

ОСОБЛИВОСТІ ЦИРКАДАННИХ БІОРИТМІВ ПОКАЗНИКІВ ПРО/АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ В СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ ЗА ТРИВАЛОЇ ДІЇ НИЗЬКИХ ДОЗ КАДМІЮ ХЛОРИДУ

Проведено дослідження стану про/антиоксидантної системи у статевонезрілих (5–6 тижнів) щурів-самців на тлі тривалої дії низьких доз кадмію хлориду (0,03 мг/кг per os, 30 діб) з аналізом хроноритмологічної організації функції системи. Виявлено підвищення мезору церулоплазміну в плазмі крові та активності глутатіон-S-трансферази в печінці, зменшення мезору активності каталази, зростання амплітуди біоритму показників при відносній сталості мезору окиснювальномодифікованих білків у плазмі крові.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кадмію хлорид, окиснювальномодифіковані білки, каталаза, церулоплазмін, глутатіон-S-трансфераза, хроноритми, статевонезрілі щури.

ВСТУП. Глобальним забруднювачем навколишнього середовища і виробничої сфери є кадмій та його сполуки [3]. Активація вільнорадикального пероксидного окиснення та окиснювальний стрес, що має місце за дії солей кадмію [4, 6, 14], призводять до зміни активності ферментів, порушень властивостей біомембран і розвитку патологічного процесу. На противагу пошкоджувальній дії вільних радикалів та пероксидних сполук діє антиоксидантна система захисту, яка модифікує вільні радикали, запобігає утворенню пероксидів.

Пріоритетним напрямком сучасної токсикології є віковий аспект проблеми, встановлення критеріїв напруження адаптивно-захисних механізмів у відповідь на дію ксенобіотиків та розробка найбільш чутливих тестів, які сигналізують про зміни в організмі [12]. Вікові особливості перебігу біохімічних процесів досліджено здебільшого за дії високих та смертельних доз токсикантів [1, 10, 13], а не на рівні низьких, підпорогових та порогових, які близькі до реальних умов перебування населення. Чутливим індикатором неблагополуччя, коли ще відсутні морфофункціональні зміни в тканинах, є порушення хронобіологічної організації процесів життєдіяльності [2, 5, 8]. На жаль, біоритмологічним аспектам організації функцій органів і систем, зокрема при проведенні токсикологічних досліджень, приділяють мало уваги. Недостатньо з'ясовано адаптивні метаболічні зміни, що виникають у молодому, ще не цілком сформованому організмі у відповідь на

© В. В. Гордієнко, 2014.

тривале надходження ксенобіотиків у дозах малої інтенсивності. Тому метою даної роботи було з'ясування особливостей циркаданих біоритмів деяких показників про/антиоксидантного гомеостазу в статевонезрілих щурів як відображення механізмів адаптації у відповідь на тривале надходження в організм низьких доз кадмію хлориду.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено на нелінійних білих статевонезрілих (5–6 тижнів) щурах-самцях з початковою масою 60,0–70,0 г. Тварин утримували в умовах віварію при сталому температурному і світловому режимі (12.00 С:12.00 Т). Інтоксикацію моделювали шляхом щоденного внутрішньошлункового введення кадмію хлориду в дозі 0,03 мг/кг ($3 \cdot 10^{-3} DL_{50}$) упродовж 30 діб. Контрольним тваринам за аналогічних умов вводили розчинник. В обох серіях було по 36–42 тварини, розміщені в окремих клітках по 6–8 у кожній. На 30-ту добу експерименту після знеживлення щурів шляхом декапітації під легкою ефірною анестезією через кожні 4 год (10.00, 14.00, 18.00, 22.00, 02.00, 06.00) у плазмі крові визначали ступінь окиснювальної модифікації білків (ОМБ) [11], вміст церулоплазміну (ЦП) [7] та активність каталази (КАТ) [9]. У пост'ядерному супернатанті 5 % гомогенату печінки досліджували активність ферментів антиоксидантного захисту – глутатіон-S-трансферази (Г-S-T) [15] та каталази [9]. При роботі зі щурами дотримувались вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних

та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Результати досліджень обробляли методом косинор-аналізу [5] та методами статистики з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження засвідчили, що щоденне надходження в організм статевонезрілих (СНЗ)

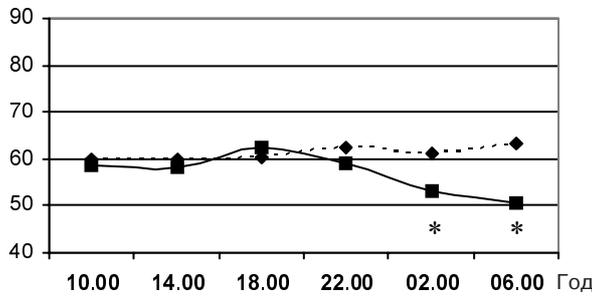
щурів низьких доз кадмію хлориду впродовж 30 діб суттєво не вплинуло на стан прооксидантних процесів в організмі. Середньодобовий рівень (мезор) вмісту ОМБ у плазмі крові не змінився, однак амплітуда коливань біоритму зросла вдвічі (табл.), а також порушилася його архітектоніка: батифаза змістилася з денного часу на нічний (рис. 1).

Таблиця – Вплив кадмію хлориду (0,03 мг/кг, 30 діб) на циркадіанні біоритми показників про/антиоксидантного гомеостазу плазми крові й гомогенату печінки у статевонезрілих щурів ($\bar{x} \pm S_x$)

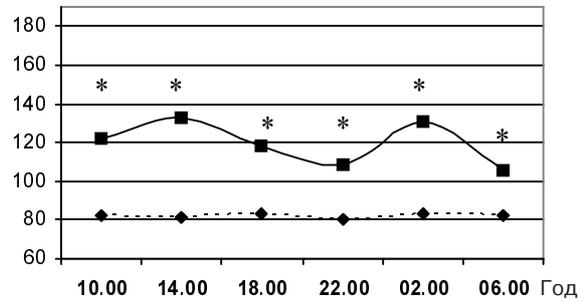
Показник	Мезор	Амплітуда, %	Акрофаза	Мезор	Амплітуда, %	Акрофаза
	контроль (n=42)			кадмію хлорид (n=36)		
Плазма крові						
Вміст окиснювально-модифікованих білків, Σ /г білка	61,20 \pm 1,76	4,80 \pm 1,28	3:42 \pm 2:42	57,1 \pm 2,37	10,8 \pm 1,97 p<0,05	14:51 \pm 0:51
Вміст церулоплазміну, Σ /г білка	82,0 \pm 3,02	6,8 \pm 2,30	4:29 \pm 3:04	119,6 \pm 7,03 p<0,001	7,9 \pm 1,25	10:46 \pm 1:10
Активність каталази, мкмоль/год·мл	1,4 \pm 0,04	5,7 \pm 1,20	9:16 \pm 3:41	1,0 \pm 0,07 p<0,001	18,8 \pm 1,09 p<0,001	2:17 \pm 0:25
Гомогенат печінки						
Активність каталази, ммоль/год·г тканини	192,1 \pm 5,18	4,7 \pm 1,06	5:26 \pm 4:14	178,9 \pm 7,13 p<0,05	7,8 \pm 1,89	23:28 \pm 2:05
Активність глутатіон-S-трансферази, мкмоль/хв·г тканини	28,4 \pm 1,49	5,9 \pm 1,74	5:21 \pm 2:02	32,8 \pm 1,23 p<0,05	27,8 \pm 2,66 p<0,001	23:06 \pm 0:42

Примітка. p – ступінь вірогідності порівняно з контролем.

Вміст ОМБ (Σ /г білка)



Вміст ЦП (Σ /г білка)



Активність КАТ (мкмоль/год·мл)

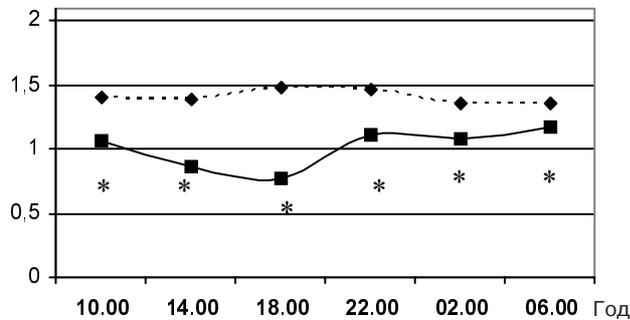


Рис. 1. Добова динаміка хроноритмів показників про/антиоксидантної системи у плазмі крові статевонезрілих щурів на тлі тривалої дії низьких доз кадмію хлориду (—); * – вірогідність різниці порівняно з контролем (-----).

Мезор вмісту одного з основних антиоксидантів крові – церулоплазміну при цьому зріс на 45,9 % (табл.). Хроноритм набув синусоїдної структури з акрофазою біоритму о 14.00 дня і 02.00 ночі (рис. 1). За дії значно вищих доз кадмію хлориду і менш тривалої експозиції дослідники спостерігали, навпаки, зниження рівня ЦП у плазмі крові [13]. Збільшення вмісту ЦП у плазмі крові за умов інтоксикації малими дозами кадмію хлориду може бути результатом активації транскрипції гена, проявом адаптивних процесів для зменшення патологічних змін і підвищення резистентності організму.

Активність КАТ у плазмі крові щурів знизилася. Мезор біоритму склав 71,4 % порівняно з контрольними тваринами, проте амплітуда біоритму зросла в 3,3 раза (табл.). Найменші значення каталазної активності плазми крові спостерігали в денний час з 14.00 до 18.00 (рис. 1). У печінці активність ферменту також знизилася на 6,9 % при зміщенні акрофазисі і зростанні амплітуди біоритму (табл.).

Відомо, що структура біоритму характеризує функціональний стан системи [5]. Зміни величин мезору й амплітуди біоритму показників, які ми спостерігали, свідчать про зміни стану про/антиоксидантної системи. Якщо величина мезору є кількісною характеристикою активності ферменту, то амплітуда біоритму – це показник якісний, що характеризує стійкість системи [8]. Чим більший розмах амплітуди відносно мезору, тим активніша реакція організму до адаптації за дії зовнішнього чинника. Зниження мезору активності каталази в організмі тварин і значне зростання амплітуди біоритму, на наш погляд, можуть свідчити про виснаження активності ферменту для нейтралізації продуктів пероксидації у СНЗ тварин за дії кадмію хлориду.

Мезор активності Г-S-T у печінці тварин зріс на 15,5 % (табл.), переважно за рахунок збільшення активності ферменту в нічний час. У період з 22.00 до 06.00 його активність перевищувала рівень контрольних тварин в 1,3 раза з акрофазою біоритму о 02.00 год ночі (рис. 2), амплітуда біоритму зросла в 4,7 раза (табл.).

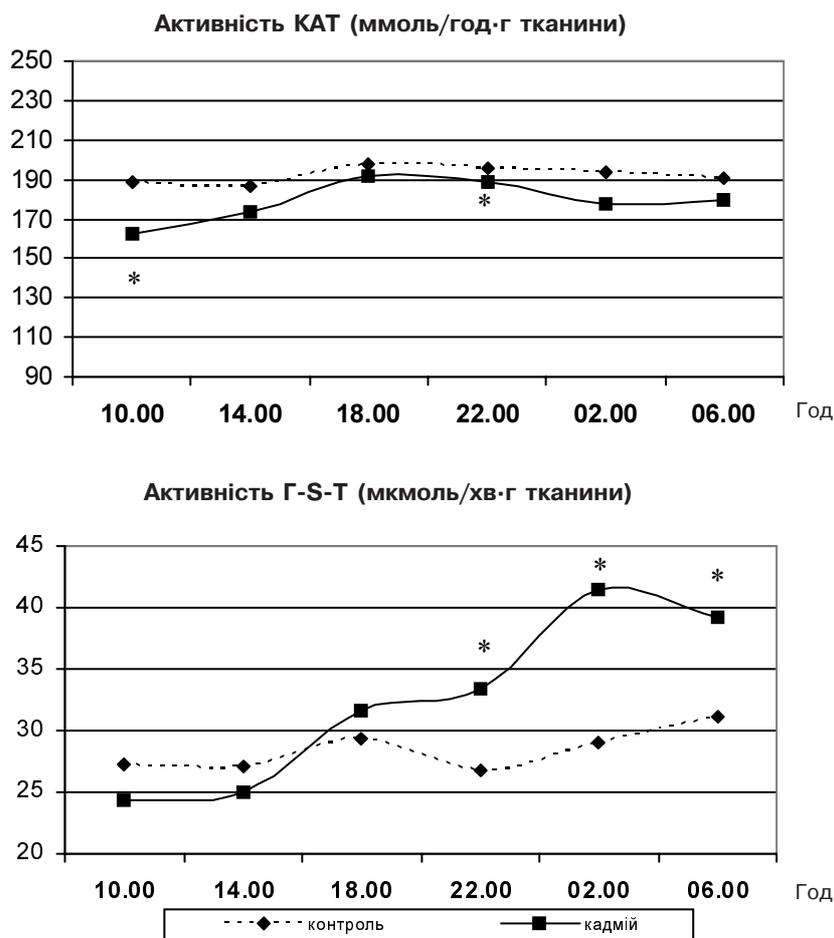


Рис. 2. Хронограма добової активності КАТ і Г-S-T у гомогенатах печінки статевонезрілих щурів на тлі тривалої дії низьких доз кадмію хлориду (* – вірогідність різниці показників порівняно з контролем).

Таким чином, тривале надходження в організм СНЗ щурів низьких доз кадмію хлориду суттєво не впливає на рівень ОМБ у плазмі крові, проте активує захисні реакції в печінці, при цьому підвищується рівень ЦП у плазмі крові, який синтезується в печінці, та Г-S-T. Поряд із цим, тривале введення низьких доз токсиканту зменшує (виснажує) активність недостатньої зрілості ферменту каталази для знешкодження пероксиду водню як у плазмі крові, так і в печінці.

Порівнюючи отримані нами дані з результатами інших дослідників [1, 4, 6, 10, 13], які вивчали показники про/антиоксидантної рівноваги в динаміці, вводячи кадмію хлорид тваринам одноразово або менш тривалий час, у подальшому, враховуючи здатність токсиканту до кумуляції [3] і недостатню зрілість фермент-

них систем СНЗ тварин, доцільно провести аналогічні дослідження через певні проміжки часу після закінчення затравки тварин кадмію хлоридом у дозах малої інтенсивності.

ВИСНОВКИ. 1. При тривалому (30 діб) надходженні в організм статевонезрілих тварин низьких доз кадмію хлориду (0,03 мг/кг) активується система антиоксидантного захисту, що забезпечує зменшення прооксидантних чинників в організмі.

2. Збільшення амплітуди, зміни фазової структури циркадіанного біоритму, зростання мезору ферментів антиоксидантного захисту (церулоплазмін, глутатіон-S-трансфераза) свідчать про адаптаційно-компенсаторну реакцію організму на тривале надходження низьких доз токсиканту.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гонський Я. І. Особливості окиснювальної модифікації білків у тварин різних вікових груп при кадмієвій інтоксикації / Я. І. Гонський, С. О. Ястремська // Буковин. мед. вісник. – 2005. – **9**, № 2. – С. 63–64.
2. Гордієнко В. В. Вікові особливості хроноритмів екскреторної функції нирок у щурів за тривалої дії малих доз кадмію хлориду / В. В. Гордієнко // Буковин. мед. вісник. – 2006. – **10**, № 4. – С. 28–32.
3. Екотоксикологічні аспекти впливу кадмію на організм людини і тварин / Г. Л. Антоняк, А. Є. Панас, Ю. В. Жилищич, П. П. Білецька // Мед. хімія. – 2007. – **9**, № 3. – С. 112–119.
4. Ерстенюк Г. М. Окислювальні модифікації білків і ліпідів за умов кадміозу та корекція їх унітіолом / Г. М. Ерстенюк // Совр. пробл. токсикол. – 2003. – № 4. – С. 70–72.
5. Емельянов И. П. Структура биологических ритмов в процессе адаптации / И. П. Емельянов. – Новосибирск : Наука, 1986. – 182 с.
6. Кирилів М. В. Оксидативний стрес у білих щурів за умов токсичного впливу іонів кадмію / М. В. Кирилів // Мед. хімія. – 2013. – **15**, № 4 (57). – С. 74–77.
7. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 290 с.
8. Комаров Ф. И. Хронобиология и хрономедицина / Ф. И. Комаров, С. И. Рапопорт. – М. : Трианда Х, 2000. – 488 с.
9. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
10. Матолінець О. М. Вікові особливості антиоксидантної системи у тварин з кадмієвим токсикозом / О. М. Матолінець // Мед. хімія. – 2000. – **2**, № 1. – С. 44–48.
11. Мещишен І. Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І. Ф. Мещишен // Буковин. мед. вісник. – 1998. – **2**, № 1. – С. 156–158.
12. Нариси вікової токсикології / за ред. І. М. Трахтенберга. – К. : Авіцена, 2005. – 256 с.
13. Развитие адаптационных механизмов у самок белых крыс в ответ на воздействие ионов кадмия / Е. В. Степанова, О. В. Слюзова, А. Б. Бучарская [и др.] // Токсикол. вестник. – 2008. – № 3. – С. 23–27.
14. Baker I. R. Relationships between nonoccupational cadmium exposure and expression of nine cytochrome P450 forms in human liver and kidney cortex samples / I. R. Baker, S. Satarug, P. E. Reilly // Biochem. Pharmacol. – 2001. – **6**. – P. 713–721.
15. Habig H. W. Glutathione-S-Transferases / H. W. Habig, M. J. Pabst, W. B. Jacoby // J. Biol. Chem. – 1974. – **249**, N 22. – P. 7130–7139.

ОСОБЕННОСТИ ЦИРКАДИАНЫХ БИОРИТМОВ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРО/АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗА У НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ МАЛЫХ ДОЗ КАДМИЯ ХЛОРИДА

Резюме

Проведено исследование состояния про/антиоксидантной системы у неполовозрелых (5–6 недель) крыс-самцов на фоне длительного воздействия малых доз кадмия хлорида (0,03 мг/кг per os, 30 суток) с анализом хроноритмологической организации функции системы. Выявлено повышение мезора церулоплазмينا в плазме крови и активности глутатион-S-трансферазы в печени, увеличение амплитуды биоритма и уменьшение мезора активности каталазы в плазме крови и печени при неизменном уровне мезора окислительномодифицированных белков в плазме крови.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кадмия хлорид, окислительномодифицированные белки, каталаза, церулоплазмин, глутатион-S-трансфераза, хроноритмы, половозрелые крысы.

V. V. Hordiyenko
BUKOVYNA STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI

PECULIARITIES OF CIRCADIANIAN BIORHYTHMS OF PRO/ANTIOXIDANT HOMEOSTASIS INDECES IN PREADOLESCENT RATS BY THE INFLUENCE OF CADMIUM CHLORIDE IN SMALL DOSAGES FOR A LONG TIME

Summary

The condition of pro/antioxidant system in preadolescent (5–6 weeks) male rats has been investigated against the back-ground of cadmium chloride influence (0.03 mg/kg per os, 30 days) for a long period of time with the analysis of chronorhythmologic organization of the system function. The rise of the mezor of ceruloplasmin in the blood plasma and glutathione-S-transferase activity in the liver, reduction of the mezor of catalase in the blood plasma and liver, the increase of the amplitude in biorhythms indeces against the background of relative stability of the mezor of oxidemodified proteins in the blood plasma have been established.

KEY WORDS: cadmium chloride, oxidemodified proteins, catalase, ceruloplasmin, glutathione-S-transferase, chronorhythms, preadolescent rats.

Отримано 29.07.14

Адреса для листування: В. В. Гордієнко, Буковинський державний медичний університет, Театральна площа, 2, Чернівці, 58002, Україна.