

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ ТА НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ХОМИЧ
НАТАЛІЯ ПЕТРІВНА

УДК 546.48:577.12:611.018.51

**СТАН КЛІТИННОГО МЕТАБОЛІЗМУ У ТВАРИН ЗА ДІЇ ХРОМУ (VI)
І ЗАСТОСУВАННЯ ВІТАМІНУ Е ТА СЕЛЕНУ**

03.00.04 – біохімія

ДИСЕРТАЦІЯ
на здобуття наукового ступеня
кандидата сільськогосподарських наук

Науковий керівник –
доктор біологічних наук, професор
Антоняк Галина Леонідівна

м. Львів-2016

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	4
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	13
1.1. Хром – природний компонент і поллютант довкілля.....	13
1.1.1. Загальна характеристика Хрому.....	13
1.1.2. Розповсюдження Хрому в навколишньому середовищі	16
1.2. Біологічні і токсикологічні ефекти Хрому (VI) в організмі тварин і людини.....	21
1.2.1. Способи надходження і обмін Хрому в організмі тварин і людини.....	21
1.2.2. Вплив Cr (VI) на функціональну активність органів і систем.....	23
1.2.3. Генотоксичність, канцерогенність і цитотоксичність Хрому.....	25
1.3. Вільнорадикальні реакції в організмі тварин та вплив Cr(VI) на прооксидантно-антиоксидантний стан клітин.....	28
1.3.1. Процеси утворення активних форм кисню та антиоксидантна система в організмі тварин.....	28
1.3.2. Вплив Хрому(VI) на прооксидантно-антиоксидантний стан клітин.....	33
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	38
2.1. Підбір піддослідних тварин та постановка експериментів.....	38
2.2. Отримання експериментального матеріалу.....	41
2.3. Визначення концентрації кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактивні продукти)	43
2.4. Визначення активності ензимів антиоксидантної системи та концентрації відновленого глутатіону (GSH).....	43
2.4.1. Визначення супероксиддисмутазної активності.....	43
2.4.2. Визначення глутатіонпероксидазної активності.....	44
2.4.3. Визначення глутатіонредуктазної активності.....	45

2.4.4. Визначення каталазної активності.....	46
2.4.5. Визначення концентрації відновленого глутатіону (GSH).....	46
2.5. Визначення активності ензимів енергетичного обміну.....	47
2.6. Визначення вмісту Хрому в скелетному м'язі та внутрішніх органах кроликів.....	47
2.7. Статистичне опрацювання результатів.....	48
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	49
3.1. Вплив Хрому(VI) на стан прооксидантно-антиоксидантний метаболізм та окремі ланки метаболізму моносахаридів у клітинах внутрішніх органів і лейкоцитах білих щурів.....	49
3.1.1. Вплив Хрому(VI) на процес ПОЛ, антиоксидантну систему, лактатдегідрогеназну та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназну активність в клітинах печінки, нирки та легенів білих щурів.....	50
3.1.2. Вплив Хрому(VI) на процес пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантну систему та ензими катаболізму моносахаридів у лейкоцитах крові лабораторних тварин.....	59
3.2. Вплив Хрому(VI) на процес пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантну систему та ензими енергетичного обміну в клітинах внутрішніх органів і скелетного м'яза кроликів.....	69
3.2.1. Вплив Хрому(VI) на процес пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантну систему та ензими енергетичного обміну в клітинах печінки, нирок та легень кроликів.....	70
3.2.2. Вплив Хрому(VI) на процес пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантну систему та ензими енергетичного обміну в клітинах скелетного м'яза кроликів.....	76
3.3. Вплив антиоксидантів (вітамін Е та Селен) на прооксидантно-антиоксидантний метаболізм у клітинах кроликів за умов надходження Хрому(VI).....	81

3.3.1. Вплив вітаміну Е та Селену на процеси ПОЛ у клітинах кроликів та стан антиоксидантної системи у скелетному м'язі тварин за умов введення $K_2Cr_2O_7$	81
3.3.2. Вплив $K_2Cr_2O_7$ та антиоксидантів (вітамін Е та Селен) на процес пероксидного окиснення ліпідів та активність ензимів у лейкоцитах кроликів.....	88
3.4. Вплив калію дихромату і антиоксидантів на акумуляцію Хрому в органах кроликів та показники продуктивності тварин.....	93
3.4.1. Вплив $K_2Cr_2O_7$ і антиоксидантів на акумуляцію Хрому в клітинах внутрішніх органів і скелетного м'яза кроликів.....	93
3.4.2. Вплив $K_2Cr_2O_7$ і антиоксидантів на показники продуктивності кроликів.....	96
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	103
ВИСНОВКИ.....	118
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	121
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	122
ДОДАТКИ.....	160

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФК	активні форми кисню
ДТНБК	5,5'-дитіо-біс(2-нітробензойна) кислота
ГП	глутатіонпероксидаза
ГР	глутатіонредуктаза
ЛДГ	лактатдегідрогеназа
НСТ	нітросиній тетразолій
ПОЛ	пероксидне окиснення ліпідів
СОД	супероксиддисмутаза
ТБК	2-тіобарбітурова кислота
GSH	глутатіон (відновлена форма)
NADH	нікотинамідаденіндинуклеотид (відновлена форма)
NADP	нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат
NADPH	нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (відновлена форма)

ВСТУП

Актуальність теми. Хром (Cr) – перехідний важкий метал, біологічна роль якого в екосистемах та організмі людини і тварин значною мірою залежить від ступеня окиснення. У тривалентному стані (Cr(III)) це життєво важливий для людини і тварин мікроелемент, а в шестивалентному (Cr(VI)) – елемент із токсичними, мутагенними і канцерогенними властивостями [32, 65, 66, 157, 220, 229, 262, 316]. Шестивалентний Хром нині розглядають як один із найнебезпечніших хімічних чинників. Розповсюдження сполук Cr(VI) – хроматів і дихроматів – у компонентах довкілля внаслідок антропогенної діяльності в індустріальних районах, техногенне забруднення ґрунтів та невідповідне неправильне захоронення промислових відходів спричиняє забруднення атмосферного повітря і питної води та збільшує ризик надходження Cr(VI) в організм людини і сільськогосподарських тварин [49, 158, 264].

Антропогенні джерела надходження Хрому в компоненти довкілля включають в себе гірничодобувну та металургійну галузі промисловості, гальванічні і зварювальні процеси, спалювання палива і відходів, виробництво будівельних матеріалів, хромовмісних хімічних речовин (в основному хроматів і дихроматів), пігментів, шкіряних виробів та ін. [140, 235].

Відомо, що наслідками тривалого впливу Cr(VI) на організм є порушення метаболізму і функцій клітин дихальної, травної, видільної та імунної систем [67, 216, 241]. Проте шкідливі ефекти цього елемента значною мірою залежать від способу надходження і тривалості впливу на організм, а метаболічна відповідь клітин характеризується тканинною і видовою специфікою. У зв'язку з цим привертають увагу механізми впливу

Cr(VI) на клітини різних видів тварин за умов надходження елемента через травний тракт.

У проведених на сьогодні дослідженнях вивчали токсикологічні аспекти впливу шестивалентного Хрому за умов введення його лабораторним тваринам у високих дозах [114, 225, 241, 243]. Вплив Хрому(VI) на організм тварин, зокрема сільськогосподарських, за умов надходження у невисокій концентрації з'ясований недостатньою мірою. Однак ця проблема є актуальною з огляду на збільшення рівня забруднення навколишнього середовища важкими металами, в тому числі Хромом.

Під час контролю якості кормів, які використовують у годівлі сільськогосподарських тварин, встановлено, що концентрація хроматів у кормах часто перевищує нормативні показники [49, 64, 125, 162, 205, 292]. Зокрема, це стосується територій поблизу розміщення гірничодобувних і промислових виробництв, підприємств із обробки шкіри, а також за умов використання відходів шкіряного виробництва в годівлі тварин [64, 147, 162]. У зв'язку з цим, у ряді випадків вміст Хрому (VI) у скелетних м'язах і внутрішніх органах (печінка, нирки) тварин, яких вирощують на тваринницьких фермах, перевищує допустимий рівень, що шкідливо впливає на здоров'я тварин і знижує якість сільськогосподарської продукції [107, 163]. Трапляється перевищення регламентованого вмісту цього елемента в молоці, м'ясі та інших продуктах тваринництва [145, 147, 247].

Із наукових джерел відомо, що токсичність шестивалентного Хрому значною мірою опосередковується утворенням активних форм кисню під час відновлення Cr(VI) до Cr(III) за участю внутрішньоклітинних редуцтантів, зокрема, глутатіону [69, 219, 226, 229, 311]. Під час цього процесу утворюються проміжні форми Хрому з нижчим ступенем окиснення (Cr(V), Cr(IV)), які здатні утворювати координаційні комплекси та формувати ковалентні зв'язки з макромолекулами, у тому числі, з молекулами ДНК [61, 219, 220, 224, 259].

Однак специфіка впливу Cr(VI) на прооксидантно-антиоксидантний статус клітин та стан системи глутатіону за умов надходження хромату в організм сільськогосподарських тварин з'ясована недостатньою мірою. Тому актуальними є наукові дослідження особливостей ураження клітин клітин внутрішніх органів, скелетного м'яза та лейкоцитів кроликів, а також проблеми корекції порушень клітинного метаболізму, зумовлених надходженням шестивалентного Хрому.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом наукових досліджень кафедри екології та біології Львівського національного аграрного університету (наукова держбюджетна тема «Розробити системи моніторингу природного середовища в умовах сільськогосподарського виробництва», затверджена Міністерством аграрної політики України, № держреєстрації 0100U002334), де автор вивчала вплив Cr(VI) на метаболічні процеси в організмі тварин та можливість корекції порушень застосуванням антиоксидантів – вітаміну Е та Селену.

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – з'ясувати окремі ланки механізмів впливу Cr(VI) на метаболізм та стан антиоксидантної системи у клітинах внутрішніх органів і скелетного м'яза та лейкоцитах крові кроликів і білих щурів за умов надходження калію дихромату через травний тракт, дослідити можливість корекції метаболічних порушень в організмі кроликів та зменшення шкідливого впливу Cr(VI) на продуктивність тварин застосуванням вітаміну Е та Селену.

Для досягнення поставленої мети визначено такі завдання:

1. дослідити вплив Cr(VI) дозою 5 мг/кг живої маси на процес пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), стан антиоксидантної системи та активність ензимів катаболізму моносахаридів у тканинах печінки, нирок, легень і лейкоцитах (лімфоцити, нейтрофільні гранулоцити) у модельному

досліді на білих щурах за внутрішньошлункового уведенням $K_2Cr_2O_7$ упродовж 21 доби;

2. вивчити зміни активності ензимів енергетичного обміну, динаміку процесів ПОЛ і стан антиоксидантної системи в клітинах внутрішніх органів та скелетного м'яза кроликів за внутрішньошлункового введення $Cr(VI)$ дозою 5,0 мг/кг живої маси у формі $K_2Cr_2O_7$ впродовж 14 і 30 діб;

3. дослідити рівень акумуляції Хрому в клітинах внутрішніх органів і скелетного м'яза кроликів за внутрішньошлункового введення $Cr(VI)$ дозою 5,0 мг/кг живої маси у формі $K_2Cr_2O_7$ впродовж 30 діб;

4. з'ясувати коригувальний вплив Селену та вітаміну Е на процеси ПОЛ, стан антиоксидантної системи та акумуляцію Хрому в клітинах кроликів, інтоксикованих уведенням $K_2Cr_2O_7$, та можливість застосування цих антиоксидантів для корекції порушень в організмі тварин, зумовлених надходженням $Cr(VI)$;

5. проаналізувати вплив $Cr(VI)$ за умов уведення $K_2Cr_2O_7$ з питною водою впродовж 60 діб на показники продуктивності кроликів, з'ясувати вплив Селену та вітаміну Е на показники продуктивності тварин за умов щодобового надходження $Cr(VI)$ з розрахунку 5 і 10 мг/кг живої маси.

Об'єкт дослідження: механізми впливу Хрому(VI) на процеси клітинного метаболізму, корекція метаболічних порушень, зумовлених надходженням та акумуляцією цього елемента в організмі тварин.

Предмет дослідження: показники процесів ліпопероксидації, антиоксидантної системи та енергетичного обміну в організмі тварин за умов уведення $K_2Cr_2O_7$ через травний тракт, коригувальний вплив вітаміну Е та Селену на метаболічні процеси в клітинах і продуктивність тварин.

Методи дослідження: біохімічні (спектрофотометричні), цитологічні, фізичні (атомно-абсорбційний аналіз), зоотехнічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше з'ясовано порушення в системі прооксиданти–антиоксиданти в лейкоцитах, легенях і

скелетному м'язі тварин за умов внутрішньошлункового введення Cr(VI) у формі калію дихромату; констатовано, що за умов надходження Cr(VI) зміни в процесах ПОЛ, у стані антиоксидантної системи й активності ензимів енергетичного обміну в клітинах крові та внутрішніх органів кроликів виразніші, ніж за надходження $K_2Cr_2O_7$ в організм лабораторних щурів. Виявлено коригувальний вплив вітаміну Е та Селену на процеси ПОЛ і активність ензимів антиоксидантної системи й катаболізму моносахаридів у клітинах скелетного м'яза та внутрішніх органів тварин за умов надходження шестивалентного Хрому. Вперше визначено рівень акумуляції Хрому у внутрішніх органах і скелетному м'язі кроликів за тривалого надходження $K_2Cr_2O_7$; уперше показано, що за введення Селену та вітаміну Е зменшується інтенсивність накопичення Хрому в клітинах тварин. З'ясовано, що надходження Cr(VI) негативно впливає на інтенсивність росту, якість м'яса і шерсті кроликів, а введення вітаміну Е та Селену послаблює шкідливий вплив Cr(VI) на показники продуктивності тварин.

Практичне значення одержаних результатів. Результати досліджень можна застосовувати під час розробки способів профілактики й корекції порушень клітинного метаболізму та імунної функції лейкоцитів крові в організмі сільськогосподарських тварин у разі споживання корму і питної води на територіях, забруднених сполуками Cr(VI) внаслідок антропогенної діяльності. Результати експериментальних досліджень щодо особливостей впливу Cr(VI) на організм тварин впроваджено в навчальний процес кафедри екології та біології Львівського національного аграрного університету і викладаються у курсах лекцій з екологічної біохімії, екології, екології людини й екологічної токсикології.

Особистий внесок здобувача. Здобувач особисто виконала всі експериментальні дослідження, здійснила статистичне опрацювання результатів, проаналізувала наукові джерела та підготувала роботу до захисту. Планування експериментів, створення наукової концепції та аналіз

отриманих результатів здійснено разом із науковим керівником. Участь співавторів у опублікованих статтях вказана в списку публікацій.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи були представлені на II конференції молодих учених (Варшава, 2006); міжнародних науково-практичних форумах: «Екологічні, технологічні та соціально-економічні аспекти ефективного використання матеріально-технічної бази АПК», «Шляхи підвищення ефективності використання агроресурсного потенціалу», «Теоретичні і практичні аспекти розвитку агропромислового виробництва та сільських територій», «Теоретичні основи і практичні аспекти використання ресурсоощадних технологій для підвищення ефективності агропромислового виробництва і розвитку сільських територій» (Львів, 2008, 2009, 2011, 2012); міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (Запоріжжя, 2012); Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених та студентів «Екологічна безпека держави» (Київ, 2010); VIII Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених і спеціалістів «Агропромислове виробництво України – стан та перспективи розвитку» (Кіровоград, 2012); I Всеукраїнській науковій конференції студентів, магістрантів, аспірантів та молодих учених «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування» (Харків, 2012); XI Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених і спеціалістів «Стан та перспективи розвитку агропромислового виробництва України» (Кіровоград, 2015); звітних наукових конференціях аспірантів і здобувачів Львівського національного аграрного університету (Дубляни, 2008–2011).

Публікації. Основні результати дисертаційної роботи висвітлені в 16 наукових публікаціях. Зокрема, 6 статей опубліковані у наукових фахових виданнях (2 – у науковому журналі, 3 – у наукових вісниках, 1 – у науково-

технічному бюлетені), решта – у збірниках тез доповідей та матеріалах наукових конференцій.

Структура і обсяг роботи. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, опису методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків і списку використаних джерел із 318 найменувань (із них 272 – латиницею) та 3 додатків. Робота викладена на 163 сторінках комп'ютерного тексту. Робота містить 20 таблиць і 10 рисунків, які займають 15 сторінок.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Хром - природний компонент і полютант довкілля

1.1.1. Загальна характеристика Хрому. Хром (Cr) – це один із перехідних важких металів, який належить до природних компонентів літосфери і, водночас, до найвідоміших полютантів антропогенного походження. Хром займає 21-ше місце серед хімічних елементів за рівнем розповсюдження в земній корі і міститься практично в усіх компонентах навколишнього середовища (атмосферному повітрі, ґрунтах, гідросфері) та в організмах [90, 97, 99, 197]. Хоча на сьогодні забруднення навколишнього середовища цим елементом не досягає глобального рівня, локальні викиди Хрому в навколишнє середовище (атмосферу, гідросферу, ґрунти) можуть призвести до його надмірного включення в біогеохімічний колообіг, що становить екологічний ризик для людини і тварин [97, 158].

Характерною хімічною властивістю Хрому є диференційований ступінь окиснення, який може змінюватися від -2 до $+6$. Сполуки зі ступенем окиснення Хрому нижче $+3$ виявляють відновні властивості, а сполуки зі ступенем окиснення елемента понад $+3$ є сильними окиснювачами [96].

Найчастіше в природному середовищі Хром трапляється в станах окиснення $+2$, $+3$ і $+6$. Двовалентний Хром (Cr(II)) є сильним відновником і нестабільний у складі більшості сполук. За контакту з повітрям він легко окиснюється до тривалентної форми (Cr(III)) і тому практично не виявляється в біологічних системах. Хром (III) є найбільш стійким і утворює стабільні сполуки в ґрунті за $\text{pH} > 5,5$. Шестивалентний Хром (Cr(VI)) менш стійкий у природному середовищі, ніж Cr(III), і наявний у ґрунтах в діапазоні $\text{pH} 5,5\text{--}7,5$. Однак, як свідчать наявні у наукових джерелах наявні дані, це

форма Хрому, яка характеризується високою біологічно доступністю для компонентів біоти (рослин, тварин, мікроорганізмів) [90, 100]. Зазвичай Cr(VI) трапляється в середовищі ґрунту у формі оксианіонів хромату (CrO_4^{2-}) або дихромату ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$).

Співвідношення між шестивалентним і тривалентним станами Хрому описується рівнянням: $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightarrow 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O} + 1,33\text{eV}$ [117]. Таким чином, різниця в електричних потенціалах Cr (VI) і Cr (III) відображає сильний окиснювальний потенціал шестивалентного Хрому і необхідність значної енергії (1,33 eV) для окиснення тривалентного Cr до шестивалентної форми. Тому окиснення Cr(III) не трапляється в організмі тварин і рослин [117]. На відміну від цього, сильні окиснювальні властивості шестивалентного Хрому зумовлюють його швидке відновлення в організмі, незалежно від розчинності.

За високих концентрацій Хром, незалежно від ступеня окиснення, шкідливий для життя наземних і водних організмів, однак прояв біологічних ефектів залежить від валентного стану цього елемента. Унікальність Хрому пов'язана з абсолютно різною хімічною поведінкою і рівнем токсичності двох його домінуючих форм. Хром зі ступенем окиснення +6 (Cr(VI)) небезпечніший для біоти, ніж тривалентний Хром (Cr(III)), через його більшу здатність до дифузії через клітинні мембрани [111]. Шестивалентний Хром виявляє більшу мутагенність, канцерогенність і тератогенність і, як показано в дослідженнях, він майже у 100 разів токсичніший, ніж тривалентний [109, 157, 316].

Тривалентний Хром не має здатності легко перетинати клітинні мембрани і характеризується низькою реакційною активністю. З цими властивостями пов'язана його менша токсичність в живих системах [263]. Разом із тим, низька реакційна активність та невисока здатність до надходження в клітини – це найважливіші біологічні особливості, які

відрізняють Cr(III) від Cr(VI). Водночас Хром(III) може утворювати різні координаційні комплекси, з яких основною формою є гексадентатні хелати.

Із наукових джерел відомо, що у невеликих кількостях тривалентний Хром є важливим мікроелементом, необхідним для організму людини і тварин, і вивченню дії Cr(III) присвячено багато наукових праць, зокрема, виконаних упродовж двох останніх десятиріч [9, 32, 41, 53, 54, 88, 207]. Із результатів еспериментальних досліджень, проведених упродовж останніх десятиріч, випливає, що надходження тривалентного Хрому в організм має важливе значення для підтримання фізіологічного рівня глюкози в крові та метаболізму вуглеводів, білків і ліпідів. Це зумовлюється необхідністю Хрому (III) для реалізації біологічної активності інсуліну – зв'язування гормону з мембранним рецептором та передачі регуляторного сигналу в клітину [54, 56, 57, 88, 95, 207].

Тривалентний Хром у навколишньому середовищі має насамперед геологічне походження, а шестивалентний Хром надходить у довкілля, головним чином, внаслідок промислових процесів [264, 316]. Крім того, Cr(VI) може накопичуватися в природному середовищі внаслідок окиснення Cr(III) під час його взаємодії з мінералами, які містять Mn-оксиди [233]. Загалом, вміст Хрому та його мобільність у різних геологічних середовищах значною мірою залежить від ступеня окиснення. Фізико-хімічні фактори (рН, окиснювально-відновний потенціал та ін.) контролюють процеси утворення різних хімічних форм Хрому у ґрунті та компонентах гідросфери.

У тривалентній формі Хром наявний у більшості продуктів і рослинних кормів, а також у харчових добавках і преміксах, які використовують у годівлі тварин. Однак у питній воді міститься, головним чином, Cr(VI), що нині становить значну екологічну проблему [97, 316]. У незабрудненій воді концентрація цього елемента зазвичай не перевищує 1 мкг/л (0,02 мкмоль/л) [138]. Однак антропогенна діяльність в індустріальних районах, техногенне забруднення ґрунтів та невідповідне неправильне захоронення промислових

відходів може призводити до просочування Хрому в підземні води і, отже, забруднення питної води.

Антропогенні джерела надходження Хрому в компоненти довкілля включають в себе гірничодобувну та металургійну галузі промисловості, гальванічні і зварювальні процеси, спалювання палива і відходів, виробництво будівельних матеріалів, хромовмісних хімічних речовин (хроматів і дихроматів) та пігментів, шкіряних виробів та ін. [75, 140, 235].

Хром(VI) нині розглядають як один із найнебезпечніших хімічних чинників. На території США з 2012 року запроваджений обов'язковий контроль не лише загального вмісту Хрому в питній воді, а й рівня забруднення джерел централізованого водопостачання Хромом(VI). Це зумовлено значним ризиком для здоров'я через надходження Cr(VI) в організм людини, зокрема, з питною водою [257, 304]. Під час оцінки антропоєкологічної небезпеки також враховують підвищений ризик смертності від онкологічних захворювань працівників, які впродовж життя зазнають впливу Cr(VI) у граничній дозі (1 мкг/м^3) на робочому місці [186].

1.1.2. Розповсюдження Хрому в навколишньому середовищі.

Концентрація Хрому в континентальній земній корі становить від 80 до 200 мг/кг (в середньому 125 мг/кг) [170]. Цей елемент виявляють і в усіх типах метеоритів [108]. Хром входить до складу великої кількості мінералів, більшість з яких містить Cr (III). Основний хромовмісний мінерал – хроміт, або хромовий залізняк (FeCr_2O_4), у якому виявляють майже 70 % оксиду Хрому (Cr_2O_3). Із мінералів, які містять Cr (VI), в природі трапляються тільки крокоїт (плюмбуму хромат) і лопецит (калію дихромат, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) [170].

Хром в атмосферному повітрі. В атмосферне повітря Хром зазвичай потрапляє у формі твердих частинок, а відтак зазнає сухого або вологого осадження на сушу та водне середовище, впливаючи на наземні та водні екосистеми. Джерела надходження Хрому в атмосферу насамперед

антропогенні, і їхня частка в загальному рівні забруднення повітря цим елементом становить (60–70 %); решта Хрому вивільняється з природних джерел [203]. До природних процесів, які зумовлюють надходження Хрому у повітря, належить, головним чином, вулканічна активність, ерозія ґрунтів і гірських порід [190].

Більшість антропогенних джерел продукує дрібні частинки (аеродинамічний діаметр менше 1 мкм) [143], які характеризуються тривалим часом перебування в атмосфері і, отже, піддаються перенесенню на великі відстані. Найбільші значення концентрацій Хрому загалом і Cr(VI) виявляють у повітряному басейні індустріальних районів. Показано, що на Cr(VI) припадає приблизно одна третина від усього Хрому, який надходить в атмосферу із антропогенних джерел [68, 181]. Гранично допустима концентрація Cr(VI) у повітрі (ГДК) становить 0,005 мг/м³ [227].

Хром у водному середовищі. За результатами досліджень, проведених у 1980-х роках, концентрація Хрому у прісноводних об'єктах становить в середньому 1,0 мкг/л (діапазон: 0,1-6,0 мкг/л), а в морській воді – 0,3 мкг/л (діапазон: 0,2-50 мкг/л) [197]. Проте в дослідженні, проведеному 2004 р., в якому проаналізовано 407 водних об'єктів на території США, включно з ґрунтовими і поверхневими водами, встановлено значно ширший діапазон загального вмісту цього елемента: від < 0,2 мкг/л до 47,1 мкг/л (середнє значення – 2 мкг/л) [118].

Дренажні води із забруднених районів можуть містити більшу концентрацію цього елемента. Наявні дані про те, що Хром є одним із найбільш поширених неорганічних забруднювачів ґрунтових вод у місцях захоронення небезпечних відходів та розміщення сміттєзвалищ [77]. Забруднення Хромом(VI) ґрунтових вод становить значний ризик для людей, оскільки ці води широко використовують для забезпечення водою населення [111, 158, 233].

Згідно з діючими нині нормами, максимально допустимий рівень Хрому (ГДК) в питній воді становить 0,1 мг/л [170], однак вміст шестивалентного Хрому у джерелах питного водопостачання на території України не контролюється.

Хром у ґрунтах. Концентрація Хрому у педосфері значною мірою залежить від компонентного складу материнських порід, а також від впливу антропогенних чинників, зокрема, рівня промислового розвитку регіону [91]. Крім того, надходженню цього елемента в сільськогосподарські ґрунти сприяє використання органічних відходів як добрива та застосування стічних вод для зрошення [299, 310]. Загалом, концентрація Хрому в ґрунтах коливається в широких межах. У дослідженнях, проведених впродовж 1970-х років, показано, що цей показник в середньому становить 40 мг/кг (змінюючись у різних ґрунтах від 10 до 150 мг/кг) [197]. Результати сучасних праць свідчать, що верхня межа концентрацій Хрому в ґрунтах може бути значно більшою і на певних ділянках або територіях перевищувати гранично допустимий рівень. Зокрема, у дослідженнях, проведених на території США, вміст Хрому у ґрунтах з різним рівнем забруднення може досягати значень 1,0–2 000 мг/кг, хоча середнє геометричне із діапазону зазначених концентрацій становить 37,0 мг/кг [68].

У більшості ґрунтів Хром наявний, головним чином, у тривалентній формі, проте за певних умов у ґрунтового середовищі може відбуватися окиснення Cr(III) до Cr(VI) [90]. Найбільш розповсюджені форми Хрому в ґрунті – катіон Cr^{3+} (тривалентний Хром), хромат- і дихромат-аніони (шестивалентний Хром) [68].

Відносний вміст Cr(VI) і Cr(III) залежить від складу ґрунту і едафічних чинників. Показник рН ґрунтового середовища, окисно-відновний потенціал (Eh) та вміст органічної речовини істотно впливають на розподіл Хрому в ґрунті [90, 197]. Хром (III) легко утворює осади, а Cr(VI) – мобільніший у ґрунтового профілі. Рухливість Cr(VI) в середовищі відбувається через його

високу розчинність у воді. Хром (III) нерозчинний за фізіологічних значень рН і, таким чином, менш мобільний. На рухливість Хрому в ґрунті впливає й показник Eh: Cr(VI) стабільніший за окисних умов, а Cr(III) – за відновлювальних умов [208].

Через токсичність Cr(VI) щодо біоти і здатність легко мігрувати в ґрунтові води, рухливість Cr(VI) створює значні екологічні проблеми, пов'язані із забрудненням цим елементом навколишнього середовища [91]. Мобільність Cr(VI) посилюється за нейтрального значення рН ґрунтових вод, особливо за наявності конкуруючих оксианіонів [189]. Разом із тим, Cr(VI) може швидко відновлюватись у ґрунті до Cr(III) за наявності органічних речовин або інших відновлювальних сполук як донорів електронів [189, 190].

Фізико-хімічні властивості та мікробіологічні характеристики ґрунту впливають на мобільність і біодоступність Хрому у педосфері. Відзначено, що практично будь-які ґрунти за рН вище 5,0 та наявності вологи здатні окиснювати частину Cr(III) до Cr(VI). Крім того, на поверхні ґрунтів відбувається фотохімічне окиснення Cr(III) [90]. Наявність металів-катализаторів (Fe, Mn) також сприяє окисненню Хрому в середовищі ґрунту [159]. Зокрема, кількість Cr(III), який у ґрунті окиснюється до Cr(VI), безпосередньо залежить від вмісту Mn, здатного до відновлення. Органічні кислоти (такі як лимонна, галова) підвищують розчинність і рухливість Cr(III) і таким чином, полегшують його окиснення. Разом із тим, показано, що за наявності багатьох органічних кислот (таких, як оцтова, хлороцтова, дихлороцтова трихлороцтова, сульфосаліцилова, лимонна, фталева) зменшується або повністю пригнічується швидкість реакції відновлення шестивалентного Хрому до тривалентного за участю іонів Феруму [251].

Ґрунтові мікроорганізми здатні до ефективного окиснення і відновлення Хрому, наявного в ґрунті [90, 208]. У дослідженні [90] показано, що рівень перетворення Cr(III) до Cr(VI) за участю мікробів значно більший, ніж рівень абіотичного окиснення за наявності металів-катализаторів, і

становить в середньому 0,14 мг/кг (у перерахунку на суху масу). Оскільки Cr(VI) характеризується більшою біодоступністю, ніж Cr(III), опосередковане мікроорганізмами окиснення тривалентного Хрому може посилювати шкідливі ефекти цього елемента щодо ґрунтової біоти і сприяти поглинанню Хрому в клітинах кореневої системи рослин [90].

З іншого боку, в ґрунті широко поширені мікроорганізми, які здійснюють відновлення Cr(VI) до тривалентної форми. Із забруднених Хромом ґрунтів виділено велику кількість штамів бактерій і дріжджів та деякі види водоростей, які характеризуються винятковою здатністю відновлювати Cr(VI) до Cr(III) за анаеробних і/або аеробних умов [208].

Хром у рослинах. Рівень накопичення Хрому в рослинах має важливе значення, оскільки рослинні продукти є істотним компонентом харчування людини і тварин. Загалом, вміст цього елемента в рослинах злаків, зерні і зернових продуктах коливається в широких межах – від 40 до 220 мкг/кг, у свіжих овочах він становить 30-140 мкг/кг, у свіжих фруктах – 90–190 мкг/кг [268].

Відомо, що Хром не виконує фізіологічних функцій у рослинах, однак цей елемент може надходити через кореневу систему з ґрунту за допомогою систем транспорту есенціальних елементів. Рівень накопичення Cr(III) і Cr(VI) у рослинах неоднаковий у зв'язку з різною біологічною доступністю цих форм елемента і залежить від концентрації Хрому, типу ґрунту і едафічних умов [99, 223]. Показано, що акумуляція Хрому в органах рослин відбувається інтенсивніше за умов вирощування за наявності Cr(VI), ніж за наявності Cr(III) у середовищі. Проте після абсорбції в рослинах Cr(VI) може легко відновлюватися до Cr(III) [303].

Рівень накопичення Хрому в різних видах рослин значною мірою визначається їхньою толерантністю до впливу цього елемента. Наявні дані про те, що обидві хімічні форми Хрому спричиняють пригнічення росту рослин, зниження провідності продохів та інтенсивності фотосинтезу, однак

токсичність Cr(VI) виявляється виразніше порівняно з Cr (III) [214]. У багатьох дослідженнях встановлена токсичність Хрому щодо важливих в агрономічному аспекті рослин за концентрацій у ґрунті від 5 до 100 мкг/г або від 0,5 до 5,0 мкг/мл в живильному розчині [99, 100, 223]. Проте деякі рослини мають здатність нагромаджувати Хром у високих, а часто і в токсичній концентрації. Це сприяє розповсюдженню цього елемента в харчових ланцюгах і може шкідливо впливати на тварин-консументів та організм людини.

1.2. Біологічні і токсикологічні ефекти Хрому в організмі тварин і людини

У дослідженнях, проведених під егідою Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), Агентства з охорони навколишнього середовища (ЕРА) і Міжнародного агентства з вивчення ракових захворювань (IARC) встановлено, що Cr(VI) є сильним токсикантом, потужним подразником епітеліальних покривів і канцерогеном щодо людини [170]. Що стосується тривалентного Хрому, то, як свідчать результати клінічних досліджень, доказів щодо несприятливих ефектів, пов'язаних з його надходженням в організм у кількостях, які не перевищують 1 мг на добу, немає [268]. Зазвичай надходження Хрому (III) з їжею у мешканців європейських країн є значно нижчим від цієї дози [268].

1.2.1. Способи надходження та обмін Хрому в організмі тварин і людини. Надходження Хрому (незалежно від ступеня окиснення) в організм людини може відбуватися пероральним або парентеральним способами. Рівень надходження Хрому в організм сільськогосподарських тварин значною мірою визначається його вмістом у кормах та питній воді, а також

використанням у годівлі мікроелементних добавок. Хоча концентрація Хрому в рослинних кормах загалом невисока, деякі види трав і овочевих культур характеризуються здатністю нагромаджувати цей елемент, що створює ризик його надмірного надходження в організм тварин. Вплив цього елемента на тварин збільшується і внаслідок підвищеного вмісту Хрому у повітряному басейні індустріальних районів. Тому забруднення хроматами навколишнього середовища (грунту, води та атмосфери) загалом, несприятливо впливають на тваринницьку галузь аграрного виробництва.

За перорального надходження Хрому його абсорбція здійснюється, головним чином, у тонкому кишечнику, причому Cr(VI) абсорбується значно швидше, ніж Cr(III) [55]. Тривалентний Хром абсорбується у формі Cr^{3+} і збільшенню швидкості його всмоктування сприяє утворення хелатів з амінокислотами та деякими іншими компонентами їжі [198].

Шестивалентний Хром абсорбується у формі хромат- або дихромат аніонів за допомогою систем мембранного транспорту есенціальних аніонів, насамперед сульфату [266]. За умов перорального надходження значна частина Cr(VI) відновлюється до Cr(III) в інших ділянках травного тракту перед потраплянням у тонкий кишечник. Транспорт Хрому в організмі здійснюється за допомогою білків плазми, в тому числі, у складі комплексів з альбуміном і трансферином [176, 248].

За різних способів надходження в організм людини і тварин Хром може акумулюватися в клітинах тканин, причому високу концентрацію цього елемента виявляють у клітинах нирок, печінки, селезінки, статевих залозах [285]. Значна частина Хрому відкладається в кістковій тканині, м'язах і шкірі [55]. Наявні дані про те, що за експериментального введення сполук Cr(VI), Хром накопичується в гіпофізі і впливає на секрецію пролактину [204].

Виділення Хрому з організму відбувається, головним чином, через нирки і травний тракт, певна частка елемента виділяється з жовчю і потом. За фізіологічних умов із сечею виділяється менше 1 мкг Хрому на добу, однак

ця кількість може змінюватись за стресового стану, а також під час деяких захворювань, таких як цукровий діабет [51].

1.2.2. Вплив Cr(VI) на функціональну активність органів і систем.

Вплив шестивалентного хрому на організм людини і тварин супроводжується широким спектром токсичних ефектів і, залежно від способу надходження (інгаляційний, через травний тракт або шкіру), призводить до пошкодження внутрішніх органів (легені, шлунок, нирки, печінка) та шкірних захворювань (виразки, екзема, алергічний контактний дерматит) [67, 70, 158, 221, 275]. Глибина метаболічних порушень залежить від тривалості впливу Cr(VI) на організм. За тривалого надходження Cr(VI) з повітрям відбувається порушення функцій дихальної, травної, видільної, кістково-м'язової, нервової та імунної систем, збільшується ризик розвитку злоякісних пухлин [32, 65, 70, 78, 104, 199, 306].

Надходження Cr(VI) у формі хромату через травний тракт спричиняє важкі пошкодження органів шлунково-кишкової системи, кровотечі, ушкодження печінки і нирок, геморагічний діатез, судоми, серцево-судинний шок і в дозах 1,0-5,0 г може призвести до летальних наслідків. Наявні повідомлення щодо випадків смертельного отруєння людей сполуками шестивалентного Хрому в дозах 4,1 та 29 мг/кг маси [68]. Летальна доза (LD₅₀) для щурів у разі перорального введення Cr(VI) становить 16,0 мг/кг маси тіла у самок і 24,5 мг/кг маси у самців [154]. Пероральне введення Cr(VI) тваринам у дозах понад 10 мг/кг маси впливає, головним чином, на органи шлунково-кишкового тракту, видільну та кровотворну системи [68].

На сьогодні доведена канцерогенна дія шестивалентного хрому за надходження через дихальну систему і легені визнані мішенню канцерогенності Cr(VI) за результатами епідеміологічних досліджень [171]. Проблема щодо канцерогенного впливу Cr(VI) в разі перорального надходження остаточно не з'ясована. Загалом, вважають, що надходження Cr(VI) в низьких або помірних дозах через травну систему не спричиняє

канцерогенного ефекту, тому що в шлунку Cr(VI) відновлюється до Cr(III) [87, 165, 178, 267]. Показано, що не лише шлунковий сік, а й продукти секреції слинних залоз здатні відновлювати шестивалентний Хром до тривалентного [146, 267]. Це забезпечує захист від токсичних ефектів металу, введеного через шлунково-кишковий тракт.

У дослідженнях на гризунах показано, що в трьох поколіннях мишей, які отримували Cr(VI) в дозі 9 мг/кг маси тіла щодоби з питною водою, не проявлялись канцерогенні ефекти [68]. У дослідженні, проведеному в 1970-х роках, не виявлено канцерогенних ефектів у щурів, яким згодовували Cr(III) у дозі 2040 мг/кг маси щодоби впродовж двох років [179]. Однак результати сучасних досліджень, проведених упродовж останніх двох десятиріч свідчать, що тривале пероральне надходження Cr(VI) у малих дозах та гостре отруєння цим елементом спричиняє генотоксичну дію в гепатоцитах, клітинах головного мозку, лейкоцитах [63, 202, 256], а за високих доз може спричиняти канцерогенні ефекти в ротовій порожнині, шлунку та кишечнику [66, 218, 256]. З епідеміологічних досліджень наявні докази того, що шестивалентний Cr спричиняє підвищений ризик розвитку лімфоми, лейкемії, раку шлунка, статевих залоз, нирок, сечового міхура [110].

На сьогодні наявно багато даних щодо канцерогенних ефектів шестивалентного Хрому за умов надходження з питною водою [66, 256]. Тому важливою проблемою є забруднення Хромом питної води, яке часто трапляється в системах водопостачання в різних країнах [50, 87, 256, 316].

Результати досліджень на тваринах свідчать, що надходження Cr(VI) у високих дозах спричиняє пригнічення процесів ембріонального розвитку. Наприклад, пероральне введення вагітним мишам Cr (VI) в дозі 57 мг/кг маси тіла на добу в формі $K_2Cr_2O_7$ призводило до смертності ембріонів, значних порушень розвитку та зниження маси плода [184]. Введення з питною водою Cr(VI) (85 мг/кг маси щодоби) самкам щурів впродовж трьох місяців до

вагітності також призводило до зменшення маси плода та порушень у формуванні скелету [139].

У дослідженнях на лабораторних тваринах встановлено, що пероральне надходження тривалентного і шестивалентного хрому в організм дорослих самців і самок може спричиняти несприятливий вплив на фертильність і відтворення. Зокрема, впоювання CrCl_3 з водою в концентраціях від 1 000 до 5 000 мг/л (еквівалентно дозам від 250 до 1 250 мг/кг маси тіла) самцям і самкам миші призводило до збільшення маси сім'яників і яєчників, значного зниження плодючості та маси сім'яних везикулів у самців, зменшення маси матки у самок, збільшення кількості випадків резорбції плодів та мертвонародженого потомства [136].

У дослідженнях на щурах показано, що плодючість самців щурів, які зазнавали впливу хрому хлориду з питною водою в концентрації 1 000 мг/л (це становить приблизно 16,5 мг тривалентного хрому на 1 кг маси тіла) впродовж 12 тижнів, не змінювалась, проте у тварин спостерігали значне зниження маси сім'яників і сім'яних везикулів [128].

1.2.3. Генотоксичність, канцерогенність і цитотоксичність Хрому.

Наприкінці ХХ сторіччя велика кількість сполук Хрому були проаналізовані на генотоксичність за умов *in vitro* та в природних умовах. У цих дослідженнях враховували різні властивості сполук: ступінь окиснення, розчинність, здатність проникати через клітинні мембрани та взаємодіяти з клітинними компонентами, стабільність у внутрішньоклітинному середовищі. Встановлено, що більшість сполук Хрому (VI) є генотоксичними за умов *in vitro* та *in vivo*, що зумовлюється їхньою розчинністю і біодоступністю, тобто здатністю проникати в клітини-мішені [156, 170]. Водночас сполуки Хрому (III), незважаючи на те, що часто є більш реакційно активними, ніж Cr(VI) щодо очищених нуклеїнових кислот, як правило, не спричиняють збільшення частоти генних мутацій, обміну ділянками між

сестринськими хроматидами (SCE, sister chromatid exchanges) і трансформації клітин у культивованих клітинних лініях ссавців [170]. Однак показано, що сполуки Cr(VI) і Cr(III) спричиняють зменшення правильності синтезу молекул ДНК [281]. Крім того, неоднозначні результати були отримані *in vitro* під час аналізу впливу Cr(III) на частоту хромосомних аберацій у культивованих клітинах тварин і лейкоцитах людини. Зокрема, позитивні результати отримані під час досліджень таких сполук, як: CrCl₃, Cr(NO₃)₃, KCr(SO₄)₂, Cr(CH₃COO)₃ [194, 214, 222]. Однак в цих та інших дослідженнях не виявлено кластогенної дії Cr₂(SO₄)₃ в клітинах FM3A миші, CrCl₃ та Cr(NO₃)₃ в лейкоцитах людини, Cr₂(SO₄)₃ в клітинах китайського хом'яка [214, 222, 301]. Упродовж 1990-х років в експериментах, проведених на тваринах, показано, що Хром (III) може ковалентно зв'язуватися з молекулами ДНК в печінці та нирках щурів, які отримували CrCl₃ [112]. Проте пошкоджень ДНК в клітинах тварин, які зазнавали впливу CrCl₃, та утворення мікроядер не в клітинах тварин, які отримували хрому нітрат, не спостерігали [170].

У пізніших дослідженнях із застосуванням методу ДНК-комет встановлено, що і Cr(III) (у формі CrCl₃), і Cr(VI) (у формі калію дихромату) спричиняють фрагментацію ДНК в ізольованих лімфоцитах периферичної крові людини [76]. У цьому ж дослідженні показано, що активні форми кисню і гідроген пероксид можуть брати участь в утворенні розривів ланцюгів ДНК спричинених шестивалентним, але не тривалентним Хромом; для останнього може бути важливим зв'язування з внутрішньоклітинними лігандами [76].

Під час обстеження працівників шкіряних підприємств, які зазнають тривалого впливу тривалентного Хрому та робітників, які виконують електрозварювальні роботи і зазнають впливу Cr(VI), встановлено, що обидві форми Хрому можуть призводити до формування поперечних зв'язків у

молекулах ДНК та появи мікроядер у лімфоцитах крові [137]. Збільшення вмісту Хрому виявлено в плазмі крові працівників обох зазначених груп.

У дослідженнях [93] встановлено, що Cr(III)-нікотинат і Cr(III) хлорид гексагідрат ($\text{CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$) не спричиняють пошкодження хромосом за еквівалентних нетоксичних концентрацій. Проте Cr(III)-піколінат і, меншою мірою, хрому хлорид, виявляють здатність індукувати мутації за локусом *hprt* (гіпоксантин-гуанін фосфорибозилтрансфераза) в культивованих клітинах яєчника китайського хом'яка за концентрації 1 ммоль [94].

З метою оцінки канцерогенного ризику Хрому проведено багато експериментальних та епідеміологічних досліджень, у яких проаналізовано здатність Cr(III) та Cr(VI) спричиняти трансформацію та злоякісний ріст клітин [170, 268]. На основі даних, отриманих на тваринах, і результатів обстеження різних груп людей не отримано переконливих даних щодо канцерогенності сполук тривалентного Хрому, і, згідно з висновком Міжнародного агентства з вивчення ракових захворювань (IARC), ці сполуки загалом не класифікують як канцерогенні для людини (група 3) [170]. Натомість Хром(VI) вважають етіологічним чинником, який зумовлює високий ризик розвитку раку у працівників підприємств, пов'язаних із виробництвом та використанням Хрому, і зараховують його до канцерогенів 1-ї групи [48, 170, 171]. Канцерогенні властивості Cr(VI) доведені і в експериментальних дослідженнях на різних видах тварин [110].

Відомо, що сполуки шестивалентного Хрому є цитотоксичними і здатні спричиняти загибель клітин шляхом апоптозу [69, 98, 103, 164, 166, 167, 225, 293]. Зокрема, у дослідженнях, проведених *in vitro* на культивованих епітеліальних клітинах нирки опосума (OK) і печінки (Hep G2) показано, що Cr(VI) спричиняє загибель 50% цих клітин за концентрацій, відповідно, 5 мкмоль/л і 50 мкмоль/л [177]. Проте механізм індукованої сполуками Cr(VI) цитотоксичності повністю не з'ясований. Вважають, що такий вплив опосередковується оксидативним стресом, який розвивається в клітині під

впливом Хрому (VI) [225]. Водночас показано, що під впливом Cr(VI) активуються низка транскрипційних чинників, таких як NF- κ B, AP-1, p53 та ін., задіяних у контролі експресії генів клітинного циклу та апоптозу [69, 224, 229, 234].

Крім того, у наукових джерелах наявні повідомлення й про те, що Хром(VI) може зумовлювати некротичне пошкодження клітин, зокрема нирки, і пероральне надходження цього елемента може призводити до розвитку гострого тубулярного некрозу у людини [177].

1.3. Вільнорадикальні реакції в організмі тварин та вплив Cr(VI) на прооксидантно-антиоксидантний стан клітин

1.3.1. Процеси утворення активних форм кисню та антиоксидантна система в організмі тварин. Життя аеробних організмів залежить від використання кисню, який метаболізується в електронтранспортному ланцюзі мітохондрій шляхом чотириелектронного відновлення до двох молекул води за участю цитохром *c*-оксидази – останнього компонента дихального ланцюга. Як відомо, таким шляхом метаболізується понад 90% кисню, який надходить до клітин. Разом із тим, певна частина молекул O₂ метаболізується шляхом послідовного одноелектронного відновлення, що призводить до утворення так званих активних форм кисню (АФК), насамперед, вільних радикалів, які характеризуються високою реакційною активністю [17, 22, 277]. Вільні радикали та інші активні форми кисню можуть вивільнятися із мітохондрій та реагувати з внутрішньоклітинними молекулами, внаслідок чого відбувається зміна структури або утворення реакційно активних форм цих молекул [3, 22, 33, 92, 122, 150]. На сьогодні відомо, що активні форми кисню утворюються не тільки в мітохондріях, як продукти неповного відновлення молекул O₂, але і в цитоплазмі клітин, мікосоммах, плазматичній та ядерній мембранах, а також у позаклітинному

середовищі, зокрема, у плазмі крові [3, 17, 33, 152]. Джерелом їхнього утворення є транспорт електронів у мембранах мітохондрій, функціонування цитохромів P-450, NADPH-залежних оксидаз (представників NOX-родини ензимів), які широко розповсюджені в клітинах різних органів і тканин, та деякі інші метоловмісні білки [71, 122, 123, 150, 180]. Активні форми кисню продукуються фактично в усіх типах клітин, зокрема, високий рівень їхнього утворення виявляється в лейкоцитах, здатних до фагоцитозу (таких, як макрофаги, моноцити, нейтрофільні гранулоцити) [123, 151, 308]. Інтенсивність утворення АФК в клітинах може збільшуватися за певних фізіологічних умов, під час старіння організму, у патогенезі різних захворювань, а також під впливом екологічних чинників (зокрема, іонізуючого випромінювання), за умов надходження в організм ксенобіотиків та важких металів [3, 22, 33, 150, 276, 305]. Крім того, лейкоцити за допомогою активних форм кисню здійснюють протимікробну та противірусну функцію, і рівень вивільнення АФК збільшується під час активації цих клітин під впливом медіаторів запалення [151, 308].

Процес накопичення АФК в клітині має характер ланцюгової реакції, початковою стадією якої є утворення супероксидного аніон-радикалу ($O_2^{\cdot-}$), який, у свою чергу, є попередником утворення широкого спектру реакційно активних оксидантів (гідроген пероксид, окиснені форми галогенів, синглетний кисень та інші) [71, 122, 123, 150, 151, 180, 278]. За фізіологічного рівня рН супероксидний аніон-радикал зазнає спонтанної або ензиматичної (за участю Mn- та Cu,Zn-залежних супероксиддисмутаз) дисмутації з утворенням в обох випадках гідроген пероксиду (H_2O_2) [122, 152, 153, 278]. Останній, взаємодіючи з супероксидним радикалом за наявності перехідних металів (насамперед, Fe або Cu), може утворювати гідроксильний радикал ($\cdot OH$), який належить до найбільш реакційно активних форм кисню [151]. За наявності Fe^{2+} або іншого відновника цей

радикал може утворюватись безпосередньо з гідроген пероксиду (реакція Фентона) [123, 151].

Необхідно зазначити, що активні форми кисню беруть участь у низці метаболічних процесів та фізіологічних функціях клітин. Вони задіяні у передачі регуляторних сигналів, процесах проліферації, диференціації, апоптозу клітин [73, 92, 150, 236, 274, 278]. Проте за умов утворення АФК в надлишкових кількостях вони виявляють потужну руйнівну дію в клітинах та організмі загалом, спричиняючи розвиток оксидативного стресу [3, 33, 123, 246, 250, 276]. Оксидативний стрес, який розвивається внаслідок дисбалансу між вмістом прооксидантів і антиоксидантів, призводить до метаболічних порушень і пошкодження клітин і тканин. Як відомо, в результаті розвитку оксидативного стресу може відбуватись пошкодження структури і функцій клітинних мембран, молекул ліпідів, білків, нуклеїнових кислот, компонентів позаклітинного матриксу, транспортних білків [33, 92, 150, 195, 250, 305].

Значний ризик розвитку оксидативного стресу виникає в органах і тканинах з високою метаболічною активністю та енергетичними потребами, таких як серцевий та скелетний м'язи, печінка, клітини крові [246]. Стрес розвивається у тварин у відповідь на несприятливі умови навколишнього середовища, під впливом фізичних, хімічних та біологічних чинників, коли рівень утворення прооксидантів перевищує здатність клітини чи організму нейтралізувати їхній шкідливий вплив [123, 276, 277]. Наявність стресу в організмі тварин спричиняє зменшення продуктивності, погіршення імунного статусу, зміни функціональної активності ендокринної системи, порушення метаболізму та функцій клітин.

Однією з важливих ланок у розвитку в клітині та організмі оксидативного стресу є інтенсифікація процесу пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Під час цього процесу поліненасичені жирні кислоти окиснюються з утворенням пероксирадикалів, які, в свою чергу, зумовлюють подальше окиснення ненасичених жирних кислот у ланцюговому процесі

ліпопероксидації [22, 46, 92, 195]. На сьогодні відомо, що зумовлена інтенсифікацією утворення АФК активація пероксидного окиснення ліпідів, порушення балансу між вмістом прооксидантів та антиоксидантів у клітинах і оксидативний стрес – це фактори, які відіграють важливу роль у розвитку багатьох патологічних станів в організмі (атеросклероз, ревматоїдний артрит, цукровий діабет, нейродегенеративні та інші захворювання, розвиток злоякісних пухлин) [47, 123, 150, 191, 276, 297, 305].

За таких умов важливе значення мають антиоксидантні механізми, дія яких скерована на захист клітин від пошкодження під впливом цих реакційно активних метаболітів. До компонентів антиоксидантної системи належать неензимні антиоксиданти (головним чином, глутатіон, вітаміни А, Е, С), які безпосередньо взаємодіють із вільними радикалами, знешкоджуючи їх, та низка ензимів (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктаза, глутатіонтрансфераза), які функціонують у різних типах клітин (а окремі з них – і у плазмі крові та інших біологічних рідинах), каталізуючи реакції детоксикації активних форм кисню [58, 59, 62, 82, 83, 141, 152, 153, 169, 195, 277, 312].

Вітамін Е (α -токоферол) вважають найефективнішим знешкоджувачем вільних радикалів у ліпідній фазі клітин [141, 217, 242, 273, 279, 280]. Вітамін Е пригнічує пероксидацію ліпідів, взаємодіючи з пероксильними радикалами, які є проміжними компонентами ланцюгової реакції: $\alpha\text{-ТН} + \text{LOO}\cdot \rightarrow \alpha\text{T}\cdot + \text{LOOH}$. Токофероксильний радикал ($\alpha\text{T}\cdot$) – це менш реакційно активна сполука ніж пероксильний радикал ($\text{LOO}\cdot$), тому внаслідок його утворення інтенсивність процесу пероксидного окиснення ліпідів пригнічується [279].

У водній фазі клітин антиоксидантну функцію виконують низка природних сполук, з яких найважливіше значення має глутатіон [58, 200, 258]. Глутатіон синтезується в різних типах клітин в організмі тварин і людини, рослин та мікроорганізмів. За структурою це трипептид (γ -глутаміл-цистеїн-гліцин), який може перебувати у відновленому (GSH) та окисненому

станах. У відновленому стані глутатіон виявляє відновні властивості і здатний реагувати з вільними радикалами та іншими АФК (зокрема, $O_2^{\cdot-}$, HO^{\cdot} , H_2O_2). Разом з тим, глутатіон бере участь у таких метаболічних процесах, як синтез білків, активація ензимів, відновлення інших антиоксидантів (зокрема, аскорбінової кислоти) [200, 258, 294].

Серед ензимів антиоксидантної системи значну увагу привертають дві групи ензимів – супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1) і глутатіонпероксидази (КФ 1.11.1.9), структуру, функціональні особливості та роль яких у захисті клітин інтенсивно досліджують впродовж останніх десятиріч. Особлива роль у захисних механізмах належить групі супероксиддисмутаз, які каталізують реакцію дисмутації супероксидного радикалу з утворенням гідроген пероксиду та молекул O_2 [152, 153, 277]. У групі супероксиддисмутаз еукаріот виділяють два класи ензимів, залежно від металів, які містяться в активному центрі їх молекул: Cu/Zn-СОД (СОД1) і Mn-СОД (СОД2), що локалізуються, відповідно, в цитозолі і мітохондріях клітин [152, 153]. Крім того, супероксиддисмутаза, яка містить іони Cu і Zn (СОД3), виявлена в плазмі, лімфі, синовіальній рідині людини і тварин [249, 289]. Вважають, що ця форма супероксиддисмутази регулює рівень супероксидного аніон-радикалу в позаклітинному середовищі та захищає від пошкодження компоненти позаклітинного матриксу [249].

Ензими, що належать до групи глутатіонпероксидаз, каталізують процес відновлення гідроген пероксиду та гідропероксидів органічних молекул до відповідних гідроксисполук, використовуючи відновлений глутатіон як кофактор реакції [62, 83, 283]. Глутатіонпероксидази за структурою належать до селенопротеїнів, оскільки містять в активному центрі Селен у формі амінокислоти селеноцистеїну [196, 254, 283, 309]. У більшості типів клітин молекули глутатіонпероксидази складаються з чотирьох субодиниць, кожна з яких містить один селеноцистеїновий залишок

[83, 283]. Активність глутатіонпероксидаз часто корелює з рівнем Селену в організмі і може пригнічуватись за умов нестачі цього елемента [3, 195].

Відомі декілька ізоензимів глутатіонпероксидази, синтез яких кодується різними генами. Вони відрізняються субстратною специфічністю і локалізацією в клітинах [149, 300, 309]. Найбільш розповсюджений ізоензим – глутатіонпероксидаза 1 (GPx1), що виявляється у цитоплазмі практично усіх клітин організму ссавців і використовує гідроген пероксид як субстрат [300]. Глутатіонпероксидаза 4 (GPx4) також функціонує фактично в усіх клітинах ссавців, хоча її вміст менший, ніж вміст GPx1. На відміну від інших ізоензимів, GPx1 має мономерну структуру. Цей ізоензим характеризується високою здатністю до відновлення гідропероксидів фосфоліпідів і менш чутливий до нестачі Селену [309]. Показано, що 30–70 % активності цього ензиму зберігається навіть за тривалого дефіциту Селену, проте для підтримання його максимальної активності потрібний більший вміст мікроелемента [309]. Глутатіонпероксидаза 2 (GPx2) функціонує в кишечнику і є позаклітинним ензимом [300]. Глутатіонпероксидаза 3 (GPx3) також є позаклітинним ензимом і виявляється, головним чином, у плазмі крові [149, 300]. За кінетичними, фізико-хімічними та імунологічними властивостями GPx3 відрізняється від клітинної форми ензиму [149].

1.3.2. Вплив Хрому(VI) на прооксидантно-антиоксидантний стан клітин. Вплив Хрому(VI) на процеси утворення активних форм кисню та антиоксидантний статус клітин є важливою ланкою у механізмах дії цього елемента. У багатьох дослідженнях *in vitro* та в природних умовах показано, що Cr(VI) індукує оксидативний стрес шляхом стимуляції продукції реакційно активних форм кисню (АФК), зокрема, підвищуючи рівень утворення супероксидного аніону та гідроксильного радикалу [69, 114, 148, 210, 228, 229, 231]. Такий ефект призводить до пошкодження структури плазматичних мембран і внутрішньоклітинних компонентів, у тому числі,

молекул ДНК. Зокрема, продукування АФК відбувається під час поступового відновлення Cr(VI) до Cr(III) після надходження шестивалентного Хрому в клітини, з утворенням проміжних форм Хрому із нижчим ступенем окиснення (Cr(V), Cr(IV)) [86, 224, 239, 252, 253, 311, 316, 317].

Внутрішньоклітинне відновлення Cr(VI) до стабільного Cr(III) призводить до утворення проміжних продуктів, які ушкоджують ДНК. Під час метаболізму Cr(VI) може утворюватись різна кількість проміжних Cr(V) і Cr(IV) залежно від природи відновлювального чинника. Аскорбат є ключовим редуктором Cr(VI) в клітинах у природних умовах, на нього припадає понад 90 % метаболізму Cr(VI). Відновлення Cr(VI) за участю аскорбату призводить до утворення Cr(IV) як основної проміжної форми за фізіологічних умов [286, 314]. Реакції Cr(VI) з тіолами, які є вторинними відновлювальними чинниками, ведуть, переважно, до утворення Cr(V) – іншої реакційно активної форми Хрому [317]. Показано, що Cr(V), утворений під час відновлення Cr(VI) за участю глутатіону, може спричиняти окисне пошкодження безпосередньо або через Фентон-подібні реакції [287, 288].

Каскад клітинних процесів, які спричиняються індукованим Хромом оксидативним стресом, охоплює збільшення інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), порушення структури молекул ДНК і окиснювальне пошкодження ліпідів і білків, зміни внутрішньоклітинного редокс-стану, активацію протеїнкінази C, зміни експресії генів та апоптоз [69, 204]. Зокрема, роль оксидативного стресу в розвитку апоптозу встановлена за умов *in vitro* в клітинах передньої долі гіпофіза, в яких застосуванням антиоксиданта N-ацетил-цистеїну (НАС) вдавалося запобігти збільшенню експресії пов'язаних із апоптозом генів [204]. Показано, що в лімфоцитах людини апоптоз розвивається не лише за наявності Cr(VI) а й за наявності Cr(V), причому попередня обробка клітин антиоксидантами перед впливом сполук Cr(V) частково відвертає розвиток апоптозу [61].

У науковій літературі наявні дані про те, що хромат-аніона в організмі тварин і людини відбувається порушення функцій щитоподібної залози внаслідок активації процесів ПОЛ та розвитку оксидативного стресу в клітинах фолікулів [160]. Накопичення продуктів ПОЛ за умов надходження Cr(VI), здебільшого, з питною водою спостерігають у різних органах тварин: печінці, нирці, мозку (зокрема, в гіпоталамусі, гіпофізі), статевих залозах, а також у шкірі та клітинах крові [28, 101, 114, 148, 164, 183, 185, 294]. У багатьох випадках, особливо за надходження Хрому(VI) у високих дозах, такі ефекти супроводжуються пригніченням функціональної активності антиоксидантної системи. Показано, що сполуки Хрому(VI) часто виявляють інгібувальний вплив на активність ензимів (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза), зумовлюють виснаження вмісту відновленого глутатіону в клітинах [101, 204, 241, 294]. Такі ефекти зумовлюють зміщення рівноваги в системі прооксиданти-антиоксиданти, що спричиняє пошкодження структури внутрішньоклітинних макромолекул, порушення цілісності клітинних мембран та їхнє руйнування під впливом активних форм кисню [114, 168].

У зв'язку з цим прооксидантні ефекти Хрому(VI) можуть опосередковувати порушення функцій різних органів і систем та відігравати важливу роль у гемотоксичній, імунотоксичній, гепатотоксичній, пульмотоксичній, нефротоксичній та гонадотоксичній дії цього елемента [109, 114, 136, 164, 172, 177, 231, 241]. Однак у багатьох дослідженнях встановлено, що за певних концентрацій сполуки Хрому(VI) можуть зумовлювати підвищення активності ензимів антиоксидантної системи, а також концентрації відновленого глутатіону. Такі ефекти розглядають як адаптаційну реакцію клітин на процес утворення АФК [160, 185, 193, 294].

Шестивалентний Хром надходить в організм тварин і людини переважно у сполуках із киснем – у формі хромат- або дихромат-аніонів (відповідно, CrO_4^{2-} або $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), які виявляють сильні окиснювальні

властивості. У шестивалентній формі Хром легко перетинає біологічні мембрани за допомогою транспортерів аніонів. У внутрішньоклітинному середовищі Cr(VI) відновлюється до Cr(III), що супроводжується утворенням активних форм кисню. Таким чином АФК можуть опосередковувати шкідливі ефекти шестивалентного Хрому в клітинах та організмі [114, 231]. Під впливом Хрому (VI) часто виявляється пригнічення активності ензимів антиоксидантної системи, а зміщення рівноваги між активними формами кисню і антиоксидантами в бік утворення перших є потенційною передумовою порушення функціональної активності біомолекул та розвитку оксидативного стресу, що відіграє важливу роль у патогенезі захворювань, зумовлених надходженням сполук цього елемента. Крім того, продукти відновлення Хрому (VI) – тривалентний Хром і Cr(V) можуть зв'язуватись із молекулами ДНК, РНК та іншими клітинними компонентами, що зумовлює мутагенні, канцерогенні та цитотоксичні властивості Cr(VI) [68].

Незважаючи на те, що дослідженням впливу Хрому(VI) на організм лабораторних тварин і людини присвячено багато експериментальних праць, вплив сполук шестивалентного Хрому на метаболічні процеси в клітинах сільськогосподарських тварин з'ясований недостатньою мірою. Однак ця проблема актуальна, оскільки сполуки Cr(VI) можуть міститися в кормах та воді, яку використовують для напування, потрапляти в організм тварин із частинками ґрунту [49, 205, 125, 292]. В зв'язку з цим важливими є наукові дослідження, скеровані на з'ясування особливостей впливу Хрому(VI) на внутрішньоклітинні процеси та можливостей профілактики порушень функціонального стану системи прооксиданти-антиоксиданти, зумовлених надходженням сполук цього елемента в організм сільськогосподарських тварин. У цьому аспекті актуальними є проведення досліджень на кроликах з метою розробки способів профілактики та коригування порушень метаболізму, зумовлених впливом сполук Хрому(VI) (хромати, дихромати), та збереження продуктивності кролівництва, яке на сьогодні є

перспективною галуззю агробізнесу в багатьох країнах, у тому числі, в Україні [8, 12, 14, 26].

Результати аналізу джерел наукової літератури, представлені в цьому розділі, опубліковані в таких працях:

1. Особливості обміну Хрому в організмі людини і тварин / Г.Л. Антоняк, О.Б. Скаб, Н.П. Хомич, Н.Є. Панас // Матеріали міжнародного науково-практичного форуму «Теоретичні основи і практичні аспекти використання ресурсощадних технологій для підвищення ефективності агропромислового виробництва і розвитку сільських територій» 18–21 вересня 2012 р., м. Львів. – 2012. – С. 86–91.

2. Хром у компонентах навколишнього середовища / О.Б. Скаб, Н.П. Хомич, Т.Б. Багдай, Г.Л. Антоняк // Матеріали VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених і спеціалістів «Агропромислове виробництво України – стан та перспективи розвитку» 31 травня – 1 червня 2012 р., м. Кіровоград. – 2012. – С. 217–220.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Підбір піддослідних тварин та постановка експериментів

Експериментальні дослідження виконані впродовж 2008-2014 р.р. на кафедрі екології та біології Львівського національного аграрного університету в рамках наукової держбюджетної теми „Розробити системи моніторингу природного середовища в умовах сільськогосподарського виробництва”, затвердженої Міністерством аграрної політики України (№ державної реєстрації 0100U002334).

Дослідження проводили з використанням 30 безпородних білих щурів-самців масою 150-180 г і 65 кроликів-самців породи «шампань» дво- і тримісячного віку, яких утримували за умов віварію на стандартному раціоні з необмеженим доступом до води. Досліди та евтаназію тварин здійснювали з дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986) та загальних етичних принципів експериментів на тваринах, схвалених на Національному конгресі з біоетики (Київ, 2001).

Дослідження проводили у три етапи. На першому етапі проводили модельні експерименти з використанням лабораторних щурів, яких поділили на 4 групи: контрольну (К, $n=15$) і 3 дослідні (Д1–Д3, по 5 тварин у кожній). Щурам груп Д1–Д3 вводили у шлунок розчин $K_2Cr_2O_7$ (з розрахунку на дозу Cr(VI) 5 мг/кг живої маси на добу), відповідно, впродовж 7-ми, 14-ти і 21-ї доби, а щурам контрольної групи – фізіологічний розчин за аналогічною схемою.

На другому етапі проводили досліди з використанням 7-ми груп кроликів породи «шампань» тримісячного віку: 2-х контрольних (К, $n=10$),

K1, $n=5$) і 5-ти дослідних (Д1–Д5, $n=5$). Кроликам груп Д1 і Д2 вводили в шлунок розчин $K_2Cr_2O_7$ (з розрахунку на дозу Cr(VI) 5 мг/кг живої маси на добу) щодоби, відповідно, впродовж 14-ти і 30-ти діб, а тваринам групи К – фізрозчин у такому самому об'ємі. Кроликам групи Д3 вводили вітамін Е і Селен у формі препарату «Е-Селен» (ЗАТ «Нита-Фарм») внутрішньом'язовою ін'єкцією рекомендованою в інструкції дозою – 0,04 мл/кг живої маси (0,02 мг Селену та 2,0 мг вітаміну Е), а групі К1 – фізіологічний розчин. Тваринам групи Д4 вводили в шлунок $K_2Cr_2O_7$ (доза Cr(VI) – 5 мг/кг живої маси щодоби) впродовж 14-ти діб і внутрішньом'язовою ін'єкцією – препарат «Е-Селен» (0,04 мл/кг живої маси) за 1 год. до першого введення калію дихромату. Кроликам групи Д5 вводили в шлунок $K_2Cr_2O_7$ у такій самій дозі щодоби впродовж 30-ти діб та внутрішньом'язово – препарат «Е-Селен» (0,04 мл/кг живої маси) двічі – перед початком введення $K_2Cr_2O_7$ і на 15-ту добу досліду. Результати, отримані на цій стадії досліду, порівнювали з контролем (К) і даними, отриманими під час аналізу тварин груп Д1 і Д2.

На третьому етапі проводили дослідження впливу Cr(VI) та антиоксидантів (вітамін Е, Селен) на продуктивність кроликів за умов надходження калію дихромату з питною водою. Дослід проводили впродовж 60-ти діб на кроликах породи «шампань» двомісячного віку, підготовчий період тривав 14 діб. У досліді використали 5 груп кроликів: контрольну (К2) і 4 дослідні (Д6–Д9, $n=5$). Тваринам груп Д6 і Д7 з питною водою давали розчин $K_2Cr_2O_7$ з розрахунку на щодобове надходження Cr(VI) в дозах, відповідно, 5 і 10 мг/кг живої маси впродовж 60 діб. Кроликам групи Д8 і Д9 давали розчин $K_2Cr_2O_7$ з питною водою з розрахунку на надходження Cr(VI) дозами, відповідно, 5 і 10 мг/кг живої маси впродовж 60 діб, а перед початком надходження $K_2Cr_2O_7$ і через кожні 14 діб досліду робили ін'єкції препарату «Е-Селен» (0,04 мл/кг живої маси). Кроликам групи К2 давали питну воду без обмежень.

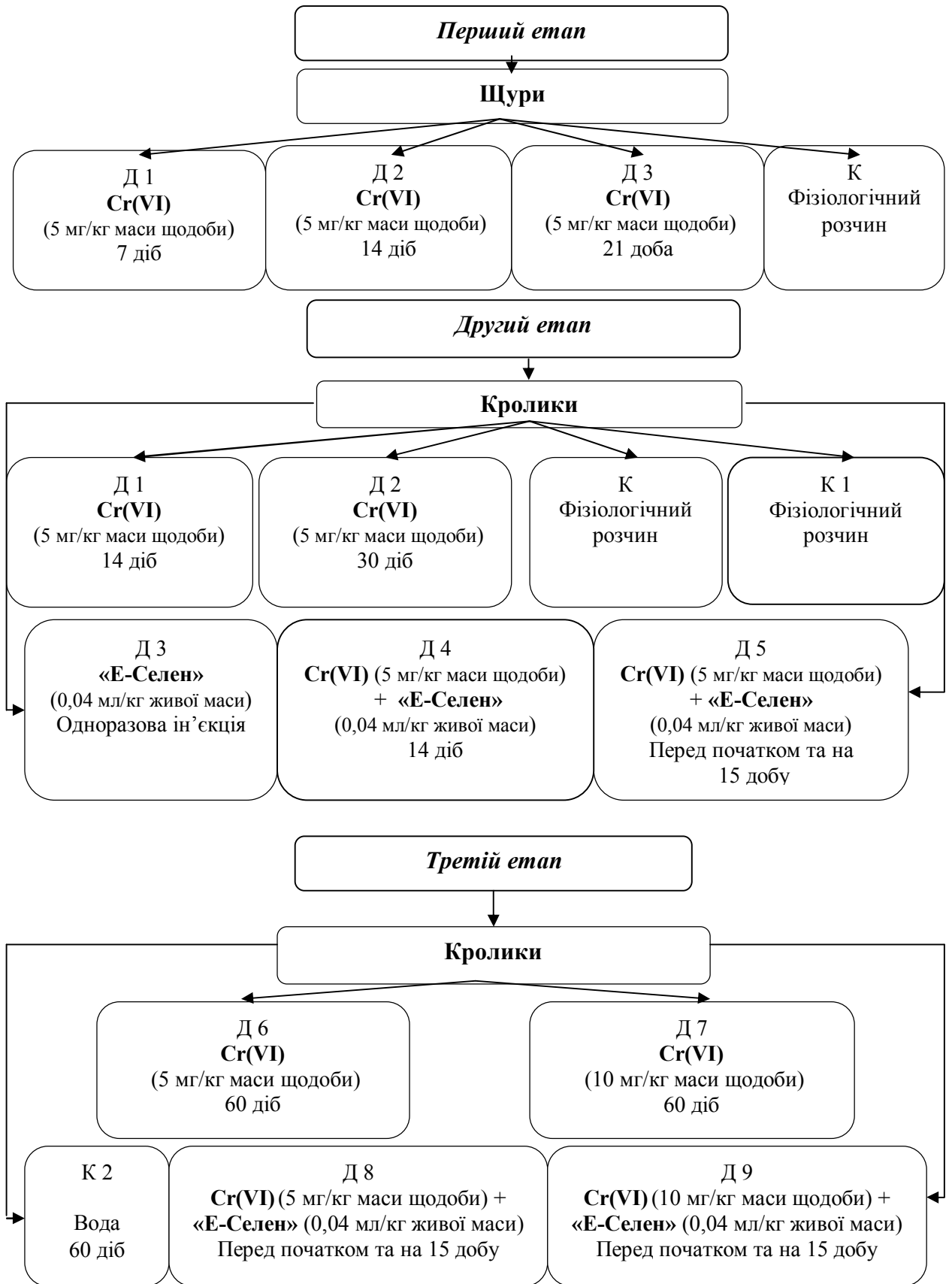


Рис. 2.1. Схема досліджень

2.2. Отримання експериментального матеріалу

У якості дослідного матеріалу використовували кров, печінку, нирки, легені щурів та внутрішні органи (печінка, нирки, легені, селезінка, серце), двоголовий м'яз стегна, кров і шерсть кроликів. Експериментальний матеріал (органи тварин) отримували після евтаназії, яку здійснювали декапітацією під легким наркозом із використанням діетилового етеру, дотримуючись “Загальних принципів роботи на тваринах”, затверджених I Національним конгресом по біоетиці (Київ, Україна, 2001) і погоджених із положеннями “Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях” (Страсбург, Франція, 1986).

Кров для аналізу відбирали у щурів під час декапітації, а у кроликів – шляхом пункції вушної вени. З крові тварин виділяли лейкоцити за стандартною методикою [79]. До зразка гепаринізованої крові додавали 10% желатину (за об'ємного співвідношення 9:1) та інкубували впродовж 15–30 хв при 37°C. Після осідання еритроцитів проводили фракціонування лейкоцитів [209] із застосуванням градієнту густини фіколу (“Pharmacia Fine Chemicals”) і верографіну (“Srofa”). З цією метою готували суміші цих реагентів для досягнення питомої густини 1,119 і 1,077 г/см³, контролюючи питому густину за допомогою ареометрів. Під час фракціонування клітин у пробірки вносили по 1,5 мл зазначених сумішей, а на поверхню наносили 1 мл плазми, в якій містились лейкоцити. Пробірки центрифугували при 3 000 g впродовж 15 хв із застосуванням горизонтального ротора. Таким способом отримували дві фракції лейкоцитів. Фракція лейкоцитів, розташована на межі між плазмою і шаром з питомою густиною 1,077 г/см³, була збагачена лімфоцитами, а фракція клітин, яка розміщувалась на межі між шарами з питомою густиною 1,077 і 1,119 г/см³ – гранулоцитами.

Фракції клітин відбирали та поміщали в окремі пробірки. Лізис тромбоцитів, які виявляються у 1-ій фракції в незначній кількості, здійснювали, додаючи до клітин 2-кратний об'єм 0,02 % ЕДТА. Руйнування еритроцитів, наявних у 2-ій фракції проводили шляхом гемолізу, додаючи до суспензії клітин 0,2 % NaCl. Після руйнування домішок інших клітин, обидві фракції лейкоцитів промивали додаванням фізрозчину, центрифугували при 3 000 g впродовж 5 хв [20]. Клітинний склад лейкоцитів обох фракцій аналізували цитологічно. Цілісність і життєздатність виділених клітин контролювали під мікроскопом і за допомогою реакції з 1% розчином трипанового синього [209].

Для отримання лізатів лейкоцитів, які використовували в дослідженнях, до клітин додавали 2,5 мМ фосфатний буфер (рН 7,5) і заморожували суспензії в рідкому азоті з подальшим відтаванням. Заморожування-відтавання клітин проводили тричі. Лізати центрифугували при 15 000 g впродовж 30 хв на рефрижераторній центрифугі.

Органи тварин, відібрані після евтаназії, охолоджували на льоді, обмивали фізрозчином, підсушували фільтрувальним папером, подрібнювали і гомогенізували. Гомогенізацію клітин для визначення активності ензимів енергетичного обміну і антиоксидантної системи, вмісту ТБК-активних продуктів і відновленого глутатіону здійснювали в 10 мМ тріс-НСІ буфері (рН 7,5). Співвідношення між об'ємами суспензій клітин і буфера становило 1:4. В аналітичних дослідженнях використовували надосадову рідину, отриману після центрифугування гомогенатів при 10 000 g впродовж 30 хв.

Під час третього етапу досліджень забій кроликів проводили у віці 120 діб. Перед забоєм кроликів витримували протягом 12 годин без годівлі для очищення травного тракту. Після цього визначали передзабійну масу тіла кроликів зважуванням на терезах. Після забою у тварин контрольної і дослідних груп визначали масу внутрішніх органів: серця, легень, нирок, печінки, селезінки, відбирали проби шерсті для аналізу показників її якості.

Прилади, використані в роботі, проходили метрологічну перевірку.

2.3. Визначення концентрації кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактивні продукти)

Принцип методу базується на здатності кінцевих продуктів ПОЛ (малонового діальдегіду та інших альдегідів) взаємодіяти з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [19]. Під час дослідження до лізату клітин додавали 5 мл фосфорновольфрамової кислоти, перемішували і через 15 хв центрифугували впродовж 15 хв при 3000 g. Супернатант зливали, а до осаду додавали 2 мл дистильованої води і 1 мл 0,8 % ТБК та інкубували впродовж 1 год. на водяній бані при 100°C. Після охолодження проби центрифугували впродовж 10 хв при 6000 g, після чого вимірювали показники екстинкції на спектрофотометрі СФ-26 при довжинах хвилі 535 нм і 580 нм. Обчислення концентрації ТБК-активних продуктів здійснювали, враховуючи різницю в показниках оптичної густини при $\lambda=535$ і $\lambda=580$ нм і молярний коефіцієнт екстинкції ($\epsilon=156000$). Отримані результати обчислювали, враховуючи кількість лейкоцитів, використаних для аналізу, а в органах – у перерахунку на 1 г маси тканин.

2.4. Визначення активності ензимів антиоксидантної системи та концентрації відновленого глутатіону

2.4.1. Визначення супероксиддисмутазної активності.

Супероксиддисмутазну активність в гомогенатах клітин печінки, нирки легенів, скелетного м'яза та лізатах лейкоцитів досліджували визначенням рівня інгібування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразолію за присутності NADH і феназинметасульфату [15]. Для осадження сполук,

що перешкождали визначенню активності ензиму в досліджуваному матеріалі, до клітин додавали етиловий спирт і хлороформ (в кінцевих концентраціях відповідно 30 і 15 %), суміш перемішували та центрифугували при 12 000 г впродовж 15 хв. Отримували супернатант, який використовували для подальшого аналізу.

Супернатант вносили в інкубаційну суміш, яка містила 0,15 М Na-фосфатний буфер (рН 7,8), 1×10^{-6} моль EDTA, $0,4 \times 10^{-3}$ М нітросинього тетразолію, $1,8 \times 10^{-6}$ М феназинметасульфату, $0,1 \times 10^{-6}$ моль NADH, 1 мг желатини. Об'єм супернатанту – 0,05–0,1 мл. Загальний об'єм суміші становив 3 мл. Контрольні проби містили такі самі компоненти, крім супернатанту, отриманого після центрифугування гомогенатів та лізатів клітин. Реакцію ініціювали додаванням NADH до дослідних і контрольних проб. Інкубацію реакційної суміші здійснювали при температурі 20°C у темряві за аеробних умов упродовж 10 хв. Показник екстинкції в дослідних і контрольних пробах вимірювали на спектрофотометрі СФ-26 при $\lambda=540$ нм.

Для обчислення супероксиддисмутазної активності визначали рівень пригнічення процесу відновлення нітросинього тетразолію в дослідній пробі за 1 хв (Т, %). Враховували те, що пригнічення реакції на 50 % відповідає 1 умовній одиниці активності. Таким чином, розраховували активність ферменту в умовних одиницях за формулою $A = T \% / (100 - T) \%$. Перерахунок ензимної активності здійснювали на 1 мг білка.

2.4.2. Визначення глутатіонпероксидазної активності. Метод визначення глутатіонпероксидазної активності (КФ 1.11.1.9) полягає у використанні в глутатіонпероксидазній реакції відновленого глутатіону (GSH) під час інкубації гомогенату клітин або лізату лейкоцитів за наявності *трет*-бутилгідропероксиду. Вміст GSH в пробах до і після інкубації визначали за кольоровою реакцією з 5,5'-дитіо-біс(2-нітробензойною) кислотою (ДТНБК) [13].

Під час визначення активності ензиму в дослідну і контрольну проби вносили 0,2 мл лізату лейкоцитів або гомогенату клітин досліджуваних органів (розведеного в 10 разів), додавали 0,73 мл 0,1 М Трис-НСІ буферу рН 8,5 (1 мл буферу містив 0,1 мг ЕДТА, 0,78 мг NaN_3 та 1 мг GSH). Суміш інкубували в термостаті при 37°C впродовж 10 хв. Після цього в пробірки додавали 0,07 мл 20 мМ *трет*-бутилгідропероксиду (приготованого перед аналізом) і продовжували інкубувати 5 хв. У контрольні проби замість розчину *трет*-бутилгідропероксиду вносили 0,07 мл дистильованої води. Реакцію зупиняли додаванням 0,5 мл 20 % трихлороцтової кислоти. Пробі центрифугували при 8 000 g впродовж 10 хв.

Після центрифугування суміші 0,1 мл надосадової рідини вносили в пробірки, які містили 5 мл 0,1 М трис-НСІ буферу (рН 8,5) і додавали 0,1 мл 0,01 М розчину ДТНБК в метиловому спирті (реактив Елмана). Через 5 хв вимірювали показник оптичної густини при $\lambda=412$ нм. Обчислюючи активність ензиму, враховували різницю між показниками екстинкції в контрольній і дослідній пробах та молярний коефіцієнт тіонітрофенільного аніону, який становить 11400. Ензимну активність виражали в нмоль глутатіону, окисненого за 1 хв в перерахунку на 1 мг білка.

2.4.3. Визначення глутатіонредуктазної активності.

Глутатіонредуктазну активність (КФ 1.6.4.2) у досліджуваних зразках визначали спектрофотометрично за інтенсивністю процесу відновлення глутатіону (GSSG) за наявності NADPH в інкубаційному середовищі [72, 85].

Дослідження активності ензиму здійснювали в 0,05 М калій-фосфатному буфері (рН 7,5) за температури 25 С. Інкубаційна суміш (об'єм 3 мл) містила: 7×10^{-5} М ЕДТА, 4×10^{-5} М NADPH, $1,3 \times 10^{-3}$ М GSSG, 0,1 мл екстракту клітин. Поглинання світла вимірювали в інтервалі 3 хв ($\lambda=340$ нм). Ензимну активність обчислювали, враховуючи молярний коефіцієнт

екстинкції NADPH при $\lambda=340$ нм, який становить 62200, і перераховували на 1 мг білка.

2.4.4. Визначення каталазної активності. Активність каталази в лізатах лейкоцитів та гомогенатах органів визначали методом [21]. До 0,1 мл лізату або гомогенату клітин додавали 2 мл 0,03 % розчину H_2O_2 . У контрольну пробу замість гомогенату вносили 0,1 мл дистильованої води. Реакцію зупиняли через 10 хв. додаванням 1 мл 4 % молібдату амонію. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі при $\lambda=410$ нм у порівнянні з контрольною пробю, у яку замість H_2O_2 додавали 2 мл води. Каталазну активність розраховували за різницею екстинкції контрольної і дослідної проб та з врахуванням коефіцієнта мілімолярної екстинкції H_2O_2 ($22,2 \times 10^3 \text{ мМ}^{-1} \times \text{см}^{-1}$).

2.4.5. Визначення концентрації відновленого глутатіону (GSH). Концентрацію відновленого глутатіону визначали з використанням 5,5'-дитіо-біс (-2-нітробензойної) кислоти (ДТНБК), при взаємодії якої з кислоторозчинними тіоловими групами утворюється забарвлений комплекс – 5-тіо-2-нітробензойна кислота [138].

Під час аналізу до 0,6 мл гомогенату тканин або лізату лейкоцитів додавали 0,2 мл 20% сульфосаліцилової кислоти для осадження білків. Проби центрифугували 10 хв при 3 000 г. Аліквоту (0,1 мл) переносили в пробірки, які містили 2,55 мл 0,1 М Тріс-НС1 буферу з додаванням 0,01 % етилендіамінтетраацетату (ЕДТА), рН 8,5. До отриманої суміші додавали 25 мкл розчину ДТНБ. Після розвитку забарвлення визначали показник екстинкції на спектрофотометрі СФ-26 проти дистильованої води ($\lambda=412$ нм). Вміст GSH розраховували за калібрувальним графіком і виражали в мкмоль/г тканини. З цією метою готували розчини відновленого глутатіону («Sigma», США) з концентраціями від 0,02 до 2,0 ммоль/л, з яких відбирали проби для визначення вмісту GSH за описаною методикою.

2.5. Визначення активності ензимів енергетичного обміну

У лізатах лейкоцитів та гомогенатах клітин внутрішніх органів визначали активність лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27) і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (КФ 1.1.1.49). Визначення активності ензимів здійснювали, додаючи аналізовані лізати або гомогенати клітин, до інкубаційних сумішей відповідного складу, які містили 0,05 М трис-НСІ буфер (рН 7,5) з додаванням 5×10^{-4} М EDTA [7]. Крім буферу, реакційна суміш під час визначення лактатдегідрогеназної активності містила: 1×10^{-3} моль пірувату натрію, 5×10^{-5} моль NADH, 3×10^{-3} моль $MgCl_2$ [72]; а під час визначення глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності – такі компоненти: 1×10^{-3} моль глюкозо-6-фосфату, 5×10^{-3} моль $MgCl_2$, 5×10^{-4} моль $NADP^+$ [119].

Загальний об'єм реакційної суміші становив 3 мл. Реакцію проводили за температури 25°C. Екстинкцію при $\lambda=340$ нм вимірювали на спектрофотометрі кожні 0,5 хв упродовж 3–4 хв. За зазначених умов перетворення 0,1 мкмоль субстрату зумовлює зміну екстинкції на 0,207 [7]. Під час обчислення ензимної активності враховували коефіцієнт молярної екстинкції для NADH і NADPH, що становить 62200 при 340 нм. Активність ензимів перераховували на 1 мг білка.

Концентрацію білка в лізатах лейкоцитів та гомогенатах клітин внутрішніх органів визначали методом Лоурі і співавторів (1951) [244].

2.6. Визначення вмісту Хрому в скелетному м'язі та внутрішніх органах кроликів

Визначення вмісту Хрому в тканинах скелетного м'яза та внутрішніх органах (печінка, нирка, легені, серце, селезінка) виконували методом

атомно-абсорбційної спектрофотометрії, який заснований на поглинанні електромагнітного випромінювання вільними атомами в незбудженому стані.

Принцип методу полягає у тому, що зразок розпилюється у полум'ї, де утворюється холодна атомна пара. Через атомну пару проходять промені світла певної резонансної частоти відповідного елемента, де електронами зовнішньої оболонки поглинається частина світлового потоку, подальша інтенсивність якого визначається детектором і обробляється за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення (SelmiAASpec). Інтенсивність поглинання пропорційне концентрації елемента у полум'ї атомізатора [24].

Для визначення концентрації Хрому в досліджуваному матеріалі зразки наважкою 5г попередньо висушували у сушильній шафі впродовж 2-х годин за температури 80°C та мінералізували методом сухого озолення у муфельній печі за ГОСТ 286-87-85. Після кислотної екстракції (3н HCl) проводили визначення зазначеного хімічного елемента методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії у полум'ї суміші газів ацетилен-повітря (Selmi C-115M1, Суми, Україна) за такими параметрами роботи приладу: метод виміру: калібрувальний графік; режим роботи: абсорбція; довжина хвилі: X нм; напруга ФЕП (фотоелектропомножувача): Y kV; струм лампи : Z mA; ширина щілини 0,4 нм. Значення X, Y і Z становили, відповідно, 358,1 нм; 1,10 kV і 5,0 mA. Результати перераховували на масу сухої тканини.

2.7. Статистичне опрацювання результатів

Статистичну обробку отриманих результатів проводили, враховуючи критерій Стьюдента, з використанням стандартних комп'ютерних програм.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Вплив Хрому(VI) на прооксидантно-антиоксидантний метаболізм та окремі ланки катаболізму моносахаридів у клітинах внутрішніх органів і лейкоцитах білих щурів

У механізмах шкідливих ефектів, зумовлених надходженням шестивалентного Хрому в організм тварин, важливу роль відіграє оксидативне ушкодження клітин, яке відбувається внаслідок поступового відновлення Cr(VI) до Cr(III) за участю внутрішньоклітинних редуктантів, зокрема, глутатіону [138, 219, 239, 252, 253, 294, 311, 316, 317]. Цей процес супроводжується утворенням реакційно активних проміжних форм Хрому нижчого ступеня окиснення – Cr(V) і Cr(IV), які з одного боку, здатні безпосередньо ушкоджувати клітинні компоненти, а з іншого – сприяти продукції вільних радикалів та інших активних форм кисню (АФК) [213]. Останні можуть взаємодіяти з молекулами ліпідів, білків і нуклеїнових кислот, змінюючи їхню структуру, зумовлювати втрату активності і структурної цілісності ферментів, пошкоджувати плазматичні та внутрішньоклітинні мембрани, а крім того, активувати запальні процеси в тканинах [193]. Інтенсифікація процесів утворення АФК в організмі може спричиняти дисбаланс між вмістом прооксидантів та антиоксидантів, що лежить в основі розвитку оксидативного стресу. Тому надмірне утворення АФК в організмі під впливом важких металів та інших стресових чинників розглядають як сигнал про оксидативне пошкодження клітин [182, 305]. Важливу роль у захисті клітин від пошкодження відіграє антиоксидантна система, ензимні та неензимні компоненти якої контролюють вміст активних

форм кисню і протікання вільнорадикальних реакцій, гальмуюючи процес накопичення кінцевих і проміжних продуктів ліпопероксидації [276, 277].

З метою з'ясування внутрішньоклітинних порушень, спричинених надходженням в організм сполук Хрому(VI), проводили модельні дослідження впливу внутрішньошлункового введення цього елемента у формі калію дихромату на процес ПОЛ і стан антиоксидантної системи в клітинах печінки, нирки, легенів та лейкоцитах крові лабораторних щурів.

3.1.1. Вплив Хрому(VI) на процес ПОЛ, антиоксидантну систему, лактатдегідрогеназну та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназну активність в клітинах печінки, нирки та легенів білих щурів. Результати, отримані під час аналізу вмісту кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-активні продукти) у внутрішніх органах лабораторних щурів, свідчать, що інтенсивність процесу ПОЛ характеризується різним рівнем у клітинах печінки, нирки та легень тварин. Зокрема, в гомогенатах клітин печінки щурів контрольної групи концентрація ТБК-активних продуктів найбільша, а в клітинах легень – найменша серед досліджуваних органів (табл. 3.1). За щодобового внутрішньошлункового введення Хрому(VI) в складі $K_2Cr_2O_7$ концентрація продуктів ПОЛ у клітинах внутрішніх органів тварин дослідних груп зростає на різних стадіях 21-добового експерименту. Однак динаміка утворення ТБК-активних продуктів неоднакова в клітинах печінки, нирки та легенів тварин, яким вводили калію дихромат впродовж 7-ми, 14-ти і 21-ї доби (табл. 3.1).

Згідно з отриманими результатами, в гомогенатах клітин печінки та нирки щурів дослідних груп рівень продуктів ПОЛ зростає поступово та залежить від тривалості надходження $Cr(VI)$ в організм тварин. Вірогідних різниць порівняно з контролем концентрація ТБК-активних продуктів у цих органах зазнає лише наприкінці експерименту. Зокрема, на 21-шу добу

досліджень збільшення цього показника порівняно з контролем становить 39,2 % у печінці ($p < 0,05$) і 63,9 % у нирках ($p < 0,01$) (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Вплив Cr(VI) на концентрацію ТБК-активних продуктів в клітинах органів щурів за умов введення $K_2Cr_2O_7$, нмоль/г тканини ($M \pm m$, $n=5$)

Орган	Контроль	Введення $K_2Cr_2O_7$		
		7 діб	14 діб	21 доба
Печінка	75,62±5,20	80,39±6,83	89,60±5,84	105,30±8,78*
Нирки	37,82±2,14	38,26±2,22	41,60±2,68	61,98±4,15**
Легені	26,10±1,44	40,37±3,26*	57,12±3,50***	34,80±2,24*

Примітка. В цій і наступних таблицях, діаграмах і графіках: *, **, *** – вірогідність різниць у показниках між контрольною і дослідними групами тварин (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$).

У клітинах легенів щурів вміст ТБК-активних продуктів характеризується іншою динамікою – найвиразніше збільшення цього показника порівняно з контролем виявляється на 14-ту добу дослідження. На кінцевій стадії експерименту (21-ша доба) інтенсивність накопичення продуктів ПОЛ у клітинах легень зменшується, проте вміст ТБК-активних продуктів залишається більшим від значення цього показника у тварин контрольної групи. Загалом, на 7-му, 14-ту і 21-шу доби експерименту концентрація продуктів ПОЛ у легенях щурів перевищує контроль відповідно на 54,7 % ($p < 0,05$), 119 % ($p < 0,001$) і 33,4 % ($p < 0,05$) (табл. 3.1)

Отже, за умов надходження сполук Cr(VI) в організм тварин через травний тракт у клітинах посилюється утворення активних форм кисню та інтенсифікується процес пероксидного окиснення ліпідів. Установлені в наших дослідженнях прооксидантні ефекти Cr(VI) в клітинах печінки, нирок, легенів, узгоджуються з результатами, отриманими в експериментах інших

авторів щодо стимуляції процесів утворення супероксидного аніон-радикалу та інших активних форм кисню – індукторів процесів ПОЛ – у культивованих клітинах за наявності калію дихромату *in vitro* [69, 164], а також стимуляції процесів ПОЛ в еритроцитах, гепатоцитах та клітинах головного мозку тварин за умов перорального надходження $K_2Cr_2O_7$ [28, 175].

За умов активації процесів утворення АФК та інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення важливе значення має функціональна активність антиоксидантної системи, компоненти якої сприяють детоксикації вільних радикалів та продуктів ПОЛ у клітинах. Особливу роль відіграє супероксиддисмутаза – ензим, який каталізує дисмутацію супероксидного аніон-радикалу до молекул кисню та гідроген пероксиду, який характеризується меншою реакційною активністю, ніж $O_2^{\cdot-}$ [122, 152, 153]. Відтак молекули H_2O_2 ензиматично розкладаються до кисню і води за участю каталази та ензимів із групи глутатіонпероксидаз, локалізованих у різних компартментах клітин [83, 169, 265, 278].

У наукових джерелах наявні дані про те, що рівень експресії ензимів антиоксидантної системи зростає за умов активації прооксидантних процесів, а з іншого боку, ензимна активність може пригнічуватись за умов накопичення АФК і продуктів ліпопероксидації [82, 250, 276–278]. Тому аналіз активності супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази є ефективним методом визначення наявності оксидативного стресу в клітинах, а динаміка цих показників разом із змінами інтенсивності відновлення глутатіону в глутатіонредуктазній реакції, концентрації GSH та продуктів пероксидного окиснення ліпідів може бути інформативним маркером у дослідженнях впливу важких металів, зокрема, Cr(VI) на організм тварин.

Як свідчать результати наших досліджень, за внутрішньошлункового введення $K_2Cr_2O_7$ супероксиддисмутазна активність в органах щурів вірогідно підвищується на різних стадіях експерименту, а саме: у печінці – на

58,3 % на 14-ту добу ($p < 0,05$), у нирках – на 34,7 % на 21-шу добу ($p < 0,05$), а в легенях – на 14-ту і 21-шу доби відповідно на 81,1 і 64,9 % ($p < 0,01$) (табл. 3.2). Встановлений ефект може зумовлюватись активацією адаптаційного синтезу молекул ензиму за умов інтенсифікації процесів утворення активних форм кисню в клітинах досліджуваних органів під впливом Хрому(VI).

Таблиця 3.2

Вплив Cr(VI) на супероксиддисмутазну активність в органах щурів за умов введення $K_2Cr_2O_7$, умовні од./хв. на 1 мг білка ($M \pm m$, $n=5$)

Орган	Контроль	Введення $K_2Cr_2O_7$		
		7 діб	14 діб	21 доба
Печінка	11,0±0,71	10,76±0,82	17,41±1,52*	14,28±1,12
Нирки	9,82±0,54	9,23±0,81	12,61±1,05	13,20±1,08*
Легені	7,40±0,45	7,82±0,62	13,41±1,12**	12,20±0,85**

З аналізу динаміки супероксиддисмутазної активності в органах щурів дослідних груп випливає, що найбільшою мірою активація ензиму відбувається в легенях на 14-ту добу експерименту одночасно зі збільшенням концентрації ТБК-активних продуктів у цей період, а найменшою мірою – в клітинах нирки (рис. 3.1А, 3.1Б).

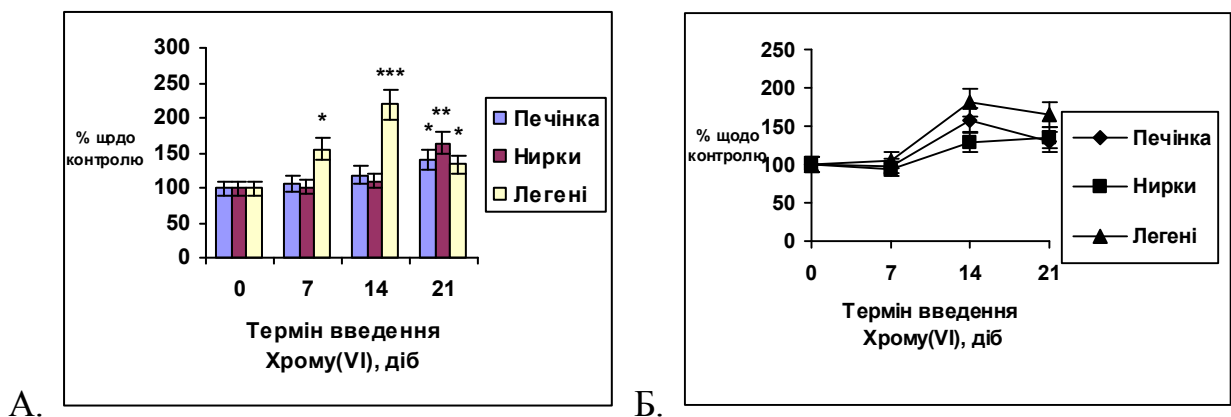


Рис. 3.1. Динаміка концентрації ТБК-активних продуктів та супероксиддисмутазної активності в органах щурів за умов введення Cr(VI) у

складі калію дихромату: А – вміст ТБК-активних продуктів, Б – супероксиддисмутазна активність

Вагому роль у метаболічній відповіді клітин на надходження важких металів, у тому числі Хрому(VI), відіграють ензими, які сприяють детоксикації гідроген пероксиду, утвореного в супероксиддисмутазній реакції. До них належать каталаза і глутатіонпероксидаза, яка функціонує з використанням відновленого глутатіону як кофактора [83, 169, 278]. Крім того, глутатіонпероксидаза каталізує процес відновлення гідропероксидів ліпідів, які утворюються за умов активації процесів ПОЛ у клітинах [83]. Результати досліджень свідчать, що за умов введення щурам $K_2Cr_2O_7$ зміни глутатіонпероксидазної активності у клітинах печінки загалом подібні до динаміки активності СОД з істотним підвищенням на 7-му і 14-ту доби експерименту (відповідно на 44 % ($p < 0,05$) і 96,4 % ($p < 0,001$)), а на 21-шу добу активність глутатіонпероксидази наближається до значень, встановлених у гепатоцитах тварин контрольної групи (табл. 3.3).

Каталазна активність клітин печінки тварин дослідних груп, навпаки, вірогідно не змінюється порівняно з контролем на 7-му і 14-ту доби експерименту, а на 21-шу добу – інгібується на 35,8 % ($p < 0,01$) (табл. 3.3).

Подібні зміни виявляються в клітинах нирки, в яких відбувається вірогідне підвищення глутатіонпероксидазної активності на 14-ту добу ($p < 0,05$) та пригнічення каталази на 31,7 % ($p < 0,01$) на 21-шу добу експерименту (табл. 3.3). Отримані результати дають підставу вважати, що на тлі активації супероксиддисмутази, яка відбувається в гепатоцитах і клітинах нирки впродовж періоду з 14-тої по 21-шу доби дослідження, пригнічення каталазної активності наприкінці експерименту може відігравати роль у збільшенні інтенсивності процесу ліпопероксидації та нагромадженні кінцевих продуктів ПОЛ в клітинах цих органів, на що вказувалось вище (табл. 3.1).

Таблиця 3.3

Вплив Cr(VI) на активність каталази і глутатіонпероксидази в органах щурів за умов перорального введення $K_2Cr_2O_7$ ($M \pm m$, $n=5$)

Досліджуваний ензим	Контроль	Введення $K_2Cr_2O_7$		
		7 діб	14 діб	21 доба
Печінка				
Каталаза, мкмоль H_2O_2 /хв. на 1 мг білка	8,25±0,48	6,82±0,37	7,68±0,62	5,30±0,44**
ГП, нмоль GSH/хв. на 1 мг білка	196,8±8,14	283,4±18,2*	386,5±21,0***	214,7±12,3
Нирки				
Каталаза, мкмоль H_2O_2 /хв. на 1 мг білка	6,88±0,32	7,69±0,63	5,78±0,40	4,70±0,26**
ГП, нмоль GSH/хв. на 1 мг білка	124,0±7,56	113,5±6,34	165,7±8,94*	107,9±7,32
Легені				
Каталаза, мкмоль H_2O_2 /хв. на 1 мг білка	7,50±0,34	14,46±0,86***	7,92±0,56	7,79±0,48
ГП, нмоль GSH/хв. на 1 мг білка	57,23±2,97	72,98±4,45*	146,9±9,37***	52,65±3,14

У клітинах легенів щурів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$, відбувається підвищення глутатіонпероксидазної та каталазної активності на початковій стадії досліджень (7-ма доба) відповідно на 92,8 % ($p<0,001$) і 27,5 % ($p<0,05$), а на 14-ту добу експерименту виявляється найбільший рівень активації глутатіонпероксидази (в 2,6 разу, $p<0,001$) у вказаних клітинах (табл. 3.3). На 21-шу добу дослідження глутатіонпероксидазна та каталазна активність у легенях тварин істотно не відрізнялася від контрольних значень. Потрібно зауважити, що встановлена динаміка ензимної активності супроводжувалась меншим рівнем накопичення продуктів ПОЛ у клітинах зазначеного органу щурів на кінцевій стадії експерименту порівняно із

вмістом ТБК-активних продуктів у легенях, зареєстрованим на 14-ту добу досліду (табл. 3.1).

Важливим ферментом антиоксидантної системи є глутатіонредуктаза (ГР), каталітична активність якої сприяє поповненню внутрішньоклітинного вмісту відновленого глутатіону (GSH), необхідного для підтримання відповідного редокс-стану клітин та функціонування глутатіонпероксидази, яка використовує GSH як кофактор [58, 200, 277]. Відомо, що молекули відновленого глутатіону є перехоплювачами вільних радикалів і можуть безпосередньо реагувати з супероксидним аніоном та іншими активними формами кисню. Крім того, наявність GSH необхідна для відновлення інших неензимних антиоксидантів, таких, як аскорбінова кислота [58].

Результати проведених досліджень свідчать, що глутатіонредуктазна активність в клітинах печінки і легень щурів дослідних груп, загалом, характеризується подібною динамікою. Цей показник зростає на різних стадіях 21-добового експерименту, проте у клітинах печінки щурів встановлений ефект виявляється виразніше, ніж у клітинах легень (табл. 3.4). Зокрема, глутатіонредуктазна активність у гепатоцитах збільшується на 14-ту добу введення $K_2Cr_2O_7$ на 75,2 % ($p < 0,001$), а в клітинах легень цей показник вірогідно зростає лише на 21-шу добу досліду на 32,9 % ($p < 0,05$). Загалом такий ефект, ймовірно, сприяє підвищенню глутатіонпероксидазної активності, встановленому під час дослідження клітин печінки та легень щурів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ (табл. 3.3).

Таблиця 3.4

Вплив Cr(VI) на глутатіонредуктазну активність в клітинах печінки та легень щурів за введення $K_2Cr_2O_7$, мкмоль NADPH/хв. на 1 мг білка ($M \pm m$, $n=5$)

Орган	Контроль	Введення $K_2Cr_2O_7$		
		7 діб	14 діб	21 доба
Печінка	12,76±0,80	9,85±0,72	22,35±1,29***	14,83±1,13
Легені	6,74±0,36	6,28±0,45	7,22±0,48	8,96±0,52*

Відомо, що глутатіонредуктаза функціонує із використанням NADPH-кофактора, який утворюється під час катаболізму моносахаридів у пентозосфосфатному шунті гліколізу, в тому числі, за участю глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ), а також у деяких інших реакціях енергетичного обміну [174, 238]. З метою з'ясування впливу Хрому(VI) на процес утворення NADPH у глюкозо-6-фосфатдегідрогеназній реакції досліджували активність Г-6-ФДГ у клітинах печінки та легень щурів, яким упродовж 21-ї доби вводили калію дихромат. Водночас у гомогенатах органів щурів контрольної і дослідних груп аналізували динаміку активності лактатдегідрогенази (ЛДГ) – ензиму, який каталізує кінцеву стадію гліколізу і значною мірою визначає рівень накопичення лактату в клітинах тварин.

У процесі досліджень встановлено, що внутрішньошлункове введення Хрому(VI) спричиняє неоднаковий вплив на активність зазначених ензимів у клітинах печінки і легень щурів (табл. 3.5, рис. 2).

Таблиця 3.5

Вплив Cr(VI) на активність Г-6-ФДГ і актатдегідрогенази у печінці та легнях щурів за умов введення $K_2Cr_2O_7$ ($M \pm m$, $n=5$)

Досліджуваний ензим	Контроль	Введення $K_2Cr_2O_7$		
		7 діб	14 діб	21 доба
Печінка				
Г-6-ФДГ, мкмоль NADP/хв. на 1 мг білка	1,85±0,07	3,43±0,20***	4,96±0,28***	1,56±0,10
ЛДГ, ммоль NADH/хв. на 1 мг білка × 10 ⁻²	0,48±0,03	2,34±0,16***	2,90±0,21***	1,17±0,096*
Легені				
Г-6-ФДГ, мкмоль NADP/хв. на 1 мг білка	3,34±0,18	2,76±0,21	2,60±0,22	3,41±0,28
ЛДГ, ммоль NADH/хв. на 1 мг білка × 10 ⁻²	1,78±0,12	1,42±0,09	1,91±0,13	3,16±0,17***

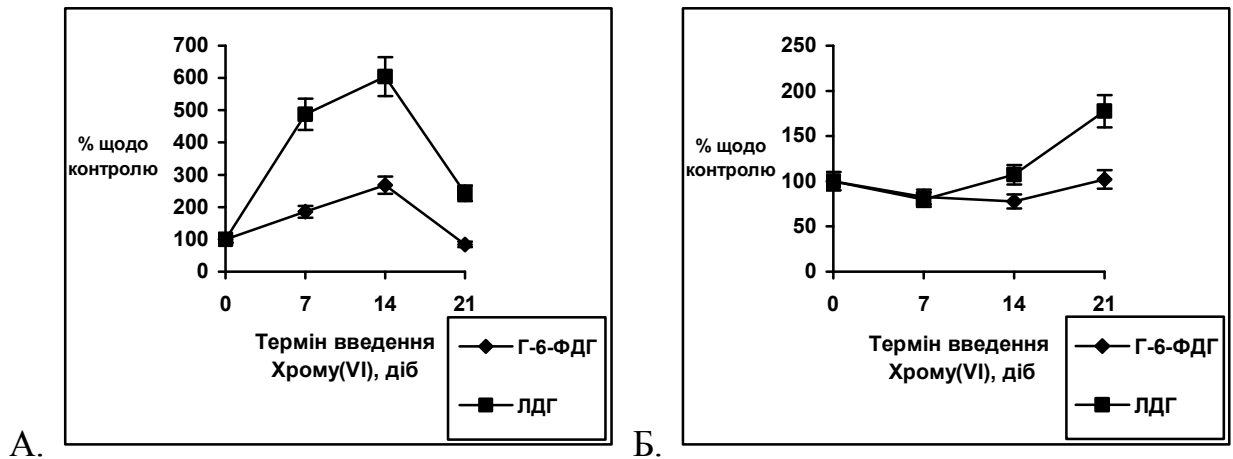


Рис. 3.2. Активність Г-6-ФДГ і лактатдегідрогенази у печінці та легенях щурів за умов введення $K_2Cr_2O_7$: А – печінка; Б – легені

Зокрема, у печінці тварин введення калію дихромату спричиняє значну активацію лактатдегідрогенази (у 4,9 і 6,0 разу, $p < 0,001$) і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (на 85,4 і 168,1 %, $p < 0,001$), відповідно, на 7-му і 14-ту доби досліджу, а наприкінці експериментального періоду (21-ша доба) глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність наближається до контролю, а лактатдегідрогенази – перевищує в 2,4 разу ($p < 0,05$) значення, притаманне гепатоцитам тварин контрольної групи (рис. 3.2 (А)). У легенях щурів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$, активність Г-6-ФДГ не зазнає достовірних змін упродовж експерименту, а лактатдегідрогеназна активність підвищується на 77,5 % ($p < 0,001$) на 21-шу добу (табл. 3.5, рис. 3.2 (Б)).

Загалом, результати, отримані під час моделювання процесів надходження Хрому(VI) в організм тварин через травний тракт, свідчать про неоднакові зміни активності ензимів антиоксидантної системи та деяких ланок енергетичного обміну в клітинах печінки, нирок та легень щурів. Широка амплітуда відхилень значень досліджуваних показників від контролю, вірогідно, зумовлюється особливостями метаболізму в клітинах цих життєво важливих органів і відповідно неоднаковою реакцією на стрес, зумовлений впливом шестивалентного Хрому на організм тварин.

3.1.2. Вплив Хрому(VI) на процес пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантну систему та ензими катаболізму моносахаридів у лейкоцитах крові лабораторних тварин. Важливою ланкою в механізмах шкідливого впливу Хрому(VI) на організм тварин є порушення стану імунної системи [60, 105, 133, 172, 245]. Відомо, що надходження важких металів, у тому числі, сполук Хрому(VI), з повітрям, яке вдихається, а також через травний тракт з водою та харчовими продуктами значно погіршує функції імунних клітин, зменшує стійкість організму до інфекційних захворювань [60, 230, 295, 313, 316]. Наявні дані про вплив Cr(VI) на запальні процеси в легенях та експресію цитокінів (TNF-альфа, IL-6, IL-2, і IL-12), які беруть участь в імунних реакцій [60].

Однак багато ланок у механізмах імунотоксичної дії Хрому(VI) за умов надходження цього елемента в організм у формі хромат- або дихромат-аніонів не досліджені. Зокрема, недостатньо вивчений вплив Хрому(VI) на антиоксидантний метаболізм у клітинах різних популяцій системи лейкопоезу, які забезпечують імунний захист організму. На сьогодні низка виконаних у цьому напрямі експериментальних робіт стосуються аналізу імунотоксичних ефектів Хрому(VI) за умов інгаляційного надходження хроматів в організм тварин, зокрема, у високих дозах [60, 105, 133, 172, 245, 290] або проведені на ізольованих клітинах за умов *in vitro* [115, 215]. Водночас вплив тривалого надходження Хрому(VI) в невисокій концентрації через травний тракт на клітини системи лейкопоезу та особливості метаболічних ефектів у різних за походженням і функціями популяціях лейкоцитів (нейтрофільні гранулоцити, лімфоцити) не з'ясовані.

Відомо, що імунна активність лейкоцитів залежить з одного боку, від здатності цих клітин до утворення активних форм кисню, необхідних для здійснення захисної функції крові, а з другого боку, від їхнього антиоксидантного стану та спроможності до детоксикації АФК, які можуть пошкоджувати мембрани та внутрішні компоненти й самих імунних клітин

[121, 151]. Особливо це стосується нейтрофільних гранулоцитів – здатним до фагоцитозу клітинам, яким притаманна висока активність NADPH-оксидази (NOX), що каталізує утворення супероксидного аніон-радикалу і, тим самим, започатковує ланцюговий процес утворення АФК [80, 211, 255]. Тому важливим завданням роботи було дослідити вплив Хрому(VI) на процеси ліпопероксидації та антиоксидантну систему нейтрофільних гранулоцитів і лімфоцитів крові за умов внутрішньошлункового надходження калію дихромату в організм тварин.

Результати проведених експериментів вказують на те, що під впливом Хрому(VI) в лейкоцитах крові щурів зростає рівень утворення вільних радикалів та інших активних форм кисню, які сприяють інтенсифікації процесів пероксидного окиснення ліпідів і впливають на стан антиоксидантної системи клітин. Отримані дані свідчать, що накопичення кінцевих продуктів ПОЛ відбувається в обох досліджуваних популяціях клітин лейкопоезу за умов введення $K_2Cr_2O_7$ (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Вплив Cr(VI) на вміст ТБК-активних продуктів у лейкоцитах крові щурів за умов введення $K_2Cr_2O_7$ ($M \pm m$, $n=5$)

Популяції лейкоцитів	Контроль	Введення $K_2Cr_2O_7$		
		7 діб	14 діб	21 доба
Лімфоцити	73,50±4,25	67,69±4,17	132,7±8,82**	84,90±5,78
Нейтрофільні гранулоцити	78,97±5,40	76,38±4,72	148,0±9,31***	128,8±7,52**

Зокрема, збільшення концентрації ТБК-активних продуктів на 80,5 % виявляється в лімфоцитах на 14-ту добу досліду ($p < 0,01$), а на 21-шу добу цей показник вірогідно не відрізняється від контролю. У нейтрофільних гранулоцитах щурів дослідних груп вміст кінцевих продуктів ПОЛ підвищується на 14-ту і 21-шу доби відповідно на 87,4 і 62,1 % ($p < 0,01$ –

0,001) (табл. 3.6). Такі результати свідчать про більший рівень зумовленої Хромом(VI) стимуляції процесів пероксидного окиснення ліпідів у нейтрофільних гранулоцитах, ніж у лімфоцитах крові, що особливо виразно виявляється на завершальній стадії експерименту.

У процесі досліджень встановлено, що зумовлене введенням Хрому(VI) нагромадження продуктів ПОЛ у лейкоцитах крові лабораторних щурів супроводжується змінами в антиоксидантному статусі аналізованих клітин. Однак метаболічна відповідь компонентів антиоксидантної системи лімфоцитів і нейтрофільних гранулоцитів на вплив цього елемента характеризується певними особливостями. Зокрема, за умов введення тваринам $K_2Cr_2O_7$ супероксиддисмутазна активність, яка є першою ланкою механізму захисту клітин від шкідливої дії активних форм кисню, істотно зростає в лімфоцитах на 7-му і, особливо, на 14-ту доби експерименту (відповідно, в 3,1 і 4,8 рази, $p < 0,001$) (табл. 3.7). У нейтрофільних гранулоцитах вірогідне збільшення активності супероксиддисмутази на 40 % ($p < 0,05$) виявляється лише на початковій стадії досліджень (7-ма доба).

За таких умов зміни активності каталази і глутатіонпероксидази – ензимів, які каталізують подальші стадії знешкодження АФК, неоднозначні. Каталазна активність в лімфоцитах крові щурів зростає на 119,3 % ($p < 0,001$) на початковій стадії експерименту (7-ма доба), проте знижується на 14-ту і 21-шу доби відповідно на 42,1 і 43,9 % ($p < 0,001$). Глутатіонпероксидазна активність лімфоцитів тварин пригнічується на 14-ту добу на 31,6 % ($p < 0,01$), а наприкінці дослідження (21-ша доба) суттєво не відрізняється від значень цього показника, виявлених у щурів контрольної групи (табл. 3.7). Активність глутатіонредуктази, яка каталізує процес відновлення глутатіону, необхідного для каталітичної активності глутатіонпероксидази, у лімфоцитах щурів, інтоксикованих введенням калію дихромату, є стабільною на 7-му і 14-ту доби, проте підвищується на 21-шу добу досліджень на 45,3 % ($p < 0,01$).

Таблиця 3.7

Вплив Cr (VI) на активність ензимів антиоксидантної системи в лейкоцитах крові щурів за умов введення $K_2Cr_2O_7$ ($M \pm m$, $n=5$)

Показник	Контроль	Введення $K_2Cr_2O_7$		
		7 діб	14 діб	21 доба
Лімфоцити				
СОД, умовні од./хв. на 1 мг білка	0,316±0,018	0,974±0,06***	1,51±0,10***	0,290±0,022
Каталаза, нмоль H_2O_2 /хв. на 1 мг білка	5,08±0,24	11,14±0,68***	2,94±0,16***	2,85±0,20***
ГП, нмоль GSH/ хв. на 1 мг білка	59,29±3,31	51,66±2,82	40,58±2,44**	61,24±4,36
ГР, нмоль NADPH/ хв. на 1 мг білка	4,35±0,25	4,32±0,18	4,91±0,31	9,32±0,76**
Нейтрофільні гранулоцити				
СОД, умовні од./хв. на 1 мг білка	0,796±0,034	1,12±0,06*	0,730±0,048	0,874±0,054
Каталаза, нмоль H_2O_2 /хв. на 1 мг білка	10,92±0,56	24,32±1,42***	7,32±0,39**	3,68±0,28***
ГП, нмоль GSH/ хв. на 1 мг білка	57,54±3,20	45,00±2,78*	36,11±2,14**	67,80±5,36
ГР, нмоль NADPH/ хв. на 1 мг білка	3,39±0,23	1,39±0,09***	1,70±0,12**	3,78±0,30

У нейтрофільних гранулоцитах щурів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$, динаміка каталазної активності подібна до змін, виявлених у лімфоцитах: цей показник зростає на 7-му добу після введення токсиканта ($p < 0,001$), а на наступних стадіях експерименту пригнічується, досягаючи на 21-шу добу досліду значень майже втричі менших ($p < 0,001$) порівняно з контролем (табл. 3.7).

Глутатіонпероксидазна активність нейтрофільних гранулоцитів, навпаки, інгібується на 7-му та 14-ту доби введення токсиканта відповідно на 21,8 і 37,2 % ($p < 0,05-0,01$), а наприкінці експерименту (21-ша доба) – наближається до контролю. Глутатіонредуктазна активність цих клітин є меншою від контролю на 7-му і 14-ту доби досліджень ($p < 0,001-0,01$), а на кінцевій стадії експерименту значення цього показника наближається до значень, встановлених у клітинах щурів контрольної групи.

З метою детальнішого з'ясування впливу Хрому(VI) на метаболічні процеси в популяціях лейкоцитів аналізували лактатдегідрогеназну і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназну активність в лімфоцитах і нейтрофілах крові щурів за умов внутрішньошлункового введення $K_2Cr_2O_7$. Отримані результати свідчать, що активність Г-6-ФДГ у лімфоцитах інгібується на 34,5 % на 7-му добу ($p < 0,01$), проте підвищується над контрольним рівнем в 1,32 разу на 21-шу добу дослідження ($p < 0,05$). Натомість лактатдегідрогеназна активність цих клітин не зазнає вірогідних змін порівняно з контролем з 7-ї по 14-ту добу, а на кінцевій стадії експерименту виявляє динаміку до підвищення (табл. 3.8).

У нейтрофільних гранулоцитах щурів дослідних груп активність досліджуваних ензимів катаболізму моносахаридів характеризується іншою динамікою (табл. 3.8), а саме: глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність інгібується більш ніж удвічі на 7-му і 14-ту доби ($p < 0,001$), проте наближається до контролю наприкінці експерименту (21-ша доба), а лактатдегідрогеназна – значно підвищується на 7-му і 14-ту доби дослідження (відповідно, в 2,4 і 2,5 разу, $p < 0,001$).

Отримані результати свідчать про вплив Хрому(VI) на активність ензимів, які каталізують реакції енергетичного обміну в лейкоцитах щурів. Встановлені зміни активності лактатдегідрогенази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в лімфоцитах і нейтрофільних гранулоцитах щурів дослідних груп дають змогу простежити метаболічний зв'язок між процесами

перетворення моносахаридів та станом глутатіонової системи клітин крові тварин за умов надходження Хрому(VI).

Таблиця 3.8

Вплив Cr(VI) на активність Г-6-ФДГ і лактатдегідрогенази в лейкоцитах крові щурів за умов введення $K_2Cr_2O_7$ ($M \pm m$, $n=5$)

Досліджуваний ензим	Контроль	Введення $K_2Cr_2O_7$		
		7 діб	14 діб	21 доба
Лімфоцити				
Г-6-ФДГ, нмоль NADP/ хв. на 1 мг білка	14,63±0,74	9,58±0,54**	14,88±0,90	19,32±1,26*
ЛДГ, нмоль NADH/ хв. на 1 мг білка	25,20±1,42	23,33±1,17	18,62±1,63	31,86±2,24
Нейтрофільні гранулоцити				
Г-6-ФДГ, нмоль NADP/ хв. на 1 мг білка	11,95±0,61	4,98±0,31***	5,40±0,42***	12,70±0,82
ЛДГ, нмоль NADH/ хв. на 1 мг білка	12,70±0,58	30,52±2,24***	32,31±2,17***	15,22±0,96

Зокрема, пригнічення глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності в нейтрофільних гранулоцитах супроводжується інгібуванням глутатіонредуктази і відповідно зменшенням рівня відновлення глутатіону, необхідного для глутатіонпероксидазної реакції. Зменшення активності глутатіонпероксидази, яка каталізує процеси детоксикації H_2O_2 та проміжних продуктів ПОЛ – гідропероксидів ліпідів, а також пригнічення каталази, яка знешкоджує молекули гідроген пероксиду, може відігравати важливу роль у встановленому в наших дослідженнях накопиченні кінцевих продуктів ліпопероксидації у нейтрофілах тварин дослідних груп. Тому за умов надходження Хрому(VI) нейтрофільні гранулоцити тварин можуть бути вразливішими до оксидативного стресу, ніж лімфоцити, які

характеризуються меншим рівнем пригнічення активності Г-6-ФДГ, а за умов тривалого надходження токсиканта – до активації цього ензиму, а також більшою інтенсивністю відновлення глутатіону за участю глутатіонредуктази.

Результати моделювання процесів надходження Хрому(VI) через травний тракт, яке проводили введенням $K_2Cr_2O_7$ в шлунок лабораторних щурів упродовж 21-добового періоду, свідчать про зміни прооксидантно-антиоксидантного балансу в клітинах внутрішніх органів (печінка, нирки, легені) та лейкоцитах крові. Насамперед слід відзначити інтенсифікацію пероксидного окиснення ліпідів у всіх аналізованих у наших експериментах клітинах піддослідних щурів, які зазнавали впливу Хрому(VI). Проте стимуляція процесу ПОЛ відбувається неоднаковою мірою в аналізованих клітинах тварин, а крім того, залежить від тривалості введення калію дихромату. Зокрема, в нейтрофільних гранулоцитах, які характеризуються високою активністю NADPH-оксидази [80, 151, 240], рівень накопичення кінцевих продуктів ліпопероксидації більший, порівняно з лімфоцитами. Як відомо, здатність до інтенсивного утворення активних форм кисню необхідна цим клітинам для їхньої протимікробної та противірусної активності в організмі тварин і людини [81, 121, 211, 255]. Однак за умов пригнічення активності ензимів антиоксидантної системи, встановленого в наших експериментах, високий рівень стимуляції процесів ПОЛ може спричиняти більшу вразливість цих клітин до оксидативного стресу, зумовленого надходження сполук Cr(VI).

Разом із тим, у наших дослідженнях показано, що в лейкоцитах крові значний рівень активації процесу пероксидного окиснення ліпідів із накопиченням ТБК-активних продуктів відбувається, головним чином, на 14-ту добу введення калію дихромату, тобто раніше, ніж у клітинах печінки та нирок тварин. Подібний ефект виявляється в клітинах легень, у яких на 14-ту добу експерименту виявляється найбільший рівень кінцевих продуктів

ліпопероксидації. Такі дані, загалом, свідчать про низьку резистентність зазначених типів клітин до ураження під впливом шестивалентного Хрому.

Із досліджуваних клітин внутрішніх органів найменший рівень утворення ТБК-активних продуктів виявляється в гепатоцитах, що вказує на значну стійкість цього органу до впливу сполук Хрому(VI). Характерною для гепатоцитів є високий рівень супероксиддсмутазної, глутатіонпероксидазної та глутатіонредуктазної активності, що може відігравати важливу роль у захисті цих клітин від оксидативного стресу. Крім того, за умов надходження Хрому(VI) в клітинах печінки відбувається активація глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, яка забезпечує утворення молекул NADPH, необхідних для каталітичної активності глутатіонредуктази. Встановлене в наших дослідженнях збільшення глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності в гепатоцитах супроводжується підвищенням активності лактатдегідрогенази, що свідчить про активацію реакцій гліколізу та пентозофосфатного шунта, яка має адаптаційне значення за умов пригнічення процесів окислювального фосфорилування, яке виявляється у клітинах тварин під впливом сполук Хрому(VI) [173, 261]. Такі результати узгоджуються з наявними у джерелах літератури даними щодо інтенсифікації процесів транспорту глюкози в клітини, а також активації процесів розщеплення глікогену під впливом сполук Хрому(VI) [127, 173]. Слід зазначити, що активація лактатдегідрогенази на окремих стадіях експерименту виявляється і в інших аналізованих у наших дослідженнях клітинах щурів, яким вводили калію дихромат. Зокрема, такий ефект відзначений у нейтрофільних гранулоцитах та клітинах легень піддослідних тварин, що свідчить про загальну тенденцію до збільшення інтенсивності анаеробного катаболізму глюкози та активації кінцевої ланки гліколізу в аналізованих клітинах під впливом Хрому(VI).

Загалом із результатів наших досліджень випливає, що надходження в організм лабораторних тварин шестивалентного Хрому супроводжується змінами в процесах катаболізму моносахаридів та антиоксидантному стані

лейкоцитів крові, клітин печінки, нирок та легень. Однак особливості антиоксидантної відповіді на надходження Хрому(VI), а також зміни активності ензимів гліколізу і пентозофосфатного шляху значною мірою пов'язані зі специфікою метаболічних процесів у клітинах внутрішніх органів і крові піддослідних тварин.

Результати досліджень, представлені в цьому розділі роботи, опубліковані в таких працях:

1. Хомич Н.П. Вплив Хрому(VI) на активність ферментів енергетичного метаболізму в гепатоцитах тварин / Н.П. Хомич, Н.Є. Панас, Г.Л. Антоняк // Вісник Львівського національного аграрного університету. – 2009. – № 13. – С. 411–414.

2. Антоняк Г.Л. Вплив катіонів хрому на активність ферментів антиоксидантної системи в нейтрофільних гранулоцитах білих щурів / Г.Л. Антоняк, Н.П. Хомич, Н.Є. Панас // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – 2010. – Вип. 11, № 2–3. – С. 15–18.

3. Зміни активності ферментів антиоксидантної системи лімфоцитів білих щурів за дії сполук хрому / Н.П. Хомич, Г.Л. Антоняк, Н.Є. Панас, О.Б. Скаб // Вісник Львівського національного аграрного університету. – 2013. – № 17 (2). – С. 418–422.

4. Хомич Н.П. Вплив біхромату калію на лактатдегідрогеназну і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназну активність в лейкоцитах білих щурів / Н.П. Хомич, Г.Л. Антоняк, Н.Є. Панас // Матеріали міжнародного науково-практичного форуму «Шляхи підвищення ефективності використання агроресурсного потенціалу», 23–25 вересня 2009 р., м. Львів. – 2009. – С. 44–48.

5. Хомич Н. П. Динаміка активності деяких ферментів енергетичного обміну в окремих популяціях лейкоцитів білих щурів за умов тривалого

надходження біхромату калію // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених та студентів «Екологічна безпека держави», 27-28 квітня 2010 р., м. Київ. – 2010. – С. 109–110.

6. Хомич Н.П. Вплив Хрому(VI) на активність ферментів антиоксидантної системи в гепатоцитах тварин / Н.П. Хомич, Н.Є. Панас, О.Б. Скаб // Матеріали міжнародного науково-практичного форуму «Теоретичні і практичні аспекти розвитку агропромислового виробництва та сільських територій», 21–24 вересня 2011 р., м. Львів. – 2011. – С. 146–149.

7. Хомич Н.П. Зміни активності ферментів катаболізму моносахаридів лейкоцитів крові щурів за умов тривалого надходження калію біхромату / Н.П. Хомич, О.Б. Скаб // Матеріали I Всеукраїнської наукової конференції студентів, магістрантів, аспірантів та молодих вчених «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування», м. Харків. – 2012. – С. 187–189.

8. Скаб О.Б. Вплив шестивалентного Хрому на активність лактатдегідрогенази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах щурів / О.Б. Скаб, Н.П. Хомич, Н.Є. Панас // Матеріали міжнародного науково-практичного форуму «Екологічні, технологічні та соціально-економічні аспекти ефективного використання матеріально-технічної бази АПК», 17–18 вересня 2008 р., м. Львів. – 2008. – С. 107–109.

9. Скаб О.Б. Вплив катіонів Хрому(VI) на динаміку активності ферментів енергетичного обміну в еритроцитах тварин залежно від шляху надходження токсиканта / О.Б. Скаб, Н.Є. Панас, Н.П. Хомич // Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» 11–13 травня 2012 р., м. Запоріжжя. – 2012. – С. 292–294.

3.2. Вплив Хрому(VI) на процес пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантну систему та ензими енергетичного обміну в клітинах внутрішніх органів і скелетного м'яза кроликів.

За умов забруднення навколишнього середовища важкими металами зростає ризик надходження сполук шестивалентного Хрому в організм сільськогосподарських тварин з питною водою, рослинними кормами та повітрям [49, 125, 205, 292]. Можливими наслідками впливу хроматів і дихроматів є порушення у стані здоров'я тварин, погіршення якості продуктів тваринного походження і, загалом, зниження продуктивності тваринницької галузі. Тому необхідний аналіз внутрішньоклітинних ефектів Хрому(VI) у тканинах життєво важливих органів сільськогосподарських тварин, зумовлених надходженням цього елемента через травний тракт з метою розробки науково обґрунтованих рекомендацій щодо контролю кормів, які використовують в живленні тварин, а також ведення аграрного виробництва на територіях, близьких до індустріальних центрів. Зокрема, це стосується кролівництва, яке нині вважають перспективною та економічно вигідною сферою агробізнесу в багатьох країнах, у тому числі, в Україні [11, 12, 14, 26]. Актуальність проблеми зростає із врахуванням того, що розведення кроликів в Україні ведеться не лише у великих кролівничих комплексах, а й у малих фермерських господарствах, де особливо важливий контроль елементного складу кормів з метою забезпечення належної якості тваринної продукції.

У нашій роботі моделюванням впливу Хрому(VI) на організм тварин із використанням лабораторних щурів встановлено загальні метаболічні ефекти цього елемента, які охоплюють порушення окремих ланок катаболізму вуглеводів, зміни антиоксидантного стану та розвиток оксидативного стресу в клітинах життєво важливих органів та лейкоцитах крові за умов

надходження дихромат-аніона через травний тракт. З метою з'ясування видових особливостей впливу Хрому(VI) та метаболічних ефектів цього елемента в організмі кроликів проводили дослідження прооксидантно-антиоксидантного стану клітин внутрішніх органів (печінка, нирки, легені) та скелетного м'яза цих тварин за умов внутрішньошлункового введення калію дихромату впродовж 14-ти і 30-ти діб.

3.2.1. Вплив Хрому(VI) на процес пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантну систему та ензими енергетичного обміну в клітинах печінки, нирок та легень кроликів. Результати проведених досліджень свідчать, що тривале внутрішньошлункове введення калію дихромату зумовлює значне накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів у клітинах внутрішніх органів кроликів (табл. 3.9). Зокрема, після 30-добового введення $K_2Cr_2O_7$ концентрація ТБК-активних продуктів у печінці, нирках 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 відзначити, що в клітинах печінки і нирок тварин дослідних груп концентрація продуктів ПОЛ збільшується залежно від тривалості введення токсиканта, а в клітинах легень інтенсивніше накопичення ТБК-активних продуктів відбувається на 14-ту добу експерименту, ніж на 30-ту (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

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

Орган	Контроль	Введення $K_2Cr_2O_7$	
		14 діб	30 діб
Печінка	27,12±1,76	35,34±2,47*	40,38±2,60**
Нирки	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**

Загалом, отримані дані вказують на стимуляцію процесів вільнорадикального окиснення в клітинах внутрішніх органів кроликів під впливом Хрому(VI) і узгоджуються з встановленими у попередній частині роботи результатами щодо підвищення концентрації продуктів ПОЛ у клітинах печінки, нирки та легень щурів, яким перорально вводили $K_2Cr_2O_7$ упродовж 21-добового періоду (табл. 3.1).

Згідно з результатами досліджень, стимуляція процесів пероксидного окиснення ліпідів супроводжується змінами функціонального стану антиоксидантної системи в клітинах внутрішніх органів (печінки, нирки та легень) кроликів дослідних груп, яким вводили калію дихромат впродовж 14-ти і 30-ти діб (табл. 3.10, рис. 3.3 А–В).

Аналізуючи отримані результати, слід відмітити, що динаміка активності ензимів антиоксидантної системи у кроликів, яким вводили калію дихромат, загалом подібна до такої, що виявляється у клітинах лабораторних тварин. Однак у дослідженнях (табл. 3.10, рис. 3.3 А–В), проведених на кроликах, виразніше виявляється інгібувальний вплив Хрому(VI) на активність окремих ензимів-антиоксидантів порівняно з впливом цього елемента на антиоксидантну систему в клітинах білих щурів. Зокрема, супероксиддисмутазна активність у клітинах печінки та нирки кроликів пригнічується після 30-добового введення Хрому(VI) відповідно на 23,9 і 44,8 % ($p < 0,05-0,001$), проте у щурів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ впродовж 21-добового періоду такий ефект не виявляється (табл. 3.2). Потрібно зазначити (табл. 3.10), що на 14-ту добу експерименту відбувається підвищення активності СОД у клітинах нирок та легень кроликів (відповідно в 1,31 і 1,48 разу, $p < 0,05$), що загалом узгоджується з результатами, отриманими під час досліджень зазначеного ензиму в органах лабораторних тварин. Каталазна активність пригнічується в клітинах печінки і нирок кроликів в 1,6–1,9 разу ($p < 0,01-0,001$), а в клітинах легень – майже втричі ($p < 0,001$) (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Вплив Хрому(VI) на активність ензимів антиоксидантної системи та вміст відновленого глутатіону в клітинах внутрішніх органів кроликів ($M \pm m$, $n=5$)

Показник	Контроль	Введення $K_2Cr_2O_7$	
		14 діб	30 діб
Печінка			
СОД, умовні од./хв. на 1 мг білка	14,80±1,10	16,14±1,15	11,27±0,71*
Каталаза, ммоль H_2O_2 /хв. на 1 мг білка $\times 10^{-3}$	7,10±0,42	5,82±0,36	4,43±0,28**
ГП, мкмоль GSH/ хв. на 1 мг білка	0,792±0,050	1,27±0,11*	0,604±0,057
ГР, мкмоль NADPH/ хв. на 1 мг білка	2,60±0,18	3,24±0,22*	2,09±0,14
GSH, мкмоль/г тканини	0,319±0,017	0,361±0,026	0,307±0,018
Нирки			
СОД, умовні од./хв. на 1 мг білка	9,87±0,51	12,94±0,72*	5,40±0,44***
Каталаза, ммоль H_2O_2 /хв. на 1 мг білка $\times 10^{-3}$	3,59±0,17	3,55±0,21	1,87±0,09***
ГП, мкмоль GSH/ хв. на 1 мг білка	3,28±0,18	7,48±0,46***	3,92±0,25
ГР, мкмоль NADPH/ хв. на 1 мг білка	1,19±0,061	0,997±0,11	0,406±0,034***
GSH, мкмоль/г тканини	0,444±0,024	0,421±0,027	0,323±0,021*
Легені			
СОД, умовні од./хв. на 1 мг білка	7,54±0,38	11,16±0,94*	7,50±0,56
Каталаза, ммоль H_2O_2 /хв. на 1 мг білка $\times 10^{-3}$	11,36±0,72	8,45±0,60*	3,67±0,25***
ГП, мкмоль GSH/ хв. на 1 мг білка	2,28±0,12	7,18±0,64***	2,93±0,21*
ГР, мкмоль NADPH/ хв. на 1 мг білка	1,83±0,097	2,24±0,17	1,26±0,08**
GSH, мкмоль/г тканини	0,438±0,025	0,489±0,034	0,310±0,019**

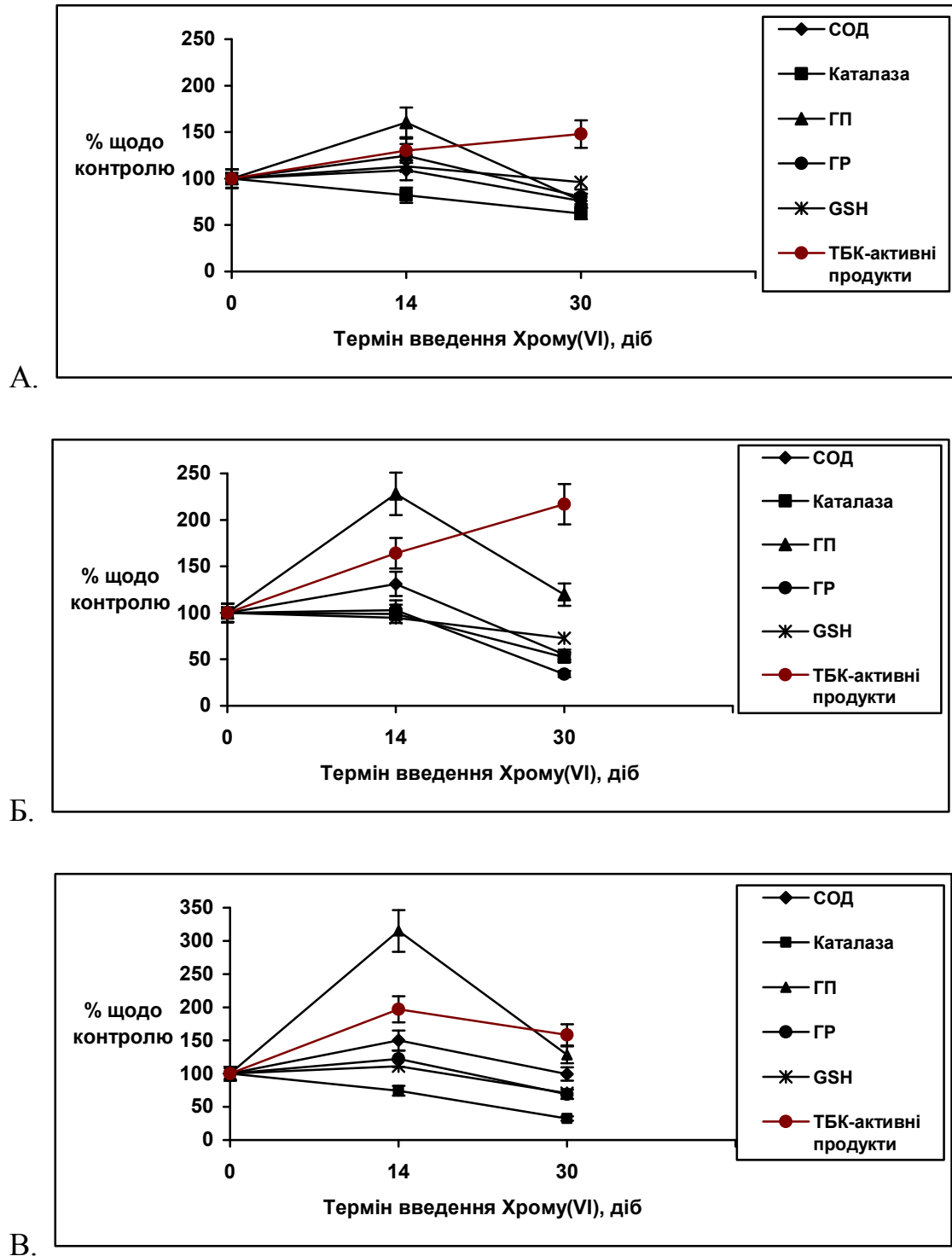


Рис. 3.3. Активність ензимів антиоксидантної системи, концентрація ТБК-активних продуктів та відновленого глутатіону в органах кроликів за умов введення $K_2Cr_2O_7$: А – печінка; Б – нирки; В – легені

Результати аналізу активності ензимів, функціонально пов'язаних із глутатіоном, свідчать, що зміни їхньої активності неоднакові в клітинах

печінки, нирки та легень кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$. Зокрема, на 14-ту добу експерименту глутатіонпероксидазна активність зростає в усіх трьох досліджуваних органах, причому найвиразніше підвищення активності ензиму відбувається в легенях, де цей показник збільшується в 3,15 разу ($p < 0,001$). У клітинах нирки кроликів активність глутатіонпероксидази зростає на 128 % ($p < 0,001$), а в гепатоцитах – на 60,4 % ($p < 0,05$) (табл. 3.10). Однак на 30-ту добу досліджень глутатіонпероксидазна активність наближається до контролю у клітинах печінки та нирки, а в легенях залишається вищою від значень, встановлених у тварин контрольної групи, на 28,5 % ($p < 0,05$).

Глутатіонредуктазна активність в органах кроликів дослідних груп змінюється по-різному – зростає на 14-ту добу у печінці ($p < 0,05$), проте значно пригнічується в клітинах нирок та легень (відповідно на 65,9 і 31,1 %, $p < 0,001-0,01$) на 30-ту добу експерименту (табл. 3.10). Установлені зміни супроводжуються зменшенням концентрації відновленого глутатіону в клітинах цих органів, а саме: в клітинах нирок – на 27,3 % ($p < 0,05$), а в клітинах легень – на 29,5 % ($p < 0,01$). Однак у гепатоцитах кроликів, яким вводили калію дихромат, достовірних змін концентрації GSH не виявлено.

Що стосується впливу Хрому(VI) на ензими енергетичного обміну, то як свідчать отримані результати, введення калію дихромату впродовж 30-ти діб спричиняє підвищення лактатдегідрогеназної активності в усіх трьох досліджуваних органах і неоднакові зміни активності Г-6-ФДГ у печінці, нирках та легенях кроликів (табл. 3.11).

Найвиразніше збільшення лактатдегідрогеназної активності спостерігали в гепатоцитах тварин дослідної групи, в яких після 30-добового введення $K_2Cr_2O_7$ цей показник зростає більш ніж у 5 разів ($p < 0,001$). Водночас у клітинах нирок кроликів активність лактатдегідрогенази збільшується в 3,7 разу ($p < 0,001$), а в клітинах легень – на 42 % ($p < 0,05$).

Таблиця 3.11

Вплив Хрому(VI) на активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і лактатдегідрогенази в клітинах внутрішніх органів кроликів за умов 30-добового введення $K_2Cr_2O_7$ ($M \pm m$, $n=5$)

Орган		Г-6-ФДГ, мкмоль NADP/ хв. на 1 мг білка	ЛДГ, ммоль NADH/хв. на 1 мг білка $\times 10^{-2}$
Печінка	Контроль	1,53 \pm 0,10 ^a	2,75 \pm 0,18 ^b
	Введення $K_2Cr_2O_7$	3,66 \pm 0,21***	16,12 \pm 1,14***
Нирки	Контроль	0,858 \pm 0,052 ^b	3,83 \pm 0,27 ^b
	Введення $K_2Cr_2O_7$	1,04 \pm 0,08	14,11 \pm 1,02***
Легені	Контроль	1,94 \pm 0,08	14,35 \pm 0,78
	Введення $K_2Cr_2O_7$	0,685 \pm 0,031***	20,38 \pm 1,64*

Примітка. ^a, ^b – вірогідність різниць між активністю ензимів у клітинах печінки і нирок порівняно з клітинами легень контрольної групи кроликів (^a – $p < 0,05$; ^b – $p < 0,001$)

За таких умов глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність у клітинах печінки кроликів зростає на 139,2 % ($p < 0,001$), а в клітинах легень – зменшується на 64,7 % ($p < 0,001$) (табл. 3.11, рис. 3.4).

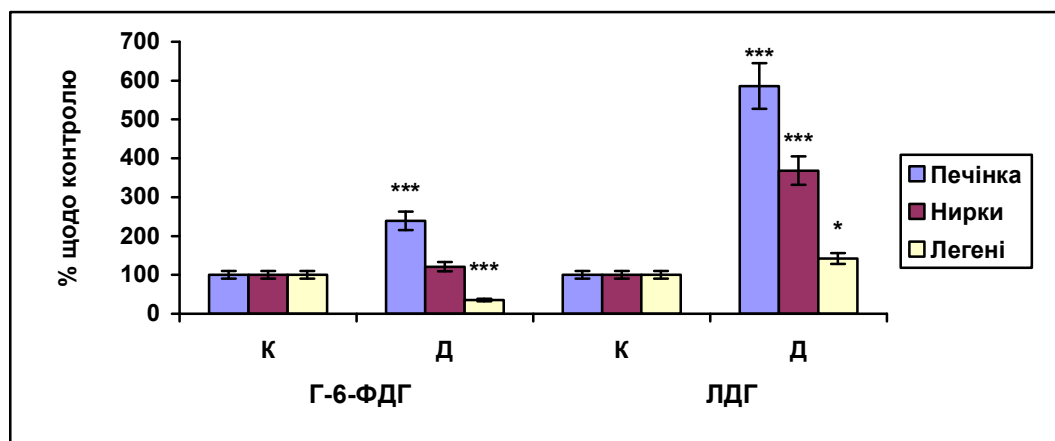


Рис. 3.4. Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) і лактатдегідрогенази (ЛДГ) в органах кроликів: К – контрольна група; Д – група тварин, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ впродовж 30-ти діб

Варто зауважити, що в легенях кроликів контрольної групи активність Г-6-ФДГ є значно вищою, ніж у печінці та нирках ($p < 0,05-0,001$), а зменшення активності цього ензиму під впливом Хрому(VI) узгоджується з пригніченням глутатіонредуктази в клітинах легень на 30-ту добу експерименту (табл. 3.11). Оскільки відомо, що пентозофосфатний шунт є основним джерелом утворення NADPH для більшості клітин тваринного організму і забезпечує майже 60 % NADPH, необхідних для функціонування глутатіонредуктази [142], інгібування глюкозо-6-фосфатдегідрогенази може відігравати важливу роль у пригніченні процесу відновлення глутатіону в легенях тварин за умов надходження Хрому(VI). Разом із тим, отримані результати свідчать про більшу чутливість ензиму пентозофосфатного шунта до інгібувального впливу Хрому(VI) в легенях кроликів, ніж у легенях лабораторних щурів, у яких достовірних змін активності Г-6-ФДГ не встановлено (табл. 3.5). Проте варто зазначити, що в лейкоцитах щурів (лімфоцити, нейтрофільні гранулоцити) виявляється пригнічення активності цього ензиму на окремих стадіях експерименту (табл. 3.8).

3.2.2. Вплив Хрому(VI) на процес пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантну систему та ензими енергетичного обміну в клітинах скелетного м'яза кроликів. З наукових джерел відомо, що поряд із шкідливими ефектами у внутрішніх органах тривала дія важких металів, у тому числі, сполук Cr(VI) може призводити до повільно прогресуючих дегенеративних процесів у м'язовій тканині та спричиняти прояви м'язової дистрофії в організмі тварин і людини [106, 116, 187, 212]. Проте вплив Хрому(VI) на метаболічні та антиоксидантні процеси в скелетних м'язах тварин вивчений недостатньою мірою. Тому завданням роботи було провести дослідження інтенсивності процесів ПОЛ, стану антиоксидантної системи та активності ензимів енергетичного обміну в скелетному м'язі кроликів за умов 14- і 30-добового внутрішньошлункового введення калію дихромату.

Наведені в табл. 3.12 результати досліджень свідчать, що загальний напрям метаболічних змін у тканині м'яза, загалом, подібний до змін, що відбуваються в інших органах кроликів під впливом Хрому(VI). Однак рівень накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів у скелетному м'язі більший, ніж у печінці, нирках та легенях тварин, яким вводили калію дихромат. Як видно з отриманих даних, вміст ТБК-активних продуктів у гомогенатах скелетного м'яза кроликів дослідної групи підвищується майже у 3,5 і 2,4 разу ($p < 0,001$) на 14-ту і 30-ту доби досліджу, що вказує на значну стимуляцію процесів ліпопероксидації в досліджуваній тканині за умов надходження Хрому(VI) (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Вплив Хрому(VI) на вміст ТБК-активних продуктів і відновленого глутатіону та активність ензимів у скелетному м'язі кроликів за умов введення $K_2Cr_2O_7$ ($M \pm m, n=5$)

Показник	Контроль	Введення $K_2Cr_2O_7$	
		14 діб	30 діб
ТБК-активні продукти, нмоль/г тканини	4,67±0,29	16,24±1,14***	11,41±0,90***
СОД, умовні од./хв. на 1 мг білка	9,77±0,54	13,23±0,76*	8,10±0,32*
Каталаза, ммоль H_2O_2 /хв. на 1 мг білка $\times 10^{-3}$	5,75±0,29	1,47±0,09***	3,21±0,22**
ГП, мкмоль GSH/хв. на 1 мг білка	0,588±0,036	0,752±0,050*	0,495±0,028
ГР, мкмоль NADPH/хв. на 1 мг білка	0,701±0,038	0,837±0,053	0,526±0,034*
GSH, мкмоль/г тканини	0,399±0,023	0,520±0,028*	0,316±0,019*
Г-6-ФДГ, мкмоль NADP/хв. на 1 мг білка	1,87±0,13	2,54±0,16*	1,24±0,09*
ЛДГ, мкмоль NADH/хв. на 1 мг білка	26,11±2,12	162,0±14,5***	118,4±9,15***

У процесі досліджень встановлено, що накопичення кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів у клітинах скелетного м'яза тварин на 14-ту

добу експерименту супроводжується активацією супероксиддисмутази на 36,8 % ($p < 0,05$), підвищенням активності глутатіонпероксидази та концентрації відновленого глутатіону (табл. 3.12, рис. 3.5). Зокрема, за умов 14-добового введення $K_2Cr_2O_7$ глутатіонпероксидазна активність у скелетному м'язі кроликів збільшується на 27,9 % ($p < 0,05$), а концентрація GSH зростає на 30,3 % ($p < 0,05$). Однак на 30-ту добу дослідження супероксиддисмутазна активність пригнічується ($p < 0,05$), а активність глутатіонпероксидази наближається до контролю.

Глутатіонредуктазна активність клітин скелетного м'яза кроликів (табл. 3.12), яким вводили $K_2Cr_2O_7$, вірогідно не відрізняється від значень, притаманних тваринам контрольної групи на 14-ту добу, але пригнічується майже на 25 % на 30-ту добу експерименту ($p < 0,05$). Такий ефект супроводжується зменшенням концентрації відновленого глутатіону в досліджуваних клітинах на 20,8 % ($p < 0,05$).

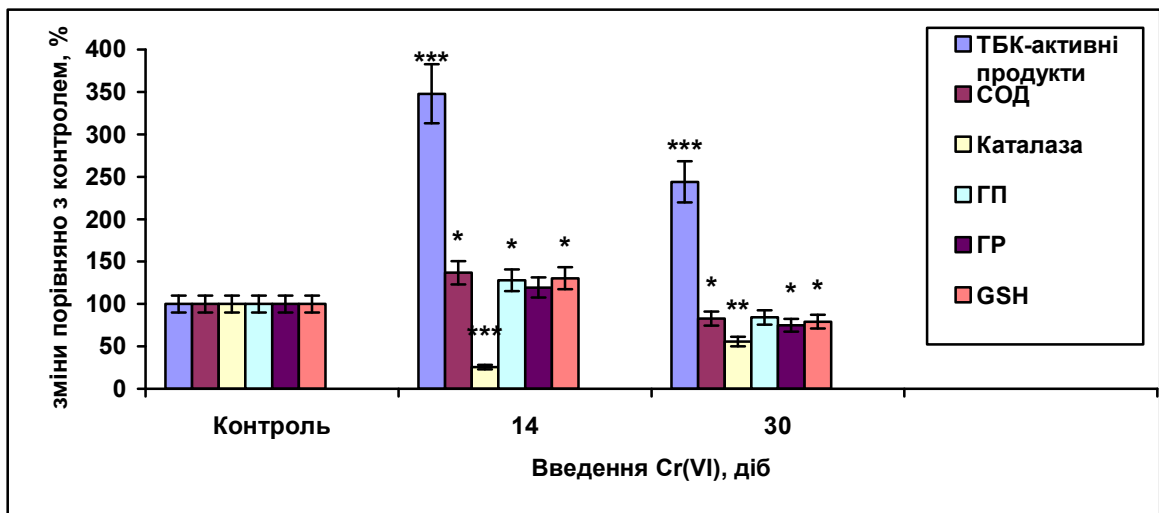


Рис. 3.5. Вміст продуктів ПОЛ і відновленого глутатіону, активність ензимів антиоксидантної системи в скелетному м'язі кроликів за умов введення $K_2Cr_2O_7$

Каталазна активність у скелетному м'язі кроликів за умов введення калію дихромату зменшується майже в 4 рази на 14-ту добу ($p < 0,001$) і в

1,8 разу на 30-ту добу ($p < 0,01$) експерименту (табл. 3.12). Слід зазначити, що отримані результати узгоджуються із даними щодо пригнічення активності цього ензиму в печінці, нирках та лейкоцитах щурів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ впродовж 21-ї доби (табл. 3.3 і 3.7) та в клітинах внутрішніх органів кроликів, які зазнавали впливу цього токсиканта впродовж 30-добового періоду (табл. 3.10). Подібний ефект відзначений також у дослідженнях, виконаних іншими авторами на рибах [155] та лабораторних щурах із застосуванням інших експериментальних умов [155, 166, 232]. Таким чином, можна стверджувати про переважну динаміку щодо пригнічення каталазної активності в клітинах тварин під впливом Хрому(VI).

Результати досліджень динаміки показників, які характеризують процеси катаболізму моносахаридів у скелетному м'язі кроликів дослідних груп, свідчать, що на 14-ту добу експерименту в клітинах тварин відбувається підвищення глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної і, особливо, лактатдегідрогеназної активності (табл. 3.12). Зокрема, активність реакції, яку каталізує лактатдегідрогеназа, зростає у 6,2 разу ($p < 0,001$), а активність Г-6-ФДГ – на 35,8 % ($p < 0,05$). З отриманих даних випливає, що надходження Хрому(VI) зумовлює стимуляцію кінцевої ланки гліколізу та процесу перетворення моносахаридів пентозофосфатним шляхом у скелетному м'язі кроликів. Варто зазначити, що подібний ефект, а саме, активація обох зазначених ензимів виявляється і в клітинах печінки кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ (табл. 3.11). Однак на 30-ту добу експерименту активність Г-6-ФДГ в скелетному м'язі кроликів зменшується ($p < 0,05$) порівняно з контролем, а лактатдегідрогеназна активність залишається в 4,5 разу більшою від контрольного рівня ($p < 0,001$). Крім того, слід відмітити, що пригнічення глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної реакції відбувається одночасно зі зменшенням активності глутатіонредуктази та зменшенням концентрації GSH на завершальній стадії експерименту (табл. 3.12). Такі дані узгоджуються з положенням щодо важливої ролі пентозофосфатного шунта у

постачанні молекул NADPH, необхідних для процесу відновлення глутатіону в клітинах тварин у реакції, каталізованій глутатіонредуктазою [174, 238].

Результати досліджень дають підставу стверджувати, що за умов тривалого надходження Хрому(VI) в організм кроликів через травний тракт виявляються зміни прооксидантно-антиоксидантного стану клітин внутрішніх органів та скелетного м'яза, зумовлені інтенсивним утворенням вільних радикалів та інших активних форм кисню під час відновлення Cr(VI) до Cr(III). Внаслідок цього процесу відбувається нагромадження продуктів ПОЛ та перебудова окремих ланок антиоксидантного метаболізму, скерована на зменшення метаболічних порушень у життєво важливих органах і м'язовій тканині. Встановлені ефекти значною мірою узгоджуються із результатами, отриманими з використанням лабораторних щурів і підтверджують загальні положення щодо прооксидантного впливу сполук Хрому(VI) та інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення в клітинах тварин під впливом цього елемента. Однак різна амплітуда відхилень у значеннях досліджуваних показників від контролю, а також часова динаміка вмісту продуктів ПОЛ та активності захисних ензимів-антиоксидантів в органах кроликів і щурів може вказувати на видові особливості в інтенсивності процесів ліпопероксидації та експресії компонентів антиоксидантної системи, відмінності у резистентності тварин до оксидативного стресу та специфіку адаптаційних реакцій в клітинах окремих органів і тканин до впливу шестивалентного Хрому.

Водночас за умов тривалого надходження Хрому(VI) в організм кроликів відбуваються зміни в окремих ланках енергетичного метаболізму, які полягають насамперед в активації анаеробного катаболізму моносахаридів і підтверджуються результатами щодо значного збільшення лактатдегідрогеназної активності у внутрішніх органах і скелетному м'язі піддослідних тварин, а також із наявними в джерелах літератури даними

щодо пригнічення процесів окислювального фосфорилування в клітинах тварин під впливом Хрому(VI) [173, 261].

Результати, представлені в цьому розділі роботи, опубліковані в таких працях:

1. Антоняк Г.Л. Вплив шестивалентного Хрому на активність ензимів гліколізу та пентозофосфатного шляху в лейкоцитах крові кроликів / Г.Л. Антоняк, Н.П. Хомич // Біологія тварин. – 2014. – Т. 16, №1. – С. 21–28.

2. Хомич Н.П. Вплив Хрому(VI) на процес пероксидації ліпідів і стан антиоксидантної системи в клітинах печінки, нирки та легень кроликів / Н.П. Хомич, Г.Л. Антоняк // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. Гжицького. – Львів, 2015. – Т. 17, № 3 (63). – С. 431–436.

3.3. Вплив антиоксидантів (вітамін Е та Селен) на прооксидантно-антиоксидантний метаболізм у клітинах кроликів за умов надходження Хрому(VI)

3.3.1. Вплив вітаміну Е та Селену на процеси ПОЛ у клітинах кроликів та стан антиоксидантної системи у скелетному м'язі тварин за введення $K_2Cr_2O_7$. Результати, отримані в наших експериментах та в дослідженнях інших авторів щодо прооксидантної дії Cr(VI) у клітинах різних видів тварин [155, 216, 231, 232], обґрунтовують важливу роль антиоксидантних чинників у зменшенні наслідків впливу цього металу на клітинний метаболізм. Як відомо, застосування антиоксидантів у живленні тварин може бути важливим засобом профілактики розвитку оксидативного стресу [43, 44, 291]. У цьому аспекті привертають увагу вітамін Е та мікроелемент Селен, які характеризуються не лише потужною

антиоксидантною дією, але й виконують низку регуляторних функцій в організмі тварин і людини [141, 217, 254, 270, 271]. Обидва ці чинники впливають на стан імунної, кровотворної та інших систем організму, протидіють розвитку запальних процесів, а крім того, Селен є незамінним компонентом глутатіонпероксидази та ензимів, які беруть участь у процесах метаболізму гормонів щитоподібної залози, та низки інших селеновмісних білків [129, 196, 206, 217, 237, 270, 271, 298].

Результати багатьох досліджень свідчать, що особливо ефективним є застосування цих компонентів у комплексі, оскільки збільшує стійкість тварин до впливу різноманітних стресових чинників [131, 132, 134]. Крім того, встановлено, що Селен і вітамін Е коригують метаболічні розлади, зумовлені впливом важких металів на організм та культивовані клітини за умов *in vitro* [5, 33, 43, 52, 74, 124, 126, 185]. Водночас показано, що комплексне застосування вітаміну Е та Селену зменшує наслідки інгібувального впливу Хрому(VI) на кисень транспортну функцію крові та функціональну активність еритроцитів тварин [4].

Однак загалом у наукових джерелах недостатньо даних щодо комплексного застосування зазначених антиоксидантів з метою профілактики оксидативного стресу, зумовленого впливом шестивалентного Хрому. Тому метою досліджень було проаналізувати вплив Селену і вітаміну Е в складі препарату «Е-Селен» на процеси ПОЛ у клітинах внутрішніх органів і скелетного м'яза кроликів, а також антиоксидантну ензимну активність у м'язі тварин за умов внутрішньошлункового введення калію дихромату. Препарат «Е-Селен» вводили тваринам одноразовою ін'єкцією за 1 годину до першого введення калію дихромату. Тварин аналізували на 14-ту добу після сумісної дії антиоксидантів і Хрому(VI). З метою порівняння досліджували вплив вітаміну Е та Селену на антиоксидантну систему клітин скелетного м'яза кроликів, яким не вводили $K_2Cr_2O_7$.

У процесі досліджень встановлено, що на 14-ту добу після введення вітаміну Е та Селену кроликам, які не зазнавали впливу $K_2Cr_2O_7$, вірогідних змін у концентрації ТБК-активних продуктів у клітинах тварин не відбувається, проте в усіх органах виявляється динаміка до зменшення вмісту продуктів ПОЛ (табл. 3.13). Найбільшою мірою такий ефект виявляється у клітинах печінки, в яких концентрація ТБК-активних продуктів зменшується на 13,7 %, проте різниця невірогідна порівняно з контролем.

Таблиця 3.13

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

Матеріал досліджень	Контроль	Введення антиоксидантів	Введення $K_2Cr_2O_7$	Введення $K_2Cr_2O_7$ та антиоксидантів
Печінка	27,12 \pm 1,76	23,41 \pm 2,10	44,53 \pm 2,47**	35,20 \pm 2,72* ⁺
Нирки	31,75 \pm 1,80	30,18 \pm 2,14	41,37 \pm 2,75*	32,44 \pm 2,18 ⁺
Легені	20,97 \pm 1,43	18,52 \pm 1,34	41,26 \pm 3,22**	26,42 \pm 1,45* ⁺⁺
Скелетний м'яз	4,67 \pm 0,29	4,10 \pm 0,26	16,24 \pm 1,14***	9,60 \pm 0,82* ⁺⁺⁺

Примітка: в цій і наступних таблицях і діаграмах *, **, *** – вірогідність різниць між контрольною і дослідними групами (*– $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$); ⁺, ⁺⁺, ⁺⁺⁺ – вірогідність різниць між групою кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ і тваринами, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ та антиоксиданти

Водночас за умов поєднаного впливу антиоксидантів і калію дихромату на організм піддослідних тварин вміст ТБК-активних продуктів вірогідно зменшується порівняно зі значеннями, встановленими в органах кроликів, яким вводили лише $K_2Cr_2O_7$, а саме: у печінці – на 34,4 %, в нирках – на 27,6 %, в легенях – на 70,8 %, а в скелетному м'язі – на 142,2 % ($p < 0,05-0,01$) (табл. 3.13). Такий ефект може зумовлюватись тим, що вітамін Е та Селен, сприяючи детоксикації вільних радикалів та інших активних форм кисню,

гальмують процеси вільнорадикального окиснення в клітинах впродовж початкового періоду надходження Хрому(VI) в організм тварин, протидіючи накопиченню кінцевих продуктів ПОЛ на 14-ту добу експерименту.

Зменшення концентрації продуктів ПОЛ у досліджуваних органах кроликів за умов введення антиоксидантів і $K_2Cr_2O_7$ свідчить про те, що вітамін Е та Селен здійснюють коригувальний вплив на прооксидантно-антиоксидантний баланс та зменшують масштаби метаболічних розладів у клітинах тварин, які зазнають впливу Хрому(VI). Такий ефект узгоджується з результатами досліджень, проведених іншими авторами, у яких показано зменшення нефротоксичної і гепатотоксичної дії Хрому на організм лабораторних щурів під впливом α -токоферолу [126, 242], а також коригувальний вплив вітаміну Е та Селену на кисень транспортну функцію крові та метаболічні процеси в еритроцитах тварин за умов введення калію дихромату [4].

Однак потрібно зазначити, що лише в клітинах нирок кроликів, яким вводили антиоксиданти на тлі надходження Хрому(VI), вміст ТБК-активних продуктів наближається до значень, притаманних тваринам контрольної групи (табл. 3.13), а в клітинах печінки, легень та скелетного м'яза цей показник залишається більшим від контрольного рівня ($p < 0,05-0,01$), хоча й значно зменшується порівняно з групою тварин, яким вводили лише калію дихромат ($p < 0,05-0,01$) (табл. 3.13).

Отримані дані дають підставу вважати, що загалом, застосування досліджуваних антиоксидантів може мати важливе значення для зменшення рівня утворення продуктів ліпопероксидації та наслідків оксидативного стресу, зумовленого впливом Хрому (VI) на організм тварин. Насамперед, це стосується клітин нирок, в яких під впливом вітаміну Е та Селену концентрація продуктів ПОЛ нормалізується, та клітин скелетного м'яза, у яких інтенсивніше накопичуються ТБК-активні продукти порівняно з клітинами внутрішніх органів кроликів, яким вводили Хром(VI), але цей

показник зменшується в 1,4 разу за умов застосування антиоксидантів (табл. 3.13). Оскільки накопичення продуктів ліпопероксидації за умов надходження сполук Хрому(VI) в організм кроликів може негативно позначатися на харчових властивостях м'яса, зменшення вмісту продуктів ПОЛ шляхом застосування вітаміну Е та Селену сприятиме покращанню споживчих якостей продукції кролівництва.

З метою з'ясування впливу вітаміну Е та Селену на функціонування захисних механізмів у клітинах скелетного м'яза проводили дослідження стану антиоксидантної системи у м'язах кроликів, яким вводили препарат «Е-Селен», а також тварин, які зазнавали впливу зазначених антиоксидантів одночасно з дією Хрому(VI) впродовж 14-ти діб.

Результати досліджень скелетного м'яза кроликів дослідних груп свідчать, що у тварин яким вводили препарат «Е-Селен» впродовж 14-ти діб, більшість аналізованих показників не зазнають вірогідних змін порівняно з контролем, за винятком глутатіонпероксидази та ензимів енергетичного обміну (табл. 3. 14). Зокрема, глутатіонпероксидазна активність зростає на 29 % ($p < 0,05$), а глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна – на 27,3 % ($p < 0,01$). Натомість активність лактатдегідрогенази в клітинах м'яза кроликів пригнічується на 45,2 % ($p < 0,01$). Активність інших ензимів антиоксидантної системи (СОД, глутатіонредуктаза) та концентрація відновленого глутатіону виявляють динаміку до підвищення, проте вірогідних різниць у значеннях цих показників порівняно з контролем не встановлено (табл. 3. 14).

Натомість, введення вітаміну Е та Селену кроликам, які зазнавали щодобового надходження $K_2Cr_2O_7$, істотно позначається на функціонуванні ензимної ланки антиоксидантної системи та енергетичного обміну в клітинах скелетного м'яза (табл. 3.14). Зокрема, введення тваринам антиоксидантів на тлі впливу Хрому(VI) призводить до нормалізації активності супероксиддисмутази, зменшуючи значення цього показника порівно з таким, що виявляється у м'язі кроликів, яким вводили лише $K_2Cr_2O_7$. Під

впливом вітаміну Е та Селену каталазна і глутатіонпероксидазна активність у м'язах тварин вірогідно підвищується порівняно з клітинами кроликів, які отримували лише калію дихромат ($p < 0,05-0,01$), проте активність каталази залишається на значно меншому рівні порівняно з контролем ($p < 0,001$).

Таблиця 3.14

Вплив Хрому(VI) та антиоксидантів на активність ензимів та вміст відновленого глутатіону та у скелетному м'язі кроликів ($M \pm m$, $n=5$)

Показник	Контроль	Введення антиоксидантів	Введення $K_2Cr_2O_7$	Введення $K_2Cr_2O_7$ і антиоксидантів
СОД	9,67±0,54	10,38±0,42	13,23±0,76*	11,20±0,84
Каталаза	5,75±0,29	5,41±0,31	1,47±0,09***	2,48±0,16*** ⁺⁺
ГП	0,588±0,036	0,760±0,051*	0,752±0,050*	0,898±0,040*** ⁺
ГР	0,701±0,038	0,740±0,026	0,837±0,053	0,890±0,042*
GSH	0,399±0,023	0,472±0,036	0,520±0,028*	0,698±0,026*** ⁺⁺
Г-6-ФДГ	1,87±0,13	2,38±0,14*	2,54±0,16*	5,15±0,28*** ⁺⁺⁺
ЛДГ	26,11±2,12	14,02±0,90**	162,0±14,5***	49,16±3,22*** ⁺⁺⁺

Примітки: концентрацію відновленого глутатіону (GSH) виражали в мкмоль/г тканини, активність супероксиддисмутази (СОД) – в умовних од./хв на 1 мг білка, каталази – в ммоль H_2O_2 / хв. на 1 мг білка $\times 10^{-3}$, глутатіонпероксидази (ГП) – в мкмоль GSH/хв. на 1 мг білка, глутатіонредуктази (ГР), мкмоль NADPH/хв. на 1 мг білка, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) – в мкмоль NADP/ хв. на 1 мг білка, лактатдегідрогенази (ЛДГ) – в мкмоль NADH/хв. на 1 мг білка.

Активність глутатіонредуктази в скелетному м'язі кроликів (табл. 3.14, рис. 3.6), які отримували $K_2Cr_2O_7$ та антиоксиданти, зростає порівняно зі

значенням, установленим у тварин контрольної групи ($p < 0,05$), а концентрація відновленого глутатіону у м'язі тварин збільшується порівняно з контролем ($p < 0,001$) і значенням цього показника у кроликів, які зазнавали впливу Хрому(VI) ($p < 0,01$).

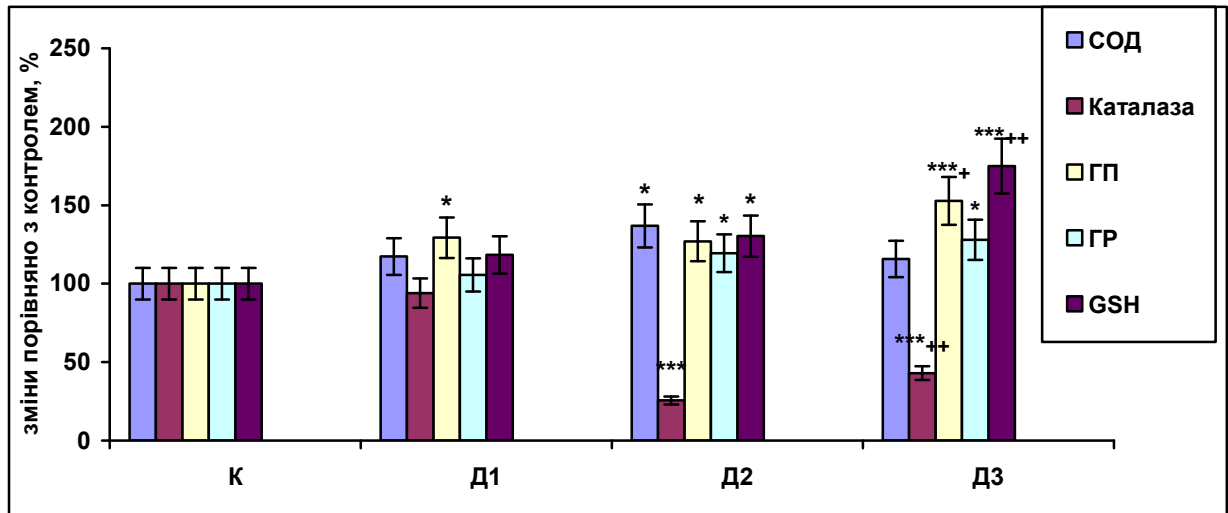


Рис. 3.6. Активність ензимів антиоксидантної системи та вміст відновленого глутатіону у скелетному м'язі кроликів за умов введення антиоксидантів (Д1), $K_2Cr_2O_7$ (Д2) і $K_2Cr_2O_7$ та антиоксидантів (Д3)

У процесі досліджень встановлено, що введення вітаміну Е та Селену кроликам, які зазнавали впливу Хрому(VI), впливає також і на ензими енергетичного обміну в скелетному м'язі тварин. Зокрема, активність лактатдегідрогенази у кроликів цієї групи зменшується в 3,2 разу ($p < 0,001$), а глюкозо-6-фосфатдегідрогенази – збільшується на 140 % ($p < 0,001$) порівняно з клітинами м'яза тварин, яким вводили лише $K_2Cr_2O_7$ (табл. 3.14).

Із результатів досліджень можна зробити висновок, що введення антиоксидантів (вітамін Е в комплексі з Селеном) зменшує інтенсивність процесів ПОЛ у клітинах внутрішніх органів, впливає на стан антиоксидантної системи та процеси енергетичного обміну у скелетному м'язі кроликів за умов надходження шестивалентного Хрому і, таким чином, зменшує шкідливі наслідки дії цього елемента в організмі тварин. Вірогідно,

що в механізмах встановлених ефектів важливу роль відіграє вплив Селену на процес синтезу глутатіонпероксидази, оскільки зазначений елемент входить до складу активного центру ензиму [269]. Таким чином, забезпечення організму Селеном сприяє підвищенню антиоксидантного статусу клітин та ефективнішій детоксикації активних форм кисню і гідропероксидів ліпідів, які накопичуються внаслідок прооксидантного впливу Хрому(VI). Разом з тим, у наукових джерелах наявні дані про роль Селену в регуляції процесів транспорту глюкози в клітини скелетного м'яза [272] та енергетичного обміну в організмі тварин і людини [318]. Зокрема, показано, що Селен впливає на експресію і/або функції ключових регуляторів процесів гліколізу, глюконеогенезу, ліпогенезу [318], пригнічує експресію індукованого гіпоксією фактора-1 (HIF-1) [188], збільшує експресію цитохрому *c* та деяких інших мітохондріальних білків [272].

Крім того, з джерел літератури відомо, що надходження Селену зумовлює збільшення вмісту трийодтироніну в організмі тварин внаслідок активації процесу дейодування тироксину [135, 161]. Такий ефект загалом сприяє стимуляції кисеньзалежних енергетичних процесів у клітинах і може супроводжуватись зменшенням інтенсивності кінцевої ланки гліколізу, на що вказують результати наших досліджень клітин скелетного м'яза тварин. Таким чином, забезпечення тварин Селеном може покращувати протікання енергетичних процесів та сприяти зменшенню розвитку гіпоксичного стану, зумовленого інгібувальним впливом дихромат-аніона на функціонування мітохондрій і процеси окислювального фосфорилування [102, 113, 114, 239, 260].

3.3.2. Вплив $K_2Cr_2O_7$ та антиоксидантів (вітамін Е та Селен) на процес пероксидного окиснення ліпідів та активність ензимів у лейкоцитах кроликів. У модельних дослідженнях з використанням білих щурів показано, що внутрішньошлункове введення $K_2Cr_2O_7$ призводить до

змін прооксидантно-антиоксидантного стану і стимуляції процесів ПОЛ у лейкоцитах тварин. Такі ефекти можуть являти собою одну із ланок у механізмах порушень функцій імунних клітин під впливом Хрому(VI) [67, 130, 295]. Разом із тим, відомо, що антиоксиданти – вітамін Е та Селен – сприятливо впливають на функціональний стан імунної системи та зменшують масштаби пошкоджень, зумовлених впливом важких металів [4, 5, 31, 120, 129, 131, 270, 271, 298]. Тому наші дослідження були скеровані на з'ясування впливу вітаміну Е та Селену на процес пероксидного окиснення ліпідів, стан антиоксидантної системи, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і лактатдегідрогенази в лімфоцитах і нейтрофільних гранулоцитах кроликів за умов внутрішньошлункового введення тваринам $K_2Cr_2O_7$ впродовж 14-ти діб.

Результати експериментів свідчать, що введення вітаміну Е та Селену впливає на окремі ланки антиоксидантного та енергетичного метаболізму в аналізованих популяціях лейкоцитів крові кроликів (табл. 3.15, рис. 3.7, 3.8), причому встановлені ефекти значною мірою подібні до тих, що виявляються в скелетному м'язі кроликів, яким вводили антиоксиданти (табл. 3.14).

Насамперед слід відмітити істотне збільшення глутатіонпероксидазної активності, яке спостерігали в обох досліджуваних популяціях лейкоцитів кроликів після введення вітаміну Е та Селену. У нейтрофільних гранулоцитах підвищення активності ГП виявляється більшою мірою, ніж у лімфоцитах, зокрема, показник збільшення ензимної активності в нейтрофілах становить 74,6 % ($p < 0,01$), а в лімфоцитах – 39,8 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Такий ефект супроводжується майже однаковим зростанням активності Г-6-ФДГ в лімфоцитах і нейтрофільних гранулоцитах кроликів (відповідно на 131,5 і 126,8 %, $p < 0,05$), яким вводили антиоксиданти, однак лактатдегідрогеназна активність у лейкоцитах тварин цієї групи залишається без істотних змін (табл. 3.15).

Таблиця 3.15

Показники прооксидантно-антиоксидантного стану лейкоцитів кроликів за умов введення $K_2Cr_2O_7$ та антиоксидантів ($M \pm m$, $n=3-5$)

Показник	Контроль	Введення антиоксидантів	Введення $K_2Cr_2O_7$	Введення $K_2Cr_2O_7$ і антиоксидантів
Лімфоцити				
Каталаза, нмоль H_2O_2 / хв. на 1 мг білка	7,92±0,54	8,24±0,65	2,30±0,19***	6,27±0,41 ⁺⁺⁺
ГП, нмоль GSH/ хв. на 1 мг білка	55,82±4,12	78,01±6,11*	31,40±2,37**	65,34±3,80 ⁺⁺⁺
Г-6-ФДГ, нмоль NADP/ хв. на 1 мг білка	31,16±2,18	40,97±2,76*	14,71±1,13***	22,98±2,20 ⁺
ЛДГ, нмоль NADH/хв. на 1 мг білка	52,45±3,40	58,74±4,52	64,56±5,13	55,44±4,36
ТБК-активні продукти, нмоль/мг	117,4±8,11	97,38±7,21	202,0±17,24**	141,2±12,33 ⁺
Нейтрофільні гранулоцити				
Каталаза, нмоль H_2O_2 / хв. на 1 мг білка	8,20±0,58	8,79±0,76	3,43±0,27***	7,95±0,71 ⁺⁺
ГП, нмоль GSH/ хв. на 1 мг білка	42,38±2,56	74,00±5,21**	28,91±2,33*	60,56±4,88 ^{*++}
Г-6-ФДГ, нмоль NADP/ хв. на 1 мг білка	20,44±1,32	25,92±1,60*	15,76±1,11*	25,14±2,04 ⁺⁺
ЛДГ, нмоль NADH/хв. на 1 мг білка	32,25±2,17	26,34±1,92	42,63±2,59*	36,10±2,12
ТБК-активні продукти, нмоль/мг	105,7±7,31	95,12±7,28	141,2±9,10*	91,22±7,14 ⁺

У процесі досліджень встановлено, що введення антиоксидантів впливає на активність зазначених ензимів також і в лейкоцитах крові кроликів, які зазнавали впливу Хрому(VI) (табл. 3.15). Зокрема, глутатіонпероксидазна активність в лімфоцитах тварин цієї групи наближається до контролю, а в нейтрофільних гранулоцитах – на 43 % перевищує контрольний рівень ($p < 0,05$). Разом із тим, активність глутатіонпероксидази в обох фракціях лейкоцитів значно збільшується (майже вдвічі) порівняно з рівнем, що виявляється у кроликів, яким вводили калію дихромат ($p < 0,01-0,001$).

Згідно з результатами досліджень, застосування антиоксидантів сприяє нормалізації активності й інших ензимів у лейкоцитах кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$, а саме: каталази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і лактатдегідрогенази (табл. 3.15). Потрібно зазначити (рис. 3.7, 3.8), що каталазна та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність, як і активність глутатіонпероксидази, достовірно підвищується над значеннями, притаманними лейкоцитам тварин, що зазнавали впливу калію дихромату ($p < 0,05-0,001$).

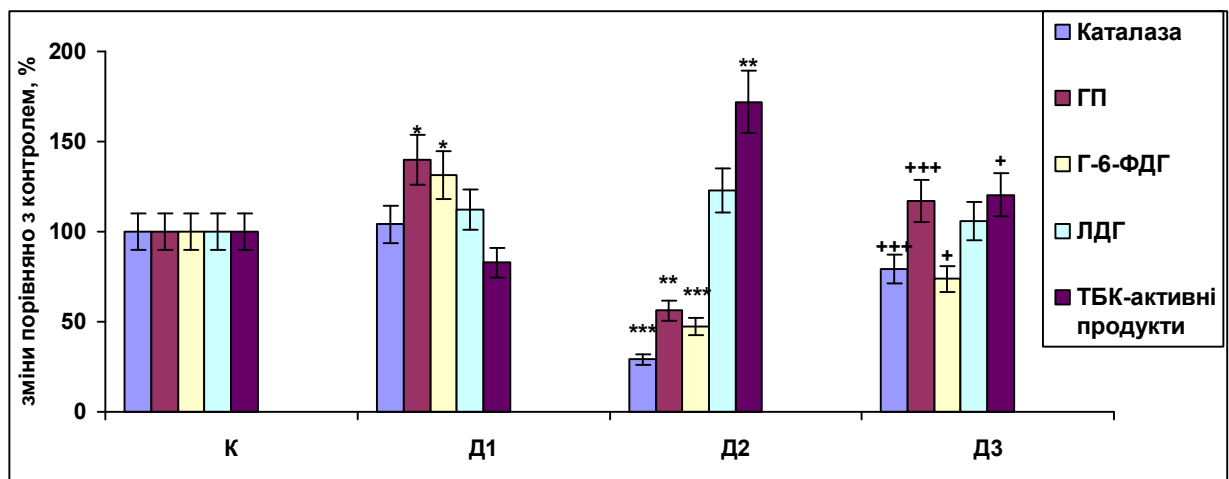


Рис. 3.7. Активність ензимів та вміст ТБК-активних продуктів у лімфоцитах кроликів за умов введення антиоксидантів (Д1), $K_2Cr_2O_7$ (Д2) і $K_2Cr_2O_7$ та антиоксидантів (Д3)

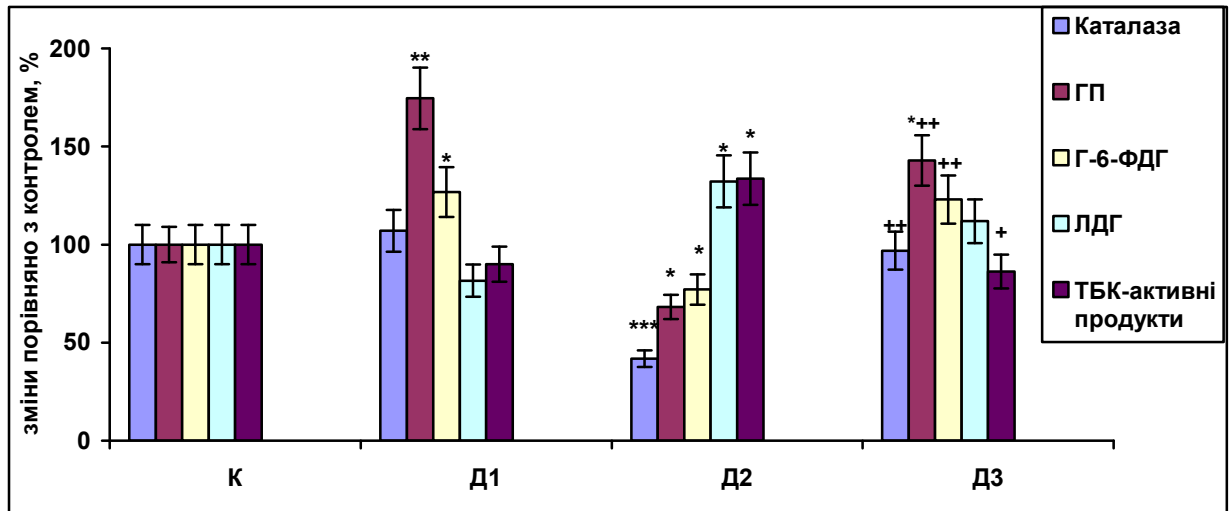


Рис. 3.8. Активність ензимів та вміст ТБК-активних продуктів у нейтрофільних гранулоцитах кроликів за умов введення антиоксидантів (Д1), $K_2Cr_2O_7$ (Д2) і $K_2Cr_2O_7$ та антиоксидантів (Д3)

Разом із нормалізацією активності ензимів введення вітаміну Е та Селену зумовлює наближенню до контрольного рівня вмісту ТБК-активних продуктів у лімфоцитах і нейтрофільних гранулоцитах кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ (табл. 3.15, рис. 3.7, 3.8).

Результати досліджень дають підстави стверджувати, що введення вітаміну Е та Селену сприяє зменшенню інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів, підвищенню антиоксидантного статусу, збільшенню глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності в лімфоцитах і нейтрофільних гранулоцитах кроликів за умов надходження в організм шестивалентного Хрому. Такі ефекти застосованих антиоксидантів можуть зменшувати шкідливий вплив Хрому(VI) на лейкоцити, сприятливо позначатись на функціонуванні імунної системи, водночас підвищуючи резистентність тварин до захворювань за умов забруднення компонентів навколишнього середовища сполуками цього елемента.

Результати, представлені в цьому розділі роботи, опубліковані:

1. Хомич Н.П. Вплив Хрому (VI) і препарату «Е-селен» на пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантну систему та ензими енергетичного обміну в скелетному м'язі кроликів / Н.П. Хомич, Г.Л. Антоняк // Сільський господар. – 2015. – С. 13–17.

3.4. Вплив калію дихромату і антиоксидантів на акумуляцію Хрому в органах кроликів та показники продуктивності тварин

3.4.1. Вплив $K_2Cr_2O_7$ і антиоксидантів на акумуляцію Хрому в клітинах внутрішніх органів і скелетного м'яза кроликів. Для детального аналізу метаболічних ефектів Хрому(VI) в клітинах і вивчення можливості застосування антиоксидантів з коригувальною та профілактичною метою, необхідні дослідження процесів акумуляції цього елемента у внутрішніх органах і м'язах тварин. У зв'язку з цим наші експерименти були скеровані на з'ясування рівня накопичення Хрому в клітинах печінки, нирки, легень, селезінки, серцевого та скелетного м'язів кроликів за умов тривалого введення калію дихромату (30 діб) та Селену у комплексі з вітаміном Е (препарат «Е-Селен» вводили кроликам двічі – перед початком досліду і на 15-ту добу введення $K_2Cr_2O_7$).

Результати досліджень вмісту Хрому в печінці, нирках, легенях, серці, селезінці та скелетному м'язі кроликів контрольної групи свідчать, що зазначений елемент неоднаковою мірою відкладається в клітинах досліджуваних органів. Найбільший рівень акумуляції Хрому спостерігали в клітинах нирок, а найменший – у клітинах легень кроликів.

Згідно з отриманими в наших експериментах результатами, за інтенсивністю накопичення Хрому в клітинах кроликів контрольної групи зазначені органи можна розташувати в такому порядку: нирки > селезінка > печінка > серце > скелетний м'яз > легені (табл. 3.16, рис. 3.9). Загалом, вміст

цього елемента в клітинах нирок був більшим, ніж у клітинах печінки, селезінки, серця, скелетного м'язу та легень тварин контрольної групи відповідно в 2,38; 2,64; 3,35; 3,63 і 9,57 разу.

Таблиця 3.16

Акумуляція Хрому в клітинах внутрішніх органів і скелетного м'язу кроликів за умов введення $K_2Cr_2O_7$ та антиоксидантів (мг/кг, $M \pm m$, $n=3$)

Матеріал досліджень	Контроль	Введення $K_2Cr_2O_7$	Введення $K_2Cr_2O_7$ та антиоксидантів
Печінка	3,196±0,268	11,087±0,964***	6,574±0,518* ⁺
Нирки	8,430±0,702	27,070±2,940***	14,178±1,023* ⁺⁺
Легені	0,881±0,057	2,430±0,185***	1,665±0,131** ⁺
Серце	2,513±0,169	12,187±1,076***	9,835±0,702***
Селезінка	3,548±0,272	7,787±0,608***	5,617±0,576*
Скелетний м'яз	2,321±0,175	4,622±0,390**	3,074±0,278 ⁺

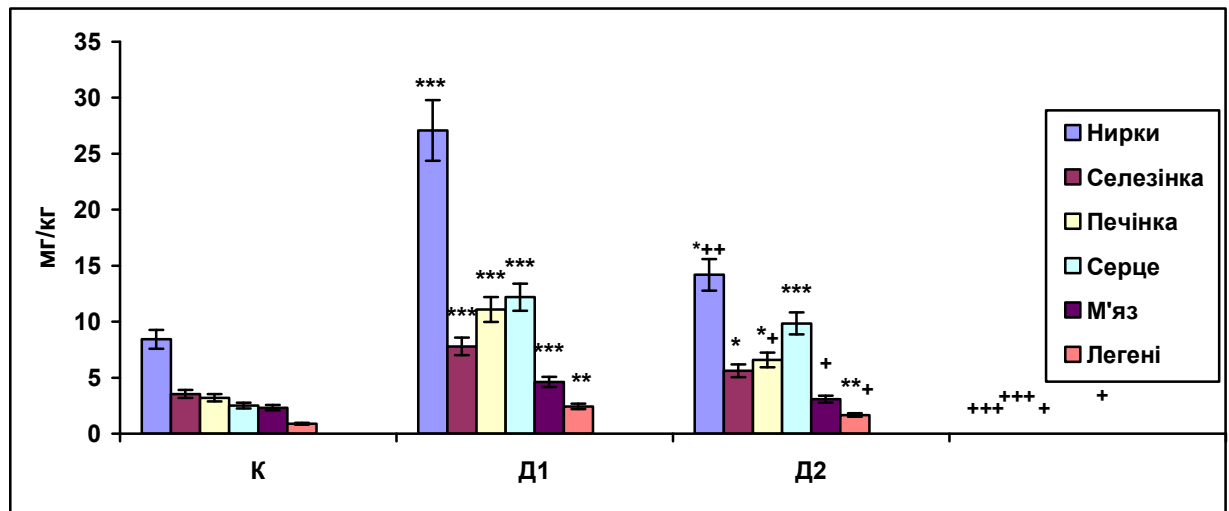


Рис. 3.9. Акумуляція Хрому в органах кроликів за умов введення $K_2Cr_2O_7$ (Д1) і $K_2Cr_2O_7$ та антиоксидантів (Д2)

За умов тривалого надходження Хрому(VI) в організм тварин концентрація Хрому в усіх аналізованих органах значно зростає, а розподіл

органів залежно від концентрації цього елемента змінюється. Як свідчать результати досліджень, після 30-добового введення $K_2Cr_2O_7$ вміст Хрому в органах кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$, збільшується: в серцевому м'язі – в 4,85 разу, печінці – в 3,46 разу, нирках – в 3,21 разу, легенях – 2,75 разу, селезінці – в 2,2 разу, а в скелетному м'язі – в 1,99 разу ($p < 0,001-0,01$) (табл. 3.16). Загалом за концентрацією Хрому органи кроликів, які зазнавали 30-добового введення калію дихромату, можна розмістити у такому порядку: нирки > серце > печінка > селезінка > скелетний м'яз > легені (табл. 3.16). Отже, відповідно з результатами наших досліджень, за умов тривалого перорального надходження сполук Cr(VI) клітини нирок та серцевого м'яза, які акумулюють найбільшу кількість цього металу, можуть зазнавати найбільшого ураження внаслідок його токсичних ефектів. Отримані дані щодо інтенсивної акумуляції цього елемента в клітинах нирки узгоджуються із результатами наших досліджень, які свідчать про значне збільшення вмісту продуктів ПОЛ у клітинах нирок кроликів та лабораторних щурів, яким вводили калію дихромат, а також із наявними в наукових джерелах повідомленнями про високу частоту захворювань на хвороби нирок у людей, які зазнають впливу сполук шестивалентного Хрому [307].

Результати досліджень вказують на те, що застосування вітаміну Е в комплексі з Селеном сприяє зменшенню рівня накопичення Хрому в органах кроликів, яким вводили калію дихромат. Встановлено, що за таких умов концентрація Хрому виявляє динаміку до нормалізації в усіх аналізованих органах тварин (табл. 3.16), а в клітинах нирок, печінки, легень, скелетного м'яза значно зменшується порівняно з клітинами кроликів, які зазнавали тривалого введення $K_2Cr_2O_7$ ($p < 0,05-0,01$). Однак лише в клітинах скелетного м'яза кроликів, яким вводили антиоксиданти на тлі тривалого надходження $K_2Cr_2O_7$, вміст Хрому достовірно не відрізняється від концентрації цього елемента в клітинах тварин контрольної групи. Що стосується клітин інших органів (нирки, печінка, легені, серцевий м'яз, селезінка), то в них

виявляються достовірні різниці в концентрації Хрому між групою кроликів (табл. 3.16), яким вводили $K_2Cr_2O_7$ і антиоксиданти та контрольною групою ($p < 0,05-0,001$). Такі результати свідчать, що введенням вітаміну Е та Селену можна лише частково зменшити рівень акумуляції Хрому в клітинах внутрішніх органів за умов тривалого надходження сполук Cr(VI) в організм тварин.

3.4.2. Вплив $K_2Cr_2O_7$ і антиоксидантів на показники продуктивності кроликів. Важливим завданням роботи було дослідити вплив Хрому(VI) та антиоксидантів на показники продуктивності кроликів. З цією метою аналізували зміни живої маси, масу внутрішніх органів та показники якості шерсті тварин, які отримували калію дихромат з питною водою впродовж 60-ти діб у дозах 5 і 10 мг/кг живої маси, і кроликів, яким на тлі надходження цього токсиканта вводили вітамін Е у комплексі з Селеном (у складі препарату «Е-Селен», ін'єкції якого робили перед початком досліду та через кожні 14 діб експерименту).

У процесі досліджень встановлено, що за умов тривалого введення Хрому(VI) відбуваються зміни показників живої маси тварин (табл. 3.17) та маси внутрішніх органів – печінки, нирок, серця, легень (табл. 3.18).

Зокрема, жива маса кроликів контрольної групи впродовж 60-ти діб досліду зростає в середньому на 1150 г, що становить на 95,8 % більше порівняно з масою тварин перед початком досліду (табл. 3.17). Введення кроликам калію дихромату з розрахунку вмісту Хрому(VI) 5 і 10 мг/кг живої маси призводить до зменшення маси тварин на 60-ту добу експерименту порівняно зі значеннями, встановленими у кроликів контрольної групи. Зокрема, жива маса тварин, які щодоби отримували з питною водою Хром(VI) дозою 5 мг/кг живої маси, зростає на 890 г (84,8 %), а кроликів, які отримували Хром(VI) дозою 10 мг/кг живої маси, зростає лише на 730 г (63,5 %). Такі дані свідчать про пригнічення процесів росту кроликів, які зазнають

впливу сполук Хрому(VI), причому шкідливий вплив цього елемента збільшується з підвищенням рівня його надходження в організм тварин.

Таблиця 3.17

Середня маса кроликів, яким вводили вітамін Е та Селен на тлі щодобового надходження Cr(VI) з питною водою (n=5)

Умови досліджень		Маса тварин, г				
		перед початком досліджу	30-та доба досліджу		60-та доба досліджу	
			маса	приріст	маса	приріст
Контроль		1200	1780	580	2350	1150
Надходження Cr(VI) дозою 5 мг/кг живої маси щодоби	K ₂ Cr ₂ O ₇	1050	1520	470	1940	890
	K ₂ Cr ₂ O ₇ + антиоксиданти	1100	1640	540	2070	970
Надходження Cr(VI) дозою 10 мг/кг живої маси щодоби	K ₂ Cr ₂ O ₇	1150	1510	360	1830	730
	K ₂ Cr ₂ O ₇ + антиоксиданти	1090	1620	530	2000	910

Згідно з результатами досліджень, введення вітаміну Е та Селену кроликам, які зазнавали щодобового надходження Хрому(VI), сприяє покращанню процесів росту та збільшенню живої маси порівняно з групою тварин, які отримували K₂Cr₂O₇ з питною водою (табл. 3.17). Зокрема, приріст живої маси тварин групи «Cr(VI) (5 мг/кг живої маси) + антиоксиданти» становив 970 г (88,2 % від маси перед початком досліджу), а в кроликів групи «Cr(VI) (10 мг/кг живої маси) + антиоксиданти» приріст маси тіла становив 910 г (83,5 % від маси перед початком досліджу).

Результати досліджень свідчать, що за умов тривалого надходження Хрому(VI) з питною водою змінюється маса внутрішніх органів кроликів (табл. 3.18). Проте зміни цього показника неоднозначні та залежать від кількості Хрому(VI), що надходить в організм тварин.

Таблиця 3.18

Маса органів кроликів, яким вводили вітамін Е та Селен на тлі щодобового надходження Cr(VI) з питною водою ($M \pm m$, $n=5$)

Умови досліджень		Маса після забою, г	Суха маса, г
Печінка			
Контроль		67,00±2,79	21,33±0,82
Cr(VI) 5 мг/кг живої маси	K ₂ Cr ₂ O ₇	59,10±2,18	17,28±0,72*
Cr(VI) 10 мг/кг живої маси	K ₂ Cr ₂ O ₇	88,30±3,48**	29,56±1,14**
	K ₂ Cr ₂ O ₇ + антиоксиданти	79,44±3,06*	26,15±0,96*
Нирки			
Контроль		5,53±0,20	2,71±0,11
Cr(VI) 5 мг/кг живої маси	K ₂ Cr ₂ O ₇	4,86±0,18	2,26±0,09
Cr(VI) 10 мг/кг живої маси	K ₂ Cr ₂ O ₇	6,10±0,25	3,09±0,13
	K ₂ Cr ₂ O ₇ + антиоксиданти	5,15±0,21	2,90±0,12
Легені			
Контроль		10,32±0,38	2,30±0,09
Cr(VI) 5 мг/кг живої маси	K ₂ Cr ₂ O ₇	8,92±0,36*	1,93±0,07*
Cr(VI) 10 мг/кг живої маси	K ₂ Cr ₂ O ₇	15,68±0,72***	3,94±0,14***
	K ₂ Cr ₂ O ₇ + антиоксиданти	9,43±0,35	2,15±0,08
Серце			
Контроль		6,97±0,27	1,67±0,08
Cr(VI) 5 мг/кг живої маси	K ₂ Cr ₂ O ₇	7,25±0,28	1,65±0,08
Cr(VI) 10 мг/кг живої маси	K ₂ Cr ₂ O ₇	4,97±0,21**	1,13±0,04***
	K ₂ Cr ₂ O ₇ + антиоксиданти	6,06±0,24	1,61±0,07
Селезінка			
Контроль		0,936±0,034	0,242±0,01
Cr(VI) 5 мг/кг живої маси	K ₂ Cr ₂ O ₇	0,841±0,036	0,185±0,007*
Cr(VI) 10 мг/кг живої маси	K ₂ Cr ₂ O ₇	0,65±0,026***	0,151±0,005***
	K ₂ Cr ₂ O ₇ + антиоксиданти	1,27±0,055**	0,268±0,011

Зокрема, 60-добове введення $K_2Cr_2O_7$ з розрахунку на вміст Хрому(VI) 5 мг/кг живої маси здебільшого не спричиняє вірогідних змін маси внутрішніх органів, за винятком легень, маса яких зменшується на 13,6 % ($p < 0,05$). Маса всіх інших органів, крім серця, виявляє динаміку до зменшення. Натомість введення $K_2Cr_2O_7$ з розрахунку на вміст Хрому(VI) 10 мг/кг живої маси спричиняє достовірне збільшення маси печінки на 31,8 % ($p < 0,01$) і легень на 52 % ($p < 0,001$) та зменшення маси серця і селезінки майже на 30 % ($p < 0,01-0,001$). Такі ефекти можуть пояснюватися різними механізмами, які опосередковують токсичність Cr(VI) щодо органів і систем організму. Зокрема, збільшення маси печінки та легень, органів, які, згідно з результатами наших досліджень, інтенсивно акумулюють Хром (табл. 3.16), може зумовлюватись набряканням цих органів внаслідок розвитку запального процесу та інфільтрації лейкоцитами. Збільшення печінки у випадку отруєння Хромом(VI) описане і в дослідженні інших авторів [302]. Зменшення маси органів за умов надходження $K_2Cr_2O_7$ в організм кроликів може зумовлюватись загальним пригніченням анаболічних процесів та зменшенням інтенсивності синтезу білків у клітинах тварин під впливом сполук Cr(VI).

У процесі досліджень встановлено, що введення кроликам Селену та вітаміну Е зменшує вплив Хрому(VI) на масу внутрішніх органів. Отримані результати свідчать, що під впливом антиоксидантів маса печінки зменшується порівняно з показником, виявленим у кроликів групи «Cr(VI) (10 мг/кг живої маси)», а маса легень і серця наближається до контрольних значень (табл. 3.18). Однак за умов введення антиоксидантів відбувається значне збільшення маси селезінки порівняно з контролем на 35,7 % ($p < 0,01$). Оскільки селезінка кроликів є органом так званого «стресового еритропоезу», такий ефект може зумовлюватись стимулювальним впливом Селену на процес кровотворення та накопичення еритроцитів у цьому органі [282, 296].

До завдань роботи входило визначення показників якості шерсті кроликів, яким вводили Cr(VI) та антиоксиданти. З цією метою визначали міцність шерсті і тонину шерстяного волокна.

Відомо, що міцність є важливим показником, який впливає на технологічні властивості шерсті. Разом із тим, на міцність вовнового волокна значною мірою впливають як генотипові, так і паратипові фактори, в тому числі годівля, утримання та фізіологічний стан тварин [45]. Результати досліджень свідчать, що у кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ з розрахунку вмісту Cr(VI) 5 мг/кг живої маси впродовж 60 діб не зумовлює вірогідних змін показника міцності шерсті (табл. 3.19). Проте за умов щодобового надходження $K_2Cr_2O_7$ з розрахунку вмісту Cr(VI) 10 мг/кг живої маси міцність шерсті кроликів зменшується на 12,8 % ($p < 0,05$). Введення кроликам вітаміну Е та Селену одночасно з надходженням калію дихромату призводить до нормалізації цього показника і, разом з тим, збільшує міцність шерсті на 27,3 % ($p < 0,01$) порівняно з результатами, які виявляються у тварин, яким вводили лише $K_2Cr_2O_7$.

Таблиця 3.19

Міцність шерсті кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ і антиоксиданти ($M \pm n$, $n=5$)

Умови досліджень		Міцність шерсті (сН)
Контроль		8,74±0,27
Cr(VI) 5 мг/кг живої маси	$K_2Cr_2O_7$ (60 діб)	8,04±0,31
	$K_2Cr_2O_7$ + антиоксиданти	9,41±0,36
Cr(VI) 10 мг/кг живої маси	$K_2Cr_2O_7$ (60 діб)	7,62±0,32*
	$K_2Cr_2O_7$ + антиоксиданти	9,70±0,40 ⁺⁺

Міцність волокон шерсті значною мірою залежить від їхньої тонини, оскільки чим товстіше волокно, тим більша сила потрібна для його розриву. Отримані результати вказують на те (табл. 3.20), що за умов введення

$K_2Cr_2O_7$ з розрахунку на вміст Cr(VI) 5 і 10 мг/кг живої маси тонина остьових волокон зменшується на 19,8 і 12,0 % ($p < 0,05-0,01$), а пухових – відповідно на 32,3 і 18,3 % ($p < 0,05-0,001$).

Таблиця 3.20

Тонина шерсті кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ і антиоксиданти, мкм
($M \pm n$, $n=5$)

Умови досліджень		Ость	Пух
Контроль		17,90±0,52	8,45±0,30
Cr(VI) 5 мг/кг живої маси	$K_2Cr_2O_7$ (60 діб)	14,35±0,48**	5,72±0,22***
	$K_2Cr_2O_7$ + антиоксиданти	18,20±0,76 ⁺⁺	7,53±0,32
Cr(VI) 10 мг/кг живої маси	$K_2Cr_2O_7$ (60 діб)	15,75±0,60*	6,90±0,38*
	$K_2Cr_2O_7$ + антиоксиданти	17,70±0,78	7,65±0,36

Разом із тим, встановлено, що введення тваринам вітаміну Е та Селену зменшує вплив шестивалентного Хрому на тонину шерсті кроликів. Зокрема, введення антиоксидантів нормалізує тонину остьових і пухових волокон, причому за умов введення $K_2Cr_2O_7$ з розрахунку на вміст Cr(VI) 5 мг/кг живої маси одночасно з антиоксидантами сприяє підвищенню тонини ості порівняно зі значенням цього показника у кроликів, яким вводили лише Cr(VI) ($p < 0,01$).

Отже, отримані результати свідчать, що введення кроликам вітаміну Е та Селену зменшує негативний вплив Cr(VI) на міцність і тонину волокон і, таким чином, нормалізує якість шерсті за умов тривалого надходження цього елемента в організм тварин.

Загалом із результатів досліджень впливу вітаміну Е та Селену на продуктивність кроликів за умов тривалого щодобового надходження калію дихромату можна зробити висновок, що застосування цих антиоксидантів зменшує втрату живої маси тварин за умов пригнічення анаболічних процесів

під впливом Cr(VI), позитивно впливає на масу внутрішніх органів, зменшуючи масу печінки порівняно з показником, виявленим у кроликів групи «Cr(VI) (10 мг/кг живої маси) + антиоксиданти», нормалізує масу легенів і серця, протидіє погіршенню якості шерсті кроликів, зумовленому тривалим надходженням Хрому (VI) через травний тракт.

Результати, представлені в цьому розділі, опубліковані:

1. Скаб О.Б. Ріст і розвиток молодняку кроликів та якість мяса за сумісної дії $K_2Cr_2O_7$ та препарату «Е-Селен» / О.Б. Скаб, Н.П. Хомич, Г.Л. Антоняк // Матеріали XI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених і спеціалістів (до 100 річниці з Дня народження О.В. Гілатова) «Стан та перспективи розвитку агропромислового виробництва України», 19–20 березня 2015 р., м. Кіровоград. – 2015. – С. 158–160.

РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Впродовж останніх десятиріч збільшився рівень забруднення навколишнього середовища важкими металами, що становить значну екологічну проблему [10, 16, 25, 315]. Зростання концентрації цих поллютантів у ґрунті, воді, атмосферному повітрі внаслідок антропогенної діяльності супроводжується збільшенням вмісту важких металів у рослинних продуктах та з підвищенням ризику їхнього надходження в організм сільськогосподарських тварин і людини [49, 299, 310]. Значну увагу привертає забруднення довкілля сполуками Хрому, рівень потрапляння якого в компоненти навколишнього середовища з промисловими відходами щорічно становить понад 10^5 тонн [143, 144]. Значну загрозу для природних екосистем становить шестивалентний Хром (Cr (VI)), який, на відміну від тривалентного, характеризується високим рівнем токсичності та мутагенним впливом на компоненти біоти [157]. За умов надходження в організм людини Хром(VI) здатний спричиняти різноманітні токсичні ефекти в органах видільної, травної, дихальної та імунної систем та зумовлювати розвиток канцерогенних процесів [65, 66, 104, 316].

Результати аналітичної оцінки, проведеної Управлінням з охорони навколишнього середовища США, свідчать, що майже 35 % Хрому, який вивільняється з антропогенних джерел, представлено хроматами і дихроматами, тобто цей елемент є в шестивалентній формі [143]. Відомо, що у формі хромат- і дихромат-аніонів Хром відзначається значною розчинністю у водному середовищі, здатний мігрувати з ґрунтовими водами на території, віддалені від місця забруднення [25]. Крім того, внаслідок міграції у ґрунтовому профілі Хром(VI) може потрапляти в глибокі шари ґрунту і підземні води, які використовують для водопостачання. Як і інші важкі

метали, Хром(VI) здатний абсорбуватись із забрудненого ґрунту в кореневу систему та інші тканини рослин, у тому числі, сільськогосподарських культур, які вживають у харчуванні людини та живленні тварин [192, 299, 310]. Це призводить до забруднення кормів та накопичення металу в тканинах свійських тварин і продуктах тваринництва, що зумовлює зниження якості сільськогосподарської продукції та може спричиняти порушення у стані здоров'я людини [145, 163, 192, 205, 284]. У дослідженнях, проведених на диких тваринах, показано, що вміст Хрому в скелетних м'язах збільшується за умов забруднення цим елементом навколишнього середовища [84].

Результати сучасних досліджень свідчать, що надходження Хрому(VI) небезпечно для здоров'я сільськогосподарських тварин, в організм яких цей елемент може потрапляти через травний тракт (з кормом і водою) та органи дихання [125, 145, 163, 192, 205].

Із наукових джерел відомо, що в деяких випадках вміст Хрому у внутрішніх органах (печінка, нирки), яких вирощують на тваринницьких фермах, значно перевищує фізіологічну норму, прийняту для ссавців [107]. Це свідчить про забруднення Хромом кормів, які використовують у живленні тварин. У низці досліджень показано, що вміст Хрому в тваринних кормах часто підвищений порівняно з допустимими нормами [49, 125, 205, 292]. Наявні дані про те, що концентрація Хрому та інших важких металів у крові великої рогатої худоби, яку утримують на тваринницьких фермах, вища, ніж за умов вирощування тварин відповідно до принципів ведення органічного сільського господарства [163]. Трапляється перевищення регламентованого вмісту цього елемента в молоці та інших видах сільськогосподарської продукції [145, 147, 247].

Варто зазначити, що порівняно з іншими важкими металами (Cd, Pb, Hg), вплив Хрому(VI) на організм тварин, зокрема сільськогосподарських, вивчений меншою мірою. Значною мірою це зумовлюється тим, що в

тривалентному стані цей елемент є необхідним для тварин мікроелементом, нестача якого спричиняє серйозні порушення в обміні речовин [23, 32, 41, 54, 88, 207]. Тому багато експериментальних праць скеровані на вивчення впливу на організм мікроелементних добавок і преміксів, які містять Хром(III) [9, 32, 41, 53, 55, 56, 89, 198, 285]. Однак застосування мікроелементних добавок спричиняє додатковий ризик, пов'язаний із перевищенням норм щодо загального вмісту Хрому в організмі тварин, яке може траплятися за умов ведення аграрного виробництва на техногенно забруднених територіях.

Тому наші дослідження були скеровані на вивчення впливу шестивалентного Хрому (у складі калію дихромату) насамперед на організм сільськогосподарських тварин, зокрема кроликів, оскільки кролівництво є розповсюдженою галуззю тваринництва, яка часто ведеться у малих фермерських господарствах, де не завжди вдається контролювати вміст цього елемента в кормах. Крім того, було проведено моделювання процесів надходження Cr(VI) в організм тварин через травний тракт внутрішньошлунковим введенням калію дихромату в організм білих лабораторних щурів.

Результати досліджень метаболічних ефектів в організмі лабораторних щурів і кроликів за умов введення однаковою дозою (5 мг/кг живої маси) дають підставу стверджувати про видові відмінності в реакціях організму на вплив цього елемента, а також різницю в чутливості клітин внутрішніх органів (печінка, нирки, легені), скелетного м'яза та популяцій лейкоцитів (лімфоцити, нейтрофільні гранулоцити) до впливу Хрому(VI).

Одним із найвиразніших ефектів Cr(VI) в організмі тварин, яким вводили калію дихромат, є накопичення кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів та зміни активності ензимів антиоксидантної системи. Такі ефекти виявлені в клітинах печінки, нирок та легень щурів дослідних груп за умов 21-добового експерименту. Це свідчить, що в клітинах, які контактують

із хромат- або дихромат-аніонами, посилюється утворення активних форм кисню та інтенсифікуються процеси вільнорадикального окиснення ліпідів. Згідно з даними, наявними в наукових джерелах, подібні зміни виявляються в еритроцитах крові, культивованих клітинах різних ліній, клітинах статевої системи, ендокринних залоз та інших органів тварин (у тому числі, риби) та людини під впливом сполук шестивалентного Хрому [6, 7, 28, 101, 104, 160, 168, 193, 225, 232, 294, 305].

Результати досліджень свідчать, що за умов внутрішньошлункового введення $K_2Cr_2O_7$ рівень кінцевих продуктів ПОЛ (ТБК-активні продукти) у печінці та нирках щурів зростає залежно від тривалості надходження Хрому(VI), зазнаючи вірогідних змін наприкінці експерименту. Хоча концентрація продуктів ПОЛ у цих органах характеризується подібною динамікою, в клітинах нирок виявляється більший рівень стимуляції процесів ліпопероксидації, ніж у гепатоцитах, особливо наприкінці 21-добового експериментального періоду.

На відміну від клітин печінки та нирок, у легенях щурів концентрація продуктів ПОЛ зазнає найвиразнішого збільшення порівняно з контролем на 14-ту добу дослідження і залишається на високому рівні до 21-шої доби дослідження. Своєрідні зміни вмісту ТБК-активних продуктів у легенях можна пояснити більшою чутливістю цього органу до впливу Хрому(VI) на початкових стадіях експерименту, оскільки активність ензимів антиоксидантної системи в клітинах легень, загалом, менша, ніж у гепатоцитах і клітинах нирок. На 21-шу добу дослідження в клітинах легень відбувається зменшення концентрації ТБК-активних продуктів порівняно з рівнем, зареєстрованим у період з 7-ї по 14-ту добу введення калію дихромату, ймовірно, внаслідок адаптаційного синтезу ензимів антиоксидантної системи, які сприяють знешкодженню активних форм кисню – ініціаторів процесів ПОЛ.

Неоднаковий рівень стимуляції процесів ПОЛ за умов надходження Хрому(VI) спостерігається і в різних популяціях лейкоцитів (нейтрофільні гранулоцити і лімфоцити), які реагують по-різному на застосовані в наших дослідженнях експериментальні умови. Специфіка полягає у більшому накопиченні продуктів ПОЛ у нейтрофілах впродовж експериментального періоду, порівняно з лімфоцитами крові, особливо, на завершальній стадії експерименту. Такі результати можуть свідчити про більшу чутливість нейтрофільних гранулоцитів до оксидативного стресу за умов надходження шестивалентного Хрому(VI). Потрібно зазначити, що більший рівень стимуляції процесів ПОЛ у нейтрофільних гранулоцитах порівняно з лімфоцитами виявляється й під впливом інших важких металів, зокрема, Кадмію [4, 5]. З наукових джерел відомо, що активність специфічної NADPH-оксидази, яка каталізує процес утворення супероксидного радикалу – одного з найактивніших індукторів процесів ПОЛ – у мембранах нейтрофільних гранулоцитів значно більша, ніж в інших клітинах [240], а крім того, цей ензим активується під впливом Хрому(VI) [201]. Ймовірно, така особливість метаболізму може зумовлювати більшу інтенсивність процесів ліпопероксидації в нейтрофілах порівняно з лімфоцитами тварин за умов наших досліджень.

Отже, згідно з отриманими результатами, тривале надходження Хрому(VI) (5 мг/кг живої маси) в організм тварин спричиняє активацію процесу вільнорадикального окиснення у клітинах внутрішніх органів і крові, що загалом узгоджується з сучасними положеннями щодо прооксидантного впливу цього елемента. Разом із тим, установлена в наших дослідженнях динаміка накопичення кінцевих продуктів ПОЛ характеризується специфікою залежно від типу клітин та їх метаболічних особливостей.

Як відомо, за умов активації прооксидантних процесів у клітинах важливе значення має функціональна активність ензимів антиоксидантної

системи, які задіяні у процесах детоксикації вільних радикалів та продуктів пероксидного окиснення ліпідів, а саме: супероксиддисмутази [122, 152, 153], каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази [83, 169, 278]. В джерелах наукової літератури наявні дані щодо різної динаміки антиоксидантних ензимів у клітинах тварин, які зазнають впливу Хрому(VI). Із результатів досліджень, виконаних іншими авторами, випливає, що зміни стану антиоксидантної системи, активація або пригнічення окремих ензимів залежать від виду тварин, застосованої дози Хрому(VI), тривалості та способу введення хромат- або дихромат-аніонів в організм [101, 155, 160, 185, 193, 204, 241, 294]. Багато із вказаних токсикологічних досліджень проведені з використанням високих доз Хрому(VI), надходження яких рідко трапляється за природних умов. Натомість результати наших досліджень виявляють особливості антиоксидантної відповіді клітин внутрішніх органів і крові тварин на тривале надходження цього елемента в невисокій дозі (5 мг/кг живої маси).

Згідно з результатами проведених експериментів, динаміка антиоксидантних ензимів залежить від метаболічної специфіки органу і тривалості введення калію дихромату. Зокрема, супероксиддисмутазна активність у печінці щурів знижується на 14-ту і 21-шу доби ($p < 0,01$), а в клітинах нирок та легень – здебільшого зростає над контрольним рівнем на різних стадіях експерименту.

Зміни каталазної активності у печінці піддослідних тварин здебільшого нагадують динаміку активності супероксиддисмутази у клітинах цього органу із найбільшим пригніченням (на 65,5 %, $p < 0,001$) на 14-ту добу дослідження. Проте активність глутатіонпероксидази, яка, подібно до каталази, знешкоджує утворені в супероксиддисмутазній реакції молекули H_2O_2 , а крім того, каталізує процес відновлення гідропероксидів ліпідів [83, 169, 278], у гепатоцитах щурів має інший напрям змін, підвищуючись майже вдвічі на 7-му добу ($p < 0,001$) і на 44 % ($p < 0,05$) – на 14 добу досліджень. Подібною

динамікою характеризується глутатіонпероксидазна активність в клітинах легень, зростаючи на зазначених стадіях дослідження відповідно на 27,5 % ($p < 0,05$) і в 2,6 разу ($p < 0,001$). Встановлені ефекти супроводжуються збільшенням активності глутатіонредуктази – важливого ензиму антиоксидантної системи, який каталізує процес відновлення глутатіону з утворенням молекул GSH, необхідних для каталітичної активності глутатіонпероксидази. Глутатіонредуктазна активність у клітинах печінки та легень зростає відповідно на 14-ту і 21-шу доби введення $K_2Cr_2O_7$ ($p < 0,001-0,05$) тваринам дослідних груп.

Відомо, що функціонування глутатіон-залежної ланки антиоксидантної системи клітин значною мірою пов'язане з рівнем відновлення NADP у реакціях пентозофосфатного шунта гліколізу та деяких інших реакціях енергетичного обміну [174, 238]. У процесі досліджень встановлено, що надходження Хрому(VI) впливає на активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази – одного з ензимів, які каталізують процес утворення NADPH у клітинах тканин. За умов введення $K_2Cr_2O_7$ активність цього ензиму значно підвищується в печінці на 7-му і 14-ту доби, що супроводжується значним підвищенням лактатдегідрогеназної активності в гепатоцитах та клітинах легень як свідчення про активацію кінцевої ланки гліколізу в клітинах тварин за надходження Хрому(VI).

Загалом, із результатів модельних досліджень, виконаних з використанням лабораторних щурів, випливає, що за умов введення Хрому(VI) через травний тракт клітини внутрішніх органів тварин по-різному реагують на стрес, зумовлений надходженням цього елемента. Проте спільним ефектом у клітинах печінки, нирок та легень щурів, яким вводили Хром(VI) через травний тракт, є активація ензимів антиоксидантної системи (за винятком каталази, активність якої пригнічується в печінці та нирках) та окремих реакцій гліколізу і пентозофосфатного шляху (лактатдегідрогеназа,

глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа), що може являти собою адаптаційну відповідь клітин на прооксидантний вплив Хрому(VI).

Характерні зміни антиоксидантного стану виявляються і в популяціях лейкоцитів щурів, які зазнавали впливу Хрому(VI). Як свідчать результати досліджень, динаміка активності ензимних компонентів антиоксидантної системи лімфоцитів і нейтрофільних гранулоцитів тварин дослідних груп неоднозначна. Зокрема, лімфоцитам щурів властива значна активація супероксиддисмутази в період із 7-ї по 14-ту доби експерименту (в 3,1–4,8 разу, $p < 0,001$), а в нейтрофільних гранулоцитах збільшення активності цього ензиму менш виразне (на 40 %, $p < 0,05$) і виявляється лише на початковій стадії досліджень (7-ма доба).

Певні відмінності виявляються в глутатіонпероксидазній активності лімфоцитів і нейтрофільних гранулоцитів щурів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$. Зокрема, активність цього ензиму в лімфоцитах тварин пригнічується лише на 14-ту добу експерименту на 31,6 % ($p < 0,01$), а в інші терміни досліджень суттєво не відрізняється від контролю. Глутатіонпероксидазна активність нейтрофільних гранулоцитів інгібується на 7-му та 14-ту доби введення токсиканта відповідно на 21,8 і 37,2 % ($p < 0,05–0,01$) одночасно з пригніченням глутатіонредуктазної активності на цих стадіях досліджень ($p < 0,001–0,01$). Крім того, на 7-му та 14-ту доби експерименту в нейтрофільних гранулоцитах щурів, яким вводили калію дихромат, виявляється інгібування глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, яка забезпечує утворення молекул NADPH, необхідних для активності глутатіонредуктази.

Отримані результати дають підстави вважати, що внаслідок меншого рівня активації супероксиддисмутази та більшого пригнічення активності ензимів глутатіонової системи, а також інгібування глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, нейтрофільні гранулоцити можуть зазнавати більшого, порівняно з лімфоцитами, ураження під впливом оксидативного стресу, зумовленого надходженням Хрому(VI) в організм тварин.

Результати досліджень, виконаних на кроликах, яким щодоби вводили в шлунок калію дихромат у такій самій дозі (5 мг/кг живої маси) впродовж 30-ти діб, свідчать, що тривале надходження Хрому(VI) зумовлює наслідки, подібні до тих, які виявляються в організмі щурів. Зокрема, значне накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів зареєстроване в клітинах печінки, нирок, легень та скелетного м'яза кроликів на 14-ту і 30-ту доби експерименту, причому концентрація ТБК-активних продуктів у клітинах нирок досягає більшого рівня, ніж у печінці та легенях кроликів дослідних груп. Однак характерним для клітин внутрішніх органів кроликів є більший рівень стимуляції вільнорадикальних процесів, ніж в органах щурів. Такі ефекти, ймовірно, вказують на більшу чутливість організму кроликів до впливу шестивалентного Хрому, ніж організм лабораторних тварин.

Активність ензимів антиоксидантної системи в клітинах печінки, нирок та легень кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ через травний тракт, також характеризується певними особливостями порівняно з клітинами щурів. Зокрема, у дослідженнях, проведених на кроликах, виразніше виявляється інгібувальний вплив Хрому(VI) на активність ензимів-антиоксидантів: супероксиддисмутази, яка інгібується в клітинах печінки та нирок кроликів після 30-добового введення Хрому(VI) ($p < 0,05-0,001$); каталази, активність якої пригнічується в печінці та нирках кроликів в 1,6–1,9 разу ($p < 0,01-0,001$), а в клітинах легень – майже втричі ($p < 0,001$); глутатіонредуктази, яка пригнічується в клітинах нирок та легень відповідно на 65,9 і 31,1 % ($p < 0,001-0,01$). Інгібування глутатіонредуктазної активності на 30-ту добу експерименту супроводжується зменшенням концентрації відновленого глутатіону в клітинах нирок та легень кроликів у цей період ($p < 0,05-0,01$).

Характерним ефектом в організмі кроликів є пригнічення глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності в клітинах легень ($p < 0,001$), що вказує на більшу чутливість пентозофосфатного шунта в клітинах цього органу до інгібувального впливу Хрому(VI) порівняно з клітинами легень білих щурів,

у яких вірогідних змін активності Г-6-ФДГ не виявляється. Оскільки пентозофосфатний шунт забезпечує майже 60% NADPH, необхідних для функціонування глутатіонредуктази [142], зменшення глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності може відігравати важливу роль у пригніченні процесу відновлення глутатіону в легенях кроликів за умов надходження Хрому(VI).

Разом із тим, у клітинах всіх досліджуваних органів кроликів виявляється збільшення активності глутатіонпероксидази на 14-ту добу експерименту ($p < 0,05 - 0,001$) та лактатдегідрогенази – на 30-ту добу дослідження ($p < 0,05 - 0,001$). Підвищення активності зазначених ензимів виявляється також і в проаналізованих у наших експериментах клітинах внутрішніх органів лабораторних щурів, що свідчить про загальну тенденцію в адаптаційній відповіді клітин на вплив Хрому(VI) за умов надходження цього елемента в невисоких дозах.

Важливою ланкою наших досліджень було вивчення впливу Хрому(VI) на метаболічні процеси в скелетних м'язах кроликів, який на сьогодні фактично не з'ясований. Разом із тим, такі дослідження актуальні з огляду на необхідність дотримання високих показників якості тваринної продукції в агропромисловому виробництві. З джерел наукової літератури відомо, що вплив важких металів може призводити до дегенеративних процесів у м'язовій тканині та спричиняти м'язову дистрофію [106, 116, 187, 212].

У наших дослідженнях встановлено, що, хоча метаболічні зміни в скелетному м'язі, загалом, подібні до змін, які відбуваються у внутрішніх органах кроликів під впливом Хрому(VI), інтенсивність процесів ПОЛ у м'язовій тканині більша, ніж у печінці, нирках та легенях тварин, яким вводили $K_2Cr_2O_7$. Зміни в антиоксидантних процесах, які відбуваються в скелетному м'язі кроликів під впливом Хрому(VI), загалом можна охарактеризувати, як адаптаційні реакції клітин на надходження прооксиданта. Вони полягають в активації супероксиддисмутази і

глутатіонпероксидази, накопиченні глутатіону, зокрема, його відновленої форми, збільшенні інтенсивності катаболізму моносахаридів гліколітичним шляхом та в реакція пентозофосфатного шунта. Однак каталазна активність скелетного м'яза кроликів за таких умов зменшується майже в 4 рази ($p < 0,001$). Встановлений ефект віддзеркалює загальну тенденцію щодо інгібування каталазної активності в клітинах тварин під впливом Хрому(VI), виявлену в органах кроликів і щурів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$ відповідно впродовж 30-ти діб і 21-ї доби, а також у дослідженнях, виконаних за інших експериментальних умов [155, 166, 232].

Для розуміння особливостей метаболічних змін в організмі тварин, які зазнають впливу Хрому(VI), необхідний аналіз процесів акумуляції цього елемента у скелетному м'язі та клітинах внутрішніх органів. Результати наших експериментів, виконаних на кроликах, свідчать, що за природних умов (контрольна група) та за умов внутрішньошлункового введення калію дихромату (5 мг/кг живої маси, впродовж 30-добового періоду) Хром неоднаковою мірою відкладається в печінці, нирках, легенях, серці, селезінці та скелетному м'язі тварин. Зокрема, у кроликів контрольної групи найбільший рівень акумуляції цього елемента спостерігали в клітинах нирок, а найменший – у клітинах легень і за інтенсивністю накопичення цього елемента органи кроликів розташовуються в такому порядку: нирки > селезінка > печінка > серце > скелетний м'яз > легені. Високий рівень акумуляції Хрому в клітинах нирок відзначений і в дослідженнях інших авторів [285, 307].

Однак після 30-добового введення $K_2Cr_2O_7$ вміст Хрому в органах кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$, зростає: в серцевому м'язі – в 4,85 разу, печінці – в 3,46 разу, нирках – в 3,21 разу, легенях – 2,75 разу, селезінці – в 2,2 разу, а в скелетному м'язі – в 1,99 разу ($p < 0,001-0,01$). Таким чином, по закінченні експерименту органи тварин за вмістом Хрому розміщуються в іншому порядку, а саме: нирки > серце > печінка > селезінка > скелетний

м'яз > легені. Такі дані свідчать, що за умов тривалого надходження сполук Cr(VI) клітини нирок та серцевого м'яза, які акумулюють найбільшу кількість Хрому, можуть зазнавати ураження внаслідок токсичних ефектів цього елемента. Зокрема, з наукових джерел відомо про нефротоксичність Хрому(VI) та про високу частоту захворювань на хвороби нирок у людей, які зазнають впливу Хрому(VI) під час професійної діяльності [216, 243, 307].

Результати, які вказують на інтенсивну акумуляцію Хрому в нирках кроликів, узгоджуються із отриманими в наших експериментах даними щодо значного збільшення вмісту кінцевих продуктів ліпопероксидації у клітинах нирки кроликів та лабораторних щурів, яким вводили калію дихромат.

З огляду на порушення у прооксидантно-антиоксидантному стані клітин під впливом Хрому(VI), актуальними є дослідження коригувальної та профілактичної дії антиоксидантів в організмі тварин за умов надходження цього елемента. З цією метою наші експерименти були скеровані на вивчення коригувальної дії вітаміну Е та Селену на процеси ліпопероксидації та антиоксидантний стан клітин кроликів, які зазнавали впливу калію дихромату. Як відомо, ці чинники виявляють потужні антиоксидантні властивості, а крім того, впливають на різні ланки метаболізму та збільшують стійкість організму тварин до впливу різноманітних стресорів [4–6, 31, 43, 74, 131, 132, 134, 185].

У процесі досліджень встановлено, що введення зазначених антиоксидантів кроликам, які зазнавали впливу Хрому(VI), призводить до зменшення вмісту ТБК-активних продуктів у всіх аналізованих клітинах порівняно зі значеннями, встановленими у тварин, яким вводили лише $K_2Cr_2O_7$, а саме: у печінці – на 34,4 %, в нирках – на 27,6 %, в легенях – на 70,8 %, а в скелетному м'язі – на 142,2 % ($p < 0,05-0,01$). Такий ефект вітаміну Е та Селену має важливе значення, оскільки зменшення вмісту продуктів ліпопероксидації в скелетному м'язі та органах тварин застосуванням зазначених антиоксидантів сприятиме покращанню споживчих якостей м'яса

за умов ведення кролівництва на територіях, забруднених хромовмісними викидами промислових підприємств.

Водночас введення вітаміну Е та Селену впливає на ензими енергетичного обміну та антиоксидантної системи в скелетному м'язі кроликів, які зазнавали щодобового введення Хрому(VI), а саме: нормалізує активність супероксиддисмутази, підвищує глутатіонпероксидазну, каталазну та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназну активність порівняно з клітинами кроликів, які отримували $K_2Cr_2O_7$ ($p < 0,05-0,001$), збільшує глутатіонредуктазну активність та концентрацію відновленого глутатіону порівняно з контролем ($p < 0,05-0,001$). Разом із тим, активність лактатдегідрогенази у кроликів цієї групи зменшується в 4,6 разу ($p < 0,001$) порівняно з клітинами м'яза тварин, яким вводили лише $K_2Cr_2O_7$.

Результати досліджень свідчать, що введення вітаміну Е та Селену впливає на активність зазначених ензимів також і в лейкоцитах крові кроликів, які зазнають впливу Хрому(VI), сприяючи нормалізації активності глутатіонпероксидази, каталази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і лактатдегідрогенази і, водночас, збільшуючи значення цих показників порівняно з рівнем, встановленим у кроликів, яким вводили лише калію дихромат ($p < 0,01-0,001$). Зазначені ефекти застосування вітаміну Е та Селену щодо активності ензимів антиоксидантної системи зумовлюють зменшення інтенсивності процесів ПОЛ у лімфоцитах і нейтрофільних гранулоцитах кроликів і, таким чином, сприятливо впливають на імунний стан тварин за умов надходження Хрому(VI).

Важливе значення у коригувальних ефектах вітаміну Е та Селену має вплив цих чинників на процес акумуляції Хрому в клітинах внутрішніх органів та м'язах тварин. Як свідчать результати наших досліджень, застосування зазначених антиоксидантів сприяє значному зменшенню рівня накопичення Хрому в клітинах нирок, печінки, легень, скелетного м'яза кроликів порівняно з клітинами тварин, які зазнавали тривалого введення

$K_2Cr_2O_7$ ($p < 0,05-0,01$). При цьому в клітинах скелетного м'яза кроликів, яким вводили антиоксиданти на тлі тривалого надходження $K_2Cr_2O_7$, вміст Хрому наближається до концентрації цього елемента в клітинах тварин контрольної групи. Однак у клітинах внутрішніх органів (нирки, печінка, легені, серцевий м'яз, селезінка) кроликів, які зазнавали поєднаного впливу $K_2Cr_2O_7$ і антиоксидантів, нормалізації вмісту Хрому не відбувається. Такі результати свідчать, що введенням Селену та вітаміну Е можна лише частково зменшити рівень акумуляції Хрому в клітинах внутрішніх органів за умов тривалого надходження цього елемента в організм тварин.

Разом із тим, результати проведених досліджень дають підставу вважати, що Селену та вітаміну Е сприятливо впливає на організм тварин за умов тривалого надходження Хрому (VI) і зменшує рівень оксидативного стресу в клітинах органів і тканин. Таке судження підтверджується результатами досліджень впливу Хрому(VI) та антиоксидантів на динаміку живої маси кроликів і маси внутрішніх органів упродовж 60-добового періоду надходження $K_2Cr_2O_7$ з питною водою.

Зокрема, встановлено, що введення кроликам калію дихромату з розрахунку на вміст Cr(VI) 5 і 10 мг/кг живої маси призводить до зменшення маси тварин на 60-ту добу експерименту порівняно зі значеннями, встановленими у кроликів контрольної групи. Натомість, введення Селену та вітаміну Е кроликам, які зазнавали щодобового надходження $K_2Cr_2O_7$ з питною водою, сприяє покращанню процесів росту та збільшенню маси тіла порівняно з групою тварин, які зазнавали впливу $K_2Cr_2O_7$.

Потрібно зазначити, що введення Селену та вітаміну Е кроликам, які зазнавали щодобового надходження $K_2Cr_2O_7$ з питною водою, сприяє наближенню маси внутрішніх органів до контролю, що свідчить про коригувальний ефект антиоксидантів щодо метаболічних процесів в організмі тварин за умов надходження шестивалентного Хрому.

Згідно з результатами досліджень, надходження Хрому(VI) в організм кроликів негативно впливає на якість шерсті тварин – зменшує міцність волокон та їхню тонину. Водночас введення вітаміну Е та Селену зменшує несприятливий вплив цього елемента на міцність і тонину шерсті кроликів і, таким чином, нормалізує показники якості шерсті тварин за умов тривалого перорального надходження шестивалентного Хрому.

Отже, отримані в роботі результати доводять ефективність застосування антиоксидантів – вітаміну Е в комплексі з Селеном – з метою профілактики та корекції метаболічних порушень, зумовлених надходженням Хрому(VI) в організм кроликів, для зменшення шкідливого впливу цього елемента на здоров'я та продуктивність тварин за умов ведення тваринництва на забруднених важкими металами територіях.

ВИСНОВКИ

Досліджено вплив шестивалентного Хрому на метаболізм у тканинах печінки, нирки, легень, скелетного м'яза та в лейкоцитах тварин (кролики, білі щури) за внутрішньошлункового введення цього елемента у формі $K_2Cr_2O_7$ дозою 5,0 мг/кг живої маси, проаналізовано показники продуктивності кроликів за надходження Cr(VI) з питною водою в дозах 5 і 10 мг/кг живої маси; з'ясовано рівень акумуляції Хрому в органах кроликів та можливість корекції метаболічних порушень, зумовлених надходженням Cr(VI), поліпшення показників продуктивності тварин застосуванням вітаміну Е та Селену.

1. Внутрішньошлункове введення $K_2Cr_2O_7$ кроликам і щурам упродовж, відповідно, 30-ти і 21-ї доби призводить до накопичення кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів та змін активності ензимів антиоксидантної системи в тканинах печінки, нирки та легень тварин. У нирках щурів і кроликів, яким вводили $K_2Cr_2O_7$, рівень процесів ліпопероксидації більший, ніж у печінці, і в обох цих органах вміст продуктів ПОЛ найвиразніше зростає наприкінці дослідного періоду. У легнях тварин вміст продуктів ПОЛ найвиразніше зростає на 14-ту добу досліджень.

2. Щодобове введення $K_2Cr_2O_7$ зумовлює підвищення активності СОД у печінці, нирках та легнях щурів ($p < 0,05-0,01$) на 14-ту і 21-шу доби дослідження, але знижує активність ензиму у печінці та нирках кроликів на 30-ту добу ($p < 0,05-0,01$); зумовлює активацію глутатіонпероксидази в органах кроликів і щурів ($p < 0,05-0,001$) на 14-ту добу дослідження. Глутатіонредуктазна активність у гепатоцитах кроликів і щурів зростає на 14-ту добу ($p < 0,05-0,001$), а в нирці й легнях кроликів знижується на 21-шу добу експерименту ($p < 0,05-0,01$); каталазна активність пригнічується в печінці та нирках кроликів і щурів, відповідно, на 30-ту і 21-шу доби дослідження ($p < 0,01-0,001$).

3. Щодобове надходження Cr(VI) спричиняє активацію глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у печінці щурів з 7-ї по 14-ту доби ($p < 0,001$), а кроликів – на 30-ту добу ($p < 0,001$), проте зумовлює пригнічення активності Г-6-ФДГ в легенях кроликів на 30-ту добу експерименту ($p < 0,001$). Активність ЛДГ в тканинах внутрішніх органів кроликів та легенях щурів зростає на кінцевій стадії досліду ($p < 0,05-0,001$), а в печінці щурів – впродовж усього періоду досліджень ($p < 0,05-0,001$).

4. За щодобового введення $K_2Cr_2O_7$ в лейкоцитах кроликів і щурів підвищується вміст ТБК-активних продуктів ($p < 0,05-0,001$), причому в нейтрофільних гранулоцитах процеси ПОЛ інтенсифікуються більшою мірою, ніж у лімфоцитах. Зміни активності ензимів антиоксидантної системи лімфоцитів і нейтрофілів за умов надходження Cr(VI) характеризуються особливостями, залежно від типу метаболізму в популяціях лейкоцитів.

5. Внутрішньошлункове введення $K_2Cr_2O_7$ призводить до стимуляції процесів ПОЛ у скелетному м'язі кроликів ($p < 0,001$), що супроводжується активацією СОД і глутатіонпероксидази, збільшенням вмісту відновленого глутатіону ($p < 0,05$), проте пригніченням каталазної активності ($p < 0,001$). Водночас лактатдегідрогеназна і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність скелетного м'яза зростає ($p < 0,05-0,001$).

6. Введення Селену та вітаміну Е зменшує інтенсивність процесів ПОЛ у клітинах внутрішніх органів, скелетному м'язі та лейкоцитах кроликів, які зазнавали впливу Cr(VI) ($p < 0,05-0,01$). У м'язах та лейкоцитах кроликів введення антиоксидантів зумовлює нормалізацію активності СОД, підвищення активності глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, збільшення вмісту відновленого глутатіону та зменшення лактатдегідрогеназної активності ($p < 0,05-0,01$).

7. Введення $K_2Cr_2O_7$ впродовж 30-ти діб сприяє зростанню рівня акумуляції Хрому в клітинах нирок, печінки, легень, селезінки, серцевого та скелетного м'язів кроликів ($p < 0,01-0,001$). Застосування вітаміну Е та Селену

на тлі надходження Cr(VI) зменшує інтенсивність накопичення Хрому в усіх органах порівняно з рівнем у тварин, яким не вводили антиоксиданти.

8. Застосування вітаміну Е та Селену на тлі 60-добового надходження Cr(VI) у формі $K_2Cr_2O_7$ з питною водою в дозах 5 і 10 мг/кг живої маси зменшує зумовлену введенням Cr(VI) втрату маси тіла кроликів, сприяє зменшенню маси печінки порівняно з показниками у тварин, яким вводили Cr(VI), нормалізує масу легень і серця кроликів.

9. Тривале введення $K_2Cr_2O_7$ з питною водою призводить до зменшення міцності шерсті кроликів, тонини остьових та пухових волокон. Застосування вітаміну Е та Селену зменшує несприятливий вплив Cr(VI) на міцність і тонину шерсті і, таким чином, нормалізує показники її якості за умов надходження шестивалентного Хрому.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

З метою зменшення шкідливих наслідків та профілактики впливу сполук шестивалентного Хрому на організм кроликів за умов ведення кролівництва на територіях, забруднених хромовмісними викидами промислових підприємств, рекомендовано введення тваринам вітаміну Е в комплексі з Селеном через кожні 14 діб у дозі 2 мг вітаміну Е та 0,02 мг Селену на 1 кг живої маси.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антоняк Г.Л. Вплив катіонів хрому на активність ферментів антиоксидантної системи в нейтрофільних гранулоцитах білих щурів / Г.Л. Антоняк, Н.П. Хомич, Н.Є. Панас // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і державного науково-дослідного контрольного Інституту ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів, 2010. – Вип. 11, № 2–3. – С. 15–18.
2. Антоняк Г.Л. Вплив шестивалентного Хрому на активність ензимів гліколізу та пентозофосфатного шляху в лейкоцитах крові кроликів / Г.Л. Антоняк, Н.П. Хомич // Біологія тварин. – Львів, 2014. – Т. 16, №1. – С. 21–28.
3. Антоняк Г.Л. Активні форми кисню і антиоксиданти у функціональній активності живих систем / Г.Л. Антоняк, В.В. Снітинський // Вісник аграрної науки. – 2001. – Спеціальний випуск, вересень. – С.48–55.
4. Антоняк Г.Л. Вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів в еритроцитах щурів, яким вводили вітамін Е на тлі токсикації катіонами кадмію / Г.Л. Антоняк, Ю.В. Жиліщич, Н.Є. Панас // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів, 2010. – Вип. 11, № 2-3. – С. 287–290.
5. Антоняк Г.Л. Вплив альфа-токоферолу на процеси пероксидного окиснення ліпідів і стан антиоксидантної системи в лейкоцитах тварин за умов введення хлориду кадмію / Г.Л. Антоняк, Л.П. Білецька // Експериментальна та клін. фізіол. і біохім. – 2010, № 3 (51). – С. 17–23.
6. 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 імені С. З. Гжицького. – Львів, 2013. – Т. 15, № 1, Ч. 2. – С. 3–9.

7. Астауров Б.Л. Методы биологии развития / Б.Л. Астауров // – Москва, 1974. – С. 346-433.

8. Вакуленко І. Відродження галузі кролівництва / І. Вакуленко, Т. Очковська // Тваринництво України. – 2007. – №10. – С. 2-4.

9. Використання органічних сполук хрому в годівлі овець / П.В. Стапай, С.В. Кочетов, В.В. Гавриляк, Н.М. Параняк, В.М. Ткачук // – Львів, 2010. – 23 с.

10. Водяницкий Ю.Н. Тяжелые и сверхтяжелые металлы и металлоиды в загрязненных почвах. / Ю.Н. Водяницкий // М.: ГНУ Почвенный институт им. В.В. Докучаева Россельхозакадемии, 2009. – 95 с.

11. Вплив Кадмію та Хрому (VI) на стан антиоксидантної системи в клітинах крові коропа (*Cyprinus carpio* L.) / Т.В. Багдай, В.В. Снітинський, Г.Л. Антоняк, Н.П. Олексюк // Біологія тварин. – 2015. – Т. 17, № 1. – С. 9–15.

12. Гончар О. Утримання кролів / О. Гончар, Є. Шевченко, О. Гавриш // Агробізнес сьогодні. – 2011. – № 19(218), (Електронний ресурс) / Режим доступу: <http://www.agro-business.com.ua/suchasne-tvarynnytstvo/659-trymannia-kroliv.html>

13. Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А.М. Горячковский // О.: Экология, 2005. – 616 с.

14. Демчук М.В. Підвищення якості продукції кролівництва на окремих технологічних етапах / М.В. Демчук, Р.М. Сачук // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – Львів, 2010. – Том 12, № 3 (45). Частина 4. – С. 173-179.

15. 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.
16. Екологічні аспекти оцінки стану ґрунтів сільських селітебних територій / Н. Палапа, І. Сігалова, С. Сенчук, О. Крикунова // Техніка і технології АПК. – 2011. – № 5 (20). – С. 34–36.
17. Зенков Н.К. Окислительный стресс / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова //– М.: Изд-во Ин-та теор. и эксп. физики, 2001. – 81 с.
18. Зміни активності ферментів антиоксидантної системи лімфоцитів білих щурів за дії сполук хрому / Н.П. Хомич, Г.Л. Антоняк, Н.Є. Панас, О.Б. Скаб // Вісник Львівського національного аграрного університету. – Львів, 2013. – № 17 (2). – С. 418–422.
19. Коробейников Е. Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК / Е.Н. Коробейников // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–9.
20. Кудрявцев А.А. Гематология животных и рыб / А.А. Кудрявцев, Л.А. Кудрявцева, Т.И. Привольнев // – М.: Колос. – 1969. – 240 с.
21. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1983. – № 10. – С. 16–18.
22. Осипов А.Н. Активные формы кислорода и их роль в организме / А.Н. Осипов, О.А. Азизова, Ю.А. Владимиров // Успехи биол. химии. – 1990. – № 31. – С. 180–208.
23. Особливості обміну хрому в організмі людини і тварин / Г.Л. Антоняк, О.Б. Скаб, Н.П. Хомич, Н.Є. Панас // Матеріали міжнародного науково-практичного форуму «Теоретичні основи і практичні аспекти використання ресурсоощадних технологій для підвищення ефективності агропромислового виробництва і розвитку сільських територій». – Львів, 2012. – С. 86–91.
24. Пупышев А.А. Атомно-абсорбционный спектральный анализ / А.А. Пупышев //– М.: Техносфера, 2009. – 55 с.

25. Ричак Н.Л. Поведінка важких металів у ґрунтових покривах міських ландшафтів / Н.Л. Ричак // Вісник Сумського державного університету. – 2006. – №5 (89). – С. 145–148.
26. Сачук Р.М. Економічна ефективність виробництва продукції кролівництва / Р.М. Сачук // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – Львів, 2011. – Т. 13 № 1(47), Ч. 2. – С. 223–227.
27. Скаб О.Б. Вплив катіонів Хрому(VI) на динаміку активності ферментів енергетичного обміну в еритроцитах тварин залежно від шляху надходження токсиканта / О.Б. Скаб, Н.Є. Панас, Н.П. Хомич // Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» 11–13 травня 2012 р., м. Запоріжжя. – 2012. – С. 292–294.
28. Скаб О.Б. Вплив Хрому (VI) на активність ферментів енергетичного обміну та антиоксидантної системи в еритроцитах білих щурів за умов експериментального введення біхромату калію / О.Б. Скаб, Г.Л. Антоняк // Біологія тварин. – 2009. – Т. 11. № 1–2. – С. 109–114.
29. Скаб О.Б. Вплив шестивалентного Хрому на активність лактатдегідрогенази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах щурів / О.Б. Скаб, Н.П. Хомич, Н.Є. Панас // Матеріали міжнародного науково-практичного форуму «Екологічні, технологічні та соціально-економічні аспекти ефективного використання матеріально-технічної бази АПК», 17–18 вересня 2008 р., м. Львів. – 2008. – С. 107–109.
30. Скаб О.Б. Ріст і розвиток молодняку кроликів та якість мяса за сумісної дії $K_2Cr_2O_7$ та препарату «Е-Селен» / О.Б. Скаб, Н.П. Хомич, Г.Л. Антоняк // Матеріали XI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених і спеціалістів (до 100 річниці з Дня народження О.В. Гілатова) «Стан та перспективи розвитку агропромислового виробництва України», 19–20 березня 2015 р., м. Кіровоград. – 2015. – С. 158–160.

31. Снітинський В.В. Роль селену в регуляції імунної функції тварин / В.В. Снітинський, Г.Л. Антоняк, Л.І. Сологуб // Вісник аграрної науки. – 2006. – Спец. випуск. Серпень. – С. 77–82.
32. Сологуб Л.І. Хром в організмі людини і тварин. / Л.І. Сологуб, Г.Л. Антоняк, Н.О. Бабич // Львів: «Євросвіт», 2007. – 127 с.
33. Утворення активних форм кисню та система антиоксидантного захисту в організмі тварин / Г.Л. Антоняк, Н.О. Бабич, Л.І. Сологуб, В.В. Снітинський // Біологія тварин. – 2000. – Т. 2. – № 2. – С. 34–43.
34. Хомич Н.П. Вплив дихромату калію на лактатдегідрогеназну і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназну активність в лейкоцитах білих щурів / Н.П. Хомич, Г.Л. Антоняк, Н.Є. Панас // Матеріали міжнародного науково-практичного форуму «Шляхи підвищення ефективності використання агроресурсного потенціалу» 23–25 вересня 2009 р., м. Львів. – 2009. – С. 44–48.
35. Хомич Н.П. Вплив Хрому (VI) і препарату «Е-селен» на пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантну систему та ензими енергетичного обміну в скелетному м'язі кроликів / Н.П. Хомич, Г.Л. Антоняк // Сільський господар. – 2015. – С. 13–17.
36. Хомич Н.П. Вплив Хрому(VI) на активність ферментів антиоксидантної системи в гепатоцитах тварин / Н.П. Хомич, Н.Є. Панас, О.Б. Скаб // Матеріали міжнародного науково-практичного форуму «Теоретичні і практичні аспекти розвитку агропромислового виробництва та сільських територій», 21–24 вересня 2011 р., м. Львів. – 2011. – С. 146–149.
37. Хомич Н.П. Вплив Хрому(VI) на активність ферментів енергетичного метаболізму в гепатоцитах тварин / Н.П. Хомич, Н.Є. Панас, Г.Л. Антоняк // Вісник Львівського національного аграрного університету. – 2009. – № 13. – С. 411–414.
38. Хомич Н.П. Вплив Хрому(VI) на процес пероксидації ліпідів і стан антиоксидантної системи в клітинах печінки, нирки та легень кроликів /

Н.П. Хомич, Г.Л. Антоняк // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. – Львів, 2015. – Т. 17, № 3 (63). – С. 431–436.

39. Хомич Н.П. Динаміка активності деяких ферментів енергетичного обміну в окремих популяціях лейкоцитів білих щурів за умов тривалого надходження біхромату калію / Н.П. Хомич // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених та студентів «Екологічна безпека держави», 27-28 квітня 2010 р., м. Київ. – 2010. – С. 109–110.

40. Хомич Н.П. Зміни активності ферментів катаболізму моносахаридів лейкоцитів крові щурів за умов тривалого надходження калію біхромату / Н.П. Хомич, О.Б. Скаб // Матеріали I Всеукраїнської наукової конференції студентів, магістрантів, аспірантів та молодих вчених «Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування». – Харків, 2012. – С. 187–189.

41. Хром у живленні тварин / [Р.Я. Іскра, В.В. Влізло, Р.С. Федорук, Г.Л. Антоняк] // – К. : Аграрна наука, 2014.– 310 с.

42. Хром у компонентах навколишнього середовища / О.Б. Скаб, Н.П. Хомич, Т.Б. Багдай, Г.Л. Антоняк // Матеріали VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених і спеціалістів «Агропромислове виробництво України – стан та перспективи розвитку» 31 травня – 1 червня 2012 р., м. Кіровоград. – 2012. – С. 217–220.

43. Цехмістренко О.С. Вплив селеніту натрію на показники пероксидного окиснення ліпідів у нирках перепелів за кадмієвого навантаження / О.С. Цехмістренко // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету. – Біла Церква, 2008. – Вип. 53. – С. 52–56.

44. Цехмістренко С.І. Застосування Селену у процесі вирощування перепелів / С.І. Цехмістренко, О.С. Цехмістренко, Т.С. Яремчук // Науковий вісник ветеринарної медицини. – 2009. – Вип. 2 (68). – С. 105-110.

45. Шейфер О. Я. Производство и оценка качества шерсти / О. Я. Шейфер // – Москва: Росагропромиздат, 1988. – 204 с.
46. Янковский О.Ю. Токсичность кислорода и биологические системы. Эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты / О.Ю. Янковский // – Санкт-Петербург: Игра, 2000. – 295 с.
47. A mitochondrial superoxide theory for oxidative stress diseases and aging / [H.P. Indo, H.C. Yen, I. Nakanishi, K. Matsumoto, M. Tamura, Y. Nagano, H. Matsui et al.] // J. Clin. Biochem. Nutr. – 2015. – Vol. 56, N 1. – P. 1–7.
48. A review of human carcinogens–Part C: metals, arsenic, dusts, and fibres / [K. Straif, L. Benbrahim-Talhoua, R. Baan, Y. Grosse, B. Secretan, F. El Ghissassi, B. Bouvard, N. Guha, C. Freeman, L. Galichet, V. Coglianò] // Special Report: Policy. Lancet Oncol. – 2009. – Vol. 10. – P. 453–454.
49. 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.
50. Absorption and elimination of trivalent and hexavalent chromium in humans following ingestion of a bolus dose in drinking water / [B.D. Kerger, D.J. Paustenbach, G.E. Corbett, B.L. Finley] // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 1996. – Vol. 141, N 1. – P. 145–158.
51. Acute and chronic resistive exercise increase urinary chromium excretion in men as measured with an enriched chromium stable isotope / [M.A. Rubin, J.P. Miller, A.S. Ryan et al.] // J. Nutr. – 1998. – Vol. 128, N 1. – P. 73–78.
52. Al-Attar A.M. Vitamin E attenuates liver injury induced by exposure to lead, mercury, cadmium and copper in albino mice / A.M. Al-Attar // Saudi J. Biol. Sci. – 2011. – Vol. 18, N 4. – P. 395–401.
53. An evaluation of the protective role of α -tocopherol on free radical induced hepatotoxicity and nephrotoxicity due to chromium in rats / [R. Balakrishnan, C.S. Satish Kumar, M.U. Rani, M.K. Srikanth, G. Boobalan, A.G. Reddy] // Indian J Pharmacol. – 2013. – Vol. 45, N 5. – P. 490-495.

54. Anderson R.A. Chromium and polyphenols from cinnamon improve insulin sensitivity / R.A. Anderson // *Proc. Nutr. Soc.* – 2008. – Vol. 67, (1). – P. 48–53.
55. Anderson R.A. Stability and absorption of chromium and absorption of chromium histidinate complexes by humans / R.A. Anderson, M.M. Polansky, N.A. Bryden // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2004. – Vol. 101. N 3. – P. 211–218.
56. Anti-diabetic activity of chromium picolinate and biotin in rats with type 2 diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin / [K. Sahin, M. Tuzcu, C. Orhan, N. Sahin, O. Kucuk, I.H. Ozercan, V. Juturu, J.R. Komorowski] // *Br. J. Nutr.* – 2013. – Vol. 110, N 2. – P. 197-205.
57. Antidiabetogenic effects of chromium mitigate hyperinsulinemia-induced cellular insulin resistance via correction of plasma membrane cholesterol imbalance / [E.M. Horvath, L. Tackett, A.M. McCarthy, P. Raman, J.T. Brozinick, J.S. Elmendorf] // *Mol. Endocrinol.* – 2008. – Vol. 22, N 4. – P. 937–950.
58. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress / [C. Espinosa-Diez, V. Miguel, D. Mennerich, T. Kietzmann, P. Sánchez-Pérez, S. Cadenas, S. Lamas] // *Redox Biol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 183–197.
59. Antioxidant role of glutathione S-transferases: 4-Hydroxynonenal, a key molecule in stress-mediated signaling / [S.S. Singhal, S.P. Singh, P. Singhal, D. Horne, J. Singhal, S. Awasthi] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 289, N 3. – P. 361–370.
60. Antonini J.M. Chromium in stainless steel welding fume suppresses lung defense responses against bacterial infection in rats / J.M. Antonini, J.R. Roberts // *J. Immunotoxicol.* – 2007. – Vol. 4. – P. 117–127.
61. Apoptosis of lymphocytes in the presence of Cr(V) complexes: role in Cr(VI)-induced toxicity / [C. Vasant, K. Balamurugan, R. Rajaram, T. Ramasami] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2001. – Vol. 285. – P. 1354–1360.
62. Arthur J.R. The glutathione peroxidases / J.R. Arthur // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2000. – Vol. 57, N 13–14. – P. 1825–1835.

63. Assessment of Cr(VI)-induced cytotoxicity and genotoxicity using high content analysis / [C.M. Thompson, Y. Fedorov, D.D. Brown, M. Suh, D.M. Proctor, L. Kuriakose, L.C. Haws, M.A. Harris] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, N 8. – P. e42720.
64. Assessment of tannery based chromium eco-toxicity through investigating regional bio-concentration in commercially produced chicken eggs and their physical properties / [A.M. Hossain, M.S. Islam, M.M. Rahmana, B.M. Mamuna, M.A. Kazib, S.F. Elahia] // *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.* – 2009. – Vol. 44, N 1. – P. 11–30.
65. Assessment of the mode of action for hexavalent chromium-induced lung cancer following inhalation exposures / [D.M. Proctor, M. Suh, S.L. Campleman, C.M. Thompson] // *Toxicology*. – 2014. – Vol. 325. – P. 160–179.
66. Assessment of the mode of action underlying development of rodent small intestinal tumors following oral exposure to hexavalent chromium and relevance to humans / [C.M. Thompson, D.M. Proctor, M. Suh, L.C. Haws, C.R. Kirman, M.A. Harris] // *Crit. Rev. Toxicol.* – 2013. – Vol. 43, N 3. – P. 244–274.
67. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological Profile for Chromium. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service (Ed.). – 2012. – 592 p.
68. ATSDR. Chromium (TP-7) / In: Toxicological Profile. US Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2008. – 610 p.
69. Bagchi D. Chromium (VI)-induced oxidative stress, apoptotic cell death and modulation of p53 tumor suppressor gene / D. Bagchi, M. Bagchi, S.J. Stohl // *Mol. Cell Biochem.* – 2001. – Vol. 222. – P. 149–158.
70. Barceloux D.G. Chromium / D.G. Barceloux // *Clin. Toxicology*. – 1999. – Vol. 37, N 2. – P. 173–194.

71. Bedard K. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology / K. Bedard, K.H. Krause // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87, N 1. – P. 245-313.
72. Bergmeyer U. *Methods of Enzymatic Analysis* / U. Bergmeyer, M. Grassl // Weinheim-Deerfield Beach, Florida-Basel: Verlag Chemie, 1983. – 500 p.
73. Biological and physiological role of reactive oxygen species – the good, the bad and the ugly / [L. Zuo, T. Zhou, B.K. Pannell, A.C. Ziegler, T.M. Best] // *Acta Physiol. (Oxf.)*. – 2015. – Vol. 214, N 3. – P. 329–348.
74. Biological interactions between mercury and selenium in distribution and detoxification processes in mice under controlled exposure. Effects on selenoprotein / [M.A. García-Sevillano, G. Rodríguez-Moro, T. García-Barrera, F. Navarro, J.L. Gómez-Ariza] // *Chem. Biol. Interact.* – 2015. – Vol. 229. – P. 82–90.
75. Blade L.M. Hexavalent chromium exposures and exposure-control technologies in American enterprise: results of a NIOSH field research study / L.M. Blade, M.S. Yencken, M. Wallace // *J. Occup. Environ. Hyg.* – 2007. – Vol. 4. – P. 595–618.
76. Blasiak J. A comparison of the in vitro genotoxicity of tri- and hexavalent chromium / J. Blasiak, J. Kowalik // *Mutat. Res.* – 2000. – Vol. 469, N 1. – P. 135–145.
77. Blowes D. Tracking Hexavalent Cr in Groundwater / D. Blowes // *Science*. – 2002. – Vol. 295, N 5562.
78. Boscolo P. Effects of chromium on lymphocyte subsets and immunoglobulins from normal population and exposed workers / [P. Boscolo, M. Di Gioacchino, P. Bavazzano et al.] // *Life Sci.* 1997. – Vol. 60, N 16. – P. 1319–1325.
79. Boyum A.A. A one-stage procedure for isolation of granulocytes and lymphocytes from human blood / A.A. Boyum // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 1968. – Vol. 21, Suppl., 97. – P. 51–76.

80. Bréchar S. New insights into the regulation of neutrophil NADPH oxidase activity in the phagosome: a focus on the role of lipid and Ca²⁺ signaling / S. Bréchar, S. Plançon, E.J. Tschirhart // *Antioxid. Redox Signal.* – 2013. – Vol. 18, N 6. – P. 661–676.
81. Bréchar S. Regulation of superoxide production in neutrophils: role of calcium influx / S. Bréchar, E.J. Tschirhart // *J. Leukoc. Biol.* – 2008. – Vol. 84, N 5. – P. 1223–1237.
82. Bresciani G. Manganese superoxide dismutase and oxidative stress modulation / G. Bresciani, I.B. da Cruz, J. González-Gallego // *Adv. Clin. Chem.* – 2015. – Vol. 68. – P. 87–130.
83. Brigelius-Flohé R. Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors / R. Brigelius-Flohé // *Biol. Chem.* – 2006. – Vol. 387, N 10–11. – P. 1329–1335.
84. Cadmium, lead, and chromium in large game: a local-scale exposure assessment for hunters consuming meat and liver of wild boar / [P.P. Danieli, F. Serrani, R. Primi, M.P. Ponzetta, B. Ronchi] // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* – 2012. – Vol. 63, N 4. – P. 612–627.
85. Carlberg I. Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver / I. Carlberg, B. Mannervik // *J. Biol. Chem.* – 1975. – Vol. 250. – P. 5475–5480.
86. Causes of DNA single-strand breaks during reduction of chromate by glutathione in vitro and in cells / [J. Messer, M. Reynolds, L. Stoddard, A. Zhitkovich] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2006. – Vol. 40. – P. 1981–1992.
87. CDHS (California Department of Health Services), 2003. Chromium-6 in Drinking Water: Background Information (Электронный ресурс) / Режим доступа: <http://www.dhs.ca.doc/ps/ddwem/chemicals/Chromium6Cr+6backgroundinfo.htm>.
88. Cefalu W.T. Role of chromium in human health and in diabetes / W.T. Cefalu, F.B. Hu // *Diabetes Care.* – 2004. – Vol. 27. – P. 2742–2751.

89. Characterization of the metabolic and physiologic response to chromium supplementation in subjects with type 2 diabetes mellitus / [W.T. Cefalu, J. Rood, P. Pinsonat, J. Qin, O. Sereda, L. Levitan, R.A. Anderson et al.] // *Metabolism*. – 2010. – Vol. 59, N 5. – P. 755–762.
90. Chattopadhyay B. Mobility and bioavailability of chromium in the environment: physico-chemical and microbial oxidation of Cr (III) to Cr (VI) / B. Chattopadhyay, S.R. Utpal, S.K. Mukhopadhyay // *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* – 2010. – Vol. 14, N 2. – P. 97–101.
91. Chemistry of chromium in soils with emphasis on tannery waste sites / [S. Avudainayagam, M. Megharaj, G. Owens, R.S. Kookana, D. Chittleborough, R. Naidu] // *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* – 2003. – Vol. 178. – P. 53–91.
92. Choe E. Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods / E. Choe, D.B. Min // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 2006. – Vol. 46, N 1. – P. 1–22.
93. Chromium (III) picolinate produces chromosome damage in chinese hamster ovary cells / [D.M. Stearns, J.P. Wise, S.R. Patierno, K.E. Wetterhahn] // *FASEB J.* – 1995 (b). – Vol. 9. – P. 1643–1648.
94. Chromium (III) tris (picolinate) is mutagenic at the hypoxanthine (guanine) phosphoribosyltransferase locus in Chinese hamster ovary cells / [D.M. Stearns, S.M. Silveira, K.K. Wolf, A.M. Luke] // *Mutat. Res.* – 2002. – Vol. 513. – P. 135–142.
95. Chromium alleviates glucose intolerance, insulin resistance, and hepatic ER stress in obese mice / [N. Sreejayan, F. Dong, M.R. Kandadi, X. Yang, J. Ren] // *Obesity (Silver Spring)*. – 2008. – Vol. 16, N 6. – P. 1331–1337.
96. Chromium compounds. / [G. Anger, J. Halstenberg, K. Hochgeschwender et al.] // In: *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*. New York, NY: John Wiley & Sons, Inc. – 2005. – P. 1–36.
97. Chromium in drinking water: association with biomarkers of exposure and effect / [E. Sazakli, C.M. Villanueva, M. Kogevinas, K. Maltezis, A. Mouzaki,

- M. Leotsinidis] // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2014. – Vol. 11, N 10. – P. 10125-10145.
98. Chromium oxide nanoparticle-induced genotoxicity and p53-dependent apoptosis in human lung alveolar cells / [V.A. Senapati, A.K. Jain, G.S. Gupta, A.K. Pandey, A. Dhawan] // *J. Appl. Toxicol.* – 2015. – Vol. 35, N 10. – P. 1179–1188.
99. Chromium toxicity and tolerance in plants / [H.P. Singh, P. Mahajan, S. Kaur, D.R. Batish, R.K. Kohli] // *Environ. Chem. Lett.* – 2013. – Vol. 11. – P. 229–254.
100. Chromium toxicity in plants / A.K. Shanker, C. Cervantes, H. Loza-Taverac, S. Avudainayagam // *Environ. Int.* – 2005. – Vol. 31. – P. 739-753.
101. Chromium VI administration induces oxidative stress in hypothalamus and anterior pituitary gland from male rats / [S.I. Nudler, F.A. Quinteros, E.A. Miler, J.P. Cabilla, S.A. Ronchetti, B.H. Duvilanski] // *Toxicol. Lett.* – 2009. – Vol. 185, N 3. – P. 187–192.
102. Chromium(VI) interaction with plant and animal mitochondrial bioenergetics: a comparative study / [M.A.S. Fernandes, M.S. Santos, M.C. Alpoim, V.M.C. Madeira, J.A.F. Vicente] // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2002. – Vol. 16, N 2. – P. 53–63.
103. Chromium-induced nephrotoxicity and ameliorative effect of carvedilol in rats: Involvement of oxidative stress, apoptosis and inflammation / [B.D. Sahu, M. Koneru, S.R. Bijargi, A. Kota, R. Sistla] // *Chem. Biol. Interact.* – 2014. – Vol. 223C. – P. 69-79.
104. Chromosome aberration and lipid peroxidation in chromium-exposed workers / [S.H. Maeng, H.W. Chung, K.J. Kim et al.] // *Biomarkers.* – 2004. – Vol. 9, N 6. – P. 418–434.
105. Cohen M.D. Pulmonary immunotoxicology of select metals: aluminum, arsenic, cadmium, chromium, copper, manganese, nickel, vanadium, and zinc / M.D. Cohen // *J. Immunotoxicol.* – 2004. – Vol. 1. – P. 39–69.

106. Combined effects of muscular dystrophy, ecological stress, and selenium on blood antioxidant status in broiler chickens / [N.V. Georgieva, K. Stoyanchev, N. Bozakova, I. Jotova] // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2011. – Vol. 142, N 3. – P. 532–545.
107. Contents of zinc, copper, chromium and manganese in silver foxes according to their age and mineral supplementation / [W. Cybulski, L. Jarosz, A. Chałabis-Mazurek, A. Jakubczak, K. Kostro] // *Pol. J. Vet. Sci.* – 2009. – Vol. 12, N 3. – P. 339–345.
108. Contributors to chromium isotope variation of meteorites / [L. Qin, C.M.O'D. Alexander, R.W. Carlson, M.F. Horan, T. Yokoyama] // *Geochim. Cosmochim. Acta.* – 2010. – Vol. 74, N 3. – P. 1122–1145.
109. Costa M. Toxicity and carcinogenicity of chromium compounds in humans / M. Costa, C.B. Klein // *Crit. Rev. Toxicol.* – 2006. – Vol. 36, N 2. – P. 155–163.
110. Costa M. Toxicity and carcinogenicity of Cr(VI) in animal models and humans / M. Costa // *Crit Rev Toxicol.* – 1997. – Vol. 27, N 5. – P. 431–442.
111. Costa M. Potential hazards of hexavalent chromate in our drinking water. / M. Costa // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 188. – P. 1-5.
112. Cupo D.Y., Welterhahn K.E. Binding of chromium to chromatin and DNA from liver and kidney of rats treated with sodium dichromate and chromium (III) chloride in vivo / D.Y. Cupo, K.E. Welterhahn // *Cancer Res.* – 1985. – Vol. 45. – P. 1146–1151.
113. Curcumin attenuates Cr(VI)-induced ascites and changes in the activity of aconitase and F(1)F(0) ATPase and the ATP content in rat liver mitochondria / [W.R. García-Niño, C. Zazueta, E. Tapia, J. Pedraza-Chaverri] // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2014. – Vol. 28, N 11. – P. 522-527.
114. Curcumin pretreatment prevents potassium dichromate-induced hepatotoxicity, oxidative stress, decreased respiratory complex I activity, and membrane permeability transition pore opening / [W.R. García-Niño, E. Tapia, C. Zazueta, Z.L. Zatarain-Barrón, R. Hernández-Pando, C.C. Vega-García,

- J. Pedraza-Chaverrí] // Evid. Based Complement. Alternat. Med. – 2013. – Vol. 2013. – P. 424692.
115. Cytogenomics of hexavalent chromium (Cr 6+) exposed cells: a comprehensive review / [A. Nigam, S. Priya, P. Bajpai, S. Kumar] // Indian J. Med. Res. – 2014. – Vol. 139, N 3. – P. 349–370.
116. Cytotoxicity and genome-wide microarray analysis of intestinal smooth muscle cells in response to hexavalent chromium induction / [L.F. Jin, Y.Y. Wang, Z.D. Zhang, Y.M. Yuan, Y.R. Hu, Y.F. Wei, J. Ni] // Dongwuxue Yanjiu. – 2013. – Vol. 34, N E3. – P. E93–100.
117. Dayan A.D. Mechanisms of chromium toxicity, carcinogenicity and allergenicity: Review of the literature from 1985 to 2000 / A.D. Dayan, A.J. Paine // Hum. Exp. Toxicol. – 2001. – Vol. 20. – P. 439–451.
118. Determination of total chromium in environmental water samples / [J.L. Parks, L. McNeill, M. Frey, A.D. Eaton, A. Haghani, L. Ramirez, M. Edwards] // Water Res. – 2004. – Vol. 38, N 12. – P. 2827–2838.
119. Deutsch J. Glucose-6-phosphate dehydrogenase / J. Deutsch // In: Methods of Enzymatic Analysis. H.U.Bergmeyer (Ed.). Vol.3. Verlag Chemie, Weinheim-Deerfield Beach-Basel. – 1983. – P.190-197.
120. Dietary selenium in adjuvant therapy of viral and bacterial infections / [H. Steinbrenner, S. Al-Quraishy, M.A. Dkhil, F. Wunderlich, H. Sies] // Adv. Nutr. – 2015. – Vol. 6, N 1. – P. 73–82.
121. Differential activation of RAGE by HMGB1 modulates neutrophil-associated NADPH oxidase activity and bacterial killing / [J.M. Tadié, H.B. Bae, S. Banerjee, J.W. Zmijewski, E. Abraham] // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 2012. – Vol. 302, N 1. – P. C249–C256.
122. Dröse S. Molecular mechanisms of superoxide production by the mitochondrial respiratory chain / S. Dröse, U. Brandt // Adv. Exp. Med. Biol. – 2012. – Vol. 748. – P. 145–169.

123. Duracková Z. Some current insights into oxidative stress / Z. Duracková // *Physiol. Res.* – 2010. – Vol. 59, N 4. – P. 459–469.
124. Ebuehi O.A. Oral administration of vitamin C and vitamin E ameliorates lead-induced hepatotoxicity and oxidative stress in the rat brain / O.A. Ebuehi, R.A. Ogedegbe, O.M. Ebuehi // *Nig. Q. J. Hosp. Med.* – 2012. – Vol. 22, N 2. – P. 85–90.
125. Ecotoxicologic relations on a large pig-fattening farm located in a lignite mining area and near and solid-fuel electrical power plant / [J. Raszyk, H. Docekalová, J. Rubes, V. Gajdůšková, J. Masek et al.] // *Vet. Med.* – 1992. – Vol. 37, N 8. – P. 435–448.
126. Effect of chromium supplementation on glucose metabolism and lipids: a systematic review of randomized controlled trials / [E.M. Balk, A. Tatsioni, A.H. Lichtenstein, J. Lau, A.G. Pittas] // *Diabetes Care.* – 2007. – Vol. 30, N 8. – P. 2154–2163.
127. Effect of garlic (*Allium sativum*) on nickel II or chromium VI induced alterations of glucose homeostasis and hepatic antioxidant status under sub-chronic exposure conditions / [A. Das Gupta, P.C. Dhara, S.A. Dhundasi, K.K. Das] // *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 20, N 1. – P. 1–14.
128. Effect of long-term ingestion of chromium compounds on aggression, sex behavior, and fertility in adult male rat / [H. Bataineh, M.H. Al-Hamood, A. Elbetieha, I. Bani Hani] // *Drug Chem. Toxicol.* – 1997. – Vol. 20. – P. 133–149.
129. Effect of supplementing sows' feed with alpha-tocopherol acetate and vitamin C on transfer of alpha-tocopherol to piglet tissues, colostrum, and milk: aspects of immune status of piglets / [A. Pinelli-Saavedra, A.M. Calderón de la Barca, J. Hernández, R. Valenzuela, J.R. Scaife] // *Res. Vet. Sci.* – 2008. – Vol. 85, N 1. – P. 92–100.

130. Effects of chromium on the immune system / [R. Shrivastava, R.K. Upreti, P.K. Seth, U.C. Chaturvedi] // FEMS Immunol. Med. Microbiol. – 2002. – Vol. 34. – P. 1–7.
131. Effects of dietary selenium and vitamin E on immune response and biological blood parameters of broilers reared under thermoneutral or heat stress conditions / [M. Habibian, S. Ghazi, M.M. Moeini, A.R. Abdolmohammadi] // Int. J. Biometeorol. – 2014. – Vol. 58, N 5. – P. 741–752.
132. Effects of dietary selenium vitamin E, and their combination on growth, serum metabolites, and antioxidant defense system in skeletal muscle of broilers under heat stress / [S. Ghazi Harsini, M. Habibiyan, M.M. Moeini, A.R. Abdolmohammadi] // Biol. Trace Elem. Res. – 2012. – Vol. 148, N 3. – P. 322–330.
133. Effects of metal compounds with distinct physicochemical properties on iron homeostasis and antibacterial activity in the lungs: chromium and vanadium / [M.D. Cohen, M. Sisco, C. Prophete, K. Yoshida, L.C. Chen, J.T. Zelikoff, J. Smee, A.A. Holder, J. Stonehuerner, D.C. Crans, A.J. Ghio] // Inhal. Toxicol. – 2010. – Vol. 22, N 2. – P. 169–178.
134. Effects of selenium and vitamin E on performance, physiological response, and selenium balance in heat-stressed sheep / [I.A. Alhidary, S. Shini, R.A. Al-Jassim, A.M. Abudabos, J.B. Gaughan] // J. Anim. Sci. – 2015. – Vol. 93, N 2. – P. 576–588.
135. Effects of selenomethionine supplementation on selenium status and thyroid hormone concentrations in healthy adults / [G.F. Combs, D.N. Midthune, K.Y. Patterson, W.K. Canfield, A.D. Hill et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2009. – Vol. 89, N 6. – P. 1808–1814.
136. Elbetieha A. Long-term exposure of male and female mice to trivalent and hexavalent chromium compounds: effect on fertility / A. Elbetieha, M.H. Al-Hamood // Toxicology. – 1997. – Vol. 116, N 1–3. – P. 39–47.

137. Elevated levels of DNA-protein crosslinks and micronuclei in peripheral lymphocytes of tannery workers exposed to trivalent chromium / [M.G. Medeiros, A.S. Rodrigues, M.C. Batoréu, A. Laires, J. Rueff, A. Zhitkovic] // *Mutagenesis*. – 2003. – Vol. 18, 1. – P. 19–24.
138. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – Vol. 82. – P. 70–77.
139. Embryotoxicity and fetotoxicity of orally administered hexavalent chromium in mice / [B. Trivedi, D.K. Saxena, R.C. Murthy, S.V. Chandra] // *Reprod. Toxicol.* – 1989. – Vol. 3, N 4. – P. 275–278.
140. Emissions of chromium (VI) from arc welding / [W. Heung, M.J. Yun, D.P. Chang, P.G. Green, C. Halm] // *J. Air Waste Manag. Assoc.* – 2007. – Vol. 57, N 2. – P. 252–260.
141. Engin K.N. Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant / K.N. Engin // *Mol. Vis.* – 2009. – Vol. 15. – P. 855–860.
142. Enhanced glutathione levels and oxidoresistance mediated by increased glucose-6-phosphate dehydrogenase expression / [F. Salvemini, A. Franze, A. Iervolino, S. Filosa, S. Salzano, M.V. Ursini] // *J. Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 274. – P. 2750–2757.
143. EPA (Environmental Protection Agency). National Air Pollution Emission Trends 1900–1998, 1998 Emissions, United States Environmental Protection Agency. – U.S. EPA, 2000 (Электронный ресурс) / Режим доступа: <http://www.epa.gov/ttnchie1/trends/trends98/trends98.pdf>.
144. EPA (Environmental Protection Agency). Chromium, Integrated Risk Information System. Washington, D.C.: Office of Health and Environmental Assessment, U.S. EPA; 1999 (Электронный ресурс) / Режим доступа: www.epa.gov/iris/.
145. Erdogan S. Seasonal and locational effects on serum, milk, liver and kidney chromium, manganese, copper, zinc, and iron concentrations of dairy cows /

S. Erdogan, S. Celik, Z. Erdogan // Biol. Trace Elem. Res. – 2004. – Vol. 98, N 1. – P. 51–61.

146. Estimates of the chromium (VI) reducing capacity in human body compartments as a mechanism for attenuating its potential toxicity and carcinogenicity / [S. De Flora, A. Camoirano, M. Bagnasco, C. Bennicelli, G.E. Corbett, B.D. Kerger] // Carcinogenesis. – 1997. – Vol. 18, N 3. – P. 531-537.

147. Estimation of chromium (VI) in various body parts of local chicken / [M. Tariq, R. Rabia, A. Sakhawat, A. Jamil, A. Aadil et al.] // J. Chem. Soc. Pakistan. – 2011. – Vol. 33, N 3. – P. 339–342.

148. Evaluation of antioxidant activity of leaf extract of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) on chromium (VI) induced oxidative stress in albino rats / [S. Geetha, M. Sai Ram, S.S. Mongia, V. Singh, G. Ilavazhagan, R.C. Sawhney] // J. Ethnopharmacol. – 2003. – Vol. 87, N 2–3. – P. 247–251.

149. Expression of plasma glutathione peroxidase in human liver in addition to kidney, heart, lung, and breast in humans and rodents / [F.F. Chu, R.S. Esworthy, J.H. Doroshov, K. Doan, X.F. Liu] // Blood. – 1992. – Vol. 79, N 12. – P. 3233–3238.

150. 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.

151. Free radicals and phagocytic cells / [G.M. Rosen, S. Pou, C.L. Ramos, M.S. Cohen, B.E. Britigan] // FASEB J. – 1995. – Vol. 9, N 2. – P. 200-2009.

152. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases / I. Fridovich // Annu. Rev. Biochem. – 1995. – Vol. 64. – P. 97–112.

153. Fukai T. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases / T. Fukai, M. Ushio-Fukai // Antioxid. Redox Signal. – 2011. – Vol. 15. – P. 1583–1606.

154. Gad S.C. Acute toxicity of four chromate salts / S.C. Gad, W.J. Powers, B.J. Dunn // In: Chromium Symposium 1986: An Update, Industrial Health Foundation. D.M. Serrone (Ed.). Inc., Pittsburgh, PA, 1986. – P. 43–58.
155. Genotoxicity and antioxidant enzyme activity induced by hexavalent chromium in *Cyprinus carpio* after in vivo exposure / [P. Kumar, R. Kumar, N.S. Nagpure, P. Nautiyal, B. Kushwaha, A. Dabas] // Drug Chem. Toxicol. – 2013. – Vol. 36, N 4. – P. 451–460.
156. Genotoxicity of chromium compounds. A review / [S. De Flora, M. Bagnasco, D. Serra, P. Zanicchi] // Mutat. Res. – 1990. – Vol. 238. – P. 99-172.
157. Genotoxicity of tri- and hexavalent chromium compounds in vivo and their modes of action on DNA damage in vitro / [Z. Fang, M. Zhao, H. Zhen, L. Chen, P. Shi, Z. Huang] // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, N 8. – P. e103194.
158. Groundwater contaminated with hexavalent chromium [Cr (VI)]: a health survey and clinical examination of community inhabitants (Kanpur, India) / [P. Sharma, V. Bihari, S.K. Agarwal, V. Verma, C.N. Kesavachandran, B.S. Pangtey, N. Mathur, K.P. Singh, M. Srivastava, S.K. Goel] // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, N 10. – P. e47877.
159. Gueye M.T. Chemical reduction of hexavalent chromium (vi) in soil slurry by nano zero valent iron / M.T. Gueye, E. Petrucci, L. Di Palma // Chem. Eng. Trans. – 2015. – Vol. 43. – P. 655–660.
160. Hassanin K.M. The prospective protective effect of selenium nanoparticles against chromium-induced oxidative and cellular damage in rat thyroid / K.M. Hassanin, S.H. Abd El-Kawi, K.S. Hashem // Int. J. Nanomedicine. – 2013. – Vol. 8. – P. 1713–1720.
161. Hawkes W.C. Dietary selenium intake modulates thyroid hormone and energy metabolism in men / W.C. Hawkes, N.L. Keim // J. Nutr. – 2003. – Vol. 133, N 11. – P. 3443–3448.

162. Heavy metal concentration in tannery solid wastes used as poultry feed and the ecotoxicological consequences / [A.M. Hossain, T. Monir, A.M.R. Ul-Haque, M.A.I. Kazi, M.S. Islam, S.F. Elahi] // *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.* – 2007. – Vol. 42, N 4. – P. 397–416.
163. Heavy metals and other elements in serum of cattle from organic and conventional farms / [A. Tomza-Marciniak, B. Pilarczyk, M. Bąkowska, R. Pilarczyk, J. Wójcik] // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2011. – Vol. 143, N 2. – P. 863–870.
164. Hexavalent chromium induces apoptosis in male somatic and spermatogonial stem cells via redox imbalance / [J. Das, M.H. Kang, E. Kim, D.N. Kwon, Y.J. Choi, J.H. Kim] // *Sci. Rep.* – 2015. – Vol. 5. – P. 13921.
165. Hexavalent chromium reduction kinetics in rodent stomach contents / [D.M. Proctor, M. Suh, L.L. Aylward, C.R. Kirman, M.A. Harris, C.M. Thompson, H. Gürleyük, R. Gerads, L.C. Haws, S.M. Hays] // *Chemosphere.* – 2012. – Vol. 89, N 5. – P. 487–493.
166. Hexavalent chromium-induced apoptosis in rat uterus: involvement of oxidative stress / [N. Marouani, O. Tebourbi, M. Mokni, M.T. Yacoubi, M. Sakly, M. Benkhalifa, K.B. Rhouma] // *Arch. Environ. Occup. Health.* – 2015. – Vol. 70, N 4. – P. 189-195.
167. Hexavalent chromium-induced apoptosis of granulosa cells involves selective sub-cellular translocation of Bcl-2 members, ERK1/2 and p53 / [S.K. Banu, J.A. Stanley, J.H. Lee, S.D. Stephen, J.A. Arosh, P.B. Hoyer, R.C. Burghardt] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 251, N 3. – P. 253–266.
168. Hexavalent chromium-induced erythrocyte membrane phospholipid asymmetry / [A. Lupescu, K. Jilani, C. Zelenak, M. Zbidah, S.M. Qadri, F. Lang] // *Biometals.* – 2012. – Vol. 25, N 2. – P. 309–318.

169. Human catalase, its polymorphisms, regulation and changes of its activity in different diseases / [J. Kodydková, L. Vávrová, M. Kocík, A. Žák] // *Folia Biol (Praha)*. – 2014. – Vol. 60, N 4. – P. 153–167.
170. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Chromium, nickel and welding. Vol. 49. Lyons, France: International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. – 1990. – P. 49–256.
171. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risks to humans: a review of human carcinogens: arsenic, metals, fibres, and dusts. Vol. 100C. Lyon, France: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, 2012. – P. 147–168.
172. Immunotoxicologic effects of inhaled chromium: role of particle solubility and co-exposure to ozone / [M.D. Cohen, J.T. Zelikoff, L.C. Chen et al.] // *Tox. Appl. Pharm.* – 1998. – Vol. 152. – P. 30–40.
173. Impact of hexavalent chromium on mammalian cell bioenergetics: phenotypic changes, molecular basis and potential relevance to chromate-induced lung cancer / [P.L. Abreu, L.M. Ferreira, M.C. Alpoim, A.M. Urbano] // *Biometals*. – 2014. – Vol. 27, N 3. – P. 409–443.
174. Inability to maintain GSH pool in G6PD-deficient red cells causes futile AMPK activation and irreversible metabolic disturbance / [H.Y. Tang, H.Y. Ho, P.R. Wu, S.H. Chen, F.A. Kuypers, M.L. Cheng, D.T. Chiu] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2015. – Vol. 22, N 9. – P. 744–759.
175. Induction of oxidative stress by chronic administration of sodium dichromate (chromium VI) and cadmium chloride (cadmium II) to rats / [D. Bagchi, P.J. Vuchetich, M. Bagchi, E.A. Hassoun, M.X. Tran, L. Tang, S.J. Stohs] // *Free Rad. Biol. Med.* – 1997. – Vol. 22. – P. 471–478.
176. Investigation of the binding of Cr(III) complexes to bovine and human serum proteins: a proteomic approach / [C. Tkaczyk, O.L. Huk, F. Mwale, J. Antoniou, D.J. Zukor, A. Petit, M. Tabrizian] // *J. Biomed. Mater Res. A*. – 2010. – Vol. 94, N 1. – P. 214–222.

177. Investigations on the nephrotoxicity and hepatotoxicity of trivalent and hexavalent chromium compounds / [P.C. Dartsch, S. Hildenbrand, R. Kimmel, F.W. Schmahl] // *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* – 1998. – Vol. 71, Suppl. – P. S40-45.
178. Is hexavalent chromium carcinogenic via ingestion? A weight-of-evidence review / [D.M. Proctor, J.M. Otani, B.L. Finley, D.J. Paustenbach, J.A. Bland et al.] // *J. Toxicol. Environ. Health.* – 2002. – Vol. 65, N 10. – P. 701–746.
179. Ivankovic S. Absence of toxic and carcinogenic effects after administration of high doses of chromic oxide pigment in subacute and long term feeding experiments in rats / S. Ivankovic, R. Preussmann // *Food Cosmet. Toxicol.* – 1975. – Vol. 13. – P. 347–351.
180. Jiang F. NADPH oxidase-mediated redox signaling: roles in cellular stress response, stress tolerance, and tissue repair / F. Jiang, Y. Zhang, G. Dusting // *Pharmacol. Rev.* – 2011. – Vol. 63, N 1. – P. 218-242.
181. Johnson J. The contemporary anthropogenic chromium cycle / J. Johnson, L. Schewel, T.E. Graedel // *Environ. Sci. Technol.* – 2006. – Vol. 40. – P. 7060–7069.
182. Jomova K. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease / K. Jomova, M. Valko // *Toxicology.* – 2011. – Vol. 283, N 2–3. – P. 65–87.
183. Joseph P. Heme-oxygenase 1 gene expression is a marker for hexavalent chromium-induced stress and toxicity in human dermal fibroblasts / P. Joseph, Q. He, C. Umbright // *Toxicol. Sci.* – 2008. – Vol. 103, N 2. – P. 325–334.
184. Kanojia R.K. Embryo and fetotoxicity of hexavalent chromium: a long-term study / R.K. Kanojia, M. Junaid, R.C. Murthy // *Toxicol. Lett.* – 1998. – Vol. 95, N 3. – P. 165–172.
185. Karaytug S. Comparison of the protective effects of antioxidant compounds in the liver and kidney of Cd- and Cr-exposed common carp / S. Karaytug, Y. Sevgiler, F. Karayakar // *Environ. Toxicol.* – 2014. – Vol. 29, N 2. – P. 129–137.

186. Karthik K. Effects of hexavalent chromium exposures and control measures through phytoremediation / K. Karthik, P.S. Sharavanan, V. Arivalagan // IJRSTP. – 2014. – Vol. 1, N 2. – P. 111–115.
187. Karthikeyan S. Studying the effect of heavy metals on tissue protein of an edible fish *Cirrhinus mrigala* under the influence of pH and water hardness / S. Karthikeyan, P. Mani // Biofizika. – 2014. – Vol. 59, N 2. – P. 392–398.
188. Kaur S. Protective role of dietary-supplemented selenium and vitamin E in heat-induced apoptosis and oxidative stress in mice testes / S. Kaur, M.P. Bansal // Andrologia. – 2015. – Vol. 47, N 10. – P. 1109–1119.
189. Kiser J.R. Reduction and immobilization of chromium(VI) by iron(II)-treated faujasite / J.R. Kiser, B.A. Manning // J. Hazard. Mat. – 2010. – Vol. 174, N 1–3. – P. 167–174.
190. Kotas J. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation / J. Kotas, Z. Stasicka // Environ. Pollut. – 2000. – 107. – P. 263–283.
191. Kowluru R.A. Oxidative stress, mitochondrial damage and diabetic retinopathy / R.A. Kowluru, M. Mishra // Biochim. Biophys. Acta. – 2015. – Vol. 1852, N 11. – P. 2474–2483.
192. Kumar S. Chromium (VI) influenced nutritive value of forage sorghum (*Sorghum bicolor* L.) / S. Kumar, U.N. Joshi, S. Sangwan // Anim. Feed Sci. Technol. – 2010. – Vol. 160, N 3–4. – P. 121–127.
193. Kumari K. The applicability of oxidative stress biomarkers in assessing chromium induced toxicity in the fish *Labeo rohita* / K. Kumari, A. Khare, S. Dange // Biomed. Res. Int. – 2014. – Vol. 2014:782493.
194. Levis A.G. Cytotoxic and clastogenic effects of soluble chromium compounds on mammalian cell cultures / A.G. Levis, F. Majone // Br. J. Cancer. – 1979. – Vol. 40. – P. 523–533.
195. Lipid peroxidation, proteins modifications, anti-oxidant enzymes activities and selenium deficiency in the plasma of hashitoxicosis patients / [M. Mseddi,

- R. Ben Mansour, F. Mnif, B. Gargouri, M. Abid, F. Guermazi, H. Attia, S. Lassoued] // *Ther. Adv. Endocrinol. Metab.* – 2015. – Vol. 6, N 5. – P. 181–188.
196. Lobanov A.V. Eukaryotic selenoproteins and selenoproteomes / A.V. Lobanov, D.L. Hatfield, V.N. Gladyshev // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – Vol. 1790, N 11. – P. 1424–1428.
197. Losi M.E., Amrhein C., Frankenberger W.T. Environmental biochemistry of chromium / M.E. Losi, C. Amrhein, W.T. Frankenberger // *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* – 1994. – Vol. 136. – P. 91–121.
198. Lukaski H.C. Effects of chromium(III) as a nutritional supplement / H.C. Lukaski // In: *The Nutritional Biochemistry of Chromium (III)*. J.B. Vincent (Ed.). Elsevier, 2007. – P. 71–84.
199. Lung inflammation, injury, and proliferative response after repetitive particulate hexavalent chromium exposure / [L.M. Beaver, E.J. Stemmy, A.M. Schwartz, J.M. Damsker, S.L. Constant et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2009. – Vol. 117, N 12. – P. 1896–1902.
200. Lushchak V.I. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions / V.I. Lushchak // *J. Amino Acids.* – 2012. – Vol. 2012. – P. e736837.
201. Luteolin inhibits Cr(VI)-induced malignant cell transformation of human lung epithelial cells by targeting ROS mediated multiple cell signaling pathways / [P. Pratheeshkumar, Y.O. Son, S.P. Divya, R.V. Roy, J.A. Hitron, L. Wang, D. Kim, J. Dai, P. Asha, Z. Zhang, Y. Wang, X. Shi] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 281, N 2. – P. 230–241.
202. Measurement of DNA-protein cross-links in human leukocytes following acute ingestion of chromium in drinking water / [J.R. Kuykendall, B.D. Kerger, E.J. Jarvi, G.E. Corbett, D.J. Paustenbach] // *Carcinogenesis.* – 1996. – Vol. 17. – P. 1971–1977.
203. Measurement of soluble and total hexavalent chromium in the ambient airborne particles in New Jersey / [L. Huang, C.H. Yu, P.K. Hopke, P.J. Liroy,

- B.T. Buckley, J.Y. Shin, Z.T. Fan] // *Aerosol Air Qual. Res.* – 2014. – Vol. 14, N 7. – P. 1939–1949.
204. Mechanisms of chromium (VI)-induced apoptosis in anterior pituitary cells / [F.A. Quinteros, L.I. Machiavelli, E.A. Miler, J.P. Cabilla, B.H. Duvilanski] // *Toxicology.* – 2008. – Vol. 249, N 2-3. – P. 109-115.
205. Meluzzi A. Feeding hens diets supplemented with heavy metals (chromium, nickel, and lead) / A. Meluzzi, F. Simoncini, F. Sirri // *Arch. fur Geflugelkunde.* – 1996. – Vol. 60. – P. 119–125.
206. Méplan C. Selenium and chronic diseases: a nutritional genomics perspective / C. Méplan // *Nutrients.* – 2015. – Vol. 7, N 5. – P. 3621–3651.
207. Mertz W. Interaction of chromium with insulin: a progress report / W. Mertz // *Nutr. Rev.* – 1998. – Vol. 56, N 6. – P. 174–177.
208. Microbial reduction of chromate in the presence of nitrate by three nitrate respiring organisms / [P. Chovanec, C. Sparacino-Watkins, N. Zhang, P. Basu, J.F. Stolz] // *Front. Microbiol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 416.
209. Mishell B.B. Selected Methods in Cellular Immunology / B.B. Mishell, S.M. Shiigi // W.H. Freeman and Company, San Francisco. – 1980. – 486 p.
210. Molecular mechanisms of hexavalent chromium-induced apoptosis in human bronchoalveolar cells / [P. Russo, A. Catassi, A. Cesario et al.] // *Amer. J. Resp. Cell Mol. Biol.* – 2005. – Vol. 33, N 6. – P. 589–600.
211. Molecular mechanisms of the crosstalk between mitochondria and nadph oxidase through reactive oxygen species — studies in white blood cells and in animal models / [S. Kröller-Schön, S. Steven, S. Kossmann, A. Scholz, S. Daub, M. Oelze, N. Xia] // *Antioxid Redox Signal.* 2014 January 10; 20(2): 247–266.
212. Muscle atrophy and metal-on-metal hip implants / [R. Berber, M. Khoo, E. Cook, A. Guppy, J. Hua, J. Miles, R. Carrington, J. Skinner, A. Hart] // *Acta Orthop.* – 2015. – Vol. 86, N 3. – P. 351–357.
213. 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.
214. Nakamuro K. Comparative studies of chromosomal aberration and mutagenicity of trivalent and hexavalent chromium / K. Nakamuro, K. Yoshikawa, Y. Sayato // *Mutat. Res.* – 1978. – Vol. 58. – P. 175–181.
215. Nemeč A.A. Chromium (VI) stimulates Fyn to initiate innate immune gene induction in human airway epithelial cells / A.A. Nemeč, L.M. Zubritsky, A. Barchowsky // *Chem. Res. Toxicol.* – 2010. – Vol. 23. – P. 396–404.
216. Nephrotoxicity induced by chromium (VI) in adult rats and their progeny / [N. Soudani, M. Sefi, H. Bouaziz, Y. Chtourou, T. Boudawara, N. Zeghal] // *Hum. Exp. Toxicol.* – 2011. – Vol. 30, N 9. – P. 1233–1245.
217. Niki E. Evidence for beneficial effects of vitamin E / E. Niki // *Korean J. Intern. Med.* – 2015. – Vol. 30, N 5. – P. 571–579.
218. NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Sodium Dichromate Dihydrate (CAS No. 7789–12–0) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Drinking Water Studies). *Natl. Toxicol. Program Tech. Rep. Ser.* – 2008. – Vol. 546. – P. 1–192.
219. O'Brien T. Effects of glutathione on chromium-induced DNA crosslinking and DNA polymerase arrest / T. O'Brien, J. Xu, S.R. Patierno // *Mol. Cell Biochem.* – 2001. – Vol. 222. – P. 173–182.
220. O'Brien T.J. Nucleotide excision repair functions in the removal of chromium-induced DNA damage in mammalian cells / T.J. O'Brien, B.R. Brooks, S.R. Patierno // *Mol. Cell. Biochem.* – 2005. – Vol. 279, N 1–2. – P. 85–95.
221. Occupational dermatitis related to chromium and cobalt: experience of dermatologists (EPIDERM) and occupational physicians (OPRA) in the UK over an 11-year period (1993–2004) / [P. Athavale, K.W. Shum, Y. Chen, R. Agius, N. Cherry, D.J. Gawkrödger] // *Br. J. Dermatol.* – 2007. – Vol. 157, N 3. – P. 518–522.

222. Ohno H. Inducibility of sister-chromatid exchanges by heavy metal ions / H. Ohno, F. Hanaoka, M. Yanada // *Mutat. Res.* – 1982. – Vol. 104. – P. 141–145.
223. Oliveira H. Chromium as an environmental pollutant: insights on induced plant toxicity / H. Oliveira // *J. Bot.* – 2012. – Vol. 2012. – 8 pages.375843
224. One-electron reduction of chromium(VI) by alpha-lipoic acid and related hydroxyl radical generation, dG hydroxylation and nuclear transcription factor-kappaB activation / [F. Chen, J. Ye, X. Zhang, Y. Rojanasakul, X. Shi] // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1997. – Vol. 338, N 2. – P. 165–172.
225. Oral administration of Cr(VI) induced oxidative stress, DNA damage and apoptotic cell death in mice / [X.F. Wang, M.L. Xing, Y. Shen, X. Zhu, L.H. Xu] // *Toxicology.* – 2006. – Vol. 228, N 1. – P. 16–23.
226. OSHA (Occupational Safety and Health Administration), Department of Labor. Occupational exposure to hexavalent chromium. Final rule // *Fed. Regist.* – 2006. – Vol. 71, N 39. – P. 10099-10385.
227. OSHA, 2010. Hexavalent Chromium National Emphasis Program. OSHA Directive CPL 02-02-076. – 2010 (Электронный ресурс) / Режим доступа: https://www.osha.gov/OshDoc/Directive_pdf/CPL_02-02-076.pdf
228. Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions / [S.J. Stohs, D. Bagchi, E. Hassoun, M. Bagchi] // *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* – 2001. – Vol. 20. – P. 77–88.
229. Oxidative stress and chromium(VI) carcinogenesis / [H. Yao, L. Guo, B.H. Jiang, J. Luo, X. Shi] // *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* – 2008. – Vol. 27, N 2. – P. 77–88.
230. Oxidative stress and reduced responsiveness of challenged circulating leukocytes following pulmonary instillation of metal-rich particulate matter in rats / [A. Erdely, J.M. Antonini, S.H. Young, M.L. Kashon, J.K. Gu, T. Hulderman, R. Salmen, T. Meighan, J.R. Roberts, P.C. Zeidler-Erdely] // *Part. Fibre Toxicol.* – 2014. – Vol. 11. – P. 34.

231. Oxidative stress markers and histological analysis in diverse organs from rats treated with a hepatotoxic dose of Cr(VI): effect of curcumin / [W.R. García-Niño, Z.L. Zatarain-Barrón, R. Hernández-Pando, C.C. Vega-García, E. Tapia, J. Pedraza-Chaverri] // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2015. – Vol. 167, N 1. – P. 130-45.
232. Oxidative stress-related lung dysfunction by chromium(VI): alleviation by *Citrus aurantium* L. / [N. Soudani, M. Rafrafi, I. Ben Amara, A. Hakim, A. Troudi, K.M. Zeghal, H. Ben Salah, T. Boudawara, N. Zeghal] // *J Physiol Biochem.* – 2013. – Vol. 69, N 2. – P. 239–253.
233. Oze C. Genesis of hexavalent chromium from natural sources in soil and groundwater / C. Oze, D.K. Bird, S. Fendorf // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2007. – 104. – P. 6544–6549.
234. p38 Signaling-mediated hypoxia-inducible factor 1alpha and vascular endothelial growth factor induction by Cr(VI) in DU145 human prostate carcinoma cells / [N. Gao, B.H. Jiang, S.S. Leonard, L. Corum, Z. Zhang et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277, N 47. – P. 45041–45048.
235. Page B.J. Chromium compounds. / B.J. Page, G.W. Loar // In: *Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology*. New York, NY: John Wiley & Sons, 2004. – P. 526–571.
236. Panieri E. ROS signaling and redox biology in endothelial cells / E. Panieri, M.M. Santoro // *Cell Mol. Life Sci.* – 2015. – Vol. 72, N 17. – P. 3281–3303.
237. Papp L.V. Selenium and selenoproteins in health and disease / L.V. Papp, A. Holmgren, K.K. Khanna // *Antioxid. Redox Signal.* – 2010. – Vol. 12, N 7. – P. 793–795.
238. Pentose phosphate pathway, glutathione-dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E / [N.N. Ulus, M. Sahilli, A. Avci, O. Canbolat, G. Ozansoy, N. Ari, M. Bali, M. Stefek, S. Stolc, A. Gajdosik, C. Karasu] // *Neurochem. Res.* – 2003. – Vol. 28, N 6. – P. 815–823.

239. Pourahmad J. Biological reactive intermediates that mediate chromium (VI) toxicity / J. Pourahmad, P.J. O'Brien // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2001. – Vol. 500. – P. 203-207.
240. Priming of neutrophil oxidative burst in diabetes requires preassembly of the NADPH oxidase / [K. Omori, T. Ohira, Y. Uchida et al.] // *J. Leukoc. Biol.* – 2008. – Vol. 84, N 1. – P. 292–301.
241. Protective effect of ginger against toxicity induced by chromate in rats / [M. Krim, A. Messaadia, I. Maldi, O. Aouacheri, S. Saka] // *Ann. Biol. Clin. (Paris)*. – 2013. – Vol. 71, N 2. – P. 165–173.
242. Protective effect of vitamin E against acute kidney injury / [P. Liu, Y. Feng, Y. Wang, Y. Zhou, L. Zhao] // *Biomed. Mater. Eng.* – 2015. – Vol.26, Suppl. 1. – P. S2133–S2144.
243. Protective effects of selenium (Se) on chromium (VI) induced nephrotoxicity in adult rats / [N. Soudani, M. Sefi, I.B. Amara, T. Boudawara, N. Zeghal] // *Ecotoxicol. Environ. Safety.* – 2010. – Vol. 73, N 4. – P. 671-678.
244. 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.
245. Pulmonary immunotoxic potentials of metals are governed by select physicochemical properties: Chromium agents / [M.D. Cohen, C. Prophete, M. Sisco, L. Chen, J. Zelikoff, J. Smee, A. Holder, D. Crans] // *J. Immunotoxicol.* – 2006. – Vol. 3. – P. 69–81.
246. Puppel K. The etiology of oxidative stress in the various species of animals, a review / K. Puppel, A. Kapusta, B. Kuczyńska // *J. Sci. Food Agric.* – 2015. – Vol. 95, N 11. – P. 2179–2184.
247. Quantitative structure activity relationship and risk analysis of some heavy metal residues in the milk of cattle and goat / [F. Muhammad, M. Akhtar, I. Javed, J.I. Zu-Rahman, M.I. Anwar, S. Hayat] // *Toxicol. Ind. Health.* – 2009. – Vol. 25, N 3. – P. 177–181.

248. Quarles C.D. Competitive binding of Fe³⁺, Cr³⁺, and Ni²⁺ to transferrin / C.D. Quarles, R.K. Marcus, J.L. Brumaghim // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2011. – Vol. 16, N 6. – P. 913–921.
249. Rational design of a secreted enzymatically inactive mutant of extracellular superoxide dismutase / [A.J. Case, J.J. Mezhir, B.R. O'Leary, J.E. Hrabe, F.E. Domann] // *Redox Rep.* – 2012. – Vol. 17, N 6. – P. 239–245.
250. Reactive oxygen-related diseases: therapeutic targets and emerging clinical indications / [A.I. Casas, V.T. Dao, A. Daiber, G.J. Maghzal, F. Di Lisa, N. Kaludercic, S. Leach et al.] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2015. – Vol. 23, N 14. – P. 1171–1185.
251. Reduction of hexavalent chromium by ferrous ions to trivalent chromium in presence of organic acid additives / [A.M. Ahmed, M. El Batouti, M.A. Darweesh, S.M. Said] // *Asian J. Chem.* – 2015. – Vol. 11. – P. 3998–4006.
252. Reduction of hexavalent chromium by human cytochrome b5: generation of hydroxyl radical and superoxide / [G.R. Borthiry, W.E. Antholine, B. Kalyanaraman, J.M. Myers, C.R. Myers] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2007. – Vol. 42, N 6. – P. 738–755.
253. Reductive activation of hexavalent chromium by human lung epithelial cells: generation of Cr(V) and Cr(V)-thiol species / [G.R. Borthiry, W.E. Antholine, J.M. Myers, C.R. Myers] // *J. Inorg. Biochem.* – 2008. – Vol. 102, N 7. – P. 1449–1462.
254. Regulation and function of selenoproteins in human disease / [F.P. Bellinger, A.V. Raman, M.A. Reeves, M.J. Berry] // *Biochem. J.* – 2009. – Vol. 422, N 1. – P. 11–22.
255. Regulation of innate immunity by NADPH oxidase / [B.H. Segal, M.J. Grimm, A.N.H. Khan, W. Han, T.S. Blackwell] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2012. – Vol. 53, N 1. – P. 72–80.
256. Review of the evidence regarding the carcinogenicity of hexavalent chromium in drinking water / [R.M. Sedman, J. Beaumont, T.A. McDonald,

- S. Reynolds, G. Krowech, R. Howd] // *J. Environ. Sci. Health. C. Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* – 2006. – Vol. 24. – P. 155–182.
257. Revisions to the Unregulated Contaminant Monitoring Regulation (UCMR 3) for Public Water Systems. A Rule by the Environmental Protection Agency on 05/02/2012. – 31 p. (Электронный ресурс) / Режим доступа: <https://federalregister.gov/a/2012-9978>
258. Ristoff E. Inborn errors in the metabolism of glutathione / E. Ristoff, A. Larsson // *Orphanet. J. Rare Dis.* – 2007. – Vol. 2. – P. 16.
259. Role of chromium(IV) in the chromium(VI)-related free radical formation, dG hydroxylation, and DNA damage / [H. Luo, Y. Lu, Y. Mao, X. Shi, N.S. Dalal] // *J. Inorg. Biochem.* – 1996. – Vol. 64, N 1. – P. 25–35.
260. Role of mitochondrial electron transport chain dysfunction in Cr(VI)-induced cytotoxicity in L-02 hepatocytes / [F. Xiao, Y. Li, L. Luo, Y. Xie, M. Zeng, A. Wang, H. Chen, C. Zhong] // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2014. – Vol. 33, N 4. – P. 1013–1025.
261. Ryberg D. Mechanisms of chromium toxicity in mitochondria / D. Ryberg, J. Alexander // *Chem. Biol. Interact.* – 1990. – Vol. 75, N 2. – P. 141–151.
262. Saber T. M. Ameliorative effect of extra virgin olive oil on hexavalent chromium-induced nephrotoxicity and genotoxicity in rats / T.M. Saber, M.R. Farag, R.G. Cooper // *Revue de médecine vétérinaire.* – 2015. – Vol. 166, N 1-2. – P. 11-19.
263. Safety of trivalent chromium complexes: no evidence for DNA damage in human HaCaT keratinocytes / [I. Hininger, R. Benaraba, M. Osman, H. Faure, A. Marie Roussel, R.A. Anderson] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2007. – Vol. 42, N 12. – P. 1759–1765.
264. Saha R. Sources and toxicity of hexavalent chromium / R. Saha, R. Nandi, B. Saha // *J. Coord. Chem.* – 2011. – Vol. 64, N 10. – P. 1782–1806.

265. Salminen L.E. Oxidative stress and genetic markers of suboptimal antioxidant defense in the aging brain: a theoretical review / L.E. Salminen, R.H. Paul // *Rev. Neurosci.* – 2014. – Vol. 25, N 6. – P. 805–819.
266. Salnikow K. Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: nickel, arsenic, and chromium / K. Salnikow, A. Zhitkovich // *Chem. Res. Toxicol.* – 2008. – Vol. 21. – P. 28–44.
267. Sasso A.F. An evaluation of in vivo models for toxicokinetics of hexavalent chromium in the stomach / A.F. Sasso, P.M. Schlosser // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 287, N 3. – P. 293–298.
268. SCF (Scientific Committee on Food). Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. EFSA, February 2006. – 480 p.
269. Sedighi O. Effect of selenium supplementation on glutathione peroxidase enzyme activity in patients with chronic kidney disease: a randomized clinical trial / O. Sedighi, M. Zargari, G. Varshi // *Nephrourol. Mon.* – 2014. – Vol. 6, N 3. – P. e17945.
270. Selenium in human health and disease / [S.J. Fairweather-Tait, Y. Bao, M.R. Broadley, R. Collings, D. Ford, J.E. Hesketh, R. Hurst] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2011. – Vol. 14, N 7. – P. 1337–1383.
271. Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions / [Y. Mehdi, J.L. Hornick, L. Istasse, I. Dufrasne] // *Molecules.* – 2013. – Vol. 18, N 3. – P. 3292–3311.
272. Selenium-enriched exopolysaccharides improve skeletal muscle glucose uptake of diabetic KKAY mice via AMPK pathway / [X. Zhou, J. Chen, F. Wang, H. Yang, R. Yang, X. Wang, Y. Wang] // *J. Physiol. Biochem.* – 2014. – Vol. 70, N 2. – P. 547–554.
273. Sen C.K. Tocotrienols in health and disease: the other half of the natural vitamin E family / C.K. Sen, S. Khanna, S. Roy // *Mol. Aspects Med.* – 2007. – Vol. 28, N 5–6. – P. 692–728.

274. Shadel G.S. Mitochondrial ROS signaling in organismal homeostasis / G.S. Shadel, T.L. Horvath // *Cell*. – 2015. – Vol. 163, N 3. – P. 560-569.
275. Shelnutt S.R. Dermatological toxicity of hexavalent chromium / S.R. Shelnutt, P. Goad, D.V. Belsito // *Crit. Rev. Toxicol.* – 2007. – Vol. 37. – P. 375–387.
276. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine / H. Sies // *Redox Biol.* – 2015. – Vol. 4. – P. 180–183.
277. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants / H. Sies // *Exp. Physiol.* – 1997. – Vol. 82, N 2. – P. 291–295.
278. Sies H. Role of metabolic H₂O₂ generation: redox signaling and oxidative stress / H. Sies // *J. Biol. Chem.* – 2014. – Vol. 289, N 13. – P. 8735–8741.
279. Singh U. Vitamin E, oxidative stress, and inflammation / U. Singh, S. Devaraj, I. Jialal // *Annu. Rev. Nutr.* – 2005. – Vol. 25. – P. 151–174.
280. Singh U. Vitamin E: inflammation and atherosclerosis / U. Singh, S. Devaraj // *Vitam. Horm.* – 2007. – Vol. 76. – P. 519–549.
281. Snow E.T. Effects of chromium on DNA replication in vitro / E.T. Snow // *Environ. Health Perspect.* – 2004. – Vol. 102 (Suppl 3). – P. 41–44.
282. Splenic hematopoiesis in an experimental model of hemolytic anemia / [G. Piacentini, A. Carnevali, L. Baronciani, P. Ninfali] // *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* – 1990. – Vol. 66, N 1. – P. 15–20.
283. Stadtman T.C. Selenocysteine / T.C. Stadtman // *Annu. Rev. Biochem.* – 1996. – Vol. 65. – P. 83–100.
284. Stasinou S. The uptake of nickel and chromium from irrigation water by potatoes, carrots and onions / S. Stasinou, I. Zabetakis // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2013. – Vol. 91, N 1. – P. 122–128.
285. Stearns D.M. A prediction of chromium(III) accumulation in humans from chromium dietary supplements / D.M. Stearns, J.J. Belbruno, K.E. Wetterhahn // *FASEB J.* – 1995 (a). – Vol. 9. – P. 1650–1657.

286. Stearns D.M. Reaction of Cr(VI) with ascorbate produces chromium(V), chromium(IV), and carbon-based radicals / D.M. Stearns, K.E. Wetterhahn // *Chem. Res. Toxicol.* – 1994. – Vol. 7. – P. 219–230.
287. Sugden K.D. Direct oxidation of guanine and 7,8-dihydro-8-oxoguanine in DNA by a high-valent chromium complex: a possible mechanism for chromate genotoxicity / K.D. Sugden, C.K. Campo, B.D. Martin // *Chem. Res. Toxicol.* – 2001. – Vol. 14. – P. 1315–1322.
288. Sugden K.D. The role of chromium(V) in the mechanism of chromate-induced oxidative DNA damage and cancer / K.D. Sugden, D.M. Stearns // *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* – 2000. – Vol. 19. – P. 215–230.
289. Superoxide dismutase 3, extracellular (SOD3) variants and lung function / [K. Ganguly, M. Depner, C. Fattman, K. Bein, T.D. Oury, S.C. Wesselkamper, M.T. Borchers et al.] // *Physiol. Genomics.* – 2009. – Vol. 37, N 3. – P. 260–267.
290. Suppression in lung defense responses after bacterial infection in rats pretreated with different welding fumes / [J.M. Antonini, M.D. Taylor, L. Millecchia, A.R. Bebout, J.R. Roberts] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2004. – Vol. 200, N 3. – P. 206–218.
291. Surai P.F. Selenium in pig nutrition and reproduction: boars and semen quality-a review / P.F. Surai, V.I. Fisinin // *Asian-Australas J. Anim. Sci.* – 2015. – Vol. 28, N 5. – P. 730–746.
292. 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.
293. The dual roles of c-Jun NH₂-terminal kinase signaling in Cr(VI)-induced apoptosis in JB6 cells / [Y.O. Son, J.A. Hitron, S. Cheng, A. Budhraj, Z. Zhang et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2011. – Vol. 119, N 2. – P. 335–345.
294. The effect of potassium dichromate on free radical processes in goldfish: possible protective role of glutathione / [O.V. Lushchak, O.I. Kubrak,

- M.Z. Nykorak, K.B. Storey, V.I. Lushchak] // *Aquatic Toxicol.* – 2008. – Vol. 87, N 2. – P. 108–114.
295. The humoral immune response of mice exposed to manual metal arc stainless steel-welding fumes / [S.E. Anderson, B.J. Meade, L.F. Butterworth, A.E. Munson] // *J. Immunotoxicol.* – 2007. – Vol. 4. – P. 15–23.
296. The regulation of erythropoiesis by selenium in mice / [N. Kaushal, S. Hegde, J. Lumadue, R.F. Paulson, K.S. Prabhu] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2011. – Vol. 14, N 8. – P. 1403-1412.
297. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases / [G.H. Kim, J.E. Kim, S.J. Rhie, S. Yoon] // *Exp. Neurobiol.* – 2015. – Vol. 24, N 4. – P. 325–340.
298. The α -tocopherol form of vitamin E reverses age-associated susceptibility to *Streptococcus pneumoniae* lung infection by modulating pulmonary neutrophil recruitment / [E.N. Bou Ghanem, S. Clark, X. Du, D. Wu, A. Camilli, J.M. Leong, S.N. Meydani] // *J. Immunol.* – 2015. – Vol. 194, N 3. – P. 1090–1099.
299. Toxicological assessment of heavy metals accumulated in vegetables and fruits grown in Ginfel river near Sheba Tannery, Tigray, Northern Ethiopia / [A. Gebrekidan, Y. Weldegebriel, A. Hadera, B. Van der Bruggen] // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2013. – Vol. 95. – P. 171–178.
300. Trends in oxidative aging theories / [F.L. Muller, M.S. Lustgarten, Y. Jang, A. Richardson, H. Van Remmen] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2007. – Vol. 43, N 4. – P. 477–503.
301. Umeda M. Inducibility of chromosomal aberrations by metal compounds in cultured mammalian cells. / M. Umeda, M. Nishimura // *Mutat Res.* – 1979. – Vol. 67. – P. 221–229.
302. Unusual findings in a fatal case of poisoning with chromate compounds. / [K. Kurosaki, T. Nakamura, T. Mukai, T. Endo] // *Forensic Sci Int* 1995;75:57–65.
303. Uptake and reduction of Cr(VI) to Cr(III) by mesquite (*Prosopis* spp.): chromate-plant interaction in hydroponics and solid media studied using XAS /

- [M.V. Aldrich, J.L. Gardea-Torresdey, J.R. Peralta-Videa, J.G. Parsons] // *Environ. Sci. Technol.* – 2003. – Vol. 37, N 9. – P. 1859–1864.
304. USEPA 2010. IRIS Toxicological Review of Hexavalent Chromium (External Review Draft). (Электронный ресурс) / Режим доступа: http://cfpub.epa.gov/ncea/iris_drafts/recordisplay.cfm?deid=221433.
305. Valko M. Metals, toxicity and oxidative stress / M. Valko, H. Morris, M.T. Cronin // *Curr. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 12, N 10. – P. 1161–208.
306. Veyalkin I. Retrospective cohort study of cancer mortality at the Minsk Leather Tannery / I. Veyalkin, V. Gerein // *Ind. Health.* – 2006. – Vol. 44, N 1. – P. 69–74.
307. Wedeen R.P. Chromium-induced kidney disease / R.P. Wedeen, L.F. Qian // *Environ. Health Perspect.* – 1991. – Vol. 92. – P. 71–74.
308. Weiss G. Macrophage defense mechanisms against intracellular bacteria / G. Weiss, U.E. Schaible // *Immunol. Rev.* – 2015. – Vol. 264, N 1. – P. 182–203.
309. Weitzel F. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in various mouse organs during selenium deficiency and repletion / F. Weitzel, F. Ursini, A. Wendel // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1990. – Vol. 1036, N 2. – P. 88–94.
310. Weldegebriel Y. Concentration levels of metals in vegetables grown in soils irrigated with river water in Addis Ababa, Ethiopia / Y. Weldegebriel, B.S. Chandravanshi, T. Wondimu // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2012. – Vol. 77. – P. 57–63.
311. Wise S.S. Hexavalent chromium-induced DNA damage and repair mechanisms / S.S. Wise, A.L. Holmes, J.P. Wise // *Rev. Environ. Health.* – 2008. – Vol. 23, N 1. – P. 39–57.
312. Zachara B.A. Selenium and selenium-dependent antioxidants in chronic kidney disease / B.A. Zachara // *Adv. Clin. Chem.* – 2015. – Vol. 68. – P. 131–151.

313. Zeidler-Erdely P.C. Immunotoxicology of arc welding fume: worker and experimental animal studies / P.C. Zeidler-Erdely, A. Erdely, J.M. Antonini // *J. Immunotoxicol.* – 2012. – Vol. 9. – P. 411–425.
314. Zhang L. EPR studies of the reactions of Cr(VI) with l-ascorbic acid, l-dehydroascorbic acid, and 5,6-O-isopropylidene-l-ascorbic acid in water. Implications for chromium(VI) genotoxicity / L. Zhang, P.A. Lay // *J. Am. Chem. Soc.* – 1996. – Vol. 118. – P. 12624–12637.
315. Zhang R.H. Remediation of chromate contaminated soils by combined technology of electrokinetic and iron PRB / R.H. Zhang, H.W. Sun // *Huan Jing Ke Xue.* – 2007. – Vol. 28, N 5. – P. 1131–1136.
316. Zhitkovich A. Chromium in drinking water: Sources, metabolism, and cancer risks / A. Zhitkovich // *Chem. Res. Toxicol.* – 2011. – Vol. 24. – P. 1617–1629.
317. Zhitkovich A. Importance of chromium-DNA adducts in mutagenicity and toxicity of chromium(VI) / A. Zhitkovich // *Chem. Res. Toxicol.* – 2005. – Vol. 18. – P. 3–11.
318. Zhou J. Selenium and diabetes--evidence from animal studies / J. Zhou, K. Huang, X.G. Lei // *Free Radic. Biol. Med.* – 2013. – Vol. 65. – P. 1548–1556.

ЗАТВЕРДЖУЮ

ФО-П Куземко Максим
Юрійович

“ 02 ” квітня 2015р.



ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор Львівського національного
аграрного університету з наукової
роботи, д.с.н. професорЯців І.Б.
2015р.А К Т
про виробничу перевірку

1. **Найменування науково-дослідної установи-розробника**
Львівський національний аграрний університет
(НДІ, дослідна станція, відділ, лабораторія та ін.)
2. **Найменування завершених робіт, поставлених на виробничу основу**
Препарат, який являє собою комплекс вітаміну Е та Селену для розробки способів профілактики й корекції порушень клітинного метаболізму та імунної функції лейкоцитів крові в організмі сільськогосподарських тварин у разі споживання корму і питної води на територіях, забруднених сполуками Cr(VI) внаслідок антропогенної діяльності.
3. **Автори завершених робіт** Хомич Н.П., асистент, кафедра екології та біології ЛНАУ, Антоняк Г.Л., д.б.н., професор, кафедра екології ЛНУ ім. Івана Франка
(П. І. П., посада, звання)
4. **Завершені науково-дослідні роботи, рекомендовані до виробничої перевірки рішенням вченої ради**
(НДІ, дослідні станції та ін.)
5. **Виробнича перевірка проводилась у приватному фермерському господарстві** ФО-П Куземко Максим Юрійович
(найменування господарства, підприємства, його відомче підпорядкування)
с. Демня, Миколаївського району, Львівської області.
(місцезнаходження: республіка, край, область)
6. **Відповідальні за проведення виробничої перевірки** Хомич Н.П., асистент, кафедра екології та біології ЛНАУ, Антоняк Г.Л., д.б.н., професор, кафедра екології ЛНУ ім. Івана Франка, Дубосинський М.В. вет. лікар.
(П. І. П., установа, господарство, посада)
7. **Умови проведення перевірки** відповідали умовам утримання кроликів
(господарсько-економічні, що відповідають встановленим вимогам)

8.Об'єм виробничої перевірки 50 голів кроликів
(голів, тонн та ін.)

9.Терміни проведення лютий-березень
(рік, місяць, початок і закінчення в кожному окремому випадку)

10.Методика виробничої перевірки для виробничої перевірки було відібрано 50 кроликів породи «шампань», трьохмісячного віку. Тваринам вводили Селен в комплексі з вітаміном Е через кожні 14 діб у дозі 0,02 мг Селену та 2 мг вітаміну Е на 1 кг живої маси.
(коротка характеристика прийнятого методу перевірки)

11.З яким контролем проводилось порівняння закінчених досліджень
Тваринам контрольної групи (20 кроликів) вводили фізіологічний розчин у такому самому об'ємі.

12.Результати, що характеризують ефективність робіт, що перевіряють, у порівнянні з контролем:

а) основні господарські показники за результатами перевірки _____
(якість продукції, зниження собівартості та ін.)

б) обґрунтований розрахунок економічного ефекту _____
(ефект у гривнях на одиницю об'єму або на одиницю виробленої продукції)

13. Що рекомендується для освоєння у виробництві з метою зменшення шкідливих наслідків та профілактики впливу шестивалентного Хрому на організм кроликів, що надходить із кормами з забруднених територій, рекомендується вводити Селен в комплексі з вітаміном Е через кожні 14 діб у дозі 0,02 мг Селену та 2 мг вітаміну Е на 1 кг живої маси.
(коротка і чітка рекомендація виробництву)

14.Відповідальні виконавці виробничої перевірки:

від виробництва (господарства)
ФО-П Куземко Максим Юрійович

від наукової установи
асистент  Хомич Н.П.

вет. лікар  Дубосинський М.В.

д.б.н., проф..  Антоняк Г.Л.

Акт складений у 3-х примірниках "02" квітня 2015 р.

Додаток Б



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів дисертаційної роботи

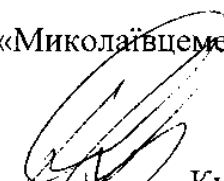
Хомич Наталії Петрівни

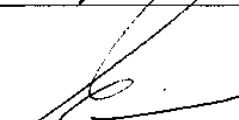
«Стан клітинного метаболізму у тварин за дії Хрому (VI) і застосування вітаміну Е та Селену» у приватному фермерському господарстві, що знаходиться за адресою:


с. Демня, Миколаївського району, Львівської області.

Ми, що нижче підписалися, ФО-П Куземко М.Ю., директор фермерського господарства Куземко Ю.Й., вет. лікар Дубосинський М.В., склали даний акт про те, що в фермерському господарстві за результатами дисертаційних досліджень Хомич Н.П. запроваджено введення тваринам Селену в комплексі з вітаміном Е через кожні 14 діб у дозі 0,02 мг Селену та 2 мг вітаміну Е на 1 кг живої маси для трьохмісячного молодняка кролів, з метою зменшення шкідливих наслідків та профілактики впливу шестивалентного Хрому на організм кроликів, що надходить із кормами з забруднених територій, прилеглих до ВАТ «Миколаївцемент».

Підписи:


 _____ Куземко М.Ю.


 _____ Куземко Ю.Й.

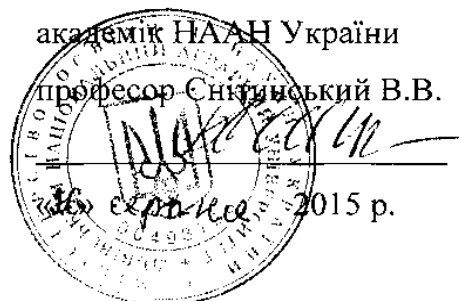

 _____ Дубосинський М.В.

Додаток В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»Ректор Львівського національного
аграрного університету

академік НААН України

професор Снітинський В.В.

**Карта зворотного зв'язку**

Цією довідкою підтверджується дійсне використання окремих положень дисертаційної роботи Хомич Наталії Петрівни «Стан клітинного метаболізму у тварин за дії Хрому (VI) і застосування вітаміну Е та Селену» у навчальному процесі з дисциплін «Екологічна біохімія» (тема «Оксидаційний стрес і захисні системи організму»), використано матеріали дисертації Хомич Н.П., які стосуються механізмів розвитку оксидативного стресу та антиоксидантних процесів у клітинах тварин під впливом калію дихромату. У курсі лекцій з дисципліни «Екологічна токсикологія» при викладанні теми «Екотоксикологічний вплив Хрому (VI) на стан біоценозів прилеглих до промислових майданчиків», в курсі лекцій з «Екології» – при розгляді теми «Антропогенний вплив і деградація екосистем», та в курсі лекцій з «Екології людини» при викладанні теми «Використання вітамінно-селенових добавок на стан людського організму».

Т.в.о. завідувача
кафедри екології та біології
к.б.н., доцент

П.Р. Хірівський