

УДК: [577.127.3+577.122.34+576.385]:57.044:546.48

Вплив низьких доз хлориду кадмію на стійкість еритроцитів до лізису та прооксидантно-антиоксидантний статус крові щурів

Т.В.Бараннік, І.В.Нікітченко, А.С.Акопян, Л.С.Кієнко, І.В.Боцула, А.І.Ткаченко

*Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна (Харків, Україна)
tbarannik@karazin.ua*

Хлорид кадмію при однократному введенні щурам зондом у дозі 0,6 мг/кг маси тіла через 24 год викликав зниження резистентності еритроцитів до гіпотонічного та залізо-індукованого лізису, що супроводжувалось зниженням каталазної та аргіназної активності в еритроцитах та накопиченням білірубину у сироватці крові. При введенні CdCl₂ в дозі 1 мкг/кг/добу протягом 29 днів спостерігалось підвищення вмісту відновленого глутатіону в еритроцитах і збереження їх осмотичної резистентності на рівні контролю. Вміст продуктів гемолізу в сироватці крові та ТБК-реагуючих продуктів в еритроцитах знижувався при введенні CdCl₂ у дозі 0,6 мг/кг, в тому числі на фоні хронічного введення CdCl₂ в дозі 1 мкг/кг/добу. Змін гемоксигеназної активності у печінці та селезінці, а також вмісту ТБК-реагуючих продуктів і сечовини у сироватці крові при введенні хлориду кадмію не виявлено.

Ключові слова: *хлорид кадмію, гемоліз, еритроцити, відновлений глутатіон, гемоксигеназа, аргіназа, білірубін.*

The effect of low-dose cadmium chloride on erythrocyte resistance to lysis and prooxidant-antioxidant status of blood and spleen of rats

T.V.Barannik, I.V.Nikitchenko, A.S.Akopyan, L.S.Kienko, I.V.Botzula, A.I.Tkachenko

Cadmium chloride at a single administration to rats in a dose of 0.6 mg/kg of body weight caused a decrease in erythrocyte resistance to hypotonic and iron-induced lysis, which was accompanied by a decrease of the catalase and arginase activity in erythrocytes and the accumulation of bilirubin in serum. CdCl₂ treatment in a dose of 1 mcg/kg/day during 29 days resulted in an increase of reduced glutathione content in erythrocytes and maintenance of their osmotic resistance at the control level. The concentration of hemolysis products in blood serum and TBARS in erythrocytes decreased under CdCl₂ action in a dose of 0.6 mg/kg, including chronic treatment by CdCl₂ in a dose of 1 mcg/kg/day. No changes of heme oxygenase activity in liver and spleen as well as concentration of TBARS and urea in blood serum were revealed under cadmium chloride action.

Key words: *cadmium chloride, hemolysis, erythrocytes, reduced glutathione, heme oxygenase, arginase, bilirubin.*

Влияние низких доз хлорида кадмия на устойчивость эритроцитов к лизису и прооксидантно-антиоксидантный статус крови крыс

Т.В.Бараннік, І.В.Нікітченко, А.С.Акопян, Л.С.Кієнко, І.В.Боцула, А.І.Ткаченко

Хлорид кадмія при однократному введенні крысам зондом в дозі 0,6 мг/кг маси тіла викликав зниження резистентності еритроцитів до гіпотонічного та залізо-індукованого лізису, що супроводжувалось зниженням каталазної та аргіназної активності в еритроцитах і накопиченням білірубину в сироватці крові. При введенні CdCl₂ в дозі 1 мкг/кг/сутки в течение 29 днів спостерігалось підвищення вмісту відновленого глутатіону в еритроцитах і збереження їх осмотичної резистентності на рівні контролю. Вміст продуктів гемолізу в сироватці крові та ТБК-реагуючих продуктів в еритроцитах знижувався при введенні CdCl₂ в дозі 0,6 мг/кг, в тому числі на фоні хронічного введення CdCl₂ в дозі 1 мкг/кг/сутки. Змін гемоксигеназної активності в печінці та селезінці, а також вмісту ТБК-реагуючих продуктів і сечовини в сироватці крові при введенні хлориду кадмія не виявлено.

Ключевые слова: *хлорид кадмія, гемоліз, еритроцити, відновлений глутатіон, гемоксигеназа, аргіназа, білірубін.*

Вступ

Кадмій використовується у різних галузях промисловості та є широко розповсюдженим важким металом. Відомо, що іони кадмію при надходженні у великих дозах до організму ссавців проявляють

токсичність і викликають окислювальні модифікації біомолекул, анемію, апоптоз та трансформацію клітин (Casalino et al., 2002; Hamada et al., 1998; Sopjani et al., 2008). В досліджах на гризунах показано, що при дозі CdCl₂ 1,5 мг/кг і вище, незалежно від способу введення, значна доля Cd²⁺ надходить у кров (Swiergosz-Kowalewska, 2001), викликаючи пошкодження еритроцитів (Dwivedi et al., 2012). Продукти гемолізу – гем та іони заліза – розглядаються як самостійні фактори розвитку оксидативного стресу (Woollard et al., 2009).

Відомо, що токсичні ефекти важких металів є дозозалежними, але вплив низьких доз іонів кадмію, а також вплив значно більшої дози кадмію, на фоні хронічної дії низьких доз цього металу, на розвиток гемолізу і обмін гему практично не висвітлені у літературі. З урахуванням даних щодо шляхів транспорту іонів кадмію, продуктів гемолізу та пошкоджених еритроцитів, метою роботи було дослідження показників антиоксидантно-прооксидантного статусу крові, активності ключового ферменту деградації гему у печінці та селезінці, а також резистентності еритроцитів щурів при введенні CdCl₂ у низьких дозах.

Об'єкти та методи дослідження

Дослідження проводили на самцях щурів лінії Вістар масою 160–200 г, які знаходились на стандартному раціоні віварію. Розчин CdCl₂ вводили перорально з питною водою за допомогою зонду. Тварин розділили методом випадкового відбору на 4 групи: (1) контроль (кожну добу протягом 29 діб тваринам вводили питну воду); (2) хронічна дія низької дози CdCl₂ (вводили CdCl₂ у дозі 1 мкг/кг маси тіла/добу протягом 29 діб); (3) одноразове введення CdCl₂ у дозі 0,6 мг/кг маси тіла; (4) введення CdCl₂ у дозі 0,6 мг/кг на фоні хронічної дії низької дози CdCl₂ (одноразово вводили CdCl₂ в дозі 0,6 мг/кг після 28 діб введення CdCl₂ у дозі 1 мкг/кг маси тіла). Тварин декапітували через 24 год після введення останньої дози хлориду кадмію (або води). Експерименти проведені з дотриманням Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986, Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 і наказ МОЗ України №690 від 23.09.2009). Об'єктами дослідження були сироватка крові, еритроцити, гомогенати печінки та селезінки. Печінку та селезінку перфузували охолодженим 0,9% розчином NaCl *in situ*. Гомогенати печінки та селезінки готували на 0,1 М К,Na-фосфатному буфері (pH 7,45). Для отримання сироватки використовували 2 мл крові, решту – на виділення еритроцитів, які тричі відмивали охолодженим ізотонічним буфером на основі 0,01 М трис-HCl (pH 7,4). Рівень гемолізу при відмиванні еритроцитів контролювали через вимірювання поглинання супернатанту при 540 нм.

Осмотичну резистентність еритроцитів визначали за відсотком лізису при 3,5; 4,5 і 5,5 г/л NaCl у Na-фосфатному буфері (pH 7,4). За 100% лізис приймали лізис у Na-фосфатному буфері (pH 7,4) без додавання NaCl. Залізо-індукований лізис визначали за зменшенням поглинання суспензії еритроцитів при 630 нм при інкубації в ізотонічному буфері, який містив FeCl₃ у кінцевій концентрації 0,5% (Woollard et al., 2009). У фазі швидкого лізису (перші 10 хв) вимірювання проводили кожні 30 с, а потім – через 30, 60, 90 та 120 хв з початку інкубації (останнє вимірювання приймали за 100% лізис, що відповідало мінімуму поглинання суспензії).

Рівень ТБК-реагуючих продуктів (ТБК-РП, ТБК – тіобарбітурова кислота) у сироватці крові визначали, як описано в роботі (Ohkawa, 1979). Рівень ТБК-РП у еритроцитах визначали за різницею поглинання комплексу при 532 та 600 нм, як описано у роботі (Jain, 1989). Рівень відновленого глутатіону визначали спектрофотометрично за кількістю утвореного комплексу з алоксаном (Patterson, Lazarow, 1955). Про накопичення гемовмісних продуктів судили за різницею оптичної густини (ΔE) сироватки крові в Soret-області 390–450 нм (Hrkal, Muller-Eberhard, 1971). Вміст білірубину визначали методом двопрменевої спектрофотометрії, реєструючи спектр поглинання від 430 нм до 560 нм (Sardana et al., 1985). Вміст протеїну визначали за методом Лоурі в модифікації Міллера (Miller, 1959).

Активність гемоксигенази (КФ 1.14.99.3) визначали методом двопрменевої спектрофотометрії та розраховували за кількістю утвореного білірубину (Sardana et al., 1985). Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визначали спектрофотометрично за швидкістю зменшення кількості пероксиду водню, як описано у (Muller et al., 1997). Активність аргінази (КФ 3.5.3.1) в еритроцитах визначали за накопиченням сечовини при інкубації гемолізату у присутності 0,5 М L-аргініну, як описано у роботі (Omodeo-Sale et al., 2010). Базальний вміст сечовини у пробах, в яких відразу після додавання аргініну зупиняли реакцію трихлороцтовою кислотою, використовували як контроль. Вміст сечовини визначали стандартним діацетилмонооксимним методом, вміст гемоглобіну (Hb) визначали стандартним ціанметгемоглобіновим методом за допомогою відповідних наборів реагентів «Філісіт-Діагностика».

Статистичний аналіз одержаних результатів здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Past (Hammer et al., 2001). Тип розподілу визначали за допомогою W-критерію Шапіро-Уїлка. Залежно від типу розподілу результати представляли як середні значення та стандартне відхилення або як медіани та квартилі, достовірність різниці між групами даних розраховували з використанням t-критерію Стюдента або непараметричного U-критерію Манна-Уїтні. Розходження вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Кореляцію між показниками розраховували за критерієм Пірсона або Спірмена, залежно від типу розподілу.

Результати і обговорення

Показники осмотичної резистентності еритроцитів при введенні тваринам хлориду кадмію в обраних дозах надані у табл. 1. Встановлено, що введення $CdCl_2$ в дозі 0,6 мг/кг, в тому числі на фоні хронічної дії низької дози (1 мкг/кг) $CdCl_2$ (групи 3 і 4), викликає підвищення відсотку лізису еритроцитів при концентрації $NaCl$ 4,5 г/л до 143% і 160% від контрольного рівня, відповідно. В інших умовах інкубації введення $CdCl_2$ не впливало на відсоток лізису еритроцитів.

Таблиця 1.

Гіпотонічний лізис еритроцитів щурів після введення тваринам хлориду кадмію (%; лізис у середовищі інкубації з 0 г/л $NaCl$ прийнятий за 100%, $M \pm s$, $n=7-9$)

Умови інкубації	Контроль (Група 1)	$CdCl_2$ 29 діб 1 мкг/кг/добу (Група 2)	$CdCl_2$ 0,6 мг/кг, одноразово (Група 3)	$CdCl_2$ 0,6 мг/кг після $CdCl_2$ 1 мкг/кг 28 діб (Група 4)
8,5 г/л $NaCl$	3,79±0,94	3,56±1,46	4,36±1,65	4,47±1,72
5,5 г/л $NaCl$	5,02±1,30	4,14±1,76	5,13±1,87	4,89±2,15
4,5 г/л $NaCl$	20,7±7,0	16,1±5,4	29,8±9,5**	34,0±10,4**
3,5 г/л $NaCl$	82,9±9,2	82,7±10,6	82,2±14,0	88,7±8,5

Примітки: ** – $p < 0,01$ відносно контролю (група 1).

Відомо, що солі кадмію у високих дозах посилюють гіпотонічний лізис еритроцитів за рахунок окислювальних модифікацій білків цитоскелету (Hamada et al., 1998; Ognjanovic et al., 2008). Отже, представляло інтерес вивчити показники прооксидантно-антиоксидантного статусу еритроцитів після введення хлориду кадмію за обраними схемами. Встановлено, що вміст відновленого глутатіону (GSH) в еритроцитах (табл. 2) підвищується при хронічній дії низької дози хлориду кадмію (група 2) до 142% ($p=0,007$) від контролю. Синтез глутатіону може бути частиною адаптивної відповіді на тривале надходження іонів кадмію, які стимулюють синтез ендогенних тіолів, в тому числі у еритроцитах (Kostic et al., 1993). Але при введенні $CdCl_2$ у дозі 0,6 мг/кг (група 3), в тому числі на фоні хронічної дії низької дози хлориду кадмію (група 4), вміст GSH не підвищувався, що може бути результатом окислення або зв'язування GSH з іонами кадмію, які проявляють високу спорідненість до SH-груп.

Таблиця 2.

Вміст відновленого глутатіону (GSH, мкмоль/г Hb), ТБК-РП (нмоль МДА/г Hb), гемоглобіну (г/л) та каталазна активність (к/г Hb) еритроцитів щурів після введення тваринам хлориду кадмію ($M \pm s$, $n=7-9$)

Показник	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4
GSH	8,19±1,71	11,62±2,51**	9,79±1,55	7,91±1,98#
Каталазна активність	85,5±18,1	62,4±15,4*	65,5±13,4*	65,1±12,5*
ТБК-РП	5,47±1,20	4,88±0,91	4,11±0,38**	4,41±0,38*
Гемоглобін	273±28	303±37	300±31	291±42

Примітки: ** – $p < 0,01$ відносно групи 1, * – $p < 0,05$ відносно групи 1, # – $p < 0,01$ – відносно групи 2.

Каталазна активність еритроцитів знижувалась при обраних схемах введення хлориду кадмію і складала близько 75% від контролю (табл. 2). Згідно даних літератури, механізми інгібуючої дії іонів кадмію на каталазу опосередковані зв'язуванням металу із залишком гістидину в активному центрі ферменту (Casalino et al., 2002). Однак зниження активності каталази не викликало накопичення продуктів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ). Навпроти, при введенні CdCl₂ у дозі 0,6 мг/кг спостерігалось зниження рівню ТБК-РП в еритроцитах до 75% (p=0,003), а на фоні хронічної дії низької дози – до 80% (p=0,017) від контролю (групи 3 і 4). Інгібування ПОЛ може явитись результатом зв'язування кадмію з тіоловими групами спектрину. Відомо, що формування комплексів спектрину з тіоловим реагентом N-етилmaleїмідом запобігає взаємодії спектрину з окисленим гемоглобіном в присутності пероксиду водню і стабілізує мембрани еритроцитів (Snyder et al., 1988).

Іншим фактором, який може впливати на стабільність еритроцитів, є обмін сечовини (Masey, Yousef, 1988). Окрім транспорту з плазми крові, сечовина може синтезуватись в еритроцитах з L-аргініну в реакції, яку каталізує цитозольний ізофермент аргіназа-1 (Morris et al., 2005). Як встановлено в наших експериментах, базальний вміст сечовини в еритроцитах знижується при введенні іонів кадмію у всіх дослідних групах тварин до 69–75 % від контролю (табл. 3). Ці зміни можуть бути наслідком зниження активності аргінази (63%, 68% та 55% від контролю – відповідно при різних схемах введення хлориду кадмію, табл. 3). Але достовірна позитивна кореляція між базальним вмістом сечовини і активністю аргінази спостерігається тільки у 2-х груп тварин – 1 і 2 (r=0,59, p<0,02). При введенні CdCl₂ у дозі 0,6 мг/кг, особливо на фоні хронічної дії низької дози CdCl₂ (групи 3 і 4), активність ферменту знижується більше, ніж базальний рівень сечовини, що може свідчити про затримку сечовини в еритроцитах.

Таблиця 3.

Показники обміну аргініну в еритроцитах (базальний вміст сечовини, мкмоль/г Нв, і аргіназна активність, нмоль сечовини/г Нв за хв) та вміст сечовини у сироватці крові (мкмоль/мл) щурів після введення тваринам хлориду кадмію (M±s, n=7–9)

Показник	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4
Еритроцити				
Базальний вміст сечовини	3,08±0,80	2,13±0,79*	2,14±0,83*	2,33±0,41*
Аргіназна активність	57,8±13,4	39,5±11,9**	36,5±7,6**	32,1±10,7**
Сироватка крові				
Вміст сечовини	4,07±0,65	4,35±0,73	3,58±0,75	4,03±0,53

Примітки: ** – p<0,01 відносно групи 1, * – p<0,05 відносно групи 1.

При дослідженні залізо-індукованого гемолізу в групі тварин, що одноразово отримали хлорид кадмію у дозі 0,6 мг/кг (група 3), встановлено посилення лізису еритроцитів через 3,5 хвилини (155% від контролю, p=0,012) і через 4 хвилини інкубації (121%, p=0,047, табл. 4). Але динаміка FeCl₃-індукованого лізису еритроцитів у щурів, яким вводили ту саму дозу CdCl₂ на фоні хронічної дії низької дози CdCl₂ (група 4), не відрізнялась від динаміки у контрольній групі. Відомо, що введення хлориду кадмію у дозі 1,5 мг/кг/добу протягом 21 доби призводило до падіння вмісту заліза у крові у 9 разів при зниженні гемоглобіну лише на 33% (Dwivedi et al., 2012). В нашому експерименті не виявлено змін вмісту гемоглобіну (табл. 2), але можна припустити, що при під впливом хронічного надходження кадмію спостерігається підвищення ємності систем транспорту та зв'язування заліза з метою ефективного використання заліза в еритропоезі за умов його дефіциту. Таким чином, виявлене в досліді in vitro підвищення резистентності до іонів Fe³⁺ еритроцитів щурів 4-ї групи може бути пов'язане саме зі змінами обміну заліза під впливом хронічного надходження іонів кадмію.

Треба відзначити, що при процедурі виділення еритроцитів із крові щурів, які отримували хлорид кадмію, рівень лізису не відрізнявся від контрольної групи. Але втрати менш стійких еритроцитів можуть відбуватись in vivo за рахунок внутрішньосудинного лізису з подальшим переносом гемовмісних продуктів лізису переважно у печінку. Іони кадмію можуть також викликати посилення ериптозу в умовах накопичення іонів кальцію з подальшим переносом пошкоджених еритроцитів до селезінки (Sopjani et al., 2008). Тому було доцільно дослідити показники лізису

еритроцитів у крові і активність ключового ферменту деградації гему, гемоксигенази, у селезінці та печінці.

Встановлено, що вміст продуктів гемолізу в сироватці крові не змінюється за умов хронічної дії низьких доз хлориду кадмію (група 2), тоді як одноразове введення $CdCl_2$ у дозі 0,6 мг/кг, у тому числі на фоні хронічної дії низької дози іонів кадмію (групи 3 і 4), викликало зниження цього показника на 33% та 31%, відповідно (табл. 5). Вміст ТБК-РП у сироватці крові зберігався на рівні контролю в усіх групах тварин, яким вводили $CdCl_2$. За нашими даними та даними літератури вміст продуктів ПОЛ підвищується у крові при більш високих дозах солей кадмію або при іншому способі введення (Стрельченко и др., 2002; Swiergosz-Kowalewska, 2001; Ognjanovic et al., 2008). Відсутність посилення вільнорадикальних процесів у сироватці крові у нашому експерименті може бути пов'язана з розвитком ериптозу, який запобігає вивільненню гемоглобіну у плазму крові (Sorjani et al., 2008).

Таблиця 4.

Залізо-індукований лізис еритроцитів щурів після введення тваринам хлориду кадмію (лізис через 120 хв інкубації прийнятий за 100%, $M \pm s$, $n=7-9$)

Час інкубації	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4
3 хвилини	17,9±5,9	17,0±3,9	25,5±11,1	17,4±6,6
3,5 хвилини	31,7±5,8	31,9±10,8	50,0±16,9*	29,9±8,8
4 хвилини	54,4±12,3	51,1±9,5	66,1±9,3*	50,1±14,6
4,5 хвилини	68,1±10,6	66,7±10,7	74,0±8,8	67,8±14,4

Примітки: * – $p < 0,05$ відносно контролю.

Таблиця 5.

Вміст гемовмісних сполук (ΔE /мл), ТБК-РП (нмоль МДА/ мл) і білірубину (нмоль/мл) у сироватці крові та гемоксигеназна (ГО) активність (нмоль білірубину/мг білку за хв) у селезінці та печінці щурів при дії хлориду кадмію ($M \pm s$ або Me (квартилі), $n=7-9$)

Показник	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4
Сироватка крові				
Гемовмісні сполуки	1,79±0,10	1,66±0,43	1,21±0,15**	1,3±0,35*
Білірубин	0,016±0,004	0,015±0,003	0,020±0,004*	0,021±0,005*
ТБК-РП	3,00 (2,80;3,33)	3,60 (3,21;4,01)	3,53 (3,21;4,87)	3,37 (3,21;3,61)
Селезінка				
ГО-активність	0,023 (0,022; 0,027)	0,023 (0,021; 0,025)	0,029 (0,028; 0,032)	0,025 (0,023; 0,026)
Печінка				
ГО-активність	0,014 (0,012;0,016)	0,014 (0,011;0,016)	0,012 (0,011;0,015)	0,015 (0,014;0,019)

Примітки: ** – $p < 0,01$ відносно контролю, * – $p < 0,05$ відносно контролю.

Активність гемоксигенази в печінці та селезінці щурів, яким вводили хлорид кадмію за обраними схемами, не відрізнялась від контрольного рівня (табл. 5). Враховуючи ізоферментний спектр (переважно індукційна форма – гемоксигеназа-1) та високу базальну активність гемоксигенази у селезінці, посилене захоплення еритроцитів селезінкою при дії іонів кадмію може не викликати індукцію ферменту при обраних дозах металу. Активація експресії гену гемоксигенази-1, що присутня також у печінці, вважається маркером оксидативного стресу, у тому числі спричиненого вільним гемом і іонами важких металів, і відбувається за участю транскрипційних факторів Bach-1 та Nrf2 (Ryter et al., 2006). Значне підвищення гемоксигеназної активності в печінці, яке супроводжувалось вираженим внутрішньосудинним гемолізом, було показано раніше в наших експериментах при однократному введенні $CdCl_2$ в дозі 14 мг/кг (Стрельченко и др., 2002). За даними (Dwivedi et al., 2012) введення

CdCl₂ у дозі 1,5 мг/кг/добу 21 день викликало значне накопичення кадмію у крові (у 80 разів), печінці (у 25 разів) і нирках (більш ніж у 100 разів). Але при введенні CdCl₂ у низьких дозах, які не викликають накопичення продуктів гемолізу, очевидно, концентрації іонів кадмію або вільного гемі у печінці не достатні для індукції гемоксигенази. Це припущення збігається з даними про переважне надходження кадмію у кишечник (збільшення вмісту кадмію у 4 рази) і незначного його накопичення (до 130% від контролю) у печінці і нирках при хронічному введенні CdCl₂ у дозах від 1 до 40 мкг/кг як водного розчину через зонд (Ramachandran et al., 2011).

Підвищення в сироватці крові вмісту білірубину, одного з продуктів гемоксигеназної реакції, що виявляє антиоксидантні властивості (Stocker et al., 1987), спостерігається при введенні CdCl₂ у дозі 0,6 мг/кг (125%), в тому числі на фоні хронічної дії CdCl₂ у дозі 1 мкг/кг (131% від контролю). Слід відмітити негативну кореляцію вмісту білірубину та гемовмісних сполук у сироватці крові ($r=-0,69$, $p<0,01$). Такі зміни можуть віддзеркалювати посилення деградації гемі не в печінці, а в інших тканинах та органах шурів, в тому числі у ендотеліальних клітинах судин та у селезінці, з подальшим переносом білірубину кров'ю до печінки.

Висновки

1. Хлорид кадмію при обраних схемах і дозах введення суттєво не впливає на прооксидантно-антиоксидантний стан сироватки крові і активність ключового ферменту деградації гемі у печінці та селезінці, але змінює властивості еритроцитів при введенні *in vivo* в більшій дозі (0,6 мг/кг). Між зниженням стійкості еритроцитів до лізису в цих умовах і дослідженими показниками антиоксидантного захисту або обміну аргініну та сечовини кореляції не виявлено.
2. Зниження вмісту продуктів ПОЛ в еритроцитах при введенні більшої дози кадмію, можливо, є результатом впливу іонів кадмію на взаємодію окисненого гемоглобіну з мембранами еритроцитів, а також може бути пов'язане зі зниженням вмісту продуктів гемолізу і підвищенням вмісту антиоксиданту білірубину у сироватці крові.
3. Збільшення вмісту відновленого глутатіону в еритроцитах, що встановлено при хронічній дії низьких доз іонів кадмію, ймовірно, є фактором підтримання резистентності клітин до осмотичного лізису.

Список літератури

- Стрельченко Е.В., Никитченко И.В., Калиман П.А. Гемоксигеназная активность в органах крыс при введении хлорида кадмия // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т.74, №5. – С. 108–112. /Strel'chenko Ye.V., Nikitchenko I.V., Kaliman P.A. Gemoksigenaznaya aktivnost' v organakh krysa pri vvedenii khlorida kadmiya // Ukr. biokhim. zhurn. – 2002. – Т.74, №5. – С. 108–112./
- Casalino E., Calzaretti G., Sblano C., Landriscina C. Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium // Toxicology. – 2002. – Vol.179, N 1–2. – P. 37–50.
- Dwivedi V.K., Bhatnagar A., Chaudhary M. Protective role of ceftriaxone plus sulbactam with VRP1034 on oxidative stress, hematological and enzymatic parameters in cadmium toxicity induced rat model // Interdiscip. Toxicol. – 2012. – Vol.5, N4. – P. 192–200.
- Hamada T., Tanimoto A., Arima N. et al. Altered membrane skeleton of red blood cells participates in cadmium-induced anemia // Biochem. Mol. Biol. Int. – 1998. – Vol.45, N4. – P. 841–847.
- Hammer Ø., Harper D.A. T., Ryan P.D. Past: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica. – 2001. – Vol.4, N1, art.4: 9pp.
- Hrkal Z., Muller-Eberhard U. Partial characterization of the hemebinding serum glycoproteins rabbit and human hemopexin // Biochemistry. – 1971. – Vol.10. – P. 1746–1750.
- Jain S.K. Hyperglycemia can cause membrane lipid peroxidation and osmotic fragility in human red blood cells // J. Biol. Chem. – 1989. – Vol.264, N35. – P. 21340–21345.
- Kostic M.M., Ognjanovic B., Dimitrijevic S. et al. Cadmium-induced changes of antioxidant and metabolic status in red blood cells of rats: in vivo effects // Eur. J. Haematol. – 1993. – Vol.51, N2. – P. 86–92.
- Macey R.I., Yousef L.W. Osmotic stability of red cells in renal circulation requires rapid urea transport // Am. J. Physiol. – 1988. – Vol.254, N5, Pt 1. – P. C669–C674.
- Miller G. Protein determination for large number of samples // Anal. Chem. – 1959. – Vol.31, N5. – P. 964–966.
- Morris C.R., Kato G.J., Poljakovic M. et al. Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease // JAMA. – 2005. – Vol. 294, N1. – P. 81–90.

- Mueller S., Riedel H.D., Stremmel W. Direct evidence for catalase as the predominant H₂O₂-removing enzyme in human erythrocytes // *Blood*. – 1997. – Vol.90, N12. – P. 4973–4978.
- Ognjanovic B.I., Markovic S.D., Pavlovic S.Z. et al. Effect of chronic cadmium exposure on antioxidant defense system in some tissues of rats: protective effect of selenium // *Physiol. Res.* – 2008. – Vol.57, N3. – P. 403–411.
- Ohkawa H. Assay for peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // *Anal. Biochem.* – 1979. – Vol.95, N2. – P. 351–358.
- Omodeo-Sale F., Cortelezzi L., Vommaro Z. et al. Dysregulation of L-arginine metabolism and bioavailability associated to free plasma heme // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2010. – Vol.299. – P. 148–154.
- Patterson J.W., Lazarow A. Determination of glutathione // *Methods of Biochemical Analysis* / Ed. D.Glick. – Interscience, 1955. – Vol.2. – P. 259–279.
- Ramachandran B., Mäkelä S., Cravedi J.P. et al. Estrogen-like effects of diet-derived cadmium differ from those of orally administered CdCl₂ in the ERE-luc estrogen reporter mouse model // *Toxicol. Lett.* – 2011. – Vol.202, N2. – P. 75–84.
- Ryter S.W., Alam J., Choi A.M. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications // *Physiol. Rev.* – 2006. – Vol.86, N2. – P. 583–650.
- Sardana M.K., Sassa S., Kappas A. Hormonal regulation of heme oxygenase induction in avian hepatocyte culture // *Biochem. Pharmacol.* – 1985. – Vol.34, N16. – P. 2937–2944.
- Sopjani M., Föller M., Dreischer P., Lang F. Stimulation of eryptosis by cadmium ions // *Cell Physiol. Biochem.* – 2008. – Vol.22, N 1–4. – P. 245–252.
- Snyder L.M., Fortier N.L., Leb L. et al. The role of membrane protein sulfhydryl groups in hydrogen peroxide-mediated membrane damage in human erythrocytes // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1988. – Vol.937, N2. – P. 229–240.
- Stocker R., Glazert A.N., Ames B.N. Antioxidant activity of albumin-bound bilirubin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1987. – Vol.84. – P. 5918–5922.
- Swiergosz-Kowalewska R. Cadmium distribution and toxicity in tissues of small rodents // *Microsc. Res. Tech.* – 2001. – Vol.55, N3. – P. 208–222.
- Woollard K.J., Sturgeon S., Chin-Dusting J.P. et al. Erythrocyte hemolysis and hemoglobin oxidation promote ferric chloride-induced vascular injury // *J. Biol. Chem.* – 2009. – Vol.284, N19. – P.13110–13118.

Представлено: Н.І.Горбенко / Presented by: N.I.Gorbenko

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 29.04.2015