

А. В. Гончаренко, М. С. Гончаренко  
**МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ТОКСИЧЕСКИХ  
КОНЦЕНТРАЦИЙ МАРГАНЦА НА КЛЕТОЧНОМ И СУБКЛЕТОЧНОМ  
УРОВНЯХ**

*Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина*

Изучено действие субтоксических концентраций хлорида марганца в дозе соответствующей ЛД<sub>50</sub> на состояние плазматических мембран (модель эритроциты) и функциональную активность энергетического аппарата клетки (модель — изолированные митохондрии печени крыс). Установлено, что хлорид марганца в исследуемых концентрациях вызывает достоверное увеличение сорбционной емкости эритроцитов к альциановому синему, рост их спонтанного гемолиза и активацию перекисного окисления липидов. В эксперименте на изолированных митохондриях установлено, что хлорид марганца вызывает разобщение окислительного фосфорилирования и полное ингибирование дыхания в концентрациях 3 и 4,5 мМ; выявленные зависимости свидетельствуют, что субтоксические концентрации марганца повреждают энергетику клетки. Проведенные экспериментальные исследования доказывают повреждающее действие марганца на клеточном (эритроциты) и субклеточном (митохондрии) уровнях, которые реализуются через наружное функционирование мембранных структур, лишая их возможности к самовосстановлению.

*Ключевые слова: субтоксические концентрации MnCl<sub>2</sub>, эритроциты, митохондрии печени, мембранотропный эффект.*

О. В. Гончаренко, М. С. Гончаренко  
**МЕХАНІЗМИ ПОШКОДЖУЮЧОЇ ДІЇ ТОКСИЧНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ  
МАРГАНЦЮ НА КЛІТИННОМУ І СУБКЛІТИННОМУ РІВНЯХ**

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна*

Вивчено дію субтоксичних концентрацій хлориду марганцю в дозі відповідної ЛД<sub>50</sub> на стан плазматичних мембран (модель еритроцити) і функціональну активність енергетичного апарату клітки (модель - ізольовані мітохондрії печінки щурів). Встановлено, що хлорид марганцю в досліджуваних концентраціях викликає достовірне збільшення сорбційної ємності еритроцитів до альціанового синього, зростання їх спонтанного гемолізу і активацію перекисного окислення ліпідів. В експерименті на ізольованих мітохондріях встановлено, що хлорид марганцю викликає роз'єднання окисного фосфорилування і повне інгібування дихання в концентраціях 3 і 4,5 мМ. Виявлені залежності свідчать, що субтоксичні концентрації марганцю ушкоджують енергетику клітини. Проведені експериментальні дослідження довели шкідливу дію марганцю на клітинному (еритроцити) і субклітинному (мітохондрії) рівнях, які реалізуються через зовнішнє функціонування мембранних структур, позбавляючи їх можливості до самовідновлення.

*Ключові слова: субтоксичні концентрації MnCl<sub>2</sub>, еритроцити, мітохондрії печінки, мембранотропний ефект.*

A. V. Goncharenko, M. S. Goncharenko  
**MECHANISMS OF DAMAGING EFFECT OF MANGENESE IN TOXIC  
CONCENTRATIONS ON CELLULAR AND SUBCELLULAR LEVELS**

*Kharkiv National University named after V. N. Karazin*



Influence of subtoxic concentration of manganese chloride in dose equal to LD<sub>50</sub> on condition of plasmatic membranes (model: erythrocytes) and functional activity of cell power (model: the isolated liver mitochondrion of rats) was studied. It was established that manganese chloride in fixed concentration caused authentic augmentation of sorption capacity of erythrocytes towards alcian blue, influenced increasing of their spontaneous haemolysis and activation of peroxide oxidation of lipids. In experiment on the isolated mitochondrion it was proved that manganese chloride caused dissociation of an oxidizing phosphorusling and complete inhibition of respiration in concentrations of 3 and 4,5 mM. These dependences testify that subtoxic concentration of manganese can damage the cell energy. Thus, this pilot research indicated damaging effect of manganese on cellular (erythrocytes) and subcellular (mitochondrion) levels which are realized through external functioning of membrane structures and deprived them from restoration.

*Keywords: subtoxic concentration of MnCl<sub>2</sub>, erythrocytes, liver mitochondrion, membrane-acting effect.*

С физиологической точки зрения марганец относится к полезным, жизненно необходимым (эссенциальным) микроэлементам, активно влияющим на процессы обмена белков, жиров и углеводов в организме человека (Авцин и др., 1991). Как и все элементы, Mn имеет характерный диапазон безопасной экспозиции, который обеспечивает оптимальные тканевые концентрации; с другой стороны, у него есть свой токсический диапазон. В основе биохимических механизмов элементного обмена в организме человека лежат свойства синергизма, антагонизма, конкуренции и замещения, которые осуществляются при изменении концентрации элементов окружающей среды (Скальный и др., 1991; Агаджанян и др., 2001; Skalny, 1999).

Предыдущими нашими исследованиями было доказано, что в ряде областей Украины наблюдается повышенное содержание этого элемента в воде и почве (Гончаренко и др., 2004). Параллельное обследование детей, проживающих в этих регионах, выявило достоверное превышение ПДК марганца у них в слюне (Гончаренко и др., 2004). Вопрос о том, как влияет повышение концентрации Mn в организме человека на его развитие и состояние здоровья, остается открытым. В то же время, аналогичные зависимости между содержанием Mn в окружающей среде и организме проживающих в этих регионах людей были выявлены московскими учеными. Более того, отмечена взаимосвязь между повышением содержания Mn в сыворотке крови матери и новорожденного ребенка (Скальный и др., 1991; Агаджанян и др., 2001); в регионах с повышенным содержанием Mn в окружающей среде наблюдается более частое рождение умственно отсталых детей (Агаджанян и др., 2001; Skalny, 1999; Скальный и др., 1991).

Ряд исследователей связывают увеличение содержания марганца в среде проживания и организме людей с развитием у них зоба (Антонов, Ефремов, 1999). Наше внимание привлекли исследования ученых–медиков, которые отмечают увеличения количества неврологических расстройств, называемых марганцевым паркинсонизмом, у молодых людей, которые употребляют психостимуляторы, кустарно приготовленные на основе эфедроноподобных препаратов и перманганата калия (Волошина и др., 2000). По их мнению, основной токсический эффект при избыточном его потреблении проявляется в поражении центральной нервной системы, что позволяет отнести повышение концентрации марганца к числу нейротропных ядов, способных вызвать развитие наиболее тяжелой формы нейротоксикоза.

Отсутствие знаний о действии на организм повышенных, а порой и токсических концентраций ионов марганца приводит к тому, что независимо от содержания Mn в среде проживания все дети и взрослые для оздоровления получают витаминно–минеральные комплексы, содержащие суточную дозу Mn. Такие комплексы, как Виталюкс (США), Витрум (США), Гериавит (Швейцария), Гериамин (Россия), Капли Береша (Венгрия) и др. помимо различных витаминов и минералов содержат в составе активного вещества от 1 мг до 3 мг марганца (Скальный и др., 1991). И назначаются эти витаминно–минеральные комплексы без учета уже имеющейся элементной нагрузки, что может привести к необратимым повреждениям организма. Можно предположить, что повышение содержания микроэлемента Mn в окружающей среде выше ПДК является опасным для здоровья человека, как и чрезмерное его получение с пищей, витаминами и БАД.

К сожалению, в научной литературе исследование механизмов токсического действия повышенных концентраций Mn на организм человека освещены недостаточно. Для выяснения влияния субтоксических концентраций марганца на организм человека нами были предприняты модельные исследования, т. к. проводить такие эксперименты на людях невозможно. Предполагалось изучить действия субтоксической дозы хлорида марганца на следующих моделях:

- эритроцитарной, позволяющий оценить состояние плазматической клеточной мембраны под действием  $MnCl_2$  в концентрации ЛД<sub>50</sub>;
- изолированных митохондрий печени крыс, позволяющих определить действие хлорида марганца на энергетический потенциал клетки.

Цель исследований состояла в экспериментальном изучении влияния субтоксических концентраций хлорида марганца на клеточном и субклеточном уровнях.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В модельных опытах *in vitro* исследовали прямое токсическое влияние хлорида марганца в концентрациях  $10^{-7}$  М и  $10^{-5}$  М на сорбционную емкость гликокаликса эритроцитов к альциановому синему (СЕГАС). Инкубация осуществлялась 20 мин, после чего определяли СЕГАС по сравнению с контролем (Арцишевская, Самойлова, 1983). Интенсивность ПОЛ в гомогенатах печени крыс определяли по скорости накопления малонового диальдегида, содержание ТБК-активных продуктов – спектрофотометрически (Ohkawa, 1979). Гемолиз эритроцитов определяли по методу Ятера. Содержание белка – по методу Лоури в модификации Миллера (Владимиров, Арчаков, 1972). Полученные данные обрабатывали статистически.

Влияние токсических доз хлорида марганца на энергетику клетки проводили на изолированных митохондриях печени крыс. Митохондрии выделяли при помощи дифференциального центрифугирования как описано в работе Маслова (1975) в среде 0,3 М сахарозы и 2 мМ ЭДТА 10 мМ Tris – HCl (Imberti, 1993).

Оценка дыхательных параметров митохондрий выполнялась с помощью закрытого платинового электрода Кларка в термостатируемой ячейке объемом 1 мл при 26° С на полярографе «Rank Brother» model 20 (Великобритания), соединенным с персональным компьютером. Субстрат дыхания – малат (5 мМ) и глутамат (5 мМ). Окислительное фосфорилирование инициировали добавкой АДФ (250 мкМ), разобщение дыхания и фосфорилирования вызывали 2-4 ДНФ (1000 мкМ) или хлоридом марганца (1,5-4,5 мМ), который готовили на среде измерения. Среда для полярографического измерения содержала 200 мМ маннита, 50 мМ сахарозы, 1 мМ



ЭДТА, 10 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 30 мМ Tris – HCl (Ph 7,4 при 26° C). Расчет скоростей дыхания выполняли по Чансу. Скорость дыхания выражалась в нмоль  $\text{O}_2$ /мг белка/ мин.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

*Эритроцитарная модель.* Исследование влияния катионов марганца на поверхность плазматической мембраны эритроцитов проводилась при инкубации красных кровяных клеток в течении 20 мин. в присутствии  $10^{-7}\text{M}$  и  $10^{-5}\text{M}$   $\text{MnCl}_2$  и альцианового синего. После завершения инкубации проводилось определение сорбционной емкости эритроцитов к альциановому синему (СЕГАС) под действием марганцевой интоксикации в сравнении с контролем (табл. 1).

Как следует из представленных данных, после инкубации эритроцитов с обеими концентрациями  $10^{-7}\text{M}$  и  $10^{-5}\text{M}$   $\text{MnCl}_2$  наблюдается достоверное увеличение их сорбционной емкости. Возможно взаимодействие с ионами марганца изменяет сорбционные свойства гликокаликса клеток, что проявляется в усилении их окрашивания красителем и изменении (нарушении) функциональных и физиологических свойств клеток. Изменение поверхности эритроцитов после нагрузки солями марганца могут быть следствием окислительной деградации плазматических мембран, так как марганец является сильным окислителем.

Таблица 1

Влияние субтоксических концентраций хлорида марганца на сорбционную емкость гликокаликса эритроцитов к альциановому синему.

Контроль без марганца	Инкубация с $\text{MnCl}_2$ $10^{-7}\text{M}$	Инкубация с $\text{MnCl}_2$ $10^{-5}\text{M}$
47,6±1,9%	56,7±22%	53,4±1,8%
По отношению к контролю	P<0,05	P<0,05

Исследование уровня ТБК-активных продуктов в печени крыс подтвердило мнение о возможной активации ПОЛ после введения солей марганца (табл. 2). Интенсивность аскорбат-зависимого ПОЛ после введения  $\text{MnCl}_2$  также достоверно повышается по сравнению с контролем.

Таблица 2

Содержание ТБК – активных продуктов в печени крыс.

Исследуемые группы	ТБК – активные продукты нмоль МДА/мг белка	Индукция ПОЛ нмоль МДА/мг белка
Контроль	0,25±0,04	0,32±0,04
Нагрузка $\text{MnCl}_2$	0,51±0,03*	0,59±0,06*

Примечание: \* P<0,05 достоверно относительно величины в контроле.

Известно, что активация ПОЛ снижает прочность эритроцитарной мембраны. Поэтому было исследовано влияние солей марганца на гемолитические свойства эритроцитов крыс. Обнаружено, что марганцевая нагрузка оказывает существенное влияние на осмотическую резистентность эритроцитов: уровень спонтанного гемолиза увеличивается на 42% (табл. 3).

Таблица 3

Влияние хлорида марганца на степень спонтанного гемолиза эритроцитов(%).

Контроль	$\text{MnCl}_2$
9,25±2,32	20,0±2,12*

Примечание: \* P<0,05 по отношению к контролю.

Осмотическая устойчивость эритроцитов является важным интегральным показателем барьерной и транспортной функции клетки, определяющих ее функциональную активность. Можно предположить, что на уровне организма после поступления Mn в кровь, он проникает в эритроциты за счет образования комплексных соединений с белками гликопептидами (гликокаликсом) и транспортируется по организму к различным органам и тканям, где адсорбируется активно метаболизирующими: печенью, почками, поджелудочной железой, железами внутренней секреции и др. органами.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что в механизме токсического действия катионов марганца важную роль (возможно ведущую) играет повреждение клеточных мембран, ее поверхностных свойств, ведущих к дестабилизации мембран прежде всего через активацию окислительных процессов. Нарушение плазматической клеточной мембраны может привести к изменению ее мембранного потенциала, транспортных свойств, проницаемости, нарушению и перераспределению баланса внутриклеточных микроэлементов. Как правило эти изменения вызывают нарушение рецепторного аппарата клетки и изменения ее реакции на внутриорганизменные регуляторные сигналы., что может вызвать нарушение биокommunikаций, функциональной активности клетки, обмена веществ, гомеостаза организма и развития патологического состояния.

В целом, полученные данные модельного исследования на эритроцитах по динамике СЕГАС, осмотической устойчивости, активации ПОЛ и др. показателях могут быть указанием на то, что первичным механизмом в марганцевой интоксикации организма является повреждение функциональных свойств плазматической мембраны клеток.

*Митохондриальная модель.* В исследованиях на эритроцитах было показано повреждающее действие субтоксических концентраций Mn на сорбционные свойства плазматической мембраны красных кровяных клеток, что значительно ухудшало их гемолитические свойства, вызывало активацию перекисивых процессов, изменяло активность ферментов и, в целом, позволило сделать заключение о мембранотоксическом эффекте повышенных концентраций Mn. Таким образом, токсическая концентрация Mn оказывает свое повреждающее действие через изменение, прежде всего, функциональных свойств мембран.

Среди внутриклеточных мембранных структур наше внимание больше всего привлекают митохондрии – энергетическая система клеток, функциональная активность которой определяется сопряженной работой ферментов дыхательной цепи, обеспечивающих в процессе окислительного фосфорилирования синтез макроэргических связей. Эффективность работы ферментов дыхательной цепи митохондрий зависит от наличия достаточной концентрации во внутриклеточной среде магния, который обеспечивает активную работу ферментов (Скальный и др., 1991). Марганец является антагонистом магния и способен заменять его в активных центрах ферментов дыхательной цепи (Скальный и др., 1991).

Как влияет такая замена на функциональную активность митохондрий, предстояло выяснить в эксперименте на изолированных митохондриях печени крыс.

Дыхательная активность изолированных митохондрий является чувствительным показателем состояния клетки. Она изменяется при введении БАВ, гормонов, токсических агентов. Одним из основных механизмов действия (Imberti, 1993; Beavis, 1989; Howard, 1995) подобных агентов является увеличение протонной проводимости

внутренней мембраны митохондрий, что сопровождается уменьшением электрохимического потенциала  $\Delta\mu\text{H}^+$  и энергетического сопряжения.

Свежеизолированные митохондрии на протяжении 3-3,5 часов после выделения характеризуются низкой скоростью дыхания в состоянии  $V_4$  по Чансу при окислении субстрата малат+глутамат. Согласно Чансу, скорость поглощения (рис. 1)  $\text{O}_2$  в стационарном состоянии определяется пассивной диффузией протонов, поэтому низкая скорость  $V_4$  указывает на сохранение барьерных свойств внутренней мембраны контрольных митохондрий. Добавка АДФ (состояние  $V_3$ ) многократно увеличивала скорость поглощения кислорода, что указывало на высокую сопряженность дыхания и окислительного фосфорилирования. Дыхательный контроль (ДК) – отношение скорости дыхания  $V_3/V_4$  составил не менее 5 (см. рис. 1).

После исчерпания АДФ и перехода органелл в состояние  $V_4$  разбавитель 2, — 4 ДНФ (состояние  $V_4$  разбавленное) увеличивал скорость потребления  $\text{O}_2$  более, чем в 6 раз, что указывает на сохранность ферментативных систем окисления НАД – зависимых субстратов.

Таким образом, в процессах энергетического обмена существуют примерно три участка, повреждение которых может привести к нарушению окислительного фосфорилирования. Одним из них является мембранная организация ферментов дыхательной цепи, вторым – механизмы сопряжения окисления и фосфорилирования, третьим – механизм накопления энергии (Скулачев, 1969).

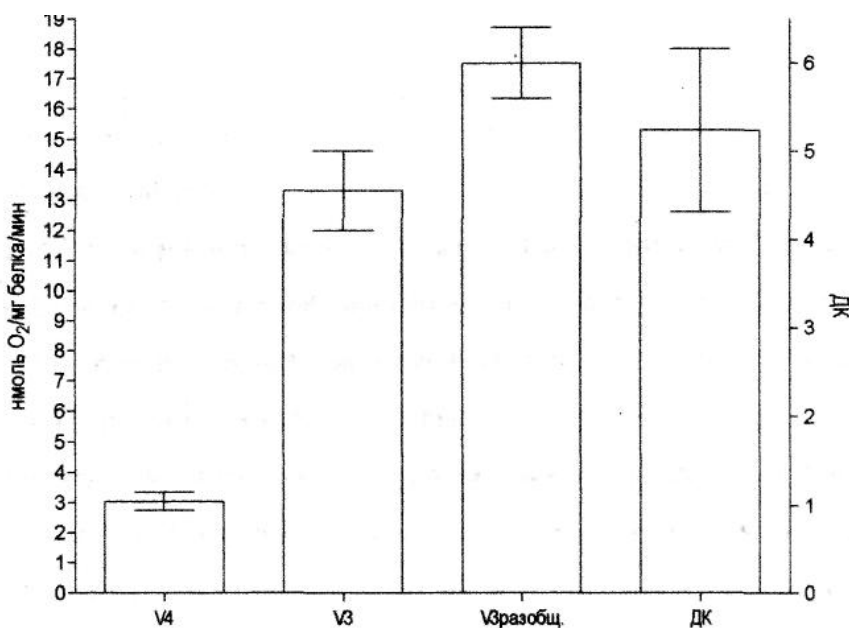


Рис. 1. Скорость дыхания изолированных митохондрий при окислении малата и глутамата ( $M \pm n$ )

Для определения устойчивости дыхания митохондрий к  $\text{MnCl}_2$  было проведено титрование и установлена ингибирующая концентрация. С целью выяснения влияния хлорида марганца на свободное окисление субстратов митохондриями измерения



проводили в присутствии 2,4-ДНФ, то есть в условиях максимальной кинетической способности редокс-переносчиков. Внесение 0,5-3 мМ  $MnCl_2$  после 2,4-ДНФ не вызывало изменения скорости поглощения  $O_2$ , однако дальнейшее повышение концентрации до 4 мМ в полярографической ячейке приводило к резкому угнетению дыхания.

Способность многих фармакологических препаратов, таких как бенциклана фумарат, свободных жирных кислот, хлороформа и других веществ воздействовать на пассивную ионную проницаемость рассматривается в качестве одного из механизмов управления продукцией АТФ клетки (Белоус, 1976; Luvisetto, 1988). Частичное или полное рассеивание потенциала на внутренней мембране митохондрий повышает скорость окисления субстратов в клетке, ускоряет гидролиз АТФ посредством АТФазы митохондрий. Обратимость и глубина таких изменений будет носить важный прогностический характер в дальнейшей судьбе не только совокупности всех митохондрий, но и клетки в целом. С целью выяснения способности  $MnCl_2$  оказывать протонофорный эффект, митохондрии были энергизированы субстратами после чего вносился  $MnCl_2$  от 1 до 6 мМ. Из рис.2 следует, что 1,5 мМ хлорида марганца вызывал слабую стимуляцию дыхания, которое в течение 2-3 минут снижалось до уровня состояния  $V_4$ .

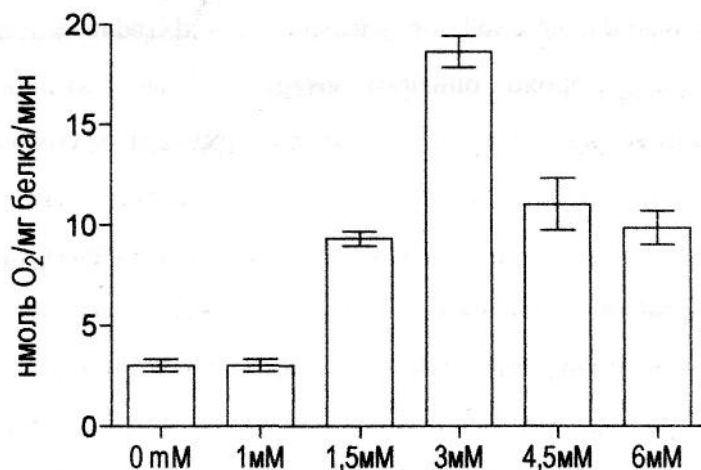


Рис. 2. Влияние различных концентраций  $MnCl_2$  на скорость дыхания изолированных митохондрий при окислении малата и глутамата ( $M \pm n$ )

Повторное внесение 1,5 мМ  $MnCl_2$  или 250 мкМ АДФ стимулировало дыхание. Это свидетельствует о том, что, во-первых, повышение пассивной ионной проницаемости, вызванное относительно малой концентрацией 1,5 мМ  $MnCl_2$ , является обратимым, во-вторых, данная концентрация не ингибирует фосфорилирование АДФ.

Максимальный разобщающий эффект был достигнут при добавке 3 мМ  $MnCl_2$  и по скорости поглощения  $O_2$  был сопоставим со значениями в случае использования 2,4 – ДНФ. Дальнейшее повышение концентрации до 4,5 мМ  $MnCl_2$  сопровождалось резким снижением скорости дыхания и полным его ингибированием через 2-3 минуты.



### ВЫВОДЫ

Полученные данные свидетельствуют о том, что хлорид марганца обладает свойствами разобщителя дыхания и окислительного фосфорилирования. Титрование  $MnCl_2$  окисления митохондриями малата + глутамата показало, что концентрации, вызывающие разобщение и полное ингибирование, находятся в узком диапазоне оптимальной и токсической концентрации  $MnCl_2$ , что составило в данном эксперименте 3 и 4,5 мМ  $MnCl_2$ .

Проведенное экспериментальное исследование подтвердило, что Mn проявляет свои эссенциальные свойства только в очень узком концентрационном диапазоне до 3 мМ. При выходе за границы безопасной экспозиции физиологического диапазона он начинает проявлять разрушающие свойства тяжелого металла.

Главный вывод экспериментального исследования заключается в том, что нарушая функционирование мембранных митохондриальных структур, субтоксические концентрации Mn повреждают энергетику клетки, фактически лишая организм возможности к полноценному функционированию.

Возможно, именно повреждение токсическими дозами Mn внутриклеточного митохондриального аппарата является причиной энергетической ущербности больных марганцевым паркинсонизмом (Волошина и др., 2000).

Проведенные экспериментальные исследования показали, что повреждающее действие субтоксических концентраций марганца на клеточном (эритроциты) и субклеточном (митохондриях) уровнях реализуется через нарушение функционирования мембранных структур, лишая их возможности к регуляторному самовосстановлению.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Агаджанян Н. А. Экологический портрет человека и роль микроэлементов / Н. А. Агаджанян, М. В. Велдашова, А.В. Скальный. – М.: Изд. КМК, - 2001. – 236с;
- Антонов А. Р. Микроэлементы в жизни человека. Природные минералы на службе здоровья человека./Антонов А. Р., Сфремов А. В. -Новосибирск: Экор, 1999 -с.28 – 39.
- Арцишевская Р. А. Функциональные и структурные изменения поверхности эритроцитов человека после облучения УФ лучами разной длины волны/ Арцишевская Р. А., Самойлова К. А. //Цитология.— 1983. — Т. 25, № 12. — С. 1387—1392.
- Белоус А. М. 1-бензил-1-(3'-диметиламинопропокси)-циклогептанфумарат, как разобщитель и ингибитор дыхательной цепи/ А. М. Белоус. //“Биохимия”. – 1976. – том 41, вып. 5.–с. 881-884.
- Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. / Владимир Ю. А., Арчаков А. И. – М.: Наука, 1972 — с. 241 — 243.
- Вплив екологічних чинників на стан мінерального обміну у школярів міст Запоріжжя і Харків та шляхи його корекції. [Гончаренко М. С., Коновалова О. О., Гончаренко О. В., Светлакова Н. М.]. Людина та навколишнє середовище – проблеми безперервної екологічної освіти в вузах// Збірник наукових праць. – Одеса 2004. – с. 107 – 109.
- Маслова И. М. Выделение интактных митохондрий из печени крыс / Маслова И. М., Горская И. А., Шульц К. Ф. и др. Методы современной биохимии. – М.: Наука, 1975. – С. 45-47.
- Микроэлементозы человека. [Авцин А. П., Жаворонков А. А., Риш М. А., Строчкова Л. С.]. – М.: Медицина, 1991. – 496с.;



Психологические и неврологические расстройства вследствие употребления психостимуляторов кустарного изготовления, получаемого из препарата «Эффект». [Волошина Н. П., Тайцлин В. И., Линский И. В., Богданова И. В., Кузьминов В. Н.] // Український вісник психоневрології – 2000. – т.8, вып. 2., - с.74 -76.

Скальный А. В. Микроэлементы: бодрость, здоровье, долголетие / Скальный А. В. . – М.:Эксмо, 2010. – 288 с.;

Скулачев В. П. Аккумуляция энергии в клетке /Скулачев В. П.-М.:Наука, 1969.-439 с.

Beavis A.D. On the inhibition of the mitochondrial inner membrane anion uniporter by cationic amphiphiles and other drugs // J. Biol. Chem. – 1989, – Vol. 264. – P. 1508-1515.

Howard B. J., Pohorecki R., Becker G. L. et al. Energy status in anoxic rat hepatocytes: effects of isoflurane, solution composition, and hypothermia // Liver Transpl. Surg. – 1995. – Vol. 1, № 4. – P. 220-224.

Imberti R., Nieminen A. L., Herman B. et al. Mitochondrial and glycolytic dysfunction in lethal injury to hepatocytes by t-butylhydroperoxide: protection by fructose, cyclosporin A and trifluoperazine // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1993. – Vol. 265, № 1. – P. 392-400.

Luvisetto S., Pietrobon D., Azzone G. F. Uncoupling of oxidative phosphorylation induced by FCCP oleic acid and chloroform in rat liver mitochondria. Prog Clin Biol Res. 1988; 273: 395-400.

Ohkawa H. Assay for peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ohani, K. Jadi // Anal. Biochem. 1979. V. 95, №-2. - P. 351-358.

Skalny A, Odinyeva N, Lukoyanova O. Etal. 1999. Trace elements in newborns and their mothers from the different regions of Russia// Proc. 2<sup>nd</sup> Int. sump. on trace elements in human: new perspectives. Athens, 7 – 9 oct., 1999 Athens. p.41.

## REFERENCES

Agadzhanian, N. A., Veldashova, M.V., Skal'nyy, A. V. (2001). *Enviromental Pattern of*

*Human and Role of Microelements*. Moscow: KMK Press.

Antonov, A. R., Yefremov, A.V. (1999). *Microelements in Human Life. Natural Minerals in*

*Service of Human Health*. Novosibirsk: Ekor.

Artsishevskaya, R. A., Samoylova, K.A. (1983). Functional and Structural Changes in

Surface of Red Blood Cells after UV Irradiation by Various Wave Length. *Cytology*, 25(12), 1387-1392.

Belous, A.M. (1976). Halidor as Separator and Ingibitor of Respirator Chain. *Biochemistry*,

41(5), 881-884.

Vladimirov, Yu. A., Archakov, A.I. (1972). *Interchange Oxidation of Lipids in Biological*

*Membranes*. Moscow: Nauka.



Goncharenko, M. S., Konovalova, O. O., Goncharenko, O. V. & Svetlakova, N.M. (2004).

*Influence of Ecological Factors on State of Mineral Metabolism of Schoolchildren in Kharkov and Zaporozhye Regions and Correction Perspectives. Man and Environment: Problems of Permanent Ecological Education. Transactions of Scientific Papers. Odesa.*

Maslova, I. M., Gorskaya, I. A., Shul'ts, K. F. & Maslova, I. M. (1975). *Selection of Intact Mithochondria from Liver of Rats. In Methods of Contemporary Biochemistry. Moscow.*

Avtsin, A. P., Zhavoronkov, A. A., Rish, M. A. & Stochkova, L.S. (1991). *Human Microelement Complexes. Moscow: Medicine.*

Voloshina, N. P., Taytslin, V. I., Linskiy, I. V., Bogdanova, I. V. & Kuz'minov, V. N. (2000). *Psychological and Neurological Disorders Caused by Usage of Hand-Made psikhostimulyatorov Extracted from «Effekt» preparat. Ukrainian Bulletin of Psychoneurologia, 8(2), 74 -76.*

Skal'nyy, A.V. (2010). *Micoelements: bodrost', Health, dolgoletie. Moscow: Eksmo.*

Skulachev V. P. (1969). *Cell Accumulatoin of Energy. Moscow: Nauka.*

Beavis, A.D. (1989). *On the inhibition of the mitochondrial inner membrane anion uniporter by cationic amphiphiles and other drugs. J. Biol. Chem., 264, 1508-1515.*

Howard, B. J., Pohorecki, R., & Becker, G. L. et al. (1995). *Energy status in anoxic rat hepatocytes: effects of isoflurane, solution composition, and hypothermia. Liver Transpl. Surg., 1(4), 220-224.*

Imberti, R., Nieminen, A. L., & Herman, B. et al. (1993). *Mitochondrial and glycolytic dysfunction in lethal injury to hepatocytes by t-butylhydroperoxide: protection by fructose, cyclosporin A and trifluoperazine. J. Pharmacol. Exp. Ther., 265(1), 392-400.*

- Luisetto, S., Pietrobon, D., & Azzone, G. F. (1988). Uncoupling of oxidative phosphorylation induced by FCCP oleic acid and chloroform in rat liver mitochondria. *Prog Clin Biol Res.*, 273, 395-400.
- Ohkawa, H., Ohani, N., & Jadi, K. (1979). Assay for peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 95(2), 351-358.
- Skalny, A., Odinyeva, N., & Lukoyanova, O. et. al. (1999). *Trace elements in newborns and their mothers from the different regions of Russia*. Proc. 2<sup>nd</sup> Int. sump. on trace elements in human: new perspectives. Athens.