

12. Holt A. B., Mellits E. D., Cheek D. B. Comparisons between nucleic acids proteins zinc and manganese in rat liver: a relation between zinc and ribonucleic acid. // *Pediat. Res.*, – 1970. – 4. – P. 157-164.
13. Lowry O.H., Rosebrough N.G., Tarr A.L., Randall R. C. Protein measurement with the Folin phenol reagent. // *J. Biol. Chem.* – 1951. – 193, N 1. – P. 265-275.
14. Prasal Z. Physicochemical investigations of DNA copper complexes. Part I. Determination of composition of copper complexes on the basis of oscillographic curves at PN 4,9-5,7. – // *Rocz. Chem.*, – 1975. – 49, N 3. – P. 455-466.
15. Sissioeff J., Zrisverd J. Studies of metal ions- DNA interactions: specific behavior of DNA sequences. // *Progr. Biophys. and mol. Biol.* – 1976. – 31, N 2. – P. 165—199.
16. Shack J., Jenhins R. J., Thompsett J. M. The interaction of ions and desoxyntose nucleic acid of colb thymus. // *J. Bich. Chem.*, – 1953. – 203, N 1. – P. 373-387.
17. Sirver M. A., Loeb H. A. Metal activation of DNA synthesis. // *Biochem. and Bioptys. Res. Communs.* – 1976. – 70, N 3. – P. 812-817.
18. Weser V., Mocler H. DNA-Polymerase-activitat isolierter lebezzellkerue. Reaktivitat von Zn^{++} und Hg^{++} // *Z. Klen. chem.* – 1970. – 8, N 2. – P. 137-140.

*О. Б. Столяр, В. З. Курант, Л. С. Ільніцька,
В. Р. Дрель, Т.П. Нижник*

УДК 574.5:504.054

ВИВЧЕННЯ ЗДАТНОСТІ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ІНАКТИВУВАТИ БІОМОЛЕКУЛИ.

Дослідження рівня забруднення середовища важкими металами та їх дії на живі організми складає актуальний і добре розвинутий напрямок сучасної хімічної технології. На підставі великого фактичного матеріалу, в ньому сформувався провідна ідея про значення форм знаходження металу для оцінки ступеня його токсичності [8]. Для металів істотне значення має ступінь окиснення, існування у вигляді комплексів різної природи, зв'язування у різні сполуки, зокрема метилювання [1,6]. У водоймах, на доступність металу для гідробіонтів, впливає кислотність середовища, розподіл металу між донними відкладами та рідкою фазою [1]. Таким чином, визначення абсолютного показника вмісту металу в середовищі не може адекватно характеризувати його небезпеку для організмів. Тому велика увага в науковій літературі приділяється пошуку біологічних тест-об'єктів, які б відображали стан організму в середовищі, забрудненому тим чи іншим металом.

Підбір чутливих біотестів визначається загальною метою дослідження. Так, для оцінки стану водної екосистеми в цілому, рекомендується використовувати аналіз показників фітопланктону [14]. Однак стан промислових видів риб за допомогою таких показників не може бути оцінений об'єктивно, так як існує видова специфічність накопичення металу в організмі та механізмів його детоксикації.

Відомо, що у водоростей іони кадмію, міді, цинку зв'язуються переважно з полісахаридами і нуклеїновими кислотами (цинк), а у мохів - з білками цитоплазми [3,23]. Безхребетні тварини акумулюють свинець та цинк у фосфатних гранулах, з яких при цьому конкурентно видаляється кальцій, тоді як кадмій зв'язується переважно у везикулах, багатих на сірку, ймовірно з металотіонеїнами [16,19]. Для деяких металів відкритий механізм індукції синтезу специфічних низькомолекулярних білків металотіонеїнів, які, наскільки відомо в наш час, не виконують ніякої іншої біологічної функції крім зв'язування надлишку металу в металсіркові комплекси [2]. Такі білки синтезуються в багатьох організмах, від одноклітинних до ссавців. Вважається, що у фізіологічних умовах вони зв'язують надлишок іонів цинку, що вивільняється при сповільненні темпів біосинтезу

білка [18]. Показано, що в умовах експериментального забруднення, індукцію синтезу металотіонеїнів в тканинах викликають кадмій, мідь, ртуть, вісмут, ванадій [2,4,9,18].

В загальному, сірковмісні сполуки вважаються ефективними лігандами у зв'язуванні іонів важких металів. Спостерігається взаємозв'язок між токсичністю металу та його спорідненістю до сульфгідрильних груп трипептиду глутатіону та білків [13,22]. Проте результати визначення кількості цих тіолів в організмі в умовах інтоксикації не можуть однозначно вказувати на зв'язування ними металу так як порушення їх обміну та транспорту також впливають на їх кількість в тканинах. Відомо також, що спорідненість тіолових груп до іонів металів може відрізнятись в залежності від лігандного оточення [7].

Поряд з цим, слід зазначити, що для більшості металів не виявлені молекули, які би брали участь в їх початковому зв'язуванні в організмі, мембранному транспорті, контролі валентного стану [7,8]. Тому представляє інтерес пошук біомолекул, які би виявляли високу чутливість вибірково до певних іонів металу за умов їх безпосередньої взаємодії, і які можна було би використати для з'ясування способу захисту організму від цих іонів. З цією метою ми вивчали вплив різних концентрацій ряду іонів важких металів, що належать до найбільш поширених і небезпечних забруднювачів середовища, на вміст сульфгідрильних груп в глутатіоні та альбуміні, концентрацію гемоглобіну, метгемоглобіну та стабільність гемоглобіну в умовах *in vitro* в середовищах різного складу.

Певну концентрацію іонів металу створювали за допомогою стандартних розчинів. Використовувались хлориди металів: свинцю (II), кадмію (II), хрому (III), цинку (II), марганцю (II), кваліфікації " х.ч. ". Кінцева концентрація металу в пробі становила від 0,01 мМ до 330 мМ. Інкубацію дослідних проб в присутності металу проводили протягом 30 хв при температурі 20⁰ С в буферному розчині. В ряді випадків в інкубаційну суміш додавали комплексоутворювач (ЕДТА), цистеїн. Умови інкубації наведені в таблицях. В дослідях використовували розчин відновленого глутатіону (Fluka) з кінцевою концентрацією 33 мМ, розчин сироваточного альбуміну (Sigma) з кінцевою концентрацією 0,09 г/л, очищений від стромі гемолізат крові людини [5,11]. Вміст сульфгідрильних груп вимірювали спектрофотометрично за допомогою реактива Еллмана [20], вміст гемоглобіну (загального, окси- та метгемоглобіну) за Кушаковським [5], стабільність гемоглобіну в малополярному середовищі за методом Керрела і Кея [11]. В ряді дослідів у зв'язку з високою подібністю результатів в однакових умовах показники визначали у двох повторностях і статистичні обрахунки не проводили.

Результати вимірювання концентрації сульфгідрильних груп в тіолових сполуках в присутності металів свідчать, що сульфгідрильна група глутатіону в трис-НСІ буфері найбільш чутлива до іонів міді і менше - до кадмію. Дія свинцю проявляється лише у фосфатному буфері в присутності ЕДТА. (Табл. 1).

Таблиця 1

Вміст сульфгідрильних груп у відновленому глутатіоні і альбуміні при інкубації в 0,2М буферному розчині, рН 8,0, нмоль/мл, $M \pm m, n=6-12$.

Молярне відношення метал: тіол	Середовище без ЕДТА			Середовище з ЕДТА, 0.03 М		
	Свинець (II)	Кадмій (II)	Мідь (II)	Свинець (II)	Кадмій (II)	Мідь (II)
Відновлений глутатіон трис-НСІ буфер						
0	33.0±0.0	33.0±0.0	33.0±0.0	33.0±0.0	33.0±0.0	33.0±0.0
0.2	32.1±2.6	36.3±2.5	20.5±6.1	27.4±4.3	32.1±2.5	29.5±2.5
0.6	31.0±3.0	32.5±3.5	---	38.0±5.0	36.0±4.0	---

1.0	33.0±6.0	32.5±3.5	---	36.0±5.0	33.0±4.0	---
1.6	33.5±0.5	31.5±6.3	---	35.5±1.5	31.0±1.5	---
2.0	32.4±2.1	37.0±4.1	18.5±0.5	28.2±4.2	31.5±2.9	31.5±2.5
4.0	37.5±4.5	0.0±0.0	0.0±0.0	33.5±0.5	29.5±0.5	12.5±2.5
10.0	35.0±6.0	0.0±0.0	0.0±0.0	33.5±0.5	14.0±1.0	11.5±1.5
фосфатний буфер						
0	33.0±0.0	33.0±0.0	33.0±0.0	33.0±0.0	33.0±0.0	33.0±0.0
0.2	33.0±3.5	25.8±2.0	25.6±2.4	26.0±3.1	29.0±2.5	28.0±0.0
2.0	35.5±3.9	29.4±3.4	24.5±1.5	26.7±3.4	29.0±2.5	28.0±0.0
6.0	осад	осад	осад	23.5±2.5	15.5±3.5	18.0±0.5
8.0	осад	осад	Осад	29.0±1.0	17.0±1.1	15.1±1.1
Альбумін фосфатний буфер						
0	---	---	---	57.5±0.0	57.5±0.0	57.5±0.0
1.0	---	---	---	35.0±0.0	57.0±4.0	48.0±0.9
4.0	---	---	---	39.0±0.2	35.5±5.5	32.1±2.3
10.0	---	---	---	11.0±2.5	40.0±0.1	16.1±0.8

Примітка: --- - не визначали

Чутливість сульфгідрильних груп альбуміну більше виражена для свинцю, менше - для міді і найменше для кадмію. Незважаючи на велику чисельність вимірів, проведена в однакових умовах, похибка при визначенні була досить великою, особливо у відсутність ЕДТА. Слід зазначити, що зв'язування або інактивація тіолових груп, в присутності іонів металу, спостерігається при їх кількісних співвідношеннях значно відмінних від фізіологічних. Так реальне співвідношення концентрацій міді і тіолів в печінці, обраховане на основі літературних даних [7,22], становить близько 0.03 для глутатіону і 0.04 для білкових тіолоів. Таким чином інактивація тіолів іонами досліджуваних металів спостерігається в умовах *in vitro* при концентрації металу, вищій на один-два порядки, ніж в фізіологічних умовах і в умовах експериментального забруднення середовища існування, так як, в останньому випадку, вміст металу в тканині зростає не більше як у два - три рази [8].

Відмінність у спорідненості глутатіону і альбуміну до іонів металів, очевидно, може бути пояснена різним лігандним оточенням у цих тіолоів. Як відомо, в складі трипептиду глутатіону міститься, поряд з сульфгідрильною, карбоксильна та аміногрупи. Співвідношення тіол : карбоксильна група, рівне 1:1, властиве і для металотіонеїнів, до складу молекул яких входить до 20-30% залишків цистеїну і стільки ж - дикарбонових амінокислот [2]. Як повідомляється в літературі, в умовах *in vivo* ці білки зв'язують кадмій і мідь, але не свинець [2]. Ця аналогія, на нашу думку, може бути використана при створенні суміші, яка моделює металотіонеїн при вивченні його екзогенної дії [4], так як модельна суміш, запропонована авторами (сироваточний альбумін, цистеїн-HCl), як повідомляється, не забезпечує ефекту, подібного до дії металотіонеїну. В складі сироваточного альбуміну, як показано, місцем зв'язування першого іона міді є амінотермінальний ряд: асп-три-гіс, а кадмій зв'язується переважно імідазольними групами [10].

В нашій роботі досліджувався також вплив іонів металів на стан гемоглобіну. Цей показник досить рідко використовується для характеристики стану ураження організму важкими металами [13,15]. Однією з характеристик стану гемоглобіну є його стабільність в малополярному розчиннику, наприклад 17% розчині ізопропанолу в 0.1М трис-HCl буфері, рН 7.4 при 37⁰С. Як видно з табл. 2 нормальний гемоглобін зберігає стабільність в таких умовах протягом 45 хв інкубації.

Вплив іонів важких металів на стабільність гемоглобіну в 17% розчині ізопропанолу, 0.1М трис-НСІ, рН 7.4, 37⁰С

№ п/п	Метал	Концентрація, мкмоль/л		Час появи каламуті, хв
		Метал	цистеїн	
1	контроль	---	---	45
2	---	---	20.0	45
3	мідь(II)	0.008	---	45
4	мідь(II)	0.012	---	35
5	мідь(II)	0.016	---	30
6	мідь(II)	0.020	---	25
7	мідь(II)	0.040	---	10
8	мідь(II)	0.080	---	5
9	мідь(II)	0.450	---	0
10	мідь(II)	0.450	20.0	20
11	свинець(II)	0.004	---	45
12	свинець(II)	100.000	---	30
13	свинець(II)	200.000	---	20
14	кадмій(II)	10.000	---	20
15	кадмій(II)	45.000	---	10
16	кадмій(II)	100.000	---	5
17	кадмій(II)	100.000	100.0	10
18	цинк(II)	45.000	---	45
19	цинк(II)	200.000	---	20
20	марганець(II)	45.000	---	45
21	марганець(II)	200.000	---	45
22	хром(III)	45.000	---	45
23	хром(III)	200.000	---	45

Присутність навіть значних концентрацій марганцю і хрому не зменшує стабільність гемоглобіну, тоді як мідь, кадмій, і в меншій мірі, цинк і свинець зменшують стабільність гемоглобіну. Присутність цистеїну деякою мірою захищає гемоглобін від дії міді і кадмію.

Більш детально було вивчено вплив іонів важких металів на концентрацію гемоглобіну і метгемоглобіну в гемолізаті (Табл.3).

Таблиця 3

Вплив іонів важких металів на концентрацію дериватів гемоглобіну при інкубації *in vitro*

№п/п	концентрація мкмоль/л гемолізату					Неактивний гемоглобін, %
	метал	цистеїн	загальний гемоглобін	оксигемоглобін	метгемоглобін	
1	2	3	4	5	6	7
1	контроль	---	94.2	92.2	1.9	2.3
МІДЬ						
2	0.01	---	105.4	94.1	11.4	11.1
3	0.01	20.0	74.6	67.6	7.0	9.3
4	0.01	100.0	111.9	106.8	5.1	4.5

5	0.02	---	120.0	101.9	18.1	15.1
6	0.02	20.0	117.3	100.6	16.7	14.2
7	0.02	100.0	81.8	70.7	11.1	13.6
8	0.10	---		осад		61.3
9	0.10	20.0		осад		41.8
КАДМІЙ						
10	0.02	---	107.7	91.8	15.9	14.7
11	0.02	100.0	92.7	92.7	0.0	0.0
12	0.20	---	109.1	107.4	1.7	1.5
13	2.00	---	117.3	120.1	0.0	0.0
14	2.00	20.0	94.6	93.4	1.1	1.2
15	2.00	100.0	98.1	97.3	0.9	0.9
16	10.00	---	109.1	103.5	5.6	5.1
СВИНЕЦЬ						
17	0.20	---	110.9	110.4	0.5	0.5
18	2.00	---	110.0	107.2	2.8	2.5
19	2.00	20.0	101.8	86.8	15.0	14.8
20	10.00	---	107.3	107.0	0.3	0.1
21	10.00	20.0	98.1	93.3	5.7	5.1
22	10.00	100.0	90.0	78.6	11.7	12.7
ХРОМ						
23	0.2	---	87.3	86.4	0.9	1.0
24	4.0	---	97.3	96.0	1.3	1.3
25	4.0	100.0	87.3	87.3	0.0	0.0
26	20.0	---	107.3	106.3	0.6	0.5
ЦИНК						
27	0.2	---	81.9	76.8	5.1	6.2
28	4.0	---	84.5	83.8	0.7	0.8
29	4.0	100.0	98.1	98.1	0.0	0.0
30	20.0	---	110.9	108.2	2.7	2.4

Одержані результати показують, що вплив металів на метгемоглобіноутворення та його залежність від наявності цистеїну в середовищі проявляють аналогічні закономірності до дії цих факторів на стабільність гемоглобіну. Використавши одержані дані, можна побудувати ряд чутливості гемоглобіну до дії металів: мідь(II)>кадмій(II)>свинець(II)>цинк(II)>марганець(II)≈хром(III). Аналогічний ряд виведений для токсичної дії важких металів на гідробіонтів [17]. Поряд з цим, він відмінний від ряду стійкості фульватних комплексів металів, в яких вони зв'язуються з карбоксильними і сульфатними групами[6]: свинець>мідь> марганець>цинк> кадмій. Очевидно у дії металів на гемоглобін та у забезпеченні його стійкості, вирішальну роль відіграють сульфгідрильні групи. На основі експерименту також можна зробити висновок, що свинець має відмінну від міді, кадмію і цинку природу зв'язування з білком.

Чутливість гемоглобіну до іонів металу *in vitro*, зокрема до міді, проявляється при значно меншому кількісному співвідношенні метал:білок, ніж фізіологічне. Приблизне порівняння кількості металу і гемоглобіну в еритроциті на підставі літературних даних [7] показує, що в нормі на 1 іон міді припадає близько 1000 молекул гемоглобіну, а на іон свинцю - 10000 молекул, а в нашому досліді метгемоглобіноутворення посилювалось при дії міді в співвідношенні з гемоглобіном 1:10000.

Таким чином, вивчення здатності іонів важких металів інактивувати біомолекули в умовах *in vitro* показало, що найбільшу чутливість виявляє тест на метгемоглобіноут-

ворення. Здатність гемоглобіну, а також глутатіону в присутності ЕДТА до інактивації металом залежить від спорідненості металу до сульфгідрильних груп. Одержані результати можуть бути використані для прогнозу механізму токсичної дії іонів металу та інших забруднювачів на організм.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белоконь В.Н., Нахшина Е.П. Формы нахождения тяжелых металлов в донных отложениях водохранилищ Днепра//Гидробиол. ж. -1990.-№1.-С.76-81.
2. Бурдин К.С., Полякова Е.Е. Металлотионеины, их строение и функции // Усп. соврем. биол.-1987.-103,№3.-С.390-400.
3. Золотухина Е.Ю., Гавриленко Е.Е. Распределение меди и кадмия в биомассе водных макрофитов // Гидробиол. журн. -1991.- 27, №4.-С.61-69.
4. Котеров А.Н., Шилина Н.М. Влияние цинк-металлотионеина на перекисное окисление липидов в плазме крови и в печени мышей при острой алкогольной интоксикации // Укр. биохим. ж. -1995.-67, №4.-С.80-87.
5. Кушаковский М.С. Клинические формы повреждения гемоглобина.-Л.:Медицина, 1968.-326 с.
6. Линник П.Н., Набиванец Б.И. Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах.-Л.:Гидрометеиздат, 1986.-284 с.
7. Мещер Д. Биохимия.-М.:Мир, 1980.-т.1.- 324 с.
8. Мур Д.В., Рамамурти С. Тяжелые металлы в природных водах. Контроль и оценка влияния.-М.:Мир, 1987.-285 с.
9. Саванина Я.В., Адани А.Г., Лебедева А.Ф. и др. Образование ванадий-тионеина клетками *Anacystis nidulans* при высоких концентрациях металла // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология.-1995.-№1.- С. 38-46.
10. Чегёр С.И. Транспортная функция сывороточного альбумина.-Бухарест: Изд. АСРР, 1975.- 183 с.
11. Carell R.W., Kay R.A. A simple method for the determination of unstable haemoglobins//Br. J. Haematol.-1972.-23,N5.-P.615-619.
12. Helmy M.H., Lemke A.E., Jacob P.G., Al-Sultan U.U. Haematological changes in Kuwait mullet, *Lisa macrolepis* (Smith), induced by heavy metals//Indian j. Mar. Sci., -1979.-N4.-P.21-25.
13. Lither G. Some fundamental relationships between metal toxicity in freshwater, physico-chemical properties and background levels // Sci. Total. Environ.-1989.-87-88.-P. 365-380.
14. Luderitz V., Scholz F., Nicklish A., Krause S. Der Einfluß der Komplexbildung auf die Kupfertoxizität bei Blaualgen//Acta hydrochim et hydrobiol.-1989.-17,N6.- P. 647-658.
15. Mishra S., Srivastava A. Haematology as index of sublethal toxicity of zinc in a freshwater teleost// Bull. Environ. Contam. and Toxicol.-1979.-P. 4-5.
16. Morgan A.J., Morgan J.E., Winter S.C., Subcellular cadmium sequestration by the chloragocytes of earthworms living in highly contaminated soil// Mar. Environ. Res.-1989.-28, N1-4.-P. 221-223.
17. Muramoto S. Influence of complexans (EDTA, DTPA) on the toxicity of cadmium to fish at chronic levels//Bull. Environ. Contam. and Toxicol.-1981, N5.-P.105-111.
18. Olson P.E., Zafarullah M., Gedamu L. A role of metallothionein in zinc regulation after oestradiol induction of vitellogenin synthesis in rainbow trout, *Salmo gairdneri*//Biochem. J.-1989.-257, N2.-P. 555-559.
19. Pullen J.S.H., Rainbow P.S. The composition of pyrophosphate heavy metal detoxification granules in barnacles//J. Exp. Mar. Biol. And Ecol.-1991.-150, N2.-P.249-266.
20. Sedlac J., Zindsay R.H., Estimation of total, proteinbound and nonprotein sulphhydryl groups in tissue with Ellman's reagent// Anal. Biochem.- 1968.-25.-P.192-205.
21. Simkiss K., Taylor M.G. Convergence of cellular systems of metal detoxification// Mar. Environ. Res. - 1989.-28, N1-4.-P.211-215.

22. Thomas P., Wofford H.W. Effects of metal and organic compounds on hepatic glutathione, cysteine and acid-soluble thiol levels in Mullet (*Mygil Cephalus L.*)// *Toxical and appl. Pharmacol.*-1984.-76.-P.172-182.
23. Wong P.T.S., Chac G.K. Zinc toxicity to freshwater algae//*Toxicity Assess.*-1990.-5,N2.-P.167-177.

*Л.М. Романишина, С.В. Крутовський,
Г.І. Калачнюк, О.С. Ревуцька*

УДК 543.866

ВПЛИВ СУЛЬФАТНОЇ СІРКИ НА ДЕЯКІ СТОРОНИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ В ОРГАНІЗМІ КОРОПА ЛУСКАТОГО.

Відомо, що сірка відіграє важливу роль в процесах життєдіяльності живих організмів. При надходженні цього мікроелементу у вигляді сульфату натрію у вмістимому передшлунків жуйних тварин підвищується концентрація білкового азоту [1], стимулюються процеси обміну речовин в організмі овець та покращується ріст вовни [5]. Особливого значення сірка набуває при підвищеній в ній потребі, що є характерним для організму коропа лускатого [3], як найбільш поширеного виду в рибовиробництві. В літературі є дані про можливість використання організмами сульфатної сірки для синтезу сіркувмісних сполук, зокрема, цистеїну [11]. При цьому частково "заощаджується" амінокислота метіонін.

Дані про дію сульфатної сірки досить обмежені. Тому метою нашого експерименту було вивчити вплив сірки сульфату натрію на деякі сторони білкового обміну в організмі коропа лускатого та встановлення оптимальної концентрації даної солі в лабораторних та виробничих умовах.

Матеріал і методика.

Досліди проводили на дворічному коропі лускатому живою масою 200 г, який було розділено на п'ять груп по чотири риби в кожній. Піддослідних коропів утримували в акваріумах, наповнених водопровідною водою при температурі +4 - +8°C. Риба контрольної групи перебувала в чистій воді, коропи дослідних груп - у воді з розчиненим водним сульфатом натрію, концентрація якого становила від 50 до 200 мкМ/л з міжгруповим інтервалом 50 мкМ. Експеримент тривав 10 днів.

Під час весняно-літнього періоду (квітень-серпень місяці) було проведено дослід у виробничих умовах. Для цього зариблено п'ять невеликих водойм у воду яких запусчено по 1000 штук однолітнього коропа. Утримання риби та її годівля проводились згідно рекомендованих норм. Коропам контрольної групи згодовували комбікорм без добавок. Риба дослідних груп одержувала комбікорм разом із сульфатом натрію, вміст якого в кожній групі становив 0,5%, 1,0%, 1,5% і 2,0% від маси корму. В кінці дослідів, що проводився в акваріумах, а у виробничих умовах через кожні два тижні з піддослідної риби одержували кров, тканину м'язу, печінки і тонкого відділу кишечника, які піддавали біохімічному аналізу.

Вміст загальних білків в досліджуваних тканинах визначали біуретовим методом (Калачнюк і сп., 1974), який виражали в мг/кг тканини.

Визначення концентрації вільних амінокислот в плазмі крові і м'язі проводили хроматографічним методом за допомогою автоматичного аналізатора (ААА-888, Чехословаччина), яку виражали в мкМ/г сирової тканини або 1 мл плазми крові.

Активність глутаматдегідрогенази (ГДГ) визначали спектрофотометрично [9] та вміст глутамінової кислоти в мітохондріях [10].

Одержані цифрові результати дослідів обробляли статистично [7].