

УДК 577.121.2:599.323.4

Хомич Н. П.¹, асистент, Антоняк Г. Л.², професор, Савицька О. М.², доцент[©]
(E-mail: natalyao@meta.ua)

¹Львівський національний аграрний університет, м. Дубляни, Україна

²Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна

ВПЛИВ ХРОМУ (VI) НА ПРОЦЕС ПЕРОКСИДАЦІЇ ЛІПІДІВ І СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В КЛІТИНАХ ПЕЧІНКИ, НИРКИ ТА ЛЕГЕНЬ КРОЛИКІВ

У статті показані результати досліджень впливу шестивалентного Хрому за умов внутрішньошлункового введення у формі $K_2Cr_2O_7$ на процес пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активність ензимів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза) в клітинах печінки, нирки і легень кроликів. Встановлено, що 30-добове введення $K_2Cr_2O_7$ дозою 5 мг/кг маси зумовлює стимуляцію процесу ПОЛ та неоднозначні зміни активності ензимів-антиоксидантів в органах кроликів. Отримані результати свідчать про різну стійкість аналізованих клітин до зумовленого Хромом(VI) оксидативного стресу та специфіку адаптаційних антиоксидантних реакцій у клітинах внутрішніх органів тварин.

Ключові слова: Хром(VI), метали, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система

УДК 577.121.2: 599.323.4

Хомич Н. П.¹, асистент, Антоняк Г. Л.², професор, Савицькая О. Н.², доцент

¹Львовский национальный аграрный университет, г. Дубляны, Украина

²Львовский национальный университет имени Ивана Франко, г. Львов, Украина

ВЛИЯНИЕ ХРОМА (VI) НА ПРОЦЕСС ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ И СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ, ПОЧЕК И ЛЕГКИХ КРОЛИКОВ

В работе представлены результаты исследований влияния шестивалентного хрома в условиях внутрижелудочного введения в форме $K_2Cr_2O_7$ на процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность ферментов антиоксидантной системы (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза) в клетках печени, почек и легких кроликов. Установлено, что 30-суточное введение $K_2Cr_2O_7$ в дозе 5 мг/кг массы приводит к стимуляции процесса ПОЛ и неоднозначным изменениям активности ферментов-антиоксидантов в органах кроликов. Полученные результаты свидетельствуют о различной устойчивости анализируемых клеток к обусловленному хромом(VI) окислительному стрессу и специфике адаптационных антиоксидантных реакций в клетках внутренних органов животных.

Ключевые слова: Хром (VI), металлы, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система

UDC 577.121.2: 599.323.4

Khomych N. P.¹ assistant, Antonyak H. L.², professor, Savytska O. M.², associate professor

¹Lviv National Agricultural University, Dubliany, Ukraine

²Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, Ukraine

EFFECTS OF CHROMIUM (VI) ON PROCESS OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN THE CELLS OF LIVER, KIDNEY AND LUNG OF RABBITS

The aim of this study was to assess an impact of hexavalent chromium in the conditions of intragastric administration in the form of $K_2Cr_2O_7$ on the process of lipid peroxidation

(LPO) and activities of enzymes of antioxidant system (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase) in the cells of liver, kidney and lungs of rabbits. It was found that 30-daily administration of $K_2Cr_2O_7$ at a dose of 5 mg / kg caused stimulation of lipid peroxidation and diverse changes in activity of antioxidant enzymes in the organs of rabbits. The results of study indicate the different resistance of analyzed cells to oxidative stress caused by chromium (VI) and specificity of adaptive antioxidant reactions in the cells of internal organs of animals.

Key words: chromium (VI), metals, lipid peroxidation, antioxidant system

Вступ. Сполуки шестивалентного Хрому, як і інших важких металів, використовуваних у промисловості, належать до забруднювачів природного середовища та істотно впливають на метаболічні процеси за умов надходження в організм людини і тварин [1, 2]. На відміну від Хрому(III), який є необхідним компонентом живлення тварин, у шестивалентному стані цей елемент спричиняє порушення обміну речовин, виявляє імунотоксичні, мутагенні, канцерогенні, тератогенні ефекти [1, 3–5]. Відомо, що майже 35% Хрому, який вивільняється з антропогенних джерел, є у формі хроматів і дихроматів, які можуть мігрувати зі забрудненого ґрунту і поливної води в рослини, потрапляти в корми тварин і сільськогосподарську продукцію [6, 7]. Можливими наслідками надходження Хрому(VI) з питною водою і кормом є порушення у стані здоров'я тварин, погіршення якості продуктів тваринного походження [7–9]. Тому актуальні дослідження впливу Хрому(VI) на організм сільськогосподарських тварин для розробки способів корекції метаболічних порушень за умов ведення аграрного виробництва на територіях, забруднених важкими металами. Зокрема, це стосується кролівництва, яке нині є перспективною та економічно вигідною сферою агробізнесу у багатьох країнах, зокрема, в Україні.

Метою роботи було з'ясувати вплив Хрому(VI) на процес пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), активність ензимів антиоксидантної системи та вміст відновленого глутатіону в клітинах печінки, нирки та легень кроликів за внутрішньошлункового введення цього елемента у формі калію дихромату.

Матеріал і методи досліджень. Дослідження проводили на кроликах-самцях породи «шампань» тримісячного віку, утримуваних за умов віварію, яким згодовували стандартний раціон з необмеженим доступом до води. Тварин поділили на 3 групи: контрольну (К) і 2 дослідні (Д1–Д2). Кроликам групи Д1 і Д2 вводили в шлунок розчин $K_2Cr_2O_7$ (5 мг/кг маси) щодоби, відповідно, впродовж 14-ти і 30-ти діб. Тваринам контрольної групи внутрішньошлунково вводили фізіологічний розчин в такому самому об'ємі, за аналогічною схемою.

Матеріал для досліджень (печінка, нирка, легені кроликів контрольної та дослідних груп) отримували після евтаназії, яку здійснювали декапітацією під легким наркозом із використанням діетилового етеру, дотримуючись загальних принципів біоетики згідно з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, Франція, 1985). Органи тварин, відібрані після евтаназії, охолоджували на льоді, обмивали фізрозчином, підсушували фільтрувальним папером, подрібнювали і гомогенізували згідно із стандартною методикою. В гомогенатах клітин досліджували концентрацію продуктів ПОЛ (ТБК-активні продукти), вміст відновленого глутатіону (GSH) та активність ензимів антиоксидантної системи, зокрема: супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонпероксидази (ГП) і глутатіонредуктази (ГР).

Визначення вмісту ТБК-активних продуктів здійснювали методом [10], концентрацію відновленого глутатіону визначали з використанням 5,5'-ди-тіо-біс(-

2-нітробензойної) кислоти [11]. Супероксиддисмутазну активність аналізували за рівнем гальмування процесу відновлення нітросинього тетразолію за наявності NADH і феназинметасульфату [12], каталазну – з використанням гідроген пероксиду як субстрату реакції [13], глутатіонпероксидазну – за швидкістю окиснення глутатіону за наявності гідропероксиду третинного бутілу як субстрату [14]. Глутатіонредуктазну активність визначали за інтенсивністю відновлення глутатіону за наявності NADPH в середовищі [15]. Активність ензимів обчислювали, здійснюючи перерахунок на 1мг білка. Вміст білка в гомогенатах визначали методом [16]. Отримані результати опрацьовували методами варіаційної статистики.

Результати досліджень. У низці досліджень показано, що метаболічні ефекти Хрому(VI) суттєво залежать від способу й тривалості надходження в організм тварин [1,5,9]. Результати наших експериментів свідчать, що тривале внутрішньошлункове введення цього елемента у формі $K_2Cr_2O_7$ зумовлює значне накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів у клітинах внутрішніх органів кроликів (табл. 1). Зокрема, після щодобового введення $K_2Cr_2O_7$ впродовж 30 діб концентрація ТБК-активних продуктів у печінці, нирці та легенях тварин зростає, відповідно, на 48,9%, 117,3% і 58,4% ($p<0,01-0,001$).

Аналізуючи динаміку цього показника у часовому аспекті, можна відмітити, що в клітинах печінки і нирки концентрація продуктів ПОЛ на 14-ту і 30-ту доби досліджу збільшується лінійно, залежно від тривалості введення калію дихромату, а в клітинах легень інтенсивніше накопичення продуктів ПОЛ відбувається на 14-ту добу (вміст ТБК-активних продуктів зростає майже вдвічі порівняно з контролем, $p<0,001$), ніж на 30-ту добу експерименту (табл. 1, рис. 1 А–В). Натомість у гепатоцитах кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ впродовж 14-ти діб, цей показник збільшується лише на 30,3%, а в клітинах нирки – на 79,7% ($p<0,05-0,01$). Такі відмінності можуть вказувати на різну чутливість клітин внутрішніх органів кроликів до прооксидантного впливу Хрому(VI).

Таблиця 1

Вплив Хрому(VI) на вміст ТБК-активних продуктів (нмоль/г тканини) в клітинах внутрішніх органів кроликів ($M\pm m$, $n=5$)

Досліджуваний орган	Контроль	Введення $K_2Cr_2O_7$	
		14 діб	30 діб
Печінка	27,12±1,76	35,34±2,47*	40,38±2,60**
Нирка	31,75±1,80	57,06±3,65**	68,99±3,92***
Легені	20,97±1,43	41,26±3,22**	33,21±2,07**

Примітка: *, **, *** – вірогідність різниць між контрольною і дослідними групами кроликів (* – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$)

У наших дослідженнях встановлено, що стимуляція процесів пероксидації ліпідів супроводжується неоднозначними змінами функціональної активності ензимів антиоксидантної системи в клітинах печінки, нирки та легень кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ (рис. 1 А–В).

Зокрема, на 14-ту добу досліджу супероксиддисмутазна активність зростає в клітинах нирки та легень, відповідно, на 31,1% і 48,0% ($p<0,05$), а в гепатоцитах вірогідно не змінюється. Однак на 30-ту добу активність СОД пригнічується в клітинах печінки та нирки піддослідних тварин, відповідно, на 23,8% і 45,3% ($p<0,05-0,001$).

За таких умов каталазна активність зменшується в клітинах досліджуваних органів кроликів упродовж усього експериментального періоду. Найвиразніше

пригнічення активності ензиму виявляється в клітинах легень на 30-ту добу досліджень – майже в 3 рази ($p < 0,001$), а в клітинах печінки і нирки каталазна активність зменшується наприкінці 30-добового періоду, відповідно, в 1,6 і 1,9 разу ($p < 0,01-0,001$) (рис. 1 А–В).

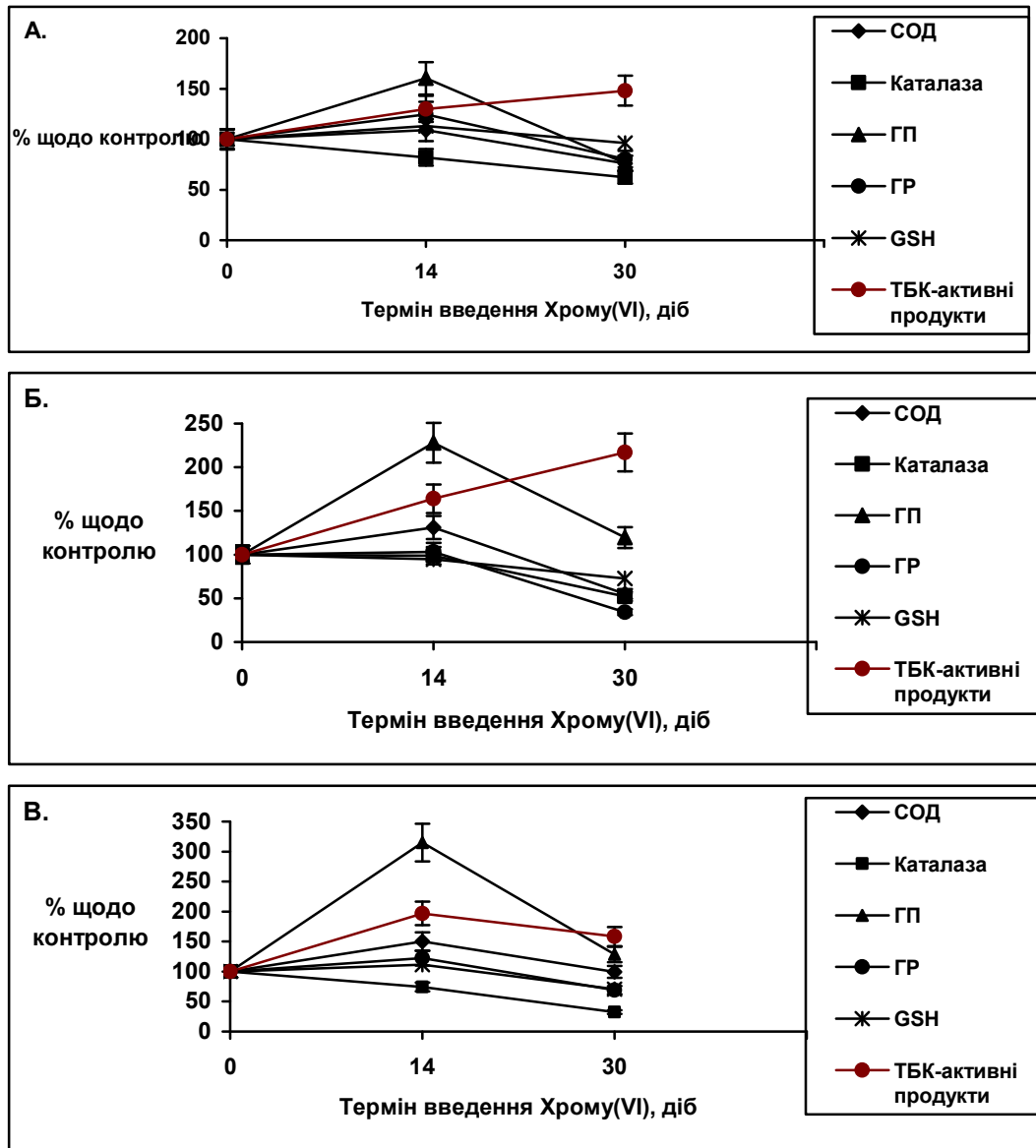


Рис. 1. Активність ензимів антиоксидантної системи, концентрація ТБК-активних продуктів і відновленого глутатіону в органах кроликів за умов введення $K_2Cr_2O_7$: А – печінка; Б – нирка; В – легені

Результати аналізу активності ензимів, функціонально пов'язаних із глутатіоном, свідчать, що зміни їхньої активності неоднакові в аналізованих органах кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$. Зокрема, на 14-ту добу експерименту глутатіонпероксидазна активність зростає в клітинах печінки, нирки та легень,

відповідно, в 1,60, 2,28 і 3,15 разу ($p < 0,05-0,001$). Однак на 30-ту добу досліджень активність ГП наближається до контролю у клітинах печінки та нирки, а в легенях залишається вищою від значень, виявлених у тварин контрольної групи ($p < 0,05$) (рис. 1 А–В). Глутатіонредуктазна активність в органах кроликів дослідних груп також змінюється по-різному – зростає на 14-ту добу у печінці, проте значно пригнічується в клітинах нирки та легень на 30-ту добу експерименту ($p < 0,05-0,001$). Установлені зміни супроводжуються зменшенням вмісту відновленого глутатіону, зокрема, в клітинах нирки – на 27,3%, а легень – на 29,5%. Однак у гепатоцитах кроликів, яким вводили калію дихромат, достовірних змін концентрації GSH не виявлено.

Отримані результати свідчать про те, що за умов тривалого надходження Хрому(VI) активується процес пероксидації ліпідів та здійснюється перебудова антиоксидантного метаболізму в клітинах внутрішніх органів кроликів. Встановлені ефекти можуть зумовлюватись утворенням вільних радикалів та інших активних форм кисню під час відновлення Cr(VI) до Cr(III), яке, як відомо, відбувається за участю внутрішньоклітинних редуктантів [1,5,17]. Отже, результати досліджень підтверджують загальні положення щодо прооксидантного впливу Хрому(VI) та здатність цього елемента індукувати розвиток оксидативного стресу в клітинах тварин.

Висновки. Внутрішньошлункове введення $K_2Cr_2O_7$ упродовж 30-ти діб дозою 5 мг/кг маси призводить до змін прооксидантно-антиоксидантного стану в клітинах печінки, нирки та легень кроликів. Однак різний рівень стимуляції процесів пероксидації ліпідів та особливості динаміки активності ензимів антиоксидантної системи можуть вказувати на неоднакову резистентність до оксидативного стресу та специфіку адаптаційних антиоксидантних реакцій в клітинах внутрішніх органів тварин на вплив шестивалентного Хрому.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження варто скерувати на з'ясування впливу Хрому(VI) на енергетичні процеси в клітинах, а також впливу цього елемента на стан імунної системи в організмі тварин.

Література

1. Сологуб Л. І. Хром в організмі людини і тварин. Біохімічні, імунологічні та екологічні аспекти / Л. І. Сологуб, Г. Л. Антоняк, Н. О. Бабич / Львів: Євросвіт, 2007. – 127 с.
2. Антоняк Г. Л. Кадмій в організмі людини і тварин. II. Вплив на функціональну активність органів і систем / Г. Л. Антоняк, Н. О. Бабич, Л. П. Білецька, Н. Є. Панас, Ю. В. Жилищич // Біологічні студії / *Studia Biologica*. – 2010. – Т. 4, № 3. – С. 125–146.
3. Влізло В. В. Біохімічні основи нормування мінерального живлення великої рогатої худоби. 2. Мікроелементи / В. В. Влізло, Л. І. Сологуб, В. Г. Янович, Г. Л. Антоняк // Біологія тварин. – 2006. – Т. 8, № 1–2. – С. 41–62.
4. Іскра Р.Я. Хром у живленні тварин / Р. Я. Іскра, В. В. Влізло, Р. С. Федорук, Г. Л. Антоняк / – Київ: «Аграрна наука», 2014. – 312 с.
5. Zhitkovich A. Chromium in drinking water: Sources, metabolism, and cancer risks / A. Zhitkovich // *Chem. Res. Toxicol.* – 2011. – Vol. 24. – P. 1617–1629.
6. Wang J. The determination of chromium in feeds by flame atomic absorption spectrophotometry / J. Wang, B. Jia, L. P. Guo, Q. P. Lin // *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi.* – 2005. – Vol. 25, N 7. – P. 1142–1144.
7. Li Y. A survey of selected heavy metal concentrations in Wisconsin dairy feeds / Y. Li, D. F. McCrory, J. M. Powell, H. Saam, D. Jackson-Smith // *J. Dairy Sci.* – 2005. – Vol. 88, N 8. – P. 2911–2922.

8. Скаб О. Вплив тривалого перорального введення калію біхромату на гематологічні показники крові кролів / О. Скаб, Г. Антоняк, Н. Хомич, Н. Панас // Вісник Львівського національного аграрного університету. Сер: Агрономія. – 2013. – Вип. 17, № 2. – С. 440-445.
9. Антоняк Г. Л. Вплив препарату «Е-селен» та біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* на енергетичний обмін в еритроцитах кроликів за умов перорального надходження калію біхромату / Г. Л. Антоняк, О. Б. Скаб // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького. – 2013. – Вип. 15, № 1, Ч. 2. – С. 3–9.
10. Ohkawa H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yagi // *Anal. Biochem.* – 1979. – Vol. 95. – P. 351-358.
11. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – Vol. 82. – P. 70–77.
12. Дубинина Е. Е. Активность и изоферментный спектр СОД эритроцитов / Е. Е. Дубинина, Л. Я. Сальникова, Л. Ф. Ефимова // *Лаб. дело.* – 1983. – № 10. – С. 30–33.
13. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // *Лаб. дело.* – 1983. – № 10. – С. 16–18.
14. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // *Лаб. дело.* – 1986. – № 12. – С. 724–727.
15. Bergmeyer U. *Methods of Enzymatic Analysis* / U. Bergmeyer, M. Grassl / Verlag Chemie.: Weinheim-Deerfield Beach, Florida-Basel. – 1983. – 500 p.
16. Lowry O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall // *J. Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 193, N 1. – P. 265–275.
17. Myers J. M. The intracellular redox stress caused by hexavalent chromium is selective for proteins that have key roles in cell survival and thiol redox control / J. M. Myers, W. E. Antholine, C. R. Myers // *Toxicology.* – 2011. – Vol. 281, N 1–3. – P. 37–47.

Стаття надійшла до редакції 8.09.2015

УДК 636.083.312.5:636.2

Чубко Ю. В., аспірантка * (E-mail: yuliasia1@mail.ru) ©

Вінницький національний аграрний університет, м.Вінниця

ОСОБЛИВОСТІ ПОВЕДІНКИ НАДРЕМОНТНОГО МОЛОДНЯКУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ЗА РІЗНИХ УМОВ УТРИМАННЯ ТА КІЛЬКОСТІ СКОТОМІСЦЬ У ГРУПОВИХ КЛІТКАХ

Встановлена доцільність обладнання групових кліток для надремонтного молодняку великої рогатої худоби боксами для відпочинку у порівнянні без їхнього обладнання, що дозволяє, особливо покращити умови поїдання корму. Доведена закономірність, що при зменшенні кількості бичків у групових клітках відбувається скорочення терміну, поїдання кормів. Знаходження бичків без дій та комфортному русі практично не встановлено у діях бичків вірогідних різниць при їх утриманні у різних за поголів'ям групових клітках. Вирішення проблеми поведінки надремонтного молодняку великої рогатої худоби за різних умов утримання та кількості скотомісць у групових клітках. Дослідження дій поведінки в умовах різних за потужністю підприємств із виробництва молока закінченого виробничого циклу (32, 64, 200, 400 корів) підтверджують доцільність пошуку оптимальної кількості поголів'я бичків у груповій клітці.

Ключові слова: поведінка, надремонтний молодняк, етологія, азбука дій, комфортний рух, групові клітки.

* Науковий керівник: д.с.-г.н., професор Польовий Л.В.

© Чубко Ю. В., 2015