

УДК 616.15+616.36]-06:616-099:546.711-019

**В.В.Петринич**Буковинський державний медичний  
університет, м. Чернівці**ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ПЕРОКСИДНОГО  
ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ОКИСНОЇ  
МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У КРОВІ ТА ПЕЧІНЦІ  
В СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ ІЗ РІЗНИМ  
ТИПОМ АЦЕТИЛЮВАННЯ ПРИ  
ІНТОКСИКАЦІЇ МАРГАНЦЮ ХЛОРИДОМ**

**Ключові слова:** ацетилювання, марганцю хлорид, окиснювальна модифікація білків, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист.

**Резюме.** Вивчено показники пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), антиоксидантного захисту (АОЗ) й окиснювальної модифікації білків (ОМБ) в крові та печінці в статевозрілих щурів за умов підгострого впливу марганцю хлориду з урахуванням типу ацетилювання та дози уведення. Встановлено, що більш виразні зміни ПОЛ, АОЗ та ОМБ у крові та печінці щурів при уведенні порогових та надпорогових доз марганцю хлориду спостерігаються у тварин із „швидким” типом ацетилювання.

**Вступ**

Визначення потенційно шкідливого впливу солей важких металів є особливо актуальним сьогодні у зв'язку з вираженим зростанням частоти різноманітної мультифакторної патології в структурі захворюваності в Україні, розвиток якої є результатом впливу на індивіда чинників довкілля та його генетичної схильності [4]. Ефекти впливу ксенобіотиків залежать від їх токсичності, дози, тривалості дії, віку організму, а також від його індивідуальної чутливості. Існує припущення, що маркером схильності до дії несприятливих факторів навколишнього середовища, зокрема солей важких металів, є тип ацетилювання [10].

Однак роль індивідуальної генетичної схильності, як причини чутливості організму до впливу токсичних сполук, у т.ч. важких металів, на сьогодні вивчена не достатньо, тому дослідження токсичного впливу марганцю хлориду ( $MnCl_2$ ) залежно від швидкості ацетилювання є актуальним завданням, вирішення якого дозволить визначити маркери схильності організму до дії вказаної сполуки.

**Мета дослідження**

Дослідити показники ПОЛ, АОЗ та ОМБ у крові та печінки у щурів за умов підгострого впливу  $MnCl_2$  з урахуванням типу ацетилювання, дози уведення та визначити можливі маркери схильності до розвитку шкідливих ефектів  $MnCl_2$ .

**Матеріал і методи**

Експериментальні дослідження проведені на білих конвенційних аутбредних статевозрілих

щурах-самцях, яких утримували на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води та в стабільних умовах віварію згідно з ОСТ 42 1-88 „Тварини лабораторні. Технологічний процес” з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин [11], що використовуються в експериментах та наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиви ЄС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. Кількість тварин у статистичній групі становила 6.

Визначення ацетилюючої здатності тварин проводили за допомогою амідопіринового тесту [9]. За кількістю виділених із сечею 4-аміноантипірину та N-ацетил-4-аміноантипірину дослідних тварин було розподілено на дві групи: „швидкі” та „повільні” ацетилятори.

Інтоксикацію  $MnCl_2$  моделювали шляхом його внутрішньошлункового (за допомогою зонда) уведення дослідним тваринам у дозах 0,5 мг/кг (1/1000 ДЛ50), 5 мг/кг (1/100 ДЛ50) та 50 мг/кг (1/10 ДЛ50) упродовж 28 діб. Контрольним групам тварин замість  $MnCl_2$  вводили водопровідну воду. Евтаназію щурів виконували через 24 години після останнього уведення речовин шляхом декапітації.

Інтенсивність окиснювальної модифікації білків (ОМБ) у крові щурів визначали за методом О.Ю.Дубініної та співавт. [8] у модифікації І.Ф.Мещишена [7]. Вміст у крові продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) – малонового альдегіду (МА) плазми та еритроцитів – визначали за методами Ю.А.Владимирова, А.І.Арчакова [2].

Активність глутатіонпероксидази (ГП) досліджували за методом І.Ф.Мецишена [6], каталази – за методом М.А.Корольок та співавт [5]. У гомогенаті печінки за стандартними методиками визначали інтенсивність ОМБ, вміст дієнових кон'югатів (ДК), МА, активність ГП та каталази [11].

Математичну обробку отриманих даних проводили з використанням пакетів прикладних програм „Microsoft® Excel® 2007”, „STATISTICA® 6.0” та „BioStat®”. При описанні кількісних ознак використовували параметричні та непараметричні методи. Статистичну обробку результатів дослідження проводили шляхом визначення середніх арифметичних величин (М) та стандартної похибки (m). Відмінність між вибірками вважалася статистично вірогідною при  $p < 0,05$ . Для виявлення наявності, характеру та сили зв'язку між факторами вираховували коефіцієнт рангової кореляції Спірмена – r.

### Обговорення результатів дослідження

За результатами нашого дослідження при уведенні  $MnCl_2$  у дозі 1/1000 ДЛ50 вірогідних змін показників ОМБ, ПОЛ та факторів антиоксидантного захисту (АОЗ) у крові та печінці щурів із „повільним” і „швидким” типами ацетилювання порівняно з контрольними групами не виявлено.

Уведення  $MnCl_2$  щурам у дозі 1/100 ДЛ50 впродовж 28 діб призводило до вірогідного зростання показників ПОЛ, АОЗ та ОМБ у крові (рис. 1). Так, у щурів із „повільним” типом ацетилювання рівень МА в еритроцитах зріс на 5,30 %, МА в плазмі – на 30,88 %, каталази – на 8,05 % порівняно з контролем. У щурів із „швидким” типом ацетилювання зміни перерахованих показників порівняно з контролем були більш виразними: вміст МА в еритроцитах вірогідно зріс на 6,76 % та на 38,42 % у плазмі, активність каталази зросла на 12,28 %, на 5,94 % вірогідно зріс рівень АКДНФГОХ (чого не спостерігалось у „повільних”). Тенденцію до зниження ГПО відзначали у тварин обох груп.

Зміна показників ПОЛ, фактори АОЗ та ОМБ у печінці щурів із різним типом ацетилювання при уведенні  $MnCl_2$  у дозі 1/100 ДЛ50 наведена на рис. 2. Вміст ДК у „повільних” та „швидких” ацетиляторів зростав на 13,8 % та 32,5 %, МА – на 20 % та 29,4 %, активність каталази – на 21,6 % та 29,4 % відповідно. У „повільних” та „швидких” ацетиляторів спостерігалось вірогідне зростання показників ОМБ. Так, рівні АКДНФГНХ та АКДНФГОХ підвищувалися у тварин із „повільним” типом ацетилювання на 23,1 % та 11,8 % відповідно, у „швидких” ацетиляторів – на 41,3 % та 26 % відповідно.

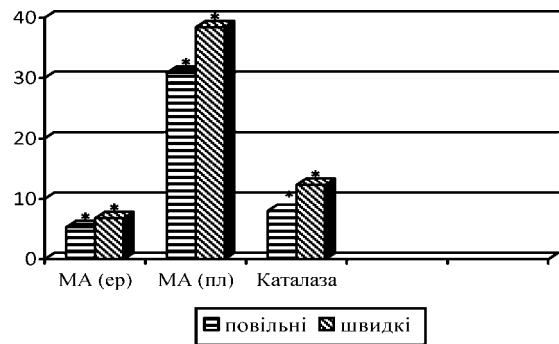


Рис. 1. Стан пероксидного окиснення ліпідів та факторів антиоксидантного захисту у крові щурів із різним типом ацетилювання при уведенні  $MnCl_2$  у дозі 1/1000 ДЛ50

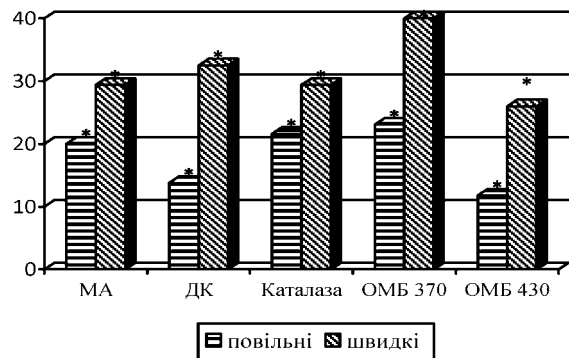


Рис. 2. Стан пероксидного окиснення ліпідів, факторів антиоксидантного захисту та окиснювальної модифікації білків у печінці щурів із різним типом ацетилювання при уведенні  $MnCl_2$  у дозі 1/100 ДЛ50

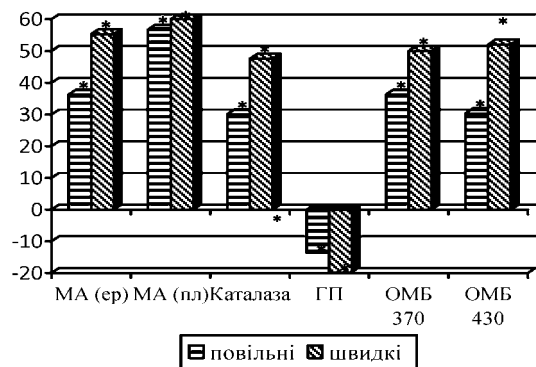


Рис. 3. Стан пероксидного окиснення ліпідів, факторів антиоксидантного захисту та окиснювальної модифікації білків у крові щурів із різним типом ацетилювання при уведенні  $MnCl_2$  у дозі 1/10 ДЛ50

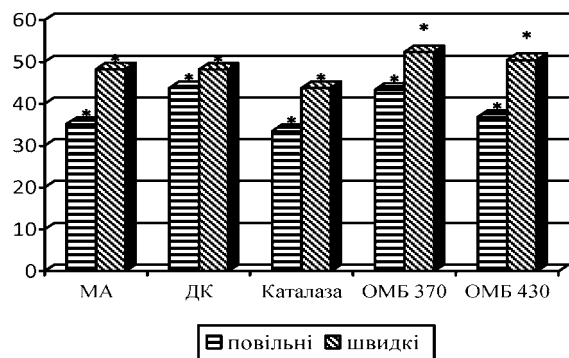


Рис. 4. Стан пероксидного окиснення ліпідів, факторів антиоксидантного захисту та окиснювальної модифікації білків у печінці щурів із різним типом ацетилювання при уведенні  $MnCl_2$  у дозі 1/10 ДЛ50

Збільшення дози токсиканта супроводжувалося ще більшим зростанням показників ПОЛ та ОМБ на фоні активації АОЗ із більш вираженими величинами в швидких ацетиляторів.

Так, у крові щурів із „повільним” типом ацетилювання при уведенні  $MnCl_2$  у дозі 1/10 ДЛ<sub>50</sub> спостерігалось зростання показників ПОЛ (рівень МА в еритроцитах зріс на 36,6 %, МА в плазмі – на 56,7 %). Відзначали вірогідне пригнічення ГПО на 13,6 % та зростання каталази – на 30,1 % порівняно з контролем. Вміст АКДНФГНХ та АКДНФГОХ збільшився на 36,4 % та 30,4 % відповідно (рис. 3).

У крові щурів із „швидким” типом ацетилювання зміни перерахованих показників порівняно з контролем були більш виразними: зріс вміст МА в еритроцитах та у плазмі – на 55,3 % і 60,2 % відповідно. Активність каталази збільшилася на 47,6 %, у той же час активність ГП вірогідно зменшилася на 19,7 %. Рівень АКДНФГНХ вірогідно зріс на 50 %, АКДНФГОХ – на 52 %.

У печінці щурів із „повільним” та „швидким” типами ацетилювання виявлено вірогідне зростання вмісту ДК (на 43,8 % та 48,2 % відповідно), МА (на 35,2 % та 48,3 % відповідно), каталази (на 33,5 % та 43,8 % відповідно), АКДНФГНХ (на 43,4 % та 52,4 % відповідно), АКДНФГОХ (на 36,9 % та 50,5 % відповідно) порівняно з контрольними групами, що свідчить про більш виразні зміни ПОЛ, АОЗ та ОМБ у щурів із „швидким” типом ацетилювання (рис. 4).

Проведення кореляційного аналізу між швидкістю ацетилювання та показниками ПОЛ, АОЗ та ОМБ у щурів, які отримували  $MnCl_2$  у дозі 1/100 ДЛ<sub>50</sub> виявило сильний прямий кореляційний зв'язок між швидкістю ацетилювання та вмістом АКДНФГНХ ( $r=0,82$ ,  $p<0,05$ ), ДК ( $r=0,82$ ,  $p<0,05$ ), МА ( $r=0,85$ ,  $p<0,05$ ) у печінці; прямий кореляційний зв'язок середньої сили між швидкістю ацетилювання та рівнем МА в плазмі ( $r=-0,61$ ,  $p<0,05$ ), активністю каталази в крові ( $r=0,68$ ,  $p<0,05$ ) та печінці ( $r=0,63$ ,  $p<0,05$ ), показником АКДНФГОХ у печінці ( $r=0,70$ ,  $p<0,05$ ). У щурів, яким вводили  $MnCl_2$  у дозі 1/10 ДЛ<sub>50</sub> встановлено наявність сильного прямого кореляційного зв'язку між швидкістю ацетилювання та рівнем АКДНФГНХ ( $r=0,87$ ,  $p<0,05$ ), АКДНФГОХ ( $r=0,87$ ,  $p<0,05$ ), активністю каталази ( $r=0,87$ ,  $p<0,05$ ) у крові; прямого кореляційного зв'язку середньої сили між швидкістю ацетилювання та вмістом МА в еритроцитах ( $r=0,61$ ,  $p<0,05$ ); прямого кореляційного зв'язку помірної сили між швидкістю ацетилювання та показником АКДНФГОХ ( $r=0,43$ ,  $p<0,05$ ), вмістом ДК ( $r=0,43$ ,  $p<0,05$ ), МА ( $r=0,43$ ,  $p<0,05$ ), активністю каталази ( $r=0,43$ ,  $p<0,05$ ) у печінці.

Отже, наше дослідження підтверджує той факт, що солі марганцю володіють прооксидантною активністю [1]. При уведенні порогових та надпорогових доз вказаного ксенобіотика в крові та печінці статевозрілих щурів як із „повільним”, так і з „швидким” типами ацетилювання спостерігалось зростання показників ПОЛ, ОМБ, зниження активності ГП та компенсаторне збільшення активності каталази.

Існує припущення, що маркером схильності до дії несприятливих факторів навколишнього середовища, зокрема солей важких металів, може бути „швидкий” тип ацетилювання. Встановлено, що при різноманітних нефропатіях в умовах забруднення навколишнього середовища важкими металами, домінуючим є саме „швидкий” тип [10]. У дослідженні Л.І.Власика та співавт. встановлено, що при гігієнічній оцінці підгострого впливу хлориду кадмію та нітрату натрію за біохімічними критеріями біомаркером схильності є „повільний” тип ацетилювання в молодих тварин та „швидкий” тип – у дорослих та старих [3].

У нашому дослідженні на користь більшої схильності до токсичної дії  $MnCl_2$  у швидких ацетиляторів свідчить більш виражене зростання в них показників ПОЛ, АОЗ та ОМБ у крові та печінці, що підтверджується також даними кореляційного аналізу між швидкістю ацетилювання та цими показниками.

Таким чином, визначення біомаркерів схильності у тварин із різним типом ацетилювання за умов інтоксикації  $MnCl_2$  є актуальним і надасть можливість визначити найбільш чутливі групи серед населення з подальшою розробкою їх захисту.

## Висновки

1. Інтоксикація марганцю хлоридом у „повільних” та „швидких” статевозрілих щурів супроводжується зростанням показників окиснювальної модифікації білків, пероксидного окиснення ліпідів та різноспрямованими змінами антиоксидантного захисту.

2. Дозозалежне зростання окиснювальної модифікації білків на фоні активації пероксидного окиснення ліпідів та різноспрямованих змін антиоксидантного захисту в крові та печінці швидше з'являється та більш виразне в тварин із „швидким” типом ацетилювання.

3. Тварин із швидким типом ацетилювання можна вважати більш схильними до токсичної дії порогових та надпорогових доз марганцю хлориду.

## Перспективи подальших досліджень

Полягають у вивченні захисного впливу кверцетину за умов підгострого впливу хлориду марганцю в щурів із різним типом ацетилювання.

**Література.** 1. Вклад прооксидантного компонента в механизмы токсичности тяжелых металлов и марганца / В.В.Петров, П.П.Подосиновичева, Л.Г.Кубарская [и др.] // Токсикол. вестник. – 2004. – № 1. – С. 12-15. 2. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А.Владимиров, А.И.Арчаков. – М.: Наука, 1972. – 252 с. 3. Власик Л.І. Гігієнічне значення типу ацетилювання як біомаркера схильності до шкідливого впливу нітрату натрію та хлориду кадмію у тварин різних вікових груп / Л.І.Власик, Т.І.Кметь, О.Г.Кметь // Клін. та експер. патологія. – 2006. – Т. 5, № 4. – С. 14-17. 4. Гнатейко О.З. Екогенетичні аспекти патології людини, спричиненої впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища / О.З.Гнатейко, Н.С.Лук'яненко // Безпека життєдіяльності. – 2008. – № 5-6. – С. 32-38. 5. Метод определения активности каталазы / М.А.Королюк, Л.И.Иванова, И.Г.Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19. 6. Мещишен И.Ф. Метод определения активности глутатионтрансферазы в крови / И.Ф.Мещишен // В кн.: Применение ферментов в медицине. – Симферополь, 1987. – С. 135-136. 7. Мещишен И.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків (сироватки) крові / І.Ф. Мещишен // Бук. мед. вісник. – 1998. – Т. 2, № 1. – С. 156-158. 8. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов [и др.] // Вопр. мед. химии. – 1995. – Т. 41, № 1. – С. 24-26. 9. Попов Т.А. Метод оценки активности оксидаз печени / Т.А.Попов, О.Б.Леоненко // Гигиена и санитария. – 1977. – № 9. – С. 56-59. 10. Соблирова Ж.Х. Быстрый тип ацетилювання – возможный маркер предрасположенности к заболеваниям органов мочевой системы / Ж.Х.Соблирова, Е.А.Харина // Нефрология и диализ. – 1999. – Т. 1, № 1. – С. 14-17. 11. Су-часні методики експериментальних та клінічних досліджень Центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії / [В.М.Магальяс, А.О.Міхєєв, Ю.Є.Роговий та ін.] – Методичний посібник. – Чернівці: БДМА, 2001. – 42 с. 12. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasbourg [18 March, 1986]: Council of Europe, 1986. – 51 p.

**ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В КРОВИ И ПЕЧЕНИ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС С РАЗЛИЧНЫМ ТИПОМ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ МАРГАНЦА ХЛОРИДОМ**

*В.В.Петринич*

**Резюме.** Изучено показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ), антиоксидантной защиты (АОЗ) и окислительной модификации белков (ОМБ) в крови и печени половозрелых крыс в условиях подострого влияния марганца хлорида с учетом типа ацетилювання и дозы введения. Установлено, что более выразительные изменения ПОЛ, АОЗ и ОМБ в крови и печени крыс при введении пороговых

и сверхпороговых доз марганца хлорида наблюдаются у животных с „быстрым” типом ацетилювання.

**Ключевые слова:** ацетилювання, марганца хлорид, окислительная модификация белков, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита.

UDC 616.15+616.36]-06:616-099:546.711-019

**PECULIARITIES OF CHANGES OF LIPID PEROXIDATION AND PROTEINS OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN THE BLOOD AND LIVER OF SEXUALLY MATURE RATS WITH DIFFERENT TYPE OF ACETYLATION IN POISONINGS MANGANESE WITH CHLORIDE**

*V.V.Petrynych*

**Purpose:** Explore indices of lipid peroxidation (LPO), antioxidant protection (AOD) and oxidative modification of proteins (OMP) in the blood and liver of rats under subacute exposure MnCl<sub>2</sub> with the type of acetylation, dose input and identify possible markers of susceptibility to harmful effects of MnCl<sub>2</sub>.

**Design / approach:** Experimental studies were carried out on white conventional outbred mature male rats, which were divided into two groups: «fast» and «slow» atsetylatory by amidopyrin test. Intoxication of MnCl<sub>2</sub> was modeled by its intragastric administration to experimental animals at doses of 0,5 mg / kg (1/1000 DL50), 5 mg / kg (1/100 DL50) and 50 mg / kg (1/10 DL50) for 28 days. Control groups of animals injected tap water instead of MnCl<sub>2</sub>.

**Results:** Intoxication by manganese chloride in the «slow» and «fast» mature rats is accompanied by increase of indices of LPO, OMP and multidirectional changes AOD. Found that the more expressive changes LPO, AOD and OMP in the blood and liver of rats with the introduction of threshold and supra-threshold doses of manganese chloride was observed in animals with «fast» type of acetylation.

**Conclusion:** Animals with «fast» type of acetylation can be considered to be more susceptible to toxic effects of threshold doses and nadporohovyh MnCl<sub>2</sub>.

**Key words:** acetylation, manganese chloride, oxidative modification of proteins, lipid peroxidation, antioxidant protection.

**Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)  
Theatre Sq., 2  
Chernivtsi  
UA-58002  
Ukraine  
petrynych.volodymyr@bsmu.edu.ua**

*Clin. and experim. pathol. - 2012. - Vol.11, №3(41). - P.80-83.*

*Надійшла до редакції 25.08.2012*

*Рецензент – проф. С.С.Ткачук*

*© В.В.Петринич, 2012*