. Після цього проби охолоджували і екстрагували три рази, додаючи 1 мл гексану („Макрохім”, Україна) в кожну пробу. До одержаного екстракту додавали 1,5 мл дистильованої води і відстоювали 1 год для розшарування фаз. Із верхньої гексанової фази відбирали 2 мл екстракту і висушували на водяній бані при 40°C до сухого залишку. Для проведення хроматографічного аналізу у пробірки зі сухим залишком наливали 1 мл гексану. Цей гексановий розчин використовували для подальшого визначення вітаміну Е на „Міліхромі-4”. Вміст вітаміну оцінювали прямо пропорційно площі піку з максимумом поглинання при  $\lambda = 292$  нм. Концентрацію вітаміну Е визначали за калібрувальним графіком і виражали в мкг на 1 мл.

Вміст гідроперекисів ліпідів у гомогенаті тканини визначали за методом [1], згідно з яким до 0,2 мл гомогенату тканини додавали 2,8 мл етанолу та 0,05 мл 50%-ного розчину трихлороцтової кислоти (ТХО) і струшували протягом 5 хв. Відбирали 1,5 мл надосадової рідини і до неї додавали 1,2 мл етанолу, 0,02 мл концентрованої HCl, 0,03 мл 1%-ного розчину солі Мора в 3%-ному розчині HCl, струшували і через 30 с додавали 0,2 мл 20%-ного розчину тіоціанату амонію („Хімлаборреактив”, Україна). Абсорбцію вимірювали при  $\lambda = 480$  нм. Вміст гідроперекисів ліпідів визначали за різницею між дослідним зразком і контролем, у який замість гомогенату тканини додавали відповідну кількість бідистильованої води. Концентрацію гідроперекисів ліпідів виражали в умовних одиницях на 1 г тканини.

Концентрацію ТБК-активних продуктів у гомогенатах тканин визначали, як описано Є. Н. Коробейниковою [9]. Для осадження протеїнів до 1 мл гомогенату тканини додавали 4,5 мл 20%-ної фосфорновольфрамової кислоти („Макрохім”, Україна) і проби центрифугували. Надосадову рідину усували, а до осаду додавали 1,0 мл 0,8%-ного розчину ТБК і витримували протягом 1 год на водяній бані при температурі 100°C. Після цього пробірки охолоджували і центрифугували. В одержаній надосадовій рідині вимірювали абсорбцію при 535 і 580 нм проти контрольної проби, яка замість гомогенату тканин містила бідистильовану воду. Дворазове вимірювання абсорбції дає змогу виключити поглинання забарвлених комплексів ТБК речовинами неліпідної природи. Вміст ТБК-активних продуктів розраховували за рівняння регресії:  $S = 0,21 + 26,5\Delta D$ , де S – концентрація ТБК-активних продуктів,  $\Delta D$  – показник  $D_{535} - D_{580}$  в надосадовій рідині. Концентрацію ТБК-активних продуктів у зразку виражали в нмоль МДА на грам тканини, використовуючи коефіцієнт молярного поглинання, який дорівнює  $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

Активність супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.1.15.1.) визначали, як описано Є.Є. Дубініною [4]. До 0,2 мл гомогенату тканини (лізату еритроцитів) додавали 0,5 мл етанолу і 0,3 мл хлороформу, інтенсивно перемішували та центрифугували протягом 15 хв при 7000 об/хв. Далі до 0,1 мл надосадової рідини додавали 0,1 мл 1 мкМ ЕДТА („Reanal”, Угорщина), 0,1 мл 1%-ного желатину („Макрохім”, Україна), 0,1 мл 1,8 мкМ розчину феназинметасульфату („Acros Organics”, Бельгія), 0,1 мл 0,4 мкМ нітротетразолію синього („Acros Organics”, Бельгія) і 0,1 мл 1,0 мМ НАДН („Acros Organics”, Бельгія). Загальний об'єм суміші доводили 0,15 М фосфатним буфером (рН 7,8) до 3,0 мл та інкубували при кімнатній температурі у темному місці впродовж 30 хв, після чого вимірювали абсорбцію при  $\lambda = 540$  нм. У контрольній зразок замість гомогенату тканини вносили дистильовану воду. Активність СОД виражали в умовних одиницях, із розрахунку на 1 мг протеїну.

Активність каталази (КТ, КФ 1.11.1.6) визначали, як описано М. А. Королюк [10]. Реакцію ініціювали додаванням 2 мл пероксиду гідрогену до 0,1 мл гомогенату тканини (лізат еритроцитів). У контрольну пробу замість гомогенату (лізат еритроцитів) вносили 0,1 мл дистильованої води. Реакцію зупиняли через 10 хв додаванням 1,0 мл 4%-ного молібдату амонію („Хімлаборреактив”, Україна). Інтенсивність забарвлення вимірювали при  $\lambda = 410$  нм проти контрольного зразка, у який замість пероксиду гідрогену додавали 2,0 мл дистильованої води. Активність ензиму виражали в нмоль  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв} \times \text{мг}$  протеїну, використовуючи коефіцієнт молярного поглинання, який дорівнює  $22,2 \times 10^3 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

Активність глутатіонпероксидази (ГП, КФ 1.11.1.9) визначали за швидкістю окислення відновленого глутатіону (ВГ) до і після інкубації з гідропероксидом третинного бутілу (ГТБ) за допомогою кольорової реакції з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною

кислотою (ДТНБК), внаслідок якої утворюється забарвлений продукт – тіонітрофенільний аніон (ТНФА) [11]. Кількість останнього прямо пропорційна кількості SH-груп, що прореагували з ДТНБК. 0,2 мл гомогенату тканин (лізату еритроцитів) інкубували на водяній бані за 37°C протягом 10 хв з 0,85 мл 4,8 мМ розчину ВГ („Acros Organics”, Бельгія), який готували в 0,1 М трис-НСІ буфері (рН 8,5), що містив 6 мМ ЕДТА („Хімлаборреактив”, Україна) і 12 мМ азиду натрію („Хімлаборреактив”, Україна). Потім додавали 0,05 мл 20 мМ ГТБ („Хімлаборреактив”, Україна) і ще раз інкубували протягом 5 хв. Реакцію зупиняли додаванням 0,4 мл 10%-ного розчину ТХО, після чого осад центрифугували при 7000 об/хв протягом 10 хв. Далі до 0,1 мл надосадової рідини додавали 5 мл 0,1 М трис-НСІ буферу (рН 8,5), 0,1 мл реактиву Елмана (0,01 М розчин ДТНБК („Acros Organics”, Бельгія) на метанолі), перемішували і через 5 хв вимірювали абсорбцію зразка при  $\lambda=412$  нм. Активність ензиму виражали в мкмоль ВГ/хв на 1 мг протеїну.

Активність глутатіонредуктази (ГР, КФ 1.6.4.2) визначали в реакційній суміші, яка містила 2,5 мл фосфатного буфера (0,15 М фосфатний буфер, рН 7,4, „Хімлаборреактив”, Україна), 0,2 мл окисненого глутатіону (7,5 мМ, „Acros Organics”, Бельгія), 0,1 мл гомогенату тканин (лізату еритроцитів), 0,1 мл НАДФН (1,2 мМ, „Acros Organics”, Бельгія). Активність ензиму визначали спектрофотометрично за зниженням вмісту НАДФН за 37°C протягом 1 хв при  $\lambda=340$  нм. Активність ГР виражали в мкмоль НАДФН/хв на 1 мг протеїну [3].

З метою визначення вмісту відновленого глутатіону (ВГ) до 1 мл гомогенату тканин перед центрифугуванням додавали 1,5 мл 0,01 М НСООН („Хімлаборреактив”, Україна) та гомогенізували його на льоду для осадження білків. До 0,5 мл надосадової рідини додавали 2 мл 0,1 М фосфатного буфера („Хімлаборреактив”, Україна). Після витримання проби 5 хв за кімнатної температури реакцію ініціювали додаванням 100 мкл ортофталевого альдегіду („Acros Organics”, Бельгія). Абсорбцію проб вимірювали при  $\lambda=420$  нм на спектрофотометрі [18].

Отримані цифрові дані опрацьовували статистично за допомогою програми Microsoft Excel for Windows XP. Для оцінки різниці показників використовували *t*-критерій Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що за дії сполук Хрому в крові кроликів зростає вміст вітаміну Е, зокрема у тварин першої дослідної групи – на 17,0%, а другої – на 7,0% порівняно з контролем (табл. 1). Це позитивний ефект Хрому, оскільки вітамін Е є одним із основних антиоксидантів, який сповільнює процес старіння клітин, унаслідок запобігання автоокисленню ліпідів біомембран, бере участь у їхній проліферації та процесах метаболізму. Отримані дані підтверджують результати досліджень інших авторів, які встановили, що додавання сполук Хрому до раціону курчат бройлерів за умов теплового стресу призводить до збільшення концентрації вітамінів С і Е та зниження ТБК-активних продуктів у сироватці крові [25].

Крім цього, Хром позитивно впливає на рівень інших антиоксидантів в організмі кроликів. Так, вміст відновленого глутатіону в крові кроликів обох дослідних груп має тенденцію до зростання (табл. 1). Відомо, що вміст відновленого глутатіону в клітині залежить від збалансованості швидкості таких протилежно спрямованих процесів, як його синтез за участю  $\gamma$ -глутамілцистеїнсинтетази і виведення у позаклітинний простір та регенерації за рахунок відновлення окисненого глутатіону і споживання для нейтралізації  $\text{H}_2\text{O}_2$  та вторинних продуктів пероксидації [8]. Як критерій оцінки

двох останніх процесів було вивчено активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази – основних ензимів глутатіонового редокс-циклу. Ензимом, що відновлює  $H_2O_2$  до води, а органічні гідропероксиди до гідросполук, а також перериває ланцюгові реакції внутрішньоклітинного переокиснення, є глутатіонпероксидаза [7]. Нами виявлено підвищення активності ГП у крові тварин першої дослідної групи і зниження у другій дослідній групі, порівняно з контролем (табл. 1). Активація ензиму в крові тварин першої дослідної групи можлива тільки за умови підтримання достатньо високого рівня внутрішньоклітинного GSH, який виконує роль не лише субстрату реакції, але й чинника, необхідного для постійного відновлення розміщених у каталітичному центрі ензиму селенольних груп, що окиснюються у процесі глутатіонпероксидазної реакції [8]. Отримані результати узгоджуються з літературними даними, де у людей, хворих на цукровий діабет, активність ГП збільшувалася за умови додавання до їхнього раціону  $Cr^{3+}$  та  $Cr^{3+}$  у комплексі з вітамінами С і Е [21].

**Таблиця 1. Показники антиоксидантної системи у крові кроликів за дії наночастинок Хром цитрату та Хром хлориду ( $M \pm m$ ,  $n = 4$ )**

**Table 1. Indicators of antioxidant system in rabbit blood under action of nanoparticles chromium citrate and chromium chloride ( $M \pm m$ ,  $n = 4$ )**

Група	Вітамін Е, мкг/мл	Відновлений глутатіон, мкмоль/л	Глутатіонпероксидаза, моль/хв на 1 мг протеїну	Глутатіонредуктаза, мкмоль/хв на 1 мг протеїну	Супероксиддисмутаза, ум. од./мг протеїну	Каталаза, мкмоль/хв на 1 мг протеїну
К	8,82±0,13	0,09±0,02	18,33±1,27	0,38±0,01	0,21±0,03	2,15±0,16
Д1	10,32±0,43**	0,11±0,03	19,97±1,79	0,54±0,03**	0,21±0,03	2,11±0,33
Д2	9,44±0,21*	0,10±0,01	16,47±2,42	0,60±0,03***	0,19±0,03	1,81±0,25

**Примітка:** \* вірогідність різниць показників порівняно з контролем: \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$ .

**Comments:** \* significantly different from the control values: \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$ .

Зниження активності ензиму в крові тварин другої дослідної групи на тлі підвищеного вмісту відновленого глутатіону може свідчити про використання його глутатіон-S-трансферазою, яка конкурує за відновлений глутатіон із глутатіонпероксидазою і є найважливішим компонентом системи детоксикації в еритроцитах екзогенних сполук вже на перших етапах їхнього проникнення в організм.

Активність глутатіонредуктази – ензиму, відповідального за поповнення внутрішньоклітинного пулу відновленого глутатіону, зростає за дії сполук Хрому в крові тварин першої дослідної групи на 42,1%, а другої – на 57,9% (табл. 1). Відомо, що глутатіонредуктаза є залежним від НАДФН ензимом, активність якого може пригнічуватись у разі накопичення окисненої форми нуклеотиду (НАДФ) [8]. Підтримання високого рівня активності глутатіонредуктази може бути обумовлене високою інтенсивністю дегідрогеназних реакцій пентозофосфатного шунту, що забезпечує зв'язок антиоксидантної системи та вуглеводного обміну в організмі.

Отримані нами дані підтверджують результати інших авторів, які виявили позитивний антиоксидантний ефект Хрому, окремо взятого та у поєднанні з іншими мікроелементами [15], проте ці ефекти  $Cr^{3+}$  проявлялися за різних захворювань організму, зокрема, цукрового діабету. Крім цього, за результатами наших досліджень з'ясовано позитивний вплив наночастинок Хром цитрату на активність ензимів глутатіонового пулу у крові кролів.

Встановлено, що активність одного з ключових ензимів антиоксидантного захисту організму – супероксиддисмутази, за дії Хрому хлориду, знижується (табл. 1). СОД – сильний антиоксидант, який синтезується в печінці, його активність пов'язана з інтенсивністю ПОЛ і залежить від кількості накопичених у крові продуктів окиснення (пероксидів жирних кислот, альдегідів, кетонів та інших). Оскільки рівень ензиму залежить як від його синтезу, так і від деградації, то зменшення активності може бути наслідком зниження синтезу або підвищення деградації молекул СОД. Відомо, що в еритроцитах більшою мірою міститься  $\text{Fe}^{2+}$ -залежна СОД [2]. Враховуючи те, що  $\text{Cr}^{3+}$  є антагоністом  $\text{Fe}^{2+}$ , він, витісняючи катіон  $\text{Fe}^{2+}$  з активного центру ензиму, може знижувати активність останнього.

В інактивації та деградації СОД можуть також брати участь активні форми Оксигену: гідроксильні радикали та Гідроген пероксиду [2]. Зниження активності СОД може бути зумовлене збільшенням у клітинах концентрації Гідроген пероксиду та інактивацією ензимів, які його розщеплюють [27], зокрема каталази. Це підтверджує зниження активності каталази у крові тварин першої та другої дослідної групи, порівняно з тваринами контрольної групи (табл. 1).

Оскільки СОД утилізує активні форми Оксигену з утворенням Гідроген пероксиду, важливим для життєдіяльності клітини є встановлення балансу між активністю СОД та ензимами, які окиснюють  $\text{H}_2\text{O}_2$  [2]. Під дією каталази Гідроген пероксиду розкладається на воду й атомарний Оксиген, який є сильним окиснювачем. До активного центру ензиму входить  $\text{Fe}^{3+}$  та протопорфірин, який взаємодіє з Гідроген пероксидом за каталазним або за пероксидазним механізмом залежно від концентрації субстрату [2]. Зниження активності каталази за впливу сполук Хрому може відбуватися за аналогічним принципом як СОД, внаслідок витіснення з активного центру ензиму катіонів  $\text{Fe}^{3+}$  катіонами  $\text{Cr}^{3+}$ .

У тканинах кролика за дії сполук Хрому відбуваються різнонаправлені зміни активності ензимів. З літератури відомо, що  $\text{Cr}^{3+}$  має тенденцію накопичуватися в печінці, нирці та легені. Накопичення у м'язах є обмеженим або взагалі відсутнім [17].

У проведених дослідженнях виявлено (табл. 2, 3), що у печінці за дії наночастинок Хром цитрату знижується активність КТ на 50,8% і ГП на 75,5% на тлі підвищення активності ГР на 14,3% та вмісту ВГ на 87,5%. У легені тварин першої дослідної групи підвищується активність КТ на 56,6% і ГП на 50,1%. У нирці за дії наночастинок Хрому активність СОД, ГП не змінюється, проте знижується КТ на 49,6% і ГР на 54,8%. У м'язах тварин першої дослідної групи відзначено нижчу активність ГП на 23,8%.

За дії Хром хлориду у тканинах кролів також відбуваються зміни активності ензимів антиоксидантного захисту (табл. 2, 3). Так, у печінці тварин другої дослідної групи зростає активність СОД на 10,7% і ГР на 22,4%, проте спадає активність ГП на 65,4%. У легені зростає активність СОД на 24,0%, КТ на 98,8% і ГР на 82,3%. У нирці вищою є активність СОД на 94,1%, КТ на 29,3% і ГР на 37,1%, проте нижчою є активність ГП на 30,2%. У м'язах цих тварин вищою є активність СОД на 42,8%.

Отримані дані свідчать про тканинну специфічність перебігу процесів ПОЛ і активацію системи їхнього антиоксидантного захисту за впливу як органічної, так і мінеральної сполук Хрому.

Встановлено, що у тканинах тварин обох дослідних груп відбуваються зміни вмісту продуктів ПОЛ (табл. 3). Зокрема, за дії наночастинок Хром цитрату вміст гідроперекисів ліпідів, які є продуктами проміжної стадії перекисного окиснення, зменшується в печінці на 60,0%, нирці на 73,3% і м'язах на 61,1%. Хром хлориду вірогідно не впливає на рівень ГПЛ у тканинах.

**Таблиця 2. Показники глутатіонової системи у тканинах кроликів за дії наночастинок Хром цитрату та Хром хлориду ( $M \pm m$ ,  $n = 4$ )****Table 2. Indicators of glutathione systems in rabbit tissues under the action of nanoparticles chromium citrate and chromium chloride ( $M \pm m$ ,  $n = 4$ )**

Тканина	Група	Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв на 1 мг протеїну	Глутатіонредуктаза, мкмоль/хв на 1 мг протеїну	Відновлений глутатіон, мкмоль/л
Печінка	К	93,00±2,11	0,49±0,01	0,08±0,01
	Д1	22,77±0,86***	0,56±0,02**	0,15±0,01**
	Д2	32,23±0,28***	0,60±0,02**	0,09±0,01
Легеня	К	45,34±2,85	0,34±0,08	0,05±0,01
	Д1	68,03±2,16***	0,55±0,07	0,05±0,01
	Д2	43,76±1,73	0,62±0,02*	0,06±0,01
Нирка	К	37,76±2,09	0,62±0,04	0,13±0,02
	Д1	40,83±2,27	0,28±0,05***	0,11±0,01
	Д2	26,41±1,63**	0,85±0,05**	0,10±0,01
М'яз	К	82,04±2,18	0,47±0,06	0,02±0,01
	Д1	62,53±2,62***	0,31±0,03	0,02±0,01
	Д2	78,22±1,62	0,52±0,03	0,03±0,01

**Примітка:** Позначення ступеня достовірності як на табл. 1.

**Comments:** The results of statistical analysis are as in Table 1.

**Таблиця 3. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів і активність антиоксидантних ензимів у тканинах кроликів за дії наночастинок Хром цитрату та Хром хлориду ( $M \pm m$ ,  $n = 4$ )****Table 3. The content of lipid peroxidation products and activity of antioxidant enzymes in rabbit tissues under the action of nanoparticles chromium citrate and chromium chloride ( $M \pm m$ ,  $n = 4$ )**

Тканина	Група	Гідроперекиси ліпідів, ум. од./г протеїну	ТБК-активні продукти, нмоль МДА/г протеїну	Супероксид-дисмутаза, ум. од./мг протеїну	Каталаза, мкмоль/хв на 1 мг протеїну
Печінка	К	0,15±0,01	2,96±0,38	0,28±0,01	5,85±0,49
	Д1	0,06±0,01**	3,17±0,16	0,26±0,03	2,88±0,95*
	Д2	0,17±0,02	3,84±0,44	0,31±0,02***	5,17±0,57
Легеня	К	0,11±0,02	2,76±0,20	0,25±0,02	4,38±0,20
	Д1	0,09±0,01	2,52±0,12	0,19±0,02	6,86±0,22***
	Д2	0,12±0,05	1,99±0,24*	0,31±0,01*	8,71±0,66***
Нирка	К	0,15±0,01	4,88±0,16	0,17±0,04	5,26±0,61
	Д1	0,04±0,02***	5,22±0,32	0,24±0,02	2,65±0,38**
	Д2	0,26±0,05	3,72±0,33**	0,33±0,05*	6,80±0,15*
М'яз	К	0,18±0,03	3,81±0,15	0,21±0,01	9,38±1,10
	Д1	0,07±0,02**	2,37±0,41**	0,25±0,03	8,17±1,49
	Д2	0,14±0,03	1,73±0,07***	0,30±0,02**	9,0±1,26

**Примітка:** Позначення ступеня достовірності як на табл. 1.

**Comments:** The results of statistical analysis are as in Table 1.

Вміст ТБК-активних продуктів – кінцевих продуктів ПОЛ за дії наночастинок Хром цитрату зменшується лише у м'язах на 37,8%. У той же час за дії Хром хлориду рівень цих метаболітів зменшується у легені на 27,9%, нирці на 23,8% і м'язах на 54,6% (табл.3). Іншими дослідниками виявлено зниження вмісту ТБК-активних продуктів у печінці щурів у відповідь на добавки їм Хром піколінату і нікотинату [23]. Крім цього, було встановлено, що добавка Хром хлориду знижує рівень перекисного окиснення ліпідів у крові та тканинах щурів з гіперліпідемією [29].

## ВИСНОВКИ.

1. Випоювання кроликам розчину наночастинок Хром цитрату в дозі 3,0 мг  $\text{Cr}^{3+}$ /кг маси тіла та Хром хлориду в дозі 4,0 мг  $\text{Cr}^{3+}$ /кг маси тіла суттєво не впливає на функціонування системи антиоксидантного захисту в організмі.
2. За дії обох сполук Хрому в крові кроликів підвищується вміст вітаміну Е та зростає активність глутатіонредуктази.
3. За дії наночастинок Хром цитрату в печінці підвищується вміст відновленого глутатіону та зростає активність глутатіонредуктази, у легені – активність глутатіонпероксидази і каталази.
4. За дії Хром хлориду зростає активність супероксиддисмутази і глутатіонредуктази в усіх тканинах, активність каталази – в легені та нирці.
5. Вміст гідроперекисів ліпідів у печінці, нирці та м'язах знижується за дії наночастинок Хром цитрату.
6. Вміст ТБК-активних продуктів у легені, нирці та м'язах знижується за дії Хром хлориду.

1. **А. с. № 1084681 СССР, МКИ G № 33/48.** Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / Мирончик В. В. (СССР). – № 3468369/2813; заявл. 08.07.82; опубл. 07.04.84, Бюл. № 13.
2. *Бєленічев І. Ф., Левицький Є. Л., Губський Ю. І.* Антиоксидантна система захисту організму (огляд). **Совр. пробл. токсикол**, 2002; 3: 24–29.
3. *Влізло В. В., Федорук Р. С., Макар І. А.* та ін. **Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині:** довідник. Львів: ВМС, 2004. 399 с.
4. *Дубинина Е. Е., Сальникова Л. А., Ефимова Л. Ф.* Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутази эритроцитов и плазмы крови человека. **Лаб. дело**, 1983; 10: 30–33.
5. *Іскра Р. Я.* Активність ензимів вуглеводного обміну та вміст глюкози в крові свиноматок і поросят за додавання до раціону наночитрату хрому. **Наукові доповіді НУБіП**, 2012; 8(30): [http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2012\\_1/12iry.pdf](http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2012_1/12iry.pdf)
6. *Іскра Р. Я.* Функціональний стан антиоксидантної системи та вуглеводний обмін у крові щурів за дії неорганічної та органічної сполук хрому. **Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол.**, 2011; 57: 47–52.
7. *Коваль Т. В., Назарова О. О., Матишевська О. П.* Зміна вмісту глутатіону в тимоцитах щурів за індукції апоптозу під впливом  $\text{H}_2\text{O}_2$  або радіації. **Укр. біохім. журнал**, 2008; 80(2): 114–119.
8. *Кулинский В. И., Колесниченко Л. С.* Биологическая роль глутатиона. **Усп. совр. биологии**, 1993; 113: 107–121.
9. *Коробейникова Э. Н.* Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК. **Лаб. дело**, 1989; 7: 8–10.
10. *Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е.* Метод определения активности каталазы. **Лаб. дело**, 1988; 1: 16–18.
11. *Моин В. М.* Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. **Лаб. дело**, 1986; 12: 724–727.



12. Олексюк Н. П., Лемківська Л. Г., Денис Г.Г., Салига Ю. Т. **Визначення вітамінів А і Е у біологічних матеріалах і кормах методом вискоєфективної рідинної хроматографії**: методичні рекомендації. Львів, 2007. 20 с.
13. Патент України на корисну модель № 29856. **Спосіб отримання аквахелатів нанометалів „Ерозійно-вибухова нанотехнологія отримання аквахелатів нанометалів”** / Косінов М. В., Каплуненко В. Г. / МПК (2006): B01J 13/00, B82B 3/00. Оpubл. 25.01.2008, бюл. № 2/2008.
14. Сердюк А. М., Гуліч М. П., Каплуненко В. Г., Косінов М. В. Нанотехнології мікронутрієнтів: Проблеми, перспективи та шляхи ліквідації дефіциту макро- та мікроелементів. **Журнал Академії медичних наук**, 2010; 16 (1): 107–114.
15. Anderson R. A., Roussel A. M., Zouari N. et al. Potential antioxidant effects of zinc and chromium supplementation in people with type 2 diabetes mellitus. **J. Am. College Nutr**, 2001; 20: 212–218.
16. Cheng H. H., Lai M. H., Hou W. C., Huang C. L. Antioxidant effects of chromium supplementation with type 2 diabetes mellitus and euglycemic subjects. **J. Agric. Food Chem**, 2004; 52: 1385–1389.
17. Clodfelder B. J., Emamaullee J., Hepburn D. D. et al. The trail of chromium(III) *in vivo* from the blood to the urine: the roles of transferrin and chromodulin. **J. Biol. Inorg. Chem**, 2001; 6: 608–617.
18. Hissin P. J., Hilf R. A. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Analytical Biochem**, 1976; 74: 214–226.
19. Jain S. K., Rains J. L., Croad J. L. High glucose and ketosis (acetoacetate) increases, and chromium niacininate decreases, IL-6, IL-8, and MCP-1 secretion and oxidative stress in U937 monocytes. **Antioxid Redox Signal**, 2007; 9: 1581–1590.
20. Lushchak O. V., Kubrak O. I., Torous I. M. Trivalent chromium induces oxidative stress in goldfish brain. **Chemosphere**, 2009; 75: 56–62.
21. Ming-Hoang Lai. Antioxidant Effects and Insulin Resistance Improvement of Chromium Combined with Vitamin C and E Supplementation for Type 2 Diabetes Mellitus. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, 2008; 43(3): 191–198.
22. Olin K. L., Stearns D. M., Armstrong W. H., Keen C. L. Comparative retention/absorption of <sup>51</sup>chromium (<sup>51</sup>Cr) from <sup>51</sup>Cr chloride, <sup>51</sup>Cr nicotinate and <sup>51</sup>Cr picolinate in a rat model. **Trace Elem. Electrolytes**, 1994; 11: 182–186.
23. Preuss H. G., Grojec P. L., Lieberman S., Anderson R. A. Effects of different chromium compounds on blood pressure and lipid peroxidation in spontaneously hypertensive rats. **Clin. Nephrol**, 1997; 47: 325–330.
24. Preuss H.G., Jarrell S.T., Scheckenbach R. et al. Comparative effects of chromium, vanadium and gymnema sylvestre on sugar-induced blood pressure elevations in SHR. **J. Am. Coll. Nutr**, 1998; 17 (2): 116–123.
25. Sahin K., Sahin N., Kucuka O. 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. **Nutr. Res**, 2003; 23: 225–238.
26. Schwarz K, Mertz W. Chromium (III) and the glucose tolerance factor. **Arch. Biochem. Biophys**, 1959; 85: 292–295.
27. Vanacker H., Sandalio L., Jimenez A. Roles for redox regulation in leaf senescence of pea plants grown on different sources of nitrogen nutrition. **J. Exp. Bot**, 2006; 57(8): 1735–1745.
28. Vincent J. B. **The Nutritional Biochemistry of Chromium (III)**. Department of Chemistry The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 2007. 277 p.
29. Yanardag R., Peksel A., Yesilyaprak B. et al. 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): 249–260.

## THE ACTIVITY OF ANTIOXIDATIVE SYSTEM IN RABBIT BODY UNDER ACTION OF CHROMIUM COMPOUNDS

**R. Ya. Iskra**

*Institute of Animal Biology NAAS, 38, V. Stus St., Lviv 79034, Ukraine  
e-mail: iskra\_r@ukr.net*

The effect of nanoparticles of chromium citrate in dose of 3.0  $\mu\text{g Cr}^{3+}$ / kg of body weight and chromium chloride in doses of 4.0  $\mu\text{g Cr}^{3+}$ / kg of body weight which were administrated to rabbits on vitamin E, reduced glutathione and antioxidant enzyme activity in their blood and tissues liver, lung, kidney and muscles was studied. It has been shown that compounds of chromium in the blood of rabbits increase vitamin E level and the activity of glutathion reductase. The content of reduced glutathione and the activity of glutathion reductase in liver and the activity of glutathion peroxidase and katalase – in lung elevate after action of nanoparticles of chromium citrate. By action of chromium chloride increases activity superoxide dismutase and glutathion reductase in all tissues, and catalase activity – in the lung and kidney. The content of lipid hydroperoxides in the tissues was reduced for the action of nanoparticles of chromium citrate, and active products of lipid peroxidation – for the action of chromium chloride.

**Keywords:** chromium, blood, tissue, lipid hydroperoxides, active products of lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, glutathione systems.

## АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ОРГАНИЗМЕ КРОЛИКА ПРИ ДЕЙСТВИИ СОЕДИНЕНИЙ ХРОМА

**Р. Я. Іскра**

*Інститут біології тварин НААН, ул. В. Стуса, 38, Львів 79034, Україна  
e-mail: iskra\_r@ukr.net*

Исследовали влияние наночастиц Хром цитрата в дозе 3,0 мкг  $\text{Cr}^{3+}$ /кг массы тела и Хром хлорида в дозе 4,0 мкг  $\text{Cr}^{3+}$ /кг, которые выпаивали кроликам, на содержание витамина Е, восстановленного глутатиона и на активность ферментов антиоксидантной системы в крови и тканях печени, легкого, почки и мышц. Установлено, что при действии этих соединений Хрома в крови кроликов повышается содержание витамина Е и возрастает активность глутатионредуктазы. При действии наночастиц Хром цитрата в печени повышается содержание восстановленного глутатиона и возрастает активность глутатионредуктазы, а в легком – активность глутатионпероксидазы и каталазы. При действии Хром хлорида возрастает активность супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы во всех тканях, а рост активности каталазы происходит в легком и почке. Содержание гидроперекисей липидов в тканях снижается при действии наночастиц Хром цитрата, ТБК-активных продуктов – при действии Хром хлорида.

**Ключевые слова:** Хром, кровь, ткань, гидроперекись липидов, ТБК-активный продукт, супероксиддисмутаза, каталаза, система глутатиона.

Одержано: 26.03.2012