

УДК 661.875:546.76

Влияние различных концентраций хлорида хрома на систему антиоксидантной защиты у крыс

Р.Я. Искра*

*Институт биологии животных НААН,
Украина 79034, Львов, ул. В. Стуса, 38*

Received 23.01.2013, received in revised form 29.01.2013, accepted 28.02.2013

Были проведены исследования для оценки влияния различных концентраций (0, 70, 140 мкг Cr/л воды) хлорида хрома ($CrCl_3 \cdot 6H_2O$) на показатели антиоксидантной системы в организме крыс. Установлено высокое содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови крыс контрольной группы, которые не получали с питьевой водой хлорид хрома (0 мкг Cr/л), в сравнении с животными, получавшими это соединение. Хлорид хрома, который добавляли в питьевую воду крысам первой опытной группы в концентрации 70 мкг Cr/л, вызывал снижение содержания ТБК-активных (т.е. реагирующих с тиобарбитуровой кислотой) продуктов на 20,3 %. В крови крыс второй опытной группы хлорид хрома в концентрации 140 мкг Cr/л вызывал снижение концентрации гидроперекисей липидов на 22,1 % в сравнении с животными контрольной группы. Добавление хлорида хрома в питьевую воду крыс в концентрациях 70 и 140 мкг Cr/л приводило к снижению активности СОД в эритроцитах их крови соответственно на 38,6 и 62,0 %, в то время как активность каталазы увеличилась на 26,7 и 46,2 %, а глутатионпероксидазы – на 12,4 и 21,0 % в сравнении с активностью ферментов в гемолизатах крови животных, которые не получали этого соединения. Таким образом, поступление хрома в организм крыс в концентрации 70 и 140 мкг Cr/л питьевой воды способствовало ингибированию процессов перекисного окисления липидов и усилению активности антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: крысы, хром, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

Введение

Решающее значение для нормального функционирования и целостности клеток и тканей в организме играют окислительно-

восстановительные реакции (Valko et al., 2007; Mates et al., 2008; Korkina et al., 2009). В процессе метаболизма в тканях аэробных организмов постоянно образуются продукты

неполного восстановления кислорода, так называемые активные формы кислорода, такие как супероксид-анион радикал (O_2^-), гидроксильный радикал ($HO\cdot$) и перекись водорода (H_2O_2), которые вызывают перекисное окисление липидов, особенно в мембранах, могут влиять на рост и деление клеток, вызывать их повреждение и апоптоз (Kovács et al., 1996; Leonard et al., 2004; Genestra, 2007; Ott et al., 2007). Перекисное повреждение клеточных структур предотвращает антиоксидантная система, которая регулирует реакции перекисного окисления липидов в мембранах, контролирует содержание активных форм кислорода, свободных радикалов и конечных продуктов обмена веществ.

Трехвалентный хром (Cr) является важным регулятором процессов перекисного окисления липидов и активности антиоксидантной системы в организме (Vincent, 2008; Jain et al., 2001). В США для лабораторных животных рекомендуется 300 мкг Cr(III)/кг корма (NRC, 1995). У крыс LD_{50} для хлорида хрома составляет около 2 г/кг массы тела (ATSDR, 2000). В организме Cr(III) может проявлять двойные свойства – как антиоксидантные, так и прооксидантные, что обуславливает его участие в окислительно-восстановительных реакциях. Реакции соединений Cr(III) с перекисями липидов, вероятно, ответственны за способность этих соединений снижать уровень перекисного окисления липидов (Vincent, 2008). Установлено, что добавки хлорида хрома обладают антиоксидантными свойствами, поскольку уменьшают секрецию фактора некроза опухоли- α , окислительный стресс и перекисное окисление липидов при высоком уровне глюкозы и H_2O_2 в культуре моноцитов U937 (Jain et al., 2001). Также установлено, что биохимическое действие Cr(III) как антиоксиданта проявляется в результате длительного лечения его соединениями пациентов с диа-

бетом II типа (Cheng et al., 2004). Кроме того, получены экспериментальные данные, что хром улучшает обмен липидов – снижает содержание холестерина, однако увеличивает уровень триацилглицеринов, менее подверженных перекисному окислению липидов благодаря своему химическому строению (Mertz, 1993; Deshmukh et al., 2009).

Наряду с этим механизм воздействия Cr(III) на систему антиоксидантной защиты полностью не изучен, поэтому целью исследований было установить влияние различных количеств хрома на отдельные показатели антиоксидантной системы в организме крыс.

Материалы и методы

Исследования проведены на 30 самцах белых лабораторных крыс линии Вистар, со средней массой 130 г, которые были разделены на три группы по 10 особей в каждой. В течение 30 суток животные содержались на хром-дефицитной диете (Striffler et al., 1995), которая состояла из 64 % сахарозы, 20 % казеина, 5 % кукурузного масла и рекомендованных доз витаминов и микроэлементов (табл. 1). Крысам контрольной группы выпаивали дистиллированную воду без добавления хрома. Животным первой опытной группы выпаивали растворенный в дистиллированной воде хлорид хрома ($CrCl_3 \cdot 6H_2O$) в концентрации 70 мкг Cr/л. Животные второй опытной группы получали с дистиллированной водой хлорид хрома в концентрации 140 мкг Cr/л. При среднесуточном потреблении воды одной крысой приблизительно 20 мл дозы хрома составляли 1,4 и 2,8 мкг на одно животное. В конце эксперимента животных под легким эфирным наркозом декапитировали. В крови крыс определяли количество эритроцитов и лейкоцитов, содержание гидроперекисей липидов, концентрации продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-

Таблица 1. Количество витаминов и микроэлементов в рационе крыс в ходе эксперимента

Витамины и минералы	Корм, мг/кг
Альфа-токоферол	110
Холин	1650
D-пантотенат кальция	66
Инозитол	110
Витамин К3	49,5
Ниацин	99
4-аминобензойная кислота	110
Пиридоксин HCl	22
Рибофлавин	22
Тиамин HCl	22
Витамин А	19800 ед.
Кальциферол (D ₂)	2200 ед.
Биотин	0,44
Фолиевая кислота	1,98
Витамин В ₁₂	0,33
CaHPO ₄	30000
NaCl	4000
MgCl ₂	5000
ZnCO ₃	45
MnCO ₃	90
KIO ₃	1,75
CuCO ₃ · Cu(OH) ₂ · H ₂ O	12,5
Na ₂ SeO ₃	0,22
FeCl ₂ · 4H ₂ O	71,175

активных продуктов), активность ферментов антиоксидантной системы: супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза и содержание восстановленного глутатиона.

Количество эритроцитов и лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева.

Содержание гидроперекисей липидов в плазме крови определяли методом В.В. Мирончика (1984), согласно которому к 0,2 мл плазмы добавляли 2,8 мл этанола и 0,05 мл 50%-го раствора ТХУ и встряхивали в течение 5 мин. Образованный осадок отделяли центрифугированием на протяжении 10 мин

при 3000 об/мин (здесь и далее использовали центрифугу – MLW T23D (Германия), ротор угловой – РУ 8 x 90). Отбирали 1,5 мл супернатанта и к нему добавляли 1,2 мл этанола, 0,02 мл концентрированной HCl, 0,03 мл 1%-го раствора соли Мора в 3%-м растворе HCl, встряхивали и через 30 с добавляли 0,2 мл 20%-го раствора тиоцианата аммония. Абсорбцию измеряли при $\lambda = 480$ нм на спектрофотометре Cary-60 (Agilent, США). Содержание гидроперекисей липидов определяли по разнице между опытным и контрольным образцом, в который вместо плазмы добавляли соответствующее количество бидистил-

лированной воды. Концентрацию гидроперекисей липидов выражали в ΔD^{480} на 1 мл плазмы.

Концентрацию ТБК-активных продуктов в плазме крови определяли методом Е.Н. Коробейниковой (1989). Для осаждения протеинов к 1 мл плазмы добавляли 4,5 мл 20%-й фосфорновольфрамовой кислоты и пробы центрифугировали при 2500 об/мин. Надосадочную жидкость сливали, а к осадку добавляли 1,0 мл 0,8%-го раствора ТБК и выдерживали в течение 1 ч на водяной бане при температуре 100 °С. После этого пробирки охлаждали и центрифугировали при 6000 об/мин. В полученном центрифугате измеряли абсорбцию при λ 535 и 580 нм против контрольной пробы, которая вместо плазмы содержала бидистиллированную воду. Двукратное измерение абсорбции позволяет исключить поглощение окрашенных комплексов ТБК веществами нелипидной природы. Содержание ТБК-активных продуктов рассчитывали по уравнению регрессии: $C=0,21+26,5\Delta D$, где C – концентрация ТБК-активных продуктов, ΔD – показатель $D_{535}-D_{580}$ в центрифугате. Концентрацию ТБК-активных продуктов в образце выражали в нмоль малонового диальдегида на мл плазмы, используя коэффициент молярного поглощения $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$.

Активность супероксиддисмутазы (СОД, код фермента (КФ) 1.1.15.1) определяли методом Е. Е. Дубининой и др. (1983), согласно которому к 0,2 мл гемолизата добавляли 0,5 мл этанола и 0,3 мл хлороформа, интенсивно перемешивали и центрифугировали в течение 15 мин при 7000 об/мин. Затем к 0,1 мл супернатанта добавляли 0,1 мл 1мкМ раствора ЭДТА, 0,1 мл 1%-го раствора желатина, 0,1 мл 1,8 мкМ раствора феназинметасульфата, 0,1 мл 0,4 мкМ раствора нитротетразолия синего и 0,1 мл 1,0 мМ раствора NADH. Общий объем смеси доводили 0,15 М фосфатным

буфером (рН 7,8) до 3,0 мл и инкубировали при комнатной температуре в темном месте на протяжении 30 мин, после чего при $\lambda = 540$ нм измеряли абсорбцию. В контрольный образец вместо гемолизата вносили дистиллированную воду. Активность СОД выражали в условных единицах на 1 мг белка.

Активность глутатионпероксидазы (ГП, КФ 1.11.1.9) определяли по скорости окисления восстановленного глутатиона до и после инкубации с гидроперекисью третичного бутила с помощью цветной реакции с 5,5-дитиобис-2-нитробензойной кислотой, в результате чего образуется окрашенный продукт – тионитрофенильный анион (Моин, 1986). Количество последнего прямо пропорционально количеству SH-групп, которые прореагировали с 5,5-дитиобис-2-нитробензойной кислотой. 0,2 мл гемолизата инкубировали на водяной бане при 37 °С в течение 10 мин с 0,85 мл 4,8 мМ раствора восстановленного глутатиона, который готовили в 0,1 М трис-НСl буфере (рН 8,5), с содержанием 6 мМ раствора ЭДТА и 12 мМ раствора азидата натрия. Потом добавляли 0,05 мл 20 мМ раствора гидроперекиси третичного бутила и еще раз инкубировали в течение 5 мин. Реакцию останавливали добавлением 0,4 мл 10%-го раствора ТХУ, после чего осадок центрифугировали при 7000 об/мин в течение 10 мин. Затем к 0,1 мл супернатанта добавляли 5 мл 0,1 М трис-НСl буфера (рН 8,5), 0,1 мл реактива Елмана (0,01 М раствор 5,5'-дитиобис(2)-нитробензойной кислоты (ДТНБК) на метаноле), перемешивали и через 5 мин измеряли абсорбцию образца при $\lambda = 412$ нм. Активность фермента выражали в нмоль восстановленного глутатиона / мин на 1 мг белка.

Активность каталазы (КТ, КФ 1.11.1.6) определяли методом М.А. Королюк и др. (1988). Реакцию запускали добавлением 2 мл перекиси водорода к 0,1 мл гемолизата. В

холостой образец вместо гемолизата вносили 0,1 мл дистиллированной воды. Реакцию останавливали через 10 мин добавлением 1,0 мл 4%-го молибдата аммония. После центрифугирования при 3000 об/мин измеряли абсорбцию образца при $\lambda = 410$ нм против контрольного образца, в который вместо перекиси водорода добавляли 2,0 мл дистиллированной воды. Активность фермента выражали в мкмоль H_2O_2 /мин на 1 мг белка гемолизата, используя коэффициент молярного поглощения $22,2 \times 10^3 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Активность глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.6.4.2) определяли в реакционной смеси, которая содержала 2,5 мл фосфатного буфера (0,15М фосфатный буфер, pH 7,4), 0,2 мл окисленного глутатиона (7,5 мМ), 0,1 мл гемолизата, 0,1 мл NADPH (1,2 мМ). Активность фермента устанавливали по снижению содержания NADPH при 37 °С в течение 1 мин на спектрофотометре при $\lambda = 340$ нм. Активность ГР выражали в мкмоль NADPH / мин на 1 мг белка гемолизата (Прохорова, 1982).

Для определения содержания восстановленного глутатиона (ВГ) к 1 мл гемолизата добавляли 1,5 мл 0,01 М HCOOH для осаждения белков. К 0,5 мл супернатанта добавляли 2 мл 0,1 М фосфатного буфера. После 5 мин

выдерживания проб при комнатной температуре реакцию запускали добавлением 100 мкл ортофталевого альдегида. Абсорбцию проб измеряли при $\lambda = 420$ нм на спектрофотометре (Hissin et al., 1976).

Данные обрабатывали статистически, для определения достоверных отличий между средними величинами использовали критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено более высокое содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – гидроперекисей липидов и ТБК-активных продуктов в крови крыс контрольной группы, не получавших хром (0 мкг Cr/л), в сравнении с животными опытных групп, которые с питьевой водой получали раствор хлорида хрома (табл. 2).

Усиление перекисидации липидов при отсутствии в рационе животных хрома (0 мкг Cr / л), вероятно, можно объяснить ослаблением действия инсулина (Jeejeebhoy et al., 1977). Поскольку Cr(III) в составе хромодулина активирует инсулиновые мембранные рецепторы (Anderson, 1998; Yang et al., 2005; Martin et al., 2006; Chen et al., 2009), то при его

Таблица 2. Содержание продуктов перекисного окисления липидов в плазме крови крыс при действии различных концентраций хлорида хрома ($M \pm m$, $n = 10$)

Продукты ПОЛ	Группа животных		
	Контрольная, Отсутствие добавок Cr	Опытная-1, 70 мкг Cr/л воды	Опытная-2, 140 мкг Cr/л воды
Гидроперекиси липидов, $\Delta D^{480}/\text{мл}$	0,732±0,027	0,702±0,002	0,570±0,009*** ^{ooo}
ТБК-активные продукты, нмоль МДА /мл	7,69±0,07	6,13±0,11***	7,59±0,11 ^{ooo}

Примечание. Статистическая достоверность различий между показателями опытных групп животных, получавших 70 мкг Cr/ л воды и 140 мкг Cr/ л воды, в сравнении с контрольной группой: * – $P < 0,05$ ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$.
^o – Статистическая достоверность различий между показателями второй опытной группы в сравнении с первой: ^o – $P < 0,05$; ^{oo} – $P < 0,01$; ^{ooo} – $P < 0,001$

недостаточном поступлении с пищей связывание инсулина с рецепторами угнетается. Вследствие этого, вероятно, в большей степени способен проявлять свое биологическое действие антагонист инсулина – кортизол, что было установлено в наших исследованиях раньше (Искра, 2012). Кортизол, в свою очередь, усиливает процессы перекисидации липидов. Добавки хрома в рацион крыс приводят к ослаблению процессов перекисидации липидов и усилению действия инсулина (Anderson, 1998; Ravina et al., 1999; Martin et al., 2006).

Несмотря на то что эритроциты не являются инсулиночувствительными клетками, известно, что в условиях инсулиновой недостаточности нарушаются их физические, биохимические и морфофункциональные свойства, которые изменяются на стадии ретикулоцитов в кровяном русле (Бурда и др., 2002). Кроме того, известно, что инсулин стимулирует влияние на пролиферацию эритроидных колониобразующих клеток костного мозга независимо от наличия эритропоэтина. Колониобразующие клетки костного мозга имеют рецепторы к инсулину, и связывание инсулина с рецепторами этих клеток может стимулировать их метаболизм (Козлов и др., 1988).

Кроме того, следует указать, что в клетках инсулиннезависимых тканей исследователями были обнаружены рецепторы к инсулину, чему ученые не нашли объяснений (Сандуляк, 1987).

В наших исследованиях добавление к дистиллированной воде, выпаиваемой крысам, хлорида хрома в концентрации 70 мкг Сг/л сопровождалось снижением содержания ТБК-активных продуктов на 20,3 % ($P < 0,001$), а в концентрации 140 мкг Сг/л – гидроперекисей липидов на 22,1 % ($P < 0,001$) в сравнении с животными контрольной группы (табл. 2).

Была установлена разница в образовании продуктов ПОЛ в крови животных обеих опытных групп. Так, выпаивание хлорида хрома крысам в концентрации 140 мкг Сг/л в сравнении с животными, получавшими хлорид хрома в концентрации 70 мкг Сг/л воды, сопровождается уменьшением содержания гидроперекисей липидов на 18,8 % ($P < 0,001$), однако увеличением ТБК-активных продуктов на 23,8 % ($P < 0,001$).

При дефиците хрома в организме лабораторных животных исследователями было обнаружено увеличение гематологических параметров (Pechova et al., 2007). Однако в наших исследованиях в крови крыс контрольной группы не было обнаружено повышенного содержания эритроцитов, а также изменений их количества в крови животных опытных групп. Содержание лейкоцитов в крови крыс, которым в рацион добавляли хлорид хрома в концентрации 140 мкг Сг/л воды, было выше ($P < 0,05$) по сравнению с животными, которые находились на хромдефицитном рационе (табл. 3).

Большое значение в защите организма от перекисного окисления липидов в условиях отсутствия хрома в диете имеет система антиоксидантной защиты. Она не только предотвращает развитие свободнорадикальных реакций, накопление супероксид-анионов и перекисей, но и поддерживает высокую активность окислительно-восстановительных процессов (Babiak et al., 1998). Результаты проведенного эксперимента показали, что при исключении хрома из питьевой воды крыс (0 мкг Сг/л) в эритроцитах их крови наблюдалась низкая активность ферментов антиоксидантной защиты, за исключением СОД (табл. 4). Это, вероятно, можно объяснить повышением уровня кортизола, который подавляет функцию антиоксидантной системы (Orzechowski et al, 2000; Eid et al, 2003).

Таблица 3. Количество эритроцитов (Г/л) и лейкоцитов (Г/л) в крови крыс при действии различных концентраций хлорида хрома ($M \pm m$, $n = 10$)

Клетки крови	Группа животных		
	Контрольная, Отсутствие добавок Cr	Опытная-1, 70 мкг Cr/л воды	Опытная-2, 140 мкг Cr/л воды
Эритроциты	4,77±0,32	4,72±0,07	4,92±0,32
Лейкоциты	4,75±0,44	5,75±0,65	6,75±0,74*

Примечание. Обозначения как в табл. 2.

Таблица 4. Активность антиоксидантной системы в эритроцитах крыс при действии различных концентраций хлорида хрома ($M \pm m$, $n = 10$)

Показатели	Группа животных		
	Контрольная, Отсутствие добавок Cr	Опытная-1, 70 мкг Cr/л воды	Опытная-2, 140 мкг Cr/л воды
Супероксиддисмутазы, усл. ед. /мг белка	14,11±0,11	8,67±0,26***	5,36±0,21*** ^{ooo}
Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ / мин · мг белка	6,45±0,32	8,17±0,64*	9,43±0,03***
Глутатионпероксидаза, нмоль восст. глутатиона /мин · мг белка	65,90±1,43	74,08±2,04**	79,71±1,51*** ^o
Глутатионредуктаза, мкмоль NADPH /мин · мг белка	0,95±0,04	1,22±0,14	1,08±0,09
Восстановленный глутатион, мкмоль/л	0,10±0,01	0,14±0,03	0,12±0,01

Примечание. Обозначения как в табл. 2.

При добавлении в питьевую воду крыс хрома в концентрации 70 мкг Cr/л активность СОД в эритроцитах крови уменьшалась на 38,6 % ($P < 0,001$), а активность КТ и ГП увеличивалась соответственно на 26,7 % ($P < 0,05$) и 12,4 % ($P < 0,01$) в сравнении с активностью в эритроцитах крови животных, не получавших добавки исследуемого микроэлемента (табл. 4). В гемолизатах крови крыс первой опытной группы наблюдали тенденцию к увеличению активности ГР и содержания ВГ в сравнении с животными контрольной группы.

При добавлении в рацион крыс хлорида хрома в концентрации 140 мкг Cr/л воды ак-

тивность СОД в эритроцитах крови уменьшалась на 62,0 % ($P < 0,001$), а активность КТ и ГП увеличивалась соответственно на 46,2 % ($P < 0,001$) и 21,0 % ($P < 0,001$) в сравнении с животными, не получавшими добавок исследуемого микроэлемента.

Наряду с этим наблюдали меньшую на 38,2 % ($P < 0,001$) активность СОД в эритроцитах крыс, получавших хром в концентрации 140 мкг Cr/л воды, по отношению к животным, которым выпаивали раствор хлорида хрома в концентрации 70 мкг Cr/л воды. Следует указать на большую на 7,6 % ($P < 0,05$) активность ГП в эритроцитах крыс второй опытной группы в сравнении с активностью

фермента в гемолизатах животных первой опытной группы (табл. 4).

Снижение активности СОД в гемолизатах крови крыс при действии хрома, вероятно, связано с уменьшением количества накопленных в крови интермедиатов ПОЛ, от которых она зависит. СОД относится к ферментам, которые обрывают цепь кислородозависимых свободнорадикальных реакций в клетках аэробных организмов (Поберезкина и др., 1989).

Рост активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах – КТ, ГП и ГР при действии хрома в концентрации 70 и 140 мкг Ст/л, вероятно, обусловлен его регуляторным влиянием на экспрессию генов этих ферментов в ретикулоцитах и эритроидных клетках костного мозга (Chen et al., 2009; Lau et al., 2008).

Увеличение концентрации ВГ в крови крыс при действии хрома, безусловно, положительный эффект. Как известно, ВГ является донором атомов водорода, которые в дальнейшем используются для нужд ферментативного звена антиоксидантной защиты (Harvey et al., 2009). Повышение содержания ВГ в эритроцитах исследуемых животных, которым выпаивали хлорид хрома, под-

тверждается данными других авторов, которые установили, что добавки хлорида хрома (250 мкг / кг массы тела) повышают его содержание в легких крыс с гиперлипидемией (Atac et al., 2006). Повышение содержания глутатиона при действии хрома, возможно, происходит за счет активации синтеза витамина С из L-гулонолактона в печени крыс, который, в свою очередь, защищает ВГ от разрушения его H₂O₂ (Sahin et al., 2003). Также это может быть связано с тем, что хлорид хрома обладает противовоспалительными свойствами, поскольку ингибирует секрецию фактора некроза опухолей- α , который угнетает синтез глутатиона (Vincent, 2007).

Заключение

Установлено, что при отсутствии хрома в рационе у крыс усиливаются процессы перекисидации липидов и ослабляется ферментативное звено антиоксидантной защиты. Это свидетельствует о незаменимости хрома в питании животных, подчеркивает его особую биологическую роль, которая заключается в замедлении процессов перекисидации липидов и усилении антиоксидантной защиты в их организме.

Научная работа финансируется из государственного бюджета Украины.

Список литературы

1. Бурда В., Биронт Н., Сибирная Н., Клевета Г. (2002) Исследование функционального состояния эритрона в условиях экспериментального стрептозотоцинового диабета. Вестник Львов. универ. Серия биологическая 28: 21–27.
2. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.Я., Ефимова Л.Ф. (1983) Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека. Лаб. дело 10: 30–33.
3. Искра Р.Я. (2012) Иммунный и гормональный профиль организма при влиянии соединений хрома (III). Материалы международной научно-практической конференции «Физиологические механизмы адаптации человека», г. Тюмень, 23 октября 2012 г.: 135–138.
4. Козлов Ю.А., Лаврова В.С. (1988) Система крови при сахарном диабете. Успехи совр. биол. 105 (3): 505–519.

5. Коробейникова Э.Н. (1989) Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК. Лаб. дело 7: 8–9.
6. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. (1988) Метод определения активности каталазы. Лаб. дело 1:16–18.
7. Мирончик В.В. (1984) Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях. Авторское свидетельство СССР № 1084681, МКИ G № 33/48, № 3468369/2813, Бюл. 13.
8. Моин В.М. (1986) Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. Лаб. дело 12: 724–727.
9. Поберезкина Н.Б., Осинская Л.Ф. (1989) Биологическая роль супероксиддисмутазы. Укр. биохим. журн. 61: 14–27.
10. Прохорова М.И. (1982) Методы биохимических исследований. Изд-во Ленингр. ун.-та, 272 с.
11. Сандуляк Л.И. (1987) Свойство эритроцитов депонировать и транспортировать инсулин. Усп. сов. биол. 103 (2): 207–216.
12. Anderson R.A. (1998) Chromium, glucose intolerance and diabetes. *Journal of the American College of Nutrition* 17: 548–555.
13. Atac I.A.; Peksel A., Yanardag R. (2006) The effect of combined treatment with niacin and chromium (III) chloride on the different tissues of hyperlipemic rats. *Drug and chemical toxicology* 29: 363–377.
14. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2000). Toxicological profile for chromium. Department of Health and Human Services, US, 592 p.
15. Babiak R.M.V., Campello A.P., Carnieri E.G.S. (1998) Methotrexate: pentose cycle and oxidative stress. *Cell Biochem Funct.* 16: 283-293.
16. Cheng H.H., Lai M.H., Hou W.C., Huang C.L. (2004) Antioxidant effects of chromium supplementation with type 2 diabetes mellitus and euglycemic subjects. *J. Agric. Food Chem.* 52: 1385–1389.
17. Chen W.Y., Chen C.J., Liao J.W., Mao F.C. (2009) Chromium attenuates hepatic damage in a rat model of chronic cholestasis. *Life Sciences* 84.(17-18): 606-14.
18. Deshmukh N.S., Bagchi M., Lau F.C., Bagchi D. (2009) Safety of an oxygen-coordinated niacin-bound chromium(III) complex (NBC): II. Developmental toxicity study in rats. *Journal of Inorganic Biochemistry* 103: 1755–1760.
19. Eid Y.Z., Ohtsuka A., Hayashi K. (2003) Tea polyphenols reduce glucocorticoid-induced growth inhibition and oxidative stress in broiler chickens. *British Poultry Science* 44(1): 127–132.
20. Lau F.C., Bagchi M., Sen C.K., Bagchi D. (2008) Nutrigenomic basis of beneficial effects of chromium(III) on obesity and diabetes. *Mol Cell Biochem.* 317:1–10.
21. Genestra M. (2007) Oxy-radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellul Signal* 19: 1807–1819.
22. Harvey C.J., Thimmulappa R.K., Singh A., Blake D.J., Ling G., Wakabayashi N., Fujii J., Myers A., Biswal S. (2009) Nrf2-regulated glutathione recycling independent of biosynthesis is critical for cell survival during oxidative stress. *Free Rad Biol Med.* 46: 443–453.
23. Hissin P.J., Hilf R.A. (1976) A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Analytical Biochem.* 74: 214–226.

24. Jain, S.K., Kannan, K. (2001) Chromium chloride inhibits oxidative stress and TNF-alpha secretion caused by exposure to high glucose in cultured U937 monocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 289: 687-691.
25. Jeejeebhoy K.N., Chu R.C., Marliss E.B., Greenberg G.R., Bruce-Robertson A. (1977) Chromium deficiency, glucose intolerance, and neuropathy reversed by chromium supplementation in a patient receiving long-term total parenteral nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* 30: 531-538.
26. Korkina L., Pastore S. (2009) The role of redox regulation in the normal physiology and inflammatory diseases of skin. *Front Biosci* 1:123-1414.
27. Kovács P., Juránek I., Stankovičová T., Švec P. (1996) Lipid peroxidation during acute stress. *Pharmazie* 51: 51-53.
28. Leonard S.S., Harris G.K., Shi X. (2004) Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Rad. Biol. Med.* 37: 1921-1942.
29. Martin J., Wang Z. Q., Zhang X. H., Wachtel D., Volaufova J., Matthews D. E. (2006) Chromium picolinate supplementation attenuates body weight gain and increases insulin sensitivity in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 29: 1826-1832.
30. Mates J.M., Segura J.A., Alonso F.J., Marquez J. (2008) Intracellular redox status and oxidative stress: implications for cell proliferative, apoptosis, and carcinogenesis. *Arch. Toxicol.* 82: 273-299.
31. Mertz W. (1993) Chromium in human nutrition: a review. *The Journal of Nutrition* 123: 626-633.
32. National Research Council (1995) Nutrient requirements of laboratory animals. National Academy Press, Washington, D.C., 192 p.
33. Orzechowski A., Ostaszewski P., Brodnicka A., Wilczak J., Jank M., Balasińska B., Grzelkowska K., Ploszaj T., Olczak J., Mrówczyńska A. (2000) Excess of glucocorticoids impairs whole-body antioxidant status in young rats. Relation to the effect of dexamethasone in soleus muscle and spleen. *Hormone and Metabolic Research* 32(5): 174-180.
34. Ott M., Gogvadze V., Orrenius S., Zhivotovsky B. (2007) Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis* 12: 913-922.
35. Pechova A., Pavlata L. (2007) Chromium as an essential nutrient: a review. *Veterinarni Medicina* 52: 1-18.
36. Ravina A., Slezak L., Mirsky N., Bryden N. A., Anderson R. A. (1999) Reversal of corticosteroid-induced diabetes mellitus with supplemental chromium. *Diabetic Medicine* 16: 164-167.
37. Sahin K., Sahin N., Kucuka O. (2003) Effects of chromium and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites and antioxidant status of broiler chickens reared at a high ambient temperature. *Nutr. Res.* 23: 225-238.
38. Striffler J.S., Law J.S., Polansky M.M., Bhatena S.J., Anderson R.A. (1995) Chromium improves insulin response to glucose in rats. *Metabolism* 44: 1314-1320.
39. Valko M., Leibfritz D., Mongol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 39: 44-84.
40. Vincent J. B. (2007) *The Nutritional Biochemistry of Chromium (III)*. Department of Chemistry The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 277 p.

41. Yang X., Palanichamy K., Ontko A. C., Rao M. N. A., Fang C. X., Ren J. (2005). A newly synthetic chromium complex–chromium(phenylalanine)₃–improves insulin responsiveness and reduces whole body glucose tolerance. FEBS Letters 579: 1458–1464.

The Effect of Different Levels of Chromium Chloride Supplementation on Antioxidant Defense System in the Rats

Ruslana Ja. Iskra

*Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stus Str., Lvov, 79034 Ukraine*

The study was conducted to evaluate the effect of different amounts (0, 70, 140 µg Cr/L of drinking water) of chromium chloride (CrCl₃ · 6H₂O) on the antioxidant system performance in rats. As a result, a higher content of lipid peroxidation products was established in blood of the tested rats that received no chromium (0 µg Cr/L) compared with animals which obtained chromium chloride solution in their ration. Chromium chloride taken by rats at a dose of 70 µg Cr/L decreased the content of thiobarbituric acid-reactive substances by 20.3 %, whereas the dose of 140 µg Cr/L decreased concentrations of hydroperoxides of lipids by 22.1 % compared with animals that received no chromium. Adding of chromium to drinking water at a dose of 70 and 140 µg Cr/L decreased activity of superoxide dismutase in erythrocytes of blood by 38.6 % and 62.0 %, while catalase activity increased by 26.7 % and 46.2 % and glutathione peroxidase by 12.4 % and 21.0 % respectively in comparison with animals of control group. Concluded, supplying of rat's organism with chromium in doses 70 and 140 µg Cr/L of drinking water promotes inhibition of lipid peroxidation and enhancing of enzymatic antioxidant level.

Keywords: chromium, lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, rats.
