

УДК 577.1:597

О. В. Гончаренко,  
Г. О. Семко, канд. біол. наук,  
О. О. Гладка

## ВПЛИВ ІОНІВ МАРГАНЦЮ НА МЕМБРАНИ ЕРИТРОЦИТІВ ЩУРІВ

Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна

Одне з найважливіших завдань — вивчення відповідної реакції організму на іони важких металів, які при підвищених концентраціях виявляють токсичну дію, впливаючи на найрізноманітніші фізіологічні процеси. Дана проблема має очевидне практичне значення і пов'язана з дедалі зростаючим забрудненням навколишнього середовища важкими металами.

Вплив солей важких металів може призводити до кількісних і якісних змін складу крові [1]. Попередніми нашими дослідженнями встановлено значне підвищення у довірлі вмісту важких металів і низки мікроелементів, які зараховують до есенціальних [2]. Прикладом такого мікроелемента є марганець. Останній належить до числа «пріоритетних» забруднювачів, що пояснюється його високою токсичністю, здатністю нагромаджуватися в організмі людини, а також повсюдною присутністю в навколишньому середовищі. Механізми такої токсичності пов'язані з втратою організмом кальцію — конкурента марганцю, зменшенням абсорбції та метаболізму заліза, що призводить до зниження синтезу гемоглобіну. Марганець у великих дозах змінює метаболізм глюкози, впливає на гліколіз [3].

Різноманітні прояви хронічної марганцевої інтоксикації вивчені недостатньо. Марганець може виявляти виражену токсичну дію на систему крові. Тому

зіставлення результатів експериментальних досліджень токсичності важких металів на організм із результатами їх прямих токсичних ефектів на клітини крові (зокрема еритроцити) у модельних дослідах *in vitro* є актуальним. При дії солей марганцю можуть створюватися умови для інтенсивного вироблення продуктів вільнорадикального окиснення, що призводять до розвитку оксидативного стресу і, отже, до окисної деструкції клітинних мембран [4].

Тому метою роботи стало дослідження впливу хлориду марганцю на поверхневі властивості еритроцитів щурів, стійкість еритроцитарних мембран до спонтанного гемолізу й інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ).

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводилися на щурах-самцях лінії Вістар масою 180–250 г. Розчиняли  $MnCl_2$  у 0,9%-му розчині  $NaCl$  і вводили внутрішньом'язово розчин хлориду марганцю з еквівалентною кількістю марганцю (5 мг на 100 г маси). Контрольним тваринам вводили фізіологічний розчин. Доза марганцю, що застосовувалася в експерименті, була токсичною для щурів і розраховувалася, виходячи з відомої з літератури  $LD_{50}$  [5]. Визначали спонтанний гемоліз еритроцитів за методом [6], активність аспаратамінотрансферази гепатоцитів — за

методом Райтмана — Френкеля («Філісит-Діагностика»). Про інтенсивність перекисного окиснення судили за рівнем вторинного продукту ПОЛ–ТБК-активних продуктів у сироватці та гепатоцитах щурів, що визначали за методом [7], і швидкістю нагромадження малонового діальдегіду (МДА) в гепатоцитах при індукції ПОЛ прооксидантною системою аскорбат/ $Fe^{2+}$  [8].

При дослідженні впливу катіонів марганцю на поверхню клітин як модельна тест-система були вибрані еритроцити. Еритроцити є зручною й адекватною моделлю клітинних мембран, тому що це без'ядерні клітини і процедура їх отримання досить проста [9]. У короткострокових модельних дослідах *in vitro* досліджували прямий токсичний вплив хлориду марганцю на сорбційну ємність глікокаліксу еритроцитів до альціанового синього (СЕГАС). Клітини інкубували із солями марганцю у хронічній ( $10^{-7}$  М) і субтоксичній ( $10^{-5}$  М) дозах 20 хв, потім у них визначали СЕГАС за методом [10]. Як контроль використовували ці ж еритроцити, які інкубували в аналогічних умовах з відповідним за обсягом 0,9%-м розчином хлориду натрію. Вибір концентрації катіонів марганцю проводили за результатами біомоніторингу їх вмісту у сироватці крові щурів у динаміці моделювання відповідних інтоксикацій у дослідах *in vivo*.

Нами використовувався альціановий синій — катіонний барвник фталоціанінової групи. Він здатний зв'язуватися з гліколіпідами, глікопротеїдами і кислими мукополісахаридами. У низькій концентрації (у нашому випадку 0,005%-й розчин) він не ушкоджує клітини, не проникає у цитоплазму і сорбується глікокаліксом клітини в кількості, пропорційній вмісту в ньому білків і вуглеводів.

Результати піддавалися статистичній обробці стандартними програмами. Статистичну достовірність результатів оцінювали, використовуючи t-критерій Стьюдента.

### Результати дослідження та їх обговорення

Середнє значення СЕГАС еритроцитів становило  $(47,6 \pm 1,9) \%$ . Після інкубації еритроцитів із катіонами марганцю у хронічній концентрації відбувалося достовірне збільшення сорбційної ємності еритроцитів ( $p < 0,05$ ) щодо показника контролю і дорівнювало  $(56,7 \pm 2,2) \%$ . Середнє значення СЕГАС еритроцитів після інкубації з катіонами марганцю в субтоксичній дозі становило  $(53,4 \pm 1,8) \%$ , що також достовірно перевищувало контрольний показник. Можливо, при інкубації еритроцитів із солями марганцю відбувається ушкодження клітин і змінюються їхні сорбційні властивості, що проявляється у посиленні інтенсивності забарвлення клітин барвником. Відомо, що при багатьох патологічних процесах спостерігається порушення структурно-функціональних властивостей мембран еритроцитів і збільшення їх сорбційної ємності [11].

При дослідженні впливу солей марганцю на гемолітичні властивості еритроцитів щурів виявлено, що марганцеве навантаження істотно впливає на осмотичну резистентність еритроцитів. Рівень спонтанного гемолізу еритроцитів, порівняно з контролем, достовірно збільшується на 42 %. Відомо, що осмотична стійкість клітинних мембран — важливий інтеграль-

ний показник бар'єрної та транспортної функції клітини, що визначає її функціональну активність. Також нами було показано, що введення в організм тварин хлориду марганцю викликає достовірне зниження активності аспартатамінотрансферази (АсАТ) у печінці щурів (табл. 1). Отже, навантаження солями марганцю викликає ушкодження клітин, що може бути наслідком окисної деградації плазматичних мембран. Дослідження вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці та печінці щурів свідчить, що іони марганцю індукують ПОЛ (див. табл. 1). Нагромадження МДА у клітинах після введення солей марганцю може бути наслідком як різкого збільшення швидкості утворення, так і зниження виведення і руйнування у них вторинних продуктів ПОЛ. У нормі функціонує механізм, що обмежує вміст МДА в організмі через посилення його деградації при підвищеній швидкості утворення.

Комплекс аскорбат/ $Fe^{2+}$  — загальновізнана прооксидантна система, що викликає при певних концентраціях *in vitro* ініціацію окиснення ліпідів і білків. Інтенсивність індукованого прооксидантною системою аскорбат/ $Fe^{2+}$  ПОЛ у печінці щурів після введення  $MnCl_2$  було достовірно підвищено порівняно з контролем (див. табл. 1).

Отже, надходження в організм іонів марганцю активує в організмі процеси ПОЛ у тканинах і розвиток оксидативного стресу. Відомо, що активація ПОЛ знижує міцність еритроцитарної мембрани. Ключовим процесом, відповідальним за зменшення осмотичної резистентності еритроцитів, є перекисне окиснення мембранних ліпідів. Продукти ПОЛ виявляють високий токсичний вплив на клітини і викликають лізис еритроцитів. Раніше нами було показано, що під дією навантаження хлоридом марганцю відбуваються зміни у вмісті макро- і мікроелементів у органах і тканинах щурів, що вказує не тільки на кількісні зміни елементів, їх перерозподіл, але й на серйозні порушення у процесах регуляції іонного гомеостазу організму в цілому [12].

Таким чином, дія хлориду марганцю спричинює нагромадження вторинного продукту ПОЛ–МДА й одночасне ушкодження клітин (зміна сорбційної ємності клітин, зниження активності аспартатамінотрансферази й осмотичної стійкості еритроцитів), тобто вплив марганцю створює умови для інтенсивного вироблення продуктів вільнорадикального окиснення, що призводять до розвитку оксидативного стресу і, отже, до окисної деструкції клітинних мембран.

Таблиця 1

### Вміст ТБК-активних продуктів і активність аспартатамінотрансферази у сироватці крові та печінці щурів до і після введення $MnCl_2$ , $M \pm m$ , $n=10$

Показник	Досліджувана група	
	Контроль	Навантаження $MnCl_2$
ТБК-активні продукти, нмоль МДА/мг білка		
Сироватка крові спонтанне ПОЛ	$0,79 \pm 0,09$	$1,13 \pm 0,11^*$
Печінка	спонтанне ПОЛ	$0,25 \pm 0,04$
	індуковане ПОЛ	$0,32 \pm 0,04$
		$0,51 \pm 0,03^{**}$
		$0,59 \pm 0,06^{**}$
Активність АсАТ, мкг ПВ/хв на 1 мг білка		
Печінка	$34,8 \pm 4,2$	$21,1 \pm 3,2^*$

Примітка. \* —  $p < 0,05$  щодо контролю, \*\* —  $p < 0,01$  щодо контролю.

## Висновки

Проведені дослідження свідчать про те, що визначальну роль у механізмі токсичної дії катіонів марганцю відіграє ушкодження мембран, і в першу чергу — їх поверхневих властивостей. Ці порушення можуть бути наслідком подій, що ведуть до дестабілізації мембран, серед яких провідне місце посідає активація окиснювальних процесів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Особенности* возрастных реакций нейтрофилов периферической крови крыс при воздействии низких доз соединений ртути, свинца и марганца / Л. М. Краснокутская, В. А. Стежка, Л. А. Легкоступ [и др.] // *Сучасні проблеми токсикології*. – 2004. – № 2. – С. 24–28.
2. *Влия* екологічних чинників на стан мінерального обміну у школярів міст Запоріжжя і Харкова та шляхи його корекції / М. С. Гончаренко, О. О. Коновалова, О. В. Гончаренко [та ін.] // *Людина та навколишнє середовище — проблеми безперервної екологічної освіти в вузах* : наук.-практ. конф. Одеса, 21–24 вересня 2004 р. : зб. наук. праць. – Одеса, 2004. – С. 107–109.
3. *Тихонов М. Н.* Металлоаллергены: общая характеристика и оценка неблагоприятного воздействия на здоровье работающих / М. Н. Тихонов, В. Н. Цыган // *Современная медицина*. – 2004. – № 2. – С. 23–76.
4. *Вклад* прооксидантного компонента в механизмы токсичности тяжелых металлов и марганца / В. В. Петров, П. П. Подосиновичова, Л. Г. Кубарская [и др.] // *Токсикологический вестник*. – 2004. – № 1. – С. 12–15.
5. *Лабораторные* животные / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария [и др.]. – К. : Вища шк., 1983. – 388 с.
6. *Горячковский А. М.* Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А. М. Горячковский. – Одесса : Экология, 2005. – С. 325.
7. *Ohkawa H.* Assay for peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ohani, K. Jodi // *Anal. Biochem.* – 1979. – Vol. 95, N 2. – P. 351–358.
8. *Владимиров Ю. А.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Наука, 1972. – С. 241–243.
9. *Рязанцева Н. В.* Типовые нарушения молекулярной организации мембраны эритроцита при соматической патологии / Н. В. Рязанцева, В. В. Новицкий // *Успехи физиологических наук*. – 2004. – Т. 35, № 1. – С. 53–65.
10. *Арцишевская Р. А.* Функциональные и структурные изменения поверхности эритроцитов человека после облучения УФ лучами разной длины волны / Р. А. Арцишевская, К. А. Самойлова // *Цитология*. – 1983. – Т. 25, № 12. – С. 1387–1392.
11. *Гунина Л. М.* Роль изменений структурно-функционального состояния мембран эритроцитов в развитии анемии у больных раком желудка / Л. М. Гунина, А. П. Кабак, В. Б. Коробко // *Онкология*. – 2000. – Т. 2, № 4. – С. 247–249.
12. *Гончаренко А. В.* Влияние нагрузки хлоридом марганца на элементный состав в органах и тканях крысы линии Вистар / А. В. Гончаренко // *Валеология: сучасний стан, напрямки та перспективи розвитку* : 9-та наук.-практ. конф. Харків, 31 березня–3 квітня 2011 р. : зб. наук. праць. – Харків, 2011. – С. 15–18.

УДК 577.1:597

О. В. Гончаренко, Г. О. Семко, О. О. Гладка

### ВПЛИВ ІОНІВ МАРГАНЦЮ НА МЕМБРАНИ ЕРИТРОЦИТІВ ЩУРІВ

Вивчено вплив іонів марганцю на мембрани еритроцитів щурів. Показано, що при дії іонів марганцю підвищується сорбційна ємність глікокаліксу еритроцитів і збільшується рівень спонтанного гемолізу. При навантаженні хлоридом марганцю у щурів відбувається нагромадження вторинного продукту ПОЛ–МДА. Проведені дослідження свідчать, що визначальну роль у механізмі токсичної дії катіонів марганцю відіграє ушкодження мембран.

**Ключові слова:** марганець, глікокалік, еритроцити, окиснення.

UDC 577.1:597

O. V. Goncharenko, G. O. Semko, O. O. Gladka

### MANGANESE IONS EFFECTS ON THE ERYTHROCYTE MEMBRANES OF RATS

The effect of manganese ions on the erythrocyte membranes of rats was studied. It is shown that when exposed to manganese ions there is observed increase in sorption capacity of red blood cell glycocalyx and increased levels of spontaneous hemolysis. At a load of manganese chloride in rats there is an accumulation of secondary products of lipid peroxidation — MDA. Studies suggest that a decisive role in the mechanism of toxic action of manganese cations is rupture of membranes.

**Key words:** manganese, glycocalyx, red blood cells, oxidation.

УДК 001.891:[616.24+577.114-021.632:599.323.4]

А. О. Данилова

## ВПЛИВ ВИСОКОВУГЛЕВОДНИХ ПРЕПАРАТІВ З ПРОБІОТИЧНИМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ НА СТАН ЩУРІВ З АЛОКСАНОВИМ ДІАБЕТОМ

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

Розвиток цукрового діабету (ЦД) пов'язаний із формуванням абсолютної (при ЦД 1 типу) або відносної (при ЦД 2 типу) недостатності інсуліну,

що спричинює прогресування захворювання. При подальшому його розвитку ця недостатність стає змішаною незалежно від типу ЦД [1], викликає пору-

шення обміну речовин, яке призводить до різних ускладнень [2]. Вивчення можливості корекції стану основних фізіологічних показників при діабеті є