

УДК: 577.118:598.278

## Гематологічні та імунологічні показники організму щурів за дії хром хлориду та хром цитрату Р.Я.Іскра

*Інститут біології тварин НААН (Львів, Україна)  
iskra\_r@ukr.net*

Досліджували вплив хром хлориду в кількості 200 мкг Cr/л води та хром цитрату в кількості 50 мкг Cr/л на деякі гематологічні показники та стан неспецифічного і специфічного імунітету в організмі щурів. Встановлено, що за дії хром хлориду підвищуються показники неспецифічної резистентності організму щурів. У той же час хром цитрат виявляє імуностимулюючий ефект на неспецифічну та специфічну резистентність організму тварин.

**Ключові слова:** *щури, хром хлорид, хром цитрат, імунологічна резистентність.*

## Гематологические и иммунологические показатели организма крыс при действии хром хлорида и хром цитрата Р.Я.Искра

Исследовали влияние хром хлорида в количестве 200 мкг Cr/л воды и хром цитрата в количестве 50 мкг Cr/л на некоторые гематологические показатели и состояние неспецифического и специфического иммунитета в организме крыс. Установлено, что при действии хром хлорида повышаются показатели неспецифической резистентности организма крыс. В то же время хром цитрат оказывает иммуностимулирующее действие на неспецифическую и специфическую резистентность организма животных.

**Ключевые слова:** *крысы, хром хлорид, хром цитрат, иммунологическая резистентность.*

## Hematology and immunological parameters of rats at action of chromium chloride and chromium citrate R.Ya.Iskra

The influence of chromium chloride in dose of 200 mg Cr/l of water and chromium citrate of 50 mg Cr/l on some blood parameters and the state of nonspecific and specific immunity in the body of rats has been studied. It has been determined that action of chromium chloride increases indices of nonspecific resistance of rats. At the same time, chromium citrate shows immunostimulating effect on nonspecific and specific resistance of animals.

**Key words:** *rats, chromium chloride, chromium citrate, immunological resistance.*

### Вступ

Хром (III) – є одним із незамінних мікроелементів, які відіграють важливу роль у підтримці нормального рівня глюкози в крові, зниженні рівня холестеролу в плазмі, інгібуванні розвитку оксидативного стресу та секреції запальних цитокінів (Jain et al., 2007). Крім цього, це один із мікроелементів, які впливають на функціональний стан клітинного і гуморального імунітету та підвищують резистентність організму (Vincent, 2007). На імунну функцію хром (Cr) впливає разом з інсуліном або кортизолом, але це відбувається лише за опосередкованої дії цитокінів (Borgs, Mallard, 1998). Дослідженнями деяких авторів (Терпіловська, Siwicki, 2010) було встановлено, що хром хлорид, в кількості 1 і 10 мг/кг маси тіла, знижував рівень інтерлейкіну-1 $\alpha$  в плазмі крові мишей та підвищував резистентність їх організму. Метою наших досліджень було з'ясувати вплив неорганічної та органічної сполук хрому на деякі гематологічні та імунологічні показники крові щурів.

### Методика

Для проведення досліджень було підібрано три групи білих лабораторних щурів, самців лінії Вістар, які перебували у віварії за відповідних умов освітлення, температурного режиму та стандартного раціону. Щури дослідних груп, на відміну від контрольної, отримували з питною водою

хром хлорид ( $\text{CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ) в кількості 200 мкг Cr (III)/л (Дослідна-1) та хром цитрат ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CrO}_7$ ) в кількості 50 мкг Cr (III)/л (Дослідна-2). Матеріалом для дослідження була кров щурів, яку отримували після їх декапітації. У крові визначали кількість еритроцитів, лейкоцитів, лейкограму, вміст гемоглобіну, циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), НСТ-тест, комплементарну (КАСК), бактерицидну (БАСК) та лізоцимну активність сироватки крові (ЛАСК), відносний вміст субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів та фракційний склад білків плазми крові щурів за загальноприйнятими методиками (Влізло та ін., 2004). Одержані цифрові дані статистично обраховували за допомогою програми Microsoft Excel. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

### Результати та обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено (табл. 1) зростання кількості еритроцитів та лейкоцитів у крові тварин за дії хром хлориду, відповідно, на 19,1% ( $p < 0,01$ ) і 36,9% ( $p < 0,05$ ) та за дії хром цитрату – на 20,5% ( $p < 0,01$ ) і 62,9% ( $p < 0,001$ ). Зростання кількості клітин крові свідчить про активацію еритро- і лейкоцитопоезу за дії сполук хрому.

У той же час у крові тварин другої дослідної групи на тлі зростання кількості еритроцитів відбувається незначне зниження вмісту гемоглобіну на 7,6% ( $p < 0,05$ ). Це може свідчити про пригнічення його синтезу через недостатню кількість заліза, що може призвести до зменшення кисневої ємності крові. Слід вказати, що в силу подібності між Cr (III) і Fe (III) з точки зору електричного заряду та розміру іонів хром конкурує з залізом за сайти зв'язування з трансферином. Відомо, що високі дози добавок хрому можуть негативно впливати на метаболізм заліза в організмі (Campbell et al., 1997). Крім цього, іншими дослідниками було виявлено, що насичення трансферину знижувалося більше за дії хром піколінату (на 24%), ніж за дії хром хлориду (на 10%) (Lukaski et al., 1996).

Таблиця 1.

Кількість еритроцитів, лейкоцитів та вміст гемоглобіну в крові щурів ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Група тварин	Еритроцити, Т/л	Лейкоцити, Г/л	Гемоглобін, г/л
Контрольна	4,87±0,14	4,50±0,06	154,72±1,29
Дослідна-1	5,80±0,21**	6,16±0,62*	154,22±9,72
Дослідна-2	5,87±0,25**	7,33±0,17***	142,94±4,53*

Примітка: у цій і наступній таблицях вірогідні різниці показників дослідної групи порівняно до контрольної: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ .

При дослідженні лейкограми крові щурів виявлено збільшення на 21,4% ( $p < 0,01$ ) кількості лімфоцитів в першій дослідній групі і на 22,8% ( $p < 0,001$ ) – у другій та вірогідне зменшення кількості нейтрофілів ( $p < 0,001$ ) у цих групах, що свідчить про стимулюючий вплив хрому на стан специфічного імунітету в організмі щурів (табл. 2).

Таблиця 2.

Лейкограма крові щурів за дії хром хлориду та хром цитрату ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Група	Лімфоцити	Базофіли	Еозинофіли	Моноцити	Нейтрофіли		
					юні	паличкоядерні	сегментоядерні
К	57,5±1,4	1,0±0,01	2,6±0,5	1,0±0,01	0	1,25±0,3	38,8±1,4
Д-1	69,8±2,7**	1,0±0,01	3,3±1,0	1,0±0,01	0	1,5±0,5	26,0±1,5***
Д-2	70,6±0,8***	1,5±0,5	2,5±0,4	1,5±0,5	0	1,33±0,3	25,2±0,8***

Систему неспецифічної резистентності тварин дослідних груп характеризує висока інтенсивність «кисневого вибуху», що відбувається всередині фагоцитуючих клітин, яку оцінювали за НСТ-тестом. Функціональна активність нейтрофілів, яка визначається ступенем активації

внутрішньоклітинної НАДФН-оксидазної системи, у тварин другої дослідної групи підвищується на 14,8% ( $p < 0,05$ , табл. 3).

Особливої уваги заслуговує зміна системи комплементарної активності сироватки крові, оскільки компоненти комплементу взаємодіють з багатьма факторами імунної системи, специфічними і неспецифічними механізмами захисту. Встановлено, що КАСК підвищується на 32,5% ( $p < 0,05$ ) у крові тварин першої та другої дослідних груп, що свідчить про посилення механізмів неспецифічного захисту організму за дії сполук хрому.

Таблиця 3.

Показники неспецифічної резистентності крові щурів ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Показник	Група тварин		
	контрольна	дослідна-1	дослідна-2
НСТ-тест, %	9,00±0,38	9,67±0,88	10,33±0,33*
КАСК, у.о.	0,043±0,003	0,057±0,003*	0,057±0,003*
БАСК, %	36,80±3,11	57,64±4,05**	58,8±3,97**
ЛАСК, %	28,12±1,26	34,32±1,45*	36,40±2,56*
ЦІК, ммоль/л	89,66±5,77	86,66±6,67	66,0±1,00**

Як інтегральні показники неспецифічної резистентності організму гуморального типу виступають фактори бактерицидної та лізоцимної активності сироватки крові. Так, БАСК підвищується на 56,6% ( $p < 0,01$ ) у тварин першої дослідної групи та на 59,8% ( $p < 0,01$ ) – у другої. Активність лізоциму, який є складовою частиною бактерицидної системи крові, також підвищується на 22,0% ( $p < 0,05$ ) – у першій і на 29,4% ( $p < 0,05$ ) – у другій дослідній групі (табл. 3).

Одним із основних показників неспецифічного імунологічного захисту організму та розвитку автоімунних процесів є рівень ЦІК у крові (Парахонский, 2006). Встановлене нами зниження вмісту ЦІК у сироватці крові щурів другої дослідної групи (на 26,4%,  $p < 0,01$ ) вказує на швидку їх елімінацію в організмі тварин за дії хром цитрату.

Відомо, що кількість Т- і В-лімфоцитів, як провідних імунокомпетентних клітин крові, характеризує рівень захисту організму тварин і стан його специфічного імунітету (Пінчук, Плецкий, 2007). Встановлено, що за введення до раціону щурів хром хлориду в їх крові спостерігається тенденція до підвищення відносної кількості Т-загальних лімфоцитів (табл. 4). У той час за дії хром цитрату відносна кількість Т-загальних лімфоцитів в крові щурів вірогідно зростає на 22,2% ( $p < 0,05$ ), що відбувається за рахунок кількості низько- і середньоавідних форм лімфоцитів ( $p < 0,05$ ). Кількість Т-активних лімфоцитів в крові щурів другої дослідної групи зростає на 155,0% ( $p < 0,001$ ), що відбувається за рахунок лімфоцитів із низькою ( $p < 0,01$ ) та середньою ( $p < 0,01$ ) щільністю рецепторів на їх мембранах. Відносна кількість Т-хелперів у першій дослідній групі зростає незначно, а в другій – вірогідно на 43,8% ( $p < 0,05$ ) стосовно контролю. Слід вказати, що за дії хром цитрату зростає кількість низько-, середньо- і високоавідних форм Т-лімфоцитів-хелперів ( $p < 0,05$ ). У той час кількість Т-супресорів в крові тварин другої дослідної групи знижується на 68,0% ( $p < 0,01$ ) відносно контролю (табл. 4). Імунорегуляторний індекс (ІРІ), який трактується як співвідношення лімфоцитів із хелперною та супресорною активністю, дещо зростає у тварин першої та вірогідно ( $p < 0,01$ ) у тварин другої дослідних груп. Високий рівень імунорегуляторного індексу за дії хром цитрату свідчить про гіперактивність імунної системи організму щурів.

Гуморальну ланку імунітету характеризує рівень В-лімфоцитів у різні фази дозрівання. Зростання кількості В-лімфоцитів у тварин другої дослідної групи на 16,6% ( $p < 0,05$ ), очевидно, відбувається за впливу Т-лімфоцитів-хелперів, які, як відомо, стимулюють лімфоцитопоез і диференціацію В-лімфоцитів. Оскільки В-лімфоцити є попередниками клітин, які продукують антитіла, то збільшення їх кількості є ознакою підвищеної здатності організму до активного синтезу захисних антитіл.

Таблиця 4.

Кількість Т- і В-лімфоцитів у крові щурів (M±m, n=5)

Лімфоцити	Кількість рецепторів	Група тварин		
		контрольна	дослідна-1	дослідна-2
Т-загальні	0–3	66,70±2,40	64,67±2,43	59,67±1,80*
	3–5	28,0±1,15	30,67±1,85	31,67±0,88*
	6–10	5,30±0,76	4,67±0,30	8,67±1,03*
	%	<b>33,0±2,00</b>	<b>35,20±2,42</b>	<b>40,33±2,40*</b>
Т-активні	0–3	96,67±0,80	97,0±1,15	90,30±0,80***
	3–5	3,20±0,80	3,0±1,15	8,67±0,80**
	6–10	1,0±0,20	1,0±0,50	2,20±0,20**
	%	<b>4,0±0,80</b>	<b>4,0±1,15</b>	<b>10,20±0,80***</b>
Т-хелпери	0–3	83,33±0,88	87,67±1,45	70,67±2,18***
	3–5	12,67±0,88	14,0±1,0	16,0±0,58*
	6–10	3,33±0,80	4,33±0,67	6,33±0,67*
	M	-	-	2,0±0,01
	%	<b>16,0±0,58</b>	<b>18,33±1,45</b>	<b>23,0±1,0***</b>
Т-супресори	%	<b>16,67±2,03</b>	<b>16,0±1,08</b>	<b>5,33±1,38**</b>
IPI		0,99±0,10	1,15±0,25	4,31±0,75**
В-лімфоцити	0–3	60,30±3,60	59,67±1,45	53,0±3,51
	3–5	30,0±2,38	32,67±2,30	37,33±1,76*
	6–10	9,30±1,70	8,30±1,38	9,0±1,53
	M	1,0±0,01	1,34±0,30	1,5±0,50
	%	<b>40,30±2,11</b>	<b>42,40±1,45</b>	<b>47,0±1,51*</b>

Крім цього, важливим показником метаболічних змін, які відбуваються в організмі, є фракційний склад білків плазми крові щурів. Виявлене нами вірогідне зростання кількості альбумінів ( $p < 0,01 - 0,001$ ) і  $\beta$ -глобулінів ( $p < 0,001$ ) в обох дослідних групах, очевидно, є позитивним ефектом, оскільки перші приймають істотну роль у підтримці колоїдно-осмотичного тиску в крові та служать для організму важливим резервом амінокислот, а другі – зв'язують залізо, холестерол і вітаміни А, D і К. Однак особливо важливу роль має зростання кількості  $\gamma$ -глобулінів (або імуноглобулінів) у плазмі крові щурів першої (на 30,1%,  $p < 0,001$ ) і другої (57,2%,  $p < 0,001$ ) дослідних груп (табл. 5), що свідчить про підвищення імунологічної реактивності організму за дії сполук хрому та активацію специфічного гуморального імунітету тварин.

Таблиця 5.

Фракційний склад білків плазми крові щурів за дії хром хлориду і хром цитрату (M±m, n=5)

Група тварин	Альбуміни, г/л	$\alpha$ -Глобуліни, г/л	$\beta$ -Глобуліни, г/л	$\gamma$ -Глобуліни, г/л
Контрольна	30,18±0,48	14,62±0,43	11,61±0,34	5,35±0,20
Дослідна-1	32,31±0,34**	13,86±0,15	14,47±0,15***	6,96±0,07***
Дослідна-2	37,21±0,77***	15,18±0,32	17,05±0,36***	8,41±0,18***

### Висновки

1. Додавання до питної води щурів хром хлориду та хром цитрату приводить до збільшення у їх крові кількості еритроцитів ( $p < 0,01$ ), лейкоцитів ( $p < 0,05-0,001$ ), підвищення показників неспецифічної резистентності організму та збільшення кількості  $\gamma$ -глобулінів ( $p < 0,001$ ).
2. За дії хром цитрату відносна кількість Т- і В-лімфоцитів в крові щурів зростає ( $p < 0,05$ ), що свідчить про посилення специфічного імунітету та підвищену здатність організму до активного синтезу захисних антитіл.

### Список літератури

- Влізло В.В., Федорук Р.С., Макар І.А. та ін. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Довідник. – Львів: «ВМС», 2004. – 399с. /Vlizlo V.V., Fedoruk R.S., Makar I.A. ta in. Fiziologo-biokhimichni metody doslidzhen' u biologii, tvarynnyctvi ta veterinaryarniy medytsyni. Dovidnyk. – L'viv: «VMS», 2004. – 399s./
- Парахонский А.П. Циркулирующие иммунные комплексы на поздних стадиях сахарного диабета // Современные наукоемкие технологии. – 2006. – №1. – С. 79. /Parakhonskiy A.P. Tsirkuliruyushchiye immunnyye komplekxy na pozdnykh stadiyakh sakharnogo diabeta // Sovremennyye naukoemykiye tekhnologii. – 2006. – №1. – S. 79–89./
- Пінчук А.П., Плецький А.М. Роль та місце препаратів пропес та інфламафертин у лікуванні фурункульозу // Медицина сьогодні. – 2007. – №19 (227). – С. 24–25. /Pinchuk A.P., Plets'kiy A.M. Rol' ta mistse preparativ propes ta inflamafertin u likuvanni furunkulyozu // Medytsyna segodnya. – 2007. – №19 (227). – S. 24–25./
- Borgs P., Mallard B.A. Immune-endocrine interactions in agricultural species: Chromium and its effect on health and performance // Domestic Animal Endocrinology. – 1998. – Vol.15. – P. 431–438.
- Campbell W.W., Beard J.L., Joseph L.J. et al. Chromium picolinate supplementation and resistive training by older men: effects on iron-status and hematologic indexes // Am. J. Clin. Nutr. – 1997. – Vol.66 (4). – P. 944–949.
- Lukaski H.C., Bolonchuk W.W., Siders W.A. et al. Chromium supplementation and resistance training: effects on body composition' strength' and trace element status of men // Am. J. Clin. Nutr. – 1996. – Vol.63 (6). – P. 954–965.
- Jain S.K., Rains J.L., Croad J.L. High glucose and ketosis (acetoacetate) increases, and chromium niacinate decreases, IL-6, IL-8, and MCP-1 secretion and oxidative stress in U937 моноцитів // Antioxid. Redox Signal. – 2007. – Vol.9. – P. 1581–1590.
- Terpiłowska S., Siwicki K.A. The influence of chromium on cell-mediated and humoral-mediated immunity in mice // Centr. Eur. J. Immunol. – 2010. – Vol.35 (1). – P. 10–13.
- Vincent J.B. The nutritional biochemistry of chromium (III). – The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 2007. – 277p.

---

Представлено: В.В.Манько / Presented by: V.V.Man'ko  
Рецензент: В.А.Бондаренко / Reviewer: V.A.Bondarenko  
Подано до редакції / Received: 25.07.2012