

УДК 577.121:591.111.1

ВПЛИВ ШЕСТИВАЛЕНТНОГО ХРОМУ НА АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ ГЛІКОЛІЗУ ТА ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ШЛЯХУ В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВІ КРОЛИКІВ

Г. Л. Антоняк¹, Н. П. Хомич²
natalyao@meta.ua

¹Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Саксаганського, 1; м. Львів, 79005, Україна

²Львівський національний аграрний університет, вул. В. Великого, 1; м. Дубляни, 80381, Україна

Забруднення навколишнього середовища сполуками шестивалентного Хрому (Cr(VI)), які часто містяться у промислових відходах, збільшує ризик надходження цього елемента в організм сільськогосподарських тварин і людини. До токсичних ефектів Cr(VI) належать порушення метаболізму в лейкоцитах, зокрема катаболізму вуглеводів, які є важливими енергетичними субстратами в клітинах імунної системи. Метою роботи було дослідити активність ензимів, які каталізують окремі реакції гліколізу та пентозофосфатного шляху в нейтрофільних гранулоцитах і лімфоцитах кроликів за умов щодобового надходження шестивалентного Хрому.

Проводили дослідження піруваткіназної, лактатдегідрогеназної та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності у популяціях лейкоцитів крові кроликів, яким вводили калію біхромат у дозах 5 мг/кг маси (внутрішньошлунково) і 10 мг/кг маси (з питною водою) впродовж 14 і 60-ти діб відповідно. Установлено, що метаболічна відповідь нейтрофільних гранулоцитів і лімфоцитів на надходження шестивалентного Хрому залежить від дози й тривалості введення $K_2Cr_2O_7$ у травний тракт тварин і характеризується особливостями, пов'язаними з характером метаболізму та специфічними функціями зазначених клітин. У нейтрофільних гранулоцитах кроликів обох дослідних груп лактатдегідрогеназна і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність підвищується, а піруваткіназна активність змінюється по-різному: зростає за внутрішньошлункового введення $K_2Cr_2O_7$ дозою 5 мг/кг, але пригнічується за умов тривалого введення токсиканта в дозі 10 мг/кг маси. У лімфоцитах кроликів, яким вводили калію біхромат, відбувається зменшення активності досліджуваних ензимів, особливо за 60-добового надходження $K_2Cr_2O_7$ з питною водою. Інгібування активності ензимів, які каталізують кінцеві стадії гліколізу, та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в лімфоцитах може бути однією з ланок у механізмах пригнічення імунної функції за умов надходження шестивалентного Хрому в організм тварин.

Ключові слова: ШЕСТИВАЛЕНТНИЙ ХРОМ, ІМУННА СИСТЕМА, ЛЕЙКОЦИТИ, НЕЙТРОФІЛЬНІ ГРАНУЛОЦИТИ, ЛІМФОЦИТИ, ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН, КРОЛИКИ

EFFECTS OF HEXAVALENT CHROMIUM ON THE ACTIVITIES OF ENZYMES OF GLYCOLYSIS AND PENTOSE PHOSPHATE PATH IN RABBIT LEUCOCYTES

Н. Л. Antonyak¹, N. P. Homych²
natalyao@meta.ua

¹Lviv Ivan Franko National University, str. Saksaghanskogho, 1; Lviv, 79005, Ukraine

²Lviv National Agrarian University, str. V. Velykoho, 1; Dubliany, 80381, Ukraine

Environmental contamination by compounds of hexavalent chromium (Cr(VI)), which are often found in industrial wastes, represents risk of metal intake by farm animals and humans. Among toxic effects of chromium its impacts on metabolism in leukocytes, in particular, catabolism of carbohydrates, which are important energy substrates in immune cells, are of significant attention. The purpose of our work was to

study the activity of enzymes that catalyze specific reactions of glycolysis and the pentose phosphate path in neutrophils and lymphocytes of rabbits under conditions of a daily intake of hexavalent chromium.

The activities of pyruvate kinase, lactate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase in the populations of blood leucocytes of rabbits treated with potassium dichromate at doses of 5 mg/kg of body weight (intragastrically) and 10 mg/kg of body weight (with drinking water) for 14 and 60 days respectively was investigated. It was established that the metabolic response of neutrophilic granulocytes and lymphocytes to hexavalent chromium depended on the dose and duration of $K_2Cr_2O_7$ administration and was characterized by the features related to the type of metabolism and specific functions of immune cells. In neutrophils of both studied groups of rabbits lactate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities increased. The activities of enzymes in rabbit lymphocytes decreased, especially after 60-day intake of $K_2Cr_2O_7$ with drinking water. Inhibition of enzymes that catalyze the final stages of glycolysis, and glucose-6-phosphate dehydrogenase in lymphocytes may represent one of the links in the mechanisms of suppression of immune function of animals under influence of hexavalent chromium.

Keywords: HEXAVALENT CHROMIUM, IMMUNE SYSTEM, LEUCOCYTES, NEUTROPHILIC GRANULOCYTES, LYMPHOCYTES, ENERGY METABOLISM, RABBITS

ВЛИЯНИЕ ШЕСТИВАЛЕНТНОГО ХРОМА НА АКТИВНОСТЬ ЭНЗИМОВ ГЛИКОЛИЗА И ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВИ КРОЛИКОВ

Г. Л. Антоняк¹, Н. П. Хомич²
natalyao@meta.ua

¹ Львовский национальный университет имени Ивана Франко, ул. Саксаганського, 1;
г. Львов, 79005, Украина

² Львовский национальный аграрный университет, ул. В. Великого, 1; г. Дубляны,
80381, Украина

Загрязнение окружающей среды соединениями шестивалентного хрома ($Cr(VI)$), которые часто содержатся в отходах промышленного производства, увеличивает риск поступления этого элемента в организм сельскохозяйственных животных и человека. К токсическим эффектам $Cr(VI)$ относятся расстройства метаболизма в лейкоцитах, в частности, катаболизма углеводов, которые являются важными энергетическими субстратами в клетках иммунной системы. Целью работы было исследование активности ферментов, катализирующих отдельные реакции гликолиза и пентозофосфатного пути в нейтрофильных гранулоцитах и лимфоцитах кроликов в условиях ежедневного поступления шестивалентного хрома.

Проводили исследования пируваткиназной, лактатдегидрогеназной и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной активности в популяциях лейкоцитов крови кроликов, которым вводили калия бихромат в дозах 5 мг/кг массы (внутрижелудочно) и 10 мг/кг массы (с питьевой водой) в течение 14-ти и 60-ти суток соответственно. Установлено, что метаболический ответ нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов на поступления шестивалентного хрома зависит от дозы и продолжительности введения $K_2Cr_2O_7$ в пищеварительный тракт животных и характеризуется особенностями, связанными с характером метаболизма и специфическими функциями иммунных клеток. В нейтрофильных гранулоцитах кроликов обеих исследуемых групп лактатдегидрогеназная и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназная активность повышается, а пируваткиназная активность изменяется по-разному: повышается в условиях внутрижелудочного введения $K_2Cr_2O_7$ дозой 5 мг/кг, но подавляется в условиях длительного введения этого токсического соединения в дозе 10 мг/кг массы. В лимфоцитах кроликов, которым вводили калия бихромат, происходит уменьшение активности исследуемых ферментов, особенно вследствие 60-суточного поступления $K_2Cr_2O_7$ с питьевой водой. Ингибирование активности ферментов, катализирующих конечные стадии гликолиза, и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в лимфоцитах может быть одним

из звеньев в механизмах подавления иммунной функции в условиях поступления шестивалентного хрома в организм животных.

Ключевые слова: ШЕСТИВАЛЕНТНЫЙ ХРОМ, ИММУННАЯ СИСТЕМА, ЛЕЙКОЦИТЫ, НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ГРАНУЛОЦИТЫ, ЛИМФОЦИТЫ, ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН, КРОЛИКИ

Сполуки шестивалентного Хрому (Cr(VI)), які часто містяться у відходах промислового виробництва, входять до переліку найнебезпечніших забруднювачів довкілля. Впродовж останніх років їх виявляють у підвищених концентраціях у ґрунті, воді та атмосферному повітрі, особливо на територіях, прилеглих до індустриальних міст і підприємств гірничодобувної промисловості [1–3]. Це становить значну проблему для сучасного сільського господарства і спричиняє екологічний ризик, оскільки з компонентів навколишнього середовища Cr(VI) може надходити в організм сільськогосподарських тварин і людини [2, 4, 5]. Тому актуальними є дослідження метаболічних ефектів Cr(VI) та з'ясування механізмів порушення функціональної активності клітин під впливом цього елемента. Значну увагу привертають імунотоксичні ефекти шестивалентного Хрому, механізми яких на сьогодні з'ясовані недостатньою мірою [6, 7].

Як відомо, імунний захист організму тварин і людини від дії патогенних чинників здійснюється завдяки функціонуванню систем мієло- і лімфопоезу, які забезпечують надходження у кров лейкоцитів — різномірних клітин зі специфічними функціями [8, 9]. У реакціях клітинного і гуморального імунітету вагомий роль належить процесам енергозабезпечення імунних клітин [10–12], насамперед катаболізму вуглеводів, які є важливими енергетичними субстратами в лейкоцитах [9, 13, 14]. Водночас процеси перетворення моносахаридів сприяють відновленню нікотинамідних коензимів, зокрема утворенню молекул NADPH-кофактора глутатіонредуктази, необхідних для підтримання антиоксидантного статусу клітин [9, 15]. З метою з'ясування

специфіки впливу Cr(VI) на катаболізм глюкози у популяціях лейкоцитів проводили дослідження активності ензимів, які каталізують окремі реакції гліколізу та пентозофосфатного шляху, в нейтрофільних гранулоцитах і лімфоцитах крові кроликів за умов щодобового надходження цього елемента у формі калію біхромату.

Матеріали і методи

Дослідження виконані на кроликах-самцях породи шампань двомісячного віку масою 1,2–1,3 кг, яких утримували за умов віварію. Тваринам згодовували стандартний гранульований корм К-92-1. Кроликів поділили на чотири групи: 2 контрольні (К1, К2) і 2 дослідні (Д1, Д2), по 5 особин у кожній. Кроликам групи Д1 щодоби вводили в шлунок розчин $K_2Cr_2O_7$ (5 мг/кг живої маси впродовж 14 діб), а групи К1 — фізіологічний розчин в еквівалентному об'ємі. Тваринам групи Д2 з питною водою давали розчин $K_2Cr_2O_7$ із розрахунку на щодобове надходження токсиканта в дозі 10 мг/кг живої маси впродовж 60 діб, кроликам групи К2 — лише питну воду; напування з поїлок було необмеженим.

Матеріалом досліджень була кров, яку отримували з вушної вени кроликів груп К1 і Д1 через 14 діб, а тварин К2 і Д2 — через 60 діб після початку експерименту. Як антикоагулянт використовували гепарин. Всі процедури з тваринами проводили, дотримуючись вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовують для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1985).

Для отримання збагаченої лейкоцитами плазми зразки крові

інкубували при 37 °С упродовж 15–30 хв за наявності 10 % желатини в об'ємному співвідношенні 9:1. Нейтрофільні гранулоцити і лімфоцити виділяли методом диференціального центрифугування в градієнті густини фіколу («Pharmacia Fine Chemicals») і верографіну («Spora») згідно із загальноприйнятою методикою [16] з деякими модифікаціями [17]. Питома густина сумішей фіколу і верографіну, застосованих з метою фракціонування клітин, становила 1,083 і 1,119 г/см³, відповідно з особливостями в показниках плавучої густини лейкоцитів кролика [17]. Суміші зазначених реагентів і плазму, в якій містились лейкоцити, вносили в пластикові пробірки та центрифугували при 900 г упродовж 30 хв (4 °С) із використанням горизонтального ротора. Отримані фракції лейкоцитів відмивали натрій-фосфатним буфером, виготовленим на фізіологічному розчині (рН 7,4) із додаванням 5 мМ глюкози. Для гемолізу еритроцитів, наявних у незначній кількості у фракції нейтрофільних гранулоцитів, застосовували короткотривалу (впродовж 20 с) обробку клітин 0,2 % NaCl. Цілісність і життєздатність виділених клітин становила не менше 95 %.

Лізис лейкоцитів здійснювали додаванням 2,5 мМ фосфатного буфера (рН 7,5) з подальшим трикратним заморожуванням у рідкому азоті і відтаюванням клітин. Лізати центрифугували при 15 000 г впродовж 30 хв на рефрижераторній центрифугі.

У лізатах визначали піруваткіназу (КФ 2.7.1.40), лактатдегідрогеназу (КФ 1.1.1.27) та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу (КФ 1.1.1.49) активність за допомогою методів, які базуються на зміні оптичної густини реакційної суміші під час окиснення або відновлення нікотинамідних коензимів у процесі каталізованих ензимами реакцій [18]. Визначення ензимної активності проводили в 0,05 М трис-НCl буфері (рН 7,5) при температурі 25 °С.

Компоненти реакційної суміші під час визначення піруваткіназної активності були такими: фосфоенолпіруват («Sigma»), ADP («Sigma»), NADH («Sigma»), KCl, MgCl₂, лактатдегідрогеназа (0,3 МО) (КФ 1.1.1.27). Для визначення лактатдегідрогеназної активності застосовували натрію піруват, NADH («Sigma»), MgCl₂, а глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності — глюкозо-6-фосфат («Sigma»), NADP⁺ («Sigma»), MgCl₂. Концентрації реагентів підбирали, враховуючи характерні для лейкоцитів особливості каталітичної активності досліджуваних ензимів. Ензимну активність виражали в нмоль нікотинамідних коензимів, окиснених або відновлених за 1 хв у перерахунку на 1 мг білка. Вміст білка в лізатах визначали методом Лоурі і співавторів (1951). Отримані результати опрацьовували з використанням методів варіаційної статистики.

Результати й обговорення

Результати досліджень вказують на те, що надходження калію біхромату в організм кроликів спричиняє зміни активності ензимів, які каталізують окремі ланки катаболізму глюкози в лейкоцитах крові. Однак метаболічна відповідь популяції цих клітин (нейтрофільні гранулоцити, лімфоцити) на дію токсиканта неоднакова і залежить від дози й тривалості введення K₂Cr₂O₇ у травний тракт тварин.

Установлено, що активність одного з ключових ензимів гліколізу — піруваткінази — у нейтрофільних гранулоцитах кроликів групи Д1, яким щодоби вводили в шлунок калію біхромат (5 мг/кг маси) впродовж 14 діб, у 2,24 разу перевищує значення, притаманне клітинам тварин контрольної групи (p<0,001, рис. 1). У кроликів групи Д2, які отримували K₂Cr₂O₇ удвічі більше впродовж 60 діб, піруваткіназна активність клітин цієї фракції, навпаки, зменшується на 18,2 % порівняно з контролем (p<0,05).

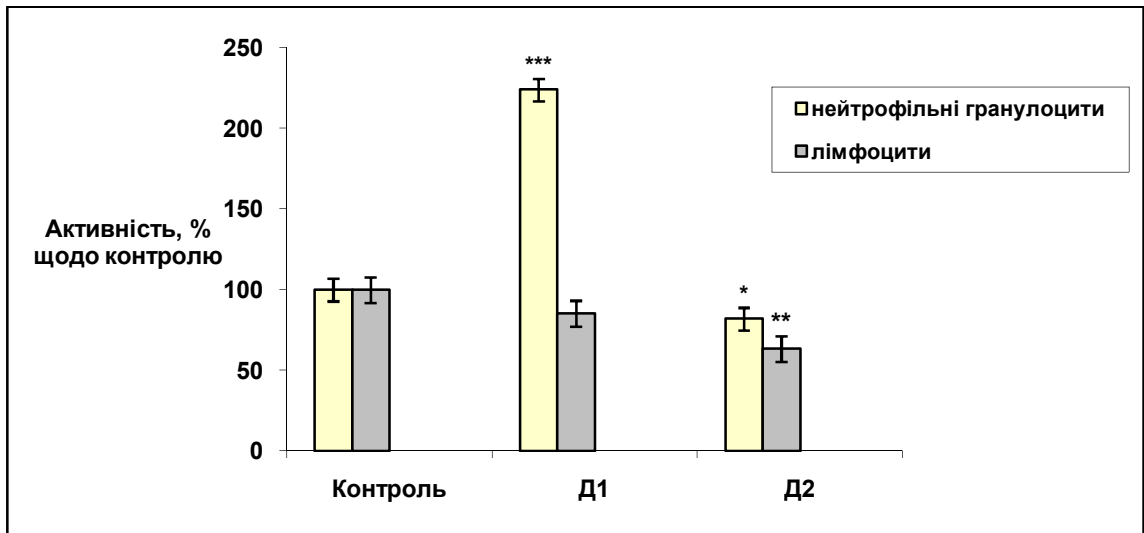


Рис. 1. Піруваткіназна активність нейтрофільних гранулоцитів і лімфоцитів крові кроликів за умов введення калію біхромату

Примітка: на цьому та інших рисунках значення показників, отриманих у тварин груп К1 і К2 приймали за 100 % (умовно позначаючи їх як «контроль»); *, **, *** — вірогідність різниць у показниках між контролем і дослідними групами тварин (* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$)

За таких умов зміни активності лактатдегідрогенази, каталізатора завершальної стадії гліколізу, в нейтрофільних гранулоцитах тварин дослідних груп подібні: у кроликів груп Д1 і Д2 ензимна активність підвищується, відповідно, на 33 і 21,5 % ($p < 0,05$, рис. 2). Відомо, що активація лактатдегідрогеназної реакції може вказувати не лише на

нагромадження лактату — кінцевого продукту анаеробного розщеплення глюкози, а й на збільшення ролі цього ензиму в утворенні пірувату в досліджуваних клітинах. Зокрема, це стосується нейтрофільних гранулоцитів кроликів групи Д2, в яких виявляється пригнічення піруваткіназної активності (рис. 1).

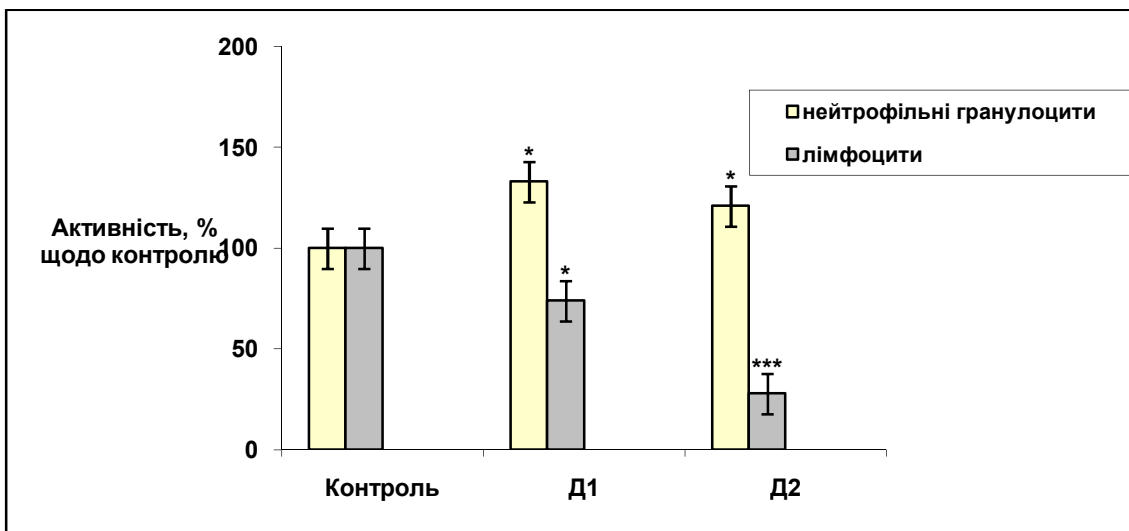


Рис. 2. Лактатдегідрогеназна активність нейтрофільних гранулоцитів і лімфоцитів крові кроликів за умов введення калію біхромату

У лімфоцитах крові кроликів, яким вводили калію біхромат, активність ензимів гліколізу характеризується іншою динамікою. Зокрема, у лімфоцитах тварин групи Д1 піруваткіназна активність вірогідно не змінюється, а у тварин групи Д2 — зменшується на 36,5 % ($p < 0,05$, рис. 1). Лактатдегідрогеназна активність лімфоцитів кроликів груп Д1 і Д2 пригнічується, відповідно, на 26 % і в 3,5 разу ($p < 0,05-0,001$) порівняно з контролем (рис. 2). За стабільної активності піруваткінази в лімфоцитах тварин групи Д1 такий ефект зумовлює зменшення інтенсивності перетворення піровиноградної кислоти до кінцевого продукту гліколізу і свідчить про ймовірне підвищення рівня метаболізму пірувату в інших метаболічних процесах, необхідних для підтримання функціональної активності клітин. Однак за тривалого надходження калію біхромату в лімфоцитах кроликів групи Д2 відбувається інгібування ензимів, які каталізують кінцеві стадії гліколізу.

У функціональній активності лейкоцитів важливе значення мають дегідрогенази пентозофосфатного шунту гліколізу, які забезпечують клітини молекулами NADPH, що можуть використовуватись під час синтезу жирних кислот, окиснюватись ензимними системами дихального ланцюга або брати участь у NADPH-залежній глутатіонредуктазній реакції. У нейтрофільних

гранулоцитах відновлення нікотинамідаденідинуклеотидфосфату необхідне ще й для функціонування мембранної NADPH-оксидази, яка завдяки продукції супероксидного аніон-радикала відіграє важливу роль у протимікробній активності клітин [19]. Таким чином реалізується метаболічний зв'язок між процесами катаболізму моносахаридів, антиоксидантним захистом та функціями нейтрофілів [9, 15, 19].

Роль пентозофосфатного шунта в клітинах зростає у разі впливу на організм прооксидантних чинників, до яких належать і сполуки шестивалентного Хрому. Експериментально встановлено, що активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази — ензиму, який визначає рівень перетворення глюкозо-6-фосфату пентозофосфатним шляхом, у нейтрофільних гранулоцитах кроликів групи Д1 на 25 % перевищує значення, характерні для тварин, яких приймали за контроль ($p < 0,05$), однак у кроликів групи Д2 вірогідних змін цього показника не виявлено (рис. 3). У лімфоцитах крові кроликів обох дослідних груп глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність істотно пригнічується ($p < 0,05-0,001$). Особливо виразне зменшення цього показника виявляється у тварин групи Д2, яким вводили калію біхромат упродовж 60 діб (рис. 3).

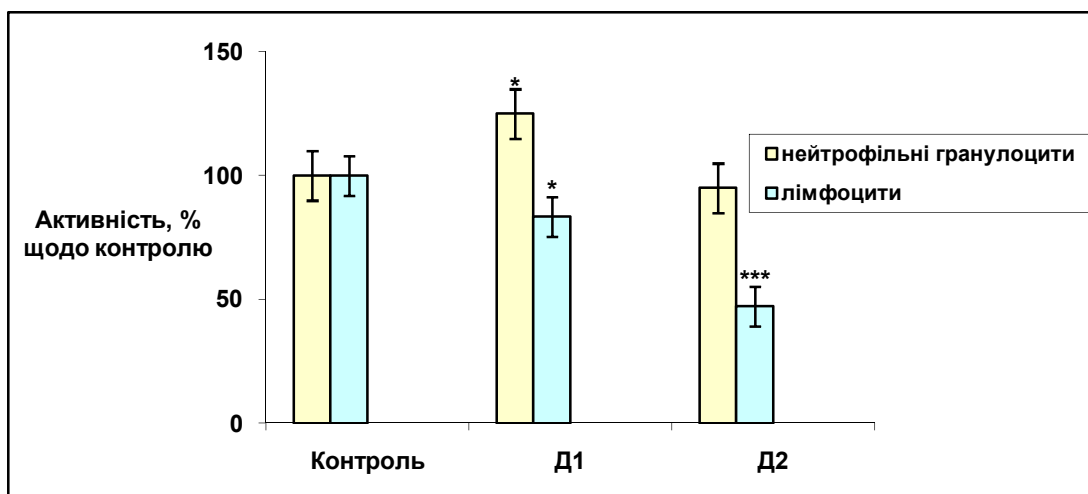


Рис. 3. Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність нейтрофільних гранулоцитів і лімфоцитів крові кроликів за умов введення калію біхромату

Установлений ефект свідчить про неоднаковий вплив шестивалентного Хрому на процес перетворення глюкози в реакціях гліколізу та пентозофосфатним шляхом у різних популяціях імунних клітин. Пригнічення ензимів, які каталізують кінцеві стадії гліколізу, та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в лімфоцитах, особливо за тривалого надходження $K_2Cr_2O_7$ в організм тварин, може зумовлювати порушення інших ланок метаболізму та процесів антиоксидантного захисту клітин. На відміну від лімфоцитів, у нейтрофільних гранулоцитах тварин, яким вводили калію біхромат, здебільшого, відбувається активація ензимів гліколізу та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Ймовірно, що така метаболічна ситуація сприяє меншій уразливості цих клітин до впливу шестивалентного Хрому та енергетичному забезпеченню функцій нейтрофільних гранулоцитів, у зв'язку з чим надходження сполук Cr(VI) може зумовлювати розвиток запальних реакцій в організмі тварин [20, 21].

Висновки

Результати досліджень активності ензимів гліколізу і пентозофосфатного шляху в лейкоцитах кроликів за умов введення калію біхромату свідчать, що під впливом Cr(VI) відбуваються зміни у процесах катаболізму глюкози в різних популяціях імунних клітин, причому нейтрофільні гранулоцити і лімфоцити відзначаються особливостями метаболічної відповіді на дію токсиканта. Вірогідно, на прояв внутрішньоклітинних ефектів Cr(VI) впливає тип метаболізму та особливості функціональної активності клітин зазначених популяцій. Нейтрофільні гранулоцити є першою ланкою імунного захисту організму, тому активація ензимів енергетичного обміну може відігравати роль у стимуляції цих клітин та розвитку запальних процесів у тканинах у разі надходження сполук Cr(VI). У лімфоцитах активність ензимів катаболізму глюкози пригнічується, що може зумовлювати порушення енергозабезпечення та

антиоксидантного статусу цих клітин за тривалого надходження в організм тварин шестивалентного Хрому.

Перспективи подальших досліджень. З огляду на отримані результати щодо впливу калію біхромату на окремі ланки катаболізму моносахаридів, перспективи подальших досліджень полягають у з'ясуванні впливу шестивалентного Хрому на інші ланки метаболізму в лейкоцитах. Зокрема, актуальним є вивчення впливу цього елемента на процеси пероксидного окиснення ліпідів та стан антиоксидантної системи, оскільки прооксидантно-антиоксидантний статус імунних клітин відіграє важливу роль в їхній функціональній активності. Водночас значну увагу привертаять дослідження оксидативного пошкодження білків і процесів репарації внутрішньоклітинних порушень, зумовлених впливом шестивалентного Хрому.

1. Novikova I., Parshykova T., Olkhovych O. Khrom u pryrodnykh vodakh i mozhyvosti yoho vydalennia biolohichnym metodom [Chromium in natural waters and the possibility of its removal by biological method]. *Visnyk Kyivskoho natsionalnoho un-tu im. Tarasa Shevchenka — Journal of Kyiv Taras Shevchenko National Univ.*, 2007, no. 12, pp. 39–41 (in Ukrainian).

2. Das A. P., Singh S. Occupational health assessment of chromate toxicity among Indian miners. *Indian J. Occup. Environ. Med.*, 2011, vol. 15, no 1, pp. 6–13.

3. Tziritis E., Kelepertzis E., Korres G., Perivolaris D., Repani S. Hexavalent chromium contamination in groundwaters of Thiva Basin, central Greece. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2012, vol. 89, no 5, pp. 1073–1077.

4. Solohub L. I., Antonyak H. L., Babych N. O. *Khrom v orhanizmi liudyny i tvaryn Biokhimichni, imunolohichni ta ekolohichni aspekty* [Chromium in human and animal organism. Biochemical, immunological and environmental aspects]. Lviv, Yevrosvit Publ., 2007. 127 p. (In Ukrainian).

5. Zhitkovich A. Chromium in drinking water: sources, metabolism, and cancer risks. *Chem. Res. Toxicol.*, 2011, vol. 24, no 10, pp. 1617–1629.

6. Burastero S. E., Paolucci C., Breda D., Ponti J., Munaro B., Sabbioni E. Chromium (VI)-induced immunotoxicity and intracellular accumulation in human primary dendritic cells. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, 2006, vol. 19, no 3, pp. 581–591.
7. Qian Q., Li P., Wang T., Zhang J., Yu S. Alteration of Th1/Th2/Th17 cytokine profile and humoral immune responses associated with chromate exposure. *Occup. Environ. Med.*, 2013, vol. 70, no 10, pp. 697–702.
8. Almazov V. A., Afanasev B. V., Zarickij A. Ju. et al. *Fiziologija leukocitov cheloveka* [Physiology of human leukocytes]. Lviv, Nauka Publ., 1979, 232 p. (In Russian).
9. Beutler E., Lichtman M. A., Coller B. S., Kipps T. J. Metabolism of neutrophils. In: *Williams Hematology, 5th edn (eds.)*. N. Y.: McGraw-Hill. 1995, pp. 767–772.
10. Buttgereit F., Burmester G. R., Brand M. D. Bioenergetics of immune functions: fundamental and therapeutic aspects. *Immunol. Today*, 2000, vol. 21, pp. 192–199.
11. Calder P. C. Fuel utilization by cells of the immune system. *Proc. Nutr. Soc.*, 1995, vol. 54, no 1, pp. 65–82.
12. Matarese G., La Cava A. The intricate interface between immune system and metabolism. *Trends Immunol.*, 2004, vol. 25, no 4. pp. 193–200.
13. Antonyak H. L., Snitynskyi V. V., Babych N. O., Iskra R. Ia., Buchko O. M. Kharakterystyka okremykh lanok enerhetychnoho metabolizmu ta antyoksydantnoi systemy v mieloidnykh klitynakh kistkovoho mozku i leukocytakh porosiat [Characteristics of some stages of energy metabolism and antioxidant system in bone marrow myeloid cells and leukocytes from piglets]. *Ukr. Biokhim. Zh. — Ukrainian biochemical journal*, 1999, vol. 71, no 3, pp. 44–50 (in Ukrainian).
14. Suganuma K., Miwa H., Imai N., Shikami M., Gotou M., Goto M. Energy metabolism of leukemia cells: glycolysis versus oxidative phosphorylation. *Leuk. Lymphoma*, 2010, vol. 51, no 11, pp. 2112–2119.
15. Brown E. J. Phagocytosis. *Bioessays*, 1995, vol. 17, no 2, pp. 109–117.
16. Boyum A. A. A one-stage procedure for isolation of granulocytes and lymphocytes from human blood. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1968, vol. 21, Suppl. 97, pp. 51–76.
17. Haynes R. A., Ware E., Premanandan C., Zimmerman B., Yu. L., Phipps A. J., Lairmore M. D. Cyclosporine-induced immune suppression alters establishment of HTLV-1 infection in a rabbit model. *Blood*, 2010, vol. 115, no 4, pp. 815–23.
18. Bergmeyer U., Grassl M. *Methods of Enzymatic Analysis*. Verlag Chemie: Weinheim-Deerfield Beach, Florida-Basel. 1983. 500 p.
19. El-Benna J., Dang P. M., Gougerot-Pocidallo M. A. Priming of the neutrophil NADPH oxidase activation: role of p47phox phosphorylation and NOX2 mobilization to the plasma membrane. *Semin. Immunopathol.*, 2008, vol. 30, no 3, pp. 279–289.
20. Beaver L. M., Stemmy E. J., Schwartz A. M., Damsker J. M., Constant S. L. Lung inflammation, injury, and proliferative response after repetitive particulate hexavalent chromium exposure. *Environ. Health Perspect.*, 2009, vol. 117, no 12, pp. 1896–1902.
21. Thompson C. M., Proctor D. M., Suh M, Haws L. C., Hébert C. D., Mann J. F. Comparison of the effects of hexavalent chromium in the alimentary canal of F344 rats and B6C3F1 mice following exposure in drinking water: implications for carcinogenic modes of action. *Toxicol. Sci.*, 2012, vol. 125, no 1, pp. 79–90.