

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД «ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ  
ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО  
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ»

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**ЛИХАЦЬКИЙ ПЕТРО ГРИГОРОВИЧ**

УДК: 599.32:612.015:612.66:615.9]-092.4

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ У ЩУРІВ ЗА ДІЇ НАТРІЮ**  
**НІТРИТУ ТА ТЮТЮНОВОГО ДИМУ, ШЛЯХИ КОРЕКЦІЇ**  
**ВИЯВЛЕНИХ ПОРУШЕНЬ**

03.00.04 – біохімія

09 Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ П. Г. Лихацький

Науковий консультант – ФІРА Людмила Степанівна, доктор біологічних наук,  
професор

Тернопіль – 2018

## АНОТАЦІЯ

*Лихацький П.Г.* Вікові особливості метаболізму у щурів за дії натрію нітриту та тютюнового диму, шляхи корекції виявлених порушень. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія (09 Біологія). – Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», Тернопіль, 2018.

Дисертація присвячена вивченню порушень метаболізму у щурів різних вікових груп після їх отруєння натрію нітритом та тютюновим димом, а також за одночасного впливу цих токсикантів на організм та можливості застосування антигіпоксанта мілдронату та ентеросорбента карболайну за умов нітритно-тютюнового токсикозу.

Ураження щурів різного віку натрію нітритом дозою 45 мг/кг маси тіла впродовж 24 та 72 год викликало активацію вільнорадикальних процесів, що підтверджено збільшенням у тканинах їх органів вмісту продуктів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, а також інтенсифікацією процесу метгемоглобіноутворення, зниження активності захисно-компенсаторних можливостей, зокрема, зменшенням супероксид-дисмутазної та каталазної активностей, вмісту відновленого глутатіону. Найбільш виражені зміни відмічено в організмі статевонезрілих щурів.

Активация вільнорадикальних процесів призвела до зміни проникності мембран гепатоцитів, кардіоцитів та еритроцитів, що підтверджено підвищенням активностей амінотрансфераз, гама-глутамілтранспептидази та лактатдегідрогенази у сироватці крові, збільшенням відсотку проникності мембрани еритроцитів, зниженням активностей органоспецифічних ензимів у органах щурів. На тлі розвитку оксидативного стресу та деструктивних процесів в організмі нагромаджувалась значна кількість маркерів ендogenous

інтоксикації – молекул середньої маси. Найбільш глибокі порушення ендогенної інтоксикації, а також ступінь деструктивних процесів спостерігали у статевонезрілих та старечих щурів.

За умов нітритного ураження, що супроводжувалося гемічною гіпоксією, спостерігали зниження процесів енергозабезпечення клітин, на що вказує зниження активності мітохондріальних ензимів – сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази в органах щурів усіх вікових груп. Дисбаланс у функціонуванні про- та антиоксидантної системи, нагромадження вторинних ендогенних токсинів призводить до роз'єднання процесів тканинного дихання та окисного фосфорилування та порушень синтезу АТФ.

Потрапляння в організм щурів натрію нітриту зумовлювало розвиток запальних процесів в організмі, що підтверджено підвищенням вмісту С-реактивного протеїну у сироватці крові (у статевонезрілих тварин він на 38 % перевищував рівень контролю через 72 год після отруєння) та вмісту прозапального цитокіну ІЛ-6 (у статевонезрілих та старечих щурів перевищив рівень контрольних тварин у 1,5 раза у кінці експерименту). У цей термін спостерігали вірогідне зниження протизапального цитокіну ІЛ-4.

Поряд із оксидативним стресом, який спостерігався у щурів усіх вікових груп, за умов нітритного отруєння відмічено порушення у функціонуванні NO-системи в організмі, на що вказувало підвищення активності індубельної NO-синтази у сироватці крові та печінці та зниження активності її ендотеліальної форми, а також нагромадження в органах нітрит-іону. Найбільш чутливими до дії токсиканта виявились щури статевонезрілого та старечого віку, в яких зміни активностей ензимів були вірогідними ( $p \leq 0,05$ ) впродовж усього експерименту.

За умов змодельованої 45-добової тютюнової інтоксикації (герметична камера, в якій знаходилось 6 тварин та через отвори подавався дим від 6 сигарет впродовж 6 хвилин) відмічено збільшення у нейтрофільних

гранулоцитах крові щурів усіх вікових груп вмісту АФО, у крові – вмісту карбоксигемоглобіну (у статевонезрілих щурів у 2,7 раза, у статевозрілих у 1,5 раза та у старечих у 2,0 рази в кінці експерименту), активація процесів пероксидного окиснення ліпідів та окисної модифікації протеїнів, що зумовлено підвищенням вмісту ТБК-активних продуктів та 2,4-динітрофенілгїдрозонів у органах тварин. Найвираженішим оксидативний стрес був в організмі статевонезрілих щурів.

На тлі інтенсифікації вільнорадикальних реакцій після ураження тютюновим димом виявлено пригнічення системи антиоксидантного захисту в організмі, що підтверджено зниженням у сироватці крові та органах токсикованих щурів супероксиддисмутазної та каталазної активності, вмісту відновленого глутатіону, які мали прогресуючий характер залежно від тривалості ураження. Найбільш виражені зміни показників антиоксидантної системи відмічались у статевонезрілих щурів.

Ураження щурів різних вікових груп тютюновим димом призводило до активації деструктивних процесів в організмі, що супроводжувалося підвищенням у сироватці крові та зниженням у печінці, легенях, нирках та міокарді органоспецифічних ензимів – амінотрансфераз, гама-глутамілтранспептидази, лактатдегідрогенази та лужної фосфатази. На тлі активації деструктивних процесів спостерігали поглиблення ендогенної інтоксикації в організмі щурів після отруєння тютюновим димом, про що свідчило збільшення у сироватці крові молекул середньої маси обох фракцій, яке залежало від тривалості дії токсиканта та віку тварин. Найбільш виражений ступінь ендогенної інтоксикації відмічено в організмі статевонезрілих щурів.

Тютюновий дим суттєво пригнічував активність ензимів дихального ланцюга – сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази у печінці, міокарді та легенях щурів. Це призвело до порушень у функціонуванні мітохондрій та розвитку гіпоксичного стану в організмі. Після 45-добового отруєння щурів

виявлено прогресуюче збільшення у сироватці крові вмісту С-реактивного протеїну та інтерлейкіну-6, що свідчило про активацію запальних процесів впродовж експерименту на тлі зниження вмісту протизапального інтерлейкіну-4. Найвираженіші зміни маркерів запалення відмічено у старечих щурів (вміст С-реактивного протеїну зростав до кінця експерименту в 1,4 раза).

Встановлено, що ураження щурів різного віку тютюновим димом призводить до посиленого утворення в їх організмі нітроген оксиду, підтвердженням чого був підвищений вміст нітрит-іону у сироватці крові та органах інтоксикованих тварин. Водночас, відмічено дисбаланс у функціонуванні системи NO-синтаз, що призводило до нітрооксидативного стресу в ураженому організмі. Найбільш виражені зміни відмічені у статевонезрілих щурів (до завершення експерименту активність індукцибельної форми підвищилась у сироватці крові в 3,7 раза, у печінці – в 2,6 раза на тлі зниження ендотеліальної форми у цей термін на 49 %, у печінці на 77 % щодо рівня контрольних тварин).

За комбінованої дії обох токсикантів на 15-ту, 30-ту та 45-ту доби тютюнової інтоксикації (за 24 та 72 год до вказаного терміну) щурам інтрагастрально вводили натрію нітрит дозою 45 мг/кг. Модель тютюнової інтоксикації відтворювалась з використанням герметичної камери.

Отруєння щурів натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації призводило до посиленого утворення АФО, яке більш виражене, ніж за дії кожного токсиканта окремо. До завершення експерименту (45-та доба ураження тютюновим димом та 72 год з моменту потрапляння натрію нітриту) в організмі щурів усіх вікових груп розвивався оксидативний стрес, на що вказувало збільшення вмісту АФО у крові щурів. Найчутливішими до дії токсикантів виявились статевонезрілі щури, у яких вміст АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові підвищився у 3,3 раза порівняно з групою контролю. Надмірна генерація АФО зумовила інтенсифікацію процесів

ліпопероксидації та окисної модифікації протеїнів. У сироватці крові, печінці, легенях, міокарді та нирках щурів відмічено вірогідне збільшення вмісту ТБК-активних продуктів та 2,4-динітрофенілгідразонів як нейтрального, так і основного характеру, найвираженіше зростання було в органах статевонезрілих щурів. У крові молодих тварин вірогідно підвищувався вміст метгемоглобіну після ураження, який досяг максимуму в кінці дослідження та зріс понад норму у 2,7 раза. Паралельно встановлено зростання вмісту карбоксигемоглобіну (у статевонезрілих тварин у 1,7 раза, статевозрілих – у 1,4 раза та у старечих – у 1,6 раза порівняно з контролем). Застосовані антигіпоксанти мілдронат та ентеросорбент карболайн проявили позитивний вплив на продукти вільнорадикальних реакцій, вміст метгемоглобіну та карбоксигемоглобіну. Ефективнішим виявився мілдронат, що зумовлено його антиоксидантними властивостями.

Відмічено пригнічення супероксиддисмутазної активності у сироватці крові та печінці щурів усіх вікових груп після одночасного ураження тварин натрію нітритом та тютюновим димом. Активність цього ензиму в сироватці крові знизилась у 2,5 раза в статевонезрілих щурів, у статевозрілих у 1,6 раза, у старечих у 1,9 раза порівняно з контрольними щурами відповідних вікових груп. Впродовж усіх термінів дослідження вірогідно знижувалась каталазна активність у всіх досліджуваних органах. Пригнічення ензимної ланки антиоксидантного захисту за умов нітритно-тютюнової інтоксикації проявлялося значно більше, ніж при отруєнні кожним токсикантом окремо. У сироватці крові статевонезрілих щурів спостерігався найнижчий вміст відновленого глутатіону (45 % нижче контролю) після ураження. Зниження вмісту відновленого глутатіону спостерігали у всіх досліджуваних органах впродовж експерименту. До кінця дослідження прогресуюче зростав вміст церулоплазміну у сироватці крові статевонезрілих щурів і наприкінці експерименту перевищив норму в 2,4 раза. У зрілих та старечих щурів вміст церулоплазміну підвищувався незначно.

Застосований з метою корекції мілдронат проявив ефективний вплив на показники антиоксидантної системи, після його 30-добового введення в організм відмічали виражене підвищення супероксиддисмутази та каталазної активностей, вмісту відновленого глутатіону в усіх органах щурів різних вікових груп. Встановлено відсутність позитивного впливу карболайну на показники антиоксидантної системи у щурів різного віку.

За умов нітритно-тютюнової інтоксикації у сироватці крові щурів усіх вікових груп вірогідно підвищувався вміст ензимів – маркерів цитолізу. Найбільш виражені зміни були у статевонезрілих щурів, у яких до кінця експерименту активність аланінамінотрансферази у сироватці крові підвищилась у 7,7 раза, аспартатамінотрансферази у 5 разів, лактатдегідрогенази в 1,8 раза, гама-глутамілтраспептидази в 4,1 раза, лужної фосфатази в 3,6 раза. Відповідно в органах щурів різного віку мало місце вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження даних ензимів, що свідчило про деструкцію та зміну проникності плазматичних мембран. Підтвердженням цьому було вірогідне зростання відсотку проникності еритроцитарних мембран після ураження тварин токсикантами, що найбільше виражалося у молодих щурів (на 55,6 % проти 37,9 % у статевозрілих та 54,1 % у старечих). Виявлені деструктивні процеси призвели до нагромадження в ураженому організмі вторинних ендогенних токсинів – молекул середньої маси, вміст яких у сироватці крові виявився найвищим у кінці експерименту в статевонезрілих щурів (фракція з переважанням ланцюгових амінокислот підвищилась у 4,0 рази та фракція з переважанням ароматичних амінокислот у 2,8 раза).

Застосування антигіпоксанта мілдронату виявилось ефективним стосовно активностей органоспецифічних ензимів, що підтвердилось їх зниженням у сироватці крові та підвищенням у досліджуваних органах щурів різного віку. Це дало можливість запропонувати його як мембранопротекторний засіб для подальших досліджень. Ентеросорбент карболайн проявив ефективний вплив на вміст молекул середньої маси,

вірогідно знижуючи його в усіх вікових групах. Цим ми підтвердили його сорбтивні властивості та можливість застосування за умов поліорганної патології.

Ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації призвело до вираженішого пригнічення процесів енергозабезпечення, ніж при дії кожного токсиканта окремо, на що вказувало зниження активностей мітохондріальних ензимів – сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази у печінці, легенях та міокарді тварин усіх вікових груп. Найчутливішими виявились статевонезрілі щури, у яких впродовж експерименту відмічалась найнижча активність ензимів, що беруть участь у процесах енергозабезпечення клітин. Мілдронат впродовж усього експерименту призвів до вірогідного підвищення активності енергозабезпечувальних ензимів в органах щурів усіх вікових груп. Це є підтвердженням його антигіпоксантичних властивостей. Карболайн не проявив ефективного впливу на процеси мітохондріального окиснення в ураженому організмі.

За умов нітритно-тютюнового токсикозу встановлено активацію запальних процесів у щурів, що зумовлено збільшенням у сироватці крові вмісту С-реактивного протеїну, який виявився найвищим у старечих щурів (у 3,3 раза перевищив норму) у кінці дослідження. Після ураження у щурів усіх вікових груп виявлено дисбаланс у вмісті про-та протизапальних цитокінів. Вміст прозапального цитокіну впродовж експерименту вірогідно зростає, найвище його значення зареєстрували в сироватці крові статевонезрілих щурів (в 4,6 раза вище контролю) через 45 діб після ураження тютюновим димом та 72 год з моменту отруєння натрію нітритом. Одночасно у сироватці крові щурів знижувався вміст протизапального цитокіну ІЛ-4 (у статевонезрілих щурів у 2,2 раза, у статевозрілих – у 1,7 раза та у старечих у 1,8 раза щодо контрольної групи). Застосований нами антигіпоксантик викликав зсув у балансі цитокінів у сторону збільшення вмісту протизапального ІЛ-4 та зниження вмісту ІЛ-6, що може бути використано при лікуванні чи діагностиці



захворювань, які супроводжуються запальними процесами. Карболайн виявився неефективним щодо процесів енергозабезпечення та не призвів до пригнічення запальних процесів в ураженому організмі.

Встановлено, що за умов одночасного ураження щурів різного віку натрію нітритом та тютюновим димом розвивається нітрооксидативний стрес, який зумовлений збільшенням у всіх органах щурів вмісту нітрит-іону (найбільше це проявляється у сироватці крові (у 2 рази), печінці, легенях та нирках статевонезрілих щурів). За цих умов у сироватці крові прогресуюче зростала активність індукцибельної NO-синтази у всіх вікових групах, і найбільшого значення сягнула у статевонезрілих щурів (у 3,3 рази перевищувала її рівень у контрольних тварин даної вікової групи). Активація індукцибельної NO-синтази супроводжувалась зниженням її ендотеліальної ізоформи в сироватці крові щурів усіх вікових груп. Мілдронат ефективно вплинув на активність NO-системи (призвів до вірогідного зниження активності індукцибельної NO-синтази та підвищення активності ендотеліальної NO-синтази у сироватці крові та печінці щурів усіх вікових груп), а також до вірогідного зниження вмісту нітрит-іону в ураженому організмі. Ентеросорбент карболайн позитивного впливу на показники нітрооксидативного стресу не проявив.

Для підтвердження розвитку деструктивних процесів і наслідкових порушень, які нами виявлені за умов нітритно-тютюнового токсикозу, проведені гістологічні дослідження органів щурів, зокрема легень, печінки, міокарду та нирки. Досліджено органи щурів різного віку після одночасного ураження їх натрію нітритом та тютюновим димом та застосування препарату метаболічної дії мілдронату та ентеросорбента карболайну.

Проведеними мікроскопічними дослідженнями внутрішніх органів білих щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, встановлено, що структурна реорганізація легень, печінки, нирки, серця тварин усіх вікових груп характеризується змінами судинного русла, основних

морфофункціональних компонентів (ацинусів, гепатоцитів часточок, нефронів та м'язових волокон міокарда). Найбільш виражені зміни відбулися у легенях старих та статевонезрілих тварин. Після застосування карболайну та мілдронату структурні зміни в органах тварин були меншими, особливо, у статевозрілих щурів. Мілдронат ефективніше, ніж карболайн, покращував стан судинної системи органів, сприяв нормалізації будови респіраторного відділу легень, часточок печінки, нефронів нирки, м'язових волокон міокарда.

Враховуючи, що за умов нітритно-тютюнового токсикозу першочергова роль належить активації вільнорадикальних процесів, які зумовлюють виникнення оксидативного та нітрооксидативного стресів, розвиток гіпоксичного стану з порушенням процесів енергозабезпечення, цитолітичного синдрому та нагромадження ендогенних токсинів з подальшим розвитком запалення в організмі, можна вважати, що запропоновані нами середники, запобігатимуть розвитку гіпоксії, деструктивних процесів, покращать функціональний стан антиоксидантної системи та знизять прояви запального процесу після ураження. Все вищезазначене призведе до нормалізації гомеостазу всього організму.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше запропоновано модель поєданого ураження тварин натрію нітритом і тютюновим димом, що дозволяє вивчити особливості перебігу інтоксикації за даних умов.

Уперше комплексно досліджено перебіг вільнорадикальних процесів, зокрема, ліпопероксидації, окиснювальної модифікації протеїнів та метгемоглобіноутворення, а також функціонування NO-системи за умов одночасного ураження щурів натрію нітритом та тютюновим димом і виявлено посилення оксидативного та нітрооксидативного стресу. З'ясовано механізми впливу обох токсикантів на активності індуцибельної та ендотеліальної NO-синтаз у щурів різних вікових груп. У статевонезрілих та старечого віку щурів зміни в активності ензимів виражені більшою мірою. Пригнічення активності біоенергетичних процесів (зниження сукцинат-

дегідрогеназної та цитохромоксидазної активності) за умов нітритно-тютюнового інтоксикації, яке найбільш виражене наприкінці експерименту у статевонезрілих щурів, може бути підтвердженням розвитку гіпоксичного стану після ураження.

Отримано нові дані про стан захисних систем організму, зокрема антиоксидантної, після одночасного ураження тварин обома токсикантами. Уперше досліджено маркери цитолізу за умов одночасної дії на організм натрію нітриту та тютюнового диму. Вивчено показники запальних процесів в організмі тварин під впливом двох токсичних чинників шляхом дослідження вмісту про- та протизапальних цитокінів, а також маркера запалення – С-реактивного протеїну.

Уперше для корекції порушень при дії на організм натрію нітриту на тлі тютюнової інтоксикації з метою активації системи антиоксидантного захисту організму, сповільнення процесів цитолізу та запалення, застосовували препарат мілдронат, який за цих умов продемонстрував ефективність і виявив антиоксидантну та антигіпоксантну активності. Ентеросорбент карболайн, який використовували для зниження ендогенної інтоксикації, виявляв сорбційну активність і опосередковано впливав на нормалізацію вільнорадикальних і запальних процесів у організмі уражених щурів.

Уперше доведено, що найчутливішими до одночасної дії обох токсикантів були статевонезрілі щури.

Новизна дослідження підтверджена патентом України на корисну модель (№ 125659 від 25.05.2018 р).

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати можуть бути рекомендовані для запровадження в клініко-лабораторну практику з метою визначення ступеня ураження організму екзогенними токсикантами. Вивчено й доведено ефективність препарату метаболічної дії (з антигіпоксантними властивостями) мілдронату для корекції змодельованого патологічного стану, що дозволяє рекомендувати його до використання в

клініці гострих отруєнь токсикантами різного генезу, а також за умов коморбідної патології.

За отриманими результатами досліджень опубліковано інформаційний лист «Вікові аспекти біохімічної оцінки ступеня інтоксикації за умов нітритного отруєння» (№128-2015 від 23.12.2015 р.).

## SUMMARY

Lykhatskyi P. H. Age peculiarities of metabolism in the bodies of rats affected by sodium nitrite with underlying tobacco intoxication and ways of correction of the revealed disorders. – Qualification thesis, manuscript copyright.

Thesis for the Degree of Doctor of Biological Sciences, specialty 03.00.04 – Biochemistry (09 Biology). – State Institution of Higher Education Ivan Horbachevsky Ternopil State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2018.

State Institution of Higher Education Ivan Horbachevsky Ternopil State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2018.

The study of metabolic disorders in the rats of different age groups after poisoning by sodium nitrite and tobacco smoke and their simultaneous influence on the body as well as the usage possibility of mildronate antihypoxant and carboline enterosorbent in case of nitrite-tobacco toxicosis, is presented in the thesis.

The affection of rats of different ages by sodium nitrite at a dose of 45 mg/kg of body weight during 24 and 72 hours caused the activation of free radical processes, that was evidenced by the increased content of products of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins in the organs, as well as increased methemoglobin development, decreased activity of protective and compensatory properties, as evidenced by the decrease of superoxide dismutase and catalase activity, content of reduced glutathione. The most significant changes were noted in the body of immature rats.

The activation of free radical processes caused the changes in the permeability of hepatocyte membranes, cardiocytes and erythrocytes, which was proved by increased activity of aminotransferases, gamma-glutamyltranspeptidase and lactate dehydrogenase in blood serum, increase in the permeability of erythrocyte membrane, and decrease in the activity of organ-specific enzymes in the organs of rats. With the underlying development of oxidative stress and destructive processes a significant number of markers of endogenous intoxication: molecules of average mass, was accumulated in the body. The most severe disorders of endogenous intoxication, as well as the highest degree of destructive processes, were observed in the immature and senile rats.

In cases of nitrite affection followed by hemic hypoxia, the decrease in the processes of energy supply of cells was evidenced, that was proved by the decreased activity of mitochondrial enzymes: dehydrogenase succinate and catalase in the organs of rats of all age groups. The imbalance in the functioning of prooxidant and antioxidant systems, accumulation of secondary endogenous toxins caused the decollement of processes of tissue respiration and oxidative phosphorylation, and ATP synthesis disorders.

The penetration of sodium nitrite into the rats' body caused the development of inflammatory processes, that was proved by the increased content of C-reactive protein in blood serum (in the immature animals it was 38 % higher than normal level 72 hours after poisoning) and the increased content of proinflammatory cytokine IL-6 (in the immature and senile rats the level was higher by a factor of 1.5 than in the intact animals at the end of the experiment). During that period, a significant decrease of anti-inflammatory IL-4 cytokine was evidenced.

In conjunction with the oxidative stress that was evidenced in the rats of all age groups in the presence of nitrite poisoning, the dysfunction of NO-system in the body, that was proved by the increased activity of inducible NO-synthase in blood serum and liver, as well as the decreased activity of its endothelial form and accumulation of nitrite ion in the organs were evidenced. The most toxicant-

sensitive were the rats of immature and senile ages, which had statistically significant changes ( $p \leq 0.05$ ) in the enzymes' activity throughout the experiment.

In cases of a simulated 45-days tobacco intoxication (sealed chamber, in which there were 6 animals and the dosage of 6 cigarettes smoke was delivered through the openings for 6 minutes), the increase in neutrophils of the rats in all age groups, in ROS content, carboxyhemoglobin content in the blood (in the immature rats the level increased by a factor of 2.75, in the mature by a factor of 1.5 and in the senile by a factor of 2 at the end of the experiment), activation of lipid peroxidation processes and oxidative modification of proteins, due to the increased content of TBA-reactive substances and 2,4-dinitrophenylhydrazines in the animals' organs, were revealed. The most significant oxidative stress was evidenced in the body of immature rats.

With underlying intensification of free radical reactions after the affection by tobacco smoke, the inhibition of antioxidant defence system in the organism was revealed; it was proved by the decrease of superoxide dismutase, catalase activity in the serum and organs of affected rats, and the content of reduced glutathione, that were of a progressive pattern depending on the duration of the affection. The changes in antioxidant system were the most significant in the immature rats.

The affection of rats of different age groups by tobacco smoke caused activation of destructive processes in the body that were accompanied by the increase in organ-specific enzymes: aminotransferases, gamma-glutamyl-transpeptidases, lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase in blood serum and their decrease in liver, lungs, kidneys, and myocardium. With underlying activation of destructive processes, the enhancement of endogenous intoxication in the rats' body after poisoning by tobacco smoke, as evidenced by the increase in molecules of the average mass of both fractions in blood serum that depended on the duration of the toxicant affection and animals' age. The most significant degree of endogenous intoxication was evidenced in the body of immature rats.

Tobacco smoke significantly inhibited the activity of respiratory chain and lungs of the rats. This caused dysfunction of mitochondria and development of the hypoxic state in the body. After 45 days of rats poisoning, a progressive increase of C-reactive protein and interleukin-6 in blood serum was evidenced that proved the activation of inflammatory processes during the experiment with underlying decrease in the content of anti-inflammatory interleukin-4. The changes in inflammation markers were the most significant in the senile rats (the content of C-reactive protein increased in 1,4 times by the end of the experiment).

It was established that the affection by tobacco smoke caused increased development of nitrogen oxide in the rats of different age groups that was proved by the increased content of nitrite ion in serum and organs of the affected animals. At the same time, the imbalance in NO-synthase system functioning was evidenced that caused nitrooxidative stress in the affected organism. The most significant changes were evidenced in the immature rats (by the end of the experiment the activity of the inducible form increased in 3.75 times in blood serum, in 2.6 times in liver with underlying reduction of endothelial form at that time by 49 % by 77 % in liver compared with the level of intact animals).

In cases of a combined action of both toxicants on the 15<sup>th</sup>, 30<sup>th</sup> and 45<sup>th</sup> days of tobacco intoxication (24 and 72 hours before the stated time), the rats were intragastrically administered with sodium nitrite at a dose of 45 mg/kg of animals' body weight. The tobacco intoxication was simulated by means of a sealed chamber.

The poisoning of rats by sodium nitrite with underlying 45-day tobacco intoxication caused the increased ROS development, which was more significant than with each toxicant separately. By the end of the experiment (in 45 days of tobacco smoke affection and 72 hours after the penetration of sodium nitrite), oxidative stress developed in the rats of all age groups that was proved by the increased content of ROS in blood of the rats. The immature rats were the most susceptible to the toxicants action, the content of ROS in their blood neutrophils increased by 3.3 times in comparison with the group of intact control. Excessive

generation of ROS caused intensification of lipoperoxidation and oxidative modification of proteins. A significant increase in the content of TBA-reactive substances and 2,4-dinitrophenylhydrazines of neutral and basic type in blood serum, liver, lungs, myocardium, and kidneys of the rats was evidenced. The most significant increase occurred in the organs of immature rats. In the blood of young animals, the content of methemoglobin was significantly increased after the affection; the rate was the highest at the end of the study and was 2.7 times higher than normal. Also, the increased carboxyhemoglobin content was evidenced (1.7 times higher in the immature animals, 1.4 times higher in the mature and 1.6 times higher in the senile ones). The mildronate antihypoxant and carboline enterosorbent proved their positive effect on the products of free radical reactions, content of methaemoglobin and carboxyhaemoglobin. Mildronate was more effective because of its antioxidant properties.

The activation of prooxidant processes caused changes in antioxidant system. The suppression of superoxide dismutase activity in blood serum and liver of rats of all age groups was evidenced after the simultaneous affection by sodium nitrite and tobacco smoke. The activity of the enzyme in blood serum decreased in 2.5 times in the immature rats, in 1.6 times in the mature, in 1.9 times in the senile in comparison with the intact rats of the corresponding age groups. During all study periods, catalase activity in all investigated organs decreased significantly. The inhibition of enzyme unit of antioxidant defence in cases of nitrite-tobacco intoxication was more significantly manifested than poisoning by each toxicant alone. In blood serum of the immature rats, the lowest content of reduced glutathione (45 % lower than normal) was evidenced after the affection. The decreased content of reduced glutathione was observed in all investigated organs during the experiment. By the end of the study, the content of ceruloplasmin in blood serum of the immature rats progressively increased and by the end of the experiment it exceeded the norm in 2.4 times. The content of ceruloplasmin was slightly increased in the mature and senile rats.



Mildronate used for the correction proved its effective influence on antioxidant system; after its 30-day administration, the significant increase of superoxide dismutase and catalase activity in the body as well as in the content of reduced glutathione in all organs of the rats of different age groups was evidenced. No positive effect of carboline on antioxidant system in the rats of different ages was established.

In the presence of nitrite-tobacco intoxication in blood serum of the rats of all age categories, the content of enzymes: markers of cytolysis, was significantly increased. The changes were the most significant in the immature rats; the activity of alanine aminotransferase in blood serum increased in 7.7 times, aspartate aminotransferase in 5 times, lactate dehydrogenase in 1.8 times, gamma-glutamyltranspeptidase in 4.1 times, alkaline phosphatase in 3.6 times. As a result, in the organs of rats of different age groups, a significant ( $p \leq 0.05$ ) decrease in enzymes rates was evidenced that proved the destruction and changes in the permeability of plasma membranes. It was proved by the possible increase in the permeability of erythrocytic membranes after toxic affection; which was the most significant in the young rats (55.6 % vs. 38 % in the mature and 54.1 % in the senile ones). The revealed destructive processes caused the accumulation of secondary endogenous toxins in the affected organism: the molecules of average mass; their content in blood serum was the highest at the end of the experiment in the immature rats (fractions with the predominance of chain amino acids increased in 4 times and fractions with the predominance of aromatic amino acids in 2.8 times).

The use of mildronate antihypoxant proved to be effective regarding organ-specific enzymes activity that was proved by their decrease in blood serum and increase in the studied organs of rats of different age groups. This enabled suggesting it as a membrane protector for further research. Carboline enterosorbent proved its effective influence on the content of molecules of average mass, significantly lowering it in all age groups. It was proved by its sorption properties and the possibility of its use in cases of multiple organ failure.

The affection of rats by sodium nitrite with underlying tobacco intoxication caused a more significant inhibition of energy supply processes than in cases of the effect of each toxicant separately; which was proved by the decreased activity of mitochondrial enzymes: succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase in liver, lungs and myocardium of the animals of all age groups. The immature rats were the most susceptible; during the experiment the lowest activity of the enzymes involved in the processes of energy supply of cells was observed in them. Throughout the experiment, the mildronate caused a significant increase in the activity of energy supply enzymes in the organs of rats of all age groups that proved its antihypoxant properties. Carboline did not have any effective impact on the processes of mitochondrial oxidation in the affected organism.

In the presence of nitrite-tobacco toxicosis, the activation of inflammatory processes in rats was established, that was proved by the increase in the content of C-reactive protein in blood serum, which was the highest in the senile rats (3.3 times higher than normal) at the end of the study. The imbalance in the content of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines after the affection in the rats of all age groups was evidenced. During the experiment, the content of proinflammatory cytokine was probably increased and its highest rate was revealed in blood serum of the immature rats (4.6 times higher than normal) in 45 days of tobacco smoke affection and in 72 hours after poisoning by sodium nitrite. Simultaneously, the content of anti-inflammatory cytokine IL-4 was decreased in blood serum of the rats (2.2 times lower in the immature rats, 1.7 times lower in the mature and 1.8 times lower in the senile ones in comparison with the intact control group). The antihypoxant caused the imbalance of cytokines increasing the content of anti-inflammatory IL-4 and decreasing the content of IL-6 that can be used in cases of diseases that are accompanied by inflammatory processes. Carboline was ineffective regarding the energy supply processes and had no positive effect on the development of inflammation in the affected organism.

It was established that in cases of simultaneous affection of the rats of different age groups by sodium nitrite and tobacco smoke, nitro oxidative stress developed, that was caused by the increase in nitrite-ion content in all organs of the rats (the most noticeable it was evidenced in blood serum (2 times higher), liver, lungs, and kidneys of the immature rats the most). Under these circumstances, the activity of inducible NO synthase progressively increased in blood serum of the animals of all age groups; the highest rate was evidenced in the immature rats (3.3 times higher than the level of intact animals of this age group). The activation of inducible NO synthase was accompanied by the decrease in its endothelial isoform in blood serum of the rats of all age groups. Mildronate effectively influenced the activity of NO-system (caused a significant decrease in the activity of inducible NO synthase and increase in the activity of endothelial NO synthase in blood serum and liver of the rats of all ages) and also caused a significant decrease in the content of nitrite ion in the affected organism. The carboline enterosorbent did not prove any positive effect on the indicators of nitro oxidative stress.

In order to prove the development of destructive processes, and hence all the disorders that were revealed, in the presence of nitrite-tobacco toxicosis, histological studies of the rats' organs, particularly lungs, liver, myocardium, and kidneys, were carried out. The organs of rats of different ages after the simultaneous affection by sodium nitrite and tobacco smoke as well as the efficacy of mildronate, the drug of metabolic action, and carboline enterosorbent were investigated.

The microscopic examination of internal organs of white rats affected by sodium nitrite with underlying tobacco intoxication proved that the characteristic features of structural reorganization of the lungs, liver, kidneys, and heart of the animals of all age groups were the changes in vascular bed, main morphofunctional components (acini, hepatocytes of lobules, nephrons and muscle fibres of myocardium). The most significant changes were present in lungs of senile and immature animals. After the administration of carboline and mildronate, the structural changes in animals' organs were less significant, especially in the mature

rats. Mildronate proved to be more effective than carboline; it contributed to the improvement of the vascular system of organs, normalization of the structure of respiratory unit of lungs, liver lobules, kidney nephrons, muscle fibres of myocardium.

In the presence of nitrite-tobacco toxicosis, the activation of free-radical processes is the most crucial; it causes the development of oxidative and nitrooxidative stress, development of hypoxic state with energy supply disorders, cytolytic syndrome and accumulation of endogenous toxins with the subsequent development of inflammation in the body. Thus the suggested mediators prevent development of hypoxia, destructive processes, improve functional state of antioxidant system and decrease manifestations of inflammation after the affection. These all cause the normalization of homeostasis of the entire body.

The scientific novelty of the research results is the fact that for the first time the model of combined affection of animals by sodium nitrite and tobacco smoke has been suggested; it allows studying the features of intoxication course under these circumstances.

The course of free radical processes, particularly lipoperoxidation, oxidation modification of proteins and methemoglobin development, as well as functioning of NO-system in cases of simultaneous affection of rats by sodium nitrite and tobacco smoke was studied for the first time; the increase of oxidative and nitro oxidative stresses was revealed that was proved by the increased (maximum by a factor of 3.2) ( $p \leq 0.05$ ) content of lipid peroxidation products that reacted with thiobarbituric acid at the end of the experiment, and the increased ( $p \leq 0,05$ ) content of 2.4-dinitro-phenylhydrazines of neutral type in blood serum of the immature animals in 1,6 times in cases of nitrite-tobacco toxicosis. It was proved that in cases of affection by both toxicants the activity of inducible NO synthase increased and the activity of endothelial NO synthase decreased ( $p \leq 0.05$ ) in blood serum of the rats of all age groups throughout the experiment. The most significant changes in the enzymes activity were evidenced in the immature and senile rats. It was established that in

cases of simulated pathological process, the rate of erythrocytic intoxication index in the immature animals exceeded the one in the group of rats affected by tobacco smoke only by 25.6 %. Decreased activity of bioenergetic processes (reduction of succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase activity) in cases of nitrite-tobacco intoxication was evidenced; it was the most significant at the end of the experiment in the immature rats and could prove the development of hypoxic state after the affection.

New information on the state of body protective systems, in particular, the antioxidant one, after simultaneous affection of the animals by both toxicants, was attained. For the first time, the markers of cytolysis in the presence of combined affection by sodium nitrite and tobacco smoke was studied. The indices of inflammatory processes in the animals' organism under the influence of two toxic factors by studying the content of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, as well as the marker of inflammation: C-reactive protein, were investigated. In this case, the increase in the content of proinflammatory interleukin and decrease in the content of anti-inflammatory interleukin with underlying increase in C-reactive protein content in blood serum was evidenced.

For the first time, for the correction of disorders in cases of nitrite sodium action with underlying tobacco intoxication with the aim of activating the system of antioxidant protection of the organism, normalization of the processes of free radical oxidation and energy metabolism, slowdown of the processes of cytolysis and inflammation, the mildronate agent was used, which in these circumstances proved its efficacy as well as antioxidant and antihypoxact activity. To reduce the manifestations of endogenous intoxication, the carboline enterosorbent proved sorbent activity and indirectly led to the normalization of free radical and inflammatory processes in the affected rats' body.

The data attained prove that the immature rats were the most susceptible to simultaneous action of both toxicants. This is confirmed by statistical research methods.

The novelty of the research is confirmed by the patent of Ukraine on the utility model (№ 125659 dated 25.05.2018 p).

The practical importance of the results is the fact that, as a result of experimental studies, the molecular mechanisms of metabolic disorders in cases of nitrite-tobacco affection of rats were comprehensively studied. The peculiar features of functioning of NO-system, the ratio of prooxidant and antioxidant indices, cytokine imbalance, bioenergetic and inflammatory processes, the significance of manifestations of endogenous intoxication and cytolysis in the presence of this pathology have been established.

The investigated parameters can be implemented into clinical and laboratory practice in order to determine the degree of body affection by exogenous toxicants. The efficacy of the mildronate, the drug of metabolic action (with antihypoxant properties), for the correction of the modeled pathological state has been studied and proved, which allows it to be recommended for use in the clinic of acute poisoning by toxicants of various genesis, as well as in cases of comorbid pathology. According to the results of the research, a guide sheet “Age peculiarities of biochemical assessment of intoxication degree in cases of nitrite poisoning” was published (No. 128-2015, dated 23.12.2015).

## **Список праць, опублікованих за темою дисертації**

### **Статті у фахових виданнях**

1. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Бурмас НІ, Кернична ІЗ. Стан клітинних мембран щурів різного віку за умов ураження нітритом натрію. Медична хімія. 2011;1(46):74-77.

2. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Підгірний ВВ. Динаміка активності вільнорадикальних процесів в органах щурів різних вікових груп після інтоксикації нітритом натрію. Актуальные проблемы транспортной медицины. 2014;3(37):139-145.

3. Lyhatskyu PG., Rytsyk OB., Fira LS., Yaremchuk OZ. Age related oxidative processes and endogenous intoxication dynamics of rats arter tobacco smoke affect. *International Journal of Medicine and Medical Research*. 2016;2(2):47-51.

4. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Качур ОІ. Показники енергозабезпечення в щурів за умов хронічного ураження тютюновим димом. *Медична та клінічна хімія*. 2016;4(18):34-38.

5. Lykhatskyi PH, Fira LS. Free radicals and inflammation in rats of different age in cases of sodium nitrites and tobacco smoke poisoning. *International Journal of Medicine and Medical Research*. 2017;1(3):84-88.

6. Лихацький ПГ., Фіра ЛС, Грицишин ЛЄ. Біохімічні механізми розвитку стресу за умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. *Біологія тварин*. 2017;1(19):65-72.

7. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Динаміка маркерів запалення під впливом мілдронату за експериментального ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом. *Sciences of Europe*. 2017;1(20):10-15.

8. Lykhatskyi PH, Fira LS. Experimental study of the toxic effects of tobacco smoke and nitrites on the body of immature and mature rats. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017;1(48):12-16.

9. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Дослідження активності окиснювальних та запальних процесів у щурів різного віку, одночасно отруєних натрію нітритом та тютюновим димом. *Фітотерапія. Часопис*. 2017;2:53-58.

10. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Фіра ДБ, Кузьмак П. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина*. 2017;2(8):259-264.

11. Лихацький ПГ, Фіра ЛС., Бойко ЛА., Федорович УМ. Розвиток цитолітичного синдрому в організмі щурів різного віку, уражених тютюновим димом. *Укр.журн.клін. та лаб.медицини*. 2017;2(12):12-19

12. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Застосування ентеросорбенту “Карболайн” для корекції окиснювальних процесів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Медична та клінічна хімія. 2017;2(19):45- 52.

13. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Гонський ЯІ. Динаміка змін маркерів біоенергетичних процесів та цитолізу у щурів після ураження нітритом натрію на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник проблем біології і медицини. 2017;2(136):147-152.

14. Лихацький ПГ. Корекція вільнорадикальних процесів та мітохондріальної дисфункції в щурів, отруєних натрію нітритом і тютюновим димом, препаратом “Мілдронат”. Медична та клінічна хімія. 2017;3(19):93-102.

15. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Застосування мілдронату за умов окиснювального стресу у щурів, уражених натрію нітритом, на тлі інтоксикації тютюновим димом. Світ медицини та біології. 2017;3(61):128-134.

16. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Ендогенна інтоксикація у старечих щурів, одночасно уражених тютюновим димом та нітритом натрію. Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2017;3(70):158-163.

17. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Особенности процессов липопероксидации и энергетического обмена у крыс разных возрастных групп после отравления их натрия нитритом на фоне интоксикации табачным дымом. Проблемы биологии и медицины. 2017;3(96):145-152.

18. Lykhatskyi PH, Fira LS, Fedorovich UM. Proteins oxidative modification and mitochondrial enzymes activity in rats of different ages under affection by sodium nitrites and tobacco smoke. Український біофармацевтичний журнал. 2017;3(50):38-46.

19. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Можливість застосування сорбенту “Карболайн” для корекції порушень в організмі щурів, уражених натрію



нітритом, на тлі тютюнової інтоксикації. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2017;4:31-40.

20. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Розвиток нітрооксидативного стресу та запальних процесів у щурів різного віку, уражених тютюновим димом. Світ медицини та біології. 2017;4(62):145-149.

21. Лихацький ПГ. Дослідження показників ендогенної антиоксидантної системи у щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. ScienceRise: Biological Science. 2017;5(8):18-23.

22. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Ендогенна інтоксикація та запальні процеси в організмі щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом Наукові доповіді НУБіП України. 2017;5(69):1-14.

23. Lykhatskyi PH, Fira LS. Activity of oxidative processes in the rats' body of different age, affected by sodium nitrite, on the background of tobacco intoxication. The Pharma Innovation. 2017;6(6):18-24.

24. Лихацький ПГ. Зміни запальних та біоенергетичних процесів у щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом, після застосування мілдронату. Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2018;1(72):102-110.

25. Lykhatskyi PH, Fira LS, Lisnychuk N, Kulitska MI. Effect of Tobacco smoke on ROS production and inflammation in rats of different age. Georgian Medical News 2018;2(275):150-157.

### **Інформаційні листи**

1. Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Вікові аспекти біохімічної оцінки ступеня інтоксикації за умов нітритного отруєння. Інформ. лист. 2015; №128:1-4.

### **Патенти**

1. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Спосіб застосування ентеросорбенту карболайн для зниження ступеня інтоксикації у щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом” Патент України. №125659/ЗУ/17.

## Матеріали конференцій

1. Лихацький ПГ, Показники антиоксидантної системи щурів різних вікових груп при ураженні нітритом натрію. В: Фіра ЛС., Грималюк ОІ. Матеріали наук.-практ. конф. Здобутки клінічної та експериментальної медицини; 2012 Квіт 17-18; Тернопіль. Тернопіль: ДВНЗ «ТДМУ»; 2012, с. 191.

2. Лихацький ПГ, Перебіг процесів вільнорадикального окиснення у щурів різного віку за умов нітритної інтоксикації. В: Фіра ЛС, Іванець ЛМ. Матеріали III Всеукраїнської наук.-практ. конф. Хімія природних сполук; 2012 Жовт 30-31; Тернопіль. Тернопіль: ДВНЗ «ТДМУ»; 2012, с. 84.

3. Lyhatskiy PG, Fira LS. 7th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry. Age-related changes in the protection systems of rats organism after the intoxication by sodium nitrite; 2013 May 23-24; Lviv, Львів: Львів.Нац.мед.ун-т ім. Данила Галицького; 2013.

4. Лихацький ПГ, Вплив нітриту натрію на розвиток вільнорадикальних процесів в організмі щурів різних вікових груп. В: Фіра ЛС. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю Бабенківські читання; 2013 Жовт 24-25; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ДВНЗ «Ів-ФДМУ»; 2013, с.47.

5. Лихацький ПГ, Вміст активних форм кисню у щурів різних вікових груп за умов нітритного отруєння. В: Фіра ЛС, Трохимчук НБ. Медична хімія. 2014;3(16):123.

6. Лихацький ПГ, Зміни деяких показників антиоксидантного захисту в органах старечих щурів за умов нітритної інтоксикації. В: Фіра ЛС. Матеріали XI Українського біохімічного конгресу; 2014 Жовт 06-10; Київ. Київ: Нац.акад.наук України «Ін-т біохімії ім. О.О. Палладіна Нац.академії наук України», 5(86)(дод.2): Укр. біох. журн., 2014, с. 96.

7. Лихацький ПГ, Окиснювальний стрес в організмі щурів різного віку, одночасно уражених натрію нітритом та тютюновим димом. В: Фіра ЛС. Підсумкова LX наук.-практ.конф. Здобутки клінічної та експериментальної

медицини (присвячена 60-річчю ТДМУ) 2017 Черв 14; Тернопіль. Тернопіль: ДВНЗ «ТДМУ»; 2017, с.258

8. Lykhatskyi PH, Fira LS. 8th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry. Research of activity of oxidative and inflammation processes in the rats of different ages after their affection by tobacco smoke.; 2017 Sep 18-20; Poland, AU. Lublin (AU).

9. Лихацький ПГ, Розвиток запальних процесів у щурів, отруєних натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. В: Фіра ЛС. Матеріали наук.-практ. конф. The 4th international scientific conference current problems of Biochemistry and cell Biology; 2017 Жовт 5-6; Дніпро. Дніпро: «ДНУ ім. Олеся Гончара»; 2017, с. 158-160.

10. Лихацький ПГ Зміни показників антиоксидантної системи щурів, уражених натрію нітритом, на тлі тютюнової інтоксикації. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар.участю Бабенківські читання; 2017 Жовт 26-27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ДВНЗ «Ів-ФДМУ»; 2017, с. 68.

## ЗМІСТ

	С.
АНОТАЦІЯ .....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ .....	31
ВСТУП .....	33
РОЗДІЛ 1. МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ ОКСИГЕНВМІСНИХ НІТРАТНИХ СПЛУК ТА ТЮТЮНОВОГО ДИМУ .....	43
1.1. Механізм дії, метаболізм та вплив на організм людини та тварин нітритів та нітратів .....	43
1.2. Складові компоненти тютюнового диму та порушення в організмі, які вони викликають .....	57
1.3. Використання антиоксидантів, антигіпоксантів та ентеросорбентів за отруєнь різного генезу .....	76
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	94
2.1. Дизайн дослідження .....	94
2.2. Методи дослідження .....	98
2.3. Гістологічні дослідження .....	118
2.4. Методи статистичного аналізу .....	118
РОЗДІЛ 3. МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ, УРАЖЕНИХ НАТРІЮ НІТРИТОМ (експериментальне дослідження) .....	119
3.1. Активність процесів вільнорадикального окиснення за умов ураження щурів різного віку натрію нітритом .....	119
3.2. Стан антиоксидантної системи в організмі тварин різного віку, уражених натрію нітритом .....	127
3.3. Ендогенна інтоксикація та ступінь деструкції клітинних мембран у щурів за умов нітритної інтоксикації .....	132
3.4. Дослідження активності біоенергетичних процесів та показників запалення у щурів, уражених натрію нітритом .....	142

3.5. Зміни активності NO-синтазної системи у щурів різного віку, уражених натрію нітритом .....	148
<b>РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ ТЮТЮНОВОГО ДИМУ НА МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ (експериментальне дослідження) .....</b>	
4.1. Оксидативний стрес в організмі щурів різного віку після ураження тютюновим димом .....	157
4.2. Дослідження показників антиоксидантної системи щурів різного віку, уражених тютюновим димом .....	170
4.3. Розвиток ендогенної інтоксикації та цитолітичних процесів у щурів різного віку, уражених тютюновим димом .....	177
4.4. Порушення показників енергозабезпечення тканин та запальних процесів у щурів після ураження тютюновим димом .....	190
4.5. Розвиток нітрооксидативного стресу у щурів, за умов тютюнової інтоксикації .....	198
<b>РОЗДІЛ 5. МЕХАНІЗМИ УРАЖЕННЯ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ НАТРІЮ НІТРИТОМ НА ТЛІ ТЮТЮНОВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА КОРЕКЦІЯ ВИЯВЛЕНИХ ПОРУШЕНЬ АНТИГІПОКСАНТАМИ ТА ЕНТЕРОСОРБЕНТАМИ (експериментальне дослідження) .....</b>	
5.1. Динаміка показників вільнорадикальних реакцій у щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників .....	209
5.2. Порушення в антиоксидантній системі щурів різних вікових груп, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників .....	228
5.3. Показники цитолізу клітинних мембран та ендогенної інтоксикації у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників .....	243

5.4. Активність мітохондріальних ензимів та розвиток запальних процесів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників .....	265
5.5. Динаміка показників нітрооксидативного стресу у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та вплив на них мілдронату та карболайну .....	277
5.6. Морфо-функціональні зміни органів щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації та за дії коригувальних чинників .....	286
5.6.1. Структурна організація та морфологічні зміни легень тварин різних вікових груп за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту, та після застосування карболайну та мілдронату .....	286
5.6.2. Структурна організація та морфологічні зміни печінки тварин різних вікових груп за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту, та після застосування карболайну та мілдронату .....	292
5.6.3. Структурна організація та морфологічні зміни нирки тварин різних вікових груп за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту, та після застосування карболайну та мілдронату .....	298
5.6.4. Структурна організація та морфологічні зміни міокарда тварин різних вікових груп за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту, та після застосування карболайну та мілдронату .....	303
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	315
ВИСНОВКИ .....	366
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	370
ДОДАТКИ .....	431

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

- АЛТ — аланінамінотрансфераза
- АОС — антиоксидантна система
- АСТ — аспартатамінотрансфераза
- АТФ — аденозинтрифосфат
- АФО — активні форми кисню
- ВГ/ GSH — відновлений глутатіон
- ВРО — вільнорадикальне окиснення
- ГГТП — гама-глутамілтранспептидаза
- 2,4-ДНФГ — 2,4-динітрофенілгідрозин (он)
- ЕІ — ендогенна інтоксикація
- ЕІІ — еритроцитаний індекс інтоксикації
- eNOS — ендотеліальна форма синтази нітроген оксиду
- IL(IL)-4 — інтерлейкін-4
- IL(IL)-6 — інтерлейкін-6
- iNOS — індукцйбельна форма синтази нітроген оксиду
- КАТ — каталазна активність
- ЛДГ — лактатдегідрогеназа
- LD(ЛД) — летальна доза
- ЛФ — лужна фосфатаза
- MetHb — метгемоглобін
- MCM — молекули середньої маси
- НН — натрію нітрит
- NO — нітроген оксид
- NOS — синтаза нітроген оксиду

NAD<sup>+</sup>(НАД<sup>+</sup>) — нікотинамідаденіндинуклеотид

НАД(Ф)Н-оксидаза — нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат-оксидаза

NADP<sup>+</sup> — нікотинамідаденіндинуклеотид фосфат

NO<sub>2</sub><sup>-</sup> — нітрит-іон

ОМП — окисна модифікація протеїнів

ОС — оксидативний стрес

ONOO — пероксинітрит

ПОЛ — перекисне окиснення ліпідів

СДГ — сукцинатдегідрогеназа

СОД — супероксиддисмутаза

СОНЬ — карбгемоглобін

СМ<sub>1</sub> — середні молекули фракції 1

СМ<sub>2</sub> — середні молекули фракції 2

С-РП — С-реактивний протеїн

ТБК-АП — ТБК активні продукти

ТД — тютюновий дим

ТХО — трихлороцтова кислота

ФАД / FAD — флавінаденіндинуклеотид

ХОХЛ — хронічна обструктивна хвороба легень

ЦО — цитохромоксидаза

ЦП — церулоплазмін



## ВСТУП

*Актуальність теми.* У повсякденному житті людина піддається впливові декількох токсичних чинників, що призводить до загального отруєння організму. Значну роль у розвитку патології відіграють і шкідливі звички – це тютюнопаління, зловживання алкологом та медикаментозними засобами.

Тютюнопаління є соціально-економічним явищем і однією з важливих проблем охорони здоров'я в Україні та в усьому світі, адже воно доступне всім і відповідно широко поширене. Поширення тютюнопаління в Україні є істотною загрозою здоров'ю населення, причиною інвалідності та передчасної смерті [10, 13, 21, 116, 139, 220]. Активний і пасивний тютюновий дим призводить до зміни функцій ендотелію судин, що залежить від отриманої дози диму. З одного боку, це пов'язано з утворенням та високим вмістом активних форм кисню (АФО), з іншого – з розвитком запальних процесів в організмі [38, 50, 162, 205, 207, 252]. У димі сигарет містяться компоненти, під впливом яких можлива токсична, мутагенна та канцерогенна дія на організм людини [10, 68, 120]. При потраплянні тютюнового диму в організм людини надходить дуже багато шкідливих речовин (зокрема, нікотин, оксид карбону та кадмій), які можуть викликати загальне отруєння.

Широка розповсюдженість тютюнопаління – глобальна проблема людства, на її вирішення спрямоване зусилля багатьох учених і фахівців. Небезпека тютюнопаління виявляється не лише негативним впливом на стан здоров'я курців, але й на стан самопочуття осіб, що не палять, проте піддаються шкідливому впливу забруднювачів, які надходять в атмосферне повітря з тютюновим димом [15, 21, 55, 64, 120]. Негативний вплив тютюнового диму на тих, хто не палить, особливо дітей, підвищує ризик передчасної смерті від онкологічних, серцево-судинних, респіраторних та інших захворювань [59, 63, 140, 178].

Активне та пасивне куріння тютюну може викликати утворення активних форм кисню (перекис водню, епоксиди, нітрогену оксид (NO), двоокис нітрогену, пероксинітрит (ONOO<sup>-</sup>) [155, 205, 237, 248, 317]. Останні активують процеси вільнорадикального окиснення в організмі, зокрема перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Існує все більше доказів того, що компоненти сигаретного диму погіршують мітохондріальну функцію та викликають мітохондріальний окислювальний стрес у різних типах клітин. АФО викликають складну прозапальну реакцію в організмі, внаслідок чого збільшується утворення прозапальних цитокінів [124, 141, 199, 266].

Тютюновий дим містить значну кількість вільних радикалів, які, інгаляційно проникнувши в дихальні шляхи, порушують баланс у системі оксиданти/антиоксиданти. Прояв токсичної дії вільнорадикальних продуктів призводить до структурних і метаболічних порушень у клітинах із подальшим некрозом [319, 374]. Вивчення показників окисно-антиоксидантного статусу в пасивних курців виявило подібність їх змін до таких у активних курців [382, 453].

Вплив сигаретного диму (особливо ультрадисперсних частинок фракції), як відомо, може активувати циркулюючі імуніцити в легенях, які потім вивільняють прозапальні цитокіни. Цитокіни утворюються практично всіма клітинами організму для міжклітинної взаємодії та регуляції біохімічних процесів у самій клітині [8, 17, 407, 506, 514]. Важливе значення в патогенезі токсичних уражень організму надається порушенню балансу цитокінів.

Аналіз великої кількості робіт за останні десятиліття, присвячених впливу паління на організм здорової людини, свідчать, що немає такого органу або системи в організмі, на які паління не мало б шкідливої дії. Тютюнопаління є агресивним фактором ризику виникнення та прогресування груп захворювань, серед яких рак легень, ішемічна хвороба серця, артеріальна гіпертонія, остеопороз і деякі інші [21, 52, 169, 185, 193, 205, 276, 290, 300].

Проте, в літературі зустрічається незначна кількість експериментальних робіт, у яких би досліджувався вплив тютюнового диму на організм у віковому

аспекті, зокрема на вільнорадикальні та запальні процеси, проникність клітинних мембран та ступінь ендогенної інтоксикації, а також на функціонування NO-системи після ураження.

Забруднення навколишнього середовища хімічними сполуками призвело до виникнення раніше невідомих хронічних захворювань і патологічних станів. Індукована екологічна патологія найчастіше розвивається під впливом конкретних шкідливих для організму хімічних забруднювачів – солей важких металів, пестицидів, простих поліефірів, детергентів та ін. Значною екологічною та медико-біологічною проблемою є комбінована дія на організм людини та тварин неорганічних нітросполук, що супроводжується випадками нітратно-нітритних інтоксикацій [157, 231]. Надходження в організм нітратів та нітритів зумовлює утворення надмірної кількості нітроген оксиду, який здатний ініціювати ланцюгові вільнорадикальні реакції. При цьому створюються передумови для утворення інших активних форм нітрогену (пероксинітриту,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}_3$  та ін.), що можуть викликати гіпоксичний та вільнорадикальний некробіоз [34, 52, 132, 322, 356, 359].

Під впливом натрію нітриту перша ланка патогенезу – гемоглобін. Дія натрію нітриту виявляється перш за все в окисненні оксигемоглобіну до метгемоглобіну (MetHb) та різкому зростанні інтенсивності вільнорадикальних реакцій. Різке збільшення у клітині вмісту проміжних продуктів відновлення кисню позначається на функціонуванні дихального ланцюга мітохондрій та організму загалом. Відповіддю на дію зовнішнього чинника (індуктора гіпоксії) є зміна енергетичного обміну в клітині, що суттєво залежить від вихідного стану мітохондрій [52, 106, 368, 398, 439].

Внаслідок сумачії факторів ризику навколишнього середовища може виникнути хронічний запальний процес, у якому задіяні усі органи та тканини.

Комбінація зазначених впливів нітритів на організм людини та тютюнопаління дають початок формуванню поєднаних патологічних станів та виникнення поліорганної патології.

У літературі не достаньо даних про результати досліджень вільнорадикальних, запальних та біоенергетичних процесів в організмі тварин різного віку за умов одночасного впливу нітритів та тютюнового диму, що і викликало зацікавленість, у зв'язку з поширенням даних токсикантів у навколишньому середовищі.

Останнім часом для корекції порушень метаболізму за умов гіпоксичного стану знайшли застосування препарати, які можуть забезпечити відновлення функціонування мітохондріального ланцюга окиснення. До таких препаратів, можна віднести мілдронат, який є антигіпоксантом та препаратом метаболічної дії [160, 320, 334]. Мілдронат вважають цитопротектором другого покоління, механізм протекції якого заснований на оптимізації утилізації  $O_2$ , відновленні внутрішньоклітинного транспорту АТФ, нормалізації функції насосів, індукції синтезу та накопичення протеїнів, відповідальних за альтернативні процеси енергозабезпечення ішемізованої тканини [340, 482, 495, 496, 521]. Унікальність мілдронату пов'язана з оптимізацією процесів, що визначають виживання клітин за умов дефіциту  $O_2$  незалежно від причин його виникнення [1, 255].

Зростання кількості захворювань і патологічних станів, де суттєву роль відіграють порушення оксидативних процесів, імунної та запальної відповіді, спричиняє виникнення та поглиблення проявів ендогенної інтоксикації, механізми розвитку якої (ретенційні, обмінні, резорбційні, інфекційні) добре відомі [158, 177, 211, 223].

Виходом із такої ситуації може бути якомога ширше та водночас обережне залучення до лікувально-профілактичних заходів ентеросорбентів. Серед значної кількості сорбентів, які сьогодні використовуються в клінічній практиці, значне місце належить препарату «Карболайн». Це неорганічний, поліфункціональний ентеросорбент на основі тканинного карбонового волокна, який проявляє виражені сорбційні та детоксикаційні властивості [7, 94, 102].

Таким чином, враховуючи розповсюдженість тютюнопаління, а також активне використання у промисловості нітритів (як харчових добавок, нітратних та нітритних добрив), не викликає сумнівів дослідження механізмів одночасного впливу на організм даних токсикантів із урахуванням вікового аспекту. Доцільним за цих умов є пошук та вивчення ефективності нових коригувальних чинників (ентеросорбентів, антиоксидантів, антигіпоксантів) з метою усунення метаболічних порушень, викликаних натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації.

*Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.* Дисертаційна робота є фрагментом комплексної планової наукової теми кафедр медичної біохімії та фармакології «Біохімічні механізми токсичності наночастинок різної природи та інших антропогенних та біогенних токсикантів в біологічних системах» (шифр теми 0112U000542) та міжкафедральної планової наукової теми ДВНЗ «Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» «Біохімічні механізми порушень метаболізму за умов надходження до організму токсикантів різного генезу» (шифр теми 0116U003353), в яких автор досліджував активність оксидативного та нітрооксидативного стресів, зміни функціональної активності антиоксидантної системи захисту, стан мембранних структур клітин різних органів, порушення енергетичного обміну та запальних процесів, ступінь ендогенної інтоксикації за умов одночасного впливу натрію нітриту та тютюнового диму, а також вивчав ефективність використання за цих умов препаратів мілдронат та карболайн. Тема дисертації затверджена на вченій раді ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол № 14 від 23 лютого 2010 р.) та Проблемною комісією МОЗ та НАМН України «Біохімія» (протокол № 11 від 13 лютого 2014 р.).

**Мета і завдання дослідження.** Мета дисертаційної роботи – з'ясувати особливості метаболізму за умов ураження щурів різного віку натрію нітритом

на тлі тютюнової інтоксикації та оцінити ефективність застосування препарату метаболічної дії мілдронату та ентеросорбента карболайну.

Для досягнення поставленої мети визначено такі **завдання**:

1. Дослідити активність прооксидантної й антиоксидантної систем у щурів різного віку в динаміці ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації.

2. З'ясувати особливості мембранодеструктивних процесів за умов нітритно-тютюнової інтоксикації.

3. Визначити рівень ендогенної інтоксикації за умов ураження щурів натрію нітритом на тлі отруєння тютюновим димом.

4. З'ясувати активність біоенергетичних процесів в організмі щурів різного віку, уражених натрію нітритом і тютюновим димом.

5. Дослідити рівень активності запальних процесів в організмі щурів за умов нітритно-тютюнової інтоксикації.

6. Вивчити активність функціонування NO-системи за умов одночасного ураження щурів натрію нітритом і тютюновим димом.

7. З'ясувати особливості структурної організації легень, міокарда, нирок та печінки щурів за умов розвитку нітритно-тютюнової інтоксикації.

8. Оцінити ефективність застосування мілдронату для корекції виявлених порушень окиснювальних і біоенергетичних процесів у щурів, одночасно уражених натрію нітритом й тютюновим димом.

9. Обґрунтувати ефективність застосування ентеросорбенту карболайн для усунення проявів ендогенної інтоксикації та зниження активності запальних процесів після ураження щурів різного віку натрію нітритом і тютюновим димом

*Об'єкт дослідження:* біохімічні процеси в організмі щурів різного віку за нітритно-тютюнової інтоксикації та корекція їх порушень.

*Предмет дослідження:* показники прооксидантно-антиоксидантної системи, нітрооксидативного стресу, біоенергетичних процесів, маркери

ендогенної інтоксикації та запалення в організмі тварин різного віку за умов ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації.

*Методи дослідження: біохімічні* — для оцінки активності процесів вільнорадикального окиснення, ступеня порушення системи прооксиданти-антиоксиданти, біоенергетичного забезпечення клітин, функціонування NO-системи, активності мембрано-деструктивних та запальних процесів, рівня ендогенної інтоксикації; *морфологічні* — для оцінки структурних змін в органах за умов змодельованої патології та під впливом корекції; *статистичні* — для обробки цифрових даних методами варіаційної статистики з використанням параметричних (критерій Стьюдента) і непараметричних (критерій Вілкоксона) методів. При проведенні кореляційного аналізу застосовували метод параметричної кореляції з визначенням лінійного коефіцієнта кореляції Пірсона ( $r$ ) з подальшою перевіркою достовірності результату за допомогою критерію Стьюдента.

*Наукова новизна одержаних результатів.* Уперше запропоновано модель поєданого ураження тварин натрію нітритом і тютюновим димом, що дає змогу вивчити особливості перебігу інтоксикації за таких умов.

Уперше комплексно досліджено перебіг вільнорадикальних процесів, зокрема, ліпопероксидації, окиснювальної модифікації протеїнів і метгемоглобіноутворення, а також функціонування NO-системи за умов одночасного ураження щурів натрію нітритом й тютюновим димом і виявлено посилення оксидативного та нітрооксидативного стресу. З'ясовано механізми впливу обох токсикантів на активності індукцибельної та ендотеліальної NO-синтаз у щурів різних вікових груп. У статевонезрілих і старечого віку щурів зміни в активності ензимів виражені більшою мірою. Пригнічення активності біоенергетичних процесів (зниження сукцинатдегідрогеназної та цитохром-оксидазної активності) за умов нітритно-тютюнової інтоксикації, яке найбільш виражене наприкінці експерименту у статевонезрілих щурів, може бути підтвердженням розвитку гіпоксичного стану після ураження.

Отримано нові дані про стан захисних систем організму, зокрема антиоксидантної, після одночасного ураження тварин обома токсикантами. Уперше досліджено маркери цитолізу за умов одночасної дії на організм щурів натрію нітриту й тютюнового диму. Вивчено показники запальних процесів у організмі тварин під впливом двох токсичних чинників шляхом дослідження вмісту про- і протизапальних цитокінів, а також маркера запалення – С-реактивного протеїну.

Уперше для корекції порушень за дії на організм натрію нітриту на тлі тютюнової інтоксикації з метою активації системи антиоксидантного захисту організму, нормалізації процесів вільнорадикального окиснення й енергетичного обміну, сповільнення процесів цитолізу та запалення, застосовували препарат мілдронат, який за цих умов продемонстрував ефективність і виявив антиоксидантну та антигіпоксантну активність. Ентеросорбент карболайн, який використовували для зниження ендогенної інтоксикації, виявляв сорбційну активність і опосередковано впливав на нормалізацію вільнорадикальних і запальних процесів у організмі уражених щурів.

Уперше доведено, що найбільш чутливими до одночасної дії обох токсикантів були статевонезрілі щури.

Новизна дослідження підтверджена патентом України на корисну модель (№ 125659 від 25.05.2018 р.).

*Практичне значення одержаних результатів.* Отримані результати можуть бути рекомендовані для запровадження в клініко-лабораторну практику з метою визначення ступеня ураження організму екзогенними токсикантами. Вивчено й доведено ефективність препарату метаболічної дії (з антигіпоксантними властивостями) мілдронату для корекції змодельованого патологічного стану, що дозволяє рекомендувати його для використання в клініці гострих отруєнь токсикантами різного генезу, а також за умов коморбідної патології.



За отриманими результатами досліджень опубліковано інформаційний лист «Вікові аспекти біохімічної оцінки ступеня інтоксикації за умов нітритного отруєння» (№128-2015 від 23.12.2015 р.).

Результати дисертаційної роботи впроваджені у науково-педагогічний процес ряду кафедр: біологічної та медичної біохімії імені академіка Т. О. Бабенка ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», медичної біохімії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», біоорганічної, біологічної та клінічної ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, кафедри біохімії Національного фармацевтичного університету, кафедри біофізики і біохімії Дніпропетровського національного університету імені О. Гончара, кафедри біологічної та біоорганічної хімії ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», кафедри біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького та кафедри лабораторної діагностики Миколаївського національного університету імені В. О. Сухомлинського.

*Особистий внесок здобувача.* Автор самостійно провів огляд наукової літератури за темою дисертації, обґрунтував актуальність проблеми, виконав експериментальну частину, статистичний аналіз одержаних цифрових даних та їх узагальнення. Разом із науковим консультантом визначено мету та завдання дослідження, розроблено методичні підходи до їх реалізації.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, а також актах впровадження, патенті на користу модель, інформаційному листі, автору належить фактичний матеріал і основний творчий доробок: результати власних досліджень, участь в аналізі та узагальненні отриманих даних, підготовка матеріалів до друку.

*Апробація результатів роботи.* Результати роботи доповідались на підсумковій науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та

експериментальної медицини» (17–18 квітня 2012 р.; 14 червня 2017 р.; 7 червня 2018 р., Тернопіль, Україна); XI читаннях В. В. Підвисоцького (24–25 травня 2012 р., Одеса, Україна); III Всеукраїнській науково-практичній конференції «Хімія природних сполук» (30–31 жовтня 2012 р., Тернопіль, Україна); 7th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry (23–24 травня 2013 р., Львів, Україна); XI Українському біохімічному конгресі (6–10 жовтня 2014 р., Київ, Україна); науково-практичній конференції «Актуальні питання експериментальної і клінічної біохімії та фармакології» (9–10 жовтня 2014 р., Тернопіль, Україна); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Бабенківські читання» (24–25 жовтня 2015 р.; 26–27 жовтня 2017 р., Івано-Франківськ, Україна); 8th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry (18–20 September 2017, Lublin, Poland); 4th International scientific conference current problems of Biochemistry and cell Biology (5–6 жовтня 2017 р., Дніпро, Україна).

*Публікації.* Результатами дисертації висвітлені у 37 друкованих працях, з яких – 18 статей у фахових виданнях України, 3 – у закордонних виданнях, 1 – у закордонному виданні, яке входить до наукометричної бази Scopus, 3 – у журналах, які входять до наукометричної бази Web of Science, 1 – інформаційний лист, 1 – патент на корисну модель, 10 тез доповідей у матеріалах конгресів та конференцій.

*Структура та об'єм дисертації.* Дисертаційна робота викладена на 488 сторінках комп'ютерного тексту (основна частина становить 359 сторінок) і складається з анотації вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, результатів експериментальних досліджень, аналізу й узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел, що становить 521 посилань (188 – кирилицею і 333 – латиницею) та 55 додатків. Робота ілюстрована 68 таблицями та 84 рисунками (обсяг 55 сторінок).

## РОЗДІЛ 1

## МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ ОКСИГЕНВМІСНИХ НІТРАТНИХ СПОЛУК ТА ТЮТЮНОВОГО ДИМУ

## 1.1. Механізм дії, метаболізм та вплив на організм людини та тварин нітритів та нітратів

Проблема впливу хімічного забруднення навколишнього середовища на організм людини є однією з пріоритетних та не до кінця вивчених [14, 16]. В Україні рівень забруднення довкілля значно вищий, ніж у США та розвинутих країнах Європи [62, 63, 64, 116, 185]. Серед забруднювачів значну загрозу становлять важкі метали, нітратні добрива, відходи промислових підприємств [15, 34, 63]. Всі перелічені фактори негативно впливають на здоров'я та можуть викликати летальні наслідки [12].

Значну небезпеку для людини серед хімічних забруднювачів у теперішній час становлять оксигенвмісні сполуки нітрогену ( $\text{NO}_3$ ), нітрити ( $\text{NO}_2$ ), нітрогену оксид ( $\text{NO}$ ) та його різні форми ( $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{N}_2\text{O}_3$ ), нітрогену ангідрид ( $\text{N}_2\text{O}_5$ ). Допустиме добове споживання нітратів для людини не повинно перевищувати 5 мг на 1 кг маси тіла [34, 67, 112, 135, 150, 161, 501].

Нітрати, що використовують як мінеральні добрива, у найвищих концентраціях містяться в зелених овочах, але особливо небезпечні високі концентрації нітратів у питній воді. Їх також використовують як консерванти при виготовленні м'ясних продуктів та при виготовленні лікарських засобів [34, 132, 157, 508].

Донедавна нітрати вважали малотоксичними хімічними сполуками, які не викликають навіть у великих дозах істотних відхилень в організмі людини. Більше того, нітрати застосовувалися в медицині як сечогінні препарати [331, 356].

У зв'язку з широким використанням нітратних добрив у сільському господарстві та їх потраплянням у ґрунтові води і, як наслідок, накопичення у

харчових продуктах, поширеність нітратних отруєнь набуло загрозливого характеру. Підвищений вміст нітратів у харчових продуктах став реальним фактом сучасного життя. Основна частка нітратів (70 %) надходить в організм при споживанні овочів, близько 20 % — з питною водою [34, 52, 157]. Надлишок нітратів у рослинах виникає тоді, коли вони їх засвоюють у більших кількостях, ніж це необхідно для утворення органічних речовин. Встановлено, що коли в рослинах кількість протеїнів збільшується, а цукрів зменшується, тоді рівень нітратів підвищується [307].

Якщо нітратів більше ніж 50 мг/л, то вода не повинна використовуватись як питна, особливо в харчуванні маленьких дітей, у яких менша кислотність шлунку, тому що нітрати трансформуються у нітрити, проникають крізь слизову оболонку кишок у кров, де утворюється метгемоглобін [211, 231, 316, 322].

Основним клінічним проявом дії нітратів є ураження травного каналу у вигляді гострого гастроентериту, виразних змін з боку серцево-судинної, центральної нервової систем. У дітей перші ознаки нітратного отруєння спостерігають вже при концентрації 100 мг нітрат-іона на 1 л води чи соку. Тяжкі отруєння зареєстровані при вмісті в харчових продуктах, воді, напоях від 1200 мг і більше нітрат-іона на 1 л води або 1 кг продукту [34, 52, 106, 135].

Чутливість до нітратів збільшується внаслідок порушення транспортування кисню кров'ю в гірських умовах, а також у разі підвищеного рівня окисів нітрогену, чадного газу, карбонової кислоти в повітрі, в разі прийому спиртних напоїв. Нітрати харчових продуктів викликають вираженіші клінічні прояви з боку травного каналу, серцево-судинної та центральної нервової систем, нітрати води – з боку серцево-судинної, дихальної та центральної нервової системи [356, 357, 358, 359, 461, 481, 498].

Нітрогенвмісні сполуки в організм людини можуть потрапляти через дихальні шляхи, при прийомі всередину або через шкірні покриви. Потім вони перетворюються в біологічно малоактивні нітрати та високоактивні нітрити,

які всмоктуючись в кров, викликають пригнічення функції центральної нервової системи, зниження артеріального тиску та утворення метгемоглобіну, що призводить до порушення кисеньтранспортної функції крові [139, 157, 161, 195, 231].

Всмоктування нітратів починається в ротовій порожнині, більша кількість нітратів абсорбується в тонкому відділі кишечника [192]. Нітрати, що всмокталися, надходять у кров і, при певних дозах, можуть викликати зміни на клітинному, тканинному та органному рівнях [197, 201]. Найбільшу кількість нітратів встановлено у печінці, нирках, шлунку, найменшу – у м'язах [106, 171, 192].

В експериментальних дослідженнях встановлено, що при високому рівні нітратів у крові щурів настає лейкопенія, зменшується кількість лімфоцитів, еозинофілів та зростає кількість гранулоцитів, що вказує на наявність в організмі щурів запальних процесів [74, 77, 196, 202].

Нітрати і, особливо нітрити, порушують гемодинаміку органів, викликаючи застійне венозне повнокрів'я, що призводить до збільшення васкуляризації нирок, печінки, міокарда та щитоподібної залози. Застійні явища у венозному руслі порушують трофіку тканин і зумовлюють появу дистрофічних змін в органах. Нітрати виділяються з організму зі сечею [212].

Згідно з даними ВООЗ, допустима норма нітратів становить 5 мг  $\text{NaNO}_3$  на добу на 1 кг маси тіла. Слід враховувати, що під час визначення цієї норми не врахована можливість утворення нітросоамінів із нітратів і нітритів [307, 348]. Через 4–12 годин їхня більша частина (80 % у молодих і 50 % у людей похилого віку) виводиться нирками, решта залишається в організмі [356, 359]. У кишечнику нітрати перетворюються, головним чином, на сполуки амонію.

Відновлення нітратів під дією ензимів нітратредуктаз проходить як поза людським організмом, так і всередині нього [293]. У першому випадку воно відбувається під час транспортування, зберігання та перероблення харчової сировини та продуктів. Особливо небезпечним є неправильне зберігання

готових овочевих страв із підвищеним вмістом нітратів, зокрема при підвищеній температурі та впродовж тривалого часу [34, 52, 140].

Одним із джерел надходження нітратів до організму є тютюнопаління [220, 248, 260]. Двадцять викурених в день сигарет, наприклад, підвищують вміст нітритів в слині до 10 мг/л. Відомо, що з 1 мг нітритів в організмі синтезується приблизно 1,2 мкг нітрозамінів; 5 мкг останнього достатньо, щоб викликати у піддослідного білого щура пухлину, що вражає в середньому 7 % її печінки [157, 220, 260, 477].

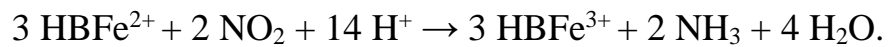
Нітрозуючими агентами в організмі людини можуть бути пролін, піперазин або амідопірин [296, 439]. Ендогенному утворенню нітрозосполук можуть сприяти паління цигарок, окислення амонію, а також мікрофлора кишківника.

Найбільша загроза підвищеного вмісту нітратів та нітритів в організмі полягає у їх здатності брати участь в реакції нітрузування амінів та амідів, у результаті чого утворюються N-нітрузо-сполуки, особливо диметилнітрозамін, які проявляють канцерогенну та мутагенну дії та високу гепато- та нефротоксичність [508]. Канцерогенну дію проявляють не стільки самі нітрозаміни, скільки продукти їх метаболізму. Ці реакції перетворення їх в організмі є процесами окисного гідроксилування. Дію нітрозамінів на організм обумовлено реакцією алкілування гуаніну ДНК продуктами їх метаболізму, що призводить до порушень функціонування геному клітини.

Нітратвмісні сполуки, як сильні окисники, проявляють вплив на гематологічні показники, переводячи двовалентний ферум гему в тривалентний, утворюючи при цьому патологічну форму гемоглобіну – метгемоглобін чи геміглобін, який неспроможний зворотно приєднувати кисень, що в подальшому викликає гіпоксію, і є основним маркером ступеня вираженості інтоксикації нітрогенвмісними сполуками [135, 231, 251, 516].

Токсичність нітритів полягає в тому, що вони блокують гемінові ферумвмісні дихальні ензими. Нітрити окиснюють двовалентний ферум

гемоглобіну крові, міоглобіну серцевого та скелетних м'язів і цитохромоксидази нервової тканини у тривалентний (неактивна форма) за наступною реакцією:



Це прямий шлях утворення метгемоглобіну. Крім того, гемоглобін трансформується у нітрогемоглобін і частково у сульфгемоглобін, які нездатні зв'язувати кисень і транспортувати його до тканин. Внаслідок цього зменшується киснева ємність крові та розвивається тканинна гіпоксія [266, 281, 316].

На біохімічному рівні гіпоксія спричиняє в організмі наступні розлади: сповільнення тканинного дихання, посилення активності ізоензиму лактатдегідрогенази, підвищення рівня молочної кислоти, пригнічення окиснювального фосфорилування, зниження інтенсивності біосинтезу макроергічних сполук. Такий стан тканин розцінюється як гіпоксичний стрес [323, 348, 368, 464].

При тканинній гіпоксії затримуються процеси окиснення та відновлення НАДФ, який є коензимом великої кількості дегідрогеназ [423, 426, 456]. За нормального стану у крові тварин є 2-5 % метгемоглобіну, яка підтримується окисно-відновною системою та метгемоглобінредуктазою еритроцитів. Вона відновлює метгемоглобін у гемоглобін [516].

Відомо, що токсична дія нітратів та нітритів полягає в здатності активувати вільнорадикальні процеси, які можуть призводити до розвитку пухлинних процесів [76, 77, 106, 439], інгібування синтезу ДНК [323, 359], порушення функції ензимних систем [293, 356, 461]. Окрім того, при гострих і важких отруєннях розвивається гемічна гіпоксія, яка раніше вважалася головним наслідком нітритної інтоксикації [454, 465]. При цьому в організмі людини та тварин виникають ураження практично всіх органів та тканин.

Нітратна інтоксикація призводить до підвищення процесів окисної деструкції протеїнів, що є захисною реакцією, оскільки при цьому

відбувається руйнування патологічно змінених протеїнів і виведення їх із організму [217, 323]. Однак, дана реакція є компенсаторно вигідною для організму в певних фізіологічних межах. За подальшого зростання активності перекисного окиснення протеїнів можлива його денатурація, внаслідок чого відбувається руйнування ензимних систем і лізис клітин [210, 211, 212].

Отримані експериментальні дані свідчать про те, що в розвитку механізмів гострої нітритної інтоксикації найважливішу та першочергову роль відіграють структурні зміни протеїнів сироватки крові, порушення їх окиснювальної модифікації та зміни в них співвідношення кількості сульфгідрильних груп і дисульфідних зв'язків. Нітритна інтоксикація супроводжувалося вираженим мембранотоксичним ефектом. Про це, зокрема, свідчать пригнічення активності ацетилхолінестерази, зміна інтегральних показників стійкості еритроцитів [196, 202, 212].

Так, наприклад, вже через 30 хвилин, після введення в організм тварин натрію нітриту дозою  $LD_{50}$  розвивається типова картина гострої нітритної інтоксикації. Активність ацетилхолінестерази (АХЕ) в цей період знижується до 77 % від рівня контрольних значень. Надалі відбувається ще більше пошкодження еритроцитів і порушення функціонування систем цієї клітини. Зокрема, через 90 хв після введення натрію нітриту активність АХЕ різко падає до 55 % від рівня показників контрольної групи тварин. Як відомо, даний ензим здатний індукувати генералізовані структурні перебудови еритроцитарної мембрани [52, 139].

Вплив нітратів і нітритів не обмежується метгемоглобіноутворенням. Найбільш істотним є стан тканинної гіпоксії, яка викликає пригнічення дихального ланцюга і роз'єднання процесів окислення та фосфорилування. Вважається, що нітрати блокують процес окислення та відновлення  $НАД^+$ . Нітритна гіпоксія супроводжується дестабілізацією еритроцитарних мембран, зниженням їх стійкості до кислотного гемолізу та порушенням рівноваги еритроцитарної популяції [350]. Це проявляється в лівому зсуві еритрограм,



звуженні діапазону стійкості еритроцитів, зміщенні максимуму еритрограм. Зміна резистентності еритроцитарних мембран може супроводжуватися внутрішньосудинним гемолізом еритроцитів [331, 350].

Ефект дії нітросполук, насамперед, пов'язаний із утворенням значних концентрацій метгемоглобіну в крові ссавців [348, 361]. Окрім того, внаслідок інтенсифікації за гіпоксичних умов нітритредуктазних механізмів, нітрит-іони досить активно відновлюються до нітроген оксиду та його вільнорадикальних похідних, проникаючи у клітини та внутрішньоклітинні структури, зокрема, мітохондрії [423, 444]. Зміни вільнорадикального гомеостазу мітохондрій у значній мірі видозмінюють клітинний окисний метаболізм, а у подальшому проектується на кисеньзалежні перетворення тканини, органу та організму в цілому [444, 449, 465].

Згідно зі сучасними уявленнями, енергетичний обмін є сукупністю реакцій окислення, які проходять у всіх клітинах органів та систем організму [423, 426]. Його головна функція – забезпечення організму енергією у вигляді АТФ. Процеси гліколізу й глюконеогенезу, первинний клітинний захист, синтез антитіл, транспорт речовин через клітинну мембрану неможливі без АТФ [456]. У нормі енергетичний обмін переважно проходить у мембранах мітохондрій шляхом клітинного дихання та окислювального фосфорилування. Відомо, що для функціонування внутрішньо-мітохондріальної частини процесу енергообміну необхідний кисень, однак саме гіпоксія є причиною найбільш виражених порушень енергозабезпечення та невідповідності між енергопотребами клітини й енергопродукцією в системі мітохондріального окислювального фосфорилування [456, 464]. При гіпоксії зниження надходження кисню в клітину призводить до порушення мітохондріального окислення та дефіциту АТФ [461, 476]. За рахунок активації процесів анаеробного гліколізу посилюється внутрішньоклітинний ацидоз, що, у свою чергу, призводить до ушкодження цитомембран, яке супроводжується ініціацією ПОЛ та накопиченням його продуктів [348, 439,

465]. Крім того, тривала гіпоксія суттєво змінює структуру гемоутримуючих протеїнів, що призводить до накопичення зв'язаних з ним іонів  $\text{NO}_2^-$  з подальшим утворенням  $\text{NO}$  та порушенням функції ензимів, які регулюють електролітний обмін. За таких умов навіть незначне підвищення продукції  $\text{NO}$  може негативно впливати шляхом цитотоксичної дії [460, 461].

Токсичний ефект  $\text{NO}$  зумовлений зв'язуванням його з супероксидним аніоном ( $\text{O}_2^-$ ) та утворенням існуючого аніону пероксинітриту ( $\text{ONOO}^-$ ) – потужного ініціатора ПОЛ [487, 497]. На відміну від  $\text{NO}$ , пероксинітрит стимулює захоплення  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондріями, розділяючи в такий спосіб процеси тканинного дихання та окислювального фосфорилування, що обумовлює зниження енергетичного потенціалу клітин, ушкодження клітинного ДНК і, як наслідок, смерть клітин [501]. Усе це призводить до розладу регуляції життєво важливих функцій уже в новонароджених, важких неврологічних порушень та ушкоджень серцево-судинної й дихальної систем. Особливо чутливими до гіпоксії є нейроглія та кардіоміоцити, оскільки в цих клітинах мітохондрії складають до 30 % об'єму цитоплазми [52, 487]. За цих умов знижується рівень макроергічних сполук – креатинфосфату та АТФ і настає загальна слабкість організму [202, 251].

Сучасні наукові дослідження дають все більше доказів важливої ролі  $\text{NO}$  як універсального модулятора клітинного дихання при забезпеченні параметрів антистресорної адаптації. За умов гострої гіпоксії, зумовленої введенням токсичних доз нітросполук, процеси за участі цієї молекули можуть набувати дестабілізуючого характеру [307].

Дослідження останніх років показали, що  $\text{NO}$  є важливим фізіологічним медіатором, і, в тому ж числі, бере активну участь у стабілізації реологічних властивостей крові за рахунок вазорелаксуючих ефектів та одночасної регуляції процесів агрегації та адгезії тромбоцитів і лейкоцитів [308, 316, 350]. У той же час у роботах Webb AJ. та Weidinger A. показана можливість відновлення нітратів до  $\text{NO}$ , що дозволило авторам сформулювати концепцію

функціонування циклу нітроген оксиду в організмі ссавців [500, 501]. Це дозволяє об'єднати проблему нітрит-нітратних інтоксикацій із обміном ендогенного нітроген оксиду.

Основними первинними мішенями NO вважаються іони та комплекси перехідних металів, у зв'язку з чим він може брати участь у регуляції активності будь-якого біополімера, що утворює такі комплекси, у тому числі металозалежних ензимів. Цей взаємозв'язок може призвести як до активації, так і до інгібування ензиматичної активності. NO легко вступає у зв'язок із простетичною гемовою групою [34, 212] та залізо-сірчистими комплексами ряду ензимів та протеїнів, таких як гуанілатциклаза, власне самих NO-синтаз, гемоглобіну, мітохондріальних ензимів (НАДН-убіхінонредуктази, цитохромів), ензимів циклу Кребса (цис-аконітази), ензимів синтезу протеїнів та ДНК [221].

Друга важлива молекулярна мішень для нітроген оксиду – це протеїни, які містять SH-групи [271]. NO відіграє роль ефективного каталізатора утворення дисульфідних містків. Завдяки взаємодії з SH- групами NO може регулювати такі важливі для клітини процеси, як біосинтез протеїнів, мітохондріальне дихання, апоптоз [292, 293].

Нарешті, третя важлива молекулярна мішень – активні форми кисню. NO взаємодіє з супероксидним аніон-радикалом, із утворенням особливо токсичної сполуки – пероксинітриту [307, 397]. Пероксинітрит – сильний окисник, який здатний окиснювати NH- та SH-групи протеїнів, що призводить до інактивації  $\alpha 1$ -інгібітора протеїназ, тканевого інгібітора металопротеїназ-1, Mn-СОД і Fe-СОД [230, 231]. Відомо також, що в присутності пероксинітриту або продуктів його розпаду, утворюються тілльні радикали глутатіону, у результаті чого останній із антиоксиданта перетворюється в прооксидант, який ініціює процеси перекисного окиснення ліпідів, інгібує мітохондріальне дихання, призводить до зміни проникності клітинних мембран [359].

Накопичення продуктів перекисного окислення (ПОЛ) при гострій нітритній гіпоксії обумовлено пригніченням системи антиоксидантного захисту. Про це свідчить той факт, що попередня активація антиоксидантної системи (АОС) призводить до підвищення стійкості експериментальних тварин до токсичної дії нітроген діоксиду [34]. Так, у деяких роботах було виявлено значне накопичення кінцевого продукту ПОЛ – малонового діальдегіду при нітритній інтоксикації [82, 89, 195].

В інших роботах показано пригнічення каталазної активності еритроцитів після введення тваринам натрію нітриту дозою 6 мг/100 г. При інгаляції  $\text{NO}_2$  в середньосмертельних концентраціях у легенях білих щурів виявлено зниження рівня відновленого глутатіону, глутатіонпероксидази, каталази вже в перші години після впливу токсиканта. Зниження вмісту відновленого глутатіону свідчить про значне зниження захисних ресурсів еритроцитів, отруєних нітритами тварин, в експериментальних умовах [34, 196].

За умови виникнення метгемоглобінемії у клітинах тканин настають глибокі розлади обміну вуглеводів, оскільки вони найбільш лабільні та утворюються при аеробному та анаеробному окисненні глюкози у циклі трикарбонових кислот. Цикл трикарбонових кислот безпосередньо пов'язаний із гліколізом. Цей зв'язок проявляється в окисненні пірувату, що утворюється в результаті гліколізу, з наступним декарбоксилюванням до ацетил-КоА і включенням його в ланцюг метаболічних процесів [158, 196].

Від рівня вуглеводів у крові та тканинах залежить активність ензимів, імунний статус і метаболізм протеїнів. При гострому отруєнні нітратами рівень глюкози у крові знижується на 14 – 28 %. Гіпоглікемія зумовлена дефіцитом кисню, внаслідок чого сповільнюється аеробне окиснення вуглеводів, а для компенсації цього процесу посилюється анаеробний гліколіз. При гіпоксії у тканинах надмірно утилізуються вуглеводи, а неоглюкогенез, при малопродуктивному анаеробному гліколізі, неможливий [348].

Нітрити спричиняють токсичне ураження печінки, що супроводжується вивільненням із гепатоцитів внутрішньоклітинних ензимів та пригніченням метаболічних процесів. На це вказує зниження рівня триацилгліцеролів, холестеролу та сечовини [438].

Пригнічення дезінтоксикаційної функції печінки є результатом впливу нітратів на мікосомальні ензими гепатоцитів, що беруть участь у біотрансформації токсичних сполук [201].

Отже, літературні дані засвідчують, що за гемічної гіпоксії, спричиненої введеним натрію нітритом, у тканинах тварин простежується нагромадження рівня активних форм кисню та інтенсифікація процесів ПОЛ [201, 210]. Інтенсифікація процесів ПОЛ за гіпоксії, зумовленої натрію нітритом, супроводжується пригніченням активності с<sub>3</sub>-цитохром-с-оксидази внаслідок зв'язування нітроген оксиду з залізом гему в активному центрі ензиму [211] і значним накопиченням катехоламінів. А це, відповідно, призводить до активації окиснення сукцинату [337]. Імовірно, таке посилене окиснення сукцинату може бути пов'язане з тим, що за гіпоксії частково зберігається постачання кисню до тканин і в ланцюзі транспортування електронів частина флавопротеїнів і цитохроми є окисненими, тоді як піридиннуклеотиди відновлені. Такі відмінності у ступенях окиснення-відновлення компонентів дихального ланцюга можуть спричинити переважне окиснення сукцинату за гіпоксії, оскільки сукцинатдегідрогеназа, на відміну від більшості інших дегідрогеназ, є флавінозалежним ензимом. Цей метаболіт за нестачі кисню відіграє особливу адаптивну роль у клітинах організму, який зазнає дії гіпоксичного фактора. Відомо, що утворення сукцинату супроводжується протіканням із цитозолу відновних еквівалентів, а це, відповідно, впливає на підтримання редокс-перетворень субстратів і дихальних переносників як важливого фактора морфофункціональної стабілізації мітохондрій [251, 323, 337].

В експериментах доведено, що нітрати та нітрити проявляють тератогенну та ембріотоксичну дію на організм тварин та людини [359]. У спостереженнях, проведених серед дітей 6-літнього віку, які вживали різну кількість нітратів, встановлені певні відхилення показників життєвої ємності легень, тенденція до зменшення обводу грудей та росту дітей, виявлене погіршення та поганий фізичний розвиток, тобто спостерігається дисгармонія фізичного розвитку внаслідок тривалої інтоксикації солями нітратів [358].

З огляду на характер токсичної дії нітратів та нітритів можна очікувати, що найбільш чутливим до них будуть діти перших днів та місяців життя.

Причини цього явища:

- ембріональний гемоглобін новонароджених значно легше окиснюється нітратами;
- недостатньо розвинена детоксикуюча метгемоглобінредуктазна система;
- у шлунку новонароджених дуже мало хлоридної кислоти.

Нітрати та нітрити негативно впливають на організм вагітної та її плід, погіршуючи показники його біофізичного профілю. Ці сполуки проникають крізь плацентарний бар'єр. Якщо мати вживала багато насичених нітратами продуктів харчування, то у новонародженої дитини вміст у крові нітратів і метгемоглобіну збільшений (розвиток гемічної гіпоксії) [52]. У крові цих дітей підвищується концентрація білірубіну та спостерігається стійка та яскраво виражена “жовтяниця новонароджених” [356].

У період, коли дитина знаходиться на грудному годуванні, стан гемічної гепоксії підтримується за рахунок надходження в її організм нітратів з молоком матері (За даними Консультативного центру Українського НДІ харчування).

Встановлено, що молоді тварини є чутливішими до дії нітритів, ніж дорослі. У ряді досліджень виявлено, що при введенні однакової кількості нітратів на одиницю маси тіла, кількість утвореного метгемоглобіну у

молодших тварин більша, ніж у дорослих. Це зумовлено нижчою активністю метгемоглобінредуктази [405, 423].

Самки щурів більш чутливі до токсичної дії нітратів, ніж самці [34]. Порогова доза нітратів для лабораторних тварин при довготривалому надходженні їх із кормом становить 10 мг/кг маси тіла.

Досі немає науково-обґрунтованої концепції стосовно змін в організмі тварин у період постгіпоксичного відновлення. Ряд дослідників вважає, що за цих процесів активується вільнорадикальне окиснення ліпідів із наступними розладами обміну вуглеводів та протеїнсинтезувальної функції печінки [348, 381, 423].

Отже, при тривалому надходженні в організм тварин нітратів у субтоксичних дозах настає прихований токсикоз. Він розвивається у два етапи: на першому відбувається посилене метгемоглобіноутворення. Максимальний рівень метгемоглобіну досягає 29 %. На другому етапі продукти метгемоглобіноутворення – агресивні форми кисню ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{HO}_2$ ,  $\text{HO}$ ,  $\text{O}_2$ ) спричиняють перекисне окиснення ліпідів. За цих умов утворюється надмірна кількість ендогенних перекисів жирних кислот (75-90 %), які знижують антиоксидантний захист, що призводить до оксидативного стресу та рівень гідроперекисів ліпідів підвищується на 90 %, швидкість ПОЛ знижується на 31 %. Утворені токсичні продукти спричиняють деструкцію плазматичних мембран гепатоцитів, що супроводжується вивільненням у кров амінотрансфераз та на 9-12 % знижується протеїнсинтезувальна функція печінки. Це підтверджено зниженням рівня загального протеїну та альбумінів у сироватці крові тварин [397, 405, 423].

Нітрати у дозі, вдвічі більшій за допустиму добову, при надходженні в організм щурів упродовж 30-ти діб знижують захисні властивості організму. Як компенсаторна реакція організму у відповідь на зниження окремих показників, що характеризують імунний статус (бактерицидна, лізоцимна активність сироватки крові), підвищується лізоцимна активність лейкоцитів,

збільшується фагоцитарне число нейтрофілів та їхній фагоцитарний індекс. Вірогідно зростає кількість фагоцитарних макрофагів. Зниження комплементарної активності сироватки крові свідчить про деградацію гепатоцитів, оскільки основні компоненти системи комплементу синтезуються в печінці [438, 447, 487].

Мутагенна дія нітратів становить небезпеку в тому плані, що в шлунково-кишковому тракті тварин під впливом ензимів декарбокسيلювання кишкової мікрофлори утворюються ендogenousні нітрозосполуки, які з амідами утворюють канцерогенні нітрозаміни. Вони порушують процеси мітозу та спричиняють розлади “розшивання” ДНК на стадії реплікації за типом делецій і змінюється молекулярна структура хромосом.

Підсумовуючи все вище згадане з питань отруєння нітратами та виявлених наслідків токсичної дії їх на організм, слід зауважити, що самі по собі нітрати харчових продуктів не завдають великої шкоди здоров'ю людини. Проте їх дія на організм становить вагомий додаток до токсичної дії нітратів питної води.

Незважаючи на великий спектр токсичних ефектів, нітрати та нітрити відносяться до помірно токсичних речовин. Однак, публікації останніх років показують, що неорганічні оксиди нітрогену, окрім токсичної дії, можуть чинити регуляторний та фармакологічний вплив як на рівні цілого організму, так і окремих органів, клітин та молекул [34, 52, 62, 497, 501, 508].

Враховуючи, надмірне забруднення навколишнього середовища нітратами та їхній небажаний вплив на організм, проблема вивчення механізму їх токсичної дії, як при роздільному, так і при комбінованому застосуванні, є особливо актуальною та має теоретичне і практичне значення.

Наведений у даному підрозділі матеріал свідчить про виражену токсичну дію нітратів та нітритів на організм тварин та людини. Не дивлячись на значний об'єм досліджень, ряд питань, що стосується впливу їх на системи та органи людей та тварин різного віку ще не вирішені до кінця. Важливу роль



у механізмах токсичної дії нітритів відіграє порушення рівноваги між активністю вільнорадикальних процесів і функціональним станом системи антиоксидантного захисту, зміни в біоенергетичних процесах, утворення ендогенного нітроген оксиду та розвиток запальних процесів. Зустрічаються тільки окремі роботи, в яких комплексно вивчався вплив нітратів та нітритів на вищеперераховані системи в залежності від дози та шляхів їх надходження в організм. Всі ці питання викликають науковий та практичний інтерес, у зв'язку з чим потребують подальшого вивчення.

1.2 Складові компоненти тютюнового диму та порушення в організмі, які вони викликають

На теперішній час одним із найбільш поширених екоантропогенних агентів є тютюновий дим, що має широкий спектр впливу на морфофункціональний стан різних систем організму [21, 55, 63, 169].

За своїм складом і основними фізико-хімічними властивостями сигаретний дим нагадує зварювальний аерозоль, а його токсичність в 4,5 рази перевищує токсичність вихлопів автомобільного транспорту. Питома вага тютюнового диму в загальному забрудненні атмосфери досить відчутна та з кожним роком продовжує зростати, що ставить його поряд з іншими потужними забруднювачами довкілля [219, 225].

Згідно з дослідженнями соціологічного центру Єврокомісії «Єврбарометр», встановлено, що середньостатистичний курець в ЄС викурює 14 цигарок в день. При цьому тютюн стає причиною смерті половини курців [120, 140].

Україна посідає 17 місце в списку країн-лідерів за кількістю курців. Щорічно до числа курців долучаються не менш 100 000 українців. Кожен четвертий підліток в Україні викурює першу сигарету у віці 10 років. Україна є другою країною у світі (після Чилі), де у віці 13-15 років курять більше 30 % юнаків і дівчат та займає II місце за кількістю викурених цигарок на одного

громадянина. На кожного українця в рік припадає понад 2500 сигарет — майже 7 щоденно. За офіційною статистикою в Україні щороку від хвороб, пов'язаних із курінням, помирає 120 тисяч чоловік [21, 152, 162].

При курінні відбувається суха дистиляція та неповне згоряння висушених тютюнових листків не залежно від того, використовуються вони в натуральному вигляді (скручена в трубочку), в сигареті чи в сигареті і в люльці. При повільному згорянні виділяється дим, який є неоднорідною (гетерогенною) сумішшю, що складається в середньому з 60 % різних газів і 40 % мікроскопічних дьогтевих крапель (аерозолі). У газовій фракції диму міститься, крім нітрогену (59 %), кисню (13,4 %), ще й оксид карбону (IV) (13,6 %), оксид карбону (II) (4 %), водяна пара (1,2 %), ціаністий гідроген (0,1 %), оксиди нітрогену, акролеїн та інші речовини. Аерозольна фракція диму включає воду (1,4 %), гліцерол і спирти (0,1 %), альдегіди та кетони (0,1 %), вуглеводні (0,1 %), феноли (0,003 %), нікотин (0,002 %) [178, 191, 229, 233, 325].

Отже, у газоподібній частині тютюнового диму містяться такі високотоксичні хімічні компоненти, як ціаністий гідроген, метан, летючі нітрати, нітрогену оксид, анілін, толуоїдин, деякі поліциклічні ароматичні сполуки карбону, низка окислених сполук — альдегідів, фенолів, кислот, складних ефірів. Тютюновий дим містить ненікотинові алкалоїди, такі як анабазин або норнікотин, які можуть впливати на активність ендотеліальних рецепторів до нікотину [178, 291, 299, 325].

Складовими твердої частини сигаретного диму є нікотин і тютюновий дьоготь (смола), в якому знаходять прості та складні феноли, крезолі, нафтоли, пірен, бенз(а)пірен. Виявилося, що при викурюванні 20 г тютюну утворюється біля 1 г дьогтю. Патогенність сигаретного диму значно підсилює його радіаційна токсичність, зумовлена наявністю у складі деяких сортів тютюну (турецького, американського та іранського виробництва) близько

двох десятків елементів, серед яких – радіоактивні сполуки урану, телуру, полонію, стронцію [178, 272].

Дьоготь є побічним продуктом, отриманим у результаті спалювання тютюну або аналогічних складових. Зміна складу тютюну (наприклад, наднизькі концентрації нікотину) або заміна їх альтернативними продуктами, для зменшення вмісту нікотину, може привести до небажаного росту вмісту нітрати / нітриту, що може бути ризиком для здоров'я людини. Справді, вміст нітратів тютюну корелює з утворенням неспецифічних летючих нітрозамінів (наприклад, N-нітрозодіметиламін, N-нітрозо-діетиламін, N-нітрозо-етилметиламіну і т.д.), які пов'язані з канцерогенністю тютюнового диму [388, 395, 398, 408, 486].

Дим сигарети включає два потоки: основний, який вдихає курець, і додатковий (бічний) – потік диму, який виділяється з кінчика запаленої сигарети між затяжками та містить найбільші концентрації токсичних хімічних сполук та важких металів: свинцю, кадмію, нікелю, полонію, стронцію. Саме вони є найнебезпечнішими для людини, оскільки потрапляють в її організм у вигляді аерозолу – біологічно та хімічно активної форми. Важкі метали швидко надходять у системний кровоплин, контактують із ендотелієм судин і, пошкоджуючи його, запускають процеси атерогенезу. Крім того, вони здатні до кумуляції. У зв'язку з цим, привертає увагу накопичення в організмі курця таких елементів, як свинець і кадмій. У свою чергу, запалена сигарета виділяє більше третини всього накопиченого в її тютюні нікелю та ванадію [410, 411, 413; рис.1].

За основною дією, шкідливі речовини, що містяться в тютюновому димі й впливають на організм, розділені на 4 групи: 1) канцерогенні речовини; 2) подразнюючі речовини; 3) отруйні гази; 4) отруйні алкалоїди.

Канцерогенні речовини: ароматичні вуглеводні, бензпірен, феноли, органічні сполуки (нітрозамін, гідразин, вінілхлорид, толуїдин та ін.),

неорганічні сполуки миш'яку та кадмію, радіоактивні полоній, олово та вісмут–210.

Подразнюючі речовини: ненасичений альдегід — пропеналь (акролеїн), оксид карбону (II).

Отруйні гази: оксид карбону (II), сірководень, ціаністий гідроген та ін.

Отруйні алкалоїди: всього 12 (нікотин, норнікотин, нікотирин, нікотеїн, нікотимін та ін.).



Рис. 1 Компоненти тютюнового диму та вплив їх на розвиток захворювань у людини.

Нікотин є однією з найсильніших із відомих нам отрут, які впливають на нервову систему. При згорянні сигарети він руйнується тільки частково, приблизно на 25 %. Вміст нікотину в диму головного струменя сигарети від 0,4 до 3 мг — лише 20 % від загальної кількості нікотину в ній. В недопалку залишається біля 5 %, а інші 50 % потрапляють у повітря в приміщенні, де курять [415, 459, 486].

Відомо, що в основі патогенної дії забрудненого поллютантами або тютюновим димом повітря лежить оксидантна агресія на слизову оболонку

дихальних шляхів активними формами кисню, діоксидами нітрогену та сульфуром, іншими вільними радикалами, що призводить до активації ПОЛ і пошкодження біологічних мембран [216, 489, 513], у тому числі – імунокомпетентних клітин [225, 228, 416].

Основна фармакологічна дія нікотину полягає у його взаємодії з нікотинними ацетилхолінергічними рецепторами головного мозку. Вважається, що активація центральних нікотинних ацетилхолінергічних рецепторів при палінні впливає на пізнавальну діяльність людини; при цьому підвищується рівень реакцій збудження [228]. Оскільки незріла нервова тканина має високий ступінь пластичності, то, очевидно, хронічна інтоксикація тютюновим димом супроводжується спустошенням нейронного складу мозкових структур. Аналіз стану неокортексу нащадків курців (в експерименті на щурах) на світлооптичному рівні вірогідно свідчив про своєрідну декортикацію, як результат лізису нейронів і гліальних елементів (клітинному виснаженню піддавалось до третини нейронального складу кори великого мозку) [288, 291].

Вузловим питанням у проблемі тютюнопаління є розкриття причин і механізмів розвитку патологічного потягу до паління. Відповідно до однієї з концепцій, у їх основі лежать стимулююча та релаксуюча дія нікотину, антистресові ефекти та емоціогенні механізми мозку, морфофункціональним субстратом яких є лімбіко-неокортикальна система, що бере участь у забезпеченні пристосувальних реакцій, підтримці гомеостазу та станів сну, соматовегетативного й емоційного тону [236].

Розвиток місцевої та системної гіпоксії тканин мозку під впливом тютюну створює умови для посилення пероксидації ліпідів у мембранах нервових клітин, пригнічення антиоксидантних ензимів захисту [205, 288]. Як результат, відбувається накопичення в тканинах токсичних продуктів, які ушкоджують структуру та порушують функцію клітинних мембран [266, 284, 288].

Ступінь виразності пероксидації ліпідів залежить від функціональної активності системи антиоксидантного захисту.

Оксидативний стрес – найважливіша ланка патогенезу та прогресування хронічної обструктивної хвороби легень (ХОХЛ), яка може бути викликана тютюнопалінням. Активні форми кисню надходять у легені зі сигаретним димом, а також утворюються безпосередньо в легенях запальними клітинами (макрофагами, лімфоцитами, нейтрофілами та тучними клітинами). Таким чином, оксидативний стрес і запалення при ХОХЛ - процеси, тісно пов'язані та підсилюють один одного [186, 244, 267].

Сигаретний дим містить велику кількість оксидантів, в числі яких гідроксильний радикал, NO та гідроген пероксид. Окрім того, куріння підсилює приплив в легені та активацію нейтрофілів і макрофагів. Лейкоцити у курців виділяють більше оксидантів (супероксиданіон і гідроген пероксид), ніж у некурців, а альвеолярні макрофаги – більше вільних іонів феруму, які сприяють генерації агресивних гідроксильних радикалів.

Біохімічними маркерами оксидативного стресу при ХОХЛ є: збільшення рівнів пероксиду гідрогену та 8-ізопростану в конденсаті повітря, що видихається; збільшення концентрації оксиду карбону (CO) у видихуваному повітрі; зниження антиоксидантної здатності плазми крові; посилення перекисного окислення ліпідів в плазмі крові; збільшення продукції активних форм кисню нейтрофілами та макрофагами периферійної крові.

Оксидативний стрес викликає в легенях різноманітні порушення: в дихальних шляхах скорочення міоцитів, дисфункцію  $\beta$ -блокаторів, стимуляцію секреції слизу, спазм або розширення судин, активацію тучних клітин; в епітелії альвеол – збільшення проникності, лізис клітин; в легеновому матриксі – зменшення синтезу та фрагментації еластину і колагену, деполімеризацію протеогліканів; системі мікроциркуляції – збільшення проникності, секвестрацію та адгезію нейтрофілів до ендотелію; інактивацію

антипротеаз; посилення запалення – включення генів прозапальних цитокінів шляхом активації фактора транскрипції NF- $\kappa$ B.

Тютюновий дим відноситься до найбільш агресивних "прооксидантних поллютантів". В даний час існує думка, що основну шкідливу дію на серцево-судинну систему проявляють монооксид карбону, вільні радикали, глікопротеїни тощо [374, 375]. Куріння згубно впливає на серцево-судинну систему: прискорює прогресування атеросклерозу та провокує розвиток гострих коронарних синдромів [377, 378].

Гостра дія пасивного куріння негативно впливає на судинну функцію, сприяючи окислювальному стресу та ендотеліальній дисфункції. Багато дослідників розглядають дисфункцію ендотелію як ранній етап розвитку ураження судин. Під впливом компонентів тютюнового диму змінюється ендотелійзалежна регуляція тонуусу артерій, що є передфазою патологічних змін великих і середніх артеріальних стовбурів, зокрема вінцевих [379, 398].

Численні експериментальні та епідеміологічні дослідження показали, що поліциклічні ароматичні вуглеводні, які є основними складовими тютюнової смоли сигарет, здатні індукувати різні клітинні ензими, що беруть участь у метаболізмі АФО. Окрім того, при високих концентраціях можуть викликати прозапальну експресію генів в коронарних ендотеліальних клітинах. Деякими дослідженнями показано, що акролеїн, тіол-реактивний, ненасичений альдегід, що у великій кількості присутній у сигаретному димі, є потужним індуктором НАД(Ф)Н-оксидази.

При тривалому палінні змінюються кисневий баланс крові та утилізація кисню тканинами. Окис карбону блокує міоглобін і призводить до порушення транспорту кисню до мітохондрій. У крові збільшується концентрація карбоксигемоглобіну (HbCO), що сприяє розвитку гострої циркуляторної недостатності м'язової тканини, виникнення тканинної гіпоксії, пошкодження клітин судин і збільшення ризику виникнення атеросклеротичних змін у судинах всіх діаметрів [288, 404]. Вплив компонентів тютюнового диму на

серцево-судинну систему дуже різноманітний. На схемі, запропонованій А. Г. Чучаліним та співавторами, наведений один із можливих механізмів розвитку ССЗ під впливом куріння (рис. 2).



Рис. 2. Вплив речовин сигаретного диму на розвиток захворювань серцево-судинної системи (А. Г. Чучалин і співавт. 2003)

Куріння може впливати на всі етапи формування атеросклерозу, з часом призводити до атеросклеротичних змін у стінках артерій. Окрім пошкоджуючої дії на ендотелій, ініціювання процесів посиленої клітинної проліферації, стимуляції синтезу колагену, воно може сприяти розладам ліпідного обміну, системи зсідання крові та регуляції судинного тонуусу [68, 157, 178, 209, 278].

Мітохондрії є важливими джерелами АФО у серцево-судинній системі [291]. Існує все більше доказів того, що компоненти сигаретного диму пригнічують мітохондріальну функцію та викликають мітохондріальний окиснювальний стрес в різних типах клітин, в тому числі серцево-судинних тканин [296, 305]. Недавні дослідження показали, що акролеїн, головний токсикант сигаретного диму, викликає окисне пошкодження мітохондрій [448, 449, 453]. У курців спостерігається вищий рівень окисного пошкодження



мДНК [199]. Ці дані підтверджують гіпотезу про те, що дим-індуковане мітохондріальне ушкодження та його дисфункція може сприяти підвищеному ризику серцево-судинних захворювань у курців [213].

Сигаретний дим містить пероксинітрит, який може проникнути в кровотік, та викликати збільшення утворення  $\text{ONOO}^-$  в клітинах [248]. Руйнівний потенціал пероксинітриту пояснюється його своєрідною участю у реакціях прямого окислення, а також радикально-опосередкованого нітрування. Ці властивості дозволяють пероксинітриту істотно змінити функцію значної кількості протеїнів (наприклад, GSH пероксидази, мієлопероксидаза), пошкоджувати структуру мембрани шляхом активації процесу ПОЛ, завдати серйозної шкоди нуклеїновим кислотам, активуючи пошкодження клітин і процеси запалення. Це призводить до пригнічення механізмів відновлення та різних цитотоксичних ефектів. У результаті відбувається смерть клітин – через некротичний шлях, або шлях апоптозу. Пероксинітрит може активувати / модулювати клітинні сигнальні шляхи. Існують дослідження, про причетність пероксинітрита в активації NF- $\kappa$ B-залежного сигнального шляху. Показано, що  $\text{ONOO}^-$  може опосередковувати широкий спектр прозапальних ефектів [218, 244]. Таким чином, майбутні дослідження повинні бути спрямовані на встановлення можливого зв'язку між курінням сигарет, пероксинітритом і регуляцією прозапальних цитокінів.

Недостатність споживання організмом кисню може виникнути в результаті різних причин, зокрема розладів зовнішнього дихання та транспортної функції крові, порушення системного, регіонарного кровообігу і мікроциркуляції, ендотоксемії [486]. Порушення метаболізму – одне з найбільш характерних проявів гіпоксії. Важливими ензимами-маркерами, що використовують для оцінки енергетичного обміну та перебігу гіпоксії є рівень активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) та цитохромоксидази (ЦО) [502, 512, 513].

Сукцинатдегідрогеназа – один із найважливіших ензимів енергетичного обміну. Це флавопротеїд, у молекулі якого в якості коензиму знаходиться ковалентно зв'язаний флавінаденіндинуклеотид. Цей коензим діє як акцептор  $H_2$ , каталізує дегідрування сукцинату з утворенням fumarату, тобто, в значній мірі визначає швидкість споживання кисню та утворення АТФ в дихальному ланцюзі. Виконує компенсаторну функцію в енергозабезпеченні клітин у разі порушення НАД-залежного дихання. Зниження його активності свідчить про порушення енергетичної функції мітохондрій.

Інтенсифікація процесів ПОЛ за гіпоксії супроводжується пригніченням активності  $c_3$ -цитохром- $c$ -оксидази внаслідок зв'язування нітроген оксиду з залізом гему в активному центрі ензиму [455, 471].

Агресивність диму зумовлена не тільки газоподібними хімічними активними сполуками, яким властива канцерогенна дія (формальдегід, бензпірен), але й елементами твердої фази сигаретного диму (сполуками кадмію, нікелю, полонію, деякими іншими важкими металами) [116, 225, 313, 376, 457, 471]. Сигаретний дим, який містить піримідинові основи, нікотин, аміак, ушкоджує слизову оболонку бронхів, сприяє розвитку бронхолегеневої бактеріальної інфекції внаслідок зниження місцевого імунітету [198, 205, 216, 463, 478]. Під впливом куріння розвивається хронічне запалення дихальних шляхів, гіпертрофуються бронхіальні залози слизової оболонки. Із прогресуванням захворювання процес переходить на дрібні бронхи, де відбувається гіперплазія келихоподібних клітин, утворення слизових грудок, набряк і запальна інфільтрація слизового та підслизового шарів. Порушення у системі протеолітичних ензимів та їх інгібіторів унаслідок куріння сприяє виникненню хронічного бронхіту. Під впливом цигарок порушуються біохімічні процеси в легенях і бронхах, змінюється функція епітеліальних клітин та альвеолярних макрофагів, які виділяють хемотаксичний фактор, приваблюючи велику кількість нейтрофілів [415, 418, 421, 466].

Нейтрофіли й альвеолярні макрофаги виділяють у великій кількості еластазу та інші протеолітичні ензими, а також мієлопероксидазу й оксиданти. Мієлопероксидаза та оксиданти ушкоджують клітинну паренхіму легень та інактивують інгібітори протеаз. Внаслідок вдихання сигаретного диму пригнічується біосинтез еластину, а протеази змінюють еластичну тканину легень. У свою чергу протеїни, які утворюються при руйнуванні еластину, колагену та інших компонентів легень, приваблюють нові нейтрофіли, які спричинюють нові ушкодження та підтримують перебіг хронічного запалення [418, 421].

Сьогодні найбільше вивченою є НАДФН-залежна оксидаза фагоцитуючих клітин крові. До НАДФН-оксидазного комплексу входять зв'язаний із цитоплазматичною мембраною цитохром P-558 і три цитоплазматичні протеїни, зв'язування яких із мембраною необхідне для активації ензиму. Активація НАДФН-оксидази відбувається прозапальними цитокінами (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-1, 7) та деякими ростовими факторами, під впливом яких відбувається міграція цитозольного комплексу до мембран та зв'язування його з цитохромом P-558. За цих умов, у нейтрофілах 90 % кисню відновлюється до  $\cdot\text{O}-\text{O}\cdot$  (так званий кисневий спалах або дихальний вибух). Утворений  $\cdot\text{O}-\text{O}\cdot$  є попередником широкого спектру реакційно здатних оксидантів: окиснених форм галогенів, вільних радикалів, синглетного кисню, які є потужними противірусними, протибактерійними та протипухлинними чинниками [252, 265, 277].

З літератури відомо, що потрапляння до організму тютюнового диму викликає утворення значної кількості АФО, що призводить до розвитку оксидативного стресу [277, 332, 362, 366, 393]. У цей час в організмі активуються запальні процеси, на що вказує дисбаланс про- та протизапальних цитокінів, який переважає в сторону утворення маркерів запалення інтерлейкінів IL-1, 8, 6, TFN. Останні можуть бути активаторами утворення iNOS [507, 510, 514, 517].

Через велику кількість хімічно активного кисню та нітрогену, що генеруються активованими лейкоцитами, запалення це одна з основних причин, що порушує структуру клітинних компонентів, в тому числі ДНК [199, 276, 443].

АФО продукуються при активації таких ензимів, як NO-синтаза [186, 198, 419, 510], гамма-глутаміл-транспептидаза (ГГТП), а також у реакціях самовільного неензимного окиснення гемоглобіну [449], ферредоксинів, катехоламінів, у біологічних системах із наявністю іонів металів із перемінною валентністю, передусім феруму [206, 427]. Утворення АФО відбувається при окисненні арахідонової кислоти у реакціях, які каталізують циклооксигеназа і ліпоксигеназа. Субстратом для цих ензимів є неестерифікована арахідонова кислота, що утворюється при активації фосфоліпази  $A_2$ . При ензимному окисненні арахідонової кислоти утворюються перекисні та вільнорадикальні ейкозаноїди, які також утворюють АФО. Зовсім недавно показано, що антитіла також здатні продукувати  $H_2O_2$ , тобто вони є генераторами АФО у організмі тварин [211, 425].

За нормальних умов концентрація АФО у тканинах є невисокою  $H_2O_2$  –  $10^{-8}M$ ,  $\cdot O-O\cdot$  –  $10^{-11}M$ ,  $OH\cdot$  –  $<10^{-11}M$  [199]. Серед причин, які зумовлюють збільшення продукції АФО, виділяють такі: порушення транспорту електронів у дихальному ланцюгу мітохондрій та електронно-транспортному ланцюгу мікросом, інтенсифікація синтезу та окиснення катехоламінів, посилення деградації аденілових нуклеотидів та активація ксантиноксидази, поява пулу каталітично активних іонів металів змінної валентності (особливо  $Fe^{2+}$ ), синтез простагландинів з арахідонової кислоти (реакції, які каталізують циклооксигеназа та ліпоксигеназа), активація індукцибельної форми синтази нітроген оксиду, посилення активності фагоцитів [252]. Під дією екстремальних факторів різного походження (хімічне забруднення, іонізуюче випромінювання, гіпер- і гіпоксія, токсичні речовини, запальні процеси) утворення АФО у живих організмах інтенсифікується [264].

У тварин швидкість генерації АФО корелює із кількістю спожитого кисню та пропорційна до кількості мітохондрій у клітинах. У печінці щура, при фізіологічних концентраціях кисню, 1–4 % від спожитої його кількості перетворюється у АФО внаслідок втрати електронів із мітохондрій [312, 338]. Показано, що до 75 % кисню, який поглинають мікросоми, може перетворюватися у АФО [341]. Утворення АФО спостерігається у багатьох клітинних компонентах: мітохондріях, мікросомах, ендоплазматичній та ядерній мембранах, цитоплазмі [375]. Окремі автори вважають, що навіть у спокої 10–15 % всього спожитого тваринами кисню перетворюється у супероксид, а за умов стресу, коли активність супероксид-генеруючих ензимів різко зростає, інтенсивність одноелектронного відновлення кисню зростає ще на 20 % [376, 382]. Вчені вважають, що процес утворення АФО в організмі людини та тварин є фізіологічно запрограмований.

Будь-яка стресова реакція організму в нормі супроводжується короткочасним збільшенням кількості АФО [382]. Це зумовлено адаптацією організму до екстремальних умов, за яких АФО відіграють роль вторинних месенджерів, беручи участь у сигнальній трансдукції та активації факторів транскрипції та відповідних генів, зокрема тих, що кодують ензими антиоксиданти [268, 323, 346]. АФО беруть участь у метаболізмі клітин, як вторинні месенджери при передачі регуляторного сигналу від міжклітинних сигнальних молекул і їх мембранних рецепторів на внутрішньоклітинні регуляторні системи, які контролюють експресію генів [398, 415]. Метаболізм клітин у значній мірі залежить від характеру інформації, яка поступає з навколишнього середовища. Носіями цієї інформації є первинні месенджери: гормони, цитокіни, нейротрансмітери. У передачу сигналу через клітинну мембрану включаються вторинні месенджери. Показано, що первинні месенджери здійснюють регуляцію рівня АФО у клітинах або за рахунок процесів їх генерації, або зниження активності окремих ланок системи антиоксидантного захисту.

Розвиток більшості патологічних станів відбувається за вільнорадикальним механізмом, що на клітинному рівні характеризується посиленням продукування вільних радикалів, серед яких особливе місце належить активним формам кисню та нітрогену [429, 437, 449]. Надлишкове та неконтрольоване утворення АФО виступає тригером у розвитку глибоких оксидативних пошкоджень клітинних компартментів, поглиблюючи розвиток патологічного процесу [332, 386].

Інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення під дією АФО приводить до посилення ПОЛ, ОМП, деструкції нуклеїнових кислот, вуглеводів, що спричиняє структурні та метаболічні порушення у клітинах. Ініціатором цього процесу у більшості випадків виступає  $\text{OH}\cdot$ , який здатний забирати атом гідрогену від органічних сполук з утворенням органічного вільного радикалу ( $\text{RH} + \text{OH}\cdot \rightarrow \text{R}\cdot + \text{H}_2\text{O}$ ) [198, 220].

Однією з основних причин пошкодження і загибелі клітини внаслідок дії АФО на сьогодні вважається пероксидне окиснення ліпідів [222, 237]. Цим шляхом окиснюються ненасичені жирні кислоти, що може бути причиною порушення цілісності та властивостей біологічних мембран. Найбільш важливими біомаркерами окиснення поліненасичених жирних кислот є коротколанцюгові алкани та алкени, а також алканали, 2,4-алкадієнали, алкатрієнали, гідроксіалкєнали, 4-гідроксіалкєнали та їх пероксиди, малоновий діальдегід, аліфатичні кетони та ізопростани [332].

Однак ПОЛ не є виключно деструктивним процесом. Пероксидне окиснення ліпідів має важливе значення для оновлення біологічних мембран, ротації їх протеїнового й ліпідного компонентів, регуляції фізико-хімічних властивостей мембран клітин і субклітинних структур [342, 370]. Пероксиди ліпідів і низькомолекулярні продукти деградації окиснених ліпідів можуть брати участь у сигнальній трансдукції, які визначають можливість виживання клітини, або її загибель у стресових ситуаціях [375, 378].

Протеїнові молекули є мішенями для атаки АФО, що призводить до зміни їх вторинної та третинної структури, агрегації та фрагментації. У зв'язку з особливостями хімічної будови та структурної організації протеїнів процес ОМП має складний характер, що пов'язано з утворенням великої кількості окиснених продуктів радикальної та нерадикальної природи.

Біологічна роль протеїнових радикалів не з'ясована, але здатність їх окиснювати інші біомолекули засвідчує їх важливу роль в окиснювальному пошкодженні біологічних систем та прооксидантну дію [407]. З іншої сторони, здатність протеїнів реагувати з радикальними сполуками розглядають, як прояв антиоксидантних властивостей [408]. Встановлено, що протеїнові радикали є важливою проміжною ланкою при окиснювальному пошкодженні ліпопротеїнів низької щільності [512]. Показано, що утворені протеїнові радикали можуть нейтралізуватися низькомолекулярними компонентами системи антиоксидантного захисту, зокрема уратами та каротиноїдами [513].

Головними мішенями АФО є цистеїнові, гістидинові, тирозинові, фенілаланінові, триптофанові та метіонінові залишки.  $\text{OH}^\cdot$  і  $\cdot\text{O}-\text{O}^\cdot$  можуть взаємодіяти не тільки з амінокислотними залишками, але і окиснювати скелет поліпептидного ланцюга з наступною фрагментацією. Ступінь пошкодження молекули протеїнів визначається амінокислотним складом та структурною організацією та доступністю амінокислотних залишків для радикальних продуктів [375, 376]. Залежно від хімічної будови АФО ступінь ОМП може бути різним:  $\text{OH}^\cdot$ -здебільшого викликає агрегацію протеїнів, а у комбінації з  $\cdot\text{O}-\text{O}^\cdot$  — фрагментацію. У першому випадку утворюються агрегати за рахунок міжмолекулярних ковалентних зв'язків, в утворенні яких бере участь тирозин. При фрагментації протеїнів руйнуються пептидні зв'язки [222]. Взаємодія АФО з металоензимами супроводжується окисненням активних центрів та інактивацією останніх [282]. Продукти ПОЛ також можуть індукувати фрагментацію або зшивки протеїнових молекул [290, 299]. Дія АФО на протеїни може спричиняти утворення ковалентних зв'язків як безпосередньо

у молекулі, так і між сусідніми молекулами [370]. Показано, що конформаційні зміни у структурі молекул протеїнів, які відбуваються при їх взаємодії з АФО, збільшують доступність пептидних зв'язків для дії протеїназ [208]. АФО можуть впливати на процеси внутрішньоклітинної деградації протеїнів не лише шляхом модифікації їх структури, але й шляхом зміни рівноваги між протеазами та їх інгібіторами. Наприклад, при взаємодії з вільними радикалами інактивуються інгібітори протеаз  $\alpha 1$ -антитрипсин та  $\alpha 2$ -макроглобулін [225].

На думку багатьох дослідників, кисневозалежне окиснення протеїнів є раннім індикатором пошкодження органів і тканин. Вважають, що ОМП відіграє ключову роль у молекулярних механізмах оксидативного стресу і є пусковим механізмом до окиснювальної деструкції інших молекул, наприклад ліпідів і нуклеїнових кислоти [111].

Активація процесів вільнорадикального окиснення та розвиток гіпоксії є однією із найбільш вагомих причин порушень метаболізму за умов отруєння токсикантами різного генезу. Мітохондріальні дисфункції, пов'язані з процесами окисного фосфорилування, структурною цілісністю мітохондрій та інформаційною ідентичністю їх генетичного апарату, виникають за умов оксидативного стресу, при хворобах, викликаних метаболічними порушеннями, а також канцерогенезі [375, 376]. Характерними ознаками трансформованих клітин є підвищення рівня АФО, неефективність транспорту електронів в дихальному ланцюзі, посилення метаболізму, послаблення процесів нейтралізації АФО. Необоротні порушення в структурі та функціонуванні мітохондрій, спричинені дією надмірних кількостей АФО, зумовлюють зсув енергетичного метаболізму в бік зростання інтенсивності гліколізу та пригнічення окисного фосфорилування.

В останні роки широко досліджується вплив тютюнопаління на вільнорадикальні процеси в організмі. Встановлено, що паління призводить до вичерпання запасів вітамінів С та А, знижує сироватковий рівень інших



антиоксидантів, що зумовлює ушкодження тканин вільними радикалами. В експериментах із тваринами було доведено наявність вірогідно вищих концентрацій малонового діальдегіду, ТБК-АП, активності глутатіонпероксидази під впливом тютюнового диму та різке зниження концентрації вітамінів С, А та Е [199]. Вивчення показників окисно-антиоксидантного статусу у пасивних курців виявило подібність їх змін до таких у активних курців, причому рівні досліджуваних показників у активних і пасивних курців вірогідно не відрізнялись.

Багато літературних даних вказують на те, що тютюновий дим може викликати запальні процеси, зокрема, за допомогою індукції прозапальних цитокінів [17, 154, 235]. Відомо, що цитокіни втягуються у запальний процес на рівні імунних механізмів і ефекторної ланки, запускаючи послідовний ланцюг реакцій, що проявляється у порушенні мікроциркуляції, виникненні гіпоксії, ушкодженні метаболічної функції органів.

Запалення розвивається у відповідь на пошкодження та проникнення у тканини патогенів при участі прозапальних цитокінів, до яких відносяться: ІЛ-1, TNF- $\alpha$ , ІЛ-6, ІЛ-8, хемокіни [511]. У разі порушень місцевих захисних реакцій запальна реакція поширюється, синтез цитокінів збільшується, вони попадають до кровотоку та проявляють свою дію вже на системному рівні. У цьому випадку прозапальні цитокіни впливають практично на всі органи та системи організму [140, 270]. Вказані порушення визначають перебіг, тяжкість і результат патологічного процесу [131, 281, 299].

Відомо, що прозапальні цитокіни можуть бути активаторами в організмі іNOS за різних патологічних станів [145, 408, 511]. Окрім того, сигаретний дим, може бути блокатором утворення ендогенного NO шляхом зменшення експресії eNOS [497, 504]. За умов пасивного тютюнопаління блокується утворення ендогенного NO, так як газова фаза тютюнового диму містить нітроген оксиди та інші нітрогенвмісні сполуки, що діють за принципом зворотнього зв'язку.

Куріння сигарет сприяє стабілізації тромбіну в місці пошкодження артерії. У нормальних артеріях, активований протеїн С є потужним антикоагулянтном, який пригнічує поширення тромбу до артеріол [225, 253 265]. Куріння сигарет знижує рівень активованого протеїну С, тим самим сприяє поширенню тромбу та ініціює розвиток атеросклерозу.

Тютюновий дим, впливаючи на ліпідний профіль, може викликати розвиток атеросклерозу у курців. Вони мають більш високий рівень холестеролу в сироватці крові, тригліцеролів і ЛПНЩ. Сигаретний дим стимулює вивільнення катехоламінів у корі надниркових залоз [270, 325], що призводить до підвищення концентрації в сироватці крові вільних жирних кислот. Куріння сигарет підвищує окиснювальну модифікацію плазмових ліпопротеїнів низької щільності [288, 330].

Запальна реакція є важливим компонентом в ініціюванні та поширенні атеросклерозу. Рівні кількох маркерів запалення, включаючи С-РП, інтерлейкін-6 та фактор некрозу пухлини, збільшуються в курців [399, 420]. Виявлено генетичну схильність впливати на ініціювання та прогресування атеросклерозу у курців.

При впливі на організм щурів різного віку тютюнового диму виявлено ряд змін в будові щитоподібної залози, які спостерігалися на всіх рівнях її структурної організації. При органометричному дослідженні щитоподібної залози у статевонезрілих щурів встановлено, що показники прогресивно зменшуються відповідно до збільшення тривалості впливу тютюнового диму. Найбільшу різницю по відношенню до показників контрольної серії спостерігали через 60 діб експерименту. У статевозрілих щурів, які зазнавали впливу тютюнового диму, спостерігалися збільшення темпів росту цієї залози щодо до контролю [520].

Одним із ключових компонентів канцерогенного тютюнового диму вважається утворений з нікотину нітрозамінокетон (4 - (метилнітрозаміно) -1 - (3-піридил)-1-бутанон). У науковій літературі є неспростовні дані про те, що

ця речовина стимулює появу ракових пухлин у легенях [249, 252, 411]. Наприклад, при введенні нітрозамінкетону в організм лабораторних тварин спостерігається поява генних мутацій у клітинах легень і зміна нормального обміну речовин, характерна для пухлинного росту, а при постійному контакті організму з даною речовиною обов'язково виникають ракові пухлини в легеневій тканині [515].

Як показують численні дослідження, практично всі хімічні компоненти сигаретного диму, тією чи іншою мірою, здатні викликати дисметаболический стрес в організмі. Так, у курців зі стажем більше 10-ти років діагностують проатерогенні розлади метаболізму ліпідів: підвищення вмісту загального холестеролу, холестеролу низької щільності та тригліцеролів, зниження рівня холестеролу високої щільності, збільшення концентрації ліпідних перекисів, супероксиддисмутази та глутатіон-S-трансферази. Для переважної більшості затятих курців характерний IV тип дисліпопротеїнемії за Фредеріксоном. Крім того, тривалий вплив сигаретного диму підвищує активність основних факторів згортання крові, змінює її в'язкість, збільшує адгезію та агрегацію тромбоцитів, вкорочує тривалість їх функціонування, пригнічує процеси фібринолізу, що в кінцевому результаті сприяє виникненню тромбозу артерій, коронарної хвороби серця, уражень периферичних судин і мозкових артерій у курців.

Таким чином, сучасні наукові дослідження з вивчення механізмів ушкоджувальної дії тютюнового диму на організм людини дозволяють виділити три найбільш важливі фактори. Тютюнопаління є фактором, з яким пов'язують процес біологічного старіння клітин людського організму. Тютюновий дим порушує рівновагу в системі оксиданти/антиоксиданти та призводить до формування оксидативного стресу. Висока продукція АФО, а також певні хімічні сполуки (альдегіди та інші) індукують хронічний запальний процес дихальних шляхів. Нарешті, складний хімічний склад тютюнового диму має виражені генотоксичні властивості. Відповідь організму

на шкідливу дію тютюнового диму багато в чому залежить від експресії генів епітеліального покриву дихальних шляхів як у формуванні механізмів захисту, так і в процесі ампліфікації онкогенів.

Проаналізувавши наукові публікації останніх років, ми не зустріли достатньо досліджень про вплив тютюнового диму на організм людини та тварин у віковому аспекті. Виявлення порушень метаболізму в отруєних тварин дасть змогу діагностувати ступінь інтоксикації, її тяжкість та перебіг у залежності від віку.

### 1.3. Використання антиоксидантів, антигіпоксантів та ентеросорбентів за отруєнь різного генезу

В останні роки широко досліджуються різні лікарські речовини, які можуть регулювати процеси взаємодії окремих клітинних популяцій, перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту, енергетичного потенціалу та запальних процесів [12, 23, 24]. Тому, в практичному плані важливі дослідження, направлені на вивчення впливу метаболітотропних препаратів на перебіг патологічного процесу в організмі.

Позитивними рисами метаболічних засобів є повна відсутність небажаних гемодинамічних впливів, добра переносимість хворими всіх вікових груп, спрямованість впливу на глибинні метаболічні механізми розвитку порушень. Засоби метаболічної спрямованості підвищують стійкість тканин до гіпоксії, тому на практиці важливо визначити біохімічні реакції, які відбуваються в дихальному ланцюзі при застосуванні таких препаратів [40, 54, 67, 68].

У середині сімдесятих років у Латвійському Інституті органічного синтезу Іваром Калвіньшем та іншими дослідниками було розпочато розробку нового лікарського препарату, який відомий під міжнародною непатентованою назвою (INN) мельдоній. Діючою речовиною мельдонію є 3-(2,2,2-триметилгідразиній) пропіонату дигідрат. Ці ліки широко

використовується в медичній практиці з 1984 року під назвою Мілдронат, а з недавнього часу і під назвою Вазонат [142, 245, 311, 325].

Мілдронат обмежує транспорт через мембрани мітохондрій лише довголанцюгових жирних кислот, в той час як коротколанцюгові можуть вільно проникати у мітохондрії та окиснюватися, при цьому не відбувається накопичення недоокислених жирних кислот всередині мітохондрій. Це відрізняє триметилгідразинію пропіонат від триметазидину, який є прямим інгібітором бета-окислення вільних жирних кислот і гальмує у мітохондріях бета-окислення довголанцюгових і коротколанцюгових жирних кислот, блокуючи останню реакцію 4-стадійного процесу їх окислення (3-кетואцил-КоА-тіолазу), що не заважає накопиченню активованих жирних кислот у мітохондріях і неминучого накопичення їх недоокислених форм всередині них. Мельдоній (Метамакс) є одним із найсильніших зворотних інгібіторів гама-бутиробетайну в карнітин, тим самим знижує карнітин-залежний транспорт жирних кислот у мітохондрії м'язової тканини [208, 360]. Це означає, що він практично не здатний виявляти токсичний вплив на дихання мітохондрій, адже блокує окислення не всіх жирних кислот (рис. 3).



Рис. 3 Механізм дії мілдронату (мельдонію)

Встановлено й інші позитивні ефекти мілдронату, насамперед – антиоксидантний. Він зменшує інтенсивність ПОЛ і підвищує активність

ендогенних антиоксидантів, нівелюючи наслідки окисного стресу. В експерименті та клініці показано, що мельдоній може чинити позитивний вплив на дисфункцію ендотелію і, відповідно, зумовлює нормалізацію судинного тонуусу. Крім того, він проявляє й інші судинні ефекти: зменшує периферичний опір судин, вазоспазм, викликаний дією адреналіну та ангіотензину. Препарат має цілий ряд плейотропних ефектів: підвищує чутливість до інсуліну, покращує метаболізм глюкози та ліпідів.

Мілдронат за 30-літній період перебування на фармацевтичному ринку продемонстрував свою ефективність у складі комплексного лікування найпоширеніших серцево-судинних захворювань – ішемічної хвороби серця, артеріальної гіпертензії, мозкового інсульту як одного з ускладнень артеріальної гіпертензії, а також хронічної серцевої недостатності. Головними мішенями при цих захворюваннях є міокард та судини, в яких відзначають порушення енергозабезпечення та недоотримання кисню при підвищеній потребі в ньому. Слід зазначити, що оскільки мілдронат (3-(2, -2, -2 - триметилгідразиній) пропіонат за хімічною будовою структурно подібний  $\gamma$ -бутиробетайну, він гальмує синтез карнітину з нього, наслідком чого вважається пригнічення карнітинзалежного окиснення жирних кислот в мітохондріях, що запобігає пошкодженню їхніх мембран [360, 488]. Мілдронат вважають цитопротектором другого покоління, механізм протекції якого заснований на оптимізації утилізації  $O_2$ , відновлення внутрішньоклітинного транспорту АТФ, нормалізації функції насосів, індукції синтезу та накопичення протеїнів, відповідальних за альтернативні процеси енергозабезпечення ішемізованої тканини [1, 19, 475]. Унікальність мілдронату пов'язана з оптимізацією процесів, що визначають виживання клітин, за умов дефіциту  $O_2$  незалежно від причин його виникнення.

У пацієнтів із хронічною серцевою недостатністю, ішемічною хворобою серця та інших станах, що супроводжуються гіпоксією, застосовують мілдронат (мельдоній) як препарат метаболічної терапії з цитопротекторними

властивостями [34, 36, 41]. Маючи кардіопротекторну дію, препарат також позитивно впливає на функціональний стан нирок [28, 30].

За умов достатнього надходження кисню до кардіоміоцитів найважливішим субстратом енергетичного метаболізму є жирні кислоти (ЖК). Надходять вони у клітину, а потім у мітохондрії завдяки переноснику L-карнітину. Далі, у мітохондріях у результаті  $\beta$ -окислення ЖК утворюється ацетилкоензим А, який поступає в цикл Кребса, де і синтезується АТФ. Альтернативним джерелом утворення енергії є шлях аеробного або анаеробного окислення глюкози. Саме за умов ішемії включається альтернативний синтезу АТФ – анаеробний гліколіз. Але накопичення недоокислених метаболітів жирних кислот (ацилкарнітину і ацилкоензиму А) спричинюють руйнування клітини, блокаду транспорту вже синтезованого АТФ з мітохондрій у цитозоль, що власне, і є причиною загибелі клітини. Існуючі метаболічні препарати впливають на різні етапи порушення синтезу АТФ за умов ішемії. Одна група препаратів (триметазидин) частково пригнічує окислення жирних кислот завдяки інгібування довголанцюгової 3-кетואцил СоА тіолази [144]. Друга група препаратів (L-карнітин) посилюють окислення вуглеводів у циклі Кребса та стимулюють піруватдегідрогеназу [167]. І зрештою, один із сучасних напрямків метаболічної терапії – це зворотне пригнічення гамма-бутиробетаїн-гідроксилази, зниження біосинтезу карнітину та зупинка транспорту довголанцюгових жирних кислот крізь оболонки клітин. Ця властивість притаманна мельдонію. Доведено, що при зменшенні концентрації карнітину за умов ішемії затримується бета-оксидація жирних кислот та оптимізується споживання кисню у клітинах, стимулюється окислення глюкози та відновлюється транспортування АТФ від місць його біосинтезу (мітохондрії) до місць споживання (цитозоль). Отже, клітина забезпечується поживними речовинами та киснем, а також оптимізується споживання цих речовин [142].

У свою чергу, при збільшенні біосинтезу попередника карнітину, тобто гамма-бутиробетаїну, активізується NO-синтаза, у результаті чого покращуються реологічні властивості крові та зменшується периферійний опір судин [36, 144 ].

NO є універсальним ключовим ангіопротекторним фактором, який необхідний для підтримки нормального базального тону судин. Він пригнічує проліферацію гладкої мускулатури судин, запобігаючи тим самим патологічну перебудову судинної стінки (ремоделювання), прогресування атеросклерозу. NO має антиоксидантну дію, пригнічує агрегацію і адгезію тромбоцитів, адгезію нейтрофілів до ендотелію, міграцію моноцитів.

Крім того, NO бере участь в різних процесах у нервовій, репродуктивній та імунній системах, проявляє цитотоксичні та цитостатичні властивості. Клітини-кілери імунної системи використовують його для знищення бактерій і клітин злоякісних пухлин. З порушенням біосинтезу та метаболізму NO пов'язані такі захворювання, як есенціальна артеріальна гіпертензія, ішемічна хвороба серця, інфаркт міокарда, первинна легенева гіпертензія, бронхіальна астма, невротична депресія, епілепсія, нейродегенеративні захворювання (хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона), цукровий діабет, імпотенція. [306].

В організмі людини NO синтезується з амінокислоти L-аргінін під впливом ензимів NO-синтази. Під впливом eNOS відбувається забезпечення фізіологічних рівнів нітроген оксиду. Утворений з L-аргініну NO активує в клітинах гладеньких м'язів гуанілатциклазу, стимулюючи синтез циклічного гуанозинмонофосфату, який в свою чергу, обумовлює вазодилатацію. Характерною особливістю NO є здатність швидко (менш ніж за 5 секунд) дифундувати через мембрану клітини в міжклітинний простір і легко проникати в клітини-мішені. По суті, NO є локальним тканинним гормоном. Цілий ряд наукових досліджень довели участь NO в багатьох фізіологічних процесах [461, 501].



Кардіопротекторні властивості мельдонію підтверджено в досліджах на ізольованому серці та папілярних м'язах щурів, ізольованому передсерді кроля при ізадриновому міокардиті та інфаркті міокарда, протиішемічна дія — в досліджах на щурах з адреналіновою міокардіодистрофією та на моделях серцево-легеневої недостатності в собак. Препарат сприяв відновленню показників кардіо- та системної гемодинаміки (стабілізував коронарний кровообіг і кровообіг у малому колі кровообігу), біохімічних показників прооксидантного гомеостазу, енергетичного, ліпідного обміну, гліколізу та циклу Кребса [330]. З урахуванням динаміки біохімічних показників у міокарді щурів і собак при застосуванні мельдонію останній віднесено до антиоксидантів, що стало підставою для його подальшого випробування як адаптогена та актопротектора. Як наслідок встановлено здатність препарату підвищувати опір організму до виснажувальних фізичних навантажень.

Несподіваний результат був отриманий при дослідженні впливу мельдонію на щурах з експериментальною моделлю сепсису. Одноразове введення мельдонію (Мілдронату 120 мг / кг) знижувало патологічну продукцію супероксидних радикалів вдвічі, зменшувало ендотеліальну дисфункцію, стимулюючи біосинтез NO. Таким чином, препарат міг би бути рекомендований для лікування порушень мозкового кровообігу при сепсисі [462]. Ефективний препарат і при периферичній невропатії при експериментальному діабеті [306]. Тривале курсове введення мельдонію (100 мг / кг, 4 місяці) зменшувало розмір атеросклеротичних бляшок у схильних до швидкого розвитку атеросклерозу мишей.

Латвійськими дослідниками описана кристалічна тривимірна структура  $\gamma$ -бутиробетаїнгідроксилази, охарактеризовано місце зв'язування мельдонію з цим ензимом [495, 496]. Крім інгібуючого ефекту на біосинтез карнітину мельдоній, як виявилось, здатний блокувати транспорт карнітину всередині мітохондрій шляхом пригнічення карнітин-ацил-трансферази. Пізніше було показано, що мельдоній пригнічує  $\text{Na}^+$ -залежний транспорт карнітину в

культивовані м'язові трубочки ізольованих міоцитів. Отримано нові дані можливого інгібування мельдонієм карнітин-ацилкарнітинтранслокази. Таким чином, мельдоній ефективно знижує синтез карнітину за допомогою інгібування:

1)  $\gamma$ -бутиробетаїнгідроксилази; 2) специфічного білка; 3) карнітин-ацетилтрансферази і 4) карнітин-ацилкарнітинтранслокази. Крім того, є дані про збільшення ниркової екскреції карнітину та конкурентне інгібування транспорту карнітину через мембрану мікрворсинок нирок, що вважається настільки ж важливим у механізмі дії мельдонію, як і блокування біосинтезу карнітину.

Виявлено ендотеліопротекторний, імуномодулювальний, антиагрегантний ефект мельдонію. Продемонстровано його вплив на біосинтез нітроген оксиду азоту, зниження рівня С-РП, послаблення експресії інтерлейкіну-1, підвищення рівня інтерферону, а також антикетогенні властивості при цукровому діабеті та ожирінні [149]. Висловлено припущення про можливе віднесення мельдонію до інгібіторів поліфосфоінозитидної системи клітинної сигналізації з вираженою політропністю дії [150]. Про нейропротекторну активність мельдонію свідчили результати експериментів на щурах при моделюванні в них хвороби Паркінсона, а також нейротоксичності за допомогою азидотимідину [306].

Вважають, що мельдоній може бути призначений у комплексній фармакотерапії при коморбідних станах, зокрема при діабетичній нефропатії та нейропатії [121, 149, 324, 514].

Відзначено хорошу переносимість мельдонію пацієнтами похилого та старечого віку з ішемічною хворобою серця та хронічною серцевою недостатністю [66, 102].

Отже, механізм дії мельдонію (мілдронату) визначає різноманіття його фармакологічних ефектів: антигіпоксична та кардіопротекторна дія; вазодилатуюча дія, покращення мікроциркуляції в тканинах.

Альтернативним рішенням у плані оптимізації сучасної антиішемічної терапії є комбінування метаболічної та гемодинамічної концепцій – сумісне застосування попередників і аналогів карнітину – мельдонію і гамма-бутиробетаїну. Фармакодинамічні переваги комбінованого застосування даних речовин характеризуються явищем синергічного феномену у вигляді взаємного потенціювання їх ефектів. Представлена концепція лягла в основу розробки оригінального регулятора функції судинного ендотелію препарату «Капікор», який об'єднав у собі переваги метаболічного цитопротектора мельдонію і ендотеліального коректора гамма-бутиробетаїну. Ця комбінація запобігала вазоконстрикції, викликаній інгібітором синтази нітроген оксиду [66, 142]. Таким чином, комбінація мельдоній і гамма-бутиробетаїн виявилася сильнішим вазорелаксантом, ніж її компоненти окремо. Отже, на відміну від мельдонію комбінація мельдоній +  $\gamma$ -бутиробетаїн сприяє більшою мірою фізіологічному утворенню ефірів гамма-бутиробетаїну [66, 67, 106, 142].

Метонат (3-(2,2,2-триметилгідразиній) пропіонату дигідрат) є попередником карнітину, структурним аналогом гамма-бутиробетаїну, у якого один атом карбону заміщений на атом нітрогену. Його дію на організм можна пояснити двояко. Метонат (3-(2,2,2-триметилгідразиній) пропіонату дигідрат), оборотно інгібуючи гамма-бутиробетаїнгідроксилазу, зменшує біосинтез карнітину і тому перешкоджає транспортуванню довголанцюгових жирних кислот через оболонки клітин, таким чином перешкоджаючи накопиченню в клітинах сильного детергента – активованих форм неокислених жирних кислот. Отже, попереджається ушкодження клітинних мембран.

При зменшенні концентрації 3-(2,2,2-триметилгідразиній) пропіонату дигідрату біосинтез карнітину посилюється та у клітинах поступово збільшується кількість жирних кислот. Вважається, що в основі ефективності дії 3-(2,2,2-триметилгідразиній) пропіонату дигідрату лежить підвищення толерантності до клітинного навантаження (при зміні кількості жирних кислот).

Препарату притаманна стимулююча дія на ЦНС – підвищення рухомої активності та фізичної витривалості, стимуляція поведінкових реакцій, а також антистресорна дія – стимуляція симпатoadреналової системи, накопичення катехоламінів у головному мозку та надниркових залозах, захист внутрішніх органів проти змін, спричинених стресом [36, 102].

Оригінальний комбінований препарат ритмокор (діюча речовина – пентагідросикапронова (глюконова) кислота у вигляді магнієвої та калієвої солей також є метаболічним регулятором біохімічних процесів при зниженні напруження кисню, зокрема, в міокарді. Ритмокор покращує клітинний метаболізм, має мембраностабілізуючу, антиоксидантну дію [54, 106]. Сприятливий вплив ритмокоору на метаболізм зумовлений підвищенням активності окисно-відновних ензимів (зокрема,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази).

Відомо, що для поліпшення енергетичного статусу клітини використовуються антигіпоксанти, що сприяють відновленню функції мітохондрій і усувають дисбаланс енергетичного обміну [67]. Одним із ефективних антигіпоксантів є гіпоксен (оліфен) – натрієва сіль полі (*n*-діокси-*o*-фенілен) тіосірчаної кислоти, що відноситься до класу штучно створених редокс-систем. Препарат успішно пройшов випробування при широкому колі захворювань, в основі яких важливу роль відіграють гіпоксичні та ішемічні розлади; дозволений до медичного використання при оперативних втручаннях, захворюваннях легенів, а також застосовується в клініці як нейро-ангіо-, кардіо-, гепато- і гастропротектор [114, 115, 118]. Механізм антигіпоксичної дії гіпоксену полягає в шунтуванні транспорту електронів 1-го і 2-го комплексів дихального ланцюга за рахунок високої електронобмінної ємності, при цьому збільшується швидкість споживання кисню та підвищується спряженість окисного фосфорилування.

Полігідрофеніленова структура гіпоксену забезпечує прояв виражених антиоксидантних властивостей, здатність зв'язувати велику кількість вільних радикалів, нейтралізувати окислювачі та ПОЛ [132]. Відзначено, що при

коронарному атеросклерозі та ішемічній хворобі серця виникає розрив між потребами серця та здатністю артерій постачати ділянки міокарда достатньою кількістю крові, насиченої киснем [67]. Клінічні дослідження показали, що у хворих на ішемічну хворобу серця при включенні гіпоксену в комплекс терапевтичних заходів зменшується ймовірність розвитку незворотних змін в ішемізованих ділянках серцевого м'яза, знижується загальне споживання кисню, нормалізується гемодинаміка [67].

Отже, застосування препаратів метаболічної дії, що проявляють антиоксидантні та антигіпоксанти властивості при патологіях, які супроводжуються гіпоксичними станами, є доцільним та перспективним напрямком лікування багатьох захворювань.

Значне місце в комплексі лікувальних заходів має ентеросорбція, оскільки сприяє помітному зменшенню проявів ендогенної інтоксикації. Цей метод заснований на здатності ентеросорбентів зв'язувати та виводити з організму різні екзогенні речовини, мікроорганізми та їх токсини, ендогенні проміжні та кінцеві продукти обміну. Є ряд наукових статей, присвячених вивченню ефективності застосування ентеросорбції при різних захворюваннях [4, 9]. Зараз існує багато видів ентеросорбентів з різним механізмом впливу на організм.

Ентеросорбенти класифікують наступним чином: I – за лікарською формою та фізичними властивостями – гранули, порошки, гелі, колоїди, харчові добавки, волокна; II – за хімічною структурою – активоване вугілля, цеоліти, алюмогелі, окисні та інші неорганічні сорбенти, харчові волокна, органомінеральні сорбенти; III – за механізмами сорбції – адсорбенти, абсорбенти, іоннообмінні матеріали, сорбенти з каталічними властивостями; IV – за селективністю – неселективні, селективні, бі- та поліфункціональні сорбенти.

Ентеросорбенти, які використовуються для медичного призначення повинні мати не лише належні фізико-хімічні параметри, а й відповідати

наступним критеріям [4]: а) нетоксичність; б) атравматичність для слизових оболонок шлунко-кишкового тракту; в) задовільна евакуація з кишківника; г) міцне зв'язування токсичних сполук; д) відсутність негативного впливу на секреторну активність залоз шлунково-кишкового тракту, процеси травлення та біоценоз кишкової мікрофлори; е) прийнятні органолептичні властивості сорбента, а також лікарська форма препарату.

Окрім того, сорбенти повинні відповідати таким вимогам: мати високу ємність щодо широкого спектру токсичних речовин, бактерійних токсинів і клітин, причому ця ємність повинна зберігатися при будь яких значеннях рН; не містити токсичних домішок [129].

Особливістю ентеросорбентів, як фармакологічної групи лікарських засобів, є відсутність власної фармакокінетики, оскільки вони, як правило, нерозчинні та не всмоктуються в шлунково-кишковому тракті [129].

Широке використання ентеросорбції у клінічній практиці в останні роки обумовлено тим, що вдалося налагодити випуск ряду нових, високоефективних сорбентів. Україна і до теперішнього часу зберігає лідируючі позиції у розробці та виробництві сорбентів медичного призначення, їх впровадженні в клінічну практику для лікування патологічних станів, що супроводжуються синдромом ендогенної інтоксикації. Сучасні марки ентеросорбентів мають більшу механічну міцність і сферичну форму, що обумовлює їх плинність і швидке проходження через шлунок, тонку і товсту кишки в майже незміненому вигляді та виведення з організму. Вони також мають кращі показники пористості, що збільшує їх питому поверхню. При проходженні через шлунково-кишковий тракт ентеросорбенти стають на заваді контакту токсичних сполук зі слизовою оболонкою, чим істотно зменшують їх всмоктування [174].

Серед значної кількості сорбентів, які на сьогодні використовуються в клінічній практиці, нашу увагу привернув препарат карболайн – неорганічний, поліфункціональний ентеросорбент на основі тканинного вуглецевого

волокна з питомою сорбційною поверхнею пор до 2500 м<sup>2</sup>/г (вологі гранули діаметром біля 3 мм). Він був створений у квітні 1986 року науковцями Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України спільно з військово-медичною службою СБУ. Після аварії на Чорнобильській АЕС карболайн широко застосовувався для виведення радіонуклідів. Клінічні та експериментальні дослідження показали високу ефективність препарату при лікуванні цілої низки захворювань [8, 80].

Карболайн має виражені сорбційні та детоксикаційні властивості. У просвіті шлунково-кишкового тракту карбонове волокно зв'язує та виводить із організму ендогенні та екзогенні токсичні речовини різної природи, включаючи патогенні бактерії та бактеріальні токсини, антигени, харчові алергени, лікарські препарати та отрути, солі важких металів, радіонукліди, алкоголь. Карболайн сорбує деякі продукти обміну речовин, в тому числі надлишок жовчних кислот, білірубину, сечовини, холестеролу та ліпідних комплексів, а також метаболіти, відповідальні за розвиток ендогенного токсикозу. Щодо фармакокінетичних особливостей препарату, то карболайн не розщеплюється і не всмоктується в шлунково-кишковому тракті, тому виділяється із організму в незміненому вигляді [91, 99].

Відомо, що позитивний вплив ентеросорбент карболайн має при комплексному лікуванні хворих із хронічним обструктивним захворюванням легень із синдромом ендогенної інтоксикації, про що свідчать зменшення рівня молекул середньої маси та нормалізація еритроцитарного індексу інтоксикації [80, 91].

Його ефективність доведена для корекції змін у функціонуванні циклу нітроген оксиду в слизовій оболонці шлунка щурів, викликаних фторидним компонентом нітратно-фторидної інтоксикації [4].

Встановлено, що за умов введення ентеросорбенту карболайн тваринам з диметилгідразин-індукованим канцерогенезом на тлі застосування

цитостатиків достовірно знижується активність лужної та кислої фосфатаз, амінотрансфераз, концентрації креатиніну, сечовини, сечової кислоти, холестеролу, білірубіну. Вище наведена динаміка змін біохімічних параметрів крові піддослідних тварин вказує на те, що застосування карбонового сорбенту карболайн зменшує прояви клітинно-печінкової недостатності та пригнічує розвиток синдрому цитолізу у тварин із модельованою неопластичною інтоксикацією, а також сприяє відновленню функції нирок за рахунок покращення фільтраційної здатності клубочків [4].

Позитивний вплив ентеросорбції на перебіг багатьох захворювань і патологічних станів підтверджено даними про зниження з її допомогою вмісту продуктів вільнорадикального ПОЛ і стимуляцію антиоксидантного захисту організму, зокрема активності глутатіонової системи. Враховуючи значення ініціювання ПОЛ у розвитку багатьох захворювань, цей механізм дії дозволяє розглядати метод ентеросорбції як вид патогенетично зумовленої терапії [10, 174].

У розвитку ендогенної інтоксикації важливу роль відіграють такі чинники, як гіпоксія тканин і блокування тканинного дихання в патологічному вогнищі, що зумовлює накопичення лактату, пірувату та креатиніну, а також альдегідів, кетонів і карбонових кислот. При надходженні цих речовин у судинне русло змінюється кислотно-лужний баланс, що може спричинити пряме ураження органів. Внаслідок ушкодження тканин у системний кровообіг можуть надходити ензими (трипсин, амілаза, амінотрансферази, гіалуронідаза, лізосомні протеїни), а також продукти протеолізу протеїнів [174]. Токсичні продукти проникають у незмінені, інтактні клітини, спричиняючи в них порушення метаболізму. Це супроводжувалося масивним вивільненням внутрішньоклітинних біологічно активних речовин, переважно вазоактивної дії. Розподіл останніх у тканинах на тлі некерованого підвищення в організмі токсичних метаболітів здатний відіграти фатальну роль тригерного механізму в загальній генералізації патологічного процесу [4].



Одним із найефективніших ентеросорбентів, поширених в Україні, є препарат ентеросгель (виробництва ЗАТ “ЕОФ “КРЕОМА-ФАРМ”) – гель гідроокису метилсилікатної кислоти [129]. Ентеросгель полегшує перебіг гострих кишкових інфекцій, чинить стабілізуючу дію на мембрани гепатоцитів і гепатоцитарних лізосом, підвищує активність печінкових монооксидаз. Вказані властивості ентеросгелю в поєднанні з особливостями його сорбційної активності роблять цей препарат особливо перспективним для призначення паралельно з різними лікарськими засобами, молекулярна маса яких, як правило, не перевищує 1000 Дальтон, тобто перебуває в межах малої сорбційної активності [175].

Отримані Шейманом В. С., Багдасаровою І. В. дані свідчать про детоксикаційні властивості ентеросгелю по відношенню токсинів з молекулами малих і середніх розмірів, які не міцно зв’язані з протеїнами крові або знаходяться у вільному стані [170].

Встановлено гепатопротекторну та антиоксидантну дію препарату: він запобігає пошкодженню гепатоцитів, підвищенню в печінці показників ПОЛ, у сироватці крові – знижує активність маркерів пошкодження тканин печінки (трансфераз) у сироватці крові та вміст протеїнів. У ході досліджень встановлено, що ентеросгель не порушує процеси травлення жирів, протеїнів, вуглеводів, вітамінів і не впливає на всмоктування електролітів, сприяє відновленню гемоентерального бар’єру, запобігає всмоктуванню токсичних речовин із кишківника, сприяє відновленню протеїнсинтезувальної функції печінки [129].

При хронічних захворюваннях печінки різного генезу Мороз Л. В. і співавт. [116] відмітили нормалізацію показників ліпідного та азотистого обмінів після використання ентеросгелю. На думку авторів, ентеросорбція препаратом ентеросгель, внаслідок виведення з організму токсичних метаболітів і зменшення токсичної дії на гепатоцити, прискорює процеси репарації у печінці.

Препарат знижує токсичне та метаболічне навантаження на печінку, видаляючи з організму токсини, ксенобіотики, метаболіти лікарських речовин, тим самим полегшуючи функціонування гепатоцитів на тлі вірусної інфекції. Результати досліджень довели, що ентеросгель нормалізує мікробіоценоз кишківника, а також зменшує рівень циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові та сприяє покращенню імунологічних показників [116].

Згідно з даними Долженка Н. М. і спіавт. ентеросгель покращує функціональний стан печінки та сприяє усуненню ліпідного дистрес-синдрому, включаючи діабетичну дисліпідемію, знижує активність системного запалення та атерогенного потенціалу плазми крові [36].

Встановлено, що ентеросгель сприяє зменшенню ознак ураження печінки, яке спостерігається при повторному застосуванні антиретровірусних засобів. Це проявляється зниженням вмісту амінотрансфераз, лужної фосфатази, рівня еритроцитарного індексу інтоксикації, зниженням активності процесів ПОЛ та відновленням активності показників антиоксидантного захисту у печінці [144].

Ентеросорбент ентеросгель має селективну детоксикаційну дію щодо токсинів із молекулами малих та середніх розмірів [36]. Також вибірково препарат діє щодо мікроорганізмів: він сорбує лише патогенні види бактерій, а нормальна мікрофлора сорбції не піддається та не пригнічується.

Більш природніми вважаються карбонові ентеросорбенти на основі активованого вугілля [18]. Їх отримують із матеріалів природного походження: деревини, шкаралупи кокосового горіха та фруктових кісточок. Після технологічного процесу активації утворюється універсальний сорбент з розвинутою сорбційною площею – понад 1500–1800 м.

Відомий «білий» сорбент насправді має силікатне походження та не має відношення до активованого вугілля. Діюча речовина цього сорбенту – діоксид кремнію, чи кремнезем, за хімічним складом близький до кварцевого піску. Таблетована форма такого сорбенту містить, окрім діоксиду кремнію

(згідно з інструкцією його 210 мг), до 70 % інших речовин – целюлозу, цукрову пудру й картопляний крохмаль, що можуть значно погіршити сорбційну здатність, а отже, і ефективність препарату [18].

З огляду на зазначене, було створене гранульоване активоване вугілля в капсулах вітчизняного виробництва сорбекс із розміром гранул 0,20–0,63 мм. Капсули сорбекс відрізняються від активованого вугілля у формі таблеток, що виробляється шляхом пресування дрібнодисперсного порошку (<0,20 мм), значно більшим сорбційним ресурсом [34], а гранульована форма зумовлює тривалу дію впродовж усього часу перебування в травному тракті завдяки більшій загальній (зовнішній + внутрішній) адсорбційній поверхні гранул. Потенціал сорбексу практично не знижується навіть через 36-48 годин, що дозволяє скоротити кількість прийомів препарату та зменшити дозу.

Слід зазначити, що карбонові сорбенти практично не змінюють склад нормальної кишкової автофлори й чинять опосередковану імунокоригуючу дію та антиоксидантний ефект за рахунок блокування агресивних агентів, токсинів, вільних радикалів, створення сприятливих умов для видужання й відновлення імунітету в цілому [163].

Встановлено, що застосування ентеросорбенту сорбекс призвело до пригнічення процесів вільнорадикального окиснення в організмі щурів, уражених туберкулозостатиками. Це супроводжувалось зменшенням ендогенної інтоксикації та зниженням проникності клітинних мембран [16].

Спектр застосування ентеросорбентів постійно розширюється й поповнюється завдяки появі нових даних про імунопатогенез, цитокинову мережу й оксидативний стрес.

Ентеросорбенти використовують для лікування аутоінтоксикацій. Цікавим є використання в якості сорбентів полісахаридів із морських гідробіонтів, які видаляють з шлунково-кишкового тракту метаболіти, не порушуючи метаболізм кишкової стінки. Хітин і його похідне хітозан [163], як біологічно активні речовини використовуються в багатьох галузях

промисловості в ролі харчової добавки, медичного полімеру, сорбенту для очищення води. Встановлено, що хітозан проявляє виражений пролонгований радіозахисний ефект. При  $CCl_4$  гепатиті хітозан знижує ПОЛ та збільшує вміст альфа-токоферолу, зменшуючи ендogenous інтоксикацію організму [34, 131].

Сорбційні властивості мають також харчові волокна рослинного походження. Їх структура, хімічний склад і властивості обумовлені функціональними та морфологічними властивостями рослинної тканини. Харчові волокна різної рослинної сировини формуються одними і тими ж біополімерами (геміцелюлоза, целюлоза, лігнін) і в меншій кількості пектиновими речовинами. Доведено, що харчові волокна зв'язують іони кальцію, міді, цинку та заліза. Є дані про те, що вони можуть сорбувати жовчні кислоти та токсичні продукти ліпопероксидації [163].

Отже, велика кількість експериментальних робіт містить передусім дані з позитивних ефектів застосування ентеросорбентів при різних патологіях [19, 31, 163]. У зв'язку з цим, всебічне патогенетичне обґрунтування їх використання при багатьох захворюваннях суттєво відстає від широкого клінічного застосування.

З наведеного огляду літератури випливає, що на даний час зустрічаються поодинокі публікації, в яких вивчався б поєднаний вплив тютюнового диму та натрію нітриту на організм тварин. Потреба у вивченні молекулярних механізмів патологічних змін, які відбуваються у тварин після одночасного отруєння даними токсикантами, не викликає сумніву. Зокрема, залишається актуальним встановлення взаємозв'язку між оксидативним та нітрооксидативним стресом, запальними процесами, ступенем ендogenous інтоксикації та захисними системами організму за умов ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації.

У літературі практично відсутні дослідження механізмів розвитку інтоксикації за ураження тютюновим димом та натрію нітритом у віковому

аспекті. Відсутність таких даних затрудняє пошук препаратів, які проявляли б коригуючий вплив на метаболічні порушення за даної патології. Застосування препаратів метаболічної дії, антигіпоксантив та ентеросорбентів при отруєннях різного генезу часто розрізнені та суперечливі.

Вищенаведене спонукало нас до проведення досліджень, які представлені в наступних розділах і сформульовані як мета та завдання у вступі даної роботи.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Дизайн експерименту

Експериментальну частину роботи виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (атестат акредитації – серія КДЛ № 00478 від 17.12.2008 р. та № 053/13 від 04. 03. 2013 р.).

Досліди проведені на білих щурах-самцях, які утримувались на стандартному раціоні віварію ТДМУ. Щурів було розділено на три вікові групи: статевонезрілі з масою тіла 60–80 г (3-ох місячного віку), статевозрілі з масою тіла 180–200 г (12-ти місячного віку) та старечого віку – з масою тіла 300–350 г (18-ти місячного віку).

Моделями токсичного ураження тварин була інтоксикація натрію нітритом або тютюновим димом, а також одночасна дія цих чинників.

Натрію нітрит тварини отримували одноразово інтрагастрально з допомогою зонда у вигляді водного розчину дозою 45 мг/кг маси тіла, що становить  $\frac{1}{4}$  від ЛД<sub>50</sub> [34, 154]. Дослідження проводили через 24 та 72 год після потрапляння до організму даного токсиканта.

Модель залежності від хронічної дії тютюнового диму створювали за допомогою герметичної камери об'ємом 30 літрів, що дозволило щоденно піддавати тварин дії токсиканта. Тютюновий дим, що утворювався від горіння 6 сигарет «Прима срібна (синя)» із вмістом 0,6 мг нікотину та 8 мг смоли; виробник АТ «Імеріал Табакко Продакшин Україна» ДСТУ ГОСТ 3935:2004, через отвори у камері подавався всередину неї. У камері одночасно знаходилось 6 тварин впродовж 6 хвилин. Тварини контрольної групи також знаходились впродовж 6 хвилин у герметичній камері, але не підлягали дії тютюнового диму [241, 242, 243].

Через 15, 30 та 45 діб від початку ураження тварин тютюновим димом, їх виводили із експерименту шляхом евтаназії під тіопенталовим наркозом.

За одночасної дії обох токсикантів на 30 добу тютюнової інтоксикації (за 24 та 72 год до вказаного терміну) щурам інтрагастрально вводили натрію нітрит. Аналогічно моделювали ураження натрію нітритом на 45-ту добу отруєння щурів тютюновим димом. За даної моделі вищевказані ксенобіотики вводились у аналогічних дозах.

Статевонезрілим, статевозрілим та старечого віку щурам після ураження обома токсикантами інтрагастрально вводили вуглецевий ентеросорбент IV покоління карболайн (ТУ У 24.6-05416946-002-2003) дозою 400 мг/кг маси тіла починаючи з 15-ї доби інтоксикації тютюновим димом і щодня до кінця експерименту [8, 9, 83]. Карболайн – неорганічний, неселективний, поліфункціональний ентеросорбент на основі тканинного вуглецевого волокна з питомою сорбційною поверхнею пор до 2500 м<sup>2</sup>/г, має виражені сорбційні, детоксикаційні властивості. Ще декілька груп (статевонезрілі, статевозрілі та старечого віку) тварин отримували інтрагастрально після ураження препаратом метаболічної дії мілдронат (Мельдоній), виробник «Grindex» Латвія (№ реєстр. посв. UA/3419/02/02), дозою 120 мг/кг маси тіла, починаючи з 15-ї доби інтоксикації тютюновим димом і щодня до кінця експерименту. Мілдронат – структурний аналог  $\gamma$ -бутиробетаїну, попередника карнітину. Препарат, пригнічує активність  $\gamma$ -бутиробетаїнсинтетази, знижує біосинтез карнітину і транспорт довголанцюгових жирних кислот крізь мембрани клітин, перешкоджає накопиченню в клітинах активованих форм недоокиснених жирних кислот – похідних ацилкарнітину А, таким чином попереджуючи їх несприятливу дію. Мілдронат відновлює рівновагу процесів транспорту кисню і його споживання в клітинах; попереджує порушення транспорту АТФ, одночасно з цим активує гліколіз, що перебігає без додаткового споживання кисню.

Дози препаратів підбирали, виходячи із середньотерапевтичної дози для людей та перерахунку їх на тварин [149]. Підбір доз ґрунтується на врахуванні особливостей видових відмінностей, які залежать від основного обміну, маси тіла, площі поверхні, інтенсивності серцевої діяльності та температури тіла тварин.

У дослідженнях використано 792 щури. Для проведення біохімічних досліджень використано 720 щурів, які були розділені на групи (табл. 2.1), по 36 тварин у кожній групі. Для проведення морфологічних досліджень було 72 щури. Евтаназію проводили з використанням тіопенталу натрію.

Таблиця 2.1

## Розподіл тварин на групи

Група тварин	Термін дослідження				
	Тютюновий дим			Натрію нітрит	
	15 доба	30 доба	45 доба	24 год	72 год
Контрольні щури					
НН				+	
НН					+
ТД	#				
ТД		#			
ТД			#		
ТД+НН	#+			#+	
ТД+НН		#+		#+	
ТД+НН			#+	#+	
ТД+НН	#+				#+
ТД+НН		#+			#+
ТД+НН			#+		#+
ТД+НН+мілдронат		&		&	
ТД+НН+карболайн		*		*	
ТД+НН+мілдронат		&			&
ТД+НН+карболайн		*			*
ТД+НН+мілдронат			&	&	
ТД+НН+карболайн			*	*	
ТД+НН+мілдронат			&		&
ТД+НН+карболайн			*		*

Примітка. У даній таблиці: + – статевонезрілі, статевозрілі та старечого віку тварини, уражені натрію нітритом; # – статевонезрілі, статевозрілі та старечого віку тварини, яких отруювали тютюновим димом; #+ – статевонезрілі, статевозрілі та старечого віку тварини, яких отруювали натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації; & – статевонезрілі, статевозрілі та старечого віку тварини, токсиковані натрію нітритом та тютюновим димом, та після застосування мілдронату; \* – статевонезрілі, статевозрілі та старечого віку тварини, токсиковані натрію нітритом та тютюновим димом, та після застосування карболайну.



Матеріалом дослідження були гомогенат печінки, серця, легень, нирок, цільна кров та сироватка крові. Кров забирали із серця тварин, яку центрифугували при частоті обертання 1100 g впродовж 30 хв.

Отриману сироватку крові (надосадову рідину) використовували для проведення досліджень. Відібрані органи (250 мг), використовували для отримання гомогенату за допомогою гомогенізатора магнітного Silent Crusher S після попередньої перфузії з 2,5 мл фізіологічного розчину.

Проводили дві серії досліджень. У першій серії експерименту визначали такі показники: вміст активних форм кисню (АФО) методом проточної лазерної цитофлюориметрії, використовуючи дихлорфлюоресцеїну діацетат (ДФХФ-ДА) фірми виробника Sigma Aldrich, USA [241, 262], ТБК-активних продуктів (ТБК-АП); [108], окисної модифікації протеїнів (ОМП); [41], метгемоглобіну (MetHb); [204], карбоксигемоглобіну (HbCO); [204] з використанням стандартних наборів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна); вмісту церулоплазміну (ЦП); [53], відновленого глутатіону (ВГ); [53], молекул середньої маси (МСМ); [126], супероксиддисмутазну активність (СОД); [176], каталазну активність (КАТ); [61], а також визначення еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІ); [165].

У другій серії експерименту вивчали активність аспаратаміно-трансферази (АСТ); [310], аланінаміно-трансферази (АЛТ); [310], лактатдегідрогенази (ЛДГ); [53],  $\gamma$ -глутаміл-транспептидази (ГГТП); [53], лужної фосфатази (ЛФ); [53] із використанням стандартних наборів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна); сукцинатдегідрогеназну активність (СДГ); [47, 200], цитохромоксидазну активність (ЦО); [203]. Активність індукцибельної NO-синтази (iNOS) визначали методом імуноферментного аналізу, використовуючи стандартний набір реактивів, адаптований до щурів «Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit for Rat Nitric Oxide Synthase 2, Inducible (NOS2)», Usen, Life Science Inc, SEA837Ra, USA [510]; ендотеліальної NO-синтази (eNOS) – методом імуноферментного аналізу, використовуючи стандартний набір реактивів, адаптований до щурів

«Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit for Rat Nitric Oxide Synthase 3, Endothelial (NOS3)», Usn, Life Science Inc, SEA868Ra (USA); [510]. Вміст С-реактивного протеїну (С-РП) досліджували імунотурбідиметричним методом із використанням набору CRP фірми Dialab, Австрія. Вміст інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу із застосуванням моноклональних антитіл до ІЛ-4 у наборі «ІФА-ІЛ-4» А-8754 фірми «ВЕКТОР-БЕСТ», Росія [387]; інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) – методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням моно- і поліклональних антитіл із різною етіотропною специфічністю до інтерлейкіну-6 у наборі «ІФА-ІЛ-6» А-8768 фірми «ВЕКТОР-БЕСТ», Росія [242] та вміст нітрит-іона в реакції з реактивом Грісса [230].

Утримання тварин та експерименти проводилися у відповідності до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [47, 274, 297]. Комісія з біоетики ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол 45 від 12 березня 2018 року) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявила. У всіх групах тварин дослідження виконували для трьох вікових груп: статевонезрілі, статевозрілі та старечого віку щури.

## 2.2 Методи дослідження

### 2.2.1. Гематологічні методи дослідження

#### 2.2.1.1. *Визначення вмісту метгемоглобіну в крові*

Прицип методу: фракції загального гемоглобіну (крім метгемоглобіну) при взаємодії з заліzosинеродистим калієм окислюються в метгемоглобін, який визначають при довжині хвилі 619–630 нм. Останній утворює з ацетонціангідрином забарвлений ціанметгемоглобін, який не має полоси поглинання при 619–630 нм. За зменшенням оптичної густини розчинів визначали вміст метгемоглобіну [54, 202].

Перемішували та витримували 10 хв при кімнатній температурі. Вимірювали оптичну густина при 630 нм проти дистильованої води.

Аналіз проводять за схемою згідно таблиці 2.2.

Компоненти	Проби			
	Д <sub>1</sub>	Д <sub>2</sub>	Д <sub>3</sub>	Д <sub>4</sub>
Буферний розчин натрію двувуглекислого	5,0	-	-	-
Буферний розчин ацетонціангідрину	-	5,0	-	-
Буферний розчин калію заліzosиньородистого	-	-	5,0	-
Трансформуючий розчин	-	-	-	5,0
Цільна кров	0,02	0,02	0,02	0,02

Вміст метгемоглобіну у % розраховували за формулою:

$$C = \frac{E_1 - E_2}{E_3 - E_4} \times 100 \quad (2.1)$$

Вміст метгемоглобіну в грамах на літр розраховували за формулою:

$$C_{\text{метгемоглобіну-г/л}} = \frac{C_{\text{гемоглобін}} \times C_{\text{метгемоглобіну-}\%}}{100\%}, \text{ де} \quad (2.2)$$

$C_{\text{метгемоглобіну}}$  – вміст метгемоглобіну в дослідній пробі, %;

$C_{\text{метгемоглобіну-г/л}}$  – вміст карбоксигемоглобіну в дослідній пробі, г/л;

$C_{\text{гемоглобіну}}$  – вміст загального гемоглобіну в дослідній пробі, г/л;

100,0 – вміст загального гемоглобіну в цільній крові, %;

$E_{\text{дослідної № 1}}$  – оптична густина дослідної пробі № 1, од. екстинції;

$E_{\text{дослідної № 2}}$  – оптична густина дослідної пробі № 2, од. екстинції;

$E_{\text{дослідної № 3}}$  – оптична густина дослідної пробі № 3, од. екстинції;

$E_{\text{дослідної № 4}}$  – оптична густина дослідної пробі № 4, од. екстинції;

$(E_1 - E_2)$  – різниця оптичної густини, яка відповідає відносному вмісту метгемоглобіну в цільній крові;

$(E_3 - E_4)$  – різниця оптичної густини, яка відповідає 100 % вмісту метгемоглобіну.

Вміст метгемоглобіну в цільній крові не повинен перевищувати 2,0 % від вмісту загального гемоглобіну.

### 2.2.1.2. Визначення вмісту карбоксигемоглобіну в крові

Метод ґрунтується на властивості карбоксигемоглобіну в слабкислому середовищі та підвищеній температурі проявляти стійкість, коли решта форм

гемоглобіну утворюють осад і виводяться з розчину шляхом фільтрування. Внаслідок дії розчину аміаку, всі форми гемоглобіну переходять у форму оксигемоглобіну, максимум поглинання якого припадає на 550 нм [449, 517].

Таблиця 2.3

## Отримання дослідної проби № 1 (в мілілітрах)

Компоненти	Макровизначення	
	Дослідна № 1	Холоста № 1
Розчин аміаку	4,8	4,8
<i>Розчин цитратної крові</i>	0,2	—
<i>Розчин цитратної плазми</i>	—	0,2
Ретельно перемішували. Вимірювали оптичну густина дослідної проби проти холостої проби при 550 нм		

## Отримання дослідної проби № 2 (в мілілітрах)

Компоненти	Макровизначення	
	Дослідна № 2	Холоста № 2
Ацетатний буфер	4,0	4,0
<i>Розчин цитратної крові</i>	1,0	—
<i>Розчин цитратної плазми</i>	—	1,0
Ретельно перемішували. Інкубували 5 хв при (37-38) °С точно (!). Відтермостатовані розчини охолоджували проточною водою до температури (20-22) °С та фільтрували в окремі пробірки. Фільтрували через фільтр - синя смуга. Фільтрат не повинен бути каламутним		
Розчин аміаку	4,0	4,0
Фільтрат цитратної крові	1,0	—
Фільтрат цитратної плазми	—	1,0
Ретельно перемішували. Вимірювали оптичну густина дослідної проби проти холостої проби при 550 нм		

Вміст карбоксигемоглобіну розраховували за формулою:

$$C_{\text{карбоксигемоглобіну}} \% = \frac{E_{\text{дослідної №2}}}{E_{\text{дослідної №1}}} \times 100, \text{ де (2.3)}$$

Вміст карбоксигемоглобіну в грамах на літр розраховували за формулою:

$$C_{\text{карбоксигемоглобіну г/л}} = \frac{C_{\text{гемоглобін}} \times C_{\text{карбоксигемоглобіну \%}}}{100\%}, \text{ де (2.4)}$$

$C_{\text{карбоксигемоглобіну}}$  – вміст карбоксигемоглобіну в дослідній пробі, %;

$C_{\text{карбоксигемоглобіну-г/л}}$  – вміст карбоксигемоглобіну в дослідній пробі, г/л;

$C_{\text{гемоглобіну}}$  – вміст загального гемоглобіну в дослідній пробі, г/л;  
 $E_{\text{дослідної № 1}}$  – оптична густина дослідної проби № 1, од. екстинції;  
 $E_{\text{дослідної № 2}}$  – оптична густина дослідної проби № 2, од. екстинції.

## 2.2.2. Біохімічні методи дослідження

### 2.2.2.1. Визначення вмісту ТБК–активних продуктів

Принцип методу: в кислому середовищі при високій температурі малоновий диальдегід реагує з тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений комплекс червоного кольору з максимумом поглинання при довжині хвилі 532 нм [108, 208].

В центрифужні пробірки наливали по 1 мл  $H_2O$  та 1 мл 10 % гомогенату або 0,5 мл сироватки крові. Після цього в пробірки додавали 2 мл 30 % розчину ТХО, з молярною концентрацією 5 моль/л 0,1 мл 5М НС1 і 2 мл розчину ТБК. Пробірки поміщали на водяну баню на 15 хв, після чого охолоджували. Осад відділяли центрифугуванням при 1100 г впродовж 40 хв. Надосадову рідину зливали в чисті пробірки і фотометрували при 535 нм.

Кількість малонового диальдегіду розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинції забарвленого комплексу, який дорівнює  $1,56 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ м}^{-1}$  і виражали в мкмоль/л сироватки крові або мкмоль/кг тканини.

### 2.2.2.2. Визначення окиснювальної модифікації протеїнів (2,4 – динітрофенілгідразонів)

Принцип методу ґрунтується на здатності радикальних залишків аліфатичних амінокислот утворювати альдегідні й кетонні групи. Останні взаємодіють з 2,4-динітрофенілгідразиним з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів, що мають характерний спектр поглинання. Альдегідо- і кетопохідні нейтрального характеру реєструють при 370 нм, основного характеру – при 430 нм. На основі молярного коефіцієнту екстинції

( $2,1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) знаходять вміст фенілгідрозонів основного та нейтрального характеру [41, 42].

У центрифужні пробірки вносили 0,8 мл 0,85 % розчину NaCl, 0,2 мл сироватки крові (або гомогенату тканини), 1 мл 0,1 М розчину 2,4-динітрофенілгідразину, розчиненого в хлоридній кислоті з молярною концентрацією 2 моль/л і 1 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти. В контрольні проби замість 2,4-динітрофенілгідразину додавали 1 мл 2 М розчину хлоридної кислоти. Проби інкубували 1 год при температурі 37 °С, а далі центрифугували 10 хв при частоті обертання 1100 г. Одержаний осад промивали тричі 5 % розчином трихлороцтової кислоти (по 5 мл), кожного разу ресуспендуючи осад скляною паличкою. До одержаного осаду додавали 5 мл 8 М розчину сечовини, витримували 5 хв у кип'ячій водяній бані до повного розчинення. Оптичну густину утворених динітрофенілгідрозонів реєстрували на фотоелектроколориметрі КФК-3 при 370 і 430 нм проти контролю. Одночасно визначали в сироватці крові вміст протеїнів біуретовим методом.

Кількість 2,4-динітрофенілгідрозонів розраховували за формулою:

$$A = 10^3 E / 21 \text{ с, де} \quad (2.5)$$

A - вміст 2,4-динітрофенілгідрозонів в ммоль/г протеїну,

E - оптична густина проб,

C - вміст білків в 0,2 мл сироватки крові,

21 – коефіцієнт, який відповідає 1 ммоль/г

### 2.2.2.3. Визначення супероксиддисмутаної активності (ЕС 1.15.1.1)

Супероксиддисмутаазну активність у клітинах визначали за методом Чеварі та співавт. [174].

Метод базується на здатності СОД конкурувати з нітросинім тетразолієм (НСТ) за супероксидні аніони, що утворюються в результаті аеробної взаємодії відновленої форми нікотинамідаденін-динуклеотида (НАДН) та феназинметасульфата (ФМС). У результаті цієї реакції НСТ відновлюється з

утворенням гідразинтетразолію. У присутності СОД відсоток відновлення НСТ зменшується.

Для визначення активності використовували клітинний лізат, який отримували після 5-хвилинної обробки клітин у гіпоосмотичному буфері та центрифугування при 600 g упродовж 5 хв.

У пробу, що містить 0,15 М фосфатний буфер додавали аліквоту клітинного лізату, що містить 0,5 мг білка. Загальний об'єм проби становить 0,5 мл. До проби додавали 1 мл реагенту 1 (57 мкМ НСТ, 16 мкМ ФМС на 0,15 М фосфатному буфері з ЕДТА, рН=7,8). Одразу вимірювали оптичну густину проб за довжини хвилі 540 нм на спектрофотометрі.

Потім до кожної проби додавали по 35 мкл реагенту 2 (98,5 мкМ НАДН на трис-ЕДТА буфері, рН=8,00, проби витримували за температури 30 °С та повторно визначали оптичну густину через 10 хв за тих же умов.

За формулою розраховували відсоток пригнічення ступеню відновлення НСТ у пробі:

$$\frac{E_1 - E_2}{E_2} \times 100 = \text{відсоток блокування відновлення НСТ} \quad (2.6)$$

де  $E_1$  – оптична густина до додавання реагенту 2

$E_2$  – оптична густина після додавання реагенту 2

Активність ензиму визначали за калібрувальною кривою та виражали в умовних одиницях на хв на 1 мг протеїну.

#### 2.2.2.4. Визначення каталазної активності (ЕС 1.11.1.6)

Принцип методу визначення каталазної активності ґрунтується на здатності пероксиду гідрогену утворювати з амоній молібдатом стійкий забарвлений комплекс жовтого кольору [61].

Дослідженню піддавали сироватку крові і тканини печінки, нирок, серця та легень, з яких на холоді готували 10 % гомогенат на 0,05 М трис-буфері. Реакцію запускали додаванням 0,1 мл сироватки чи гомогенату до

2 мл 0,03 % розчину пероксиду гідрогену. В холосту пробу замість досліджуваного матеріалу вносили 0,1 мл дистильованої води. Через 10 хв у проби вносили 1 мл 4 % амоній молібдату для зупинки реакції. Інтенсивність утвореного забарвлення вимірювали на спектрофотометрі ULAB-108UA проти контрольної проби, в яку замість 0,03 % розчину пероксиду гідрогену добавляли 2 мл дистильованої води. Каталазну активність виражали в каталах і розраховували за формулою:

$$A = (E_x - E_d) \times V \times t \times k, \text{ де} \quad (2.7)$$

A – активність каталази;

$E_x$  – екстинкція холостої проби,

$E_d$  – екстинкція досліджуваного розчину;

t – час інкубації (с),

k – коефіцієнт молярної екстинкції пероксиду гідрогену, який дорівнює  $22,2 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

#### 2.2.2.5. *Визначення вмісту церулоплазміну в сироватці крові (ЕС 1.16.3.1)*

Вміст церулоплазміну визначали за методом [30, 54]. Принцип методу базується на здатності *n*-фенілендіаміну в присутності церулоплазміну окиснюватись з утворенням забарвлених сполук рожевого кольору. Кількість церулоплазміну пропорційна інтенсивності забарвлення.

Дослідженню піддавали сироватку крові. У дві пробірки вносили по 0,1 мл сироватки. В одну з них (контроль) для інактивації ензиму вносили 1 мл 0,5 % розчину гідроксиламіну солянокислого. В обидві пробірки додавали по 8 мл 0,4 М розчину ацетатного буферу (рН=5,5) і по 1 мл *n*-фенілендіаміну. Пробірки інкубували в термостаті при 37 °С впродовж 1 год. Потім у дослідну пробірку додавали 1 мл солянокислого гідразину. Всі проби витримували 30 хв при 4 °С і по закінченні визначали оптичну щільність дослідної проби проти контрольної на спектрофотометрі ULAB-108UA при 530 нм. Розрахунок проводили за формулою:



$$C = E \times 87,5, \text{ де} \quad (2.8)$$

C- вміст церулоплазміну в мг/л сироватки крові

E – екстинкція проби

87,5 – коефіцієнт перерахунку у г/л

#### *2.2.2.6. Визначення вмісту відновленого глутатіону у досліджуваних тканинах*

Для визначення вмісту відновленого глутатіону використовували метод, принцип якого полягає у взаємодії 5,5-дитіобіс (2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) з вільними SH-групами відновленого глутатіону з утворенням тіонітрофенильного аніону жовтого кольору, кількість якого прямо пропорційна вмісту SH-груп [54, 431].

До 0,2 мл сироватки крові або гомогенату печінки (1:10) додавали 1,6 мл  $H_2O_2$  і 0,2 мл сульфосаліцилової кислоти. Центрифугували 15 хв при 1100 g, потім до 0,5 мл центрифугату додавали 2,5 мл 0,2 М трис-буферу (рН=8,4) і 0,05 мл 0,04 % розчину реактиву Елмана. В контрольну пробу замість досліджуваного матеріалу вносили 0,2 мл дистильованої води. Через 10 хв проби фотометрували на спектрофотометрі ULAB-108UA при 412 нм проти контролю. Концентрацію відновленого глутатіону розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції для тіонітрофенильного аніону, який дорівнює  $11400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Вміст відновленого глутатіону виражали в ммоль/л або ммоль/кг тканини.

#### *2.2.2.7. Визначення еритроцитарного індексу інтоксикації в крові*

В основі методу лежить твердження про еритроцит як адсорбент, тобто здатність еритроцитарною мембраною поглинати та пропускати забарвлені речовини [54].

В пробірку, що містить 1 мл 3,8 % розчину цитрату натрію, поміщали 4 мл цільної крові. Перемішували та відділяли еритроцити шляхом

центрифугування впродовж 10 хв при 1100 g. Сироватку видаляли. Перенесли 1 мл еритроцитарної маси в пробірку, що містить 3 мл метиленової синьки (0,025 %), виготовленої на фізрозчині. Перемішували та інкубували 10-12 хв при кімнатній температурі. Після цього центрифугували 10 хв при 1100 g, надосадову рідину відбирали і фотоколориметрували на ULAB-108UA при 630 нм проти фізіологічного розчину. Кількість поглинутого барвника (у %) вираховували за формулою:

$$A = 100 - \frac{C \cdot 100}{B}, \text{ де} \quad (2.9)$$

A – кількість поглинутого барвника (у %),

B – оптична густина вихідного розчину (метиленова синька) в одиницях екстинкції,

C – оптична густина розчину барвника після інкубації з еритроцитами (в од. екстинкції),

100 – частка щільності мембрани в нормі, %.

#### 2.2.2.8. Визначення вмісту молекул середньої маси в сироватці крові

Метод полягає у виділенні кислоторозчинної фракції молекул середньої маси з наступною детекцією десятикратно розведеної надосадової рідини при довжинах хвиль 254 та 280 нм [126, 127, 492].

До 0,5 мл сироватки крові додавали 4,5 мл 10 % розчину ТХО. Наступне центрифугування проводили при 1100 g впродовж 30 хв. Виділену фракцію в об'ємі 0,5 мл розводили дистильованою водою у співвідношенні 1:10 та визначали оптичну густина при довжині хвилі 254 та 280 нм проти дистильованої води на спектрофотометрі ULAB-108UA. Результати виражали в одиницях, чисельно рівних показникам екстинкції ( $E \times 2000$ ), та перераховували в ум.од/л.

### 2.2.2.9. *Визначення активності аланінамінотрансферази (ЕС 2.6.1.2)*

Принцип методу: внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією аланінамінотрансферази, утворюються L-глутамінова та піровиноградна кислоти. При взаємодії ПВК з 2,4-динітрофенілгідразином в лужному середовищі утворюються 2,4-динітрофенілгідразони, що мають високий коефіцієнт молярної екстинції, тому оптична щільність їх, яка реєструється на спектрофотометрі ULAB-108UA, прямопропорційна активності ензиму [309, 310, 474].

Для визначення активності АЛТ у дві пробірки наливали по 0,4 мл субстратно-буферного реактиву (фосфатний буфер, D, L-аланін та 2-оксоглутарова кислота). Пробірки витримували 3 хв при температурі 37 °С. В одну з них, яка була холостою пробєю, додавали 0,4 мл 2,4-динітрофенілгідразину та 0,08 мл сироватки крові. В іншу (дослідна проба) вносили тільки 0,08 мл сироватки крові. Після цього обидві пробірки інкубували 60 хв при температурі 37 °С. В дослідну пробу після інкубації вносили 0,4 мл 2,4-динітрофенілгідразину. Обидві пробірки витримували 20 хв при кімнатній температурі. Реакцію зупиняли, додаючи у всі проби 4 мл 0,4 N NaOH. Через 10 хв вимірювали оптичну густину дослідної проби проти холостої при  $\lambda = 490-540$  нм. Розрахунок активності ензиму проводили за калібрувальним графіком, побудованим за вмістом ПВК і виражали в мкмоль/(л·год).

### 2.2.2.9. *Визначення активності аспаратамінотрансферази (ЕС 2.6.1.1)*

Принцип методу: в результаті амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аспарагіновою кислотою, яке проходить під дією аспаратамінотрансферази, утворюються L-глутамінова і щавелево-оцтова кислоти. Остання самовільно декарбоксилюється з утворенням піровиноградної кислоти [309, 310, 474].

Визначення базується на вимірюванні оптичної густини 2,4-динітрофенілгідразонів 2-оксоглутарової та піровиноградної кислот у лужному середовищі. Оскільки гідразон піровиноградної кислоти має більш високий коефіцієнт молярної екстинкції, спостерігається прямо пропорційна залежність оптичної густини реакційного розчину від активності ензиму.

Для визначення активності АСТ в дві пробірки наливали по 0,4 мл субстратно-буферного реактиву (фосфатний буфер, D, L-аланін та 2-оксоглутарова кислота). Пробірки витримували 3 хв при температурі 37 °С, в одну з них, яка була холостою пробою, додавали 0,4 мл 2,4-динітрофенілгідразину та 0,08 мл сироватки крові. В іншу (дослідна проба) вносили тільки 0,08 мл сироватки крові. Після цього обидві поробірки інкубували 60 хв при температурі 37 °С. В дослідну пробу після інкубації вносили 0,4 мл 2,4-динітрофенілгідразину. Обидві пробірки витримували 20 хв при кімнатній температурі. Реакцію зупиняли, додаючи в усі проби 4 мл 0,4 N NaOH. Через 10 хв вимірювали оптичну густину дослідної проби проти холостої при  $\lambda = 490-540$  нм. Розрахунок активності ензиму проводили за калібрувальним графіком, побудованим за вмістом ПВК і виражали в мкмоль/(л·год).

#### *2.2.2.10. Визначення активності лужної фосфатази (ЕС 3.1.3.1)*

Метод визначення активності лужної фосфатази ґрунтується на властивості ензиму гідролізувати ефірний зв'язок у  $\beta$ -гліцерофосфаті з відщепленням фосфатної кислоти. Фосфор визначають колориметричним методом за реакцією з молібденовим реактивом в присутності відновника ейконогену або аскорбінової кислоти. Продукт реакції – молібденовий синій, інтенсивність забарвлення якого прямопропорційна кількості фосфору в пробі характеризує активність ензиму [54].

У пробірки вносили 0,6 мл субстратно-буферного розчину, доводили до 37 °С, потім додавали 0,02 мл сироватки крові чи гомогенату печінки та інкубували 10 хв при температурі 37 °С. Додавали 0,6 мл окиснювального

розчину і витримували 5 хв при кімнатній температурі. Колориметрували при довжині хвилі 500 нм в кюветі довжиною 10 мм проти холостої проби. Холосту пробу готували аналогічно дослідним, але сироватку (гомогенат) вносили перед колориметруванням. Розрахунок активності ензиму проводили за допомогою калібрувального графіку, побудованого для фенолу та виражали в нмоль/л год для сироватки крові та нмоль/ кг год для гомогенату печінки.

#### 2.2.2.11. Визначення активності гама-глутамілтранспептидази (ЕС 2.3.2.2)

Принцип методу: під дією гама-глутамілтранспептидази глутаміновий залишок з гамма-L-(+)-глутаміл-4-нітроаналіда переходить на дипептидний акцептор – гіцилгліцин. При цьому вилучається хромоген-*p*-нітроанілін. Оптичну щільність реакційного розчину вимірюють після гальмування ензиматичної реакції ацетатною кислотою [54].

У чотири пробірки (дослідна проба, холоста проба, калібрувальна проба та проба порівняння) поміщали по 1 мл субстратного розчину. Інкубували 5 хв при температурі 37 °С. Після цього у дослідну пробу додавали 0,1 мл сироватки крові (гомогенату тканин). Всі проби інкубували 15 хв при 37 °С. По закінченні інкубування в калібрувальну пробу додавали 0,05 мл калібратора. У всі чотири проби вносили по 6 мл розчину ацетатної кислоти. У холосту пробу додавали 0,1 мл сироватки крові (гомогенаату тканин). У калібрувальну пробу додавали 0,05 мл дистильованої води, у пробу порівняння – 0,1 мл. Усі проби витримували 5 хв при кімнатній температурі. Вимірювали оптичну щільність при 430 нм дослідної проби ( $E_{\text{дос}}$ ) проти холостої проби, оптичну щільність калібрувальної проби ( $E_{\text{кал}}$ ) проти проби порівняння.

Розрахунок проводили за формулою:

$$C = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{кал}}} \times 3,0, \text{ де} \quad (2.10)$$

C - активність гама-глутамілтранспептидази, мкат/л

3,0 – фактор перерахунку, мкат/л

$E_{\text{дос}}$  – оптична щільність дослідної проби, од.опт.щільності

$E_{\text{кал}}$  – оптична щільність калібрувальної проби, од.опт.щільності

#### 2.2.2.12. Визначення активності сукцинатдегідрогенази (ЕС 1.3.99.1)

Принцип методу: відновлення фериціаніду калію, розчин якого має жовте забарвлення, до безбарвного фероціаніду калію сукцинатом під дією СДГ. Активність ензиму пропорційна кількості відновленого фериціаніду [198, 199, 325].

До 1 мл фосфатного буферу молярної концентрації 0,1 моль/л додавали по 0,1 мл розчинів бурштинової кислоти, ЕДТА, азиду натрію, дистильованої води і 0,5 мл суспензії мітохондрій. Проби інкубували при температурі 30 °С впродовж 10-15 хв. Після інкубування реакцію зупиняли зануренням проб у лід та додаванням до них по 2 мл 20 % трихлороцтової кислоти. В контрольні проби трихлороцтову кислоту додавали перед внесенням суспензії мітохондрій. Після центригування (при 700 г впродовж 15 хв) надосадову рідину фотометрували на спектрофотометрі при довжині хвилі 420 нм проти контролю. Ензимну активність розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції для фериціаніду калію.

Активність СДГ у сироватці крові виражали в ммоль/(кг×год).

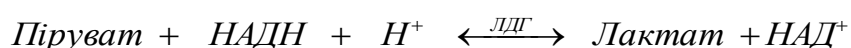
#### 2.2.2.13. Визначення активності цитохромоксидази (ЕС 1.9.3.1)

Принцип методу ґрунтується на здатності ЦО окислювати за участю кисню повітря не тільки цитохроми, але й деякі органічні сполуки, зокрема диметил-*n*-фенілендіамін і  $\alpha$ -нафтол. При окисненні двох останніх сполук утворюється забарвлений продукт синього кольору – індофеноловий синій – з максимумом поглинання при довжині хвилі 610 нм. Кількість утвореного пігменту пропорційна цитохромоксидазній активності мітохондрій [Прохоров].

У пробірки наливали по 0,5 мл фосфатного буферу, рН=7,38, додавали по 1 мл 10 % водного гомогенату серця або печінки, 1 мл 0,1 % водного розчину диметил-*n*-фенілендіаміну і по 0,5 мл 0,2 % теплого ( $t=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) розчину  $\alpha$ -нафтолу. Вміст пробірки ретельно змішували. Залишали стояти в темноті впродовж 30 хв, струшуючи через кожні 10 хв. Потім додавали по 12 мл етилового спирту, змішували та залишали стояти ще 30 хв. Після фільтрування колориметрували забарвлений розчин, що утворився, проти спирту у фотоелектроколориметрі з фільтром №1 в кюветі з довжиною оптичного шляху 5 мм при довжині хвилі  $\lambda=670$  нм. Стандартом слугував розчин індофенолового синього з розрахунку 0,5 мг в 15 мл етилового спирту. Розрахунок проводили за калібрувальним графіком, цитохромоксидазну активність у сироватці крові виражали в ммоль диметил-парафенілендіаміну на кг за год: ммоль/(кг×год).

#### 2.2.2.14. Визначення сумарної активності лактатдегідрогенази (ЕС 1.1.1.27)

Принцип методу: піруват перетворюється на лактат з одночасним окиснюванням НАДН. Швидкість зменшення абсорбції при 340-365 нм, що зв'язана з окиснюванням НАДН, прямопропорційна активності ЛДГ у пробі [54, 391].



Перед початком реакції кювети та розчини прогрівали до температури  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  впродовж 5 хв. При вимірюванні оптичної щільності потрібно підтримувати постійну температуру ( $\pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

До 1 мл буферного розчину ЛДГ (рН=7,4 $\pm$ 0,2), який складається з тріс (62,5 $\pm$ 3,125) ммоль/л, ПВК (1,5 $\pm$ 0,075) ммоль/л та ЕДТА (6,25 $\pm$ 0,3125) ммоль/л додавали 0,01 мл сироватки крові чи гомогенату досліджуваних тканин, перемішували та інкубували впродовж 1 хв при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Потім додавали 0,25 мл розчину субстрату, який складається з НАДН і стабілізуючого розчину гідрооксиду натрію концентрації 0,01 моль/л, перемішували та зчитували

змінення екстинції з інтервалом 1 хв на протязі 3 хв по відношенню до дистильованої води. Розраховували середнє значення екстинції за 1 хв ( $\Delta E/\text{хв}$ ).

Для розрахунку активності в мккат/л користувались формулою:

$$\text{мккат/л}_{365} = E / \text{хв} \times 617,67 \text{ (за субстратом)} \quad (2.11)$$

$E$  – різниця – зміна екстинції з інтервалом 1 хв впродовж 3 хв по відношенню до дистильованої води. Результати виражали в мккат/л хв (для сироватки крові) або мккат/кг хв (для тканин).

#### 2.2.2.15. Визначення вмісту С-реактивного протеїну

Принцип методу ґрунтується на турбідиметричному вимірюванні. Мутність викликається утворенням нерозчинних імунокомплексів антиген-антитіло. Утворення комплексів пришвидшується та збільшується поліетиленгліколем [5].

У пробірки, які містили ряд калібрувальних розчинів (60 мкл), та у пробірки з різними контрольними розчинами (60 мкл), а також у дослідні проби (60 мкл) доливали по 900 мкл буферного розчину. Перемішували та знімали оптичну щільність ( $A_1$ ) при 340 нм. Після цього у всі пробірки додавали по 75 мкл реагенту антитіл. Перемішували, інкубували 5 хв при 37° С. Знімали оптичну щільність ( $A_2$ ) при 340 нм. Вираховували різницю між  $A_1$  та  $A_2$ .

Розрахунок проводили за калібрувальним графіком, побудованим з використанням С-РП калібратора, розведеного 1:2 ізотонічним розчином натрію хлориду. Вміст С-реактивного протеїну виражали в мг/л.

#### 2.2.2.16. Визначення вмісту нітрит-іону в біологічних субстратах

Принцип методу ґрунтується на реакції Гріса, згідно якої нітрити з сульфаніловою кислотою та альфа-нафтіламіном в ацетатному середовищі утворюють азобарвник [249].



У центрифужні пробірки відбирали 0,4 мл сироватки крові (гомогенату), після чого додавали 0,8 мл 0,5 N розчину гідроксиду натрію та 0,8 мл 10 % розчину сульфату цинку для осадження білків. Перемішували та центрифугували 15 хв при 1100 g. Відбирали 1,5 мл надосадової рідини та додавали 1,5 мл реактиву Гріса.

Інтенсивність забарвлення реєстрували на спектрофотометрі ULAB-108UA при довжині хвилі 545 нм в кюветі з товщиною шару 1 см у порівнянні зі стандарним розчиним натрію нітритом, в якому 1 мл розчину містить 0,001125 г натрію нітриту.

Вміст нітрит-аніону розраховували за формулою:

$$X = E \times 0,067 \times 10^{-3}, \text{ де} \quad (2.12)$$

X – вміст нітрит-аніону

E – екстинція дослідної проби

$0,067 \times 10^{-3}$  – коефіцієнт молярної екстинції

Вміст нітрит-аніону виражали у нмоль/л, або нмоль/кг

### 2.2.3. Імуноферментні методи дослідження

#### 2.2.3.1. *Визначення вмісту інтерлейкіну-6 у сироватці крові імуноферментним методом*

Принцип роботи набору. У наборі "ІФА-ІІ-6" А-8768 використано "сендвіч"-варіант твердофазного імуноферментного аналізу з використанням моно- і поліклональних антитіл із різною етіотропною специфічністю до інтерлейкіну-6. Одні з них іммобілізовано на твердій фазі (внутрішня поверхня лунок), другі кон'юговані з біотином. На першій стадії аналізу ІІ-6, що міститься в калібрувальних та досліджуваних пробах, зв'язується з антитілами, іммобілізованими на внутрішній поверхні лунок. На другому етапі аналізу іммобілізований ІІ-6 взаємодіє з кон'югатом (друге антитіло з біотином). Кількість зв'язаного кон'югату прямопропорційно кількості ІІ-6 в

досліджуваному зразку. На останній стадії аналізу в лунки вносили авідин-пероксидазу [281, 305, 344].

Під час інкубації з субстратною сумішшю відбувається фарбування розчину в лунках. Кількість зв'язаного кон'югату (стрептавідин з пероксидазою) визначається кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази хрину – гідрогенпероксиду і хромогену – тетраметилбензидину. Інтенсивність жовтого забарвлення прямопропорційна вмісту ІЛ-6 в аналізованих зразках.

Після вимірювання оптичної щільності розчину в лунках на підставі каліброваного графіка розраховували вміст ІЛ-6 в аналізованих зразках у пг/мл.

#### *2.2.3.2. Визначення вмісту інтерлейкіну-4 у сироватці крові імуноферментним методом*

Принцип роботи набору. У наборі "ІФА-ІЛ-4" А-8754 використано "сендвіч"-варіант твердофазного імуноферментного аналізу із застосуванням моноклональних антитіл до ІЛ-4. У лунках, при додаванні досліджуваного зразка сироватки крові під час першої інкубації відбувається зв'язування ІЛ-4 з моноклональними антитілами, іммобілізованими на внутрішній поверхні лунок планшета [386, 395].

Незв'язаний матеріал видаляється відмиванням. Зв'язавшись ІЛ-4 взаємодіє під час другої інкубації з кон'югатом № 1 (біотинування антитіла до ІЛ-4). Незв'язаний кон'югат № 1 видаляється відмиванням. На третій стадії зв'язавшись кон'югат № 1 взаємодіє при інкубації з кон'югатом № 2 (стрептавідин-пероксидаза хрину). Під час інкубації з розчином тетраметилбензидину відбувається фарбування розчину. Ступінь забарвлення прямопропорційна концентрації ІЛ-4 в аналізованих пробах.

Після вимірювання оптичної щільності розчину в лунках на підставі каліброваного графіка розраховували вміст IL-4 в аналізованих зразках у нг/мл.

### *2.2.3.3. Визначення активності ендотеліальної NO-синтази (EC 1.14.13.39) у плазмі крові та печінці*

Визначення активності eNOS проводили методом імуноферментного аналізу, використовуючи стандартний набір реактивів адаптований до щурів «Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit for Rat Nitric Oxide Synthase 3, Endothelial (NOS3)», Usbn, Life Science Inc, SEA868Ra.

Досліджували плазму та тканину печінки. Кров забирали з використанням ЕДТА як антикоагулянта. Зразки центрифугували впродовж 15 хв при 600 g при  $t = 2-8$  °C через 30 хв після забору тканин. Визначення проводили негайно або заморожували при  $t = 20$  °C.

Клітини печінки лізували перед аналізом відповідно до наступних правил.

1. Зафіксовані клітини були промиті холодним PBS м'яко, а потім відокремлені трипсином і збирали їх шляхом центрифугування при 300 g впродовж 5 хвилин (суспензію можна збирати безпосередньо центрифугуванням).

2. Тричі промивали клітини холодним PBS.

3. Ресуспендували клітини у свіжому лізисному буфері з концентрацією  $10^7$  клітин печінки / мл.

4. Центрифугували при 300 g впродовж 10 хвилин при  $t = 2-8$  °C. Збирали супернатант. Визначення активності ензиму проводили негайно або заморожували при  $t = 20$  °C.

Активність eNOS у сироватці крові виражали у нг/мл, у гепатоцитах виражали в нг/мл (1мл -  $10^6$  клітин)

#### 2.2.3.4. *Визначення активності індукцибельної NO-синтази (EC 1.14.13.39) у плазмі крові та печінці*

Визначення активності iNOS проводили методом імуноферментного аналізу, використовуючи стандартний набір реактивів адаптований до щурів «Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit for Rat Nitric Oxide Synthase 2, Inducible (NOS2)», Usen, Life Science Inc, SEA837Ra.

Досліджували плазму і тканину печінки. Процедура отримання зразків плазми та лізису клітин печінки проводилася аналогічно до методики визначення активності eNOS.

Активність iNOS у сироватці крові виражали у нг/мл, у гепатоцитах виражали нг/мл (1мл –  $10^6$  клітин).

#### 2.2.3.5. *Виділення нейтрофільних гранулоцитів*

Виділення нейтрофілів проводили методом градієнтного центрифугування [Looney MR]. Кров забирали в стерильні пробірки з 3 % розчином ЕДТА (співвідношення 1 частина ЕДТА і 20 частин крові). З метою осадження еритроцитів й отримання лейкоцитарної суспензії в пробірку додавали 10 % розчин желатину в співвідношенні 10:1 та відстоювали 30 хв при температурі 37 °С. Виділену лейкоцитарну завесь одноразово відмивали 0,85% розчином хлориду натрію, центрифугуючи 10 хв при 600 g. Нейтрофіли виділяли на подвійному градієнті щільності стерильних розчинів фіколурографіну. Щільність верхнього шару градієнта складає 1,075–1,077, а нижнього – 1,093–1,095. Об'єм кожного шару градієнта дорівнює 1,5 мл. Через 30 хвилин після центрифугування при 600 g на межі між плазмою і верхнім шаром градієнта утворюється кільце, що складається в основному з мононуклеарних клітин (лімфоцити – 45–50 %, моноцити – 15–20 %, гранулоцити – 10–15 %). В інтерфазі між двома шарами градієнтів щільності розташовується шар гранулоцитів з чистотою 96–98 %, 2–4 % складають мононуклеари. Клітини акуратно збирали, переносили у стерильні

центрифужні пробірки, тричі відмивали стерильним 0,85 % розчином хлориду натрію і розводили цим же розчином до концентрації  $5 \times 10^6$  клітин/мл.

Суспензію ізольованих нейтрофілів змішували з рівним об'ємом 0,4 % розчину трипанового синього і через 5 хв розглядали в світловий мікроскоп під великим збільшенням. Здорові життєздатні нейтрофіли мають круглу форму, характерний блідо-фіолетовий колір, чітко окреслену плазматичну мембрану. Пошкоджені клітини забарвлюються вітальним барвником і мають темно-синій колір і неправильну форму. Працювали з клітинними суспензіями, ступінь забарвленості клітин в яких не перевищував 25 %

#### *2.2.3.6. Оцінка продукції активних форм кисню гранулоцитами методом проточної лазерної цитофлуориметрії*

Для вимірювання рівня АФО [37, 239] у виділених нейтрофільних гранулоцитах використовували дихлорфлуоресцеїну діацетат (ДХФ-ДА) («Sigma Aldrich», USA), який є барвником із заблокованою флуоресценцією. Після пасивного проникнення в клітину та відщеплення ацетатної групи під дією естераз ДХФ-ДА переходить у полярну сполуку, яка не здатна до дифузії з клітини. У результаті взаємодії з гідроген пероксидом та іншими вільними радикалами ДХФ-ДА стає флуоресціюючою сполукою.

У чисту полістеринову пробірку поміщали 90 мкл суспензії нейтрофільних гранулоцитів і 10 мкл робочого розчину ДХФ-ДА. Клітини ресуспендували та інкубували 20 хв при 37 °С. Потім центрифугували при 400 g впродовж 10 хв, зливали надосадову рідину та додавали 400 мкл фосфатно-сольового буферу. Проби поміщали на лід, рівень продукції АФО аналізували за інтенсивністю світіння барвника (FL-1 канал) на проточному цитофлуориметрі Epics XL («Beckman Coulter», США). Значення дослідженого параметру виражали в ум.од.

### 2.3. Гістологічні дослідження

Для гістологічних досліджень [31] брали печінку, міокард, легені та нирки піддослідних тварин на 45 добу тютюнової інтоксикації та на 24 та 72 год отруєння натрію нітритом, а також після корекції карболайном та мілдронатом у відповідні терміни.

Зразки органу фіксували в 10 %-му розчині формаліну, дегідрували у спиртах зростаючої концентрації та заливали у целоїдин-парафін за загальноприйнятими методиками. Зрізи фарбували гематоксилином та еозином [31]. Огляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400. Мікрофотографування мікроскопічних зображень виконували цифровим фотоапаратом Nikon COOL Pix 4500.

### 2.4. Методи статистичного аналізу

Обробка статистичних даних виконувалась за допомогою пакету програмного забезпечення SPSS-22 [181, 318, 402]. Розподіл даних аналізується за критерієм нормальності Колмогорова-Смірнова. Отримані значення мали параметричний розподіл, тому різниця між групами була проаналізована відповідно до t-критерію Ст'юдента та непараметричного критерію Вілкоксона для зв'язаних вибірок. Критерій  $\chi^2$  був використаний для оцінки різниці між категоріальними даними. Різниця значень ймовірності була  $p \geq 0,95$  (рівень значимості P). Розбіжності вважалися вірогідними при  $p \leq 0,05$ .

При проведенні кореляційного аналізу застосовували метод параметричної кореляції з визначенням лінійного коефіцієнта кореляції Пірсона (r) з подальшою перевіркою достовірності результату за допомогою критерію Ст'юдента. Від'ємне значення коефіцієнта вказувало на зворотний (негативний, від'ємний) зв'язок між досліджуваними явищами, додатне – на прямопропорційний (прямий, позитивний) зв'язок, а нульове значення – на його відсутність. За силою зв'язку кореляційну залежність вважали тісною (сильною) при  $|r| = 0,70-0,99$ , середньою – при  $|r| = 0,30-0,69$ , слабкою – при  $|r| = 0,01-0,29$ . Значимість коефіцієнта кореляції оцінювали за допомогою критерію Ст'юдента за вірогідності похибки p.

## РОЗДІЛ 3

МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ,  
УРАЖЕНИХ НАТРІЮ НІТРИТОМ  
(експериментальне дослідження)

У даному розділі наведені результати досліджень особливостей метаболічних порушень у щурів різного віку (статевонезрілі, статевозрілі та старечі) після ураження їх натрію нітритом. З цією метою нами проводився ряд біохімічних досліджень для підтвердження змін в прооксидантній та антиоксидантній системах, активності функціонування NO-системи, перебігу процесів вільнорадикального окиснення, біоенергетичних процесів та розвитку запалення в тканинах організму за умов змодельованого стану.

3.1. Активність процесів вільнорадикального окиснення за умов ураження щурів різного віку натрію нітритом

Нітратвмісні сполуки, як сильні окисники, проявляють вплив на гематологічні показники, переводячи двовалентний ферум гему в тривалентний, та утворюючи при цьому патологічну форму гемоглобіну – метгемоглобін чи геміглобін, який неспроможний зворотно приєднувати кисень, що в подальшому викликає гіпоксію, і є основним маркером ступеня вираженості інтоксикації нітрогенвмісними сполуками [89, 104, 195, 212].

У таблиці 3.1 наведені результати дослідження вмісту метгемоглобіну у крові щурів усіх вікових груп.

Виявлено, що після ураження натрію нітритом у крові статевонезрілих та старечого віку щурів вірогідно зростає вміст MetHb через 24 та 72 год від початку його потрапляння в організм. У кінці експерименту даний показник перевищив норму у крові статевонезрілих щурів в 2,3 раза, у старечого віку – у 2,4 раза. У тварин статевозрілого віку вірогідного підвищення не

спотерігалось, відмічена тенденція до збільшення вмісту даного показника в усі терміни дослідження.

Таблиця 3.1

Вміст MetHb (г/л) у крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	1,53±0,14	1,50±0,15	1,41±0,07
24 год ураження	2,94±0,29*	1,95±0,30	2,54±0,11*
72 год ураження	3,52±0,05*	2,11±0,19	3,34±0,34*

Примітка. Тут і в наступних таблицях даного розділу \* – вірогідні зміни між показником контрольних та уражених натрію нітритом тварин.

Натрію нітрит – класичний метгемоглобіноутворювач, за його дії на організм розвивається гемічна гіпоксія. Згідно з деякими даними, натрію нітрит у контакті з оксигемоглобіном призводить до утворення активних радикалів, що пошкоджують біологічні системи, проявляють виражену цитотоксичну дію та ініціюють процеси пероксидного окиснення [231, 266, 518].

Нами встановлено, що введення в організм щурів різних вікових груп натрію нітриту призводило до оксидативного стресу, що підтвержується збільшенням після ураження продукції АФО нейтрофільними гранулоцитами крові. Результати досліджень наведені у табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Вміст АФО (ум.од.) у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	15,06±0,71	18,47±0,22	19,87±0,86
24 год ураження	21,26±0,34*	21,99±0,82*	23,14±0,88*
72 год ураження	25,65±0,74*	31,71±0,76*	26,41±0,45*



Після ураження натрію нітритом статевонезрілих щурів вміст АФО, що продукуються нейтрофільними гранулоцитами крові збільшився в 1,7 раза до кінця експерименту (72 год після потрапляння до організму токсиканта). У статевозрілих щурів відмічено аналогічне збільшення вмісту АФО (в 1,7 раза у нейтрофільних гранулоцитах). У старечого віку тварин через 72 год після отруєння натрію нітритом вміст АФО збільшився в 1,2 раза порівняно з контрольними тваринами.

Отже, отруєння щурів натрію нітритом призводило до вірогідного збільшення продукції АФО нейтрофільними гранулоцитами крові, що може бути причиною розвитку оксидативного стресу в організмі.

Будь яка стресова реакція організму в нормі супроводжується короткочасним збільшенням кількості АФО [318, 341, 386, 430]. За певних умов підвищення інтенсивності утворення АФО над швидкістю їх детоксикації може призводити до пошкодження клітин. При вираженому або тривалому стресі концентрація АФО в клітині може підвищуватися і, починаючи з певного порогового рівня цих сполук, мобілізація захисних систем клітини слабшає і активуються процеси, які спричиняють апоптоз або некроз.

Відомо [13, 49, 53], що за умов гіперпродукції АФО активуються процеси вільнорадикального окиснення, а зокрема, ліпопероксидації. Вільнорадикальне окиснення є універсальним механізмом, за допомогою якого контролюються найважливіші гомеостатичні фізико-хімічні параметри клітини: в'язкість, вибіркова проникність і цілісність клітинних мембран [59, 85, 277, 501].

Вміст одного з показників перекисного окиснення ліпідів, ТБК-АП, ми дослідили у сироватці крові та органах щурів різного віку, отруєних натрію нітритом.

У таблиці 3.3 наведені результати досліджень вмісту ТБК-АП у сироватці крові, печінці та легенях щурів після ураження.

Таблиця 3.3

Вміст ТБК-АП у сироватці крові (мкмоль/л), печінці, легенях, міокарді та нирках (мкмоль/кг) щурів у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	3,28±0,23	1,85±0,14	2,35±0,14
24 год ураження	5,63±0,20*	2,71±0,15*	2,94±0,19
72 год ураження	6,36±0,36*	3,23±0,14*	3,36±0,20*
	Печінка		
Контрольні щури	15,49±1,28	14,42±0,71	16,55±0,98
24 год ураження	22,85±1,05*	17,33±0,51*	27,72±0,57*
72 год ураження	25,34±1,31*	22,84±0,58*	34,62±1,66*
	Легені		
Контрольні щури	18,66±0,60	21,82±1,51	21,36±2,13
24 год ураження	28,75±1,10*	24,87±0,67	31,43±1,48*
72 год ураження	32,23±1,17*	27,55±1,16*	39,73±1,64*
	Нирки		
Контрольні щури	20,30±3,06	12,28±1,28	28,84±2,34
24 год ураження	35,47±1,48*	18,65±0,32*	32,58±1,12
72 год ураження	40,95±0,80*	30,28±1,18*	35,27±0,98
	Міокард		
Контрольні щури	9,72±0,65	13,35±0,98	13,35±1,28
24 год ураження	14,21±0,95*	16,55±1,19	15,74±0,99
72 год ураження	17,73±0,74*	18,55±1,04*	18,80±1,06*

У сироватці крові щурів через 24 год після ураження натрію нітритом вміст ТБК-АП зростав: у статевонезрілих в 1,7 раза ( $p \leq 0,05$ ), статевозрілих у 1,5 раза ( $p \leq 0,05$ ) і у старечого віку у 1,25 раза ( $p \geq 0,05$ ). Через 72 год після потрапляння натрію нітриту до організму вірогідне збільшення даного показника відмічено в усіх вікових групах щурів. Найбільш виражене це збільшення було у статевонезрілих тварин (в 1,9 раза перевищував рівень контролю).

У печінці тварин після ураження відмічали аналогічне збільшення вмісту продуктів ліпопероксидації. Найвищим показник вмісту ТБК-АП

виявився у печінці старечого віку щурів і в 2,1 раза перевищував вміст його у контрольних тварин.

У легенях старечого віку щурів відмічено найбільший вміст ТБК-АП у кінці експерименту порівняно з іншими віковими групами. Найбільш стійкими до дії токсиканта виявились легені статевозрілих щурів (збільшення даного показника було в 1,3 раза). У нирках статевонезрілих та статевозрілих щурів після ураження відмічали збільшення даного показника в обидва терміни дослідження. У старечого віку щурів зміни вмісту цього показника не були вірогідними як через 24 год, так і через 72 год з моменту поступлення в організм натрію нітриту.

Найбільш чутливим до дії токсиканта виявився міокард статевонезрілих щурів, у якому вміст ТБК-АП у 1,8 раза перевищував норму, у той час як у двох інших групах дослідних тварин показник збільшився в 1,4 раза.

Таким чином, під дією натрію нітриту в організмі щурів усіх вікових груп інтенсифікуються процеси ліпопероксидації, про що свідчило збільшення у сироватці крові та органах вмісту ТБК-активних продуктів. Однією з причин цього може бути збільшення продукції АФО лімфоцитами крові після ураження.

Протеїнові молекули також є мішенями для атаки АФО, що призводило до зміни їх вторинної та третинної структури, агрегації та фрагментації. У літературі є дані про те, що конформаційні зміни у структурі молекул протеїнів, які відбуваються при їх взаємодії з АФО, збільшують доступність пептидних зв'язків для дії протеїназ [108, 136, 146]. АФО можуть впливати на процеси внутрішньоклітинної деградації не лише шляхом модифікації структури молекул протеїнів, але й шляхом зміни рівноваги між протеазами та їх інгібіторами.

Визначення вмісту продуктів ОМП нейтрального та основного характеру в сироватці крові та органах щурів, уражених досліджуваним токсикантом, показало їх збільшення у всіх групах тварин.

Результати дослідження продуктів ОМП нейтрального характеру (2,4-ДНФГ<sub>370</sub>) наведені у табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Вміст 2,4-ДНФГ<sub>370</sub> у сироватці крові, печінці та легенях щурів (мкмоль/г протеїну) у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	0,037±0,002	0,020±0,001	0,030±0,001
24 год ураження	0,050±0,001*	0,027±0,001*	0,042±0,005
72 год ураження	0,060±0,001*	0,041±0,001*	0,060±0,002*
	Печінка		
Контрольні щури	0,101±0,003	0,072±0,001	0,083±0,002
24 год ураження	0,133±0,013	0,100±0,003*	0,118±0,014
72 год ураження	0,169±0,003*	0,113±0,003*	0,150±0,004*
	Легені		
Контрольні щури	0,039±0,001	0,028±0,001	0,035±0,001
24 год ураження	0,047±0,003	0,033±0,001*	0,046±0,004
72 год ураження	0,059±0,002*	0,043±0,001*	0,053±0,001*

Вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру вірогідно збільшився у сироватці крові статевонезрілих та старечого віку щурів в обидва терміни дослідження ( $p \leq 0,05$ ). У старечих щурів через 24 год після застосування натрію нітриту даний показник підвищився, але вірогідних змін відмічено не було. Через 72 год після отруєння у цих же тварин вміст продуктів ОМП нейтрального характеру в сироватці крові вірогідно підвищився (у 2 рази).

У печінці щурів після ураження вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру до кінця експерименту підвищився на 69 % у статевонезрілих, на 57 % у статевозрілих та на 81 % у старечого віку тварин.

Після отруєння щурів натрію нітритом відмічено підвищення вмісту 2,4-ДНФГ<sub>370</sub> у легенях щурів усіх дослідних груп, яке на 50 % перевищувало рівень контрольних щурів відповідної вікової групи.

Дослідження вмісту 2,4-ДНФГ<sub>370</sub> у нирках показало його збільшення після потрапляння в організм натрію нітриту (рис. 3.1).

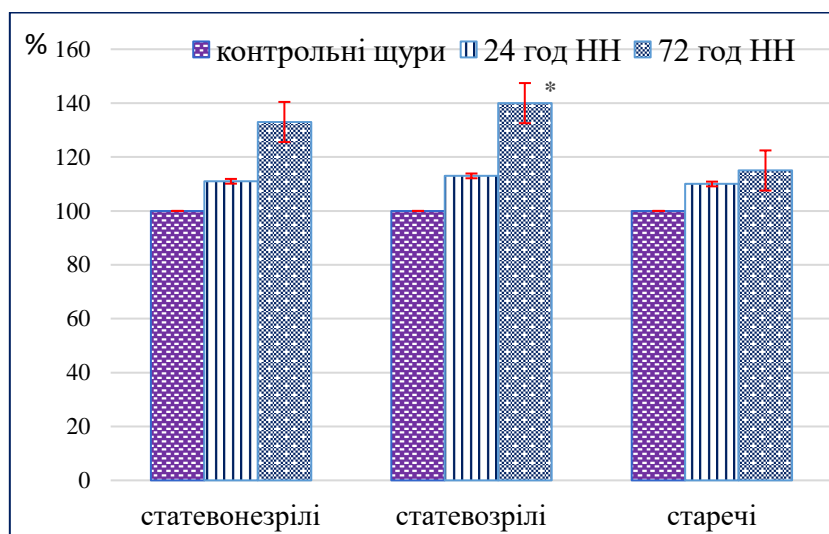


Рис. 3.1. Вміст 2,4-ДНФГ у нирках щурів різного віку після ураження натрію нітритом, %

Примітка. Тут і в наступних рисунках \* – вірогідні зміни між показником контрольних та уражених натрію нітритом тварин.

Найвищим вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру виявився у нирках щурів статевозрілого віку (на 40 % перевищував норму через 72 год після ураження натрію нітритом). Дані зміни відмічено як вірогідні ( $p \leq 0,05$ ).

Аналогічні зміни спостерігали і в мокарді цієї групи щурів в обидва терміни дослідження, до кінця експерименту показник на 38 % був більшим, ніж у контрольних тварин.

Ми дослідили вміст 2,4-ДНФГ основного характеру (430 нм) у сироватці крові та органах щурів після ураження (табл. 3.5).

Впродовж усього експерименту спостерігали тенденцію до підвищення даного показника як у сироватці крові, так і в органах щурів усіх вікових груп після ураження натрію нітритом. У сироватці крові зміни виявились вірогідними ( $p \leq 0,05$ ) у групах статевонезрілих та старечого віку тварин, збільшення показника у яких перевищувало норму в 1,9 раза у першому випадку та в 1,8 раза у другому відповідно.

У печінці та нирках щурів усіх вікових груп через 72 год після ураження натрію нітритом відмічено вірогідне збільшення вмісту 2,4-ДНФГ<sub>430</sub>. У легенях вміст даного показника виражено збільшився тільки у групі статевонезрілих тварин впродовж усіх термінів дослідження. Дослідження вмісту 2,4-ДНФГ<sub>430</sub> у міокарді виявило тенденцію до збільшення в усіх групах тварин, без вірогідних змін.

Таблиця 3.5

Вміст 2,4-ДНФГ<sub>430</sub> у сироватці крові та органах щурів (мкмоль/г протеїну) у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	0,013±0,001	0,010±0,001	0,012±0,001
24 год ураження	0,020±0,002*	0,012±0,001	0,013±0,002
72 год ураження	0,025±0,001*	0,015±0,001	0,022±0,002*
	Печінка		
Контрольні щури	0,042±0,001	0,026±0,001	0,041±0,001
24 год ураження	0,059±0,002*	0,033±0,003	0,053±0,002*
72 год ураження	0,073±0,002*	0,050±0,002*	0,068±0,003*
	Легені		
Контрольні щури	0,030±0,001	0,019±0,001	0,027±0,002
24 год ураження	0,038±0,002*	0,023±0,002	0,034±0,003
72 год ураження	0,047±0,002*	0,029±0,002*	0,035±0,003
	Нирки		
Контрольні щури	0,023±0,002	0,016±0,001	0,018±0,001
24 год ураження	0,029±0,002	0,018±0,002	0,024±0,002
72 год ураження	0,043±0,004*	0,031±0,002*	0,039±0,001*
	Міокард		
Контрольні щури	0,028±0,002	0,020±0,002	0,025±0,001
24 год ураження	0,033±0,002	0,024±0,001	0,027±0,001
72 год ураження	0,036±0,002	0,030±0,002*	0,028±0,002

Отже, в організмі щурів усіх вікових груп відбувалася активація процесів окисної модифікації протеїнів, що зумовлює збільшення в

досліджуваних органах і тканинах вмісту 2,4-ДНФГ, які є маркерами посилення вільнорадикальних реакцій в організмі [146, 158, 201].

За умов ураження тварин натрію нітритом відбувається активація продукції АФО, що призводило до інтенсифікації вільнорадикальних процесів в організмі, зокрема ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, а також посилення процесів метгемоглобіноутворення, які найбільш виражені у статевонезрілих та старечого віку щурів.

### 3.2. Стан антиоксидантної системи в організмі тварин різного віку, уражених натрію нітритом

Активація вільнорадикальних процесів при дії натрію нітриту на організм піддослідних тварин супроводжувалася порушенням функціонування ензимних і неензимних антиоксидантів, що пов'язане як із виснаженням їх резервів, у зв'язку з інтенсивним споживанням у реакціях детоксикації, так і з порушенням синтезу.

Відомо, що ключову роль у регуляції рівня АФО та, зокрема, супероксиданіонрадикалу ( $O_2^{\cdot-}$ ) у біологічних тканинах відіграє ензим антиоксидантної системи СОД, який здійснює рекомбінацію  $O_2^{\cdot-}$  з утворенням менш токсичних продуктів пероксидації ліпідів: пероксиду гідрогену та триплетного кисню [212].

При дослідженні супероксиддисмутазної активності у сироватці крові та печінці щурів після ураження натрію нітритом відмічено її зниження (табл. 3.6) в усіх вікових групах.

Найбільш чутливими до дії токсиканта виявились тварини статевонезрілого віку, у яких активність даного ензиму у сироватці крові знизилась у 1,4 раза через 24 год від початку дії натрію нітриту та у 1,6 раза через 72 год після його потрапляння в організм. У старечого віку щурів вірогідне зниження активності ензиму відмічали тільки через 72 год після ураження.

Вірогідного зниження зазнала супероксиддисмутазна активність у старечих щурів порівняно з контрольними тваринами в останній термін дослідження. У всіх інших групах вірогідних змін не виявлено.

Таблиця 3.6

Супероксиддисмутазна активність у сироватці крові та печінці (мкат/г протеїну) щурів у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	64,85±4,06	62,24±3,50	52,85±3,50
24 год ураження	47,50±2,78*	54,53±5,09	45,80±3,45
72 год ураження	41,68±3,30*	50,67±3,87	37,77±2,36*
	Печінка		
Контрольні щури	44,91±4,57	57,05±4,84	47,43±3,83
24 год ураження	37,38±3,68	50,27±3,27	40,25±3,83
72 год ураження	32,69±2,70	45,15±4,17	32,86±3,15*

Зниження супероксиддисмутазної активності може бути зумовлено збільшенням концентрації пероксиду гідрогену, накопиченням сполук, що можуть взаємодіяти з іонами металів в активному центрі ензимів або впливати на ступінь їх відновлення.

Ураження щурів натрію нітритом призводило до зниження каталазної активності у досліджуваних органах щурів впродовж усього експерименту (табл. 3.7).

У сироватці крові активність КАТ на 24 год після ураження вірогідно знижувалась у статевозрілих та старечого віку щурів. У кінці експерименту даний показник знизився у статевонезрілих щурів у 1,5 раза, статевозрілих – у 1,9 раза, старечого віку – у 1,75 раза.

У печінці вірогідне зниження каталазної активності ( $p \leq 0,05$ ) спостерігали тільки у статевонезрілих щурів у перший термін дослідження. До кінця експерименту активність знижувалась у печінці тварин усіх вікових груп, але вірогідних змін відмічено не було.



Ураження щурів натрію нітритом призвело до зниження активності антиоксидантного ензиму в міокарді щурів різного віку (це зниження становило 1,2-1,3 раза у всіх групах щурів).

Таблиця 3.7

Каталазна активність (мкат/г протеїну) у сироватці крові та органах щурів у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	0,251±0,022	0,315±0,024	0,233±0,020
24 год ураження	0,185±0,017	0,192±0,017*	0,140±0,013*
72 год ураження	0,163±0,015*	0,165±0,015*	0,133±0,011*
	Печінка		
Контрольні щури	0,170±0,016	0,210±0,020	0,183±0,016
24 год ураження	0,118±0,010*	0,193±0,014	0,150±0,012
72 год ураження	0,122±0,012	0,165±0,013	0,147±0,012
	Міокард		
Контрольні щури	0,178±0,016	0,128±0,010	0,200±0,013
24 год ураження	0,143±0,011	0,103±0,009	0,173±0,015
72 год ураження	0,147±0,014	0,095±0,007*	0,160±0,015

Аналогічна тенденція до зниження каталазної активності відмічена у легенях старечого віку щурів, де показник знизився на 24 % порівняно з контролем через 72 год після отруєння натрію нітритом, у статевозрілих – на 29 %. Найбільш стійкими до дії токсиканта виявились легені статевонезрілих тварин, у яких до кінця експерименту КТ активність знизилась лише на 8 %.

Вразливими до дії натрію нітриту були нирки щурів усіх дослідних груп. Ми відмітили вірогідне їх зниження ( $p \leq 0,05$ ) в обидва терміни дослідження (рис. 3.2).

У нирках старечих щурів активність ензиму знизилась найбільше у кінці експерименту (на 41 %), у статевозрілих на 32 % була нижча за інтактний контроль, у молодих щурів – на 23 % нижче контролю.

Отже, отруєння щурів натрію нітритом призводило до поступового зниження каталазної активності впродовж експерименту в усіх органах щурів усіх вікових груп. Це зумовлює зниження процесу знешкодження пероксиду гідрогену, утвореного в результаті супероксиддисмутазної реакції, що призводило до інтоксикації ним організму.

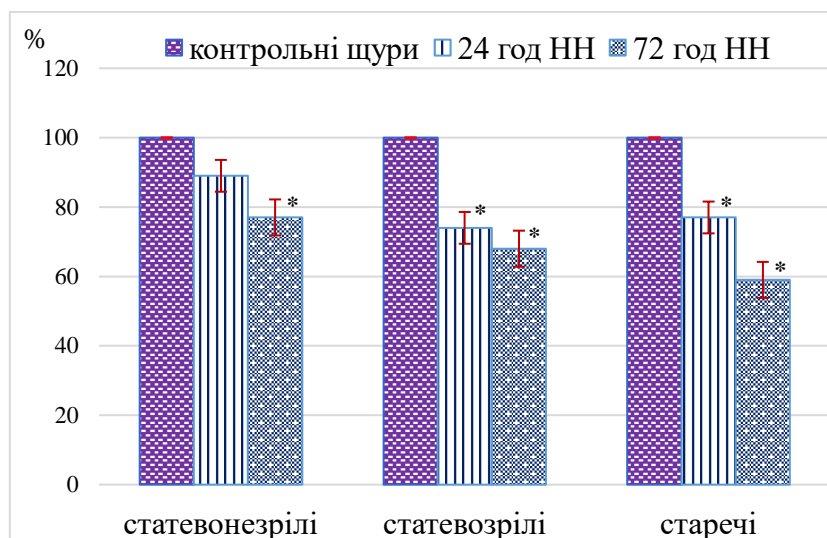


Рис. 3.2. Каталазна активність у нирках щурів різного віку після ураження натрію нітритом, %

Один із основних антиоксидантів плазми крові – церулоплазмін – купрумвмісний протеїн альфа2-глобулінової фракції крові. Особливістю цього протеїну є висока стабільність до токсичної дії АФО, що дозволяє йому зберігати біологічну активність за умов їх інтенсивної генерації.

Результати дослідження вмісту ЦП у сироватці крові щурів після ураження наведені на рис. 3.3.

Через 24 год після ураження щурів натрію нітритом у сироватці крові відмічали вірогідне підвищення вмісту ЦП у групі статевонезрілих та старечого віку щурів ( $p \leq 0,05$ ). Через 72 год від початку експерименту вірогідне підвищення вмісту ензиму було у всіх вікових групах: у статевонезрілих – у 1,5 раза, у статевозрілих та старечого віку щурів – у 1,4 раза. Встановлене нами в сироватці крові підвищення вмісту ЦП, який є пасткою ОН радикалів, а також може проявляти дисмутазну дію, свідчило про активне включення цього ензиму в захисний процес.

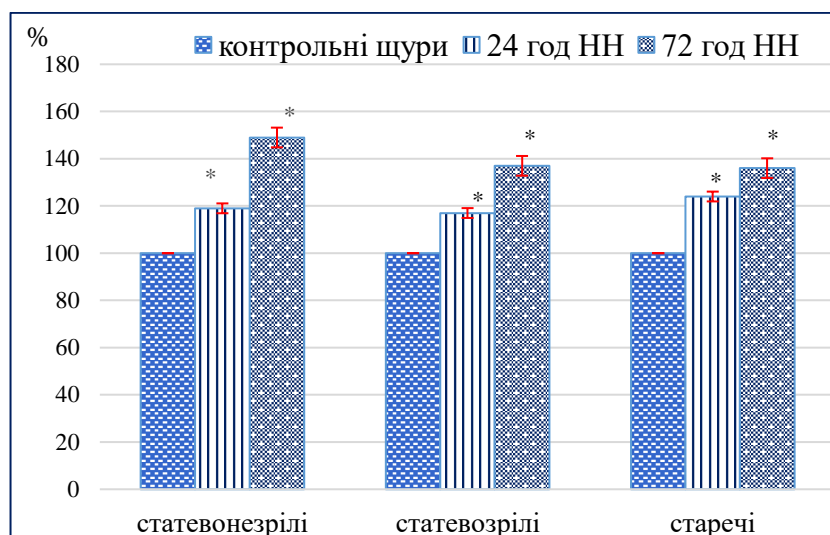


Рис. 3.3. Вміст ЦП у сироватці крові щурів різного віку після ураження натрію нітритом, %

У руйнуванні гідроперекисів, що утворюються при ПОЛ, основну роль відіграє система глутатіонпероксидаза – глутатіонредуктаза – відновлений глутатіон [219, 223, 234]. Основна функція глутатіону полягає в участі його в детоксикації ксенобіотиків. Дані про вміст відновленого глутатіону в органах щурів після ураження наведені в таблиці 3.8.

У сироватці крові статевонезрілих щурів вміст ВГ вірогідно знизився у кінці експерименту. У всіх інших дослідних групах спостерігали тенденцію до зниження даного показника.

Після ураження натрію нітритом у печінці, легенях, нирках та міокарді щурів усіх вікових груп вміст відновленого глутатіону зазнав зниження як через 24 год після отруєння, так і через 72 год від початку експерименту. Найбільш виражене зниження відмічали у печінці після ураження, що можливо, пов'язано з токсичним впливом натрію нітриту на цей орган, який стає не в змозозі синтезувати даний трипептид.

Таким чином, проведені дослідження з вивчення активності показників антиоксидантного захисту щурів, уражених натрію нітритом, дають можливість стверджувати, що впродовж 72 год з моменту потрапляння в

організм натрію нітриту, відбуваються глибокі порушення як ензимної, так і неензимної ланки антиоксидантної системи, що проявляється їх пригніченням.

Таблиця 3.8

Вміст відновленого глутатіону в сироватці крові (ммоль/л) та органах щурів (ммоль/кг) у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	1,20±0,05	1,36±0,08	1,23±0,06
24 год ураження	1,22±0,06	1,30±0,09	1,24±0,07
72 год ураження	1,00±0,05*	1,27±0,10	1,15±0,08
	Печінка		
Контрольні щури	1,68±0,12	1,93±0,07	1,80±0,09
24 год ураження	1,48±0,13	1,90±0,09	1,65±0,15
72 год ураження	1,40±0,15	1,86±0,16	1,52±0,12
	Легені		
Контрольні щури	0,61±0,05	0,50±0,05	0,56±0,05
24 год ураження	0,65±0,06	0,54±0,04	0,52±0,04
72 год ураження	0,58±0,06	0,45±0,04	0,49±0,04
	Нирки		
Контрольні щури	1,75±0,13	1,71±0,13	1,73±0,14
24 год ураження	1,56±0,18	1,79±0,17	1,75±0,13
72 год ураження	1,63±0,17	1,62±0,16	1,68±0,11
	Міокард		
Контрольні щури	0,67±0,05	0,55±0,04	0,59±0,04
24 год ураження	0,65±0,06	0,50±0,05	0,63±0,06
72 год ураження	0,57±0,05	0,46±0,04	0,48±0,05

Отримані результати вказують на те, що найбільш вразлива захисна система у статевонезрілих тварин, що, очевидно, пов'язано із недостатньою активністю ензимних систем у молодому організмі.

### 3.3. Ендогенна інтоксикація та ступінь деструкції клітинних мембран у щурів за умов нітритної інтоксикації

Ендогенна інтоксикація є неспецифічним синдромом, характерним для багатьох захворювань, що супроводжуються посиленням вільнорадикальних процесів. Токсичні метаболіти ПОЛ викликають деструкцію плазматичних та

цитоплазматичних мембран, призводять до розвитку токсемії – виходу в кров з локального осередку токсинів, що викликають генералізацію патологічного процесу на активацію процесів ПОЛ та ОМП в організмі уражених натрію нітритом тварин.

У даному підрозділі наведені результати досліджень динаміки мембранодеструктивних процесів, проведена оцінка ступеня вираженості стану ендогенної інтоксикації після отруєння токсикантом.

Раніше нами було показано, що ураження щурів натрію нітритом призводило до посилення процесу метгемоглобіноутворення, який найбільш виражений у статевонезрілих тварин.

Метгемоглобіноутворення – вільнорадикальний процес, який проходить з утворенням нітрит-іону при дії  $\text{NaNO}_2$ . Токсичні метаболіти, що при цьому утворюються, спричиняють деструктивну дію на мембрани еритроцитів і полегшують цим самим вивільнення гемоглобіну з останніх. Підтвердженням є вивчення відсотку пошкодження еритроцитарної мембрани в отруєному організмі (рис. 3.4).

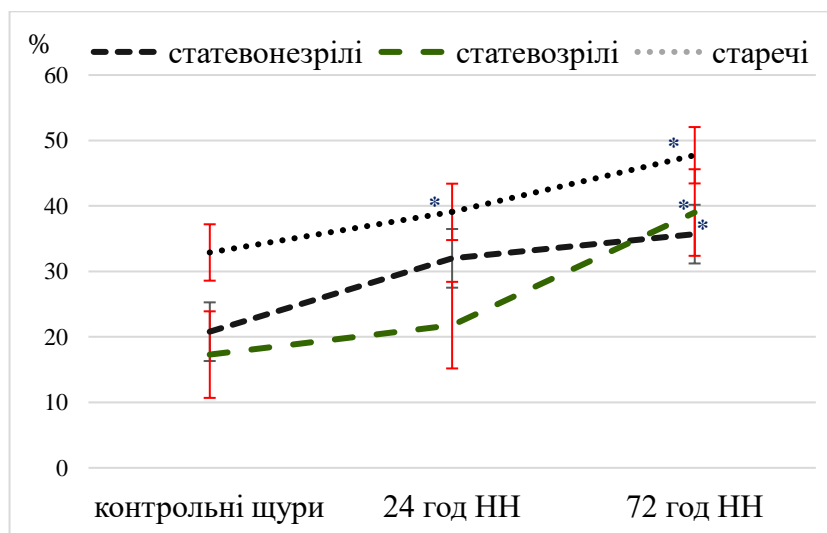


Рис. 3.4. Еритроцитарний індекс інтоксикації у тварин різних вікових груп, уражених натрію нітритом, %

Найбільше значення мав ЕІІ у контрольних щурів старечого віку та становив 32,9 %, що свідчило про найбільшу проникність еритроцитарної

мембарни саме у тварин цієї групи. Після ураження старечих щурів натрію нітритом проникність плазматичної мембрани еритроцитів збільшилась на 8 % через 24 год після потрапляння токсиканта в організм і на 15 % через 72 год від початку експерименту. У статевонезрілих щурів спостерігали аналогічне підвищення ЕП – на 11 % через 24 год та на 15 % після введення натрію нітриту. Найбільш стійкими виявились статевозрілі щури на початку експерименту (ЕП збільшився на 4,5 %).

При пошкодженні плазматичних мембран еритроцитів та вивільненні гемоглобіну з них відбувається його посилене окиснення до метгемоглобіну, що призводило до розвитку тканинної гіпоксії. Внаслідок активації вільнорадикальних процесів в організмі нагромаджується велика кількість ендогенних токсинів, які викликають деградацію протеїнових компонентів мембран і зміни в активності багатьох мембранозалежних ензимів. Утворюються молекули середньої маси, які можуть бути продуктами розпаду протеїнів, ензимів, нуклеїнових кислот, пігментів та гормонів [26, 35, 42].

Нами досліджено вміст молекул середньої маси, які є маркерами ендогенної інтоксикації. Істотна особливість МСМ полягає в їх чітко вираженій високій біологічній активності. Накопичення МСМ є не тільки маркером ендоінтоксикації, в подальшому вони посилюють перебіг патологічного процесу, набуваючи роль вторинних токсинів, впливаючи на життєдіяльність всіх систем і органів. Показник рівня МСМ вважають основним біохімічним маркером, що відображає рівень патологічного протеїнового метаболізму [55, 85].

Ми вивчили вміст обох фракцій МСМ ( $СМ_1$  та  $СМ_2$ ) у сироватці крові уражених тварин. При вивченні вмісту  $СМ_1$  (переважають ланцюгові амінокислоти) встановлено, що в усіх вікових групах вміст  $СМ_1$  підвищився у 2 рази через 72 год після потрапляння в організм натрію нітриту (табл. 3.9).

Даний показник збільшувався поступово впродовж усього експерименту і у досліджувані терміни він набував вірогідного підвищення ( $p \leq 0,05$ ). У сироватці крові уражених щурів вміст  $СМ_2$  аналогічно збільшувався. Через

24 год після ураження вірогідного збільшення даний показник зазнав у сироватці крові статевонезрілих та статевозрілих тварин, у старечого віку щурів збільшення вмісту  $SM_2$  у цей термін не було вірогідним. Через 72 год після отруєння натрію нітритом вміст  $SM_2$ , у яких переважають ароматичні амінокислоти, збільшився в 1,6 раза у статевонезрілих, в 1,4 раза у статевозрілих та в 1,7 раза у старечого віку щурів.

Таблиця 3.9

Вміст молекул середньої маси (ум.од/л) у сироватці крові щурів у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	$SM_1$		
Контрольні щури	14,00±1,15	11,00±0,85	13,66±0,61
24 год ураження	24,00±1,15*	17,66±0,50*	22,33±1,20*
72 год ураження	28,00±0,73*	21,66±0,95*	26,00±1,15*
	$SM_2$		
Контрольні щури	16,66±0,84	12,67±0,84	15,33±0,67
24 год ураження	23,33±0,99*	16,33±0,42*	20,33±0,95
72 год ураження	26,33±0,80*	18,00±0,73*	26,67±0,99*

Отже, ураження щурів усіх вікових груп натрію нітритом призводило до поглиблення ендогенної інтоксикації організму, нагромадження значної кількості вторинних токсинів, які чинять деструктивний вплив на плазматичні мембрани клітин.

На порушення структури та функцій клітинних мембран вказують результати досліджень активності цитозольних ензимів – АЛТ та АСТ – у сироватці крові. Як відомо, пошкодження плазматичних мембран призводило до виходу ензимів із цитозолу і їхній вміст свідчить про ступінь пошкодження клітин [85, 136, 171].

У сироватці крові усіх дослідних груп щурів активність АЛТ зростає до кінця експерименту – у статевонезрілих у 2,4 раза, у статевозрілих – у 1,7 раза

та у старечих – у 1,4 раза. Найчутливішими до дії токсиканта виявились статевонезрілі тварини (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Активність аланінамінотрансферази у сироватці крові (мкмоль/л×год) та органах щурів (мкмоль/кг×год) у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	0,56±0,02	1,10±0,11	1,45±0,12
24 год ураження	0,97±0,06*	1,48±0,05*	1,75±0,14
72 год ураження	1,36±0,13*	1,72±0,07*	1,97±0,14*
	Печінка		
Контрольні щури	6,98±0,10	6,60±0,27	8,03±0,28
24 год ураження	6,14±0,11*	6,13±0,10	7,22±0,14
72 год ураження	4,95±0,10*	5,47±0,23*	6,17±0,22*
	Легені		
Контрольні щури	4,12±0,31	2,75±0,41	3,87±0,31
24 год ураження	3,65±0,13	2,20±0,14	3,27±0,13
72 год ураження	2,85±0,09*	1,87±0,10	2,89±0,12*
	Нирки		
Контрольні щури	7,80±0,28	6,98±0,11	7,35±0,27
24 год ураження	6,57±0,09*	6,43±0,14*	6,97±0,12
72 год ураження	6,27±0,14*	6,37±0,14*	6,70±0,14
	Міокард		
Контрольні щури	3,91±0,16	4,67±0,34	4,38±0,09
24 год ураження	3,20±0,09*	3,84±0,13	3,12±0,15*
72 год ураження	2,16±0,16*	3,14±0,19*	2,67±0,06*

Підвищення активності амінотрансфераз у сироватці крові – маркерів цитолізу можна розглядати як гіперферментемію, що може засвідчити про підвищення проникності плазмалеми і, в деякій мірі, внутрішньоклітинних мембран клітин різних органів, а зокрема печінки та серця. Ступінь підвищення амінотрансферазної активності сироватки крові вказує на вираженість цитолітичного синдрому.



У печінці статевонезрілих щурів відмічали вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження активності даного ензиму впродовж усіх термінів дослідження і в кінці експерименту активність АЛТ знизилась у 1,4 раза. У статевозрілих та старечого віку щурів вірогідне зниження активності ензиму відмічали через 72 год після ураження (у 1,2 та 1,3 раза відповідно). У кінці експерименту найбільш чутливими до ураження виявились легені статевонезрілих та старечих тварин, у яких активність АЛТ знизилась у 1,4 та 1,3 раза порівняно з контрольними щурами.

Ми відмітили вірогідне зниження активності АЛТ у нирках статевонезрілих та статевозрілих щурів ( $p \leq 0,05$ ). У нирках старечого віку тварин спостерігали тенденцію до зниження даного ензиму, але вірогідних змін не відмічено.

Отруєння щурів натрію нітритом викликало зниження активності АЛТ у міокарді щурів. Через 72 год від початку потрапляння в організм токсиканта активність даного показника вірогідно знизилась у всіх вікових групах.

Ми дослідили динаміку активності АСТ у досліджуваних тканинах після ураження натрію нітритом.

У сироватці крові статевонезрілих щурів активність АСТ збільшилась у 1,3 раза через 72 год після інтоксикації, у статевозрілих у 2,0 рази, у старечих – у 1,9 раза активність ензиму перевищувала рівень контрольних тварин.

У печінці, легенях та нирках даний показник поступово зменшувався впродовж всього експерименту та зазнав максимального зниження через 72 год після ураження. Зниження активності АСТ у 1,6 раза відмічено у кінці експерименту в печінці тварин усіх дослідних груп.

Чутливішими до дії токсиканта були нирки статевонезрілих щурів, у яких активність ензиму знизилась у 1,7 раза порівняно з ураженими тваринами. У двох інших вікових групах спостерігали зниження показника в 1,5 раза після ураження в кінці дослідження (рис. 3.5).

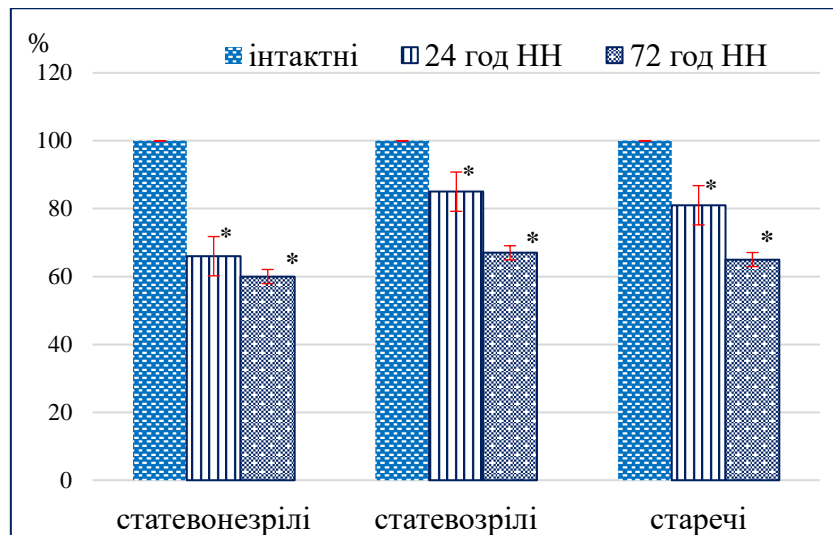


Рис. 3.5. Активність АСТ у нирках тварин різних вікових груп, уражених натрію нітритом, %

У міокарді щурів після ураження відмічено незначне зниження активності АСТ у всіх вікових групах ( $p \geq 0,05$ ) через 24 год після потрапляння до організму натрію нітриту. Через 72 год після отруєння токсикантом зниження у дослідних групах становило 12-15 % (найбільше 15 % у старечих тварин; рис. 3.6).

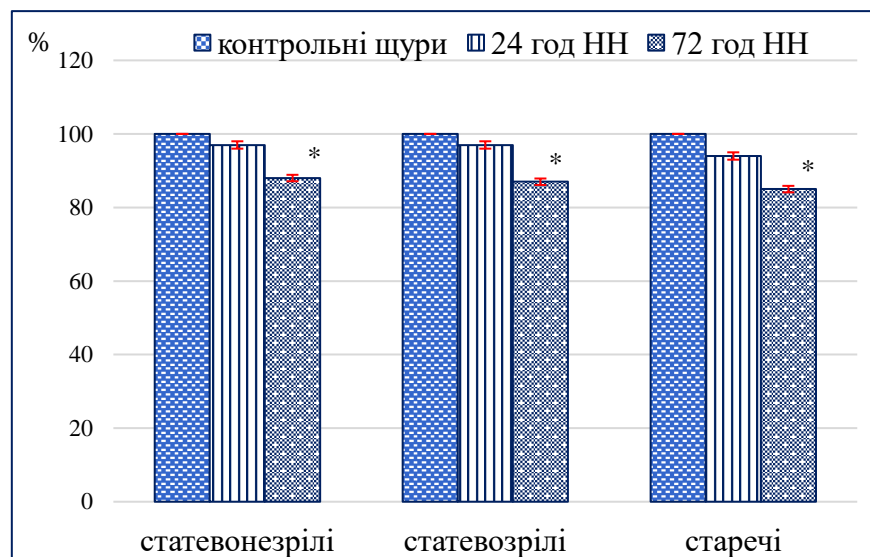


Рис. 3.6. Активність АСТ у міокарді тварин різних вікових груп, уражених натрію нітритом, %

Таким чином, після ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом у сироватці крові зростає активність амінотрансфераз, що вказує на

розвиток цитолітичного синдрому в організмі та підтверджено зниженням активностей досліджуваних ензимів в органах тварин.

При дослідженні активності маркерного для печінки ензиму – лужної фосфатази – встановлено її зростання в сироватці крові у статевонезрілих щурів у 1,3 раза, у старечих у 1,5 раза ( $p \leq 0,05$ ) через 72 год після ураження натрію нітритом (табл. 3.11). У статевозрілих щурів у цей термін дослідження активність ензиму знаходилась практично на рівні контрольних тварин.

Таблиця 3.11

Активність лужної фосфатази у сироватці крові (нмоль/л×год), печінці та нирках (нмоль/кг год) щурів у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	11,63±0,72	12,78±1,25	11,31±0,97
24 год ураження	14,45±1,26	13,08±1,21	15,96±1,15*
72 год ураження	15,28±1,27*	14,38±1,36	16,94±1,23*
	Печінка		
Контрольні щури	15,35±1,10	16,48±1,00	16,11±1,23
24 год ураження	11,02±1,09*	14,32±1,27	12,33±1,21
72 год ураження	10,43±0,91*	13,69±1,36	12,13±1,10*
	Нирки		
Контрольні щури	13,26±1,26	15,43±1,46	12,43±0,95
24 год ураження	10,13±0,91	12,45±1,0	10,76±0,90
72 год ураження	9,73±0,85*	11,88±1,00	9,82±0,76

Спостерігали зниження активності ЛФ у печінці та нирках після потрапляння до організму токсиканта. У печінці статевонезрілих щурів даний показник зазнав вірогідного зниження в обидва терміни дослідження та до кінця експерименту був на рівні 68 % щодо контролю. У статевозрілих спостерігали тенденцію до зниження досліджуваного показника без вірогідних змін. У старечого віку щурів вірогідне зниження активності ЛФ відмічено у кінці експерименту (до 75 %).

Отруєння тварин натрію нітритом призвело до незначного зниження активності ензиму в нирках щурів усіх вікових груп (вірогідне зниження на 27 % спостерігали у статевонезрілих щурів).

Перспективним напрямком для ранньої діагностики порушень роботи печінки є визначення в сироватці крові гама-глутамілтранспептидази. В організмі ензим бере участь у метаболізмі глутатіону – трипептиду, що складається із залишків глутамінової кислоти, цистеїну й гліцину, який виконує значну роль в багатьох обмінних процесах. У клітині ГГТП локалізована в мембрані, лізосомах та цитоплазмі, причому мембранна локалізація ензиму характерна для клітини з високою секреторною, екскреторною чи реабсорбційною здатністю. Зокрема, це епітеліальні клітини, що вистеляють жовчні шляхи та печінкові каналці [70, 119].

Після ураження щурів натрію нітритом активність ГГТП у сироватці крові статевонезрілих щурів збільшилась на 38 %, статевозрілих на 15 % та у старечого віку – на 22 % (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Активність гама-глутамілтранспептидази у сироватці крові (мккат/л), печінці та нирках (мккат/кг) щурів у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	0,65±0,06	0,80±0,06	0,79±0,06
24 год ураження	0,84±0,07	0,88±0,07	0,87±0,07
72 год ураження	0,90±0,08*	0,92±0,07	0,96±0,04*
	Печінка		
Контрольні щури	1,74±0,11	1,18±0,07	1,47±0,13
24 год ураження	1,45±0,11	1,10±0,06	1,38±0,06
72 год ураження	1,23±0,08*	0,96±0,07	1,30±0,10
	Нирки		
Контрольні щури	1,53±0,16	0,85±0,07	1,91±0,13
24 год ураження	1,42±0,13	0,78±0,07	1,78±0,16
72 год ураження	1,35±0,12	0,72±0,06	1,72±0,11

У печінці вірогідне зниження ензиму відмічено у кінці експерименту тільки у статевонезрілих тварин (на 29 % нижче від рівня контролю). У двох інших дослідних групах активність ГГТП знижувалась, але зміни не були вірогідними. У нирках усіх вікових груп щурів для даного показника спостерігали тенденцію до його зниження.

Доцільним за умов гіпоксії було дослідити активність ще одного маркерного ензиму – лактатдегідрогенази, підвищення активності якої у сироватці крові свідчить про активацію анаеробного гліколізу, що спостерігається при порушенні аеробного гліколізу. У процесі гіпоксії більшість біохімічних реакцій йдуть за анаеробним типом метаболізму, що зумовлює зростання ЛДГ у сироватці крові (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Активність лактатдегідрогенази у сироватці крові (мккат/л) та органах щурів (мккат/кг) у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	3,75±0,34	5,63±0,54	4,86±0,43
24 год ураження	5,34±0,46*	7,44±0,65	6,71±0,53*
72 год ураження	5,56±0,49*	7,58±0,62	7,01±0,63*
	Печінка		
Контрольні щури	2,53±0,22	2,94±0,25	2,76±0,25
24 год ураження	1,92±0,17	2,43±0,19	2,14±0,22
72 год ураження	1,79±0,16*	2,27±0,29	1,92±0,18*
	Легені		
Контрольні щури	2,91±0,23	3,34±0,26	3,17±0,27
24 год ураження	2,77±0,26	3,27±0,25	3,05±0,30
72 год ураження	2,67±0,20	3,21±0,28	2,96±0,22
	Нирки		
Контрольні щури	2,93±0,22	3,41±0,24	3,24±0,21
24 год ураження	2,55±0,24	3,13±0,27	2,84±0,18
72 год ураження	2,27±0,18	2,94±0,15	2,55±0,16
	Міокард		
Контрольні щури	2,86±0,21	3,25±0,25	3,07±0,24
24 год ураження	2,42±0,20	3,05±0,29	2,74±0,26
72 год ураження	2,27±0,21	2,91±0,25	2,53±0,23

Ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом призвело до вірогідного ( $p \leq 0,05$ ) підвищення активності ензиму у сироватці крові статевонезрілих та старечого віку щурів в обидва терміни дослідження. У кінці експерименту активність ЛДГ у статевонезрілих тварин підвищилась у 1,4 раза, у старечих – в 1,2 раза.

У печінці та нирках щурів усіх вікових груп після ураження токсикантом спостерігали зниження ензимної активності, але вірогідних змін не відмічено.

Отже, отруєння щурів усіх вікових груп натрію нітритом призводило до розвитку деструктивних процесів в організмі, активації цитолітичного синдрому та зміни проникності клітинних мембран, на що вказує дослідження активності органоспецифічних ензимів. Все це зумовлює нагромадження вторинних ендогенних токсинів та поглиблює ендотоксемію. Проведені дослідження зумовили необхідність вивчення рівня проникності та ушкодження мітохондрій, активності ензимів, що забезпечують перебіг біоенергетичних процесів в організмі після ураження, що і покладено в основу наступного підрозділу.

#### 3.4. Дослідження активності біоенергетичних процесів та показників запалення у щурів, уражених натрію нітритом

Важливою ланкою метаболізму є перебіг енергетичних процесів в організмі. Структурно-дистрофічні порушення залежать від глибини енергетичного дефіциту, основного патологічного процесу та компенсаторних реакцій організму. Згідно даних літератури [49, 50, 62, 217] під впливом тканинної гіпоксії відбувається порушення аеробного шляху енергопродукції внаслідок порушення функцій мітохондрій. Про патологічні зміни функцій мітохондрій свідчило порушення активності основних мітохондріальних ензимів сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази.

Встановлено, що після ураження щурів натрію нітритом у печінці, легнях та міокарді щурів знижується активність СДГ (табл. 3.14).

Таблиця 3.14

Активність сукцинатдегідрогенази у печінці, міокарді та легенях (ммоль/кг×год) щурів у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Печінка		
Контрольні щури	33,66±1,20	38,00±1,15	34,66±0,99
24 год ураження	30,33±0,91	35,66±1,20	31,33±1,40
72 год ураження	29,33±1,20*	34,33±0,85*	28,66±1,23*
	Міокард		
Контрольні щури	36,00±0,73	41,66±0,61	37,66±0,61
24 год ураження	34,33±0,91	39,67±1,61	35,33±0,67*
72 год ураження	32,33±0,84*	38,33±1,24	34,00±0,86*
	Легені		
Контрольні щури	28,00±0,73	31,00±0,86	28,67±0,67
24 год ураження	23,33±1,84	29,00±0,68	27,00±0,86
72 год ураження	21,17±1,40*	26,00±1,15*	22,66±0,99*

Чутливим до дії токсиканта виявився міокард статевонезрілих та старечого віку щурів, активність СДГ у якому до кінця експерименту вірогідно знижувалась ( $p \leq 0,05$ ).

У легенях статевонезрілих щурів після ураження натрію нітритом даний показник знизився на 17 % через 24 год від початку експерименту та на 24 % через 72 год з моменту потрапляння до організму токсиканта. Вірогідне зниження активності мітохондріального ензиму відмічено у кінці експерименту для двох інших вікових груп тварин ( у статевозрілих на 16 %, у старечого віку – на 21 %).

Таким чином, можна відмітити, що за ураження щурів натрію нітритом в мітохондріях печінки, міокарду та легень щурів спостерігається зниження активності сукцинатдегідрогенази – ключового ензиму комплексу II дихального ланцюга, що виконує роль посередника між FAD-залежними субстратами та електронотранспортним ланцюгом.

Важливе місце в енергетичному забезпеченні клітини належить цитохромоксидазі – кінцевому ензиму дихального ланцюга, який забезпечує

перенесення електронів від цитохрому на кисень. Цитохромоксидаза векторний ензим внутрішньої мембрани мітохондрій, що відіграє ключову роль в регуляції швидкості окисного фосфорилування та є надзвичайно чутливим до токсикантів різної природи [266, 295].

Ми вивчили активність ЦО в органах щурів після ураження їх натрію нітритом. На рис. 3.7 наведені результати активності ЦО у печінці щурів усіх вікових груп.

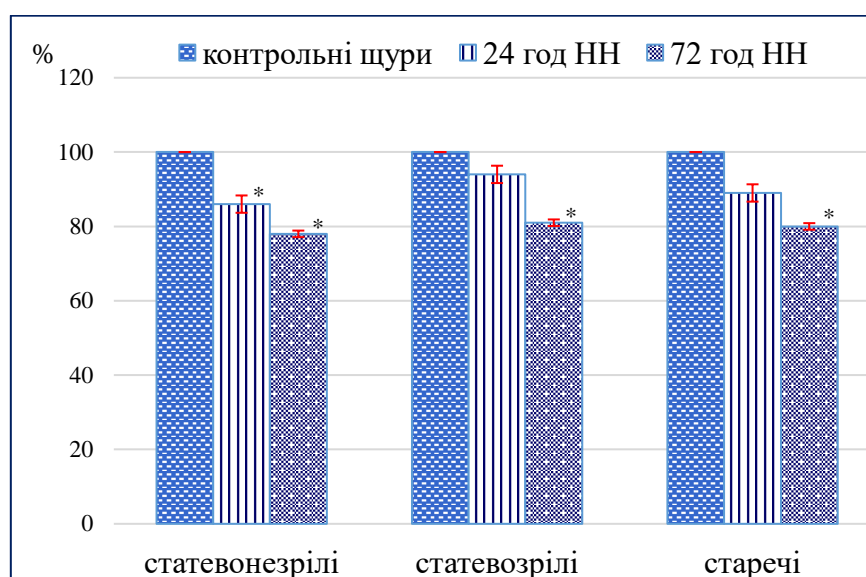


Рис. 3.7. Активність цитохромоксидази у печінці тварин різних вікових груп, уражених натрію нітритом, %

У печінці статевонезрілих тварин активність ЦО через 24 год після отруєння натрію нітритом знизилась на 14 % ( $p \leq 0,05$ ), у статевозрілих на 6 % та у старечих на 11 % ( $p \geq 0,05$ ).

Через 72 год після потрапляння до організму уражених тварин токсиканта ми проаналізували активність ензиму в печінці та відмітили, що наприкінці експерименту активність ЦО знизилась у статевонезрілих щурів на 22 %, у статевозрілих на 19 % та у старечого віку на 20 %. У всіх групах тварин зміни були вірогідними ( $p \leq 0,05$ ). Аналогічне зниження відмічено в легенях та міокарді тварин після отруєння натрію нітритом (табл. 3.15).

У статевонезрілих та старечих щурів спостерігали вірогідне зниження активності ензиму в легенях уже через 24 год після отруєння токсикантом. У



статевозрілих щурів даний показник мав тенденцію до зниження, але він практично мало відрізнявся від контрольних тварин. У всіх вікових групах щурів після ураження натрію нітритом до кінця експерименту активність ЦО знизилась у 1,2 раза. Зниження було вірогідним ( $p \leq 0,05$ ) у порівнянні до контролю.

Таблиця 3.15

Активність цитохромоксидази у легенях та міокарді (ммоль/кг×год) щурів у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Легені		
Контрольні щури	32,03±0,89	34,45±0,66	32,63±0,66
24 год ураження	28,72±0,60*	32,63±0,66	28,71±1,09*
72 год ураження	26,89±0,86*	29,31±0,56*	27,20±0,47*
	Міокард		
Контрольні щури	41,70±1,55	45,93±1,79	38,98±1,30
24 год ураження	36,26±0,81*	42,91±1,11	31,48±0,46*
72 год ураження	34,75±0,56*	40,49±2,13	32,93±1,10*

Після отруєння натрію нітритом чутливим до його дії виявився міокард статевонезрілих та старечих щурів, у якому активність ензиму вірогідно знижувалась у обидва терміни дослідження та в кінці експерименту даний показник був у 1,2 раза нижчим за норму. У міокарді статевозрілих щурів вірогідних змін щодо даного показника не відмічено.

Отже, встановлене зниження сукцинатдегідрогеназної та цитохромоксидазної активностей у органах щурів можуть розглядатися як один із механізмів порушення роботи біотрансформації енергії.

Виявлені нами активація вільнорадикальних процесів, деструкція та порушення цілісності клітинних мембран, пригнічення процесів енергозабезпечення клітин призводять до нагромадження значної кількості токсинів, які поглиблюють ендогенну інтоксикацію, що, в свою чергу, зумовлює розвиток запальних реакцій в організмі.

Первинною ланкою прозапальної та протизапальної відповіді є цитокіни. Саме цитокіни стимулюють утворення та подальший вихід інших вторинних медіаторів, таких як нейропептиди та деривати арахідонової кислоти [113, 359, 362]. Прозапальні цитокіни виробляються переважно активованими макрофагами і беруть участь в регуляції запальних реакцій.

Одним із найважливіших медіаторів гострої фази запалення є ІЛ-6. За різноманітням клітинних джерел продукції та мішеней біологічної дії ІЛ-6 є одним із найбільш активних цитокінів, які беруть участь у реалізації імунної відповіді та запальної реакції. В основі більшості хронічних запалень, незалежно від їх органної належності, лежить порушення балансу між синтезом прозапальних та протизапальних медіаторів. Протизапальні інтерлейкіни, до яких відносять ІЛ-10 та ІЛ-4, здатні зменшувати запальні прояви.

Після отруєння щурів натрію нітритом ми відмітили зростання вмісту ІЛ-6 та зниження вмісту ІЛ-4 у сироватці крові щурів усіх вікових груп (табл. 3.16).

Таблиця 3.16

Вміст прозапального ІЛ-6 та протизапального ІЛ-4 ( пг/л) у сироватці крові щурів у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	прозапальний цитокін ІЛ-6		
Контрольні щури	1,91±0,28	3,00±0,30	4,14±0,17
24 год ураження	2,34±0,15	3,30±0,21	5,47±0,20*
72 год ураження	2,84±0,29*	3,62±0,37	6,27±0,36*
	протизапальний цитокін ІЛ-4		
Контрольні щури	1,98±0,04	1,45±0,04	1,36±0,03
24 год ураження	1,85±0,12	1,41±0,12	1,32±0,12
72 год ураження	1,72±0,13	1,36±0,12	1,28±0,13

У сироватці крові статевонезрілих щурів вміст ІЛ-6 підвищився в 1,2 раза через 24 год після ураження токсикантом і в 1,5 раза через 72 год з моменту потрапляння натрію нітриту в організм ( $p \leq 0,05$ ).

Аналогічні зміни виявились у старечого віку щурів, у сироватці крові яких вміст прозапального цитокіну підвищився в 1,3 раза відразу в перший термін дослідження та в 1,5 раза у кінці експерименту. У сироватці крові статевозрілих щурів щодо цього показника спостерігали тенденцію до підвищення, але вірогідних змін не відмічено.

При вивченні вмісту протизапального цитокіну ІЛ-4 у сироватці крові усіх вікових груп відмічали незначне його зниження, яке максимальним було через 72 год після отруєння, проте зміни виявились невірогідними ( $p \geq 0,05$ ).

Найчутливішим індикатором запальної відповіді є С-реактивний протеїн, який належить до основних протеїнів гострої фази запалення [22, 23]. За умов запалення, інфекції або ушкодження тканини С-реактивний протеїн синтезується переважно гепатоцитами під контролем прозапальних цитокінів – інтерлейкіна-6 (ІЛ-6), ІЛ-1 і TNF $\alpha$  [245, 292]. Доцільним було вивчити вміст даного протеїну у сироватці крові щурів після отруєння їх натрію нітритом. Результати досліджень наведені на рис. 3.8.

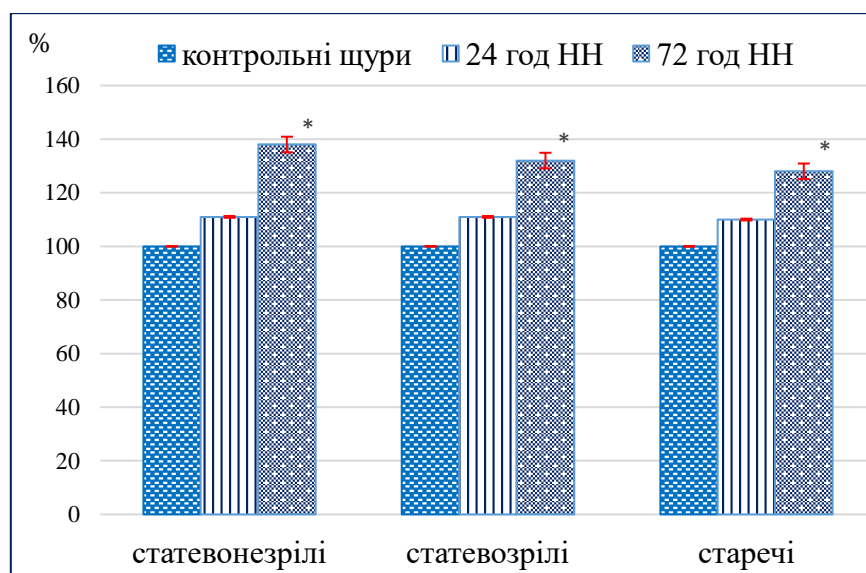


Рис. 3.8. Вміст С-реактивного протеїну у сироватці крові тварин різних вікових груп, уражених натрію нітритом, %

Ураження щурів натрію нітритом викликало збільшення вмісту С-РП у сироватці крові щурів усіх вікових груп на 11 % через 24 год після поступлення токсиканта в організм. Збільшення показника не було вірогідним.

Через 72 год від початку експерименту найбільший вміст С-РП зареєстровано у сироватці крові статевонезрілих щурів, який на 38 % перевищував рівень інтактного контролю. У статевозрілих щурів цей показник виявився на 32 % вище контролю, у старечого віку – на 28 %.

Отже, ураження щурів усіх вікових груп натрію нітритом призводило до розвитку запальних процесів в організмі щурів, що підтверджено підвищеним вмістом С-РП, який є вторинним регулятором синдрому системної запальної відповіді. Синтез останнього запускається та контролюється певними медіаторами, в першу чергу цитокінами. Підтвердженням цього є підвищений вміст у сироватці крові уражених щурів прозапального цитокіну ІЛ-6 та знижений вміст протизапального цитокіну ІЛ-4. Найбільш виражені зміни в показниках, які є маркерами запалення, спостерігали у статевонезрілих щурів, статевозрілі щури були більш стійкими до дії токсиканта.

### 3.5. Зміни активності NO-синтазної системи у щурів різного віку, уражених натрію нітритом

З оксидативним стресом, який посилюється під впливом токсикантів, тісно пов'язаний нітрооксидативний стрес. Він розвивається в результаті дії активних метаболітів нітроген оксиду та разом з оксидативним стресом призводить до пошкодження мембран клітин. За останні роки дуже активно вивчається роль NO, як одного із важливих регуляторних медіаторів дихальної системи [50, 64, 109, 119]. NO – це високореактивний радикал, який легко проникає через зовнішню та внутрішню мембрани клітин і, опиняючись всередині, здатний пошкоджувати клітинну структуру та ДНК [135, 139]. NO продукується багатьма клітинами організму людини: ендотеліальними, альвеолярними макрофагами, опасистими клітинами тощо [143]. Слід відзначити, що у високих концентраціях NO виявляє не регуляторну, а цитотоксичну дію, що зумовлює прискорене прогресування запальних та

автоімунних порушень [143, 161, 274, 284, 308]. Це було нами показано в попередньому підрозділі.

Нами досліджено вміст нітрит-іону у сироватці крові та органах щурів різного віку після ураження їх натрію нітритом. З таблиці 3.17 видно, що в сироватці крові щурів усіх дослідних груп вміст нітрит-іону збільшувався однаково і до кінця експерименту перевищував норму в 1,1-1,2 раза, що не було вірогідним ( $p \geq 0,05$ ).

Таблиця 3.17

Вміст нітрит-іону у сироватці крові (нмоль/л), печінці, міокарді та легенях (нмоль/кг) щурів у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	10,00±0,46	8,20±0,74	8,80±0,56
24 год ураження	10,80±0,42	9,10±0,21	9,80±0,23
72 год ураження	11,40±0,41	9,80±0,25	10,10±0,29
	Печінка		
Контрольні щури	7,60±0,22	3,20±0,16	9,90±0,39
24 год ураження	8,30±0,20	3,60±0,23	10,30±0,30
72 год ураження	9,00±0,33*	3,90±0,26	10,70±0,30
	Міокард		
Контрольні щури	2,20±0,14	1,60±0,16	1,80±0,15
24 год ураження	2,70±0,24	1,80±0,11	2,20±0,14
72 год ураження	3,00±0,14*	2,00±0,14	2,90±0,10*
	Легені		
Контрольні щури	1,30±0,14	1,00±0,11	1,70±0,19
24 год ураження	1,90±0,24	1,50±0,15	2,00±0,11
72 год ураження	2,40±0,22*	1,70±0,10*	2,80±0,14*

У печінці щурів усіх вікових груп спостерігали тенденцію до підвищення вмісту нітрит-іону, максимальний вміст якого зареєстровано у кінці експерименту (через 72 год з моменту ураження). У статевонезрілих щурів підвищення даного показника виявилось вірогідним порівняно з рівнем контрольних тварин, у двох інших групах вірогідного підвищення не відмічено.

Після отруєння щурів статевонезрілого та старечого віку в міокарді вміст нітрит-іону перевищував норму у 1,4 та 1,6 раза відповідно в останній термін дослідження. У міокарді статевозрілих щурів даний показник на 25 % був вищим від рівня контрольних тварин через 72 год після отруєння токсикантом.

Найвираженіші зміни вмісту нітрит-іону спостерігали у легенях усіх вікових груп у кінці експерименту. У статевонезрілих щурів він підвищився в 1,8 раза, у статевозрілих у 1,7 раза та у старечого віку – в 1,6 раза ( $p \leq 0,05$ ) після отруєння натрію нітритом. Враховуючи шлях виведення нітритів із організму, ми визначили вміст нітрит-іону у нирках щурів різного віку після ураження їх натрію нітритом. Результати наведені на рис. 3.9.

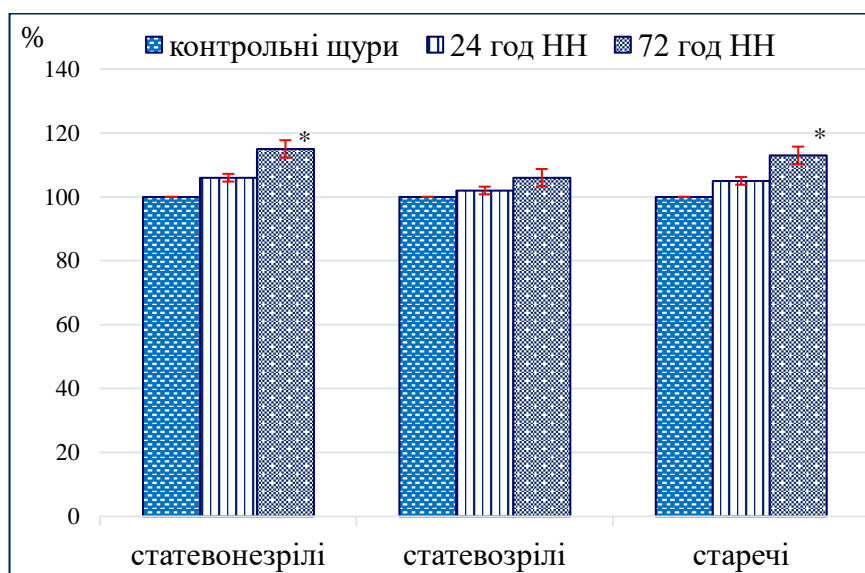


Рис. 3.9. Вміст нітрит-іону у нирках тварин різних вікових груп, уражених натрію нітритом, %

Найчутливішими до дії натрію нітриту виявились статевонезрілі тварини, у нирках яких вміст нітрит-іону збільшувався поступово та через 72 год після ураження перевищив норму на 15 %. У старечого віку щурів цей показник перевищив рівень контрольних тварин на 13 %. В обидвох групах підвищення було вірогідним ( $p \leq 0,05$ ). У статевозрілих щурів зміни не були вираженими.

Отже, після ураження щурів натрію нітритом відбувається збільшення у всіх органах вмісту нітрит-іону, який утворюється шляхом відновлення нітритів у редуказних реакціях. Оскільки нітрит-аніон та нітрат-іон є стабільними метаболітами нітроген оксиду, за їх кількістю можна робити висновок про утворення NO – поліфункціональної біорегуляторної молекули.

У попередніх підрозділах нами показано, що отруєння щурів натрію нітритом призводило до розвитку запальних процесів у організмі, на що вказував дисбаланс у вмісті про- та протизапальних цитокінів з переважанням вмісту прозапального цитокіну IL-6 у сироватці крові після ураження.

Доцільним за даних умов було вивчити активність iNO-синтази в групах щурів усіх вікових груп. Після ураження натрію нітритом відмічено збільшення активності даного ензиму в сироватці крові тварин усіх дослідних груп (табл. 3.18).

Таблиця 3.18

Активність iNOS та eNOS (нг/мл) у сироватці крові щурів у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	індуцибельна NOS		
Контрольні щури	13,16±0,95	18,84±1,93	14,86±1,27
24 год ураження	18,27±1,84*	21,27±1,32	19,78±1,53*
72 год ураження	25,26±2,37*	24,41±2,03	22,78±1,80*
	ендотеліальна NOS		
Контрольні щури	2,23±0,18	2,89±0,22	2,36±0,16
24 год ураження	1,41±0,09*	2,46±0,14	1,86±0,13*
72 год ураження	1,26±0,09*	2,27±0,20	1,71±0,13*

Найчутливішими до дії токсиканта виявились статевонезрілі щури, у яких активність iNOS через 24 год після ураження підвищилась на 40 %, через 72 год – на 92 % (рис. 3.10). У статевозрілих щурів підвищення активності ензиму у сироватці крові становило 13 % у перший термін дослідження і 29 % у кінці експерименту. Вірогідне підвищення ( $p \leq 0,05$ ) даного показника було у старечого віку щурів і до кінця дослідження активність iNOS у сироватці крові даної групи тварин на 53 % перевищувала норму.

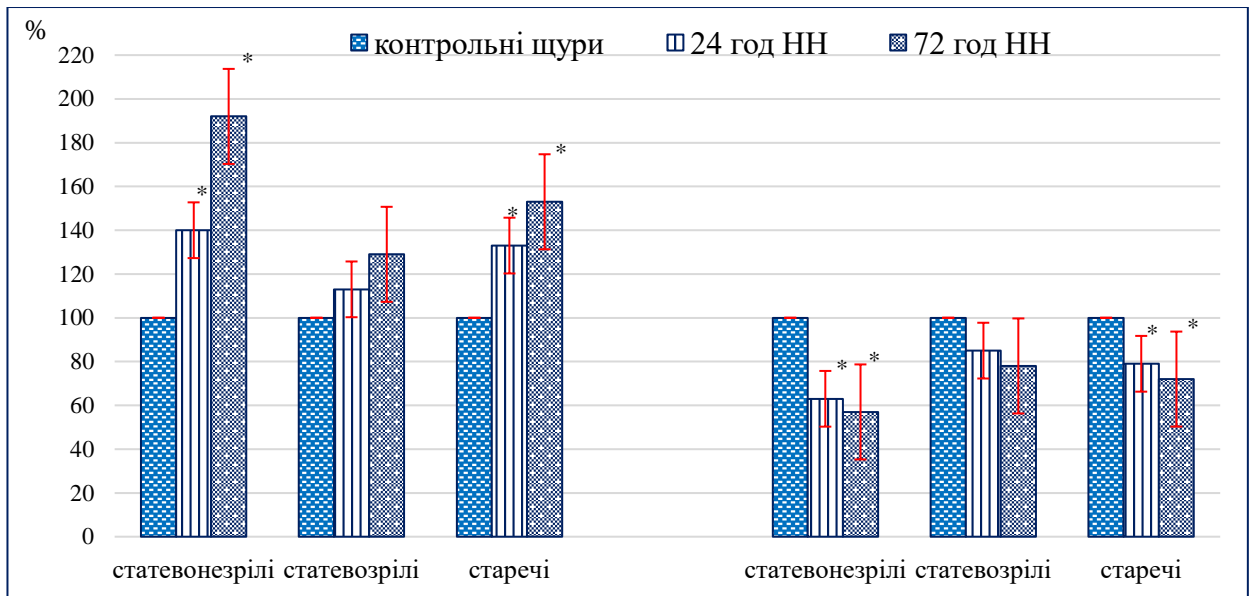


Рис. 3.10. Активність iNOS та eNOS у сироватці крові тварин різних вікових груп, уражених натрію нітритом, %

Доцільним за даних умов виявилось дослідження активності eNO-синтази, яка за фізіологічних умов активно каталізує утворення ендогенного нітроген оксиду [459, 465].

Визначення активності eNOS у сироватці крові статевонезрілих щурів показало вірогідне зниження її в обидва терміни дослідження. До кінця експерименту даний показник знаходився на рівні 57 % щодо контролю. У статевозрілих щурів спостерігалась тенденція до зниження активності даного ензиму і через 72 год з моменту потрапляння в організм натрію нітриту вона 22 % була нижчою від рівня контрольних тварин. У старечого віку щурів відмічено вірогідне зниження активності eNOS ( $p \leq 0,05$ ) в обидва терміни дослідження.

Після ураження щурів натрію нітритом у наших експериментах відмічали підвищення активності iNOS та зниження активності eNOS у печінці всіх вікових груп щурів (табл. 3.19).

Вірогідне підвищення ( $p \leq 0,05$ ) активності iNOS відмічали як через 24 год, так і після 72 год з моменту отруєння натрію нітритом у печінці статевонезрілих та старечого віку щурів. У кінці експерименту активність



ензиму у печінці статевонезрілих щурів перевищувала норму в 2,3 раза, у старечих – в 1,9 раза.

Таблиця 3.19

Активність iNOS та eNOS (нг/мл; 1 мл –  $10^6$  клітин печінки ) у печінці щурів у динаміці ураження натрію нітритом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	індуцибельна NOS		
Контрольні щури	2,38±0,18	4,02±0,36	2,75±0,24
24 год ураження	4,88±0,39*	4,56±0,38	4,48±0,36*
72 год ураження	5,41±0,43*	4,96±0,36	5,33±0,48*
	ендотеліальна NOS		
Контрольні щури	3,26±0,26	4,11±0,19	3,42±0,23
24 год ураження	1,41±0,15*	3,87±0,17	1,63±0,10*
72 год ураження	1,14±0,06*	3,65±0,12	1,25±0,08*

У печінці щурів усіх вікових груп впродовж експерименту вірогідно знижувалась активність eNOS і найменшого значення досягла в останній термін дослідження (72 год після ураження натрію нітритом). У цей період у печінці статевонезрілих щурів даний показник знизився у 2,9 раза, статевозрілих у 1,1 раза та старечого віку – у 2,7 раза, що може свідчити про втягнення в патологічний процес печінки (порушення її білоксинтезувальної функції).

NO-синтази вважають біфункціональними ензимами, оскільки вони активують кисень і, «зв'язуючи» його з гуанідиновим нітрогеном L-аргініну, вивільняють NO. Хоча всі ізоформи NOS виконують одну й ту ж функцію, каталізують утворення NO, дві ізоформи NOS, нейрональна та ендотеліальна, постійно та стабільно наявні в клітинах та тканинах. На відміну від них третя ізоформа (iNOS) проявляє свою активність у відповідь на розвиток патологічних процесів, після її стимулювання ендотоксинами чи цитокінами [493, 514, 515], що і було підтверджено у наших дослідженнях.

Результати досліджень, наведені у даному розділі, дозволяють зробити наступні висновки:

1. Ураження тварин різного віку натрію нітритом викликало активацію вільнорадикальних процесів, що підтверджено збільшенням в органах вмісту продуктів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, а також посиленням процесу метгемоглобіноутворення, зниженням активності захисно-компенсаторних можливостей, про що свідчать зменшення супероксиддисмутазної та каталазної активностей, вмісту відновленого глутатіону. Найвираженіші зміни відмічено в організмі статевонезрілих щурів.

2. Активація окиснювальних процесів в організмі тварин під впливом натрію нітриту призвела до утворення значної кількості вторинних ендогенних токсичних продуктів (збільшується вміст молекул середньої маси) та зміни проникності мембран гепатоцитів, кардіоцитів та еритроцитів, що підтверджено підвищенням активностей амінотрансфераз, гама-глутамілтранспептидази у сироватці крові, збільшенням відсотку проникності мембрани еритроцитів, зниженням активності органоспецифічних ензимів у органах щурів. Найбільш виражене поглиблення ендогенної інтоксикації, а також ступінь деструктивних процесів спостерігалось у статевонезрілих та старечого віку щурів.

3. Отруєння щурів натрію нітритом призвело до зменшення енергозабезпечення тканин, про що свідчило зниження активностей мітохондріальних ензимів – сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази в печінці, легенях та міокарді уражених щурів. Потрапляння в організм щурів натрію нітриту зумовлювало розвиток запальних процесів в організмі, що підтверджено підвищенням вмісту С-реактивного протеїну у сироватці крові (у статевонезрілих тварин на 38 % перевищував рівень контролю через 72 год після отруєння) та вмісту прозапального цитокіну ІЛ-6 (у статевонезрілих та старечого віку щурів перевищив рівень контрольних тварин у 1,5 раза у кінці експерименту).

4. Ураження щурів різного віку натрію нітритом викликало розвиток нітрооксидативного стресу, на що вказувало підвищення активності індукцибельної NO-синтази та зниження ендотеліальної ізоформи ензиму в печінці та сироватці крові тварин після отруєння, а також збільшення вмісту нітрит-іону у всіх органах. Найбільш чутливими до дії токсиканта виявились щури статевонезрілого та старечого віку, в яких зміни активностей ензимів були вірогідними ( $p \leq 0,05$ ) впродовж усього експерименту.

Наведені в цьому підрозділі результати досліджень опубліковано в наступних наукових працях:

1. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Бурмас НІ, Кернична ІЗ. Стан клітинних мембран щурів різного віку за умов ураження нітритом натрію. Медична хімія. 2011;1(46):74-77.

2. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Підгірний ВВ. Динаміка активності вільнорадикальних процесів в органах щурів різних вікових груп після інтоксикації нітритом натрію. Актуальные проблемы транспортной медицины. 2014;3(37):139-145.

3. Лихацький ПГ, Показники антиоксидантної системи щурів різних вікових груп при ураженні нітритом натрію. В: Фіра ЛС, Грималюк ОІ. Матеріали наук.-практ. конф. Здобутки клінічної та експериментальної медицини; 2012 Квіт 17-18; Тернопіль. Тернопіль: ДВНЗ «ТДМУ»; 2012, с. 191.

4. Лихацький ПГ, Перебіг процесів вільнорадикального окиснення у щурів різного віку за умов нітритної інтоксикації. В: Фіра ЛС, Іванець ЛМ. Матеріали III Всеукраїнської наук.-практ. конф. Хімія природних сполук; 2012 Жовт 30-31; Тернопіль. Тернопіль: ДВНЗ «ТДМУ»; 2012, с. 84.

5. Lyhatskiy PG, Fira LS. 7th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry. Age-related changes in the protection systems of rats organism after the intoxication by sodium nitrite; 2013 May 23-24; Lviv, Львів: Львів.Нац.мед.ун-т ім. Данила Галицького; 2013.

6. Лихацький ПГ, Вплив нітриту натрію на розвиток вільнорадикальних процесів в організмі щурів різних вікових груп. В: Фіра ЛС. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю Бабенківські читання; 2013 Жовт 24-25; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ДВНЗ «Ів-ФДМУ»; 2013, с.47.

7. Лихацький ПГ, Вміст активних форм кисню у щурів різних вікових груп за умов нітритного отруєння. В: Фіра ЛС, Трохимчук НБ, редактор. Медична хімія. 2014;3(16):123.

8. Лихацький ПГ, Зміни деяких показників антиоксидантного захисту в органах старечих щурів за умов нітритної інтоксикації. В: Фіра ЛС. Матеріали XI Українського біохімічного конгресу; 2014 Жовт 06-10; Київ. Київ: Нац.акад.наук України «Ін-т біохімії ім. О.О. Палладіна Нац.академії наук України», 5(86)(дод.2): Укр. біох. журн., 2014, с. 96.

9. Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Вікові аспекти біохімічної оцінки ступеня інтоксикації за умов нітритного отруєння. Інформ. лист. 2015; №128:1-4.

## РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ ТЮТЮНОВОГО ДИМУ НА МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ В  
ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ  
(експериментальне дослідження)

В останні десятиліття все більша увага приділяється вивченню впливу тютюнового диму на організм. Вважають, що токсичний вплив тютюнового диму здійснюється за рахунок синергічної дії його компонентів [75, 172, 263, 275, 392]. Тютюнопаління негативно впливає не лише на осіб, які курять самі, так званих «активних» курців, а й на інших людей, що вдихають тютюновий дим із навколишнього середовища. Негативний вплив тютюнового диму на тих, хто не палить, особливо дітей, підвищує ризик передчасної смерті від онкологічних, серцево-судинних, респіраторних та інших захворювань [51, 57, 309]. Аналіз даних національного опитування показує, що більшість населення України (53 %) принаймні щодня відчуває на собі вплив тютюнового диму [61, 65, 66].

З огляду на значну поширеність тютюнопаління у сучасному світі, доцільним було вивчити вплив тютюнового диму на організм тварин різного віку та виявити порушення метаболізму за даних умов.

## 4.1. Оксидативний стрес в організмі щурів різного віку після ураження тютюновим димом

Відомо, що виникнення патологічних процесів в організмі, викликаних різними ендогенними та екзогенними чинниками, призводить до розвитку окиснювального стресу в результаті надмірного утворення АФО, що супроводжувалося порушенням балансу у системі «оксиданти-антиоксиданти» та функціональними змінами у системі антиоксидантного захисту [127, 133, 135, 145, 149]. Значна кількість АФО генерується переважно при окиснювальному фосфорилуванні в мітохондріях [202, 240]. Разом із тим, в пероксисомах і мікросомах утворюються супероксид-аніон радикал,

гідроген пероксид та інші активні форми кисню [263, 268, 280, 291]. АФО, за умов їх надмірного продукування, здатні реагувати з ліпідами, призводячи до утворення їх пероксидів, із протеїнами та ДНК, що може супроводжуватися їх модифікаціями та в кінцевому результаті призводити до порушення функцій клітин [297, 300, 317].

За умов значного продукування АФО, яке переважає швидкість їх детоксикації, можуть відбуватися структурні, метаболічні та функціональні порушення у різних клітинах. При вираженому тривалому стресі, особливо за розвитку патологічних процесів вміст АФО у клітинах підвищується і, при їх надлишку пригнічується спроможність захисних систем клітин, що може призводити до їх загибелі [323, 329, 336, 346].

Результати визначення вмісту АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів різних вікових груп після 15-, 30- та 45-добового впливу на них тютюнового диму наведені у таблиці 4.1

Таблиця 4.1

Вміст АФО (ум.од.) у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів різного віку, уражених тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	15,06±0,71	18,47±0,22	19,87±0,86
15 доба ТД	17,19±0,83*	28,58±2,53*	25,38±1,95*
30 доба ТД	39,25±1,29*	29,54±0,50*	41,89±0,78*
45 доба ТД	41,52±2,37*	30,63±0,66*	48,32±0,57*

Примітка. Тут і в наступних таблицях даного розділу \* – вірогідні зміни між показником контрольних та уражених натрію нітритом тварин.

Встановлено, що ураження щурів різного віку тютюновим димом призводило до розвитку оксидативного стресу. Підтвердженням цього є посилене утворення АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові усіх досліджуваних вікових груп тварин. Більше того, виявлено, що продукування АФО залежить не тільки від віку тварин, але і від тривалості дії тютюнового

димув. Так, на 15-ту добу ураження димом вміст АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові усіх вікових груп тварин збільшився практично в 1,5 раза. У нейтрофільних гранулоцитах крові всіх вікових груп вміст АФО на 30-ту добу вірогідно зростав у порівнянні з контрольними тваринами. Найбільш виражені зміни вмісту АФО спостерігали у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів на 45-ту добу ураження тютюновим димом, у статевонезрілих тварин збільшення було у 2,8 раза, у старечого віку — у 2,4 раза, у статевозрілих — у 1,7 раза щодо контролю.

Отримані дані свідчать про те, що статевонезрілі та старі щури є більш уразливими до дії тютюнового диму, що може бути наслідком порушення систем знешкодження АФО та пригнічення адаптаційної здатності тварин. Разом із тим, найбільш стійкими до утворення АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові виявилися статевозрілі щури. Це може свідчити про їх достатньо високу здатність до знешкодження АФО. За таких же умов у статевонезрілих та старечого віку щурів адаптаційні можливості знижені. Виявлене нами збільшення вмісту АФО у нейтрофільних гранулоцитах, очевидно, може відбуватися як за рахунок газової, так і смолової фаз тютюнового диму, а також за дії інших його компонентів. Посилене утворення АФО відбувається за рахунок смоли сигарет, у якій є висока концентрація стабільних вільних радикалів, зокрема семіхінонів (QH<sup>•</sup>) [202, 378, 379, 397, 402, 417].

Значне збільшення вмісту АФО, відмічене нами після отруєння тварин тютюновим димом, призвело до інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення, зокрема ліпопероксидації. Вміст одного із показників перекисного окиснення ліпідів, ТБК-АП, вірогідно збільшувався як у сироватці крові, так і в печінці щурів після інтоксикації тютюновим димом (табл. 4.2).

У сироватці крові статевонезрілих тварин на 15-ту добу інтоксикації даний показник підвищився на 30 %. Інші вікові групи у цей період виявились найчутливішими. Вміст ТБК-АП у сироватці крові зріс на 87 % у статевозрілих тварин та на 58 % у старечого віку тварин ( $p \leq 0,05$ ). Інтоксикація тютюновим

димом впродовж 45-ти діб призвела до значної активації процесів ліпопероксидації, що проявлялося вірогідним підвищенням вмісту ТБК-АП у сироватці крові тварин усіх дослідних груп (у статевонезрілих щурів даний показник збільшився у 2 рази, у статевозрілих у 2,1 рази, у старечого віку – в 1,8 рази).

Таблиця 4.2

Вміст ТБК-АП у сироватці крові (мкмоль/л), печінці, легенях та міокарді (мкмоль/кг) щурів в динаміці ураження тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	3,28±0,23	1,85±0,14	2,35±0,14
15 доба ТД	4,28±0,31	3,47±0,29*	3,71±0,28*
30 доба ТД	4,85±0,36*	4,28±0,31*	4,42±0,28*
45 доба ТД	6,62±0,08*	3,94±0,27*	4,23±0,17*
	Печінка		
Контрольні щури	15,49±1,28	14,42±0,71	16,55±0,98
15 доба ТД	18,69±1,28	23,50±1,35*	25,12±2,09*
30 доба ТД	30,86±1,55*	28,73±0,78*	29,06±1,46*
45 доба ТД	49,66±3,38*	26,49±1,51*	29,69±2,39*
	Легені		
Контрольні щури	18,66±0,60	21,82±1,51	21,36±2,13
15 доба ТД	21,47±0,79	34,18±2,29*	39,53±1,97*
30 доба ТД	32,48±1,08*	40,92±1,22*	42,30±1,53*
45 доба ТД	44,87±2,34*	43,69±3,61*	48,61±2,17*
	Міокард		
Контрольні щури	9,72±0,65	13,35±0,98	13,35±1,28
15 доба ТД	18,16±1,58*	14,95±0,67	17,09±1,58
30 доба ТД	24,23±1,20*	21,79±1,03*	25,10±1,04*
45 доба ТД	33,33±2,34*	24,04±1,52*	22,11±1,25*

У печінці усіх груп тварин спостерігалась аналогічна тенденція до підвищення досліджуваного продукту ПОЛ у всі терміни експерименту. До кінця інтоксикації тютюновим димом (на 45-ту добу дослідження) відмічено зростання вмісту ТБК-АП у печінці статевозрілих та старечого віку тварин у



1,8 раза відповідно. Статевонезрілі тварини виявились більш чутливими до даного показника та вміст проміжного продукту ПОЛ зріс у 3,2 раза в досліджуваному органі. Можливо, це пов'язано з недостатньою активністю знешкоджувальної функції печінки, зокрема процесів мікосомального окиснення та зниження активності ензимів, які беруть у ньому участь.

У динаміці ураження тютюновим димом у легенях щурів усіх вікових груп вірогідно зростав вміст ТБК-АП ( $p \leq 0,05$ ) і до кінця експерименту (45-та доба ураження) у статевонезрілих тварин у 2,4 раза перевищував норму, у статевозрілих – у 2 рази, у старечого віку – у 2,3 раза.

Аналогічне підвищення даного показника відмічено у міокарді щурів, уражених тютюновим димом. Найчутливішим до дії токсиканта виявився міокард статевонезрілих щурів, вміст ТБК-АП у якому уже через 15 діб перевищував рівень контрольних тварин у 1,9 раза, тоді як у статевозрілих досліджуваний показник був в 1,1 раза вище контролю, у старечого віку – в 1,3 раза. До кінця експерименту (через 45 діб від початку ураження) у міокарді статевонезрілих щурів вміст продукту ліпопероксидації збільшився в 3,4 раза, у статевозрілих та старечого віку щурів – в 1,6 раза.

Ми дослідили активність процесів ліпопероксидації у нирках щурів після ураження тютюновим димом і відмітили, що в усіх вікових групах даний показник збільшувався впродовж усіх термінів експерименту (рис. 4.1).

Отже, статевонезрілі тварини виявились чутливішими стосовно даного показника. Можливо, це пов'язано з порушеннями знешкоджувальної функції печінки саме у тварин цієї вікової категорії.

Вміст ТБК-АП найбільшого значення досяг у нирках статевонезрілих щурів, що в 1,5 раза був вищим від контролю через 15 діб дослідження, 1,6 раза – через 30 діб від початку експерименту та 1,7 раза в останній термін дослідження. У статевозрілих щурів даний показник у нирках був найвищим до кінця експерименту і в 1,6 раза перевищував рівень контрольних тварин. Ураження тютюновим димом призвело до максимального підвищення вмісту

продуктів ліпопероксидації у нирках старечого віку щурів на 45-ту добу експерименту (на 64 % перевищував норму).

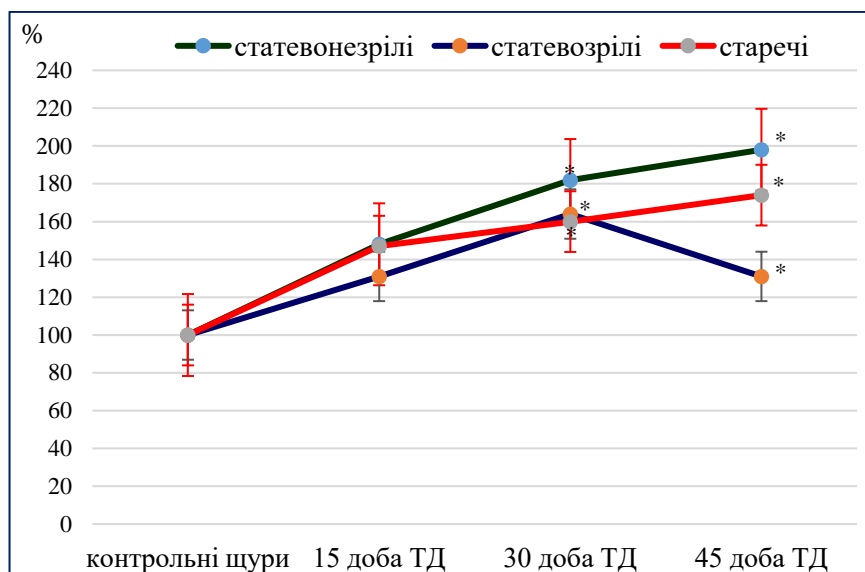


Рис. 4.1. Вміст ТБК-активних продуктів у нирках щурів різного віку, уражених тютюновим димом, %

Примітка. Тут і в наступних рисунках даного розділу \* – вірогідні зміни між показником контрольних та уражених тютюновим димом тварин.

Активація процесів вільнорадикального окиснення призводить до дії АФО та токсичних продуктів метаболізму на протеїнові компоненти мембран та інші протеїни організму, що викликає їх деградацію та зміни у структурі. Вважають, що ОМП відіграє ключову роль у молекулярних механізмах оксидативного стресу та є пусковим механізмом до окислювальної деструкції інших молекул, наприклад, ліпідів і нуклеїнових кислот [220, 458, 505].

Під час дослідження окисної модифікації протеїнів в організмі щурів нами встановлено підвищення вмісту 2,4-ДНФГ нейтрального характеру в сироватці крові та органах тварин усіх вікових груп після ураження їх тютюновим димом (табл. 4.3).

У сироватці крові даний показник зростав у всіх вікових групах: у статевонезрілих тварин він перевищував норму в 1,4 раза через 15 діб від початку експерименту, в 1,7 раза через 30 діб після ураження і в 3,6 раза в останній термін дослідження.

Таблиця 4.3

Вміст 2,4 -динітрофенілгідразонів нейтрального характеру в сироватці крові та органах (мкмоль/г протеїну) щурів, уражених тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	0,037±0,002	0,020±0,001	0,030±0,001
15 доба ТД	0,053±0,001*	0,033±0,001*	0,047±0,005*
30 доба ТД	0,064±0,001*	0,046±0,001*	0,062±0,002*
45 доба ТД	0,124±0,005*	0,065±0,006*	0,107±0,002*
	Печінка		
Контрольні щури	0,101±0,003	0,072±0,001	0,083±0,002
15 доба ТД	0,134±0,013	0,096±0,003*	0,107±0,009
30 доба ТД	0,168±0,003*	0,109±0,001*	0,139±0,001*
45 доба ТД	0,182±0,002*	0,137±0,002*	0,157±0,003*
	Легені		
Контрольні щури	0,039±0,001	0,028±0,001	0,035±0,001
15 доба ТД	0,050±0,005	0,034±0,002*	0,050±0,005
30 доба ТД	0,085±0,001*	0,051±0,001*	0,060±0,001*
45 доба ТД	0,106±0,001*	0,061±0,001*	0,084±0,001*
	Міокард		
Контрольні щури	0,074±0,001	0,057±0,001	0,068±0,001
15 доба ТД	0,088±0,007	0,084±0,002*	0,098±0,04*
30 доба ТД	0,126±0,003*	0,109±0,001*	0,117±0,001*
45 доба ТД	0,159±0,002*	0,124±0,001*	0,143±0,002*
	Нирки		
Контрольні щури	0,045±0,001	0,030±0,001	0,041±0,002
15 доба ТД	0,055±0,004	0,033±0,002	0,050±0,003
30 доба ТД	0,086±0,003*	0,041±0,002*	0,066±0,002*
45 доба ТД	0,102±0,002*	0,054±0,002*	0,092±0,001*

Ураження щурів тютюновим димом впродовж 15 діб призвело до зростання у печінці вмісту продуктів ОМП нейтрального характеру в усіх вікових групах у 1,3 раза. Через 30 діб після інтоксикації димом вміст даного показника в печінці статевонезрілих та старечого віку тварин зріс у 1,7 раза, у

статевозрілих – в 1,5 раза. До кінця експерименту вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру в печінці статевонезрілих тварин перевищував норму в 1,8 раза, у статевозрілих та старечих – в 1,9 раза.

Аналогічне підвищення даного показника спостерігали у легенях щурів після ураження тютюновим димом. У терміні 30-та та 45-та доба підвищення вмісту даного продукту в легенях було вірогідним ( $p \leq 0,05$ ) у всіх дослідних групах. В останній термін дослідження вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру у легенях статевонезрілих щурів був у 1,7 раза вищим за норму, у статевозрілих – у 1,2 раза, у старечих – у 1,4 раза. Найбільш чутливими до даного показника виявились легені статевонезрілих щурів.

Після 45-добового отруєння тютюновим димом у міокарді щурів усіх вікових груп прогресуюче зростає вміст продуктів ОМП нейтрального характеру (рис. 4.2).

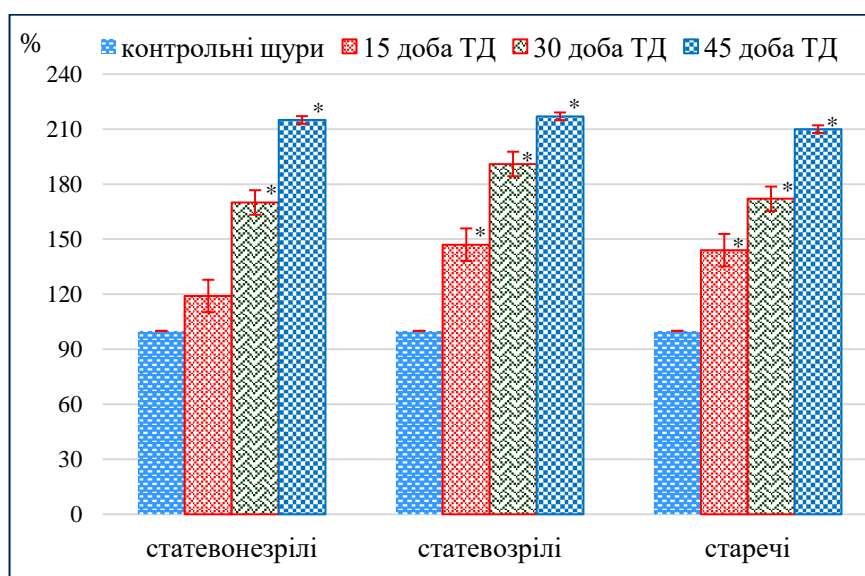


Рис. 4.2. Вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру у міокарді щурів різного віку, уражених тютюновим димом, %

До кінця експерименту (45-та доба ураження ТД) вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру в міокарді виявився практично на одному рівні і перевищував рівень контрольних щурів у 1,1-1,2 раза.

Ми дослідили даний показник у нирках щурів після ураження і виявили, що 15-добове отруєння тютюновим димом викликало збільшення вмісту 2,4-ДНФГ, але воно не було вірогідним порівняно до групи контрольних

тварин. Через 30 та 45 діб інтоксикації ТД даний показник вірогідно підвищувався та досяг максимального значення до кінця експерименту: у нирках статевонезрілих щурів збільшився в 2,3 раза, статевозрілих – у 1,8 раза та у старечого віку – в 2,2 раза.

Нами було вивчено вміст 2,4-ДНФГ основного характеру в сироватці крові та органах токсикованих димом щурів. Результати дослідження наведені у таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

Вміст 2,4-динітрофенілгідразонів основного характеру в сироватці крові, печінці та легенях (мкмоль/г протеїну) щурів, уражених тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	0,013±0,001	0,010±0,001	0,012±0,001
15 доба ТД	0,024±0,001*	0,015±0,001	0,023±0,002*
30 доба ТД	0,034±0,002*	0,021±0,002*	0,030±0,002*
45 доба ТД	0,049±0,001*	0,028±0,001*	0,046±0,003*
	Печінка		
Контрольні щури	0,042±0,001	0,026±0,001	0,041±0,001
15 доба ТД	0,047±0,002	0,029±0,002	0,047±0,004
30 доба ТД	0,054±0,002*	0,038±0,003*	0,049±0,002*
45 доба ТД	0,071±0,002*	0,049±0,001*	0,061±0,003*
	Легені		
Контрольні щури	0,030±0,001	0,019±0,001	0,027±0,002
15 доба ТД	0,032±0,003	0,022±0,002	0,029±0,002
30 доба ТД	0,042±0,003*	0,030±0,003*	0,035±0,002*
45 доба ТД	0,054±0,001*	0,036±0,003*	0,042±0,003*

У сироватці крові щурів різних вікових груп у динаміці отруєння тютюновим димом зростав вміст 2,4-ДНФГ основного характеру: у статевонезрілих у 1,8 раза, 2,6 та 3,8 раза відповідно через 15, 30, та 45 діб інтоксикації.

У старечого віку щурів даний показник перевищував норму в 1,9 раза, 2,5 та 3,8 раза відповідно до термінів ураження. Найменш вираженим збільшення вмісту 2,4-ДНФГ було у статевозрілих тварин – до кінця експерименту вміст продуктів ОМП перевищував рівень контрольних щурів у 2,8 раза ( $p \leq 0,05$ ).

Аналогічне підвищення вмісту продуктів ОМП спостерігали у печінці та легенях уражених щурів. В обидвох органах вміст 2,4-ДНФГ до кінця експерименту вірогідно зростав. У печінці та легенях щурів статевонезрілого віку показник перевищував норму в 1,7 та 1,8 раза відповідно. У статевозрілих щурів в обидвох органах вміст продуктів ОМП зріс у 1,9 раза, у старечого віку в 1,5 раза у печінці та 1,6 раза у легенях після 45-добового отруєння ТД.

Після ураження тютюновим димом спостерігали підвищення досліджуваного нами показника у нирках (рис. 4.3) та міокарді (рис. 4.4) щурів різного віку.

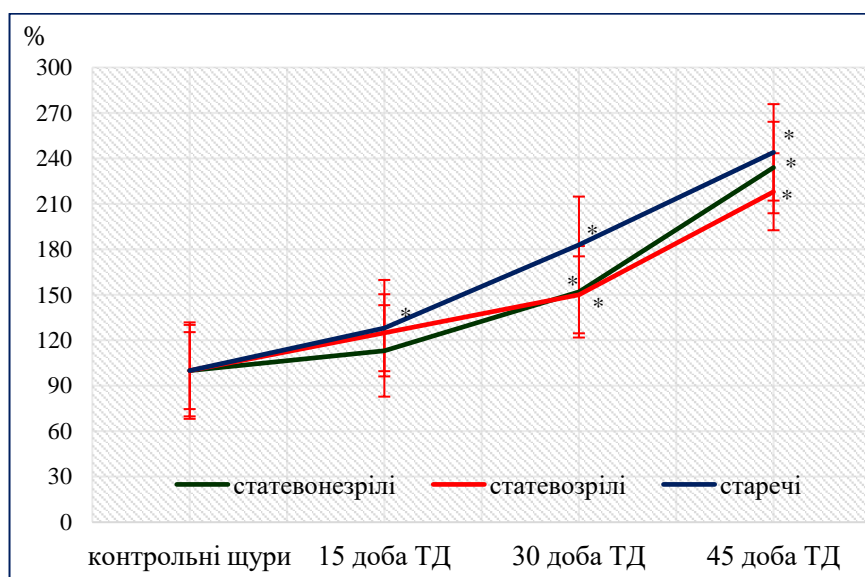


Рис. 4.3. Вміст 2,4-ДНФГ основного характеру у нирках щурів різного віку, уражених тютюновим димом, %

Найбільш вразливими до дії токсиканта виявились нирки щурів старечого віку щурів, у яких вміст 2,4-ДНФГ основного характеру зростав у 1,3 раза на 15-ту добу отруєння та у 2,4 раза у кінці експерименту (45-та доба після ураження ТД). У статевонезрілих щурів досліджуваний показник у цей

термін (45-та доба дослідження) збільшився у 1,3 раза щодо рівня контрольних тварин, у статевозрілих – у 1,2 раза.

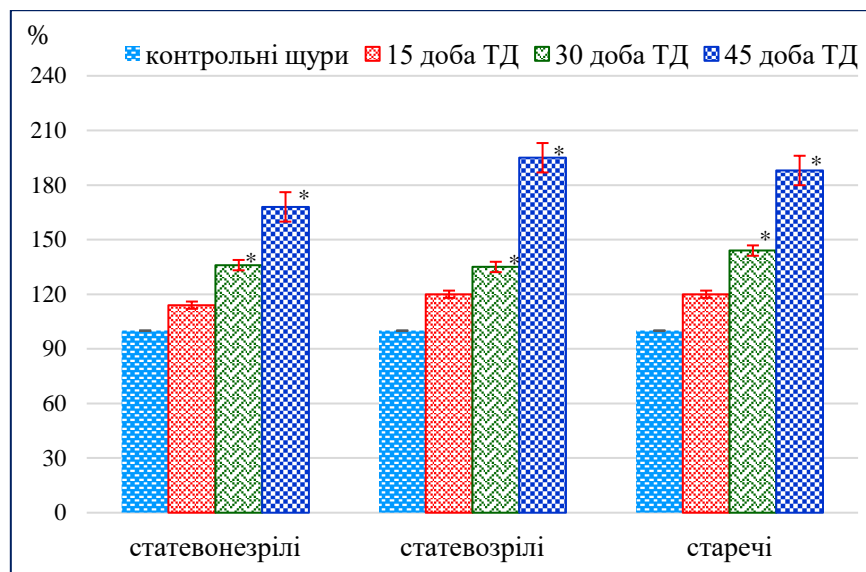


Рис. 4.4. Вміст 2,4-ДНФГ основного характеру у міокарді щурів різного віку, уражених тютюновим димом, %

У міокарді спостерігали наступні зміни: збільшення вмісту 2,4-ДНФГ основного характеру становило 68 % у статевонезрілих щурів порівняно з контролем, у статевозрілих показник на 95 % перевищував рівень інтактного контролю та у старечого віку щурів збільшення було 46 % порівняно зі здоровими тваринами.

Отже, при вивченні карбонільних продуктів окиснення протеїнів сироватки крові щурів та в їх органах виявлено підвищення альдегідо- і кетодінітрофенілгідрозонів нейтрального та основного характеру впродовж усього експерименту. Порівнюючи отримані результати вмісту 2,4-динітрофенілгідрозонів у щурів різних вікових груп, можна стверджувати, що щури статевонезрілого та старечого віку є чутливішими до дії тютюнового диму.

Таким чином, пероксидація протеїнів є важливою ланкою у ланцюгу патобіохімічних механізмів розвитку тютюнової інтоксикації у щурів.

Відомо, що тютюнопаління є одним із найбільш поширених джерел надходження карбону монооксиду (СО) в організм людини. При підвищених концентраціях екзогенний СО зв'язується з гемвісними протеїнами:

гемоглобіном, міоглобіном, цитохромами, що викликає кисневе голодування тканин за рахунок порушення як транспорту кисню, так і тканинного дихання. Погіршення кисеньтранспортної функції крові у курців обумовлено підвищенням рівня карбоксигемоглобіну, який може становити 3-5 % від загального вмісту Нб, досягаючи 10 % у злісних курців, що викурюють більше 2-3 пачок сигарет в день [302, 453, 522]. При цьому кількість щоденно викурених сигарет безпосередньо впливає на вміст не тільки СОНб, але й оксигенованої форми гемоглобіну та кисневу сатурацію в цілому [522]. У таких умовах у крові курців з'являється незначна кількість метгемоглобіну. Розвивається гіпоксія, а також нездатність тканинних клітин використовувати кисень внаслідок погіршення дифузії його до мітохондрій, що призводить до зниження інтенсивності тканинного обміну.

Ми дослідили вміст карбокси- та метгемоглобіну у щурів різних вікових груп у динаміці ураження їх тютюновим димом (табл. 4.5).

Таблиця 4.5

Вміст карбокси- та метгемоглобіну (г/л) у крові щурів, уражених тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Карбоксигемоглобін		
Контрольні щури	0,015±0,001	0,021±0,002	0,019±0,002
15 доба ТД	0,023±0,002*	0,026±0,002	0,021±0,002
30 доба ТД	0,032±0,003*	0,028±0,002*	0,031±0,002*
45 доба ТД	0,041±0,003*	0,032±0,002*	0,038±0,003*
	Метгемоглобін		
Контрольні щури	1,53±0,14	1,50±0,15	1,41±0,07
15 доба ТД	2,05±0,09*	1,65±0,30	1,86±0,09*
30 доба ТД	2,18±0,11*	2,20±0,11*	2,18±0,12*
45 доба ТД	2,04±0,13*	2,29±0,08*	2,49±0,13*

Найвищий вміст карбоксигемоглобіну в крові відмічено нами впродовж всього терміну ураження ТД у статевонезрілих щурів: через 15 діб від початку



інтоксикації він у 1,5 раза перевищував норму, через 30 діб – у 2,1 раза, через 45 діб – у 2,8 раза був вищим, ніж у контрольних тварин.

У статевозрілих щурів у перші два терміни ураження вміст карбоксигемоглобіну перевищував норму в 1,3 раза, до кінця експерименту він виражено підвищився та даний показник виявився в 1,5 раза вищим, ніж у тварин групи інтактного контролю.

Через 15 діб отруєння ТД вміст НbCO у крові старечого віку щурів практично не змінився, через 30 діб ураження він збільшився в 1,6 раза, через 45 діб від початку інтоксикації даний показник у 2 рази був вище контролю.

Ураження щурів усіх вікових груп призвело до підвищення вмісту метгемоглобіну. У крові старечого віку тварин вміст MetHb виявився найвищим у всі терміни дослідження. Через 15 діб від початку отруєння тютюновим димом даний показник на 32 % перевищував норму, через 30 діб – на 55 % та через 45 діб тривалості експерименту вміст MetHb був у 1,8 раза вищим у порівнянні з контрольними тваринами. Дещо нижчим даний показник був у статевонезрілих щурів і до кінця дослідження він збільшився в 1,3 раза. У статевозрілих щурів через 45 діб від початку експерименту вміст метгемоглобіну у крові перевищував норму в 1,5 раза.

Очевидно, таке підвищення вмісту MetHb у старечого віку щурів зумовлене нестачею активністю метгемоглобіноредуктаз саме у цей віковий період.

Отже, ураження щурів тютюновим димом призводило до розвитку оксидативного стресу в організмі щурів, що проявляється збільшенням вмісту у крові АФО, активацією процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів у крові та органах тварин, а також підвищенням вмісту похідних гемоглобіну – карбокси- та метгемоглобіну. Збільшення вмісту останніх призводило до виникнення в організмі гіпоксичного стану.

Підвищення інтенсивності вільнорадикальних реакцій зумовлює зниження захисно-компенсаторних сил в ураженому організмі та неспроможність елімінувати з нього токсичні продукти.

#### 4.2 Дослідження показників антиоксидантної системи щурів різного віку, уражених тютюновим димом

Вплив екстремальних чинників, включно токсикантів, призводило до зміщення рівноваги між про- та антиоксидантною системами в прооксидантний бік і розвитку так званого «оксидативного стресу». Тобто за таких умов розвивається оксидативний стрес, який є результатом дисбалансу між надлишковим утворенням АФО та неспроможністю антиоксидантних систем забезпечити їх знешкодження.

Провідну роль у регуляції вільнорадикальних та пероксидних процесів відіграє ензимна антиоксидантна система, серед компонентів якої важливе місце належить СОД, одному із основних ензимів цієї системи.

Ураження щурів тютюновим димом призвело до зниження супероксиддисмутазної активності у сироватці крові тварин усіх вікових груп (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

Супероксиддисмутазна активність у сироватці крові та печінці (мкат/г протеїну) щурів, уражених тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	64,85±4,06	62,24±3,50	52,85±3,50
15 доба ТД	57,14±5,35	60,20±5,07	50,33±3,91
30 доба ТД	48,31±4,77*	58,79±4,38	40,92±3,05*
45 доба ТД	39,98±2,72*	47,48±4,52	39,27±3,30*
	Печінка		
Контрольні щури	44,91±4,57	57,05±4,84	47,43±3,83
15 доба ТД	41,35±3,71	59,10±5,10	48,53±2,87
30 доба ТД	33,22±2,18	43,43±2,43	34,39±2,68
45 доба ТД	26,15±2,40*	37,01±3,21*	28,10±2,61*

Вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження активності ензиму в сироватці крові відмічено на 30-ту та 45-ту доби ураження ТД у статевонезрілих та старечого

віку щурів. Через 30 діб дії ТД на організм статевонезрілих тварин зниження супероксидисмутазної активності становило 26 %, через 45 діб – 38 %. У старечого віку щурів даний показник знизився у перший термін дослідження (30-та доба) на 23 %, у останній – на 26 %. У статевозрілих щурів у перші два терміни експерименту зниження активності ензиму в сироватці крові було на рівні 3-6 %.

У печінці щурів усіх вікових груп виражені зміни спостерігали тільки через 45 діб від початку отруєння ТД і зниження супероксидисмутазної активності у статевонезрілих та старечого віку щурів було в 1,7 раза, у статевозрілих у 1,5 раза.

У всіх дослідних групах тварин спостерігали підвищення вмісту ЦП, протеїну з ензиматичною активністю, який має здатність знешкоджувати токсичні ОН-радикали. Ураження щурів тютюновим димом викликало збільшення вмісту ЦП у сироватці крові статевонезрілих щурів на 17 %, у статевозрілих – на 18 % та у старечих – на 22 % порівняно з контролем у перший термін отруєння (рис. 4.5).

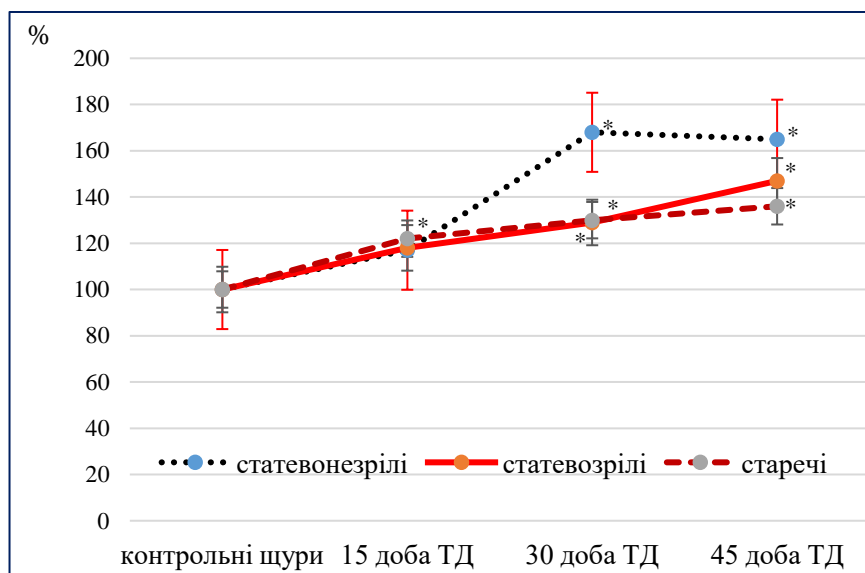


Рис. 4.5. Вміст ЦП у сироватці крові щурів різного віку після ураження тютюновим димом, %

Через 30 діб від початку експерименту вміст ЦП у сироватці крові статевонезрілих щурів підвищився у 1,7 раза, у статевозрілих у 1,3 раза та у старечих – у 1,3 раза щодо рівня контрольних тварин.

В останній термін дослідження (45-та доба) найбільш виражені зміни вмісту ЦП були у статевонезрілих щурів (вміст ЦП збільшився на 65 % щодо контролю;  $p \leq 0,05$ ). У цей період даний показник збільшувався у статевозрілих та старечого віку тварин – на 47 % та 36 % відповідно.

Враховуючи, що обидва антиоксиданти-ензими, які ми вивчали, беруть участь у знешкодженні активних форм кисню на початку зародження вільнорадикального ланцюга, доцільним було дослідити за умов отруєння щурів тютюновим димом каталазну активність та вміст відновленого глутатіону в сироватці крові. У таблиці 4.7 наведені результати з дослідження каталазної активності у сироватці крові та органах щурів після ураження тютюновим димом.

Отруєння статевонезрілих щурів ТД призвело до зниження каталазної активності у сироватці крові, яке до кінця експерименту виявилось вірогідним ( $p \leq 0,05$ ). Через 45 діб після ураження даний показник знизився в цієї групи тварин у 1,5 раза. У сироватці крові старечих щурів каталазна активність у цей термін дослідження знизилась у 1,4 раза. Активність ензиму в сироватці крові статевозрілих тварин вірогідно знижувалась через 30 та 45 діб після ураження димом і була відповідно в 1,4 та 1,5 раза нижчою від рівня контрольних тварин ( $p \leq 0,05$ ).

Зниження каталазної активності зареєстровано у печінці щурів усіх вікових груп після ураження ТД. В останні два терміни дослідження відмічали вірогідне зниження активності ензиму для всіх вікових груп. У статевонезрілих та старечого віку щурів даний показник знизився в 1,5 раза, у статевозрілих – у 1,4 раза.

Аналогічне зниження активності КАТ відмічали в легенях токсикованих димом щурів. До кінця експерименту каталазна активність знизилась у легенях статевонезрілих та статевозрілих у 1,7 раза та у старечого віку тварин – у 1,3 раза.

Вірогідне зниження відмічено до кінця експерименту в нирках щурів усіх дослідних груп. Найбільше зниження спстерігалось у нирках щурів старечого щурів – в 2,2 раза було нижчим від рівня контролю.

Таблиця 4.7

Каталазна активність (мккат/г протеїну) у сироватці крові та органах щурів у динаміці ураження тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	0,251±0,022	0,315±0,024	0,233±0,020
15 доба ТД	0,233±0,022	0,262±0,024	0,248±0,016
30 доба ТД	0,180±0,017	0,218±0,020*	0,168±0,015
45 доба ТД	0,167±0,011*	0,210±0,020*	0,167±0,012*
	Печінка		
Контрольні щури	0,170±0,016	0,210±0,020	0,183±0,016
15 доба ТД	0,150±0,016	0,203±0,016	0,172±0,017
30 доба ТД	0,100±0,007*	0,148±0,012*	0,125±0,011*
45 доба ТД	0,113±0,009*	0,145±0,012*	0,125±0,010*
	Легені		
Контрольні щури	0,127±0,010	0,188±0,018	0,135±0,013
15 доба ТД	0,125±0,011	0,183±0,014	0,127±0,011
30 доба ТД	0,083±0,007*	0,112±0,009*	0,080±0,008*
45 доба ТД	0,077±0,007*	0,110±0,011*	0,108±0,010
	Нирки		
Контрольні щури	0,087±0,006	0,132±0,011	0,127±0,011
15 доба ТД	0,095±0,007	0,127±0,012	0,123±0,011
30 доба ТД	0,078±0,006	0,103±0,008	0,103±0,008
45 доба ТД	0,063±0,006*	0,068±0,006*	0,057±0,014*
	Міокард		
Контрольні щури	0,178±0,016	0,128±0,010	0,200±0,019
15 доба ТД	0,165±0,017	0,110±0,011	0,185±0,019
30 доба ТД	0,120±0,013*	0,085±0,008*	0,135±0,010*
45 доба ТД	0,118±0,012*	0,098±0,09	0,140±0,011*

Ураження тварин токсикантом викликало зниження каталазної активності у міокарді статевонезрілих щурів у 1,5 раза через 45 діб від початку експерименту, у старечих у 1,4 раза та у статевозрілих – у 1,3 раза.

Отже, ураження щурів тютюновим димом супроводжувалося суттєвим пригніченням активності КТ на всіх стадіях патологічного процесу. Однією з причин зниження активності КТ може бути викликана тривалою дією токсину деградація вільних та зв'язаних з мембранами ендоплазматичної сітки рибосом, які відповідають за синтез ензиму.

У руйнуванні гідроперекисів, що утворюються при ПОЛ, основну роль відіграє система глутатіонпероксидаза – глутатіонредуктаза – відновлений глутатіон [222, 225, 336]. Основна функція глутатіону полягає в участі його в детоксикації ксенобіотиків. При ураженнях токсикантами концентрація вільних SH-груп та SH-груп протеїнового та ненепротеїнового походження зменшується [374, 386].

При дослідженні вмісту глутатіону, який є компонентом антиоксидантної глутатіонової системи, відмітили зниження його у сироватці крові тварин усіх вікових груп в останні терміни дослідження. У перший термін – 15-та доба від початку експерименту вміст ВГ був на рівні контрольних тварин, або незначно відрізнявся від нього (табл. 4.8).

Вміст ВГ у сироватці крові вірогідно знизився в останній термін дослідження та становив 72 % від контролю у статевонезрілих тварин, 80 % у статевозрілих щурів та 75 % у щурів старечого віку.

Особливо важлива роль глутатіону як антиоксиданта для печінки. Зниження його концентрації в тканинах печінки на 30 % від контролю призводило до різкого збільшення токсичності ксенобіотиків [378, 382, 399].

Ми визначили вміст ВГ у печінці тварин у динаміці отруєння тютюновим димом і відзначили, що даний показник впродовж експерименту прогресуюче знижувався. До кінця експерименту становив у статевонезрілих щурів 77 % порівняно зі здоровими тваринами, статевозрілих – 74 % та у старечих 62 %, що, очевидно, є наслідком порушення синтезу його саме у

цьому органі. У легенях щурів після отруєння вміст ВГ зазнав аналогічного зниження і через 45 діб розвитку патологічного стану зменшився у статевонезрілих та щурів старечого віку у 1,5 раза, у зрілих – у 1,4 раза порівняно з контрольними тваринами.

Таблиця 4.8

Вміст відновленого глутатіону в сироватці крові (ммоль/л) та органах щурів (ммоль/кг) у динаміці ураження тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	1,20±0,05	1,36±0,08	1,23±0,06
15 доба ТД	1,22±0,05	1,40±0,03	1,22±0,06
30 доба ТД	1,10±0,04	1,23±0,06	1,13±0,06
45 доба ТД	0,86±0,05*	1,09±0,06*	0,92±0,04*
	Печінка		
Контрольні щури	1,68±0,12	1,93±0,07	1,80±0,09
15 доба ТД	1,62±0,18	1,85±0,15	1,60±0,22
30 доба ТД	1,46±0,09	1,64±0,08*	1,39±0,13*
45 доба ТД	1,30±0,07*	1,42±0,10*	1,11±0,10*
	Легені		
Контрольні щури	0,61±0,05	0,50±0,05	0,56±0,05
15 доба ТД	0,60±0,06	0,53±0,05	0,58±0,05
30 доба ТД	0,56±0,05	0,47±0,04	0,41±0,03*
45 доба ТД	0,41±0,04*	0,36±0,02*	0,37±0,03*
	Міокард		
Контрольні щури	0,67±0,05	0,55±0,04	0,59±0,04
15 доба ТД	0,63±0,06	0,57±0,05	0,61±0,03
30 доба ТД	0,44±0,03	0,49±0,02	0,44±0,03*
45 доба ТД	0,30±0,02*	0,41±0,02*	0,35±0,03*

Найчутливішим до дії ТД виявився міокард статевонезрілих тварин, у яких вміст ВГ у 2,2 раза був нижчим за норму в останній термін дослідження, у старечих – у 1,7 раза. Міокард статевозрілих тварин зазнав найменших змін – вміст даного показника знизився лише на 25 % після 45-добового отруєння.

Визначення вмісту ВГ у нирках щурів після ураження показало його зниження у всіх вікових групах (рис. 4.6).

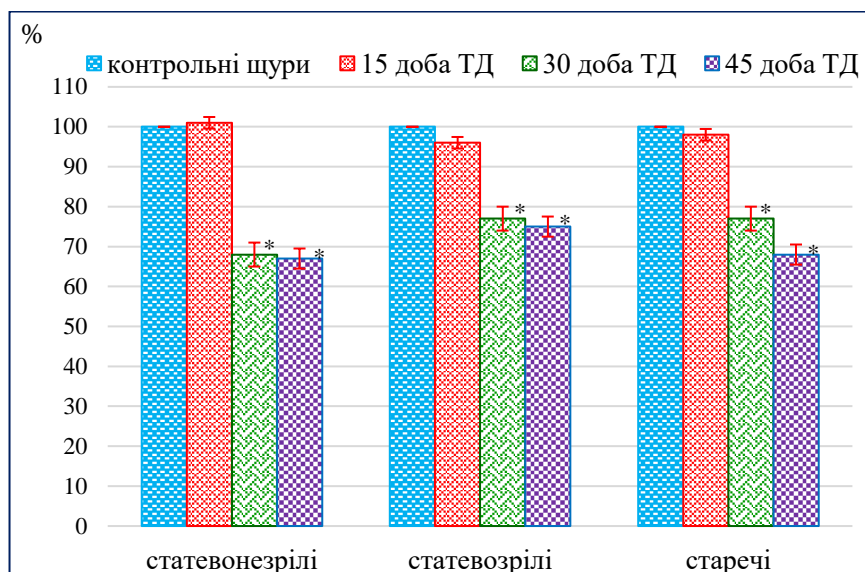


Рис. 4.6. Вміст ВГ у нирках щурів різного віку після ураження тютюновим димом, %

В останні два терміни дослідження вміст ВГ вірогідно знижувався у тварин усіх дослідних груп. Наприкінці експерименту даний показник у нирках статевонезрілих та старечого віку щурів знизився на 33 %, у статевозрілих – на 25 %.

Результати дослідження показників даного підрозділу підтверджують глибокі порушення у функціонуванні основних компонентів антиоксидантної системи в організмі уражених тютюновим димом тварин, що проявляється в пригніченні активності ензимів (СОД та КАТ) та зниженні вмісту неензимних показників антиоксидантного захисту (відновленого глутатіону).

#### 4.3. Розвиток ендогенної інтоксикації та цитолітичних процесів у щурів різного віку, уражених тютюновим димом

Одним із проявів токсичної дії метаболітів кисню є інтенсифікація реакцій вільнорадикального окиснення. Активація процесів вільнорадикального окиснення під дією активних форм кисню призводить



до посилення пероксидного окиснення ліпідів, окисної модифікації протеїнів, деструкції нуклеїнових кислот, вуглеводів, що спричиняє структурні та метаболічні порушення у клітинах. Це може викликати цитоліз та зміну проникності плазматичних мембран клітин різних органів, а також розвиток ендогенної інтоксикації в організмі [197, 212, 408, 411, 412].

Синдром інтоксикації, який супроводжує патологічні процеси, зумовлений багатьма механізмами. Зокрема, він пов'язаний із дискоординацією метаболічних процесів, які відбуваються при патологіях різного генезу. Еритроцитарний індекс інтоксикації є одним із маркерів ендогенної інтоксикації. Враховуючи, що мембрани дозрілих еритроцитів розглядаються як прототип плазматичних мембран усіх клітин організму, то підвищення їх проникності (зростання ЕІІ) можна вважати характерним для клітин організму, що проявляється цитолізом їх та виходом з цитоплазми органо- та органелоспецифічних ензимів [242, 402, 458].

Нами досліджено проникність еритроцитарних мембран в експериментах на щурах у динаміці ураження їх тютюновим димом (впродовж 15-ї, 30-ї та 45-ї доби; рис. 4.7).

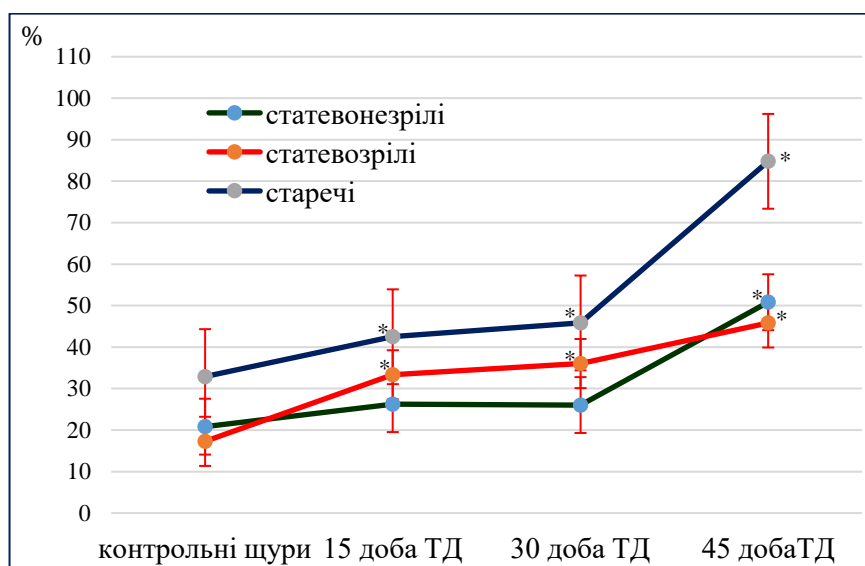


Рис. 4.7. Еритроцитарний індекс інтоксикації у крові щурів різного віку після ураження тютюновим димом, %

У перший термін дослідження (через 15 діб від початку отруєння) найбільш вираженим був цитоліз еритроцитарних мембран у статевозрілих щурів, у яких ЕП збільшився на 16 %. У цей час даний показник у крові статевонезрілих щурів зріс на 6 %, у старечого віку – на 10 %. До кінця експерименту спостерігали підвищення проникності еритроцитарної мембрани у статевонезрілих щурів на 30 %, у статевозрілих на 28 % і у старечих 52 % порівняно з таким показником у контрольних тварин кожної вікової групи.

Однією з причин зміни проникності клітинних мембран під дією тютюнового диму може бути токсичний вплив його метаболітів на структурні компоненти саме мембран – як ліпідні, так і протеїнові, що було нами показано у підрозділі 4.1.

Найефективніше ступінь ураження клітинних мембран відображається співвідношенням активності внутрішньоклітинних ензимів в клітині та поза її межами, оскільки в нормі лише незначна кількість внутрішньоклітинних ензимів знаходиться в сироватці крові. Рівень активності ензимів корелює зі ступенем пошкодження, який може виражатися від патологічного посилення проникності мембрани клітин до некрозу. Найбільшої уваги заслуговують органоспецифічні, або індикаторні ензими, які є специфічними тільки для певного типу тканин [314, 377, 387].

Нами досліджено активність амінотрансфераз – маркерних ензимів печінки та міокарду у сироватці крові та органах щурів після 45-добового ураження їх тютюновим димом.

Дослідження активності амінотрансфераз у сироватці крові щурів після отруєння їх тютюновим димом показало підвищення АЛТ та АСТ у щурів усіх вікових груп. Результати вивчення активності АЛТ наведені у табл. 4.9.

Після ураження статевонезрілих щурів ТД спостерігали вірогідне підвищення ( $p \leq 0,05$ ) активності АЛТ у сироватці крові в усі терміни дослідження і до кінця експерименту активність ензиму перевищувала в 6,7 раза рівень контрольних тварин. У двох інших вікових групах даний

показник вірогідно підвищувався у сироватці крові через 30 та 45 діб після інтоксикації димом.

Таблиця 4.9

Активність аланінамінотрансферази у сироватці крові (мкмоль/л·год) та органах шурів (мкмоль/кг год) у динаміці ураження тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	0,56±0,02	1,10±0,11	1,45±0,12
15 доба ТД	1,06±0,05*	1,72±0,23	1,67±0,14
30 доба ТД	2,52±0,19*	2,36±0,14*	2,27±0,20*
45 доба ТД	3,76±0,29*	4,05±0,24*	3,96±0,28*
	Печінка		
Контрольні щури	6,98±0,10	6,60±0,27	8,03±0,28
15 доба ТД	5,85±0,30*	6,17±0,43	7,13±0,19
30 доба ТД	4,26±0,28*	4,65±0,46*	4,02±0,39*
45 доба ТД	4,86±0,44*	4,66±0,43*	4,10±0,27*
	Легені		
Контрольні щури	4,12±0,31	2,75±0,41	3,87±0,31
15 доба ТД	3,95±0,34	2,05±0,15	3,43±0,22
30 доба ТД	3,17±0,28	1,82±0,17	2,87±0,21*
45 доба ТД	3,23±0,40	1,70±0,18	2,07±0,20*
	Нирки		
Контрольні щури	7,80±0,28	6,98±0,11	7,35±0,27
15 доба ТД	7,00±0,08*	6,88±0,09	7,18±0,17
30 доба ТД	5,62±0,38*	6,53±0,24	6,17±0,31*
45 доба ТД	5,73±0,46*	5,82±0,55	5,75±0,36*
	Міокард		
Контрольні щури	3,91±0,16	4,67±0,34	4,38±0,09
15 доба ТД	3,55±0,08	4,13±0,18	3,77±0,15*
30 доба ТД	3,04±0,13*	2,93±0,11*	3,23±0,13*
45 доба ТД	2,22±0,12*	1,97±0,13*	1,45±0,10*

Найменш виражене підвищення було у тварин старечого віку, у сироватці крові яких активність АЛТ збільшилася в 2,7 раза через 45 діб отруєння, у статевозрілих – у 3,7 раза активність ензиму перевищувала норму.

У досліджуваних органах щурів різного віку спостерігали вірогідне зниження даного показника у всіх дослідних групах.

У печінці щурів зміни показника були аналогічними як у сироватці крові, тільки у сторону зниження. До кінця експерименту найчутливішою виявилась печінка старечого віку щурів (активність АЛТ знизилась у 2 рази порівняно з контрольними тваринами). Отруєння ТД призвело до зниження активності ензиму в даному органі у двох інших вікових групах у 1,4 раза порівняно з контролем.

Активність АЛТ впродовж усього терміну дослідження вірогідно знижувалась у легенях старечого віку тварин через 30 та 45 діб після ураження і становила 74 % та 53 % відповідно. Щодо нирок, то найбільш виражені зміни були у статевонезрілих та старечих тварин. Активність ензиму прогресуюче знижувалась у залежності від терміну дослідження і до кінця експерименту становила 73 % від контролю у статевонезрілих щурів та 78 % у старечих. У статевозрілих щурів у кінці експерименту даний показник знизився на 17 %.

При дослідженні міокарду щурів усіх дослідних груп зниження активності ензиму залежало від віку. У міокарді щурів старечого віку активність АЛТ знизилась у 3 рази, у статевозрілих у 2,4 раза та у статевонезрілих – у 1,8 раза.

Отже, активність АЛТ у сироватці крові та органах токсикованих димом щурів залежить як від віку, так і від терміну дослідження. При дослідженні активності АСТ у сироватці крові та органах тварин після отруєння ТД виявлені аналогічні зміни (табл. 4.10).

Впродовж усієї тривалості експерименту спостерігали вірогідне збільшення активності АСТ ( $p \leq 0,05$ ) у сироватці крові щурів усіх вікових груп. У сироватці крові статевонезрілих щурів активність АСТ зросла у 3,7 раза до кінця дослідження. Більш виражені зміни виявлені у статевозрілих та старечого віку щурів, у яких активність ензиму у 5,8 та 5,7 раза перевищувала норму.

Отруєння щурів ТД призвело до зниження активності ензиму в досліджуваних органах – печінці, легенях, нирках та міокарді.

Таблиця 4.10

Активність аспартатамінотрансферази у сироватці крові (мкмоль/л год) та органах щурів (мкмоль/кг год) у динаміці ураження тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	0,93±0,08	0,63±0,03	0,66±0,05
15 доба ТД	1,19±0,07	1,19±0,13*	1,06±0,10*
30 доба ТД	1,71±0,11*	1,58±0,10*	1,98±0,14*
45 доба ТД	3,40±0,13*	3,67±0,09*	3,67±0,24*
	Печінка		
Контрольні щури	4,37±0,17	4,23±0,22	4,68±0,29
15 доба ТД	3,51±0,08*	3,03±0,18*	3,77±0,15*
30 доба ТД	2,63±0,13*	2,57±0,13*	3,39±0,08*
45 доба ТД	1,41±0,07*	2,35±0,09*	2,37±0,12*
	Легені		
Контрольні щури	3,86±0,14	4,35±0,26	3,98±0,30
15 доба ТД	3,63±0,09	3,31±0,09*	2,93±0,14*
30 доба ТД	2,77±0,13*	2,82±0,16*	2,64±0,11*
45 доба ТД	1,93±0,10*	1,85±0,11*	1,52±0,05*
	Нирки		
Контрольні щури	4,87±0,29	4,69±0,18	3,00±0,13
15 доба ТД	3,19±0,21*	4,21±0,19	2,86±0,13
30 доба ТД	2,12±0,08*	3,34±0,09*	2,07±0,11*
45 доба ТД	1,72±0,10*	1,46±0,05*	2,18±0,11*

У печінці статевонезрілих щурів активність АСТ знижувалась і через 45 діб від початку експерименту була нижче контролю в 3,1 раза. Зниження даного показника у кінцевий термін дослідження в 1,8 раза та 2 рази відповідно відмічено у статевозрілих та старечого віку тварин.

Найчутливішими до дії ТД стосовно даного показника були легені щурів старечого віку, у яких він знижувався у 2,6 раза через 45 діб отруєння димом.

У цей термін активність АСТ у легенях статевонезрілих щурів знизилась у 2 рази, статевозрілих – у 2,4 рази.

Нирки статевозрілих щурів виявились найбільш вразливими до дії токсиканта. Активність АСТ прогресуюче знижувалась і до кінця експерименту в 3,2 рази була нижче рівня контрольних тварин. У нирках статевонезрілих щурів у цей термін дослідження активність ензиму знизилась у 2,8 рази, у старечих – в 1,4 рази порівняно з контролем.

Ми дослідили активність АСТ (маркерного ензиму) у міокарді щурів після отруєння ТД (рис. 4.8).

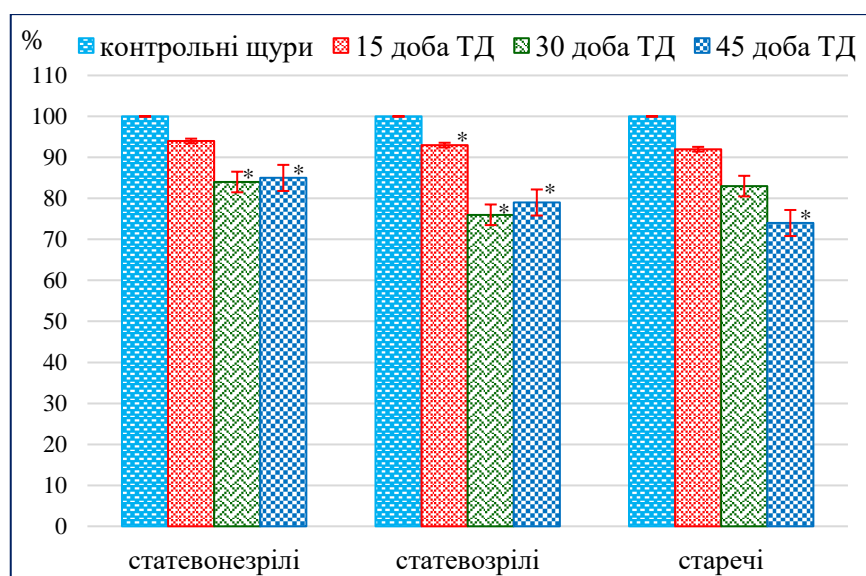


Рис. 4.8. Активність аспаратамінотрансферази у міокарді щурів різного віку після ураження тютюновим димом, %

Найбільш виражені зміни активності АСТ спостерігали у міокарді токсикованих димом щурів старечого віку. У динаміці ураження активність ензиму поступово знижувалась і сягнула 74 % у кінці дослідження. У статевонезрілих тварин даний показник у міокарді знизився на 15 % через 45 діб отруєння і у статевозрілих – на 21 % щодо контролю.

Отже, дослідження активностей амінотрансфераз у сироватці крові щурів після отруєння їх тютюновим димом показало підвищення активності АСТ та АЛТ у щурів усіх вікових груп.

В органах тварин різних вікових груп відмічали зниження активностей амінотрансфераз після інтоксикації тютюновим димом, що підтверджує прояв цитолітичного ефекту використаного нами ксенобіотика.

За умов ураження щурів тютюновим димом доцільно було дослідити активність лужної фосфатази – маркера функціонального стану печінки. Лужна фосфатаза – цинквмісний металопротеїн, який розщеплює ефіри ортофосфатної кислоти з утворенням неорганічного фосфору. Ензим розміщується в клітинах у зв'язаному з плазматичними мембранами стані. Лужна фосфатаза складається з різних ізоензимів, що локалізуються переважно в епітелії жовчовивідних шляхів, плазматичних мембран гепатоцитів і нейронів, кістках, кишківнику, плаценті, нирках [336, 350, 402].

Про пошкодження мембранних структур гепатоцитів свідчать результати досліджень органоспецифічного ензиму (маркера холестазу) – лужної фосфатази в сироватці крові та гомогенаті печінки. Окрім того, нами досліджено її активність у нирках щурів після інтоксикації тютюновим димом (табл. 4.11).

Підтвердженням деструктивних процесів у гепатоцитах та зміни їх проникності є зниження активності ЛФ у печінці. Встановлено зниження даного показника у статевонезрілих щурів у всі терміни дослідження. Найбільш виражене зниження було наприкінці експерименту, коли активність ЛФ знизилась у 3 рази порівняно з контролем. У старечого віку щурів вірогідне зниження спостерігали через 30 та 45 діб отруєння димом і становило 61 % та 39 % відповідно. Отруєння тютюновим димом статевозрілих щурів викликало тенденцію до зниження активності ЛФ у їх печінці, вірогідних змін не відмічено в жодний термін дослідження.

Аналогічну тенденцію до зниження активності ЛФ без вірогідних змін ми відмітили у нирках статевозрілих щурів після тривалої тютюнової інтоксикації.

Через 30 та 45 діб тривалості експерименту у нирках статевонезрілих щурів активність ензиму знизилась у 1,7 та 2,1 раза відповідно ( $p \leq 0,05$ ). У

нирках старечого віку щурів у ці ж терміни даний показник був нижче контролю в 1,4 та 1,8 раза.

Таблиця 4.11

Активність лужної фосфатази у сироватці крові (нмоль/л год), печінці та нирках (нмоль/кг год) щурів у динаміці ураження тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	11,63±0,72	12,78±1,25	11,31±0,97
15 доба ТД	13,44±0,95	12,88±1,08	18,34±1,57
30 доба ТД	17,12±1,69*	14,21±1,33	16,87±1,34*
45 доба ТД	21,61±2,08*	18,79±1,80*	19,50±1,68*
	Печінка		
Контрольні щури	15,35±1,10	16,48±1,00	16,11±1,23
15 доба ТД	11,02±1,09*	14,32±1,27	12,33±1,21
30 доба ТД	9,45±0,88*	13,65±1,15	9,91±0,97*
45 доба ТД	5,14±0,49*	12,74±1,10	6,33±0,57*
	Нирки		
Контрольні щури	13,26±1,26	15,43±1,46	12,43±0,95
15 доба ТД	10,71±1,06	14,21±1,22	10,53±0,67
30 доба ТД	8,02±0,68*	12,36±1,12	8,77±0,84*
45 доба ТД	6,21±0,54*	12,06±1,03	6,74±0,53*

Зважаючи на те, що ЛФ є органоспецифічним ензимом печінки, зростання якого у сироватці крові є типовою ознакою холестазу, одержані результати слід розглядати як підтвердження ураження гепатоцитів із проявами запальних процесів, цитолізом та застоєм жовчі в жовчних капілярах і протоках. Все це разом вносить свою частку в загальний ендогенний токсикоз, який проявляється зростанням МСМ, ЕП та маркерів токсичного синдрому.

Суттєвих змін зазнавала активність ще одного органоспецифічного ензиму печінки (маркера некрозу) – гамма-глутамілтранспептидази.



ГГТП – мікросомальний ензим, що бере участь в обміні амінокислот, каталізуючи перенесення  $\gamma$ -глутамінового залишку з пептиду (зазвичай глутатіону) на амінокислоту, інший пептид чи воду. Зростання активності ГГТП спостерігається при ураженнях гепатобіліарної системи (гепатитах, холестази, холангіті), а також при жировому переродженні печінки. Підвищення активності ензиму викликають різні ксенобіотики, зокрема ліки, здатні активувати оксидазну активність мікросомальних ензимів, а також будь-який оксидативний стрес [30, 70, 119].

При дослідженні активності ГГТП, ензиму, важливого при детоксикації, синтезі лейкотрієнів і транспорті амінокислот, у сироватці щурів, уражених тютюновим димом, відмічено його підвищення (рис. 4.9).

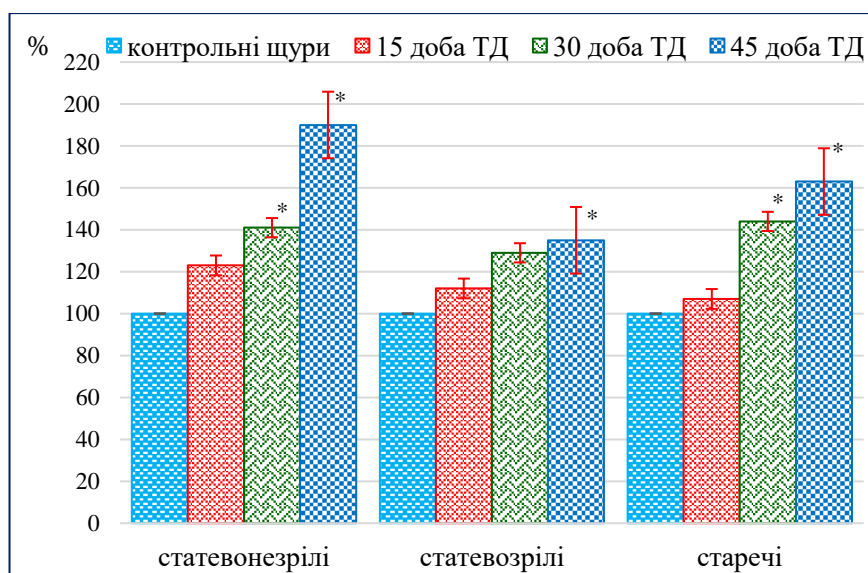


Рис. 4.9. Активність гама-глутамілтранспептидази у сироватці крові щурів різного віку після ураження тютюновим димом, %

Нами показано, що каталітична активність ГГТП у сироватці крові дослідних тварин перевищувала контрольні значення на завершальних етапах експерименту. У сироватці крові статевонезрілих щурів активність ензиму зросла на 90 % порівняно з контрольними тваринами через 45 діб отруєння тютюновим димом, у статевозрілих – на 35 %, у старечого віку – на 63 %.

Доцільним було визначити активність ГГТП у печінці та нирках щурів після ураження ТД (табл. 4.12).

Активність гама-глутамілтранспептидази у печінці та нирках (мккат/кг) щурів у динаміці ураження тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Печінка		
Контрольні щури	1,74±0,11	1,18±0,07	1,47±0,13
15 доба ТД	1,57±0,11	1,11±0,09	1,28±0,10
30 доба ТД	1,31±0,11*	0,99±0,09	1,33±0,10
45 доба ТД	1,17±0,12*	0,89±0,06*	1,01±0,09*
	Нирки		
Контрольні щури	1,53±0,16	0,85±0,07	1,32±0,13
15 доба ТД	1,48±0,12	0,81±0,08	1,20±0,11
30 доба ТД	1,16±0,10	0,74±0,06	1,12±0,09
45 доба ТД	1,12±0,11	0,70±0,06	0,92±0,07*

Вірогідне зниження активності даного показника ( $p \leq 0,05$ ) відмічено у печінці статевонезрілих щурів через 30 та 45 діб від початку експерименту. У ці періоди активність ензиму знизилась до 75 % та 67 % відповідно. У статевозрілих та старечого віку щурів виражене зниження активності ГГТП у печінці було тільки у останній термін дослідження.

У нирках щурів усіх вікових груп спостерігали тенденцію до зниження активності ГГТП у всі терміни дослідження, вірогідне зниження відмічено тільки у групі щурів старечого віку через 45 діб від початку ураження – на 30 % нижче рівня контрольних тварин.

Як було показано нами раніше, а також літературні дані [413, 415, 417, 419, 457] констатують, що за ураження тютюновим димом збільшується вміст карбоксигемоглобіну в крові та розвивається гіпоксія. При поглибленні гіпоксії єдиним можливим механізмом синтезу АТФ залишається анаеробний гліколіз з утворенням АТФ і лактату. Під дією лактатдегідрогенази молочна кислота може окислюватися знову, утворюючи піруват, який бере участь у подальших перетвореннях. Надлишок молочної кислоти формує лактатацидоз, що призводить до роз'єднання окисного фосфорилування та

тканинного дихання. Лактат-ацидоз активує фосфоліпазу А<sub>2</sub>, яка зумовлює пошкодження мембранних структур та ініціювання процесів перекисного окиснення ліпідів [458, 469, 508].

Доцільним було дослідити активність лактатдегідрогенази у сироватці крові та органах щурів, отруєних тютюновим димом. Результати дослідження наведені у таблиці 4.13.

Таблиця 4.13

Активність лактатдегідрогенази у сироватці крові (мккат/л) та органах щурів (мккат/кг) у динаміці ураження тютюновим димом (M±m)

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	3,75±0,34	5,63±0,54	4,86±0,43
15 доба ТД	5,28±0,51	7,30±0,63	6,76±0,54*
30 доба ТД	5,63±0,50*	7,89±0,75	7,19±0,58*
45 доба ТД	6,11±0,50*	8,46±0,79*	7,63±0,59*
	Печінка		
Контрольні щури	2,53±0,22	2,94±0,25	2,76±0,25
15 доба ТД	2,07±0,17	2,51±0,24	2,30±0,20
30 доба ТД	1,99±0,17	2,47±0,22	2,19±0,20
45 доба ТД	1,93±0,18	2,37±0,24	2,14±0,19
	Легені		
Контрольні щури	2,91±0,23	3,34±0,26	3,17±0,27
15 доба ТД	2,24±0,20	2,89±0,23	2,46±0,23
30 доба ТД	2,06±0,13*	2,61±0,24	2,27±0,20*
45 доба ТД	1,89±0,17*	2,44±0,17*	2,07±0,19*
	Нирки		
Контрольні щури	2,93±0,22	3,41±0,24	3,24±0,21
15 доба ТД	2,74±0,24	3,28±0,26	3,06±0,15
30 доба ТД	2,46±0,20	2,96±0,25	2,77±0,19
45 доба ТД	2,38±0,18	2,86±0,15	2,68±0,16
	Міокард		
Контрольні щури	2,86±0,21	3,25±0,25	3,07±0,24
15 доба ТД	2,47±0,22	3,11±0,29	2,85±0,22
30 доба ТД	2,21±0,19	2,91±0,17	2,52±0,23
45 доба ТД	2,11±0,19*	2,73±0,20	2,29±0,18*

Активність ензиму в сироватці крові вірогідно збільшувалась у термінах 30-та та 45-та доба у групах статевонезрілих та старечого віку щурів і перевищувала норму в кінці експерименту в 1,6 раза. У сироватці крові статевозрілих щурів активність ЛДГ через 45 діб ураження ТД збільшилась у 1,5 раза ( $p \leq 0,05$ ).

У печінці та нирках щурів усіх вікових груп спостерігали тенденцію до зниження активності ензиму впродовж усього експерименту, вірогідних змін не відмічено.

Отруєння ТД призвело до вірогідного зниження активності ЛДГ у легенях статевонезрілих та старечого віку щурів через 30 та 45 діб від початку експерименту. У кінці дослідження даний показник зменшився в 1,5 раза в обидвох дослідних групах. У цей же термін відмічено вірогідне його зниження у легенях статевозрілих тварин (в 1,4 раза).

У кінці експерименту чутливим до дії токсиканта виявився міокард статевонезрілих та старечого віку щурів. Активність ЛДГ у міокарді статевонезрілих щурів у 1,4 раза була нижче контролю, у старечих – у 1,3 раза нижче рівня норми.

Отже, ураження щурів різних вікових груп тютюновим димом призводило до цитолізу гепатоцитів, нефроцитів, кардіоцитів та зміни проникності плазматичних мембран, на що вказувало підвищення активності амінотрансфераз, лужної фосфатази, лактатдегідрогенази та гамаглутамілтранспептидази у сироватці крові та зниження їх у досліджуваних органах. Потрапляння до організму екзогенних токсикантів супроводжувалося розвитком оксидативного стресу та нагромадження токсичних продуктів у різних органах [518, 519, 520]. Показник рівня МСМ вважають основним біохімічним маркером, що відображає рівень ендотоксемії та патологічного протеїнового метаболізму [498]. Після ураження тютюновим димом у сироватці крові щурів усіх вікових груп відмічалось

підвищення вмісту МСМ обох фракцій. Результати вивчення вмісту фракції  $CM_1$  (254 нм) наведені у таблиці 4.14.

Таблиця 4.14

Вміст молекул середньої маси (фракція  $CM_1$  – 254 нм) у сироватці крові (ум.од/л) щурів різного віку, уражених тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	14,00±1,15	11,00±0,85	13,66±0,61
15 доба ТД	19,00±1,52	17,66±1,20*	18,00±1,55
30 доба ТД	37,00±1,12*	31,00±1,12*	35,66±0,61*
45 доба ТД	41,66±0,95*	33,00±1,52*	38,00±1,03*

Через 15 діб від початку ураження у сироватці крові щурів спостерігали тенденцію до збільшення даного показника. Через 30 діб отруєння у всіх дослідних групах вірогідно підвищився вміст МСМ фракції  $CM_1$ .

Найбільш виражені зміни вмісту  $CM_1$  спостерігали через 45 діб ураження тютюновим димом: у статевонезрілих та статевозрілих щурів даний показник у цей термін дослідження підвищився у 3 рази, у старечого віку – у 2,8 рази. Аналогічних змін за умов ураження тютюновим димом щурів зазнала фракція  $CM_2$  ( $\lambda=280$  нм) (рис. 4.10).

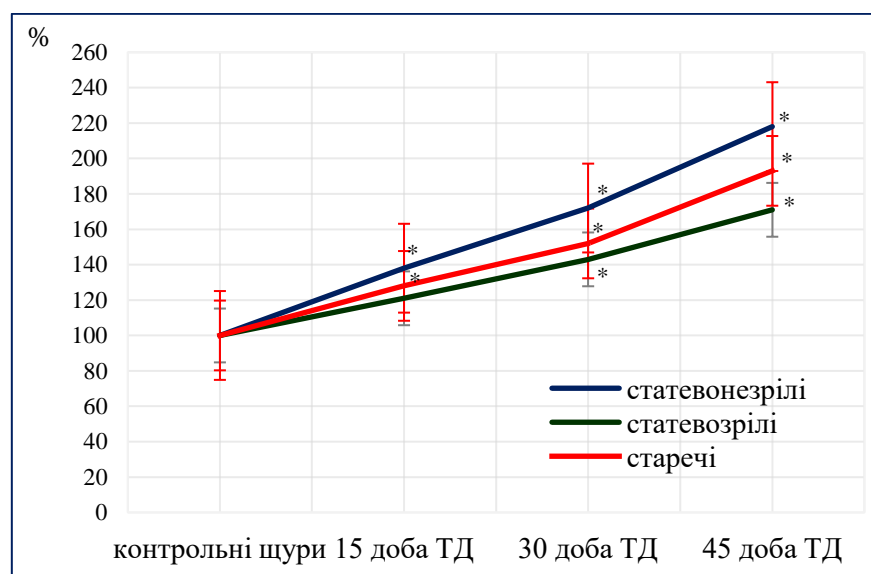


Рис. 4.10. Вміст МСМ (фракція  $CM_2$  – 280 нм) у сироватці крові щурів різного віку після ураження тютюновим димом, %

Отже, у щурів різних вікових груп після ураження тютюновим димом у сироватці крові нагромаджуються вторинні ендogenousні токсини – молекули середньої маси обох фракцій. Вміст їх збільшується із подовженням терміну інтоксикації. У сироватці крові статевонезрілих щурів відмічався найвищий вміст МСМ у всі терміни дослідження, що свідчило про найбільш виражений ступінь ендogenousної інтоксикації саме в цієї групи тварин.

#### 4.4. Порушення показників енергозабезпечення тканин та запальних процесів у щурів після ураження тютюновим димом

У літературі існує все більше доказів того, що компоненти сигаретного диму погіршують мітохондріальну функцію та викликають мітохондріальний окислювальний стрес у різних типах клітин. Недавні дослідження показали, що акролеїн, головний токсикант в сигаретному димі, викликає окисне пошкодження мітохондрій [329], що зумовлює пригнічення активності мітохондріальних ензимів. Тютюновий дим суттєво пригнічує швидкість окиснення сукцинату в мітохондріях печінки щурів, який під впливом СДГ постачає електрони на убихінон або безпосередньо на цитохром b, обминаючи першу ділянку енергетичного спряження.

Важливими ензимами-маркерами, що використовують для оцінки енергетичного обміну та перебігу гіпоксії є рівень активності сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази [219, 386, 484, 488, 508].

Сукцинатдегідрогеназа – один із найважливіших ензимів енергетичного обміну, який виконує компенсаторну функцію в енергозабезпеченні клітин у разі порушення НАД-залежного дихання.

Ураження тютюновим димом призвело до зниження активності даного ензиму в органах щурів усіх вікових груп (табл. 4.15).

Через 30 діб інтоксикації ТД вірогідні зниження активності ензиму спостерігали у групі статевонезрілих та старечого віку тварин (в 1,3 та 1,2 раза відповідно). Максимальне зниження активності ензиму у печінці

zareєстровано у кінці експерименту в усіх дослідних групах: у статевонезрілих щурів даний показник знизився в 1,8 раза, у статевозрілих та старечого віку щурів – в 1,7 раза.

Таблиця 4.15

Активність сукцинатдегідрогенази у печінці та міокарді (ммоль/кг год) щурів у динаміці ураження тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Печінка		
Контрольні щури	33,66±1,20	38,00±1,15	34,66±0,99
15 доба ТД	30,66±1,33	36,66±1,23	31,33±1,76
30 доба ТД	26,33±0,80*	34,66±1,33	29,67±1,08*
45 доба ТД	18,33±0,56*	21,67±0,61*	20,16±0,65*
	Міокард		
Контрольні щури	36,00±0,73	41,66±0,61	37,66±0,61
15 доба ТД	32,00±1,15*	36,66±0,99*	34,00±1,03*
30 доба ТД	29,33±0,84*	34,00±0,73*	30,66±0,99*
45 доба ТД	22,33±0,61*	27,66±0,95*	23,00±0,86*

Аналогічне зниження активності СДГ відмічено у міокарді щурів після ураження ТД. Впродовж усього експерименту показник прогресуюче знижувався та через 45 діб у міокарді щурів усіх груп знизився на 34-39 %. Найбільше зниження активності ензиму було у міокарді щурів старечого віку.

Враховуючи, що мішенню для тютюнового диму є судини та легені, ми визначили активність СДГ у легенях щурів, токсикованих тютюновим димом (рис. 4.11).

Найбільш виражене зниження активності ензиму спостерігали у легенях статевонезрілих щурів, показник якого сягнув 57 % щодо рівня інтактного контролю в останній термін дослідження. У легенях статевозрілих щурів активність СДГ знизилась у цей термін до 73 %, у старечих – до 67 %.

Отримані результати засвідчують суттєве пригнічення активності сукцинатдегідрогенази після отруєння тютюновим димом, особливо у статевонезрілих та старечого віку тварин.

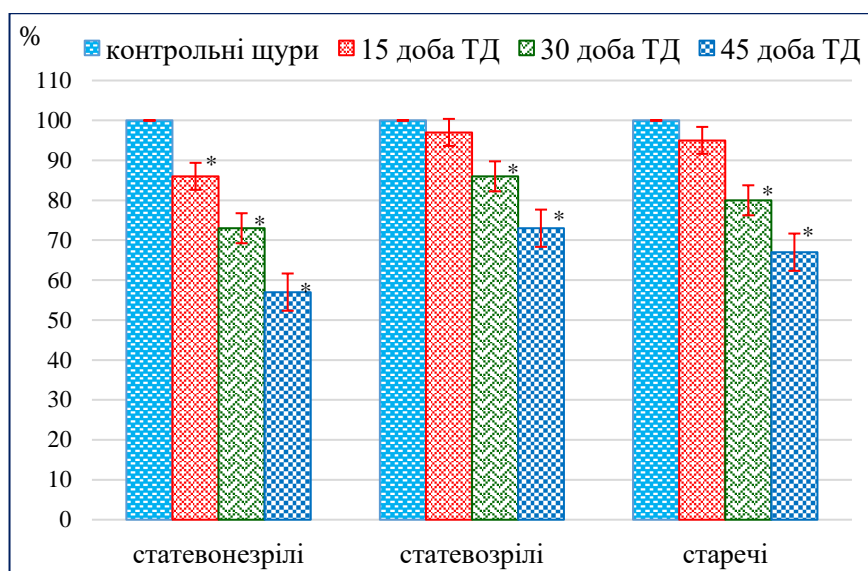


Рис. 4.11. Активність сукцинатдегідрогенази у легенях щурів різного віку після ураження тютюновим димом, %

На порушення електронного транспорту в термінальній ланці дихального ланцюга під впливом ТД вказує вірогідне пригнічення активності цитохромоксидази в мітохондріях печінки отруєних щурів (табл. 4.16).

Таблиця 4.16

Активність цитохромоксидази у печінці та легенях (ммоль/кг хв) щурів у динаміці ураження тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Печінка		
Контрольні щури	39,28±1,11	47,14±1,32	46,53±2,18
15 доба ТД	32,88±2,62	43,85±2,79	41,74±0,84
30 доба ТД	26,72±1,81*	41,72±0,40*	37,80±0,76*
45 доба ТД	22,43±1,14*	39,47±1,31*	33,26±1,18*
	Легені		
Контрольні щури	32,03±0,89	34,45±0,66	32,63±0,66
15 доба ТД	26,29±0,77*	27,80±0,76*	26,59±0,76*
30 доба ТД	20,24±0,86*	26,89±0,86*	25,68±0,73*
45 доба ТД	15,71±0,76*	19,63±0,55*	18,13±0,66*

Вірогідне зниження активності ензиму ( $p \leq 0,05$ ) спостерігали у печінці незрілих, зрілих та старечого віку щурів через 30 та 45 діб ураження ТД.



Найвираженіше зниження даного показника було у статевонезрілих щурів (в 1,8 раза порівняно з контролем). У старечого віку щурів активність ЦО знизилась у 1,4 раза, тоді як у статевозрілих зниження активності ензиму було в 1,2 раза щодо рівня контрольних щурів. Зниження активності ЦО у мітохондріях печінки при ураженні ТД, яке спостерігалось, може бути пов'язане з обмеженням у цих умовах надходження електронів від субстратної ланки дихального ланцюга через цитохроми b-c [482, 508].

У легенях щурів, уражених ТД, вірогідне зниження активності ЦО було у всі терміни дослідження в усіх вікових групах. Через 45 діб інтоксикації у легенях статевонезрілих щурів активність ензиму знизилась у 2 рази, у статевозрілих та у старечого віку тварин – у 1,8 раза.

Ураження щурів усіх дослідних груп ТД призвело до зниження активності ЦО у серці. Ми дослідили активність ензиму в міокарді щурів усіх вікових груп впродовж 45 діб ураження. Результати досліджень наведені на рис. 4.12.

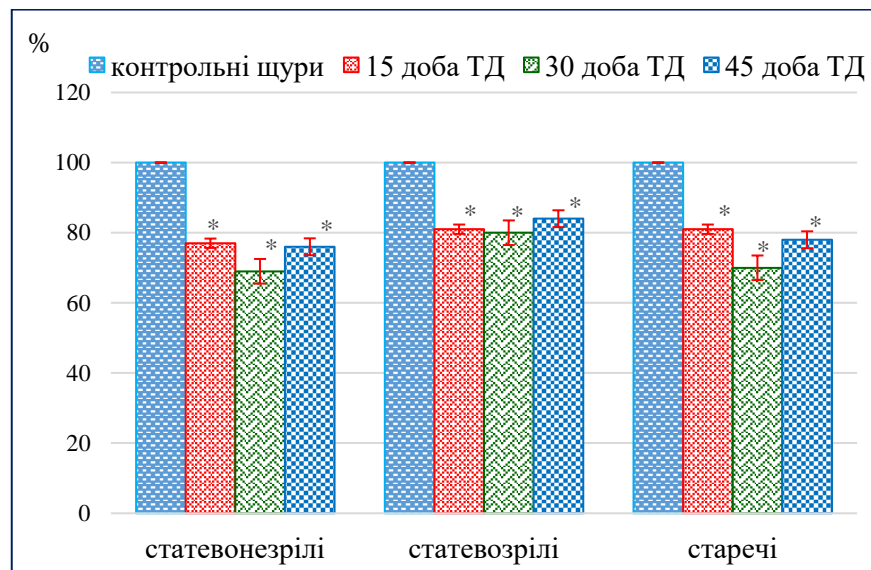


Рис. 4.12. Активність цитохромоксидази у міокарді щурів різного віку після ураження тютюновим димом, %

У міокарді статевонезрілих та старечого віку щурів активність ЦО знижувалась практично однаково у всі терміни дослідження та знаходилась на одному рівні в кінці експерименту (76–78% щодо контролю). У статевозрілих

щурів зниження активності ензиму в міокарді впродовж експерименту було в межах 20 %.

Зниження активності СДГ та ЦО за умов тютюнової інтоксикації можна розцінювати як часткову блокаду кінцевої ланки переносу електронів по дихальному ланцюгу.

Встановлені зміни активності ензимів дихального ланцюга свідчать про пригнічення функції мітохондрій, що може супроводжуватись зниженням вмісту макроергічних сполук [219, 266, 279, 484] та негативно позначатися на перебігу біохімічних процесів в організмі за умов отруєння тютюновим димом.

У патогенезі різних захворювань велике значення надається запаленню, яке обумовлено імунними механізмами, що підтверджують багаточисленні експериментальні дослідження [282, 286, 297, 316]. Запалення розвивається у відповідь на пошкодження та проникнення у тканини патогенів за участі прозапальних цитокінів, до яких відносяться IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, хемокіни. У разі порушень місцевих захисних реакцій запальна реакція поширюється, синтез цитокінів збільшується, вони попадають до кровотоку та проявляють свою дію вже на системному рівні. У цьому випадку прозапальні цитокіни впливають практично на всі органи та системи організму [193, 286, 349, 359, 475, 523]. У процесі куріння утворюються хімічні речовини з цитотоксичним потенціалом, які збільшують некротичні запалення та фіброз. Для ранньої оцінки тяжкості багатьох захворювань як маркер використовують IL-6. Наступний етап репарації включає стихання запальної реакції. Протизапальні інтерлейкіни, до яких відносять IL-10 та IL-4, здатні зменшувати запальні прояви [391, 400].

За умов пасивного куріння ми відмітили збільшення у сироватці крові щурів вмісту прозапального цитокіну IL-6, яке було характерним для усіх вікових груп (табл. 4.17).

Ураження щурів ТД впродовж 15-ти діб призвело до підвищення вмісту ІЛ-6 у сироватці крові статевонезрілих та старечого віку щурів у 1,5 раза, статевозрілих у 1,3 раза, хоча зміни не відмічені як вірогідні.

Таблиця 4.17

Вміст прозапального ІЛ-6 та протизапального ІЛ-4 ( пг/л) у сироватці крові щурів у динаміці ураження тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	прозапальний цитокін ІЛ-6		
Контрольні щури	1,91±0,28	3,00±0,30	4,14±0,17
15 доба ТД	2,87±0,18*	3,94±0,33	6,20±0,23*
30 доба ТД	5,05±0,22*	6,94±0,12*	8,54±0,46*
45 доба ТД	6,43±0,21*	8,31±0,19*	9,97±0,29
	протизапальний цитокін ІЛ-4		
Контрольні щури	1,98±0,04	1,45±0,04	1,36±0,03
15 доба ТД	1,87±0,07	1,39±0,02	1,34±0,02
30 доба ТД	1,65±0,03*	1,31±0,02*	1,19±0,02*
45 доба ТД	1,34±0,03*	1,07±0,02*	0,93±0,04*

Найбільшого значення набув вміст прозапального цитокіну в сироватці крові статевонезрілих щурів (збільшився у 2,6 раза) на 30-ту добу дослідження, тоді як у статевозрілих та старечих даний показник перевищував рівень інтактного контролю в 2,3 та 2,1 раза відповідно.

Через 45 діб тютюнової інтоксикації вміст ІЛ-6 найбільшим виявився у сироватці крові статевонезрілих тварин і перевищував норму в 3,4 раза. У цей же термін даний показник у статевозрілих щурів зріс у 2,8 раза, у старечих – у 2,4 раза.

Відомо, що при токсичних ураженнях виникає дисбаланс про- і протизапальних цитокінів [6, 17, 45, 68].

Доцільним виявилось дослідити вміст протизапальних цитокінів, зокрема ІЛ-4, у сироватці крові усіх дослідних груп тварин. Цей інтерлейкін – найважливіший протизапальний цитокін, який пригнічує індуковану

активність лімфокінактивованих моноцитів і кілерних клітин, інгібує ІЛ-8 і ряд інших цитокінів [132, 157].

Ураження щурів усіх вікових груп тютюновим димом викликало зниження у сироватці крові вмісту протизапального цитокіну ІЛ-4 (табл. 4.17).

Тютюнова інтоксикація впродовж 15-ти діб практично не викликала змін вмісту ІЛ-4 у сироватці крові щурів усіх вікових груп. До кінця експерименту даний показник найбільш виражено знизився у статевонезрілих та старечого віку щурів (в 1,5 раза щодо контролю), у статевозрілих – у 1,35 раза.

Отже, результати наших досліджень підтвердили літературні дані щодо виникнення дисбалансу у системі про- та протизапальних цитокінів за тривалого отруєння щурів тютюновим димом. Встановлено, що найбільш чутливими до дії токсиканта є статевонезрілі тварини, у яких був найвищим вміст у сироватці крові прозапального цитокіну та найнижчим вміст протизапального цитокіну.

Найбільш специфічним і чутливим клініко-лабораторним індикатором запалення та некрозу є С-реактивний протеїн. На відміну від короткоживучих цитокінів (для яких характерні добові коливання) вміст С-РП досить стабільний завдяки його тривалому періоду напіввиведення з організму [486, 509]. СРП є вторинним регулятором синдрому системної запальної відповіді та імуномодулятором, який активує функцію клітин багатьох тканин та систем. Після секреції С-РП, маючи спорідненість до фосфоліпідів, зв'язується з ліпопротеїнами дуже низької щільності та циркулює з ними в плазмі крові та міжклітинному середовищі. Модулюючи активність імунокомпетентних клітин і тромбоцитів, С-РП фактично здійснює зв'язок між різними ланками запального процесу [446, 473, 486, 497].

У наших експериментах доцільним було визначити вміст С-РП у сироватці крові щурів як маркера гострої фази запального процесу.

Тривале отруєння тютюновим димом призвело до підвищення у сироватці крові щурів усіх вікових груп вмісту С-реактивного протеїну (табл. 4.18).

Таблиця 4.18

Вміст С-реактивного протеїну (мг/л) у сироватці крові щурів у динаміці ураження тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	С-реактивний протеїн		
Контрольні щури	2,87±0,21	2,12±0,16	3,29±0,12
15 доба ТД	4,05±0,21*	2,70±0,25	4,95±0,23*
30 доба ТД	4,85±0,30*	3,47±0,24*	6,23±0,37*
45 доба ТД	6,16±0,46*	4,32±0,36*	7,84±0,50*

Найбільшого значення у всі терміни дослідження досяг вміст С-РП у сироватці крові щурів старечого віку і перевищував норму через 15 діб ураження на 50 %, через 30 діб – на 89 % і через 45 діб від початку експерименту – у 1,4 раза.

Отруєння ТД статевонезрілих щурів викликало різке підвищення у сироватці крові С-РП у залежності від терміну дослідження, вміст якого наприкінці експерименту в 2,2 раза був вищим від рівня контрольної групи тварин. У статевозрілих щурів цей показник перевищував рівень контрольних тварин на 104 %.

Зареєстровані нами підвищені рівні С-РП можуть бути діагностичним критерієм оцінки запальних процесів у курців та слугувати несприятливим прогностичним фактором розвитку захворювання легень.

Отже, інтоксикація тютюновим димом викликає дисфункцію мітохондрій, що проявляється зниженням активності енергозабезпечувальних ензимів сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази в органах тварин. Це може бути зумовлено гіпоксичним станом після потрапляння до організму компонентів тютюнового диму, зокрема монооксиду вуглецю.

Токсичний вплив тютюнового диму проявляється активацією запальних процесів, маркерами яких є прозапальні цитокіни (IL-6) та С-реактивний протеїн, а також зниженням продукції протизапального цитокіну IL-4.

#### 4.5. Розвиток нітрооксидативного стресу у щурів, уражених тютюновим димом

Головний компонент смогу діоксид нітрогену ( $\text{NO}_2$ ), який утворюється під час куріння, викликає легеневу токсичність навіть при концентрації одна частина на мільйон частин повітря. Екзогенний NO потрапляє в організм переважно через легені, звідки надходить у кров. Там він зв'язується із гемоглобіном, альбуміном та іншими залізо- та SH-вмісними протеїнами та сполуками, транспортується по судинах до різних тканин і органів [499]. В організмі NO синтезується клітинами з амінокислоти L-аргініну. Цей процес є комплексною окисною реакцією, що каталізується ензимом NO-синтазою, яка приєднує молекулярний кисень до кінцевого атома нітрогену в гуанідиновій групі L-аргініну [189, 284]. Токсичний ефект NO зумовлений зв'язуванням його з супероксидним аніоном ( $\text{O}_2^-$ ) та утворенням існуючого аніону пероксинітриту ( $\text{ONOO}^-$ ) - потужного ініціатора ПОЛ [412, 493]. У той же час,  $\text{ONOO}^-$  — потужний оксидант, який швидко перетворюється на  $\text{NO}_2$  і може викликати окислення ліпідів та утворення токсичних похідних.

Як свідчать результати наших досліджень, після тривалого ураження щурів тютюновим димом у сироватці крові та печінці вірогідно зростає активність індукцйбельної NO-синтази (табл. 4.19).

Через 15 діб ураження ТД вірогідне підвищення активності ензиму в сироватці крові зареєстровано тільки у групі статевонезрілих щурів (у 2 рази вище рівня контрольних тварин). У двох інших дослідних групах у цей період спостерігали тенденцію до підвищення даного показника щодо рівня контролю та вірогідних змін не було ( $p \geq 0,05$ ).

Таблиця 4.19

Активність iNOS у сироватці крові (нг/мл) та печінці (нг/мл; 1 мл –  $10^6$  клітин печінки ) щурів у динаміці ураження тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	13,16±0,95	18,84±1,93	14,86±1,27
15 доба ТД	25,90±1,73*	19,68±1,87	17,85±1,62
30 доба ТД	29,10±2,60*	23,89±1,76	27,37±2,60*
45 доба ТД	36,26±2,17*	26,21±2,20	33,86±2,08*
	Печінка		
Контрольні щури	2,38±0,18	4,02±0,36	2,75±0,24
15 доба ТД	4,24±0,35*	4,46±0,39	3,57±0,15*
30 доба ТД	5,57±0,44*	5,19±0,27	5,20±0,39*
45 доба ТД	6,23±0,36*	5,58±0,42*	6,09±0,40*

Отруєння щурів ТД впродовж 30-ти діб призвело до вірогідного підвищення активності iNOS у сироватці крові статевонезрілих та старечого віку щурів (у 2,2 та 1,8 раза). Ще більшого підвищення зазнав даний показник після отруєння димом впродовж 45-ти діб щурів цих обох вікових груп і до кінця експерименту активність ензиму перевищувала рівень інтактного контролю у 3,8 раза та 2,3 раза відповідно. У статевозрілих щурів активність iNOS у сироватці крові в цей період перевищувала норму в 1,4 раза, що не відмічено вірогідним.

У печінці після 15-добового отруєння тютюновим димом активність iNOS вірогідно зростала у статевонезрілих тварин у 1,8 раза, у старечого віку – у 1,3 раза. У статевозрілих щурів у цей термін дослідження незначно перевищувала норму (на 11 %). Через 30 діб від початку експерименту вірогідне підвищення ( $p \leq 0,05$ ) активності ензиму спостерігали у печінці статевонезрілих та старечого віку тварин. Дослідження активності iNOS на 45-ту добу експерименту показало, що у печінці статевонезрілих щурів вона підвищилась у 2,6 раза, у статевозрілих у 1,4 раза та у старечих – у 2,2 раза. Всі зміни були вірогідними.

Більшість типів клітин організму містять одну або декілька ізоформ NOS. Ці ізоензими експресуються як продукти різних генів, локалізованих в окремих хромосомах. Конститутивні NOS є менш потужними ензимами, ніж індукцибельні, їх поділяють на нейрональну (nNOS) та ендотеліальну (eNOS) ізоформи. NOS III-типу (eNOS)-ендотеліальна кальцій-залежна форма NOS, міститься в ендотелії судин і підтримує їх нормальний тонус, що має важливе значення при курінні. Нещодавно виявлено, що розвиток окисно-нітративного стресу може бути пов'язаний із порушенням механізму авторегуляції рівня NO в тканинах («цикл оксиду нітрогену»). Це призводить до надмірної активації індукцибельної NOS і дисфункції аргіназного метаболічного шляху, який конкурує з NO-синтазним за субстрат – L-аргінін [513 ].

Встановлено, що ураження щурів різного віку тютюновим димом призводило до зниження активності eNOS як у сироватці крові, так і в печінці щурів (табл. 4.20).

Таблиця 4.20

Активність eNOS у сироватці крові (нг/мл) та печінці (нг/мл; 1 мл – 10<sup>6</sup> клітин печінки ) щурів у динаміці ураження тютюновим димом (M±m; n=6)

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	2,23±0,18	2,89±0,22	2,36±0,16
15 доба ТД	1,61±0,12*	2,54±0,22	1,89±0,14
30 доба ТД	1,24±0,11*	2,17±0,19	1,49±0,11*
45 доба ТД	1,10±0,08*	2,01±0,18*	1,29±0,11*
	Печінка		
Контрольні щури	3,26±0,26	4,11±0,19	3,42±0,23
15 доба ТД	1,73±0,15*	2,77±0,23*	2,02±0,14*
30 доба ТД	1,16±0,10*	1,75±0,14*	1,31±0,10*
45 доба ТД	1,09±0,09*	1,62±0,10*	1,25±0,09*

У статевонезрілих щурів активність ензиму у сироватці крові знижувалась на 49 % в останній термін дослідження щодо контролю.



Аналогічне зниження відмічено у печінці даної групи тварин – до кінця експерименту активність eNOS в органі знизилась на 77 %.

У сироватці крові статевозрілих щурів даний показник зазнав вірогідного зниження ( $p \leq 0,05$ ) тільки через 45 діб після ураження ТД. У печінці зрілих щурів зниження активності ензиму було вірогідним у всі терміни дослідження до кінця експерименту сягнуло 39 %.

Зниження активності eNOS залежало від тривалості дії тютюнового диму. Аналогічна тенденція до зниження активності eNOS відмічалась у старечого віку щурів у сироватці крові та печінці після отруєння. У першому випадку даний показник знизився на 45 % у кінці експерименту, у печінці – виявився на 64 % нижчим від контролю.

Отже, ураження щурів тютюновим димом призводило до дисбалансу у функціонуванні NO-системи, що зумовлює розвиток нітрооксидативного стресу шляхом активації індукцибельної NO-синтази та пригнічення активності конститутивної (ендотеліальної) ізоформи ензиму. Найбільш виражені зміни активностей NO-синтаз відмічено у статевонезрілих щурів, що, очевидно, є проявом недостатньої активності функціонального стану печінки у даної групи тварин.

Саме iNOS та NO, який утворюється під її впливом, відіграють головну роль у порушенні вільнорадикальних реакцій, зокрема перекисного окиснення ліпідів, у розвитку та підтримці інших патологічних процесів [516]. NO може окислюватись до нітритів та/або нітратів, які зазвичай виводяться з організму.

Результати дослідження вмісту нітрит-іону в сироватці крові, печінці, міокарді та нирках щурів наведені у таблиці 4.21.

У сироватці крові статевонезрілих та статевозрілих щурів вміст нітрит-іону вірогідно збільшувався у терміні 30-та і 45-та доба після ураження та в кінці експерименту в 1,2 раза перевищував норму. У сироватці крові старечого віку щурів даний показник вірогідно зростав впродовж усього дослідження, перевищуючи рівень контрольних тварин у кінці дослідження теж у 1,2 раза.

Таблиця 4.21

Вміст нітрит-іону у сироватці крові (нмоль/л), печінці, міокарді та нирках (нмоль/кг) щурів у динаміці ураження тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
	Сироватка крові		
Контрольні щури	10,00±0,46	8,20±0,74	8,80±0,56
15 доба ТД	11,10±0,24	9,40±0,24	10,70±0,29*
30 доба ТД	11,60±0,36*	10,30±0,21*	10,40±0,17*
45 доба ТД	11,80±0,44*	10,20±0,18*	10,70±0,46*
	Печінка		
Контрольні щури	7,60±0,22	3,20±0,16	9,90±0,39
15 доба ТД	10,20±0,56*	5,30±0,23*	10,50±0,38
30 доба ТД	9,30±0,24*	4,40±0,17*	12,10±0,24*
45 доба ТД	10,20±0,61*	5,40±0,51*	11,40±0,43*
	Міокард		
Контрольні щури	2,20±0,14	1,60±0,16	1,80±0,15
15 доба ТД	2,80±0,21	1,90±0,19	2,40±0,23
30 доба ТД	3,40±0,25*	2,10±0,13	2,20±0,15
45 доба ТД	4,00±0,26*	2,70±0,14*	3,40±0,14*
	Нирки		
Контрольні щури	8,50±0,29	10,00±0,29	10,40±0,32
15 доба ТД	11,30±0,30*	10,90±0,10*	11,50±0,23*
30 доба ТД	12,40±0,11*	10,90±0,18*	12,40±0,18*
45 доба ТД	13,80±0,50*	11,80±0,26*	12,90±0,27*

Ураження тютюновим димом супроводжувалось підвищенням вмісту нітрит-іону у печінці статевонезрілих щурів у 1,2–1,3 раза впродовж експерименту. Через 15 та 45 діб ми відмітили підвищення даного показника у печінці статевозрілих тварин у 1,7 раза. У терміні 30-та доба рівень нітрит-іону перевищував норму в 1,4 раза. У печінці старечого віку щурів вміст нітрит-іону найвищим виявився через 30 діб отруєння та в 1,2 раза був вищим від рівня контрольних тварин. Через 45 діб ураження він був підвищеним у 1,1 раза.

Найчутливішим до дії токсиканта виявився міокард статевонезрілих щурів, у якому даний показник вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) збільшувався на 30-ту та

45-ту доби ураження та до кінця дослідження був вищим за рівень інтактного контролю на 81 %. У статевозрілих щурів у цей термін спостереження вміст нітрит-іону перевищував норму на 68 %.

Вірогідно зростав досліджуваний показник у нирках токсикованих щурів усіх вікових груп впродовж експерименту та наприкінці у статевонезрілих у 1,6 раза був вищим за норму, у статевозрілих та старечих – у 1,2 раза.

Нами досліджено вміст нітрит-іону в легенях щурів різних вікових груп після інтоксикації тютюновим димом (рис. 4.13).

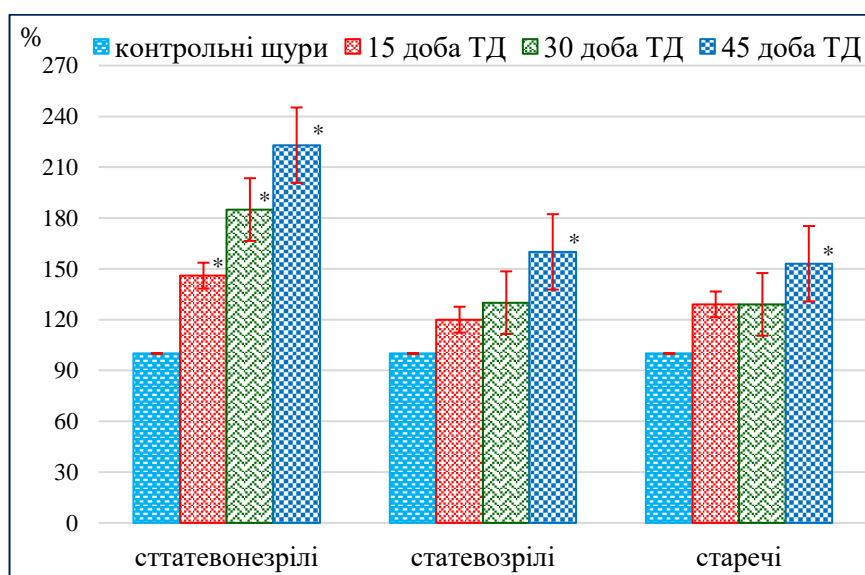


Рис. 4.13. Вміст нітрит-іону в легенях щурів різного віку після ураження тютюновим димом, %

Вміст нітрит-іону в легенях статевонезрілих щурів після отруєння токсикантом зростав найбільш виражено у всі терміни дослідження та через 45 діб інтоксикації підвищився у 1,2 раза щодо контролю. У цей термін даний показник у легенях статевозрілих щурів перевищував рівень контрольних тварин на 60 %, у старечих – на 53 %.

Отже, інтоксикація тютюновим димом призводило до активного утворення в організмі нітроген оксиду, про що свідчило підвищення вмісту нітрит-іону в органах щурів після ураження. Очевидно, отримані нами результати можна пояснити активацією іNO-синтази, які свідчать про

достовірне збільшення рівня метаболітів нітроген оксиду, зокрема нітритів, у сироватці крові та органах щурів, отруєних тютюновим димом. Виявлені нами порушення у функціонуванні NO-системи за тютюнового ураження щурів призвели до розвитку нітрооксидативного стресу в організмі, який найбільш виражений у статевонезрілих тварин.

Результати досліджень, наведені у даному розділі, дозволяють зробити наступні висновки:

1. Тютюнова інтоксикація щурів різного віку впродовж 45-ти діб призводила до збільшення у нейтрофільних гранулоцитах крові вмісту АФО, у крові вмісту карбоксигемоглобіну (у статевонезрілих щурів у 2,8 раза, у статевозрілих у 1,5 раза та у старечих у 2 рази в останній термін дослідження), активації процесів перекисного окиснення ліпідів та окисної модифікації протеїнів, що зумовлено підвищенням вмісту ТБК-активних продуктів та 2,4-динітрофенілгідразонів у органах тварин. Найбільш виражений оксидативний стрес відмічався у статевонезрілих щурів.

2. На тлі інтенсифікації вільнорадикальних реакцій після ураження тютюновим димом виявлено пригнічення системи антиоксидантного захисту в організмі, що підтверджено зниженням у сироватці крові та органах токсикованих щурів супероксиддисмутази, каталази активностей, вмісту відновленого глутатіону, які мали прогресуючий характер в залежності від тривалості ураження. Виявлено одночасне підвищення вмісту купрум-вмісного протеїну з ензиматичною активністю – церулоплазміну, що свідчило про активне його включення у процес інактивації вільних радикалів на початкових етапах розвитку вільнорадикального процесу. Найбільш виражені зміни ( $p \leq 0,05$ ) показників антиоксидантної системи відмічались у статевонезрілих щурів.

3. Ураження щурів різних вікових груп тютюновим димом призводило до активації деструктивних процесів в організмі, що супроводжувалося

підвищенням у сироватці крові та зниженням у печінці, легенях, нирках та міокарді мембранозв'язаних ензимів – амінотрансфераз, гама-глутаміл-транспептидази та лужної фосфатази. Одночасно відмічено збільшення проникності еритроцитарних мембран, на що вказувало підвищення відсотку еритроцитарного індексу інтоксикації, який (на 52 % вище контролю) найбільш виражений у старечого віку щурів. На тлі активації деструктивних процесів спостерігали поглиблення ендogenous інтоксикації в організмі щурів після отруєння тютюновим димом. Це підтверджено збільшенням у сироватці крові маркерів токсемії – молекул середньої маси обох фракцій, вміст яких підвищувався з подовженням терміну інтоксикації та залежав від віку тварин (найбільшого значення даний показник досяг у статевонезрілих щурів до кінця дослідження).

4. Тютюновий дим суттєво пригнічував активність ензимів дихального ланцюга - сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази у печінці, міокарді та легенях щурів. Це призвело до порушень у функціонуванні мітохондрій та розвитку гіпоксичного стану в організмі. Після 45-добового отруєння щурів виявлено прогресуюче збільшення у сироватці крові вмісту С-реактивного протеїну та інтерлейкіну-6, що свідчило про активацію запальних процесів впродовж експерименту на тлі зниження вмісту протизапального інтерлейкіну-4. Найбільш виражені зміни маркерів запалення були у старечого віку щурів (вміст С-реактивного протеїну зростав до кінця експерименту в 1,4 раза;  $p \leq 0,05$ ).

5. Встановлено, що ураження тютюновим димом призвело до посиленого утворення в організмі щурів різного віку нітроген оксиду, підтвердженням чому є підвищений вміст нітрит-іону у сироватці крові та органах токсикованих тварин. Одночасно відмічено дисбаланс у функціонуванні системи NO-синтаз. Тютюнова інтоксикація викликала до підвищення активності індукцибельної NO-синтази та зниження конститутивної її ізоформи – ендотеліальної NO-синтази. Це зумовило розвиток нітрооксидативного

стресу після ураження. Найбільш виражені зміни відмічені у статевонезрілих щурів (до кінця експерименту активність індуцибельної форми підвищилась у сироватці крові в 3,8 раза, у печінці – в 2,6 раза на тлі зниження ендотеліальної форми у цей термін у сироватці крові на 49 %, у печінці на 77 % щодо рівня контрольних тварин).

Наведені в цьому розділі результати досліджень опубліковано в наступних наукових працях:

1. Лихацький ПГ., Фіра ЛС., Качур ОІ. Показники енергозабезпечення в щурів за умов хронічного ураження тютюновим димом. Медична та клінічна хімія. 2016;4(18):34-38.

2. Lyhatskyu PG., Rytsyk OB., Fira LS., Yaremchuk OZ. Age related oxidative processes and endogenous intoxication dynamics of rats arter tobacco smoke affect. International Journal of Medicine and Medical Research. 2016;2(2):47-51.

3. Лихацький ПГ., Фіра ЛС. Розвиток нітрооксидативного стресу та запальних процесів у щурів різного віку, уражених тютюновим димом. Світ медицини та біології. 2017;4(62):145-149.

4. Лихацький ПГ, Фіра ЛС., Бойко ЛА., Федорович УМ. Розвиток цитолітичного синдрому в організмі щурів різного віку, уражених тютюновим димом. Укр.журн.клін. та лаб.медицини. 2017;2(12):12-19.

5. Lykhatskyi PH, Fira LS, Lisnychuk N, Kulitska MI. Effect of tobacco smoke on ros production and inflammation in rats of different age. Georgian Medical News 2018;2(275):150-157.

6. Lykhatskyi PH, Fira LS. 8th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry. Research of activity of oxidative and inflammation processes in the rat s of different ages after their affection by tobacco smoke.; 2017 Sep 18-20; Poland, AU. Lublin (AU).

## РОЗДІЛ 5

МЕХАНІЗМИ УРАЖЕННЯ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ НАТРІЮ НІТРИТОМ  
НА ТЛІ ТЮТЮНОВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА КОРЕКЦІЯ ВИЯВЛЕНИХ  
ПОРУШЕНЬ АНТИГІПОКСАНТАМИ ТА ЕНТЕРОСОРБЕНТАМИ  
(експериментальне дослідження)

Забруднення навколишнього середовища хімічними сполуками призвело до виникнення раніше невідомих хронічних захворювань і патологічних станів. Індукована екологічна патологія частіше всього розвивається під впливом конкретних шкідливих для організму хімічних забруднювачів – солей важких металів, пестицидів, простих поліефірів, гербіцидів, детергентів та ін. Значною екологічною та медико-біологічною проблемою в аграрно-промислових регіонах України є комбінована дія на організм людини та тварин неорганічних нітросполук, що супроводжується випадками нітратно-нітритних інтоксикацій [54, 58, 64, 79, 80, 83, 84].

На сьогодні в медичному світі досить гостро стоїть проблема поєднаної патології. У повсякденному житті людина піддається впливові декількох токсичних чинників, що призводить до загального отруєння організму. Значну роль у розвитку патології відіграють і шкідливі звички – це тютюнопаління, зловживання алкоголем та медикаментозними засобами [16, 61, 65, 66, 78, 82, 89].

Для корекції порушень, які виникають за таких патологій з метою пригнічення активованих окиснювальних процесів, що зумовлені збільшенням вмісту АФО після ураження організму токсикантами та зняття симптомів гіпоксії, використовують препарати з антигіпоксичними та антиоксидантними властивостями. Не викликає сумніву використання за даних умов засобів, які б виводили з організму токсичні продукти екзо- та ендогенного походження. Зазвичай, у таких випадках використовують ентеросорбенти.

У розділах 3 та 4 наведені результати досліджень порушень, які виникають при окремому впливі на організм щурів різного віку натрію нітриту та тютюнового диму. Розділ 5 містить дані з вивчення порушень метаболізму за умов отруєння щурів  $\text{NaNO}_2$  на тлі хронічного ураження тютюновим димом.

В експериментах, наведених у даному розділі, використані щури трьох вікових груп: статевонезрілі, статевозрілі та тварини старечого віку, які піддавались дії натрію нітриту на тлі попереднього ураження впродовж 45-ти діб тютюновим димом.

Тварини розділені на відповідні групи, наведені у табл. 5.1

Таблиця 5.1

Групи тварин	Терміни дослідження				
	Тютюновий дим			Натрію нітрит	
	15 доба	30 доба	45 доба	24 год	72 год
Контрольні щури					
ТД+НН	#+			#+	
ТД+НН	#+				#+
ТД+НН		#+		#+	
ТД+НН+мілдронат		&		&	
ТД+НН+карболайн		*		*	
ТД+НН		#+			#+
ТД+НН+мілдронат		&			&
ТД+НН+карболайн		*			*
ТД+НН			#+	#+	
ТД+НН+мілдронат			&	&	
ТД+НН+карболайн			*	*	
ТД+НН			#+		#+
ТД+НН+мілдронат			&		&
ТД+НН+карболайн			*		*

Примітка. У даній таблиці: #+ – статевонезрілі, статевозрілі та старечого віку тварини, яких отруювали натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації; & – статевонезрілі, статевозрілі та старечого віку тварини, токсиковані натрію нітритом та тютюновим димом, після застосування мілдронату; \* – статевонезрілі, статевозрілі та старечого віку тварини, токсиковані натрію нітритом та тютюновим димом, після застосування карболайну.

За комбінованої дії обох токсикантів на 15-ту, 30-ту та 45-ту доби тютюнової інтоксикації (за 24 та 72 год до вказаного терміну) щурам інтрагастрально вводили натрію нітрит. Натрію нітрит вводився дозою



45 мг/кг маси тіла тварин. Модель тютюнової інтоксикації відтворювалась як описано у розділі 2.

Декільком групам щурів після ураження обома токсикантами інтрагастрально вводили ентеросорбент карболайн у дозі 400 мг/кг маси тіла (починаючи з 15-ї доби інтоксикації тютюновим димом і щодня до кінця експерименту). Ще декілька груп тварин отримували інтрагастрально після ураження препарат мілдронат дозою 120 мг/кг маси тіла (починаючи з 15-ї доби інтоксикації тютюновим димом і щодня до кінця експерименту).

5.1 Динаміка показників вільнорадикальних реакцій у щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників

У реальному житті досить часто людина піддається дії декількох токсичних чинників, що призводить до загального отруєння організму і втягнення в процес ушкодження багатьох органів.

Відомо, що токсична дія нітратів та нітритів полягає в здатності активувати вільнорадикальні процеси окислення, які призводять до розвитку пухлинних процесів, інгібування синтезу ДНК, порушення функції ензимних систем [202, 279]. При тютюнопалінні відбувається генерація активних форм кисню (АФО:  $O_2^{\cdot}$ ,  $OH^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$  та ін.), які відіграють важливу роль у багатьох фізіологічних і біохімічних процесах. Під дією екстремальних факторів різного походження утворення АФО у живих організмів інтенсифікується, що призводить до розвитку оксидативного стресу в організмі, який супроводжується активацією процесів перекисного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації протеїнів [83, 89, 91, 92, 104, 128, 280, 321]. За умов отруєння щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації доцільним було визначити вміст АФО, щоб встановити рівень оксидативного стресу в організмі.

Ми вивчили вміст АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів різних вікових груп після ураження токсикантами. Результати наведені у таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

Вміст АФО (ум.од.) у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	15,06±0,71	18,47±0,22	19,87±0,86
15 доба ТД+24 год НН	37,84±1,09*	29,05±0,53*	36,64±0,77*
15 доба ТД+72 год НН	40,92±0,58*	35,12±0,72*	42,14±0,60*
30 доба ТД+24 год НН	43,52±1,47*	32,53±0,74*	46,47±0,53*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	32,58±1,55#	25,64±0,76#	32,47±0,89#
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	37,55±2,14	30,21±2,91	41,14±2,30
30 доба ТД+72 год НН	45,78±0,84*	37,86±0,67*	52,18±1,20*
30 доба ТД+ 72 год НН +мілдронат	28,30±0,72#	22,60±0,81#	28,01±0,54#
30 доба ТД+ 72 год НН +карболайн	36,66±2,64#	35,29±2,68	36,99±2,21#
45 доба ТД+24 год НН	46,43±1,86*	35,70±0,52*	50,93±0,72*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	30,12±1,20#	21,54±0,53#	38,35±0,49#
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	36,55±3,46	28,38±2,79	46,12±2,85
45 доба ТД+72 год НН	49,25±2,45*	36,47±0,48*	55,94±0,85*
45 добаТД+72 год НН +мілдронат	28,49±0,66#	23,80±1,50#	42,89±0,96#
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	44,44±3,12	31,35±2,35	48,27±3,19

Примітка. Тут і в наступних таблицях даного розділу: \* – вірогідні зміни між показниками контрольних та уражених токсикантами тварин ( $p \leq 0,05$ ); # – вірогідні зміни між показниками уражених тварин та тваринами, яким застосовували коригувальні чинники ( $p \leq 0,05$ ).

Вміст АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові статевонезрілих щурів після ураження зростав в залежності від тривалості експерименту та терміну

застосування обох токсикантів (з 2,5 раза на 15-ту добу отруєння ТД+24 год НН до 3,3 раза на 45-ту добу ТІ +72 год НН).

Аналогічне підвищення вмісту АФО зареєстровано у нейтрофільних гранулоцитах крові статевозрілих та старечого віку щурів, уражених обома токсикантами. У статевозрілих щурів даний показник перевищував норму на 97 % в останній термін дослідження (45 доба ТД+72 год НН). У старечого віку щурів вміст АФО перевищував рівень контрольних тварин у 1,8 раза (рис. 5.1).

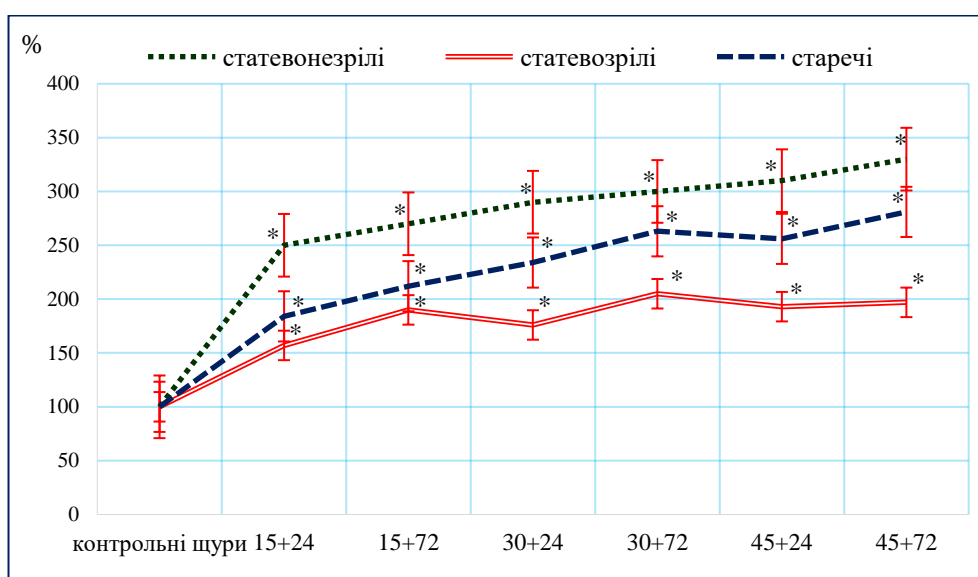


Рис. 5.1. Вміст АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після використання коригувальних чинників, %

Примітка. Тут і в рисунку 5.2 \* – вірогідні зміни між показниками контрольних та уражених токсикантами тварин ( $p \leq 0,05$ ).

З рис. 5.1 видно, що найбільш виражені зміни вмісту АФО спостерігали у нейтрофільних гранулоцитах крові статевонезрілих щурів після ураження обома токсикантами, найбільш стійкими виявились статевозрілі щури, про що свідчив найменший відсоток генерування АФО нейтрофільними гранулоцитами крові саме цієї групи тварин.

Для використаного нами препарату метаболічної дії мілдронату (мельдоній) в експерименті та клініці встановлені позитивні ефекти, перш за все, антиоксидантний. Мельдоній зменшує інтенсивність перекисного

окислення ліпідів і підвищує активність ендогенних антиоксидантів, нівелюючи наслідки окиснювального стресу. Механізм дії препарату визначає різноманіття його фармакологічних ефектів, зокрема антигіпоксичну та кардіопротекторну дії; вазодилатуючу дію та покращення мікроциркуляції в тканинах.

Застосування мілдронату призвело до вірогідного зниження ( $p \leq 0,05$ ) вмісту АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів усіх вікових груп на 30-ту добу ураження тютюновим димом та 24 та 72 год отруєння натрію нітритом. Ще більшого зниження зазнав даний показник при ураженні щурів натрію нітритом (24 та 72 год) через 45 діб тютюнової інтоксикації на тлі 30-добового введення мілдронату і до останнього терміну дослідження вміст АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові статевонезрілих щурів був у 1,7 раза нижчим, ніж в уражених тварин, у статевозрілих – у 1,5 раза, у щурів старечого віку – у 1,3 раза.

Карболайн виявився ефективним на 30-ту добу інтоксикації щурів ТД та 72 год отруєння натрію нітритом, вірогідно знижуючи вміст АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові статевонезрілих та старечого віку щурів (у 1,2 та 1,4 раза відповідно) щодо групи уражених тварин. У групі статевозрілих щурів спостерігалась тенденція до зниження даного показника у цей термін дослідження. У всі інші терміни дослідження зниження АФО у всіх дослідних групах щурів під впливом карболайну не було вірогідним.

АФО проявляють високу реакційну здатність і можуть пошкодити клітинні структури, такі як вуглеводи, нуклеїнові кислоти, ліпіди, протеїни та змінити їх функції [344]. Одним із проявів токсичної дії метаболітів кисню є інтенсифікація реакцій вільнорадикального окиснення. Інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення під дією АФО призводить до посилення пероксидного окиснення ліпідів, окисної модифікації протеїнів, деструкції нуклеїнових кислот, вуглеводів, що спричиняє структурні та метаболічні порушення у клітинах [366, 389, 433, 505].

Нами встановлено, що після одночасного ураження щурів усіх вікових груп ТД та НН у сироватці крові значно активуються процеси ПОЛ, на що вказувало підвищення вмісту ТБК-АП у досліджуваних тканинах (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Вміст ТБК-АП (мкмоль/л) у сироватці крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	3,28±0,23	1,85±0,14	2,35±0,14
15 доба ТД+24 год НН	6,35±0,25*	3,85±0,31*	3,78±0,32*
15 доба ТД+72 год НН	7,06±0,21*	5,50±0,74*	4,92±0,49*
30 доба ТД+24 год НН	6,21±0,32*	5,57±0,31*	6,57±0,21*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	4,00±0,18 <sup>#</sup>	3,37±0,17 <sup>#</sup>	3,92±0,15 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	4,66±0,30 <sup>#</sup>	3,85±0,24 <sup>#</sup>	5,18±0,23 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН	7,14±0,31*	6,00±0,24*	7,43±0,21*
30 доба ТД+ 72 год НН +мілдронат	4,31±0,36 <sup>#</sup>	3,73±0,13 <sup>#</sup>	5,97±0,27 <sup>#</sup>
30 доба ТД+ 72 год НН +карболайн	5,67±0,27 <sup>#</sup>	5,48±0,17	5,01±0,33 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	6,87±0,35*	6,42±0,43*	6,43±0,48*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	5,07±0,24 <sup>#</sup>	4,45±0,17 <sup>#</sup>	4,77±0,25 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	6,12±0,15	5,72±0,18	5,83±0,15
45 доба ТД+72 год НН	16,43±0,39*	14,93±0,34*	12,28±0,50*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	10,50±0,36 <sup>#</sup>	11,07±0,29 <sup>#</sup>	7,48±0,19 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	12,91±0,41 <sup>#</sup>	13,21±0,61	8,49±0,21 <sup>#</sup>

Вміст ТБК-АП у сироватці крові щурів, уражених одночасно обома токсикантами, значно перевищував вміст, який зареєстровано після окремої дії кожного чинника (роз. 3,4).

В усіх групах тварин даний показник прогресуюче зростав і в кінці експерименту перевищив норму в сироватці крові статевонезрілих щурів у 5 разів, статевозрілих – у 8 разів, старечого віку – у 3,6 раза.

Мілдронат проявив ефективний вплив на даний показник, знижуючи вміст ТБК-АП порівняно з ураженими тваринами у всі терміни експерименту та в усіх дослідних групах щурів.

Аналогічно позитивний вплив на вміст продуктів ліпопероксидації в сироватці крові уражених токсикантами щурів проявив ентеросорбент карболайн.

Нами відмічено найвищий вміст ТБК-АП у печінці статевонезрілих та статевозрілих щурів після отруєння, який поступово збільшувався та досяг максимального значення у кінці дослідження (рис. 5.2).

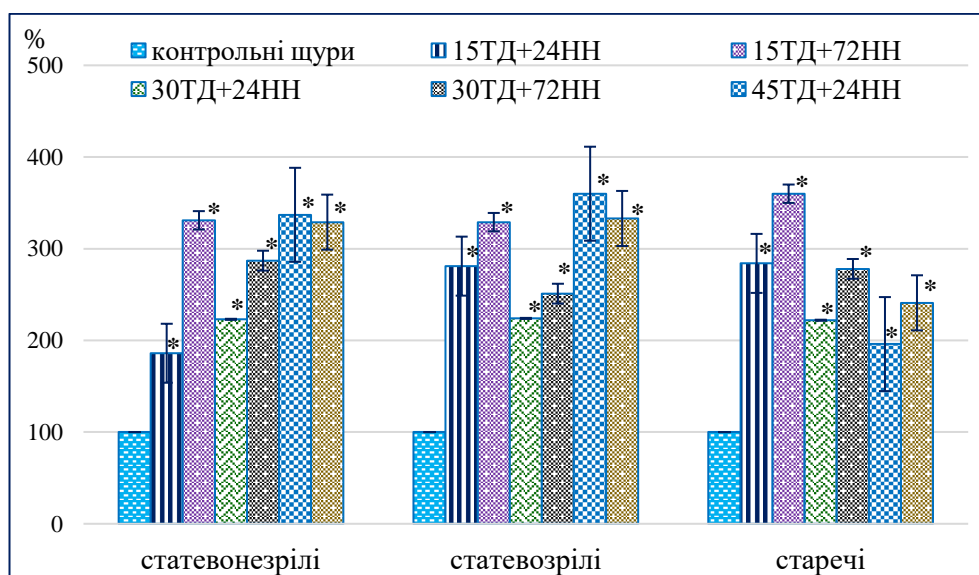


Рис. 5.2. Вміст ТБК-АП у печінці щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, %

У щурів старечого віку даний показник у кінці дослідження був нижчим, ніж через 15 діб отруєння токсикантами. Застосування обох коригувальних чинників призвело до зниження вмісту ТБК-АП у печінці усіх вікових груп тварин протягом експерименту. Аналогічну активацію процесів ліпопероксидації після ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації ми спостерігали у нирках щурів різного віку. До кінця експерименту вміст

ТБК-АП підвищився у нирках статевонезрілих щурів у 3,6 раза, старечих – у 3,5 раза та у статевозрілих – у 2,4 раза (додаток А.) .

Після введення в уражений організм мілдронату вміст ТБК-АП вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) знижувався у нирках щурів усіх вікових груп як на 30-ту добу ТД (+24 год, 72 год НН) експерименту, так і на 45-ту добу інтоксикації тютюновим димом (+24 год, 72 год НН).

Застосований нами карболайн ефективність на даний показник у нирках статевонезрілих та старечих щурів проявив у кінці дослідження, вірогідно його знижуючи. У групі статевозрілих щурів карболайн не призвів до виразного зниження вмісту ТБК – АП у всі терміни дослідження.

Враховуючи, що мішенями токсичної дії тютюнового диму є легені та серце, доцільним було дослідити активність процесів ліпопероксидації у цих органах.

Найбільш чутливими до дії обох токсикантів виявились легені статевонезрілих щурів, у яких вміст ТБК-АП був найвищим як на 15-ту добу інтоксикації, так і на 45-ту доби ураження ТД (24 і 72 год після потрапляння на цьому тлі натрію нітриту; табл. 5.4).

У кінці експерименту в легенях статевонезрілих щурів даний показник підвищився у 4,3 раза порівняно з контрольними тваринами, зрілих – у 3,8 раза та старечих – у 3,6 раза.

Застосування мілдронату призвело до зниження вмісту продуктів ліпопероксидації у легенях щурів різних вікових груп у всі терміни дослідження, але вміст ТБК-АП ще далеко не досягав рівня контролю, що можливо, потребує більш тривалого використання даного коригувального чинника.

Карболайн через 24 та 72 год отруєння натрію нітритом на тлі 30-добової інтоксикації ТД ефективного впливу на вміст ТБК-АП у легенях щурів усіх дослідних груп не проявив. Ефективність його застосування відмічалась у останній термін дослідження (45-та доба ураження тютюновим димом та 24 і 72 год ураження НН), даний показник зазнав вірогідного зниження у порівнянні з ураженими тваринами.

Дослідження вмісту ТБК-АП у міокарді щурів після їх ураження токсикантами показало його підвищення впродовж експерименту в усіх вікових групах.

Таблиця 5.4

Вміст ТБК-АП (мкмоль/кг) у легенях щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	18,66±0,60	21,82±1,51	21,36±2,13
15 доба ТД+24 год НН	28,85±1,85*	37,39±2,57*	50,21±1,58*
15 доба ТД+72 год НН	34,72±2,80*	48,61±1,53*	51,81±1,74*
30 доба ТД+24 год НН	37,81±1,10*	42,30±1,13*	47,00±1,62*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	31,41±1,69 <sup>#</sup>	33,33±2,12 <sup>#</sup>	38,03±2,77 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	35,90±2,96	39,96±2,13	41,55±2,04
30 доба ТД+72 год НН	39,95±1,47*	47,47±1,73*	54,37±2,07*
30 доба ТД+ 72 год НН +мілдронат	28,42±0,87 <sup>#</sup>	30,87±1,15 <sup>#</sup>	42,95±2,02 <sup>#</sup>
30 доба ТД+ 72 год НН +карболайн	36,43±1,38	44,65±2,25	46,47±1,97 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	53,41±2,10*	56,83±2,51*	58,11±1,45*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	23,18±1,02 <sup>#</sup>	28,84±1,57 <sup>#</sup>	37,92±1,33 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	38,67±1,38 <sup>#</sup>	45,19±1,44 <sup>#</sup>	47,11±1,49 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	79,70±2,10*	81,83±1,75*	77,13±2,76*
45 добаТД+72 год НН +мілдронат	47,46±2,25 <sup>#</sup>	41,77±2,00 <sup>#</sup>	32,58±1,81 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	66,02±1,52 <sup>#</sup>	46,68±2,55 <sup>#</sup>	57,15±2,41 <sup>#</sup>

Найвираженіші зміни у вмісті ТБК-АП відмічали у міокарді статевонезрілих тварин (рис. 5.3).

Вміст ТБК-АП у міокарді статевонезрілих щурів зростав після ураження в залежності від терміну дослідження та наприкінці дослідження у 12,3 раза перевищував рівень контрольних тварин.



Обидва коригувальних чинники призвели до зниження вмісту продуктів ліпопероксидації у міокарді статевонезрілих щурів. Більш ефективним виявився мілдронат, під впливом якого даний показник знижувався найвиразніше.

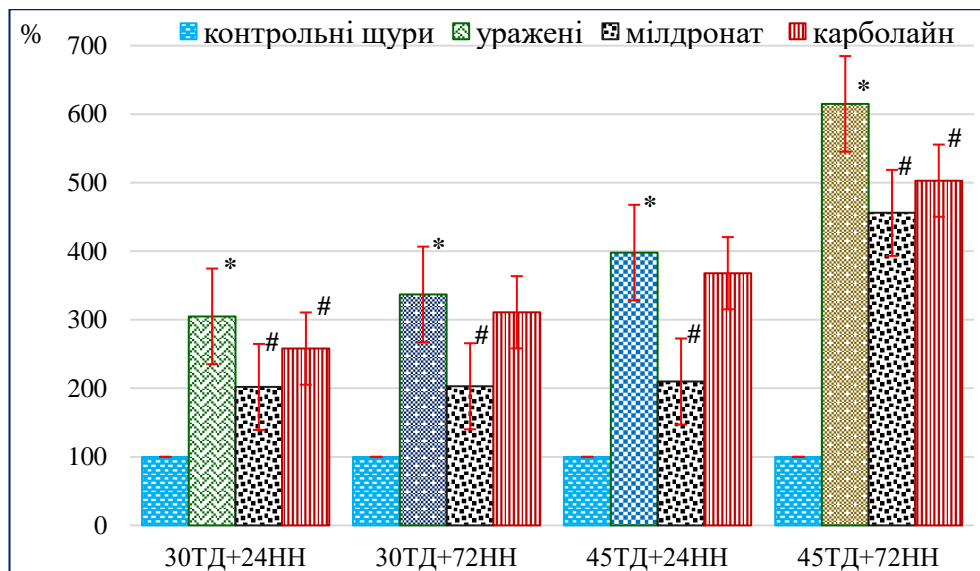


Рис. 5.3. Вміст ТБК-АП у міокарді статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

Примітка. Тут і в рисунках 5.4–5.21 \* – вірогідні зміни між показниками контрольних та уражених токсикантами тварин ( $p \leq 0,05$ ); # – вірогідні зміни між показниками уражених тварин та тваринами, яким застосовували коригувальні чинники ( $p \leq 0,05$ ).

У міокарді статевозрілих щурів досліджуваний показник по завершенні терміну інтоксикації зріс у 3,6 раза, у старечих – у 3,8 раза. Введення в уражений обома токсикантами організм мілдронату супроводжувалось вірогідним зниженням вмісту ТБК-АП в обох вікових групах. Дещо менш коригувальний вплив на даний показник проявив карболайн.

Найчутливішими виявились статевонезрілі щури, вміст ТБК-АП у міокарді яких підвищився найвиразніше. Це може бути наслідком підвищеної чутливості до стресу саме цієї групи тварин. Однією із причин такого стану є посилений викид в кров катехоламінів у відповідь на стресовий чинник (дим),

зокрема адреналіну, який у підвищених дозах проявляє токсичний вплив на міокард, чим ще більше активує перебіг процесу ліпопероксидації та підвищення вмісту проміжних його продуктів у серці. Приєднання до токсичної дії диму на організм ще одного токсиканта – натрію нітриту – викликало виражену інтенсифікацію процесу ПОЛ.

Відомо, що окиснення протеїнів під дією активних форм кисню з утворенням альдегідо- чи кетогруп є однією із адаптаційних систем і стимулює активацію мультикаталітичних протеаз, що вибірково руйнують окиснені протеїни. При надмірному утворенні активних форм кисню, зокрема при оксидативному стресі, модифікація протеїнів завершується утворенням кислих груп у їх молекулах, що свідчить про глибоке порушення рівноваги про- й антиоксидантної системи [237, 291, 334].

Під час дослідження окисної модифікації протеїнів в організмі щурів нами встановлено підвищення вмісту 2,4-ДНФГ як основного, так і нейтрального характеру у сироватці крові тварин усіх вікових груп після ураження їх натрію нітритом на тлі інтоксикації тютюновим димом. Продукти окисної модифікації протеїнів нейтрального характеру прогресуюче збільшувались у сироватці крові щурів усіх вікових груп після ураження обома токсикантами та до кінця дослідження перевищували норму. У статевонезрілих щурів даний показник збільшився у 4,3 раза, у статевозрілих та старечого віку – у 5 разів (табл. 5.5).

Для пригнічення активованих процесів ОМП ми використали мілдронат, який проявив ефективний вплив на всі групи тварин у всі терміни дослідження. Відмічено вірогідне зниження ( $p \leq 0,05$ ) досліджуваного показника впродовж експерименту.

Карболайн мав ефективний вплив на 2,4-ДНФГ нейтрального характеру в сироватці крові. Вірогідне зниження продуктів ОМП після його застосування відмічено на 30-ту добу (24 та 72 год НН) тютюнової інтоксикації. У кінці експерименту ентеросорбент ефективного впливу на даний показник не проявив ( $p \geq 0,05$ ).

Ми дослідили вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру в органах щурів після ураження натрію нітритом на тлі інтоксикації тютюновим димом.

Таблиця 5.5

Вміст 2,4-динітрофенілгідразонів нейтрального характеру (мкмоль/г протеїну) у сироватці крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/ година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,037±0,002	0,020±0,001	0,030±0,001
15 доба ТД+24 год НН	0,064±0,001*	0,048±0,001*	0,063±0,001*
15 доба ТД+72 год НН	0,078±0,002*	0,058±0,001*	0,072±0,001*
30 доба ТД+24 год НН	0,096±0,002*	0,055±0,002*	0,088±0,002*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,063±0,002 <sup>#</sup>	0,035±0,001 <sup>#</sup>	0,054±0,002 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,077±0,002 <sup>#</sup>	0,045±0,001 <sup>#</sup>	0,072±0,007
30 доба ТД+72 год НН	0,106±0,002*	0,070±0,001*	0,099±0,002*
30 доба ТД+ 72 год НН +мілдронат	0,072±0,001 <sup>#</sup>	0,051±0,001 <sup>#</sup>	0,066±0,001 <sup>#</sup>
30 доба ТД+ 72 год НН +карболайн	0,096±0,002 <sup>#</sup>	0,061±0,001 <sup>#</sup>	0,090±0,008
45 доба ТД+24 год НН	0,139±0,09*	0,086±0,002*	0,121±0,007*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,109±0,002 <sup>#</sup>	0,069±0,002 <sup>#</sup>	0,096±0,002 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,126±0,001	0,077±0,005	0,115±0,001
45 доба ТД+72 год НН	0,158±0,002*	0,099±0,003*	0,149±0,006*
45 добаТД+72 год НН +мілдронат	0,123±0,002 <sup>#</sup>	0,083±0,002 <sup>#</sup>	0,108±0,001 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,145±0,001 <sup>#</sup>	0,091±0,005	0,137±0,001

Ураження щурів обома токсикантами призвело до збільшення вмісту ОМП нейтрального характеру у печінці щурів. Найбільшого значення даний показник сягнув у статевозрілих та старечих щурів, перевищуючи рівень контрольних тварин у кінці експерименту в 2,5 раза. У статевонезрілих щурів він виявився у 2,2 раза вище контролю (додаток Б. 1). Більш ефективний вплив

на продукти ОМП проявив мілдронат, який вірогідно знижував їх вміст впродовж експерименту в печінці щурів усіх вікових груп. На 30-ту добу інтоксикації ТД та обидва терміни отруєння НН карболайн позитивного впливу на досліджуваний показник не проявив. В останній термін дослідження застосування ентеросорбенту виявилось ефективним щодо даного показника у печінці всіх вікових груп тварин.

При дослідженні вмісту продуктів ОМП нейтрального характеру в легенях щурів, ми відмітили, що найбільш чутливими до дії токсикантів були статевонезрілі щури, у яких даний показник збільшився до кінця експерименту у 2,4 раза порівняно з групою контрольних тварин (рис. 5.4).

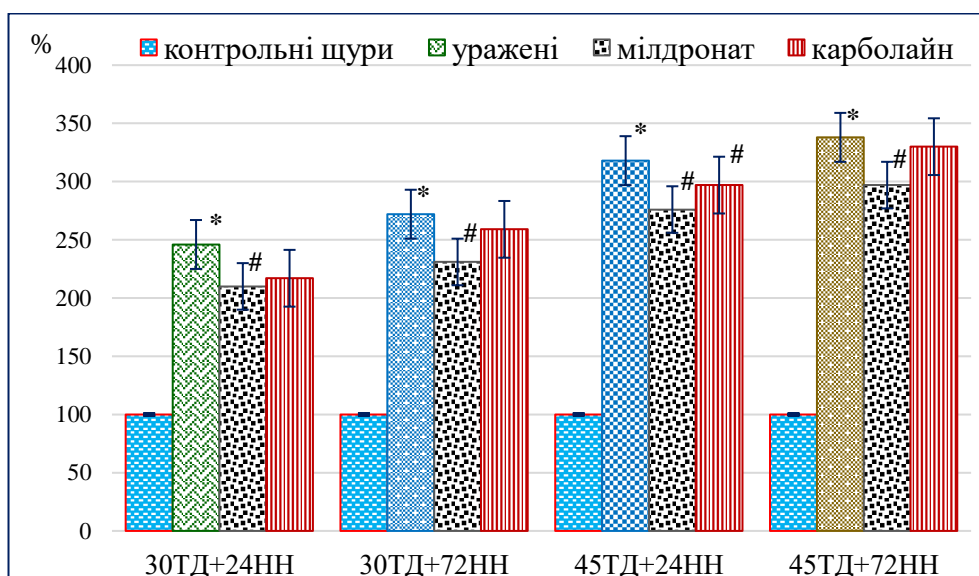


Рис. 5.4. Вміст 2,4-ДНФГ(370) у легенях статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

У легенях статевозрілих щурів вміст 2,4-ДНФГ (370) через 45 діб тютюнової інтоксикації та 72 год після введення НН підвищився у 2,9 раза, у старечих – у 3 рази. Введення в організм токсикованих щурів мілдронату призвело до зниження дослідного показника у легенях статевонезрілих, статевозрілих та старечого віку щурів у всі терміни дослідження. Вірогідне зниження даного показника відмічали на 30-ту добу ураження ТД та через 24 та 72 год отруєння натрію нітритом у легенях статевозрілих щурів. У кінці

експерименту під впливом карболайну вміст 2,4-ДНФГ(370) зазнав виразних змін теж у цій віковій групі тварин.

Аналогічне підвищення вмісту продуктів ОМП нейтрального характеру відмічено у міокарді тварин усіх вікових груп впродовж експерименту, до кінця якого показник підвищився у 2,5 раза у статевозрілих та старечого віку щурів, у статевозрілих – у 2,7 раза (додаток Б .2).

Мілдронат проявляв позитивний вплив на даний продукт у міокарді щурів різного віку, вірогідно знижуючи його у всіх групах тварин впродовж експерименту. Ефективність застосування карболайну проявилась вибірково після 15-ти діб його застосування (30-та доба ТІ та 24 і 72 год отруєння НН). Введення ентеросорбенту токсикованим впродовж 30-ти діб щурам призвело до вірогідного зниження 2,4-ДНФГ(370) у міокарді щурів різного віку, проте мілдронат виявився більш ефективним.

Найчутливішими до дії токсикантів були нирки статевонезрілих щурів, у яких через 72 год поступлення в організм натрію нітриту на тлі 45-ти добової інтоксикації ТД вміст продуктів ОМП нейтрального характеру підвищився у 2,9 раза порівняно з рівнем контрольних тварин. У цей же термін дослідження даний показник у нирках статевозрілих щурів перевищував норму у 2,6 раза, у старечих – у 2,5 раза (додаток Б. 3). Застосування мілдронату виявилось ефективним щодо даного показника при визначенні його у нирках всіх дослідних груп тварин. Ентеросорбент карболайн ефективності не проявив, спостерігалась тенденція до зниження вмісту 2,4-ДНФГ нейтрального характеру у нирках щурів, але вірогідних змін не відмічено.

Нами досліджено вміст 2,4-ДНФГ(430) основного характеру в органах щурів після їх одночасного ураження токсикантами.

При визначенні даного показника у сироватці крові найбільше його підвищення у кінці експерименту було у групі щурів старечого віку – у 5,3 раза, тоді як у групі статевонезрілих тварин – у 4,9 раза та у статевозрілих – до 4,4 раза щодо контрольного рівня (рис. 5.5).

Мілдронат проявляв ефективний вплив на досліджуваний показник, вірогідно знижуючи його у сироватці крові щурів різного віку. Після

застосування карболайну спостерігали тенденцію до незначного зниження вмісту 2,4-ДНФГ(430) у сироватці крові токсикованих щурів.

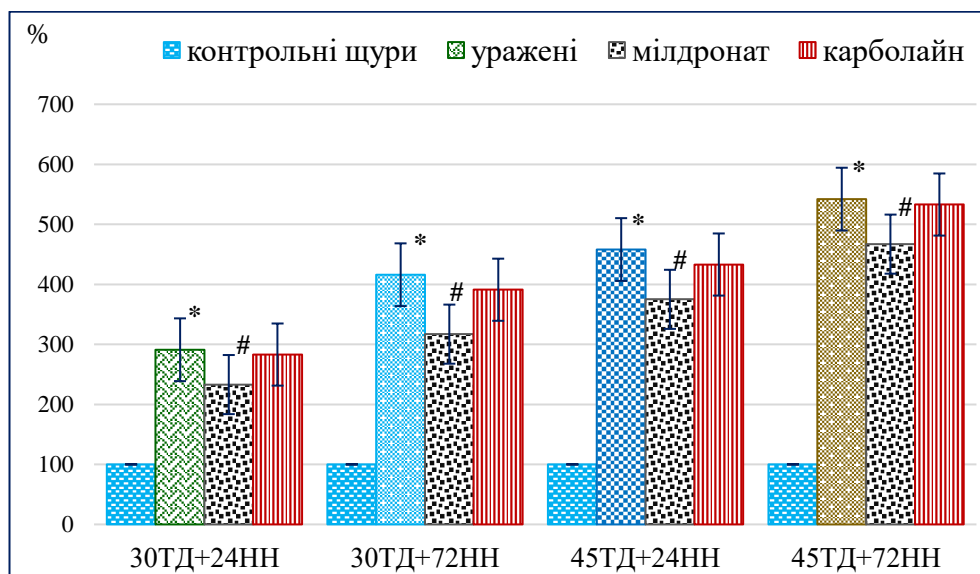


Рис. 5.5. Вміст 2,4-ДНФГ(430) у сироватці крові щурів старечого віку, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

Аналогічні зміни вмісту продуктів ОМП(430) відмічались у печінці токсикованих щурів усіх вікових груп – даний показник прогресуюче збільшувався до кінця експерименту (додаток В. 1) і перевищував норму в статевонезрілих тварин у 2,2 раза, у статевозрілих – у 2,8 раза та у старечих – у 2 рази. Введення ураженим щурам мілдронату призвело до вірогідного зниження вмісту 2,4-ДНФГ(430) у печінці щурів усіх дослідних груп. Карболайн вираженого впливу на даний показник у печінці тварин різного віку не проявив.

Враховуючи тропність тютюнового диму до легень тварин, ми дослідили вміст продуктів ОМП основного характеру в цьому органі у щурів усіх вікових груп (табл. 5.6).

Вміст 2,4-ДНФГ(430) підвищувався у легенях уражених щурів усіх вікових груп і наприкінці дослідження у статевонезрілих тварин у 2,3 раза перевищував норму, у статевозрілих – у 2,5 раза, у старечих – у 1,9 раза був вищим, ніж у тварин групи контролю.

Таблиця 5.6

Вміст 2,4-динітрофенілгідразонів основного характеру (мкмоль/г протеїну) у легенях щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,030±0,001	0,019±0,001	0,027±0,002
15 доба ТД+24 год НН	0,044±0,003*	0,026±0,002	0,034±0,002
15 доба ТД+72 год НН	0,050±0,003*	0,033±0,002*	0,038±0,003*
30 доба ТД+24 год НН	0,050±0,003*	0,036±0,003*	0,041±0,002*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,041±0,003 <sup>#</sup>	0,027±0,002 <sup>#</sup>	0,029±0,002 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,042±0,003	0,031±0,002	0,038±0,002
30 доба ТД+72 год НН	0,060±0,003*	0,041±0,002*	0,047±0,003*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,046±0,001 <sup>#</sup>	0,031±0,002 <sup>#</sup>	0,036±0,002 <sup>#</sup>
30 доба ТД+ 72 год НН +карболайн	0,052±0,002	0,036±0,001	0,039±0,002
45 доба ТД+24 год НН	0,060±0,003*	0,038±0,002*	0,049±0,003*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,050±0,004	0,032±0,002	0,036±0,002 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,058±0,003	0,036±0,002	0,042±0,002
45 доба ТД+72 год НН	0,069±0,003*	0,047±0,002*	0,052±0,004*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,061±0,001	0,039±0,002 <sup>#</sup>	0,039±0,002 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,065±0,002	0,043±0,002	0,043±0,002

Обидва коригувальних чинники проявили позитивний вплив на вміст продуктів ОМП основного характеру у легенях уражених тварин, але він був менш вираженим, ніж в інших органах. Під впливом мілдронату даний показник знижувався більш виражено. Після застосування карболайну спостерігали тенденцію до зниження місту 2,4-ДНФГ(430) у легенях уражених щурів, що, очевидно, пов'язано з опосередкованим його впливом як на досліджуваний показник, так і на орган, в якому його визначали.

Вивчено вміст продуктів ОМП основного характеру у міокарді щурів після їх отруєння натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації (додаток В. 2).

Міокард щурів старечого віку виявився найбільш чутливим до дії токсикантів. Досліджуваний показник прогресуюче зростав і наприкінці експерименту в даної групи тварин у 3 рази перевищив рівень контролю. У цьому терміні дослідження вміст 2,4-ДНФГ(430) у міокарді статевонезрілих та статевозрілих тварин підвищився в 2,5 раза порівняно з рівнем контрольної групи щурів. Відмічено ефективність застосування мілдронату при визначенні даного показника у міокарді уражених щурів – під впливом антигіпоксанта вміст 2,4-ДНФГ(430) вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) знижувався в усіх вікових групах. Застосування карболайну не призвело до вірогідних змін даного показника після ураження, спостерігалась тенденція до його зниження.

У нирках уражених токсикантами щурів вміст 2,4-ДНФГ основного характеру підвищувався в залежності від терміну дослідження та від віку тварин (додаток В. 3). Через 72 год від потрапляння натрію нітриту до організму токсикованих впродовж 45-ти діб тютюновим димом тварин, даний показник підвищився у нирках статевонезрілих щурів у 2,9 раза, статевозрілих – у 3,3 раза та у старечих – у 3,6 раза. Препарат метаболічної дії мілдронат ефективно знижував вміст продуктів ОМП основного характеру у нирках щурів усіх вікових груп, хоча досліджуваний показник рівня контрольних тварин ще не досягав. Ентеросорбент карболайн виявився менш ефективним, вірогідного зниження даного показника у нирках щурів різного віку ми не зареєстрували.

Таким чином, відмічено, що після ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації відбуваються процеси модифікації протеїнових молекул, які призвели до нагромадження у сироватці крові та органах тварин альдегідо-та кетопохідних цих сполук.

Застосування мілдронату ефективно вплинуло на вільнорадикальні процеси в організмі щурів усіх вікових груп, що підтверджено зниженням вмісту продуктів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів у



сироватці крові, легенях та міокарді тварин після одночасного ураження токсикантами. Ентеросорбент карболайн виявився менш ефективним щодо пригнічення активованих вільнорадикальних процесів в організмі тварин після отруєння натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації.

Відомо, що потрапляння до організму натрію нітриту супроводжувалося розвитком гемічної гіпоксії, на що вказувало підвищення вмісту метгемоглобіну у крові щурів після ураження. Процес утворення метгемоглобіну в організмі носить вільнорадикальний характер.

Дослідження вмісту MetHb у крові щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, показало його збільшення в усіх вікових групах впродовж експерименту. Після ураження обома токсикантами найчутливішими виявились статевонезрілі щури, у яких даний показник різко зростає і до кінця експерименту був найвищим – у 3,3 раза порівняно з контрольними тваринами (рис. 5.6).

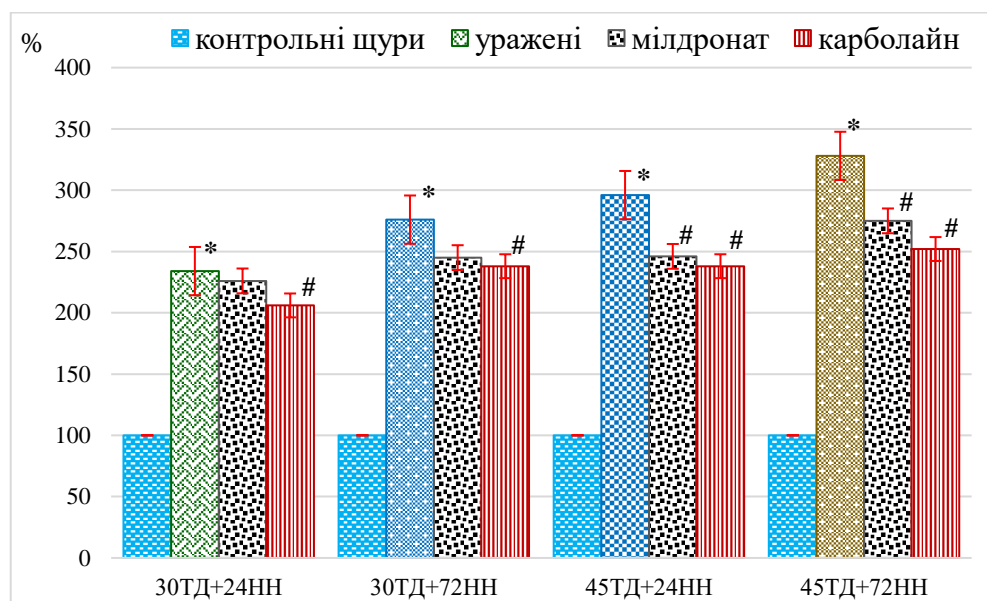


Рис. 5.6. Вміст метгемоглобіну у крові статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

У цей термін дослідження вміст MetHb у крові статевозрілих щурів підвищився у 2,7 раза, у старечих – у 2,6 раза щодо рівня контрольних тварин.

Використаний нами з метою корекції мілдронат призвів до зниження даного показника у крові статевонезрілих щурів на 53 %. Після застосування карболайну вміст MetHb у крові цієї групи тварин знизився на 76 %. Аналогічний вплив на процес метгемоглобіноутворення проявили мілдронат та карболайн у групах статевозрілих та щурів старечого віку.

Ще одним показником, який характеризує патологічні зміни в організмі тварин після ураження тютюновим димом та сприяє поглибленню гіпоксії є карбоксигемоглобін.

Окис карбону, або чадний газ, що міститься у тютюновому димі, має властивість зв'язувати дихальний пігмент крові – гемоглобін. Утворений при цьому карбоксигемоглобін не здатний переносити кисень; в результаті порушуються процеси тканинного дихання. Встановлено, що при викурюванні пачки сигарет людина вводить, в організм понад 400 мілілітрів чадного газу, внаслідок чого концентрація карбоксигемоглобіну в крові значно зростає [453, 522].

Вивчено вміст карбоксигемоглобіну в крові токсикованих тютюновим димом щурів різного віку та після ураження їх натрію нітритом, а також при застосуванні антигіпоксанта мілдронату та ентеросорбента карболайну як коригувальних чинників (табл. 5.7).

До кінця експерименту у крові статевонезрілих щурів (при дії обох токсикантів) вміст HbCO підвищився найбільше – у 3 рази перевищував норму, у статевозрілих – у 1,5 раза та у старечих – у 2,3 раза перевищував рівень тварин контрольної групи.

В усі терміни дослідження мілдронат проявив позитивний вплив на даний показник у крові щурів усіх дослідних груп. Вміст карбоксигемоглобіну у статевонезрілих щурів знизився в 1,7 раза через 45 діб отруєння ТД та 72 год з моменту потрапляння до організму натрію нітриту. У цей же час даний показник у крові статевозрілих щурів знизився в 1,4 раза, у крові щурів старечого віку – в 1,6 раза. Ефективність застосування мілдронату відмічалась

впродовж усього експерименту та проявилась вірогідним ( $p \leq 0,05$ ) зниженням вмісту карбоксигемоглобіну у крові тварин усіх дослідних груп.

Таблиця 5.7

Вміст карбоксигемоглобіну (г/л) у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,0148±0,0012	0,0207±0,0016	0,0188±0,0017
15 доба ТД+24 год НН	0,0243±0,020*	0,0281±0,0021*	0,0273±0,0023*
15 доба ТД+72 год НН	0,0258±0,0024*	0,0295±0,0012*	0,0287±0,0024*
30 доба ТД+24 год НН	0,0341±0,0024*	0,0298±0,0028*	0,0322±0,0022*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,0247±0,0014 <sup>#</sup>	0,0208±0,0015 <sup>#</sup>	0,0262±0,0022 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,0305±0,0026	0,0285±0,0023	0,0313±0,0030
30 доба ТД+72 год НН	0,0368±0,0020*	0,0308±0,0029*	0,0353±0,0034*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,0223±0,0018 <sup>#</sup>	0,0202±0,0018 <sup>#</sup>	0,0243±0,0022 <sup>#</sup>
30 доба ТД+ 72 год НН +карболайн	0,0307±0,022	0,0265±0,0023	0,0333±0,0027
45 доба ТД+24 год НН	0,0428±0,0040*	0,0328±0,0028*	0,0408±0,0026*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,0262±0,0020 <sup>#</sup>	0,0211±0,0020 <sup>#</sup>	0,0283±0,0025 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,0402±0,0029	0,0293±0,0025	0,0358±0,0028
45 доба ТД+72 год НН	0,0448±0,0038*	0,0311±0,0022*	0,0437±0,0035*
45 добаТД+72 год НН +мілдронат	0,0257±0,0018 <sup>#</sup>	0,0222±0,0021 <sup>#</sup>	0,0273±0,0019 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,0387±0,0019	0,0273±0,0022	0,0391±0,0032

При застосуванні карболайну впродовж 30-ти діб спостерігали тенденцію до зниження вмісту карбоксигемоглобіну в уражених щурів, але

вірогідних змін не відмічено ні в один термін дослідження в усіх вікових групах тварин.

Отже, отримані результати дозволяють відмітити, що найбільш чутливими до одночасного ураження натрію нітритом та тютюновим димом є статевонезрілі щури, у яких вміст карбоксигемоглобіну після ураження є найвищим.

Дані, наведені у цьому підрозділі, дозволяють стверджувати, що отруєння натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації призводило до інтенсивної активації вільнорадикальних процесів, які супроводжувалися глибокими порушеннями процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів.

Все це зумовлює розвиток оксидативного стресу в ураженому організмі, на що вказувало підвищення вмісту АФО у крові щурів після ураження, а також призводило до гіпоксії (як гемічної, так і циркуляторної). Можна стверджувати, що використані нами токсиканти підсилюють дію один одного. Дослідженнями доведено, що більш чутливими до дії натрію нітриту на тлі ураження тютюновим димом є статевонезрілі щури. Використані нами антигіпоксанти мілдронат та ентеросорбент карболайн проявили позитивний вплив вибірково на досліджувані показники. Більш ефективний вплив на процеси вільнорадикального окиснення проявив мілдронат.

5.2 Порушення в антиоксидантній системі щурів різних вікових груп, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників

Антиоксидантна система захисту організму контролює та гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій, починаючи від їх ініціації та закінчуючи утворенням гідроперекисів та МДА. Основний механізм контролю цих реакцій пов'язаний із ланцюгом оборотних окисно-відновних реакцій іонів

металів, глутатіону, аскорбату, токоферолу та інших речовин, значення яких особливо важливо для збереження довгоіснуючих макромолекул нуклеїнових кислот і протеїнів, деяких складових мембран [79, 89, 94, 136].

Про- й антиоксидантна системи перебувають у стані динамічної рівноваги, що підтримується певною організацією плазмових і клітинних ліпідів, мембранних фосфоліпідів і холестеролу, які визначають ліпідний рівень окиснюваності клітинних мембран. Порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу є потенційною передумовою розвитку оксидативного стресу. Надмірна активація вільнорадикальних процесів тягне за собою цілий каскад негативних реакцій та патологічних процесів [196, 199, 214, 222, 305].

За умов ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації ми дослідили супероксиддисмутазну активність у сироватці крові та печінці щурів усіх вікових груп. Так у сироватці крові щурів усіх вікових груп після ураження СОД активність знижувалась (табл. 5.8).

СОД активність у сироватці крові статевонезрілих щурів до кінця експерименту знизилась у 2,5 раза при отруєнні обома токсикантами, у статевозрілих у 1,6 раза та у старечих була нижча контрольної групи в 1,9 раза.

Застосування з метою корекції впродовж 15-ти діб мілдронату вірогідно підвищило даний показник тільки у сироватці крові статевонезрілих тварин на 30-ту добу ураження ТД та 24 год після отруєння натрію нітритом. У терміні 30-та доба тютюнової інтоксикації та 72 год отруєння НН вірогідне підвищення СОД активності було в групах статевонезрілих та старечого віку тварин після застосування коригувального чинника. До кінця експерименту мілдронат проявив ефективний вплив на супероксиддисмутазну активність у сироватці крові щурів усіх вікових груп, вірогідно її підвищуючи.

Ефективності від застосування карбодаїну не відмічено впродовж усього терміну дослідження, лише у кінці експерименту він призвів до

вірогідного підвищення активності ензиму ( $p \leq 0,05$ ) у сироватці крові статевонезрілих щурів.

Таблиця 5.8

Супероксиддисмутазна активність (мккат/г протеїну) у сироватці крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	64,85±4,06	62,24±3,50	52,85±3,50
15 доба ТД+24 год НН	41,02±3,83*	52,77±3,11	42,10±2,97
15 доба ТД+72 год НН	35,00±2,84*	47,60±4,62	30,83±2,79*
30 доба ТД+24 год НН	40,09±3,76*	47,44±4,35*	38,82±3,51*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	60,81±3,40#	59,26±3,99	44,00±2,10
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	51,60±4,80	53,14±4,06	42,53±3,95
30 доба ТД+72 год НН	36,68±3,24*	43,70±4,00*	31,82±2,13*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	55,51±4,21#	58,22±4,69	44,78±3,80#
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	49,42±3,23#	50,88±4,58	39,18±3,83
45 доба ТД+24 год НН	33,62±2,57*	41,43±3,81*	32,95±3,11*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	58,98±4,60#	55,44±3,80#	44,19±4,45
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	38,75±4,25	46,69±4,50	40,44±2,32
45 доба ТД+72 год НН	26,20±2,12*	37,73±3,55*	28,15±2,70*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	56,97±3,59#	61,05±3,52#	49,58±4,81#
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	44,08±3,21#	43,67±3,57	38,14±3,65

Дослідження СОД активності у печінці виявило її зниження в усі терміни дослідження у всіх вікових групах. Найбільше зниження активності ензиму відмічено впродовж експерименту в печінці статевонезрілих тварин (рис. 5.7).

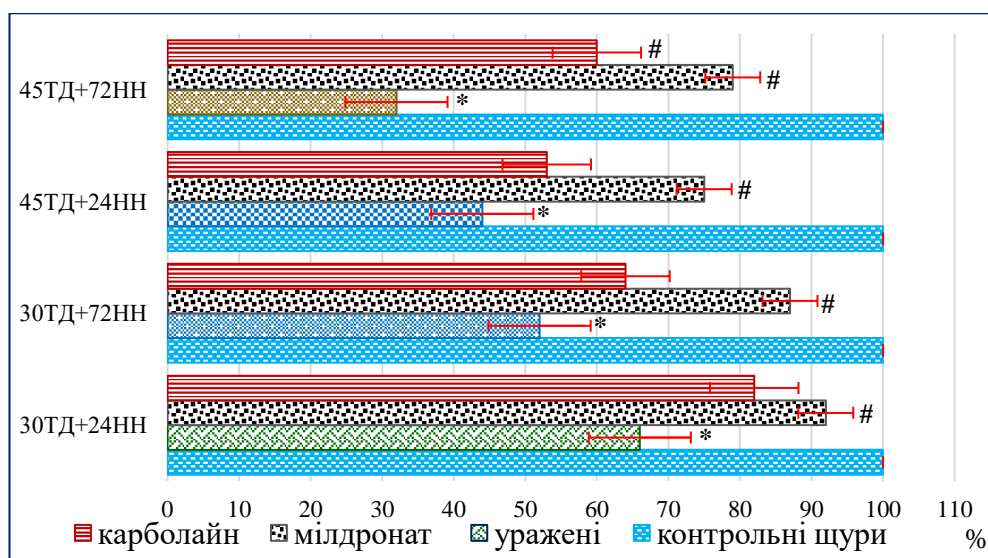


Рис. 5.7. Супероксиддисмутазна активність у печінці статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

У печінці статевонезрілих щурів активність даного показника знижувалась з 66 % щодо контролю у терміні 30-та доба ТІ та 24 год отруєння НН до 32 % у терміні 45-та доба ураження тютюновим димом та 72 год після отруєння НН. Всі зміни були вірогідними ( $p \leq 0,05$ ).

Після застосування мілдронату у печінці статевонезрілих щурів СОД активність вірогідно підвищувалася у всі терміни дослідження. У кінці експерименту у печінці статевонезрілих щурів активність ензиму підвищилася на 47 % щодо уражених тварин і лише на 21 % була нижча рівня контрольних тварин. Введення в уражений організм карболайну не викликало виражених змін у СОД активності впродовж експерименту та лише наприкінці дослідження у печінці статевонезрілих щурів відмічено вірогідне зростання даного показника.

Вивчення супероксиддисмутазної активності у печінці статевозрілих та старечого віку щурів показало її зниження у всіх термінах дослідження, максимально низьке значення відмічено у кінці експерименту (у статевозрілих щурів на 45 %, у старечих – на 53 %).

Введення в уражений організм щурів цих двох вікових груп мілдронату призвело до вірогідного підвищення активності ензиму в печінці у всі терміни дослідження.

Карболайн ефективного впливу на СОД активність у печінці статевозрілих та старечих тварин не проявляв, після його застосування спостерігалась тенденція до підвищення дослідного показника і тільки в останній термін спостереження ми відмітили вірогідне підвищення активності ензиму в групі щурів старечого віку.

Досліджено каталазну активність у сироватці крові та органах щурів усіх вікових груп після ураження токсикантами та застосування коригувальних чинників. Відмічено, що каталазна активність у сироватці крові щурів усіх вікових груп знижувалась впродовж усього експерименту, що може призвести до інтоксикації організму гідроген пероксидом (табл. 5.9).

Після 15-добового отруєння щурів тютюновим димом та через 24 год та 72 год від початку поступлення НН на цьому тлі у сироватці крові щурів усіх вікових груп спостерігали тенденцію до зниження каталазної активності, вірогідних змін не відмічено. У наступний термін дослідження (30-та доба ураження ТД та 24 год, 72 год з моменту потрапляння до організму НН) досліджуваний показник вірогідно знижувався у всіх вікових групах.

Найбільш виражене зниження каталазної активності у сироватці крові щурів різного віку відмічено в останній термін спостереження (45-та доба ТІ та 72 год з моменту отруєння тварин НН) ( $p \leq 0,05$ ).

Найнижчою каталазна активність виявилась у сироватці крові статевонезрілих щурів у кінці експерименту, в 1,9 раза була нижчою від контролю, у статевозрілих – в 1,6 раза, у старечих тварин – у 1,4 раза.

Застосування мілдронату, виявилось більш ефективним, ніж карболайну. У сироватці крові щурів усіх вікових груп мілдронат вірогідно підвищував даний показник. Ефективність застосування карболайну



проявилась у групі статевонезрілих щурів на 30-ту та 45-ту доби ураження тютюновим димом після 72 годинного отруєння натрію нітритом.

Таблиця 5.9

Каталазна активність (мккат/г протеїну) у сироватці крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,251±0,022	0,315±0,024	0,233±0,020
15 доба ТД+24 год НН	0,203±0,019	0,240±0,022	0,213±0,016
15 доба ТД+72 год НН	0,196±0,013	0,220±0,019*	0,200±0,018
30 доба ТД+24 год НН	0,187±0,012*	0,211±0,017*	0,147±0,014*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,208±0,020	0,268±0,020	0,232±0,022
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,220±0,019	0,240±0,014	0,230±0,019
30 доба ТД+72 год НН	0,148±0,014*	0,187±0,010*	0,178±0,015
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,235±0,020*	0,292±0,028 <sup>#</sup>	0,212±0,020
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,217±0,012 <sup>#</sup>	0,240±0,022	0,208±0,018
45 доба ТД+24 год НН	0,155±0,015*	0,198±0,015*	0,153±0,014*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,225±0,016 <sup>#</sup>	0,260±0,017 <sup>#</sup>	0,218±0,016 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,177±0,014	0,207±0,020	0,197±0,014
45 доба ТД+72 год НН	0,133±0,012*	0,190±0,016*	0,163±0,014*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,228±0,019 <sup>#</sup>	0,257±0,014 <sup>#</sup>	0,220±0,011 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,218±0,011 <sup>#</sup>	0,198±0,015	0,175±0,017

У печінці, уражених токсикантами щурів, спостерігали зниження даного показника і найнижчим він був у останній термін дослідження. Найбільшого зниження каталазна активність зазнала у печінці щурів старечого віку (рис. 5.8).

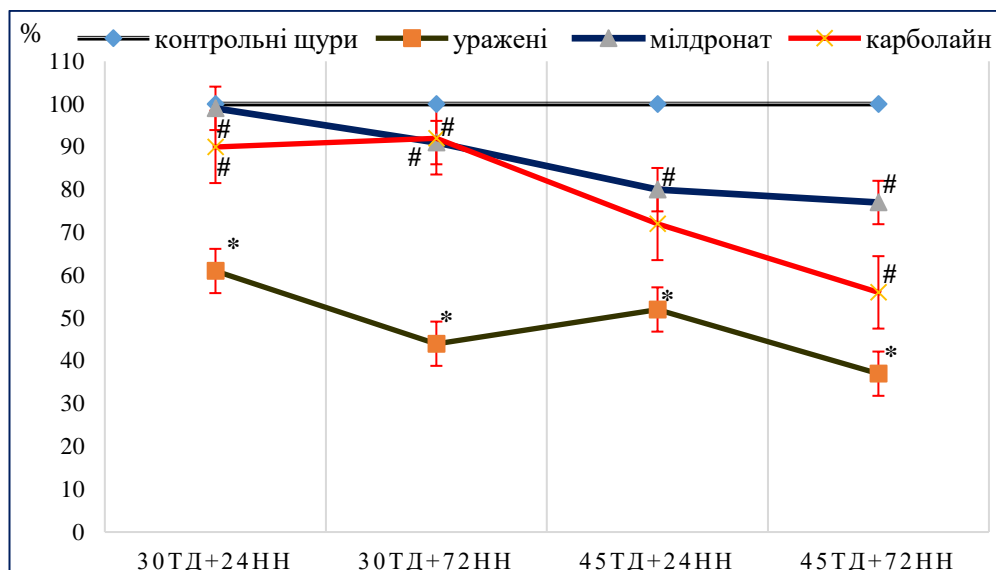


Рис. 5.8. Каталазна активність у печінці старечих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

До кінця експерименту даний показник був на рівні 37 % щодо контролю у печінці старечих тварин, 45 % у печінці статевонезрілих та 47 % у статевозрілих. Після застосування мілдронату каталазна активність підвищувалась у печінці усіх дослідних тварин. У кінці експерименту у старечого віку щурів вона збільшилась на 40 %, у статевозрілих – на 25 %, статевонезрілих – на 37 %.

Ефективність застосування карболайну проявилась через 15 діб його застосування (30-та доба ураження ТД та 24, 72 год з моменту отруєння НН). У кінці експерименту карболайн проявив ефективний вплив на печінку статевонезрілих та старечих тварин, вірогідно підвищуючи каталазну активність у ній.

Каталазна активність у легенях щурів різного віку знижувалась в залежності від тривалості експерименту і до кінця дослідження у статевонезрілих тварин у 2,4 раза була нижче контролю, у статевозрілих – у 2,7 раза та у старечих – у 2 рази нижче контрольного рівня (додаток Д. 1).

Введений в уражений організм мілдронат призвів до підвищення каталазної активності у легенях щурів усіх вікових груп у всі терміни

дослідження, зміни були вірогідними ( $p \leq 0,05$ ). Карболайн виявився менш ефективним, найбільш виражене підвищення дослідного показника спостерігали у групі тварин старечого віку через 30 діб ТІ та обидва терміни дії НН.

Через 45 діб ураження ТД та 24 год НН карболайн призвів до вірогідного підвищення каталазної активності у легенях статевозрілих щурів. В останній термін дослідження (45-та доба ТІ та 72 год отруєння НН) вірогідне підвищення спостерігали в легенях статевонезрілих щурів.

Виражене зниження каталазної активності зареєстровано у нирках щурів усіх вікових груп після ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації (додаток Д. 2). До кінця експерименту даний показник у статевонезрілих щурів був у 1,9 раза нижче контролю, у статевозрілих – у 3,1 раза та у старечих – у 2,7 раза.

Після 15-добового застосування мілдронату каталазна активність вірогідно підвищилась ( $p \leq 0,05$ ) у групах статевозрілих та старечих тварин. 30-добове застосування антигіпоксанта призвело до вираженого підвищення активності ензиму в нирках щурів усіх вікових груп, у останній термін дослідження.

Аналогічний вплив на даний показник проявив ентеросорбент карболайн, застосування якого супроводжувалось вираженим підвищенням каталазної активності у кінці експерименту в нирках щурів усіх вікових груп.

Найчутливішим до дії обох токсикантів виявився міокард щурів старечого віку, у яких каталазна активність знизилась у 2,2 раза щодо рівня контрольних тварин у останній термін дослідження (додаток Д. 3). У цей же час у міокарді статевозрілих щурів досліджуваний показник знизився у 2 рази порівняно з контрольними тваринами, у статевонезрілих щурів він у 1,5 раза був нижче контролю.

Антигіпоксант мілдронат через 15 діб після його застосування призвів до вірогідного підвищення каталазної активності у міокарді статевозрілих та

старечих щурів у терміні 30-та доба отруєння ТД та 72 год після потрапляння в уражений організм натрію нітриту. До кінця експерименту даний препарат проявив виражений вплив на активність ензиму у міокарді щурів різного віку, вірогідно підвищуючи її.

У терміні 30-та доба ураження ТД та 72 год з моменту потрапляння до організму токсикованих тварин натрію нітриту, карболайн призвів до підвищення даного показника тільки у групі статевозрілих щурів. До кінця експерименту ефективність його застосування відмічалась тільки у групі статевозрілих щурів.

Отже, ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації призводило до вираженого пригнічення ензимної ланки антиоксидантного захисту, яке проявляється значно більше, ніж при отруєнні кожним токсикантом окремо (розд. 3 та 4). Порушення у функціонуванні антиоксидантної системи проявляються уже на перших етапах активації вільнорадикальних процесів (зниження супероксиддисмутазної активності) і тривають у термінальній стадії цього процесу (зниження каталазної активності).

Нами досліджено у щурів після ураження токсикантами вміст ЦП – білка з ензимною активністю, який бере участь у знешкодженні активних форм кисню на початку зародження вільнорадикального ланцюга.

Через 15 діб тютюнової інтоксикації та 72 год ураження натрію нітритом вміст церулоплазміну найвищого значення досяг у сироватці крові статевонезрілих щурів, перевищуючи рівень інтактного контролю в 1,8 раза (табл. 5.10).

У цей час даний показник підвищився у сироватці крові статевозрілих щурів у 1,4 раза, у старечих – у 1,5 раза. До кінця експерименту вміст ЦП різко зростав у групі статевонезрілих щурів і наприкінці експерименту перевищив норму в 2,4 раза. В останній термін дослідження (45-та доба ТІ та 72 год

отруєння НН) у сироватці крові статевозрілих щурів рівень ензиму в 1,6 раза був вище рівня контрольних тварин, у старечих – у 1,4 раза.

Таблиця 5.10

Вміст церулоплазміну (г/л) у сироватці крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	2,12±0,13	3,22±0,18	3,65±0,17
15 доба ТД+24 год НН	3,07±0,25*	4,22±0,25*	5,32±0,29*
15 доба ТД+72 год НН	3,72±0,18*	4,73±0,21*	5,40±0,33*
30 доба ТД+24 год НН	4,00±0,21*	4,66±0,19*	5,11±0,22*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	2,77±0,23 <sup>#</sup>	3,50±0,15 <sup>#</sup>	3,89±0,14 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	3,14±0,10 <sup>#</sup>	4,15±0,19	5,09±0,21
30 доба ТД+72 год НН	4,59±0,19*	5,18±0,20*	5,32±0,21*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	2,93±0,19 <sup>#</sup>	3,43±0,14 <sup>#</sup>	4,00±0,21 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	4,52±0,19	4,51±0,22	5,32±0,14
45 доба ТД+24 год НН	4,66±0,19*	5,32±0,26*	5,47±0,33*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	2,65±0,16 <sup>#</sup>	4,00±0,21 <sup>#</sup>	3,72±0,18 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	4,12±0,26	5,03±0,19	4,56±0,20
45 доба ТД+72 год НН	5,11±0,22*	5,17±0,26*	5,25±0,32*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	2,93±0,19 <sup>#</sup>	3,80±0,21 <sup>#</sup>	3,72±0,18 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	4,74±0,26	4,97±0,21	4,89±0,21

Підвищений вміст ЦП, очевидно, зумовлений зниженням активності СОД за умов патології, так як відомо, що саме цей ензим має здатність видаляти з крові супероксидні аніон-радикали. Він викликає дисмутацію  $O_2$ ,

яка має не ензиматичний, а стехіометричний характер, таким чином відбувається відновлення  $O_2$  до води, а не до перекисів, на відміну від інших антиоксидантних ензимів.

Застосований нами з метою корекції мілдронат призвів до вірогідного зниження вмісту ензиму у сироватці крові щурів усіх вікових груп та у всі терміни дослідження. 30-добове застосування антигіпоксанта знизило вміст ЦП у сироватці крові статевонезрілих щурів у 1,8 раза, у статевозрілих та старечих щурів – у 1,4 раза порівняно з групами уражених тварин.

При застосуванні карболайну відмічено вірогідне зниження дослідного показника тільки у терміні 30-та доба ТІ та 24 год ураження НН у сироватці крові статевонезрілих тварин (у 1,3 раза) щодо групи уражених щурів. У всі інші терміни спостереження введення в уражений організм карболайну не призводило до виражених змін вмісту ЦП у сироватці крові щурів усіх вікових груп, спостерігалась лише тенденція до його зниження.

Функціональною основою системи антиоксидантного захисту є глутатіонова система, яка бере участь в інактивації гідроген пероксиду та ліпопероксидів, виконує захисну функцію для SH-груп у протеїнах мембран [336, 384, 444, 519]. Одним із компонентів цієї системи є глутатіон.

Глутатіон, з одного боку, самостійно, з другого опосередковано в ролі субстрату GSH-залежних ензимів (глутатіонтрансферази, глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази) модулює клітинну відповідь на дію АФО, займаючи таким чином, центральне місце у функціонуванні глутатіонової ланки антиоксидантної системи [519].

За даними літератури [192, 205, 226], відновно-окиснювальний потенціал пари GSH/GSSG наближається до термодинамічної рівноваги з тіоловими групами протеїну та необхідний для збереження функціональної цілісності клітини. Зниження рівня G-SH в органах і тканинах призводило до оксидативного стресу [444], що було нами показано в підрозділі 5.1.

Дослідження вмісту ВГ у сироватці крові щурів різного віку показало його зниження у всі терміни спостереження після ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації (рис. 5.9).

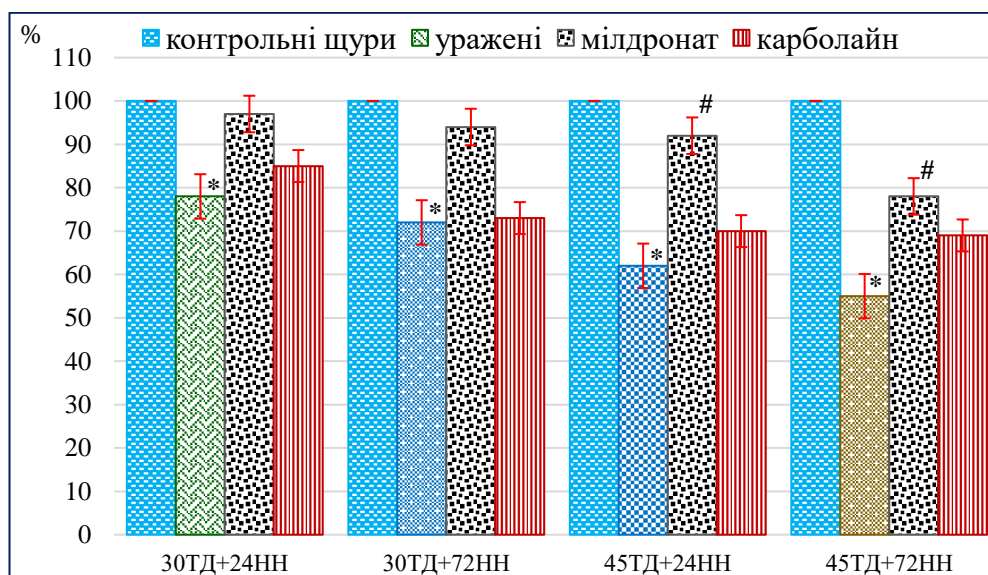


Рис. 5.9. Вміст відновленого глутатіону у сироватці крові статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

Найнижчий вміст ВГ у сироватці крові до кінця експерименту спостерігався у групі статевонезрілих тварин, який на 45 % був нижче контролю, у статевозрілих – на 31% знижувався після ураження щодо контрольних щурів, у старечих – на 37 %.

Після застосування мілдронату в сироватці крові уражених щурів спостерігали підвищення вмісту ВГ, вірогідним воно було в останні два терміни дослідження (45-та доба ТІ та 24 год отруєння НН; 45-та доба ТІ та 72 год отруєння НН) ( $p \leq 0,05$ ) у всіх вікових групах.

Ураження щурів дослідними токсикантами викликало зниження вмісту ВГ у печінці тварин усіх вікових груп (табл. 5.11).

Найбільш виражене зниження вмісту ВГ у печінці відмічено наприкінці експерименту у статевонезрілих щурів (у 3,5 раза). У статевозрілих тварин даний показник у цей термін знижувався в 1,7 раза, у старечих – у 2 рази.

Таблиця 5.11

Вміст відновленого глутатіону (ммоль/кг) у печінці щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	1,68±0,12	1,93±0,07	1,80±0,09
15 доба ТД+24 год НН	1,26±0,11*	1,61±0,09*	1,46±0,06
15 доба ТД+72 год НН	0,98±0,08*	1,55±0,07*	1,35±0,06*
30 доба ТД+24 год НН	0,97±0,04*	1,35±0,07*	1,10±0,08*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	1,34±0,09 <sup>#</sup>	1,72±0,17	1,56±0,11 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,02±0,06	1,50±0,09	1,45±0,12
30 доба ТД+72 год НН	0,52±0,03*	1,30±0,08*	0,97±0,08*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	1,47±0,09 <sup>#</sup>	1,77±0,16	1,54±0,12 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,81±0,03 <sup>#</sup>	1,49±0,08	1,24±0,08
45 доба ТД+24 год НН	0,52±0,03*	1,34±0,08*	0,96±0,08*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,95±0,05 <sup>#</sup>	1,91±0,10 <sup>#</sup>	1,77±0,14 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,64±0,05	1,42±0,12	1,23±0,10
45 доба ТД+72 год НН	0,48±0,03*	1,14±0,08*	0,90±0,06*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,68±0,04 <sup>#</sup>	1,87±0,13 <sup>#</sup>	1,68±0,14 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,48±0,03	1,32±0,12	1,12±0,08

Зміни вмісту ВГ (а саме зменшення у всі терміни спостереження), можливо, пов'язані як із прямим, так і з ензиматичним зв'язуванням окремих субстратів з тіловою групою глутатіону та у місці дисульфідного зв'язку окисненого глутатіону. З іншого боку, зниження ВГ також можна пов'язати з



виявленою раніше інтенсифікацією в органах щурів за дії досліджуваних токсикантів процесів ПОЛ.

15-добове введення в уражений організм мілдронату викликало вірогідне підвищення ( $p \leq 0,05$ ) вмісту ВГ у печінці статевонезрілих та старечого віку щурів, у статевозрілих підвищення не було вірогідним. Після 30-ти діб застосування мілдронату зміни у сторону підвищення дослідного показника були вірогідними у всіх вікових групах.

Після застосування ентеросорбенту карболайн відмічалась тенденція до підвищення вмісту ВГ у всіх групах щурів у всі терміни дослідження, проте зміни не були відзначені як вірогідні. У легенях щурів усіх вікових груп вміст ВГ прогресуюче знижувався і досяг максимально низького значення наприкінці експерименту (додаток Е. 1). До кінця дослідження вміст ВГ знизився в 2,1 раза у всіх групах тварин.

Мілдронат проявив позитивний вплив на даний показник, вірогідно підвищуючи його впродовж експерименту, у легенях щурів різного віку. У останній термін дослідження після його застосування вміст ВГ наближався до контролю у щурів статевозрілого та старечого віку. В уражених статевонезрілих щурів даний показник підвищився після введення мілдронату, але ще суттєво відрізнявся від рівня контрольних тварин. Застосування карболайну не проявило впливу на вміст ВГ у легенях щурів після ураження обома токсикантами, зміни не відмічені як вірогідні ( $p \geq 0,05$ ).

Вірогідного зниження зазнав вміст ВГ у міокарді щурів різного віку, отруєних натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації (додаток Е. 2). Найчутливішим виявився міокард статевонезрілих щурів, у яких зниження ВГ було найвиразнішим у всі терміни дослідження та до кінця експерименту він був у 3,2 раза нижче контролю. У статевозрілих та старечого віку щурів даний показник у останній термін дослідження знизився відповідно в 1,7 та 2,7 раза щодо рівня контрольних тварин.

Впродовж експерименту мілдронат проявляв позитивний вплив на міокард уражених статевонезрілих та старечих щурів (вірогідно підвищував вміст ВГ) і тільки в останній термін дослідження ефективність його застосування проявилася в усіх вікових групах.

Карболайн виявився менш ефективним, вірогідного підвищення досліджуваного показника у міокарді щурів різних вікових груп практично не було відмічено впродовж експерименту.

Дослідження вмісту ВГ у нирках щурів після ураження токсикантами показало, що найбільше зниження показника спостерігали у нирках статевонезрілих щурів (у 2,0 рази). Стосовно двох інших вікових груп тварин, то вміст ВГ у їх нирках знижувався в статевозрілих у 1,6 рази, у старечих – у 1,8 рази щодо контрольного рівня (додаток Е. 3).

Після введення в уражений організм щурів мілдронату відмічено виражене збільшення даного показника у нирках щурів усіх вікових груп. Наприкінці експерименту вміст ВГ практично підвищився до рівня контролю в усіх вікових групах після застосування антигіпоксанта.

У нирках уражених щурів впродовж усього експерименту не відмічено вірогідних змін після застосування карболайну, спостерігали тенденцію до підвищення досліджуваного показника.

Отже, ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації призводило до глибоких порушень в антиоксидантній системі, що проявлялося пригніченням активності її ензимної ланки (зниження СОД та КАТ активностей), а також неензимної (зниження вмісту відновленого глутатіону). В ураженому організмі підвищився рівень церулоплазміну, що може бути однією із причин активації захисно-компенсаторних сил на ранніх етапах оксидативного стресу. Найчутливішими до одночасної дії токсикантів виявились статевонезрілі щури.

Для корекції виявлених порушень застосований антигіпоксантик мілдронат проявив ефективний вплив на показники антиоксидантного

захисту. Карболайн виявився неефективним стосовно показників антиоксидантної системи в ураженому організмі.

5.3. Показники цитолізу клітинних мембран та ендогенної інтоксикації у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників

При вираженому та тривалому оксидативному стресі різко зростає рівень АФО (у декілька разів), підвищується швидкість ПОЛ, посилюється окиснювальна деструкція протеїнів, нуклеїнових кислот, вуглеводів. Прояв токсичної дії вільнорадикальних продуктів призвів до структурних і метаболічних порушень у клітинах із подальшим некрозом.

З літератури відомо, що виражені розлади метаболізму, накопичення недоокислених токсичних продуктів та активація процесів перекисного окислення ліпідів, що виникають при патологічних станах [321, 336, 374, 386, 430], призводять до активації мембранодеструктивних процесів, зростання ендотоксикозу та виникнення поліорганної недостатності. Нормальне функціонування органів залежить від стану цитоплазматичних мембран клітин, зміна структури та функції яких порушує їх бар'єрну здатність [251, 402, 438] і є причиною виникнення патологічних процесів.

Для оцінки функціонального стану цитоплазматичних мембран еритроцитів важливе значення має визначення відсотку її проникності, оскільки високий його рівень вказує на деградацію гліцерофосфоліпідів біліпідного шару мембрани, що призвів до підвищення індексу сферичності еритроцитарної клітини, зменшення еластичності, збільшення осмотичної крихкості та фрагментації самої мембрани. Внаслідок цього відбувається розлад функції проникності клітинної мембрани до різних речовин [402].

Доцільним було дослідити відсоток проникності еритроцитарних мембран у щурів за умов одночасного їх отруєння натрію нітритом та тютюновим димом. У попередніх розділах (3.3 та 4.3) показано, що кожен із

цих факторів, зокрема, при дії його на організм призводив до збільшення проникності еритроцитарних мембран, яка у останні терміни визначення набуває максимального значення.

Ми дослідили ЕІ у токсикованих димом щурів після потрапляння до організму натрію нітриту та після застосування препарату метаболічної дії мілдронату та ентеросорбента карболайну (табл. 5.12).

Таблиця 5.12

Еритроцитарний індекс інтоксикації (%) у крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	20,83±3,09	17,29±2,29	32,91±2,36
15 доба ТД+24 год НН	52,71±2,47*	40,50±1,12*	52,75±1,07*
15 доба ТД+72 год НН	59,58±2,36*	44,00±2,16*	59,37±2,36*
30 доба ТД+24 год НН	55,21±2,34*	44,46±3,96*	49,49±4,52*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	34,79±3,36 <sup>#</sup>	32,08±2,07 <sup>#</sup>	36,41±2,25 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	42,75±2,67 <sup>#</sup>	37,29±3,57	40,12±1,67
30 доба ТД+72 год НН	52,46±2,81*	46,33±2,18*	56,46±1,89*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	29,25±1,70 <sup>#</sup>	24,87±1,96 <sup>#</sup>	35,00±3,09 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	36,42±2,25 <sup>#</sup>	33,75±3,21 <sup>#</sup>	39,08±1,97 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	66,67±2,08*	52,16±0,70*	86,24±0,70*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	41,67±3,07 <sup>#</sup>	44,58±1,90 <sup>#</sup>	43,42±1,78 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	47,50±1,84 <sup>#</sup>	45,83±2,12 <sup>#</sup>	67,92±1,84 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	76,46±2,38*	55,27±2,41*	87,05±3,55*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	45,83±4,06 <sup>#</sup>	39,67±2,03 <sup>#</sup>	40,92±2,22 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	42,08±1,50 <sup>#</sup>	40,08±2,99 <sup>#</sup>	47,08±3,38 <sup>#</sup>

Через 15 діб отруєння тютюновим димом та 72 год з моменту ураження натрію нітритом у крові статевонезрілих щурів ЕП підвищився на 38,8 %, у терміні 30-та доба ТІ та 72 год отруєння НН – на 31,6 % та у кінці експерименту на 55,6 % перевищував рівень контрольних тварин. У статевозрілих щурів цей показник перевищував норму на 38,0 % у кінцевий термін експерименту, у старечих – на 54,1 %. Отже найбільш виражене збільшення проникності еритроцитарних мембран відмічали у статевонезрілих щурів впродовж експерименту.

При вивченні функціонального стану печінки за умов ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації ми діагностували цитолітичний синдром за показниками активності АЛТ та АСТ, холестатичний синдром — за активністю  $\gamma$ -глутамілтранспептидази та лужної фосфатази.

Підвищення активності в сироватці крові таких ензимів, як АЛТ та АСТ свідчить про порушення цілісності гепатоцитів і є надійним індикатором гострих уражень печінки.

Однак, активність обох ензимів може підвищуватися при патологіях інших органів: серця, м'язової тканини, легень. Отруєння щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації призвело до підвищення у сироватці крові активності АЛТ (маркерного ензиму печінки) у всіх вікових групах (табл. 5.13).

Досліджуваний показник прогресуюче зростає у залежності від терміну дослідження. Так, на початкових термінах дослідження (15 доба ТІ та 72 год отруєння НН) він у 4,2 раза перевищував норму у статевонезрілих тварин, у 3,8 раза у статевозрілих та 1,6 раза – у старечого віку щурів. До кінця експерименту активність АЛТ у сироватці крові статевонезрілих щурів підвищилась у 7,7 раза щодо рівня інтактного контролю, у двох інших вікових групах – у 5,3-5,4 раза.

При використанні коригувальних чинників більш ефективний вплив проявив мілдронат, після введення якого в уражений організм активність АЛТ

у сироватці крові вірогідно знижувалась у всі терміни дослідження та у всіх вікових групах.

Таблиця 5.13

Активність аланінамінотрансферази у сироватці крові (мкмоль/л×год) щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,56±0,02	1,10±0,11	1,45±0,12
15 доба ТД+24 год НН	1,48±0,28*	1,91±0,35*	2,21±0,21*
15 доба ТД+72 год НН	2,34±0,27*	4,17±0,32*	2,28±0,17*
30 доба ТД+24 год НН	3,03±0,18*	2,76±0,16*	3,41±0,24*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	1,60±0,18 <sup>#</sup>	1,40±0,13 <sup>#</sup>	2,33±0,24 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	2,59±0,15	2,63±0,29	2,66±0,14 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН	3,62±0,31*	3,15±0,21*	4,17±0,37*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,88±0,08 <sup>#</sup>	1,35±0,12 <sup>#</sup>	1,58±0,11 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	2,60±0,27	1,72±0,17 <sup>#</sup>	2,39±0,15 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	5,62±0,52*	4,34±0,29*	5,51±0,56*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,89±0,21 <sup>#</sup>	3,28±0,25 <sup>#</sup>	4,12±0,31
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	5,15±0,33	4,10±0,27	4,67±0,25
45 доба ТД+72 год НН	4,32±0,45*	5,97±0,43*	7,67±0,53*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	1,62±0,20 <sup>#</sup>	1,22±0,09 <sup>#</sup>	1,83±0,15 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	3,84±0,41	4,67±0,25	4,54±0,25 <sup>#</sup>

Карболайн викликав вірогідне зниження активності ензиму в групі статевозрілих та старечого віку щурів на 30-ту добу тютюнової інтоксикації та

72 год з моменту ураження натрію нітритом. До кінця експерименту вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження активності АЛТ відмічене тільки у групі старечих щурів.

При визначенні активності АЛТ у печінці зміни носили зворотній характер. Відмітили зниження активності ензиму у всіх групах щурів у всі терміни дослідження, що носило прогресуючий характер. Найбільш виражені зміни були у печінці статевонезрілих щурів (рис. 5.10).

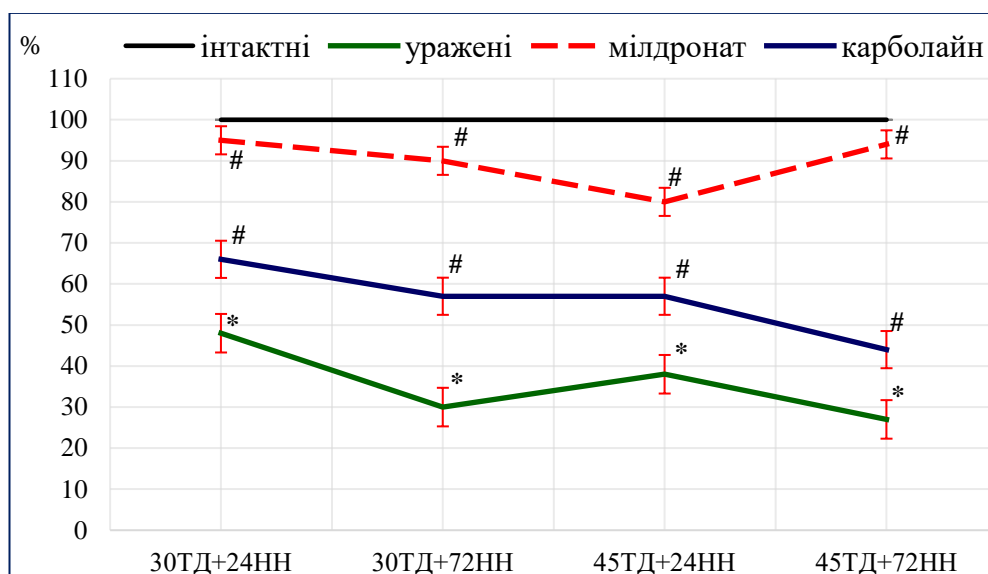


Рис. 5.10. Активність аланінамінотрансферази у печінці статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

До кінця експерименту активність АЛТ у печінці статевонезрілих щурів знизилась на 73 %, тобто становила всього 27 % від контролю. Застосування мілдронату виявилось ефективним у всі терміни дослідження, до кінця експерименту даний показник збільшувався до рівня 90 – 95 % від рівня контрольних тварин. Аналогічний вплив проявив карболайн, після його введення в організм активність АЛТ вірогідно збільшувалась у печінці статевонезрілих щурів.

У печінці статевозрілих щурів на кінцевому етапі дослідження (45-та доба ТІ та 72 год отруєння НН) активність ензиму знизилась у 2,0 рази, у старечих – у 3,6 рази. Обидва коригувальних чинники виявились ефективними,

позитивно вплинувши на активність АЛТ у печінці, вірогідно її підвищуючи у всі терміни дослідження.

Вірогідне зниження після ураження токсикантами було у печінці щурів старечого віку, активність АЛТ у яких знизилась у 3,6 раза порівняно з контрольними тваринами. Мілдронат та карболайн проявили однонапрямленість дії, призвівши до вірогідного збільшення даного показника у печінці старечих щурів впродовж експерименту.

Аналогічне зниження активності АЛТ відмічено у легенях уражених щурів у всі терміни дослідження (додаток Ж. 1). Більш виражене зниження спостерігали у легенях старечого віку щурів, у яких активність ензиму була у 3,5 раза нижче контролю наприкінці дослідження. У статевонезрілих та старечих щурів даний показник знизився в легенях у 2,4 та 2,3 раза відповідно.

Ефективність застосування мілдронату проявилась у кінці експерименту, після застосування якого досліджуваний показник вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) підвищився. Карболайн проявив позитивний вплив на активність АЛТ після його 30-ти добового застосування у групах статевозрілих та старечого віку тварин.

Найчутливішим до дії токсикантів був міокард щурів старечого віку (додаток Ж. 2). Через 72 год отруєння натрію нітритом на тлі 45-добової інтоксикації ТД активність АЛТ у даної групи тварин знизилась у 4,5 раза. У цей же термін показник був нижче контролю у 4,3 раза у міокарді статевонезрілих щурів та в 3,7 раза у статевозрілих.

Застосування мілдронату призвело до вірогідного підвищення активності ензиму у всі терміни дослідження у всіх вікових групах тварин. Ефективність застосування карболайну відмічена через 15 діб після його застосування у групах щурів статевонезрілого та старечого віку. Наприкінці експерименту після його потрапляння до організму активність АЛТ вірогідно підвищилась у міокарді щурів усіх вікових груп.

Дослідження активності ензиму у нирках щурів різного віку показало, що найбільш чутливими до одночасної дії НН та ТД виявились щури старечого



віку, у яких досліджуваний показник знизився в 5,7 раза, у статевонезрілих у 3 рази та у статевозрілих – у 2,3 раза (додаток Ж. 3).

Після 15-добового застосування мілдронату його ефективність проявилась у групах тварин статевонезрілого та старечого віку у терміні 24 год отруєння НН та 30-та доба ураження ТД. У наступному терміні дослідження (72 год отруєння НН на тлі 30-добової інтоксикації ТД) активність АЛТ вірогідно зросла після застосування антигіпоксанта. Наприкінці дослідження мілдронат призвів до вірогідного підвищення досліджуваного показника у нирках щурів усіх вікових груп.

Карболайн вираженого впливу на активність АЛТ не проявив, впродовж експерименту спостерігалась тенденція до підвищення активності ензиму та тільки у терміні 72 год отруєння НН на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації ми відмітили вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) підвищення дослідного показника у нирках щурів усіх вікових груп.

Відомо, що у гепатоцитах міститься ряд маркерних ензимів: у цитозолі клітин (ЛДГ, АЛТ), інші – в мітохондріях (АСТ). Синдром цитолізу виникає при пошкодженні клітин печінки та протікає на тлі вираженого порушення цілісності мембран гепатоцитів і їх органел, відмічається підвищення активності індикаторних ензимів: АСТ, АЛТ, ЛДГ [314, 396].

На пошкодження структури мембран клітин за умов дії на організм використаних нами токсикантів, залежно від віку тварин, вказує зміна активності органоспецифічних ензимів АЛТ і АСТ у сироватці крові щурів (розділ 3 та 4).

Ми дослідили активність АСТ у сироватці крові щурів різного віку за умов одночасного їх ураження натрію нітритом та тютюновим димом. Найбільшу активність АСТ ми відмітили у сироватці крові старечого віку щурів після ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації (рис. 5.11).

Досліджуваний показник зростав впродовж експерименту та до кінця дослідження сягнув найвищого рівня (819 %) щодо рівня контрольних тварин.

У статевонезрілих тварин у цей період він підвищився у 5 разів, у статевозрілих – у 6,9 раза був вище контролю.

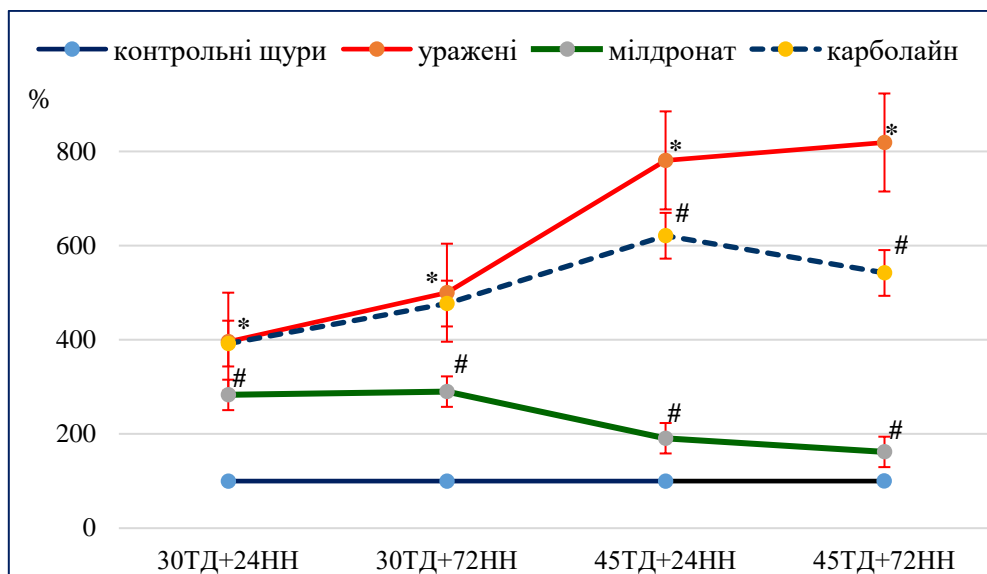


Рис. 5.11. Активність аспартатамінотрансферази у сироватці крові щурів старечого віку, уражених натрієм нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

Застосування з метою корекції мілдронату призвело до вірогідного зменшення активності показника у всі терміни дослідження у сироватці крові щурів усіх вікових груп. Карболайн після 15-ти добового застосування позитивно вплинув на досліджуваний показник тільки у групі статевонезрілих щурів. До кінця експерименту він призвів до вірогідного зниження активності АСТ у всіх дослідних групах.

Збільшення активності АЛТ і АСТ у сироватці крові піддослідних тварин свідчило про розвиток цитолітичного процесу в їх печінці, оскільки ці ензими, розташовані в клітинах печінкової паренхіми, при їх некротичному пошкодженні виходять у кров. Отримані результати вказують також на вікові відмінності впливу досліджуваних токсикантів на активність ензимів цитолізу в крові щурів, які проявляються зростанням активності як АЛТ, так і АСТ.

Підвищення активності амінотрансфераз (маркерів цитолізу гепатоцитів) можна розглядати як гіперферментемію, що може засвідчити про

підвищення проникності плазмалеми і, в деякій мірі, внутрішньоклітинних мембран клітин печінки. Ступінь підвищення амінотрансферазної активності сироватки крові вказує на вираженість цитолітичного синдрому, але не виявляє глибину порушень.

Найбільш виражені зміни активності АСТ після ураження токсикантами спостерігали у печінці статевонезрілих щурів, де показник знизився у 4,8 раза щодо рівня контрольних тварин у кінцевий термін дослідження (додаток 3. 1). У цей же термін у печінці статевозрілих та старечого віку щурів активність ензиму знизилась у 2,7 та 3,7 раза відповідно.

У всі терміни дослідження використаний нами мілдронат проявив ефективний вплив на даний показник. Після його застосування активність ензиму вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) підвищилась у печінці щурів усіх вікових груп. Карболайн після 15-добового застосування не призвів до вірогідного підвищення активності АСТ у даному органі, 30-добове його застосування виявилось ефективним (активність ензиму вірогідно зросла у групах щурів різного віку).

Після ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації активність АСТ у легенях усіх вікових груп до кінця експерименту знизилась у 3,7 раза (додаток 3. 2). Всі зміни були вірогідними ( $p \leq 0,05$ ).

Обидва коригувальних чинники проявили позитивний вплив на активність ензиму в легенях щурів. Після їх використання впродовж експерименту ми спостерігали вірогідне підвищення даного показника у щурів усіх вікових груп.

Враховуючи, що підвищення активності АСТ у сироватці крові щурів усіх вікових груп, є тестом на ступінь ураження серця, ми дослідили даний показник саме у міокарді. Після отруєння щурів натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації відмічалост зниження активності АСТ у міокарді щурів різного віку (табл. 5.14).

Активність аспаратамінотрансферази у міокарді (мкмоль/кг×год) щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	7,45±0,25	7,37±0,17	7,23±0,45
15 доба ТД+24 год НН	6,60±0,26	6,33±0,30*	5,58±0,51
15 доба ТД+72 год НН	6,26±0,34*	5,73±0,40*	5,16±0,50*
30 доба ТД+24 год НН	5,62±0,33*	4,95±0,18*	5,23±0,29*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	6,48±0,22	7,05±0,09 <sup>#</sup>	6,63±0,26 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	6,17±0,37	6,28±0,28 <sup>#</sup>	5,83±0,37
30 доба ТД+72 год НН	4,97±0,37*	4,56±0,20*	4,75±0,20*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	6,52±0,31 <sup>#</sup>	6,97±0,12 <sup>#</sup>	6,70±0,27 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	5,63±0,34	5,95±0,31 <sup>#</sup>	5,55±0,39
45 доба ТД+24 год НН	2,40±0,22*	4,28±0,45*	3,57±0,32*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	5,42±0,41 <sup>#</sup>	7,13±0,18 <sup>#</sup>	7,07±0,10 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	3,57±0,32 <sup>#</sup>	5,88±0,34 <sup>#</sup>	5,97±0,32 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	1,98±0,20*	3,67±0,41*	1,87±0,17*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	5,52±0,37 <sup>#</sup>	7,23±0,15 <sup>#</sup>	6,98±0,11 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	4,12±0,23 <sup>#</sup>	6,53±0,24 <sup>#</sup>	5,10±0,34 <sup>#</sup>

У міокарді статевонезрілих і старечого віку щурів показник різко знижувався в залежності від терміну дослідження та до кінця експерименту активність ензиму знизилась у 3,8 та 3,9 раза відповідно порівняно з рівнем контрольних тварин. Введення в уражений організм щурів як мілдронату, так

і карболайну, супроводжувалось вірогідним підвищенням активності ( $p \leq 0,05$ ) ензиму в міокарді щурів у всі терміни дослідження.

Дослідження активності АСТ у нирках щурів різного віку після ураження їх натрію нітритом показало аналогічне зниження даного показника ( $p \leq 0,05$ ) впродовж експерименту (додаток 3. 3). В останній термін дослідження активність ензиму знизилась у статевонезрілих щурів у 4,7 раза, у статевозрілих у 5,1 раза та у старечих – у 2,7 раза порівняно з контрольними тваринами відповідних вікових груп.

Антигіпоксанти мілдронат призвів до вірогідного підвищення досліджуваного показника у нирках усіх груп тварин. Карболайн проявив аналогічний позитивний вплив на активність АСТ у нирках, вірогідно підвищуючи її у тварин усіх вікових груп.

Отже, результати досліджень показали, що найчутливішими до дії токсикантів є статевонезрілі та старечого віку тварини, у яких цитолітичний синдром проявився більш виражено, що підтверджено підвищенням проникності еритроцитарних мембран, зокрема збільшенням ЕП, а також підвищенням у сироватці крові амінотрансфераз та зниженням їх активності в печінці, легенях, міокарді та нирках тварин після ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Використані нами коригувальні чинники проявили позитивний ефект в ураженому організмі, але більш виражений вплив на вищеназвані показники проявив мілдронат.

Для підтвердження розвитку цитолітичного синдрому в ураженому організмі доцільним було дослідити активність ще одного органоспецифічного ензиму – ЛДГ – у сироватці крові та органах щурів після їх отруєння натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації та застосування коригувальних чинників (табл. 5.15).

Активність ЛДГ у сироватці крові щурів усіх вікових груп прогресуюче зростала та найвища відмічена у кінці експерименту в статевонезрілих тварин. У терміні 45-та доба отруєння тютюновим димом та 72 год з моменту

поступлення натрію нітриту активність ензиму в цієї групи тварин у 1,8 раза була вище контролю, у статевозрілих та старечого віку у 1,7 раза перевищувала рівень контрольних щурів.

Таблиця 5.15

Активність лактатдегідрогенази (мккат/л) у сироватці крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щери	статевозрілі щери	старечі щери
Контрольні щери	3,75±0,34	5,63±0,54	4,86±0,43
15 доба ТД+24 год НН	5,91±0,51*	7,91±0,48*	7,39±0,68*
15 доба ТД+72 год НН	6,06±0,59*	8,33±0,72*	7,72±0,69*
30 доба ТД+24 год НН	5,93±0,55*	8,04±0,64*	7,39±0,63*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	4,96±0,30	5,84±0,50 <sup>#</sup>	5,22±0,50 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	5,38±0,46	7,31±0,68	6,63±0,56
30 доба ТД+72 год НН	6,27±0,57*	8,29±0,51*	7,82±0,77*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	4,70±0,36	6,39±0,53 <sup>#</sup>	5,31±0,52 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	5,87±0,50	7,68±0,73	6,87±0,56
45 доба ТД+24 год НН	6,35±0,59*	8,96±0,66*	7,92±0,68*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	4,40±0,43 <sup>#</sup>	6,13±0,67 <sup>#</sup>	5,81±0,41 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	5,60±0,49	8,21±0,80	6,82±0,58
45 доба ТД+72 год НН	6,69±0,61*	9,29±0,86*	8,36±0,81*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	4,72±0,42 <sup>#</sup>	6,66±0,50 <sup>#</sup>	5,75±0,46 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	5,84±0,50	8,25±0,66	7,68±0,55

15-добове введення мілдронату виявилось ефективним для щурів статевозрілих та старечого віку. При його застосуванні активність ензиму

вірогідно знижувалась ( $p \leq 0,05$ ). Через 30 діб застосування мілдронату вірогідне зниження активності ЛДГ відмічали у сироватці крові щурів різного віку. Застосування карболайну не проявило позитивного впливу на даний показник впродовж експерименту в жодній дослідній групі.

Дослідження активності ЛДГ у міокарді проявилось її зниженням у щурів усіх вікових груп (додаток К. 1). Найнижче значення активності ензиму після ураження щурів обома токсикантами ми відмітили у міокарді статевонезрілих та старечого віку щурів у кінці експерименту (в 1,5 раза). У статевозрілих тварин даний показник у цьому терміні знизився в 1,3 раза.

Ефективність застосування мілдронату проявилась після його 30-добового застосування у міокарді усіх щурів. Активність ензиму після його введення в уражений організм вірогідно підвищувалась. Ентеросорбент карболайн не проявив позитивного впливу на активність ЛДГ у міокарді, після його застосування спостерігали тенденцію до підвищення даного показника, але вірогідних змін не відмічено.

Найнижче значення активності ЛДГ зареєстровано у печінці статевонезрілих та старечого віку щурів після їх ураження токсикантами. В останній термін дослідження показник у печінці цих двох груп тварин був у 1,6 раза нижче контролю (додаток К 2), у статевозрілих знизився в 1,4 раза щодо рівня контрольних тварин.

Після введення в уражений організм коригувальних чинників відмічено, що мілдронат призвів до вірогідного підвищення ( $p \leq 0,05$ ) активності ензиму в печінці щурів різного віку. Після застосування карболайну даний показник підвищувався без вірогідних змін. У легенях статевонезрілих щурів активність ЛДГ після ураження натрію нітритом на тлі ТІ була найнижчою (в 1,7 раза нижче контролю) в останній термін дослідження (додаток К. 3). У цьому терміні активність ензиму в легенях старечого віку щурів знижувалась у 1,6 раза, у статевозрілих – у 1,4 раза щодо контролю.

Після 15-добового введення в уражений організм мілдронату ми відмітили вірогідне підвищення даного показника у легенях статевозрілих та щурів старечого віку. 30-добове застосування коригувального чинника призвело до вираженого підвищення активності ензиму у легенях усіх дослідних груп тварин. Карболайн виявився неефективним стосовно даного показника у легенях щурів усіх вікових груп. Ураження щурів натрію нітритом на тлі 45-добової інтоксикації ТД призвело до зниження активності ЛДГ у їх нирках. Найбільш виражені зміни спостерігалися у нирках статевонезрілих та старечого віку щурів, у яких цей показник виявився нижче контролю в 1,7 раза.

Результати активності ЛДГ у нирках статевонезрілих щурів наведені на рис. 5.12.

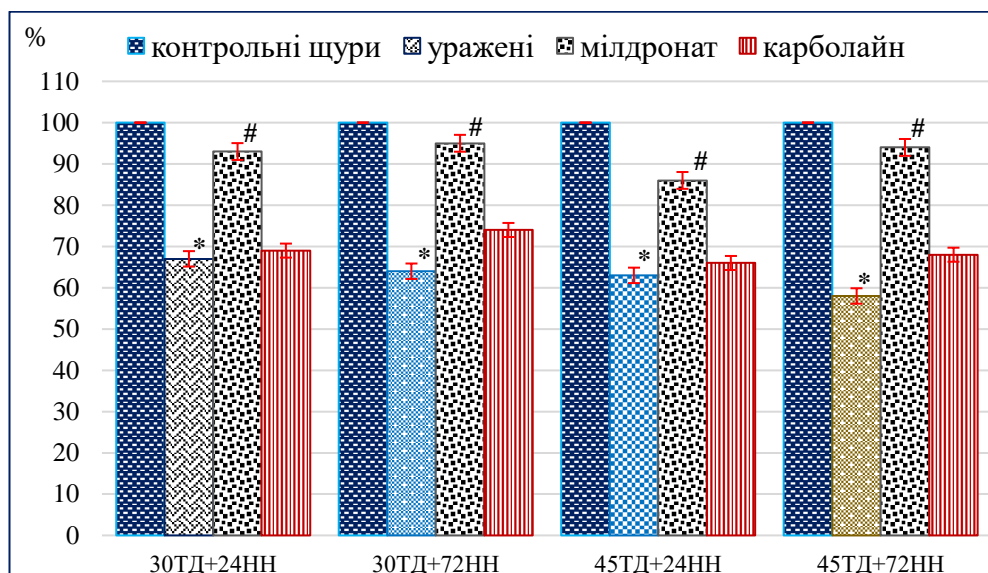


Рис. 5.12. Активність лактатдегідрогенази у нирках статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

Впродовж усього терміну дослідження спостерігався позитивний вплив мілдронату на активність ензиму в нирках щурів усіх вікових груп. Відмічалось вірогідне підвищення даного показника ( $p \leq 0,05$ ) щодо уражених щурів. Карболайн позитивного впливу на активність ЛДГ у нирках щурів не проявив. Спостерігалась тенденція до підвищення показника, але вірогідних змін не відмічено.



Гама-глутамілтранспептидаза також специфічний для печінки ензим і є чутливим індикатором її стану. Нами було встановлено підвищення активності ГГТП у сироватці крові щурів після ураження обома токсикантами одночасно (табл. 5.16).

Таблиця 5.16

Активність гама-глутамілтранспептидази (мккат/л) у сироватці крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,65±0,06	0,80±0,06	0,79±0,06
15 доба ТД+24 год НН	1,15±0,09*	0,98±0,09	1,11±0,06*
15 доба ТД+72 год НН	1,24±0,10*	1,05±0,07	1,24±0,08*
30 доба ТД+24 год НН	1,67±0,10*	1,11±0,09*	1,34±0,06*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	1,42±0,11	0,91±0,06	1,07±0,05
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,58±0,14	1,06±0,08	1,15±0,06
30 доба ТД+72 год НН	1,82±0,14*	1,18±0,11*	1,56±0,05*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	1,45±0,12	0,95±0,08	1,18±0,08#
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	1,82±0,09	1,07±1,00	1,45±0,13
45 доба ТД+24 год НН	2,43±0,23*	1,21±0,09*	1,64±0,09*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	1,78±0,11	0,89±0,07	1,15±0,07#
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	2,20±0,12	1,17±0,10	1,53±0,08
45 доба ТД+72 год НН	2,67±0,23*	1,24±0,11*	1,84±0,07*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	1,65±0,15#	0,87±0,07#	1,26±0,11#
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	2,32±0,13	1,21±0,10	1,62±0,10

Активність ензиму підвищувалась впродовж експерименту у всіх групах тварин прогресуюче. У сироватці крові статевонезрілих щурів активність ГГТП підвищилась після ураження в останній термін найбільше – в 4,1 раза порівняно з контрольними тваринами. У цей період у сироватці крові статевозрілих щурів показник зріс у 1,6 раза, у старечих – у 2,3 раза.

Дослідження активності ГГТП у печінці показало її зниження після ураження у всіх дослідних групах тварин. Найбільш виражене зниження активності даного ензиму спостерігали у печінці стевонезрілих щурів (рис. 5.13).

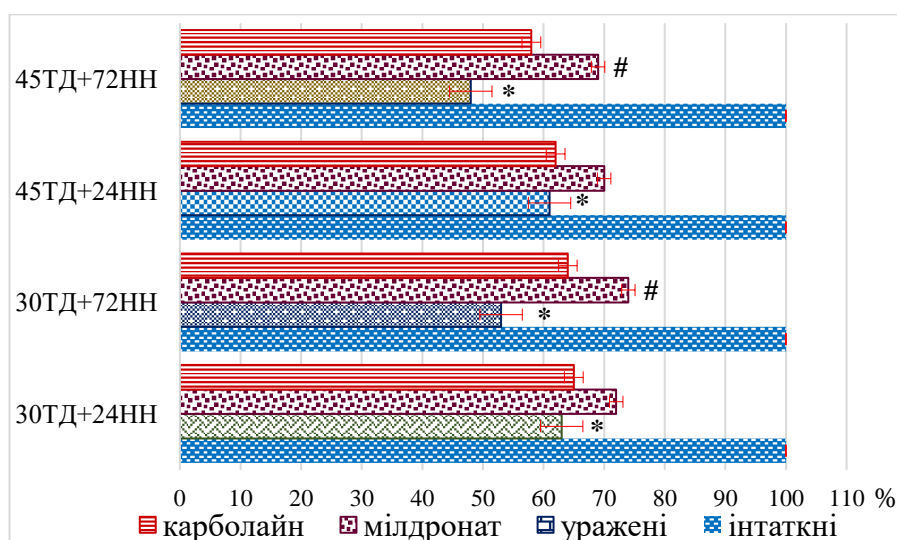


Рис. 5.13. Активність гамаглутамілтранспептидази у печінці статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

У цієї групи тварин досліджуваний показник постійно знижувався в залежності від тривалості експеримента та наприкінці дослідження досяг 48 % від контролю. У статевозрілих та старечого віку щурів у кінці експерименту показник знаходився на рівні 69 %, тобто на 31 % був нижче рівня контрольних щурів.

Введений в уражений організм мілдронат ефективність проявив тільки після 30-добового його застосування, коли активність ензиму в печінці вірогідно зросла у всіх вікових групах щурів. У щурів, які з метою корекції

отримували карболайн впродовж 30-ти діб, позитивних змін не виявлено, спостерігалась тенденція до підвищення активності ГГТП.

Аналогічне зниження активності ГГТП після ураження обома токсикантами ми відмітили у нирках щурів різного віку (додаток Л). Отруєння НН за 72 год до завершення 45-добової інтоксикації ТД викликало зниження активності ензиму в нирках статевонезрілих та старечого віку щурів у 1,6 раза, у статевозрілих – у 1,5 раза відповідно до рівня контролю.

Через 15 діб застосування мілдронат позитивно вплинув на даний показник у нирках статевозрілих та старечих щурів. 30-добове застосування даного засобу призвело до вірогідного підвищення активності ензиму в нирках щурів усіх вікових груп.

У жоден із термінів дослідження після застосування карболайну не відмічено вірогідного підвищення даного показника у нирках щурів різного віку.

Важливу роль у патогенезі токсичних уражень відіграють метаболічні зміни у внутрішніх органах. Все більше уваги за цих умов останнім часом приділяється ролі пошкоджень гепатоцитів. Проте, яким би не був механізм пошкодження паренхіми печінки, некроз гепатоцитів буде неминуче призводити до підвищення вмісту органоспецифічних маркерів у сироватці крові [355, 390, 410, 463].

Про пошкодження мембранних структур гепатоцитів свідчать результати досліджень органоспецифічного ензиму (маркера холестази) – лужної фосфатази в сироватці крові. Дослідження ЛФ призвело до її статистично значимого зростання в сироватці крові впродовж експерименту в усіх дослідних групах тварин. Активність ензиму в сироватці крові вірогідно лінійно зростала та найвищого значення досягла у кінцевий термін дослідження (табл. 5.17).

Наприкінці дослідження активність ЛФ у сироватці крові статевонезрілих щурів підвищилась у 3,6 раза, у статевозрілих в 1,6 раза та у старечих – у 3,4 раза після їх ураження НН на тлі тютюнової інтоксикації.

Таблиця 5.17

Активність лужної фосфатази (нмоль/л×год) у сироватці крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	11,63±0,72	12,78±1,25	11,31±0,97
15 доба ТД+24 год НН	18,28±1,76*	15,70±1,46	20,34±2,02*
15 доба ТД+72 год НН	19,23±1,75*	16,15±1,16	22,36±2,00
30 доба ТД+24 год НН	30,29±2,90*	16,08±1,41	27,59±2,41*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	25,72±2,30	14,53±1,25	24,56±2,42
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	28,86±1,90	15,05±1,42	26,80±2,54
30 доба ТД+72 год НН	35,58±2,65*	16,50±1,43	32,47±3,02*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	30,66±2,84	14,03±1,08	24,96±2,20
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	33,07±3,17	14,81±1,20	28,05±2,58
45 доба ТД+24 год НН	37,76±3,49*	19,49±1,54*	34,88±3,31*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	26,26±2,39 <sup>#</sup>	13,63±1,10 <sup>#</sup>	24,63±2,23 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	33,07±3,00	17,40±1,19	30,67±2,73
45 доба ТД+72 год НН	41,68±3,16*	20,41±1,68*	38,90±3,10*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	30,59±2,99*	14,23±1,29 <sup>#</sup>	28,46±2,51 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	36,37±3,39	18,01±1,68	35,81±2,96

15-добове застосування коригувальних чинників не показало ефективності при дослідженні активності ЛФ у сироватці крові токсикованих

щурів усіх вікових груп. 30-добове застосування мілдронату та карболайну призвело до зниження активності ензиму у сироватці крові щурів різного віку після потрапляння до організму антигіпоксанта ( $p \leq 0,05$ ). Карболайн не проявив вираженого впливу на даний показник.

Ми визначили активність ЛФ у нирках щурів після їх ураження токсикантами та дії коригувальних чинників (додаток М). Встановлено, що у нирках статевонезрілих щурів даний показник знизився в 2,7 раза, статевозрілих у 1,5 раза, у старечих – у 2,5 раза. Результати досліджень показали, що найбільш вираженим було зниження активності ензиму в нирках статевонезрілих тварин.

Після 15-добового застосування як мілдронату, так і карболайну, вірогідного підвищення активності ЛФ не спостерігали. Відмічена тенденція до зростання даного показника у нирках щурів усіх вікових груп. 30-добове застосування мілдронату було ефективним для статевонезрілих та старечого тварин, у нирках яких активність ензиму вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) зростала. Карболайн не проявив вираженого впливу на даний показник у нирках щурів після 30-добового його застосування.

Аналогічні результати отримані при дослідженні активності ЛФ у печінці токсикованих щурів. Найвираженіше зниження після отруєння НН на тлі тютюнової інтоксикації було у печінці статевонезрілих тварин (на 76 % щодо контролю) у кінці експерименту (рис. 5.14).

У цей термін активність ЛФ у печінці статевозрілих щурів знизилась на 32 %, у старечих – на 70 %. На початкових етапах дослідження (15-та доба введення в уражений організм) мілдронат не проявив позитивного впливу на активність ЛФ у печінці щурів усіх дослідних груп. У термінальній стадії експерименту ефективність його проявилася у групі статевонезрілих та старечого віку щурів, у печінці яких даний показник вірогідно підвищувався у 2,3 раза та 2 рази відповідно. Застосування карболайну для корекції активності ЛФ не є ефективним.

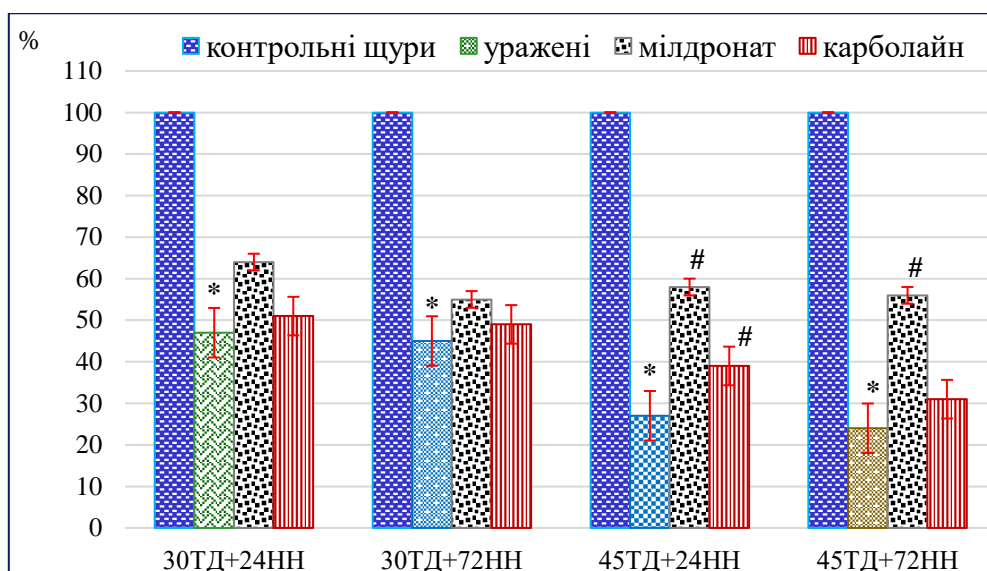


Рис. 5.14. Активність лужної фосфатази у печінці статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

Зважаючи на те, що ЛФ є органоспецифічним ензимом для печінки, зростання якого є типовою ознакою холестазу, одержані результати слід розглядати як підтвердження ураження гепатоцитів із проявами запальних процесів, цитолізом та застоєм жовчі в жовчних капілярах і протоках. Все це разом вносить свою частку в загальний ендогенний токсикоз, який проявляється зростанням МСМ – маркерів токсичного синдрому [95, 96, 202, 300, 316].

В експерименті після отруєння щурів різного віку НН на тлі тютюнової інтоксикації у сироватці крові відмічено підвищення вмісту МСМ фракції 254 (з переважанням ланцюгових амінокислот; табл. 5.18).

До кінця дослідження вміст даного показника підвищився у сироватці крові статевонезрілих щурів у 4 рази, у статевозрілих та старечих у 3,2 та 3,5 рази відповідно.

При дослідженні вмісту МСМ<sub>254</sub> більш ефективний вплив проявив ентеросорбент карболайн. Його введення в уражений організм призвело до зниження даного показника у сироватці крові статевонезрілих та старечих

щурів у 2,6 раза, у статевозрілих у 2,4 раза порівняно із відповідними групами уражених щурів (в останній термін дослідження).

Таблиця 5.18

Вміст фракції МСМ<sub>254</sub> у сироватці крові (ум.од/л) щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників (M±m; n=6)

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	14,00±1,15	11,00±0,85	13,66±0,61
15 доба ТД+24 год НН	36,66±0,61*	31,17±0,42*	32,00±0,73*
15 доба ТД+72 год НН	42,66±0,95*	34,33±0,61*	38,33±0,91
30 доба ТД+24 год НН	41,67±0,61*	33,33±0,99*	39,33±0,99*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	37,00±1,84	29,33±1,11	32,66±2,34
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	26,00±0,51#	23,33±0,84#	21,33±1,11#
30 доба ТД+72 год НН	46,67±0,66*	35,33±0,99*	42,33±0,95*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	43,00±0,85#	26,66±1,33#	33,67±1,31#
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	20,67±0,66#	19,67±0,95#	22,67±1,33#
45 доба ТД+24 год НН	47,00±0,85*	35,33±0,95*	43,33±1,20*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	39,66±3,77	31,67±1,20	36,66±3,33
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	23,33±0,66#	21,33±0,99#	21,67±0,92#
45 доба ТД+72 год НН	55,33±0,66*	35,00±1,34*	47,33±0,84*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	47,66±3,95	33,66±1,33	41,33±1,33#
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	21,33±1,22#	14,67±0,99#	18,33±0,61#

Через 15 діб застосування мілдронату вміст фракції СМ<sub>1</sub> у сироватці крові щурів усіх вікових груп вірогідно знизився у терміні 30-та доба інтоксикації ТД та 72 год з моменту потрапляння в уражений організм НН.

30-добове застосування мілдронату виявилось ефективним тільки для групи щурів старечого віку в останній термін дослідження.

Ми дослідили за даних умов вміст фракції  $CM_2$  (переважають ароматичні амінокислоти) у сироватці крові щурів. Нами відмічено прогресуюче підвищення вмісту даного показника впродовж експерименту у всіх вікових групах щурів. Найбільш чутливими виявились статевонезрілі тварини, у сироватці крові яких даний показник підвищився у 2,8 раза, у статевозрілих у 2 рази та у старечих у 2,3 раза (рис. 5.15).

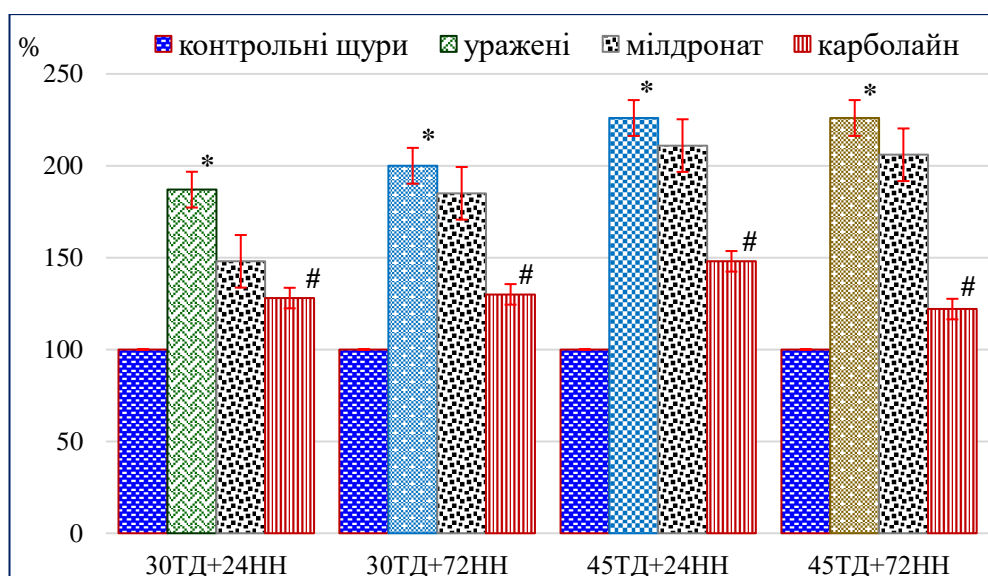


Рис. 5.15. Вміст  $CM_2$  у сироватці крові старечих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

Як видно з рис. 5.15 до вірогідного зниження вмісту  $CM_2$  у сироватці крові старечого віку щурів впродовж усього експерименту призвело застосування ентеросорбенту карболайну. Мілдронат практично не впливав на даний показник в організмі уражених щурів. Після його введення у сироватці крові старечого віку тварин спостерігалась тенденція до зниження без вірогідних змін ( $p \geq 0,05$ ). Аналогічний вплив проявили коригувальні чинники в організмі тварин двох інших вікових груп.

Отже, отримані результати підтверджують сорбтивні властивості карболайну, що дозволить запропонувати його використання для зниження



ступеня ендогенної інтоксикації як у курців, так і після інтоксикації організму екзогенними нітратвмісними сполуками. Наведені у даному підрозділі дані вказують на більш виражену (у порівнянні з ураженням кожним токсикантом окремо) активацію деструктивних процесів в організмі щурів різного віку, які проходять за одночасного ураження тютюновим димом та натрію нітритом.

Це підтверджено підвищенням вмісту органоспецифічних ензимів у сироватці крові та зниженням їх активності у відповідних органах, що зумовлено цитолізом клітин, порушенням проникності плазматичних мембран, результатом чого є поглиблення ендогенної інтоксикації в ураженому організмі. Найбільш виражені зміни спостерігали в організмі статевонезрілих та старечих щурів.

5.4. Активність мітохондріальних ензимів та розвиток запальних процесів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників

Як показано нами в попередніх підрозділах, отруєння щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації призводить до оксидативного стресу в організмі з утворенням значної кількості АФО, що супроводжувалося розвитком деструктивних процесів та цитолітичним синдромом, а також зміною проникності клітинних мембран з подальшим порушенням функцій внутрішньоклітинних органел.

На даний час малодослідженим залишається питання реакції-відповіді мітохондрій на негативні впливи різної інтенсивності та природи, адже механізм адаптації організму залежить від стану енергетичних процесів у клітині [329, 375, 385]. Мітохондрії відіграють центральну роль у клітинному метаболізмі, забезпечуючи процес клітинного дихання, пов'язаного з генерацією АТФ [344, 373, 386, 393].

Встановлено, що за умови змодельованої нами патології у тканинах печінки, легень і міокарду відмічається зниження показників системи

мітохондріального транспорту електронів уже на початку дослідження (24 год та 72 год з моменту потрапляння натрію нітриту до організму токсикованих впродовж 15 діб ТД щурів) з максимальним енергодефіцитом клітин у кінці експерименту. У печінці щурів усіх вікових груп активність СДГ прогресуюче знижувалась в залежності від тривалості експерименту (табл. 5.19).

Таблиця 5.19

Активність сукцинатдегідрогенази (ммоль/кг×год) у печінці щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щери	статевозрілі щери	старечі щери
Контрольні щери	33,66±1,20	38,00±1,15	34,66±0,99
15 доба ТД+24 год НН	22,00±0,73*	31,33±1,11*	26,66±1,52*
15 доба ТД+72 год НН	20,33±0,95*	28,00±0,73*	23,33±1,11*
30 доба ТД+24 год НН	20,66±0,99*	31,83±1,68*	24,00±0,89*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	27,33±0,99 <sup>#</sup>	35,00±0,85	33,00±0,45 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	23,00±1,12	32,25±0,61	26,66±0,99
30 доба ТД+72 год НН	17,17±0,70*	27,33±0,84*	20,00±0,73*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	25,33±0,67 <sup>#</sup>	33,33±0,99 <sup>#</sup>	29,00±1,12 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	20,33±0,80 <sup>#</sup>	30,67±1,23	23,00±0,86 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	18,00±0,36*	20,00±0,44*	19,00±0,26*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	24,66±0,67 <sup>#</sup>	27,00±0,85 <sup>#</sup>	24,33±0,80 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	20,66±0,61 <sup>#</sup>	22,67±0,67 <sup>#</sup>	21,50±0,88 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	15,50±0,50*	18,67±0,42*	17,67±0,49*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	21,50±0,88 <sup>#</sup>	28,66±0,84 <sup>#</sup>	22,00±0,73 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	18,67±0,42 <sup>#</sup>	21,66±0,61 <sup>#</sup>	19,16±0,31 <sup>#</sup>

Найбільшого зниження досягла активність ензиму у печінці статевонезрілих щурів у останній термін дослідження (45 доба ТД та 72 год з

моменту отруєння НН) – у 2,2 рази нижче рівня контрольних щурів. У печінці статевозрілих та старечого віку щурів даний показник у кінці експерименту знизився у 2 рази.

Антигіпоксанти мілдронат проявив ефективний вплив на активність СДГ у печінці щурів усіх вікових груп впродовж усього експерименту. Після його застосування даний показник вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) підвищувався. Карболайн максимум ефективності проявив у кінці експерименту (45 доба ТІ та 24 і 72 год ураження НН). 15-добове його застосування вірогідно підвищувало активність ензиму у печінці статевонезрілих і старечих щурів, у групі статевозрілих щурів спостерігали тенденцію до підвищення даного показника.

Після ураження токсикантами спостерігалось зниження активності СДГ у легенях щурів усіх вікових груп впродовж експерименту (додаток Н). Зниження було значно виразнішим, ніж при отруєнні кожним із токсикантів окремо. До кінця дослідження у легенях статевонезрілих щурів активність СДГ знизилась у 2,1 рази, статевозрілих у – 1,9 рази та у старечого віку у 1,7 рази щодо рівня контролю.

Після введення в уражений організм мілдронату спостерігали вірогідне підвищення активності ензиму у тварин статевонезрілого та старечого віку і тільки наприкінці експерименту даний показник вірогідно підвищився у легенях щурів усіх вікових груп ( $p \leq 0,05$ ). Аналогічний вплив проявив карболайн, вірогідно підвищуючи активність СДГ у останні терміни дослідження в усіх дослідних групах щурів.

Чутливим до дії токсикантів був міокард, у яких активність ензиму прогресуюче знижувалась у всі терміни дослідження у статевонезрілих, статевозрілих та старечого віку тварин. Найбільш виражені зміни відмічено у міокарді старечих щурів (рис. 5.16).

Як видно з рис. 5.16 мілдронат більш ефективно впливав на даний показник, ніж карболайн. До кінця експерименту у старечих щурів активність СДГ відрізнялася на 10 % від рівня контрольних після його застосування.

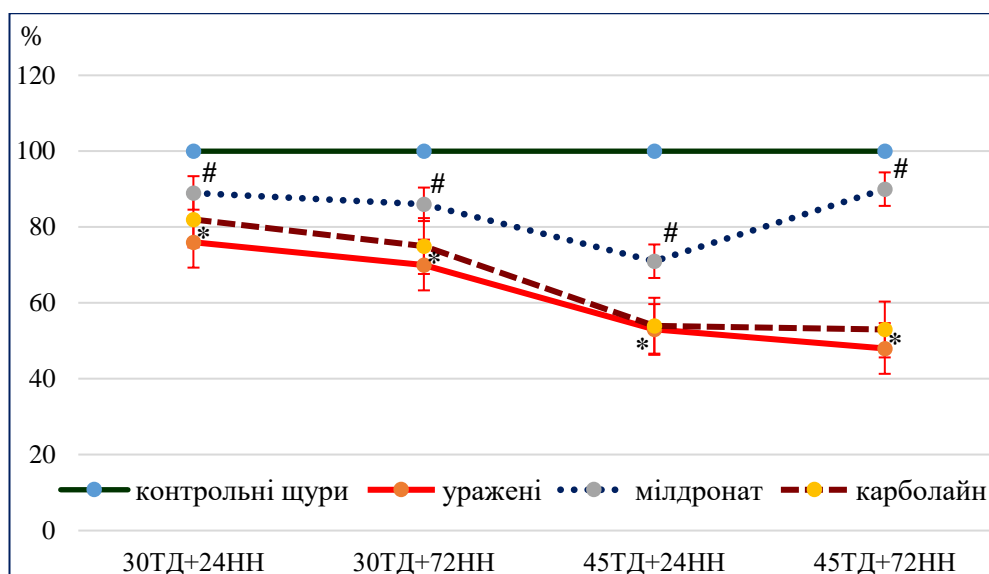


Рис. 5.16. Активність сукцинатдегідрогенази у міокарді щурів старечого віку, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

Враховуючи те, що СДГ є інтегральним протеїном внутрішньої мембрани мітохондрій, вона безпосередньо пов'язана з ланцюгом переносу електронів [470, 471]. Зниження активності СДГ може вказувати на зменшення показників АТФ і відновленої форми убіхінону, який у мітохондріях виконує роль безпосереднього акцептора електронів від СДГ до III дихального комплексу [469, 470, 484].

Відомо, що СДГ є одним із ключових регуляторних ензимів циклу трикарбонових кислот, каталізуючи окиснення бурштинової кислоти до фумарової, а ЦО – векторний ензим внутрішньої мембрани мітохондрій, який регулює швидкість окисного фосфорилування [482, 508]. Вони розташовані відповідно на початку та в кінці дихального ланцюга, знаходяться в еквімолекулярних взаєминах і організовані в кристах мітохондрії комплексними ансамблями із відповідними проміжками [352]. Дослідження нами активності СДГ у органах щурів, отруєних натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та виявлене її зниження, створило передумови для дослідження активності ЦО у тварин різного віку за даного патологічного стану.

Нами вивчено активність ЦО в органах щурів, одночасно уражених натрію нітритом та тютюновим димом та після застосування коригувальних чинників (табл. 5.20).

Таблиця 5.20

Активність цитохромоксидази (ммоль/кг×год) у печінці щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	39,28±1,11	47,14±1,32	46,53±2,18
15 доба ТД+24 год НН	29,14±2,18*	41,46±2,53	38,55±1,00*
15 доба ТД+72 год НН	25,56±0,99*	39,67±1,14*	32,13±0,42*
30 доба ТД+24 год НН	21,39±0,73*	38,41±0,60*	34,28±1,79*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	27,87±1,24 <sup>#</sup>	44,39±1,51 <sup>#</sup>	40,66±1,55 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	24,76±0,21 <sup>#</sup>	39,47±0,45	35,24±0,60
30 доба ТД+72 год НН	17,92±0,39*	36,95±1,53*	31,47±1,37*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	35,75±0,52 <sup>#</sup>	46,68±0,62 <sup>#</sup>	42,22±1,36 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	20,17±0,22 <sup>#</sup>	38,51±0,94	32,93±0,65
45 доба ТД+24 год НН	18,31±0,56*	36,18±1,36*	29,41±1,41*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	27,50±1,18 <sup>#</sup>	42,53±0,63 <sup>#</sup>	38,10±0,78 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	20,55±0,25 <sup>#</sup>	38,68±1,20	34,78±0,60 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	14,50±0,66*	34,48±0,50*	24,64±1,20*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	32,59±0,81 <sup>#</sup>	44,60±0,48 <sup>#</sup>	37,80±0,60 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	21,75±0,81 <sup>#</sup>	38,77±0,38 <sup>#</sup>	28,86±1,20 <sup>#</sup>

Найбільшого зниження зазнала активність ЦО у печінці статевонезрілих щурів – до кінця експерименту вона знизилась у 2,7 рази порівняно з групою

контрольних тварин. У статевозрілих щурів у кінці дослідження даний показник був нижчим рівня контролю в 1,4 раза. У печінці старечого віку щурів активність ензиму знизилась у 1,9 раза після ураження обома токсикантами (у кінцевий термін експерименту).

Після застосування мілдронату активність ЦО у печінці підвищувалась у всі терміни дослідження в усіх вікових групах. До кінця експерименту вона підвищилась у статевонезрілих тварин у 2,2 раза, у статевозрілих у 1,3 раза та у старечих – у 1,5 раза.

На початкових термінах дослідження (30-та доба ТІ та 24 год і 72 год з моменту потрапляння до організму НН) карболайн вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) підвищував активність ЦО тільки у печінці статевонезрілих тварин. До кінця експерименту (30-добове його введення) даний показник вірогідно підвищився у печінці всіх вікових груп тварин.

Аналогічне зниження активності ЦО після ураження спостерігали у міокарді щурів різного віку (додаток П). Найчутливішим до дії токсикантів виявився міокард старечого віку щурів, у якому активність ензиму знижувалась найбільше в усі терміни дослідження, до кінця експерименту вона в 2,2 раза була нижчою від контролю. Застосування як мілдронату, так і карболайну призвело до вірогідного підвищення даного показника у міокарді щурів усіх вікових груп.

Ураження обома токсикантами призвело до глибокого порушення активності ЦО в легенях щурів. У статевонезрілих та щурів старечого віку даний показник знизився на 60 % у кінці експерименту, у статевозрілих на 50 %. На рис. 5.17 наведені результати досліджень активності ЦО у легенях статевонезрілих тварин.

Упродовж усього експерименту відмічено позитивний вплив мілдронату на даний показник. Після його застосування активність ЦО вірогідно збільшувалась ( $p \leq 0,05$ ) у легенях статевонезрілих щурів. Виражене збільшення даного показника відмічено у легенях зрілих та старечих тварин після введення в уражений організм антигіпоксанта.

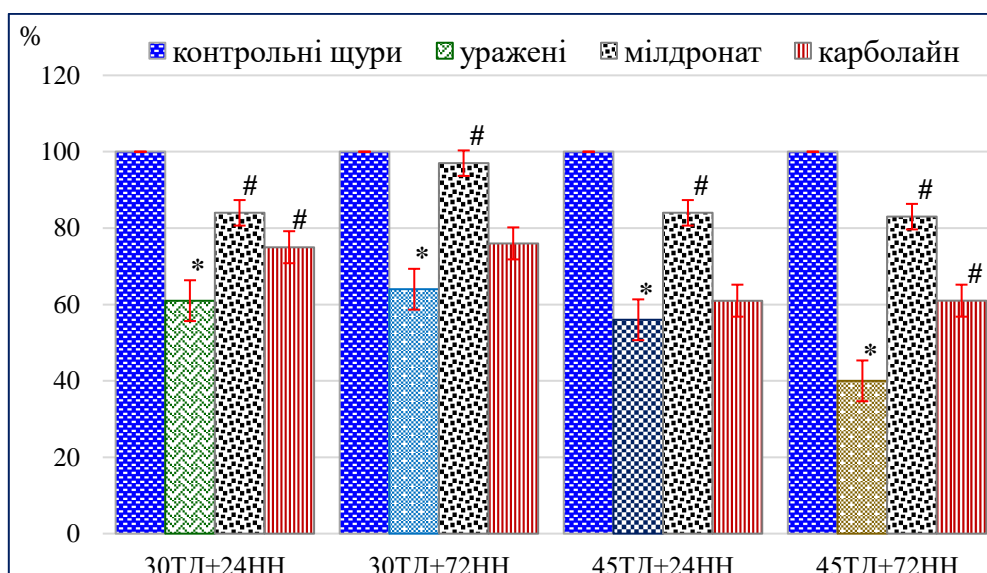


Рис. 5.17. Активність цитохромоксидази у легенях статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

Ефективність застосування карболайну більш вираженим було в терміні 15-добового його використання. Зниження активності ЦО в мітохондріях клітин різних органів за ураження токсикантами можна обґрунтувати обмеженням надходження електронів від субстратної ланки дихального ланцюга через цитохроми *b-c* [329, 482]. Пригнічення активності ЦО може також виникати через зв'язування вільних кисневих радикалів з атомами металів, які є в складі досліджуваного ензиму.

Отримані зміни активності ензимів свідчать про пригнічення функції мітохондрій у легенях, серці та печінці щурів, що може бути однією з причин поліорганної недостатності.

Доведено, що саме клітинний енергодефіцит провокує активацію нейроендокринних та імунних медіаторів, що з часом веде до формування патологічних станів [329, 393, 407].

За сучасними даними, в основі більшості захворювань лежить запалення як реакція організму на місцеве пошкодження, яке може бути викликане дією не тільки різних мікроорганізмів (бактерій, вірусів і т.д.), але і речовин антигенної або гаптогенної природи, при чому в останньому випадку

розвивається гіперчутливість до алергенів, що є особливою умовою реалізації запалення [370, 396, 400, 408].

Ключовим механізмом розвитку захворювань легень є запалення, що виникає під дією різних неспецифічних подразників (тютюновий дим, повітряні поллютанти та ін.). Легеневе запалення, опосередковане акумуляцією різних клітин (нейтрофіли, макрофаги), супроводжується оксидативним стресом, який підтримує запалення [423, 435, 441, 446].

Дослідження вмісту С-протеїну є одним із найбільш прийнятних маркерів ранньої діагностики та моніторингу запального захворювання [473, 486, 497]. СРП представник зразу декількох функціональних груп: медіаторів, транспортних протеїнів, імуномодуляторів. Він є високочутливим, але неспецифічним гострофазовим показником, котрий продукується у відповідь на більшість форм тканинного ушкодження, інфекцію чи запалення.

Ми дослідили вміст С-РП у сироватці крові щурів різних вікових груп, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Найвищий вміст даного показника зареєстровано у сироватці крові старечого віку, у яких до кінця експерименту він підвищився в 3,3 раза (рис. 5.18).

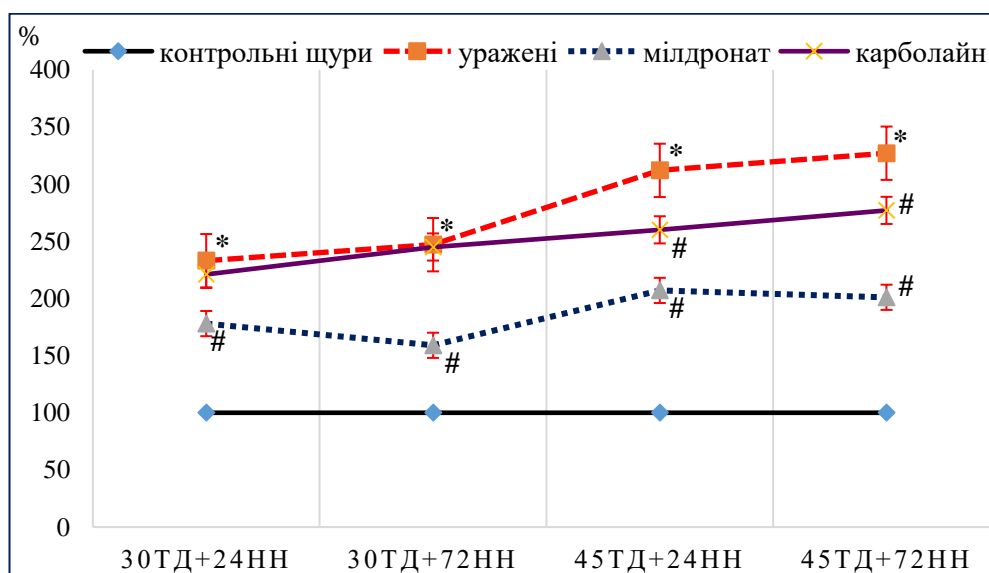


Рис. 5.18. Вміст С-реактивного протеїну у сироватці крові щурів старечого віку, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %



Із даних наведених на рис. 5.18 видно, що упродовж усього експерименту вміст СРП зростає. Введення в уражений токсикантами організм мілдронату призвело до вираженого зниження вмісту даного показника, що може бути зумовлено його опосередкованим впливом на запальні процеси (через прояв його антигіпоксантичних та антиоксидантних властивостей). Карболайн виявився менш ефективним, хоча в останні терміни дослідження під його впливом вміст СРП вірогідно знижувався.

У сироватці крові статевонезрілих та статевозрілих щурів спостерігали аналогічні зміни вмісту СРП після ураження та застосування коригувальних чинників. Більш стійкими до таких змін виявились статевозрілі щури, у яких даний показник зростає найменше після ураження.

Відомо, що синтез і секреція СРП здійснюється в печінці та регулюється прозапальними цитокінами, у першу чергу ІЛ-6, проте може продукуватися макрофагами, лімфоцитами. Необхідно відмітити, що пік концентрації СРП корелює з максимальним збільшенням концентрації ІЛ-6 [245, 273, 292]. Стимуляція синтезу СРП може здійснюватися не тільки ІЛ-6, але й іншими цитокінами, зокрема ІЛ-1 $\beta$ , тромбоцитарним фактором росту, ФНП- $\alpha$  [298].

Одним із найважливіших системних прозапальних ефектів ІЛ-6 є індукція гострофазової запальної відповіді, збільшення синтезу протеїнів гострої фази (СРП, сироваткового амлоїдного протеїну А, фібриногену, гаптоглобіну) та порушення метаболізму ліпідів і ліпопротеїдів [273, 298, 359].

Виходячи із вищесказаного, доцільним було дослідити цитокінетичний баланс у токсикованих димом та уражених натрію нітритом щурів різного віку. Ураження щурів натрію нітритом на тлі 45-добової інтоксикації ТД призвело до підвищення вмісту прозапального цитокіну ІЛ-6 у сироватці крові щурів усіх дослідних груп (табл. 5.21).

Найвищий вміст ІЛ-6 спостерігався у сироватці крові статевонезрілих щурів, який збільшився на початку дослідження (15-та доба інтоксикації ТД та 24 год ураження НН) в 2,1 раза, у проміжний термін (30-та доба інтоксикації ТД та 72 год ураження НН) в 3,1 раза та у кінці експерименту в 4,6 раза.

Таблиця 5.21

Вміст прозапального ІЛ-6 (пг/л) у сироватці крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	1,91±0,28	3,00±0,30	4,14±0,17
15 доба ТД+24 год НН	3,96±0,16*	5,31±0,16*	8,06±0,38*
15 доба ТД+72 год НН	4,31±0,42*	5,86±0,34*	8,17±0,23*
30 доба ТД+24 год НН	5,97±0,22*	7,84±0,18*	10,00±0,30*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	4,70±0,19 <sup>#</sup>	6,10±0,25 <sup>#</sup>	6,70±0,25 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	5,64±0,31	7,39±0,35	8,49±0,42 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН	8,11±0,18*	9,42±0,23*	10,71±0,16*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	5,83±0,12 <sup>#</sup>	6,75±0,27 <sup>#</sup>	8,90±0,22 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	7,03±0,17 <sup>#</sup>	7,96±0,13 <sup>#</sup>	10,15±0,19 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	7,74±0,35*	9,35±0,32*	10,94±0,21*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	6,25±0,13 <sup>#</sup>	6,63±0,20 <sup>#</sup>	8,92±0,24 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	6,96±0,20	8,77±0,13	9,88±0,29 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	8,87±0,21*	10,50±0,26*	10,90±0,31*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	6,56±0,17 <sup>#</sup>	6,01±0,21 <sup>#</sup>	7,36±0,24 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	7,89±0,34	8,94±0,23 <sup>#</sup>	9,11±0,23 <sup>#</sup>

До кінця експерименту після ураження обома токсикантами вміст прозапального цитокіну у сироватці крові статевозрілих щурів збільшився в 3,5 раза, у старечих – у 2,6 раза щодо групи інтактного контролю.

Упродовж усього експерименту спостерігався виражений вплив мілдронату на вміст даного показника у сироватці крові. Після його

застосування вміст ІЛ-6 у останній термін дослідження знизився у сироватці крові статевонезрілих щурів у 1,4 раза, у статевозрілих – у 1,7 раза та у старечих – у 1,5 раза.

Ефективність від застосування карболайну проявилась, в основному, у групах статевозрілих та старечих щурів, у сироватці крові яких до кінця експерименту вміст ІЛ-6 вірогідно знижувався ( $p \leq 0,05$ ).

Основою розвитку запального процесу є запуск цитокінового каскаду, який включає, з одного боку, прозапальні цитокіни, з іншого – протизапальні медіатори. Баланс між двома різноспрямовано діючими групами цитокінів, в основному, визначає характер перебігу та результат захворювання. Встановлено, що ІЛ-4 проявляє потужний протизапальний ефект та відіграє ключову роль у виникненні запальної реакції, а також зменшує запальні функції моноцитів й макрофагів.

Нами досліджено вміст ІЛ-4 у сироватці крові щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та вплив на нього препарату метаболічної дії мілдроната та ентеросорбента карболайну. Встановлено, що досліджуваний показник знижувався у всіх вікових групах тварин у залежності від термінів інтоксикації (табл. 5.22).

До кінця дослідження вміст протизапального цитокіну найвираженіше знизився у сироватці крові статевонезрілих щурів – у 2,2 раза, тоді як у статевозрілих та старечих – у 1,7 та 1,8 раза відповідно (щодо контролю).

Ефективність застосування мілдронату була зареєстрована у всі терміни та у всіх вікових групах. У кінці експерименту після його застосування вміст ІЛ-4 підвищився майже до рівня контрольних тварин у сироватці крові статевозрілих та старечого віку щурів. Карболайн не проявив позитивного впливу на даний показник у жоден термін дослідження.

Отже, результати досліджень показали, що в уражених натрію нітритом та тютюновим димом щурів різного віку відбувалися глибокі порушення біоенергетичних процесів. На тлі змішаної гіпоксії, яка має місце за даної патології, пригнічувалась активність ензимів мітохондріального окиснення.

Таблиця 5.22

Вміст протизапального ІЛ-4 (пг/л) у сироватці крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	1,98±0,04	1,45±0,04	1,36±0,03
15 доба ТД+24 год НН	1,74±0,12	1,34±0,02	1,27±0,03
15 доба ТД+72 год НН	1,51±0,13*	1,28±0,01*	1,24±0,02*
30 доба ТД+24 год НН	1,65±0,03*	1,18±0,01*	1,16±0,01*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	1,94±0,03 <sup>#</sup>	1,44±0,03 <sup>#</sup>	1,37±0,03 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,80±0,02	1,20±0,01	1,20±0,02
30 доба ТД+72 год НН	1,48±0,07*	1,14±0,04*	1,02±0,03*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	1,90±0,04 <sup>#</sup>	1,39±0,03 <sup>#</sup>	1,18±0,03 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	1,69±0,02	1,19±0,01	1,06±0,04
45 доба ТД+24 год НН	1,13±0,04*	1,02±0,03*	0,90±0,03*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	1,65±0,04 <sup>#</sup>	1,31±0,03 <sup>#</sup>	1,07±0,02 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,14±0,02	1,08±0,03	0,96±0,04
45 доба ТД+72 год НН	0,90±0,02*	0,85±0,03*	0,75±0,02*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	1,46±0,02 <sup>#</sup>	1,38±0,03 <sup>#</sup>	1,38±0,03 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,96±0,02	0,96±0,04	0,77±0,03

Найвираженіше зниження процесів енергозабезпечення відмічали в організмі статевонезрілих щурів.

Оксидативний стрес та нагромадження токсичних продуктів екзо- та ендогенного походження в організмі уражених щурів призводили до розвитку запальних процесів з їх поглибленням у залежності від тривалості

експерименту та віку тварин. Це підтверджено дисбалансом про- та протизапальних цитокінів та збільшенням у сироватці крові протеїну гострої фази – С-реактивного протеїну.

Застосування за даних умов антигіпоксанта мілдронату виявилось ефективним, після його потрапляння до організму активність процесів енергозабезпечення підвищувалась та пригнічувались запальні реакції в організмі. Ентеросорбент карболайн вірогідних змін дослідних показників практично не викликав.

5.5. Динаміка показників нітрооксидативного стресу у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників

У попередніх розділах (3 та 4) нами показано, що отруєння натрію нітритом призводить до виникнення нітрооксидативного стресу, який зумовлений утворенням значної кількості нітроген оксиду. У свою чергу, тютюновий дим містить діоксид нітрогену, а також нітроген оксид, які потрапляючи в організм проявляють токсичність за рахунок утворення пероксинітриту, нітрит- та нітратіонів, що ініціюють реакції ПОЛ. Таким чином, в організмі поряд з оксидативними порушеннями розвивається нітрооксидативний стрес.

Головними шляхами утворення нітроген оксиду вважають NO-синтазну активність, а також ензимні та неензимні реакції відновлення нітрат- та нітрит-іонів. Наявність NO-синтазного механізму забезпечує ендогенний синтез NO, який в кінцевому результаті окиснюється до нітрит- та нітрат-іонів [78, 125, 166].

У той же час деякими авторами показано, що один із продуктів перетворення NO нітрит-іон може доволі ефективно (особливо за умов дефіциту кисню) знов перетворюватись у NO [173, 177, 178, 189].

Як показали результати наших досліджень, одночасне ураження натрію нітритом та тютюновим димом, призводило до значної активації процесів утворення нітрит-іону в організмі щурів різного віку.

У сироватці крові статевонезрілих щурів після ураження обома токсикантами в останній термін дослідження вміст нітрит-іону підвищився у 2,3 рази (рис. 5.19), що може зумовити значне утворення ендogenous нітроген оксиду та розвиток нітрооксидативного стресу. У цей же термін даний показник перевищував норму в 2 рази у сироватці крові статевозрілих та старечого віку тварин.

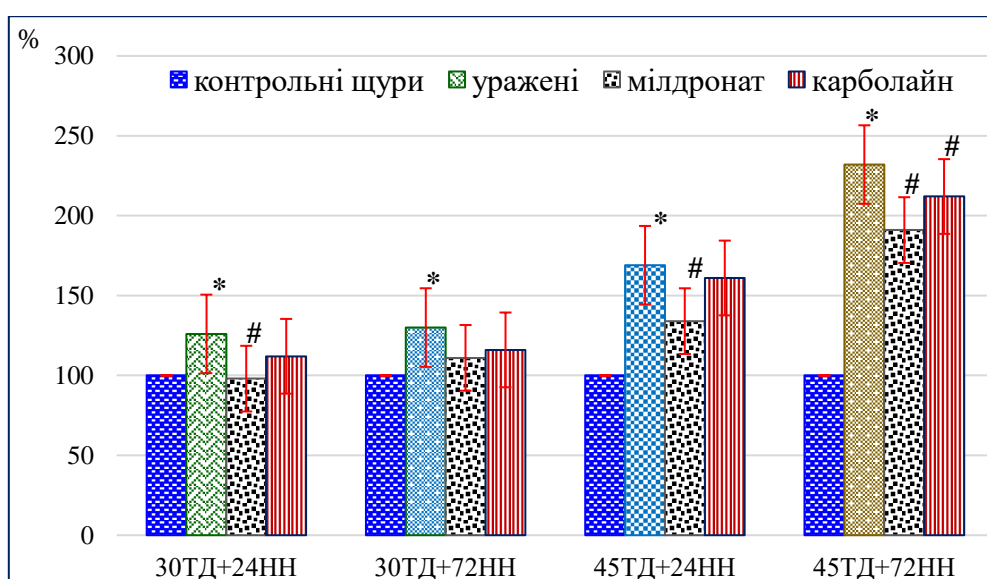


Рис. 5.19. Вміст нітрит-іону у сироватці крові статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

Як видно з рисунка 5.19, максимум утворення нітрит-іону припадає на останні терміни дослідження. Застосований нами мілдронат виявився більш ефективним, ніж карболайн, вірогідно знижуючи даний показник упродовж експерименту.

Після ураження токсикантами спостерігали збільшення вмісту нітрит-іону в печінці щурів усіх вікових груп (додаток Р. 1). Вірогідні зміни ( $p \leq 0,05$ ) відмічені в усі терміни дослідження. Даний показник виражено знижувався під впливом мілдронату. Ефективність застосування карболайну проявилася у перші терміни експерименту, до кінця дослідження (45-та доба ТІ та 24 і

72 год з моменту потрапляння натрію нітриту) сорбент не проявив позитивного впливу на вміст нітрит-іону в даному органі.

Аналогічне збільшення нітрит-іону відмічено в міокарді щурів усіх вікових груп після ураження дослідними токсикантами (додаток Р. 2). Найчутливішим до одночасної дії натрію нітриту та тютюнового диму був міокард щурів старечого віку щурів, у якому до кінця експерименту вміст нітрит-іону збільшився в 2,3 раза порівняно з групою інтактного контролю. У статевонезрілих щурів даний показник незначно відрізнявся від показника попередньої групи – в уражених щурів цієї вікової категорії вміст нітрит-іону у міокарді підвищився в 2,2 раза після ураження. Ефективність мілдронату значно перевищувала ефективність застосування карболайну. Під впливом мілдронату впродовж усього експерименту вміст нітрит-іону вірогідно знижувався, карболайн практично не впливав на даний показник (вірогідних змін виявлено не було) у міокарді.

Враховуючи, що впродовж 45-ти діб щури піддавались отруєнню тютюновим димом, а також присутність у ньому нітрогенвмісних сполук, доцільним було дослідити вміст нітрит-іону в легенях тварин усіх вікових груп.

Ми встановили, що отруєння тварин натрію нітритом на тлі 45-добової інтоксикації тютюновим димом викликає підвищення вмісту нітрит-іону в легенях щурів усіх дослідних груп (табл. 5.23 ).

У легенях статевонезрілих тварин даний показник до кінця експерименту підвищився в 3,7 раза, у статевозрілих у 3,2 раза та у старечих у 2,7 раза порівняно з групою інтактного контролю, що підтверджує тропність тютюнового диму саме до цього органу.

Введення в уражений організм мілдронату супроводжувалось зниженням вмісту нітрит-іону в легенях щурів практично в усі терміни дослідження (окрім, початкового). При застосуванні карболайну в останній термін дослідження відмічена тенденція до зниження даного показника, хоча вірогідних змін не було.

Таблиця 5.23

Вміст нітрит-іону (нмоль/л) в легенях щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	1,30±0,14	1,00±0,11	1,70±0,19
15 доба ТД+24 год НН	3,70±0,17*	2,30±0,18*	3,60±0,21*
15 доба ТД+72 год НН	4,20±0,21*	2,40±0,11*	3,90±0,21*
30 доба ТД+24 год НН	4,20±0,30*	2,60±0,11*	3,90±0,20*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,60±0,24 <sup>#</sup>	2,80±0,15 <sup>#</sup>	3,30±0,20 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	3,90±0,21	3,30±0,15 <sup>#</sup>	3,70±0,28
30 доба ТД+72 год НН	4,80±0,25*	3,60±0,14*	4,50±0,17*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	3,60±0,11 <sup>#</sup>	2,90±0,13 <sup>#</sup>	3,30±0,17 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	4,20±0,21	3,20±0,11	4,00±0,22
45 доба ТД+24 год НН	4,20±0,31*	2,90±0,11*	4,10±0,17*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,30±0,28	1,40±0,13 <sup>#</sup>	2,40±0,21 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	3,10±0,24	1,60±0,13 <sup>#</sup>	2,90±0,22 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	4,80±0,21*	3,20±0,13*	4,60±0,32*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	4,00±0,22	2,50±0,15 <sup>#</sup>	3,90±0,22
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	4,50±0,28	2,90±0,12	4,30±0,15

Підвищення вмісту нітрит-іону спостерігали у нирках щурів після ураження токсикантами (додаток Р. 3). Статевонезрілі щури виявились більш чутливими до ураження, в їх нирках вміст нітрит-іону підвищився в останній термін дослідження в 2,8 раза, тоді як у зрілих та старечого віку тварин – у 2 рази щодо контролю.



У всі терміни дослідження показник вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) знижувався в нирках статевозрілих, статевозрілих та старечого віку щурів після потрапляння до організму мілдронату. Ефективність карболайну стосовно даного показника була значно нижчою і практично не викликала вираженого зниження вмісту нітрит-іону в нирках тварин усіх дослідних груп.

Надмірне нагромадження нітрит-іону в органах щурів після ураження може зумовити посилене утворення нітроген оксиду. Раніше вважали, що NOS-залежний синтез фізіологічно необхідного NO («базальний NO») здійснюється за участю eNOS і nNOS, а NOS-залежний синтез додаткової кількості NO в клітині за розвитку різних патологічних станів реалізується за участю iNOS [465, 516]. Це призводить до надмірної її активації та дисфункції аргіназного метаболічного шляху, який конкурує з NO-синтазним за субстрат – L-аргінін [177, 465].

У наших експериментах відмічено, що після ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації у сироватці крові прогресуюче зростала активність iNOS у всіх вікових групах (табл. 5.24).

Найактивнішою була iNOS у сироватці крові статевонезрілих щурів, яка до кінця експерименту підвищилась у 3,3 раза після ураження токсикантами. Статевозрілі щури виявились найбільш стійкими – активність ензиму в них підвищилась у 1,7 раза щодо групи інтактного контролю в кінцевий термін дослідження, у старечих даний показник у сироватці крові збільшився в 2,7 раза.

Застосування мілдронату призвело до вірогідного зниження активності iNOS упродовж експерименту в сироватці крові щурів усіх вікових груп. Так, у кінці експерименту в статевонезрілих щурів даний показник знизився в 1,8 раза щодо групи уражених тварин, у статевозрілих і старечих – у 1,5 раза ( $p \leq 0,05$ ). Після введення в уражений організм карболайну в сироватці крові всіх груп тварин спостерігали тенденцію до зниження активності ензиму, але вірогідних змін відмічено не було.

Активність iNOS (нг/мл) у сироватці крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників (M±m; n=6)

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	13,16±0,95	18,84±1,93	14,86±1,27
15 доба ТД+24 год НН	30,81±2,68*	25,20±1,60*	28,23±1,85*
15 доба ТД+72 год НН	33,90±3,22*	29,86±2,79*	30,16±2,32*
30 доба ТД+24 год НН	33,62±2,80*	25,91±1,59*	31,67±2,83*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	25,38±1,66	19,71±1,81	22,36±1,97 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	31,80±1,53	23,55±1,30	29,22±2,58
30 доба ТД+72 год НН	40,91±2,43*	27,25±1,60*	35,12±2,48*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	28,05±1,64 <sup>#</sup>	20,09±1,00 <sup>#</sup>	24,19±1,86 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	38,82±2,34	25,52±1,76	30,76±2,64
45 доба ТД+24 год НН	40,13±3,15*	29,10±2,54*	37,73±2,49*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	20,03±1,73 <sup>#</sup>	21,10±1,67 <sup>#</sup>	25,73±2,53 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	38,55±2,93	26,31±2,06	34,27±2,48
45 доба ТД+72 год НН	42,91±4,24*	31,36±2,86*	40,31±2,76*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	23,74±1,90 <sup>#</sup>	20,75±1,88 <sup>#</sup>	27,12±2,25 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	37,94±1,92	28,04±1,83	35,98±3,02

Досліджено активність iNOS у печінці щурів різного віку після ураження токсикантами і відмічено, що найбільшу активність вона проявляє у статевонезрілих тварин. На початку експерименту активність ензиму в печінці цієї групи щурів збільшилась у 3 рази, до кінця експерименту в 4,3 рази

перевищувала норму. У статевозрілих тварин показник зростав у 1,5 раза у терміні 15-та доба ураження ТД та 72 год отруєння НН, до кінця експерименту в 1,8 раза. Підвищення активності iNOS відмічалось в печінці щурів старечого віку – в 2,4 раза на початкових стадіях експерименту та в 3,5 раза до кінця дослідження (рис. 5.20).

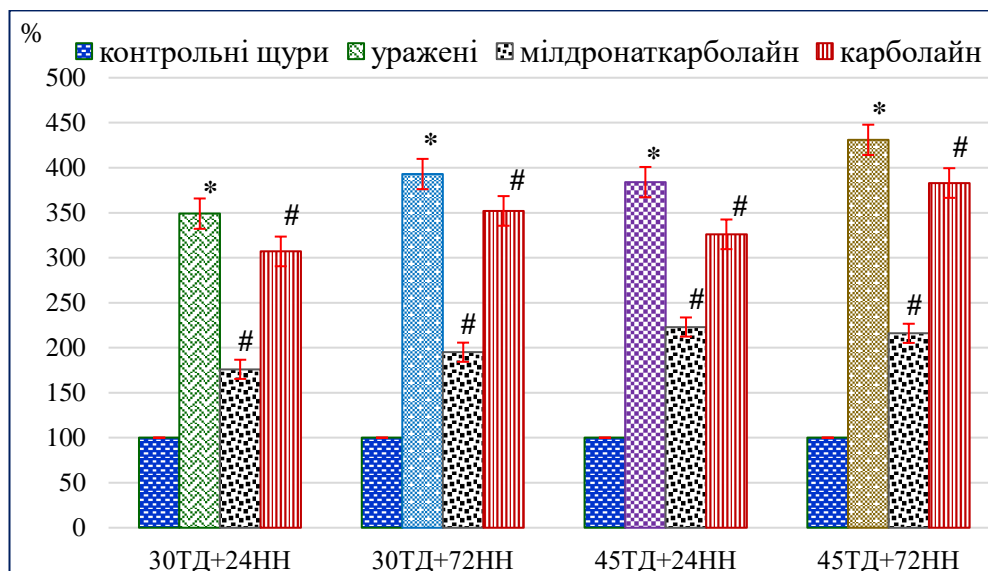


Рис. 5.20. Активність iNOS у печінці статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

Застосування коригувальних чинників позитивно впливало на активність ензиму у печінці. Особливо ефективним виявився мілдронат, після введення якого в організм щурів даний показник вірогідно знижувався в усі терміни дослідження. У статевонезрілих щурів наприкінці дослідження він у 2,2 раза виявився нижче рівня уражених тварин. Аналогічне зниження активності iNOS під впливом мілдронату було у печінці статевозрілих та старечого віку щурів.

Очевидно, саме активацією iNO-синтази можна пояснити отримані нами результати, які свідчать про достовірне збільшення рівня метаболітів нітроген оксиду, зокрема нітрит-іону, в сироватці крові та органах щурів після ураження. Відомо, що iNOS синтезує високі концентрації NO (> 300 нМ) [78, 516], в той час як eNOS продукує низькі концентрації NO. iNOS

є кальційнезалежною ізоформою NOS і, на відміну від eNOS, не експресується постійно (конститутивно). Виходячи з цього, ми дослідили активність eNOS у сироватці крові та печінці щурів різних вікових груп після ураження дослідними токсикантами (рис. 5.21).

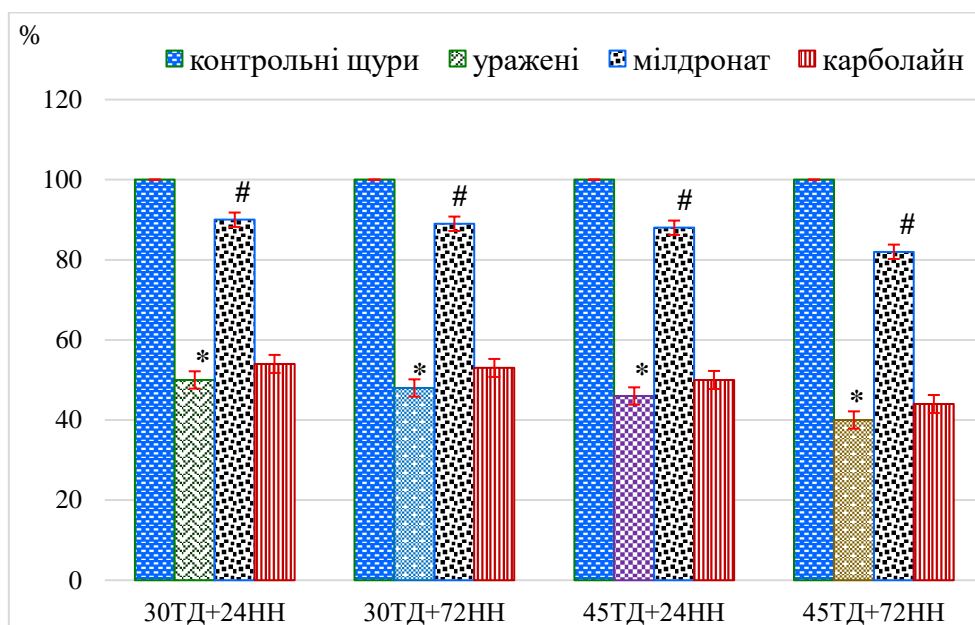


Рис. 5.21. Активність eNOS у сироватці крові статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

Як видно з рис. 5.21 активність ензиму у сироватці крові статевонезрілих щурів у всі терміни дослідження зазнала практично однакового зниження та в кінці експерименту виявилась нижче контролю на 56 %. У цей же час у щурів старечого віку даний показник знизився теж на 56 %, у статевозрілих – на 50 %.

Мілдронат ефективно підвищував активність eNOS у сироватці крові щурів різного віку впродовж усього експерименту. Карболайн вірогідного збільшення активності ензиму не викликав, спостерігали тенденцію до його підвищення.

Нами вивчено активність eNOS у печінці уражених щурів та вплив на неї коригувальних чинників. Ураження щурів обома токсикантами одночасно призвело до зниження активності eNOS у печінці тварин усіх вікових груп (табл. 5.25).

Таблиця 5.25

Активність eNOS (нг/мл; 1 мл -  $10^6$  клітин печінки) у печінці щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	3,26±0,26	4,11±0,19	3,42±0,23
15 доба ТД+24 год НН	1,12±0,09*	1,53±0,07*	1,31±0,10*
15 доба ТД+72 год НН	0,93± 0,06*	1,44±0,11*	1,12±0,08*
30 доба ТД+24 год НН	0,89±0,08*	1,54±0,13*	1,18±0,10*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	1,85±0,13 <sup>#</sup>	3,66±0,21 <sup>#</sup>	2,88±0,19 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,07±0,09	2,12±0,20	1,37±0,12
30 доба ТД+72 год НН	0,69±0,06*	1,46±0,11*	1,10±0,07*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	1,87±0,14 <sup>#</sup>	3,72±0,31 <sup>#</sup>	2,95±0,24 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,91±0,08	2,04±0,15 <sup>#</sup>	1,33±0,11
45 доба ТД+24 год НН	0,73±0,06*	1,45±0,12*	1,02±0,08*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	2,02±0,15 <sup>#</sup>	3,88±0,32 <sup>#</sup>	3,07±0,17 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,89±0,06	2,18±0,19 <sup>#</sup>	1,31±0,10
45 доба ТД+72 год НН	0,64±0,05*	1,39±0,10*	0,91±0,09*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	2,11±0,17 <sup>#</sup>	3,98±0,30 <sup>#</sup>	3,11±0,19 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,94±0,08 <sup>#</sup>	2,13±0,18 <sup>#</sup>	1,26±0,10 <sup>#</sup>

Найнижча активність eNOS зареєстрована в печінці статевонезрілих щурів у кінці експерименту, вона знизилась після ураження в 5,1 раза щодо групи інтактного контролю того ж віку. У статевозрілих щурів даний показник знизився у 3 рази, у старечих у 3,8 раза щодо контролю в останній термін дослідження.

Використаний нами антигіпоксанти вірогідно підвищував ( $p \leq 0,05$ ) активність ензиму в усі терміни дослідження. Найближчими до контролю стали показники у печінці статевозрілих тварин при застосуванні мілдронату. Ефективність карболайну проявилася у кінці експерименту, після його 30-добового введення в організм активність eNOS підвищувалася в печінці щурів всіх дослідних груп (у останній термін дослідження).

Отже, отримані результати дозволяють стверджувати, що гіперпродукування NO, яке пов'язане зі збільшенням вмісту нітрит-іону після ураження та активності iNOS, поряд з активацією кисневих вільнорадикальних реакцій, є однією з ключових ланок за токсичних уражень організму, зокрема при отруєнні натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації.

Таким чином, при отруєнні натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації в організмі тварин розвивається оксидативний та нітрооксидативний стрес, які зумовлюють тяжкість перебігу патологічного процесу. Найбільш виражені зміни у функціонуванні NO-системи відмічались в організмі статевонезрілих щурів після одночасного ураження натрію нітритом та тютюновим димом.

5.6. Морфо-функціональні зміни органів щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації та дії коригувальних чинників

Для підтвердження отриманих результатів, наведених у попередніх підрозділах, нами проведені морфологічні дослідження органів щурів різних вікових груп після ураження їх натрію нітритом та впливу на них препарата метаболічної дії мілдронату та ентеросорбента карболайну.

5.6.1. Структурна організація та морфологічні зміни легень тварин різних вікових груп за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту, та після застосування карболайну та мілдронату

Для встановлення морфофункціональних змін легень, печінки, нирки, серця статевонезрілих, статевозрілих та старечого віку білих щурів, що

досліджувались за умов експерименту, було проведене вивчення структурних компонентів органів тварин контрольних груп. Гістологічні дослідження легень тварин різних вікових груп показали, що їх мікроскопічна будова дуже подібна, не має особливих відмінностей.

Мікроскопічно легені складають бронхи різного калібру (повітряносні шляхи), легеневі ацинуси (респіраторний відділ) та судинне русло. Кожний ацинус включає декілька респіраторних бронхіол, що відходять від термінальної бронхіоли. Респіраторні бронхіоли продовжуються в альвеолярні ходи та альвеолярні мішечки, які побудовані з системи альвеол, в яких безпосередньо відбувається газообмін між кров'ю та повітрям.

Внутрішня поверхня альвеоли вистелена епітелієм, що розташований на базальній мембрані. Його складають малі респіраторні епітеліоцити та великі секреторні епітеліоцити (рис. 5.23, 5.24).

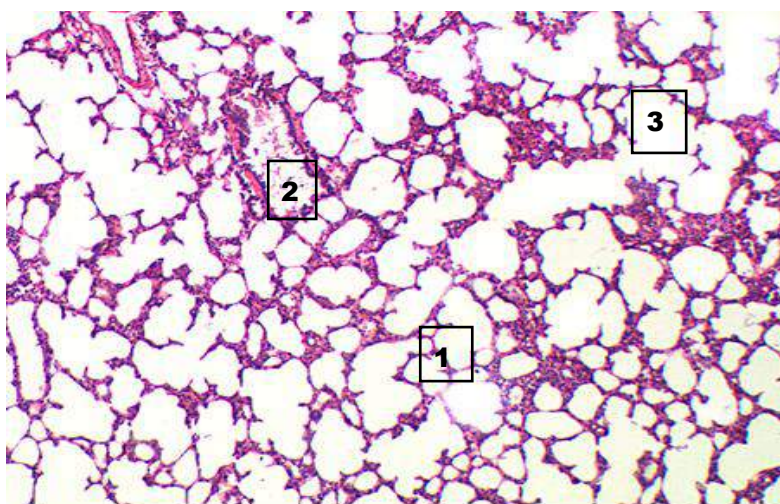


Рис. 5.23. Мікроскопічна будова легені статевонезрілої тварини групи інтактного контролю. Респіраторний відділ (1), бронхіола (2), альвеоли в складі альвеолярного мішечка (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

У тварин старечого віку альвеоли в складі ходів та мішечків респіраторного відділу виглядають більшими за площею, ніж у статевозрілих, і особливо статевонезрілих тварин контрольних груп. Також більшої товщини виглядають альвеолярні перегородки, а в стромальній сполучній тканині біля бронхів спостерігаються невеликі лейкоцитарні інфільтрати.

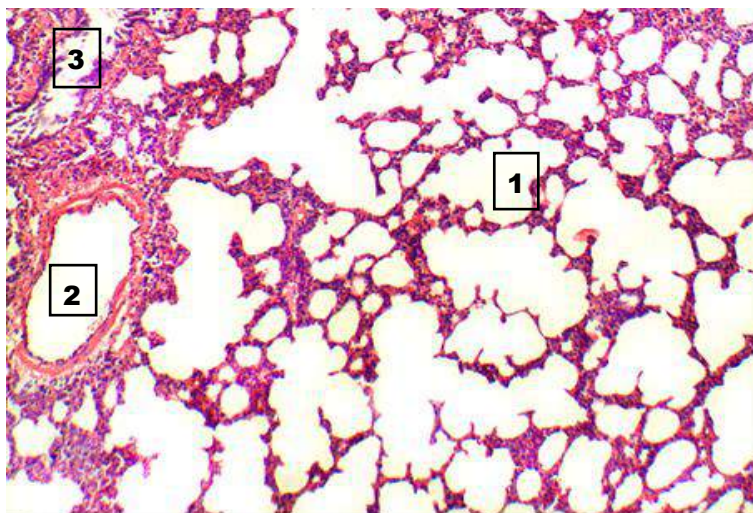


Рис. 5.24. Мікроскопічна будова легені старечого віку тварини групи інтактного контролю. Респіраторний відділ (1), бронхіола (2), судина (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

Мікроскопічні дослідження легень за умов отруєння щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації показали, що в групі статевонезрілих тварин у респіраторному відділі зменшується площа альвеол у складі ходів мішечків, зростає товщина міжальвеолярних перетинок за рахунок кровонаповнення гемокапілярів та лімфоїдної інфільтрації (рис. 5.25).

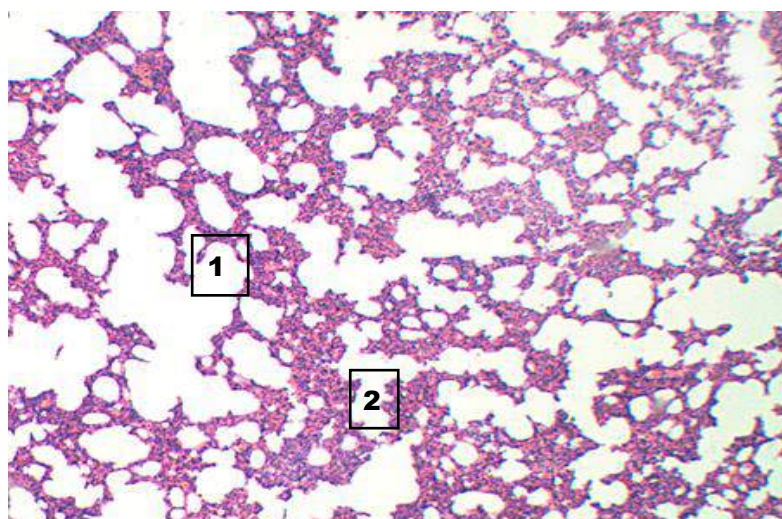


Рис. 5.25. Мікроскопічні зміни легені статевонезрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму на натрію нітриту. Респіраторний відділ (1), альвеоли (2) в складі альвеолярного мішечка. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

У групах статевозрілих і особливо старечого віку тварин, окрім цього, зростає кровонаповнення судин і площа ділянок периваскулярної та перибронхіальної лейкоцитарної інфільтрації (рис. 5.26, 5.27).



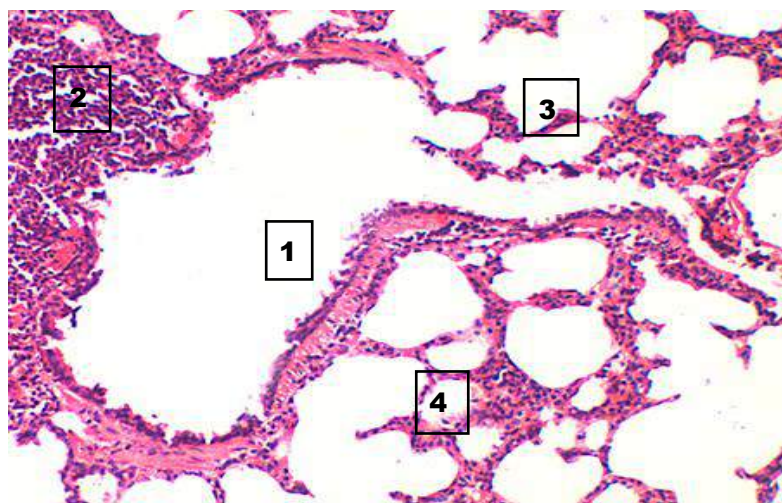


Рис. 5.26. Мікроскопічні зміни легені статевозрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту. Бронх (1), інфільтрат (2), альвеола (3) міжальвеолярна перетинка (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$

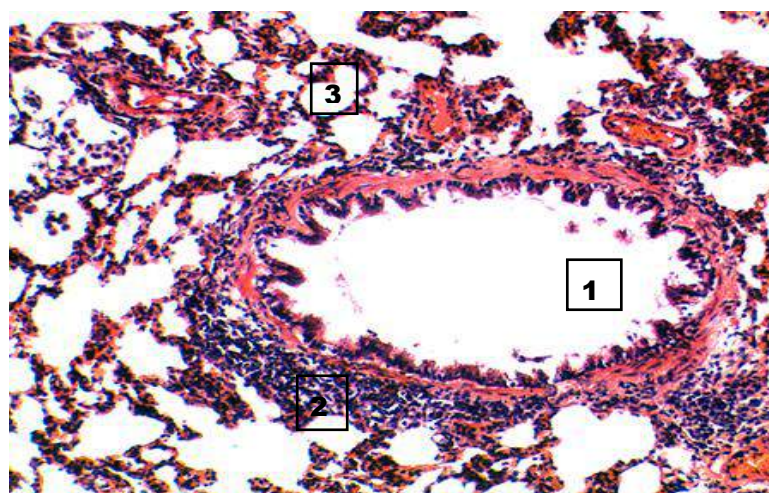


Рис. 5.27. Мікроскопічні зміни легені старечого віку тварини за умов поєднаної дії тютюнового диму та натрію нітриту. Бронх (1), інфільтрат (2), альвеола (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

Мікроскопічні дослідження легень за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування карболайну показали, що препарат позитивно впливає на структурні компоненти органу тварин усіх вікових груп. У складі респіраторного відділу площа альвеол не так значно збільшена, порівняно з групою експериментальних тварин без корекції. Товщина міжальвеолярних перетинок, кровонаповнення гемокапілярів та лімфоїдна інфільтрація не такі значні, як у групі експериментальних тварин за умов ураження токсикантами (рис. 5.28, 5.29).

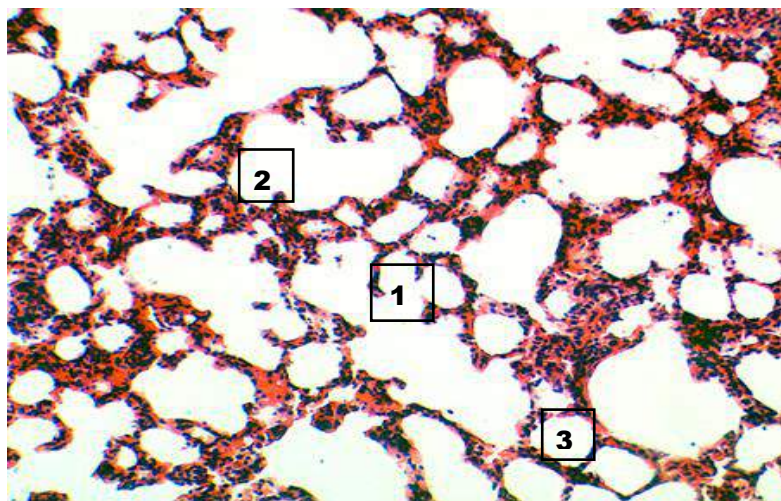


Рис. 5.28. Мікроскопічні зміни легені статевонезрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування карболайну. Респіраторний відділ (1), альвеола (2) міжальвеолярна перетинка (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$

Порівняно менш змінена стінка бронхів, пошкодження в'їчастого епітелію слизової оболонки, набряк адвентиційної оболонки, зменшується площа ділянок лейкоцитарної інфільтрації стромы органу у статевозрілих та старечого віку тварин (рис. 5.29).

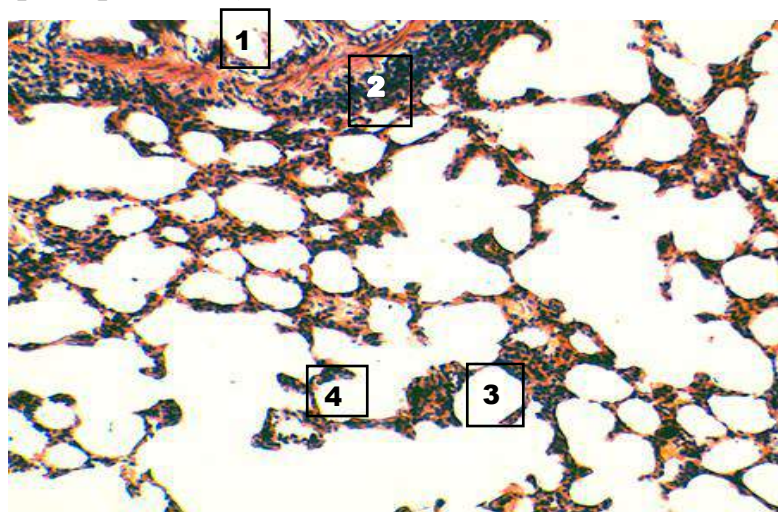


Рис. 5.29. Мікроскопічні зміни легені тварин старечого віку за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування карболайну. Бронх (1), інфільтрат (2), альвеола (3) міжальвеолярна перетинка (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$

При мікроскопічних дослідженнях легень подібний, але більш позитивний вплив виявляється при застосуванні препарату мілдронату в уражених тварин. У щурів, особливо статевозрілої групи, компоненти органу

за структурною організацією наближаються до тварин інтактного контролю (рис. 5.30).

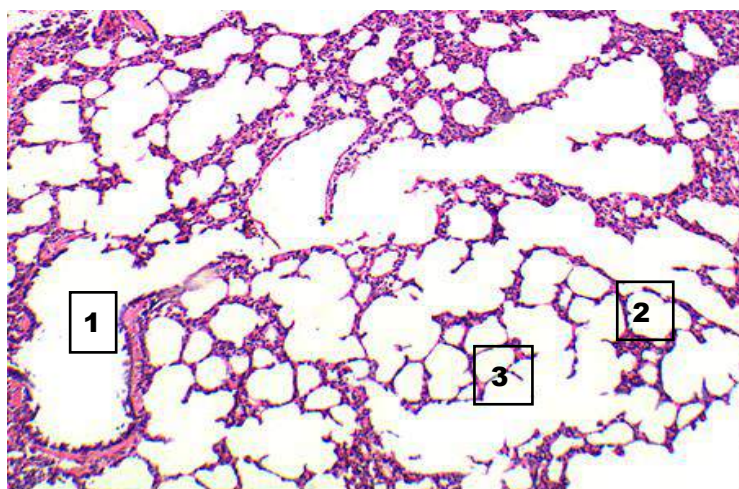


Рис. 5.30. Мікроскопічні зміни легені статевозрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування мілдронату. Бронх (1), альвеола (2) міжальвеолярна перетинка (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

У статевонезрілих та старечого віку тварин ще наявні ділянки з потовщеними міжальвеолярними перетинками, кровонаповненими судинами мікроциркуляторного русла та помірна лімфоїдна інфільтрація (рис. 5.31).

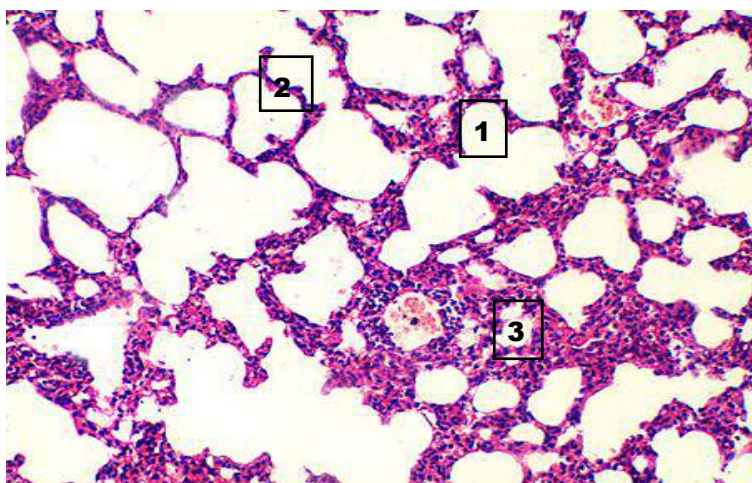


Рис. 5.31. Мікроскопічні зміни легені статевонезрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування мілдронату. Альвеола (1), міжальвеолярна перетинка (2), інфільтрат (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$

Таким чином, проведені мікроскопічні дослідження легень білих щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації встановили, що структурна реорганізація легень тварин усіх вікових груп характеризується

змінами судинного русла, основних морфофункціональних компонентів ацинусів. Найбільші зміни відбуваються у легенях старечого віку та статевонезрілих тварин. Мікроскопічні дослідження легень за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування карболайну показали, що препарат позитивно впливає на структурні компоненти органу тварин усіх вікових груп, але більш позитивний вплив виявляється при застосуванні препарату мілдронату в уражених тварин.

5.6.2. Структурна організація та морфологічні зміни печінки тварин різних вікових груп за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту, та після застосування карболайну та мілдронату

Гістологічні дослідження печінки статевонезрілих, статевозрілих та старечого віку тварин контрольних груп показали, що їх мікроскопічна будова дуже подібна, не має особливих відмінностей. Паренхіму органу складають компактно розміщені часточки, між ними немає чітко виражених меж, тому що строма печінки, пухка волокниста сполучна тканина, погано розвинена і тільки більша за площею в ділянці триад (рис. 5.32).

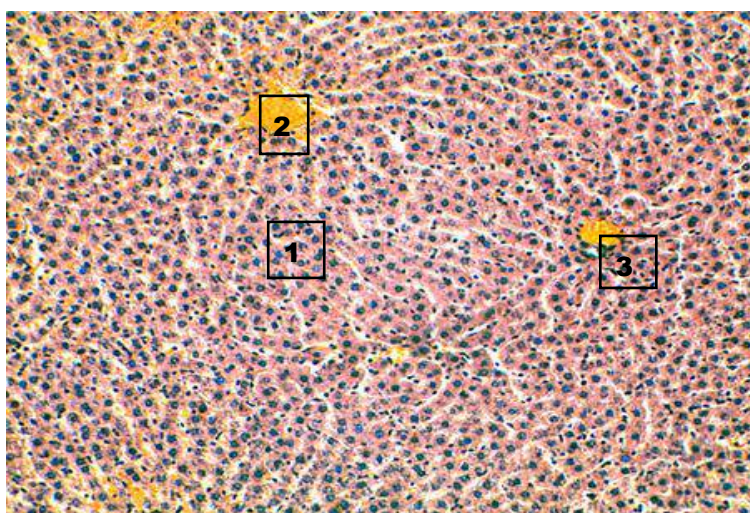


Рис. 5.32. Мікроскопічна будова печінки статевозрілої тварини групи інтактного контролю. Гепатоцити в складі печінкової часточки (1), центральна вена (2), триада (3). Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 100$

Часточки побудовані гепатоцитами, розташовані у вигляді балок – радіально орієнтованих тяжів клітин від периферії до центральної вени. Між цими рядами гепатоцитів розміщуються світлі щілеподібні простори, які являють собою кровоносні капіляри – синусоїди печінки. По кутах часточок розташовані тріади – своєрідний комплекс, до складу якого входять міжчасточкові артерія, вена та жовчна протока. У центрі часточки розташована помірно розширена, округло овальна центральна вена.

У старечого віку тварин мікроскопічно у печінці відмічається збільшення у периферійних ділянках часточок гіпертрофованих гепатоцитів. У них спостерігали базофільні ядра, у цитоплазмі жирові включення (рис. 5.33). Також зростала площа стромальної сполучної тканини у ділянці тріад.

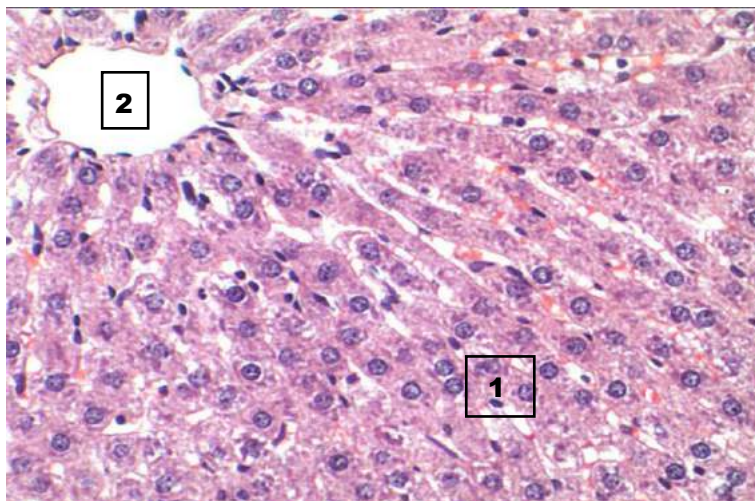


Рис. 5.33. Мікроскопічна будова печінки тварини старечого віку групи інтактного контролю. Гепатоцити в складі печінкової часточки (1), центральна вена (2). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$

Гістологічні дослідження печінки різних вікових груп за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту встановили, що зростає кровонаповнення судинного русла, особливо венозного відділу. Погіршується структурованість часточок, частина гепатоцитів мають базофільні, пікнотично змінені ядра, просвітлену цитоплазму переважно клітин периферійних ділянок (рис. 5.34).

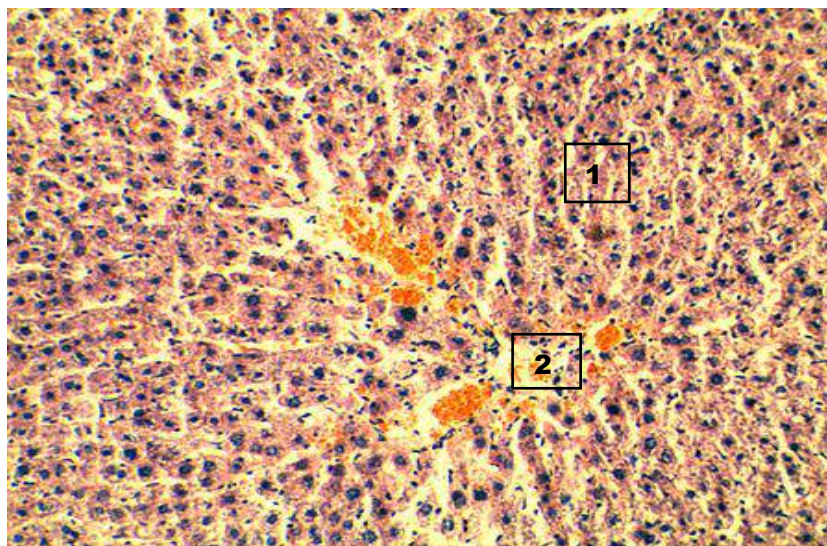


Рис. 5.34. Мікроскопічні зміни печінки статевонезрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту. Гепатоцити в складі печінкових часточок (1), центральна вена (2). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

У печінці статевозрілих і особливо старечого віку тварин збільшується площа сполучної тканини в ділянках триад, вона насичена лейкоцитами (рис. 5.35, 5.36).

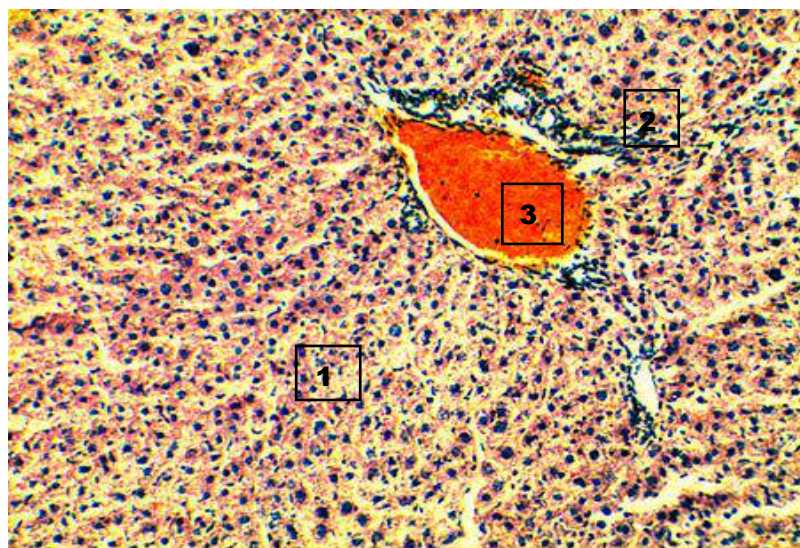


Рис. 5.35. Мікроскопічні зміни печінки статевозрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту. Гепатоцити в складі печінкових часточок (1), лейкоцитарна інфільтрація (2) навколо кровонаповненої вени (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

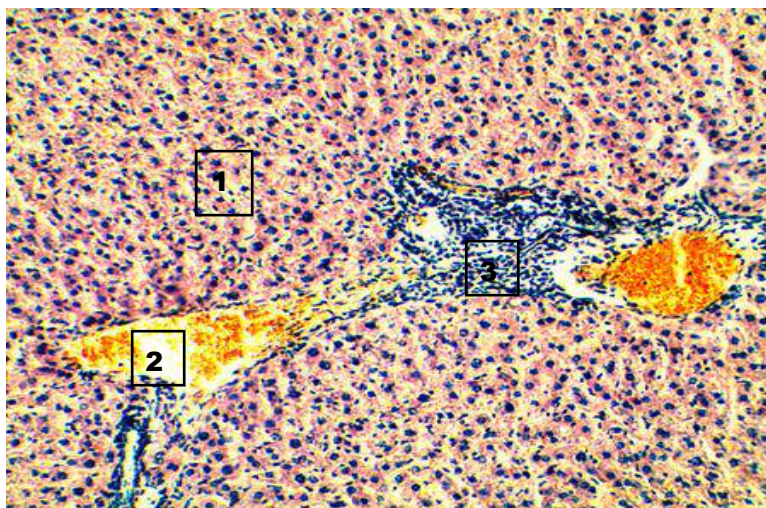


Рис. 5.36. Мікроскопічні зміни печінки тварини старечого віку за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту. Гепатоцити в складі печінкових часточок (1), кровонаповнена судина (2), лейкоцитарна інфільтрація строми (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

Гістологічні дослідження печінки за умов ураження токсикантами після застосування карболайну показали, що препарат позитивно впливає на структурні компоненти органу тварин усіх вікових груп. У складі часточок гепатоцити мали більш упорядковане розташування, синусоїди та центральні вени не так значно розширені та кровонаповнені, порівняно з групою експериментальних тварин без корекції. Проте в паренхімі органа статевонезрілих тварин наявні ділянки, в яких частина гепатоцитів мають базофільні, невеликі ядра, вогнещево просвітлену цитоплазму (рис. 5.37).

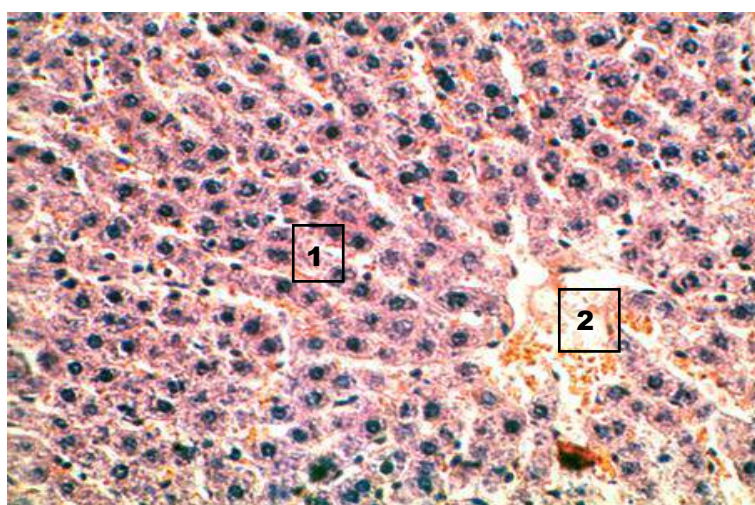


Рис. 5.37. Мікроскопічні зміни печінки статевонезрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування карболайну. Гепатоцити в складі печінкових часточок (1), центральна вена (2). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$

У печінці статевозрілих і старечого віку тварин площа сполучної тканини в ділянках тріад збільшена, наявна інфільтрація лейкоцитами, але ці зміни не такі значні, як у групі експериментальних тварин за умов ураження токсикантами (рис. 5.38).

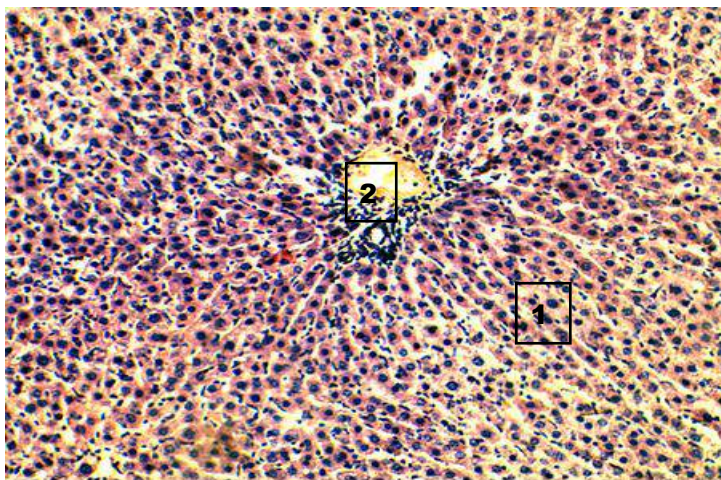


Рис. 5.38. Мікроскопічні зміни печінки статевозрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування карболайну. Гепатоцити в складі печінкових часточок (1), ділянка тріади (2). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

Проведені мікроскопічні дослідження печінки тварин різних вікових груп після застосування препарату мілдронату в уражених тварин встановили більш позитивний його вплив, ніж карболайну. У тварин, особливо статевозрілої групи компоненти органу за структурною організацією наближаються до тварин групи інтактного контролю (рис. 5.39).

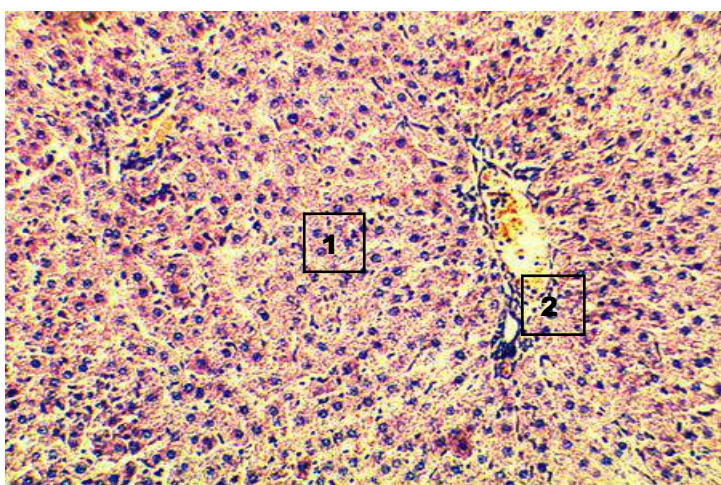


Рис. 5.39. Мікроскопічні зміни печінки статевозрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію натрію після застосування мілдронату. Гепатоцити в складі печінкових часточок (1), ділянка тріади (2). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$



У статевонезрілих тварин наявні гепатоцити з гіпертрофованими, базофільними ядрами, багато двоядерних клітин, у них значний об'єм цитоплазми (рис. 5.40).

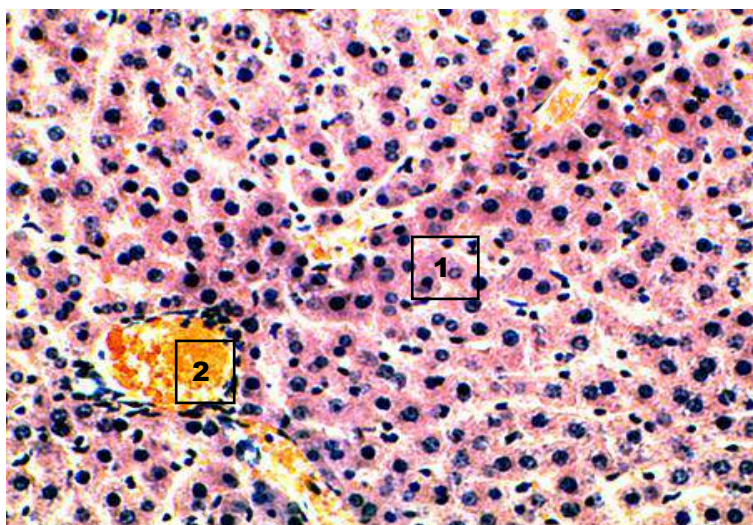


Рис. 5.40. Мікроскопічні зміни печінки статевонезрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування мілдронату. Гепатоцити в складі печінкових часточок (1), центральна вена (2). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$

Мікроскопічно у старечого віку тварин відмічається кращий стан структурних компонентів печінки порівняно з групою тварин за дії тютюнового диму та натрію нітриту. У складі часточок наявні гепатоцити з гіпертрофованими ядрами та помірною жировою дистрофією цитоплазми (рис. 5.41).

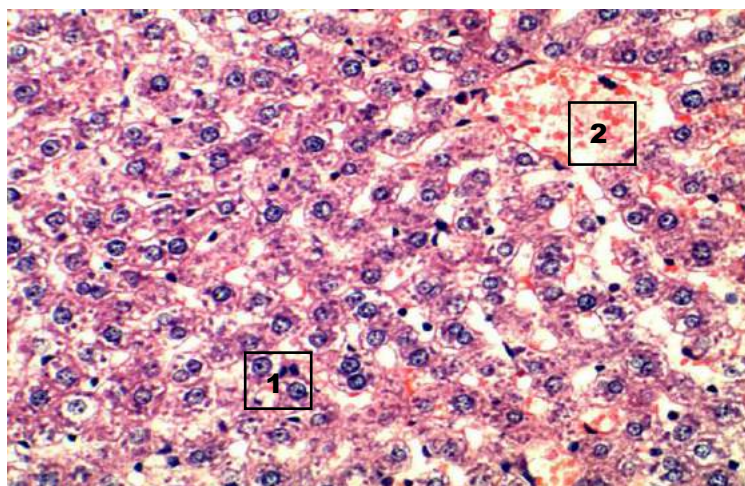


Рис. 5.41. Гістологічний стан печінки старої тварини за умов поєднаної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування мілдронату. Гепатоцити в складі печінкових часточок (1), центральна вена (2). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$

Таким чином, проведені гістологічні дослідження печінки щурів різних вікових груп за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту встановили, що зростає кровонаповнення судинного русла, особливо венозного відділу. Погіршується структурованість часточок, частина гепатоцитів мають базофільні, пікнотично змінені ядра, просвітлену цитоплазму переважно клітин периферійних ділянок. Мікроскопічні дослідження печінки за умов ураження токсикантами після застосування карболайну показали, що препарат позитивно впливає на структурні компоненти органу тварин усіх вікових груп. У складі часточок гепатоцити мали більш упорядковане розташування, синусоїди та центральні вени не так значно розширені та кровонаповнені, порівняно з групою експериментальних тварин без корекції, а після застосування препарату мілдронату в уражених тварин встановили більш позитивний його вплив, ніж карболайну. У тварин, особливо статевозрілої групи компоненти органу за структурною організацією наближаються до тварин групи інтактного контролю.

5.6.3. Структурна організація та морфологічні зміни нирки тварин різних вікових груп за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту, та після застосування карболайну та мілдронату

Проведені гістологічні дослідження нирок контрольних білих щурів показали чітку диференціацію органа на кіркову та мозкову речовину. Кіркова речовина розташовується під капсулою, на препаратах забарвлюється інтенсивно. Мозкова речовина знаходиться під кірковою та виглядає світлішою. Паренхіма органу представлена нирковими тільцями й звивистими та прямими епітеліальними каналцями. Перші разом з тільцями утворюють кіркову речовину, другі – мозкову. Канальці разом із капсулою ниркового тільця створюють морфофункціональну одиницю нирки – нефрон, в якому відбувається процес сечоутворення. Строму органа утворюють тонкі прошарки пухкої сполучної тканини, яка оточує ниркові канальці й судини.

Нефрон побудований з ниркового тільця та системи звивистих і прямих епітеліальних каналців. Стінку звивистих каналців складають сукупність епітеліоцитів-нефроцитів, які лежать на базальній мембрані та мають різну форму й розміри залежно від відділу нефрона (рис. 5.42, 5.43).

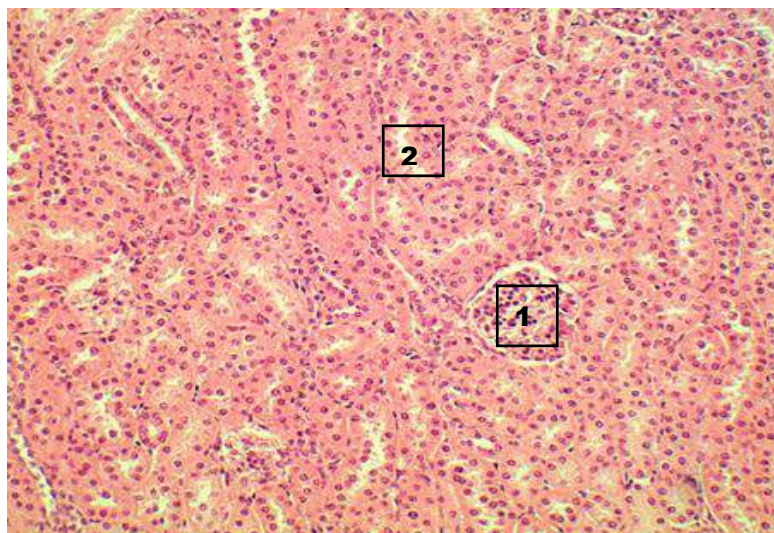


Рис. 5.42. Мікроскопічна будова нирки статевонезрілої тварини групи інтактного контролю. Ниркове тільце (1), каналці нефрона (2) в складі кіркової речовини. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

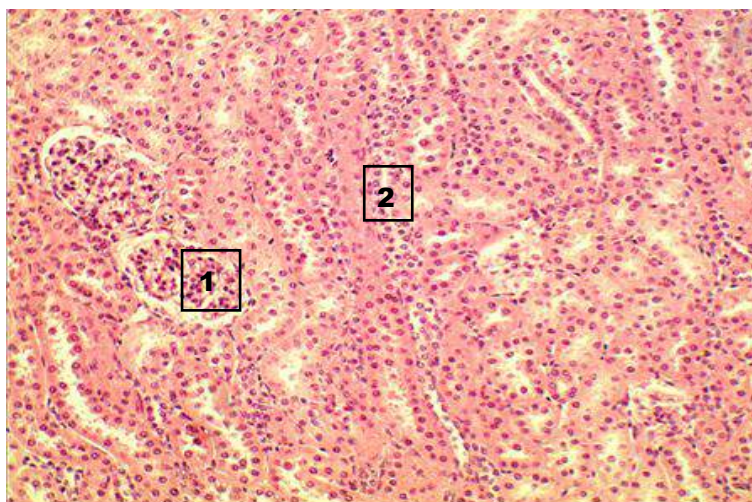


Рис. 5.43. Мікроскопічна будова нирки тварини старечого віку групи інтактного контролю. Ниркове тільце (1), каналця нефрона (2) в складі кіркової речовини. Забарвлення гематоксиліном та еозином. 100

Гістологічні дослідження нирки різних вікових груп тварин за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту встановили, що зростає кровонаповнення судинних клубочків, збільшуються просвіти капсул

ниркових тілець. Спостерігається гіпертрофія частини ниркових тілець і, особливо, у нирці старечого віку тварин та нерівномірне збільшення їх капсул (рис. 5.44, 5.45). Виявляється зростання просвітів звивистих каналців нефронів, воно більш значне у статевонезрілих тварин.

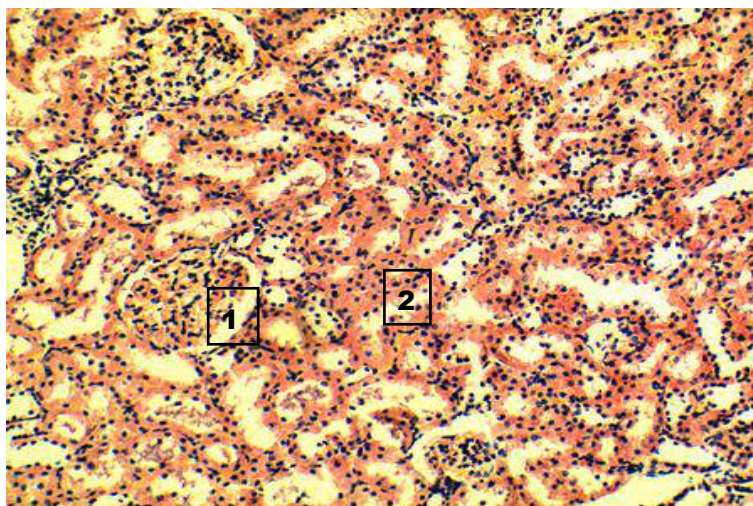


Рис. 5.44. Мікроскопічні зміни нирки статевонезрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту. Ниркове тільце (1), каналці нефрона (2) в складі кіркової речовини. Забарвлення гематоксилином еозином.  $\times 200$

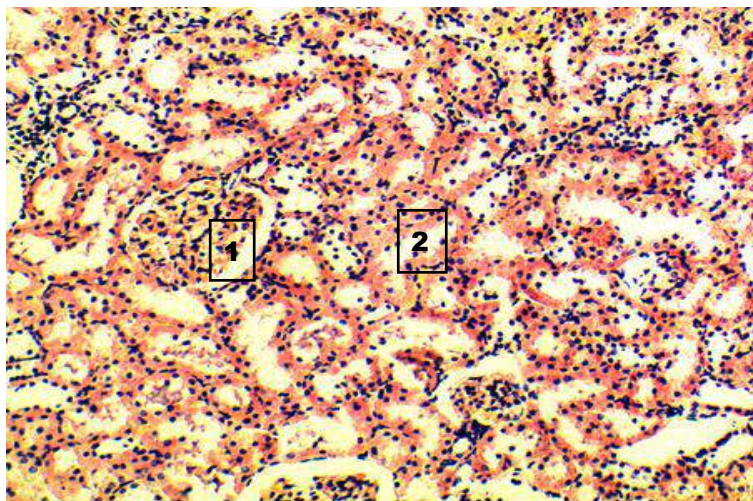


Рис. 5.45. Мікроскопічні зміни нирки старечого віку тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту. Ниркове тільце (1), каналці нефрона (2) в складі кіркової речовини. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 200$

Гістологічні дослідження нирки щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування карболайну показали, що препарат позитивно впливає на структурні компоненти органу тварин усіх

вікових груп. У складі ниркових тілець кровонаповнення судинних клубочків та просвіти капсул ниркових тілець не такі значні як у тварин за умов ураження (рис. 5.46, 5.47).

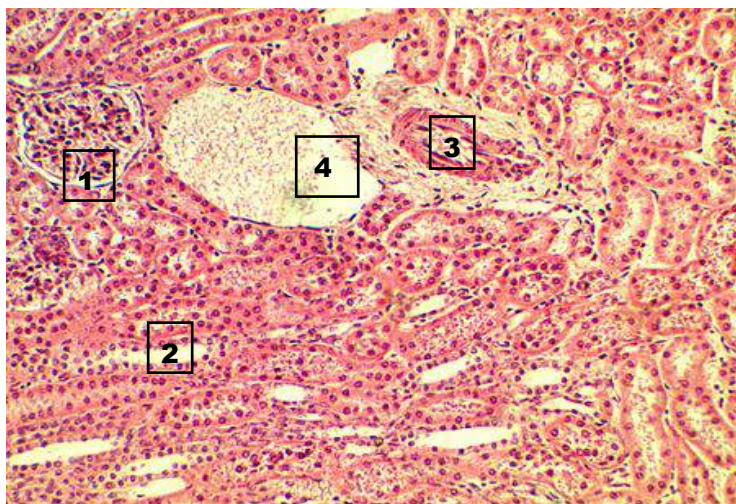


Рис. 5.46. Мікроскопічні зміни нирки статевонезрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування карболайну. Ниркове тільце (1), каналці нефрона (2), артерія (3), вена (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

Наявні також гіпертрофія частини ниркових тілець і, особливо, у нирках тварин старечого віку. Відмічається кровонаповнення вен та капілярів перитубулярної сітки. Залишаються збільшеними просвіти звивистих каналців нефронів у статевонезрілих та старечого віку тварин.

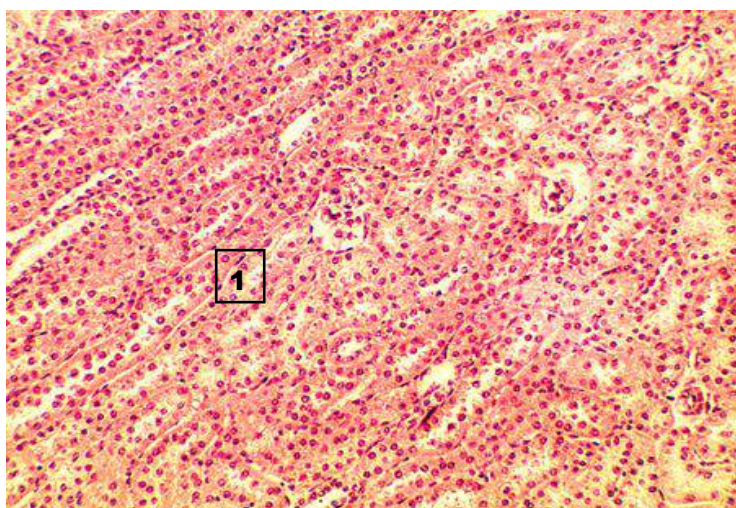


Рис. 5.47. Мікроскопічні зміни нирки статевозрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію натрію після застосування карболайну. Канальці нефрона (1) в складі кіркової речовини. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

Структурна організація проксимальних і дистальних каналців нефронів статевозрілих тварин за умов застосування карболайну подібна ниркам тварин групи інтактного контролю (рис. 5.48)

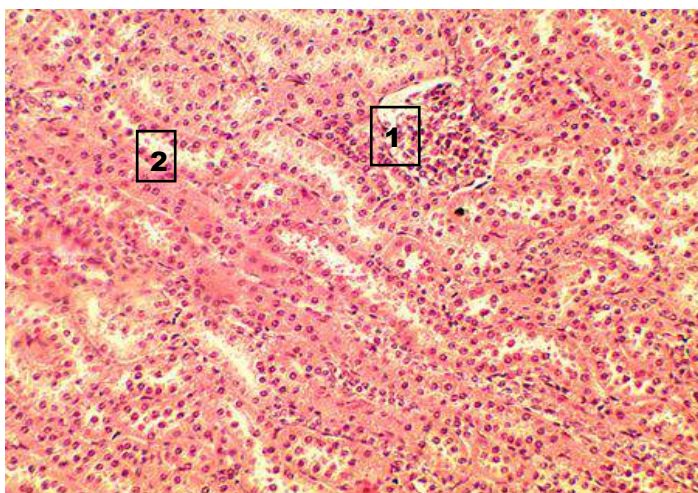


Рис. 5.48. Мікроскопічні зміни нирки старечого віку тварини за умов одночасної дії тютюнового диму натрію нітриту після застосування карболайну. Ниркове тільце (1), каналці нефрона (2) в складі кіркової речовини. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

Проведені мікроскопічні дослідження нирок різних вікових груп щурів після ураження токсикантами та при застосуванні препарату мілдронату встановили більш позитивний його вплив, ніж карболайну. У тварин, особливо статевозрілої групи, компоненти органу за структурною організацією наближаються до тварин групи інтактного контролю (рис. 5.49).

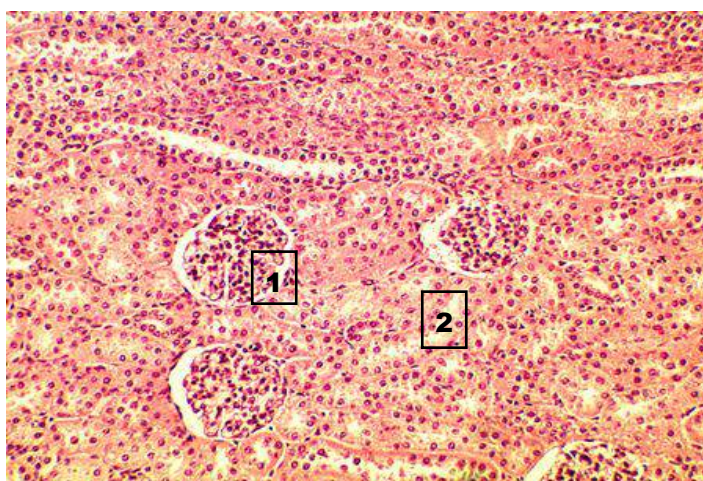


Рис. 5.49. Мікроскопічні зміни нирки статевозрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування мілдронату. Ниркове тільце (1), каналці нефрона (2) в складі кіркової речовини. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

У кірковій речовині нирок старечого віку тварин гіпертрофія ниркових тілець незначна, проте вогнищево збільшені розміри капсул (рис. 5.50).

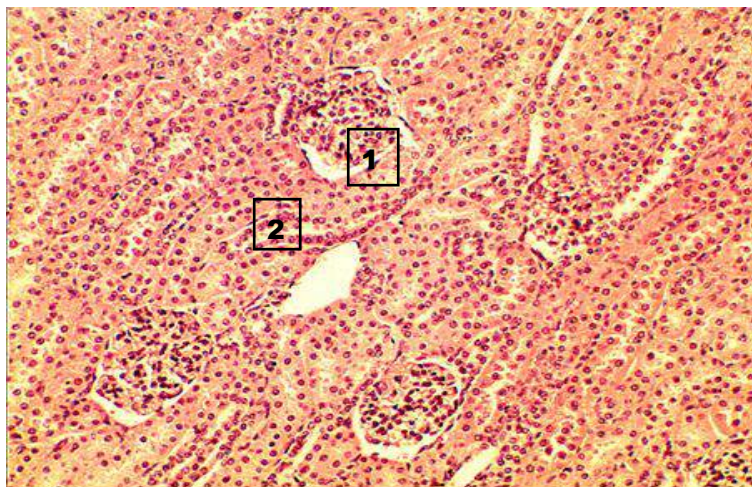


Рис. 5.50. Мікроскопічні зміни нирки тварини старечого віку за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування мілдронату. Ниркове тільце (1), канальці нефрона (2) в складі кіркової речовини. Забарвлення гематоксиліном еозином.  $\times 100$

Таким чином, проведені мікроскопічні дослідження нирки органів білих щурів за умов отруєння щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації встановили, що структурні зміни нирки тварин усіх вікових груп за умов застосування карболайну та мілдронату були меншими і, особливо, у статевозрілих тварин. Мілдронат більш ефективно, ніж карболайн, покращував стан судинної системи органів, сприяв нормалізації структури нефронів нирки.

5.6.4. Структурна організація та морфологічні зміни міокарда тварин різних вікових груп за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту, та після застосування карболайну та мілдронату.

Проведені гістологічні дослідження стінки серця контрольних білих щурів різних вікових груп показали, що міокард представлений поперечно-посмугованою серцевою м'язовою тканиною, що складається з пучків м'язових

волокон, розділених прошарками пухкої волокнистої сполучної тканини, в якій розташовані судини. М'язове волокно складають скоротливі кардіоміоцити, які є морфофункціональною одиницею даного різновиду м'язової тканини.

Кардіоміоцити на повздовжньому перерізі мають прямокутну форму, містять центрально розташовані еліпсоподібні ядра, а в саркоплазмі міофібрили (скоротливі структури), які займають більшу її частину. Скоротливі клітини об'єднують у волокна вставні диски. Мікроскопічно за великого збільшення у кардіоміоцитах спостерігається поперечна посмугованість міофібрил. У пухкій сполучній тканині виявляються помірно кровонаповнені судини мікроциркуляторного русла (артерії, вени та гемокапіляри), їх щільність у міокарді досить висока (рис. 5.51, 5.52).

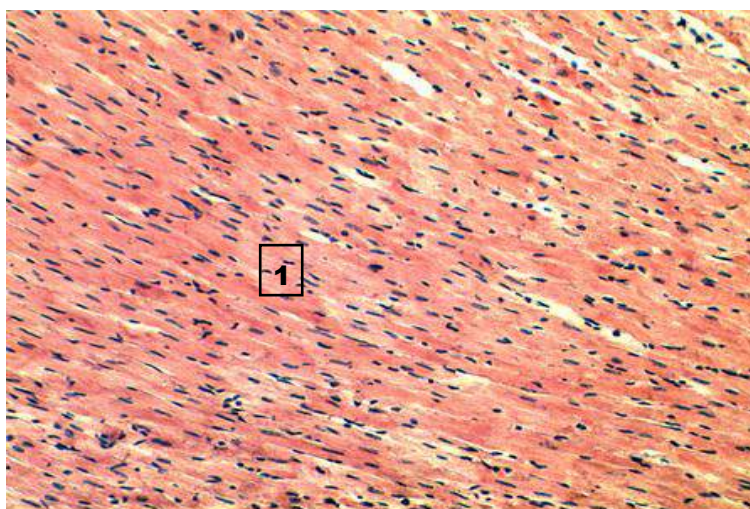


Рис. 5.51. Мікроскопічна будова серця статевозрілої тварини групи інтактноого контролю. Кардіоміоцити (1) в складі м'язових волокон міокарда. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

Мікроскопічні дослідження серця за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту показали, що в групі статевонезрілих тварин загальний план будови міокарда зберігається. Відмічається нерівномірна еозинофілія кардіоміоцитів у складі м'язових волокон, що відображає порушення міофібрил – скоротливих структур. Наявне розширення просвітів та кровонаповнення судин мікроциркуляторного русла. В окремих ділянках



міокарда спостерігається розволокнення за рахунок набряку сполучної тканини строми (рис. 5.53).

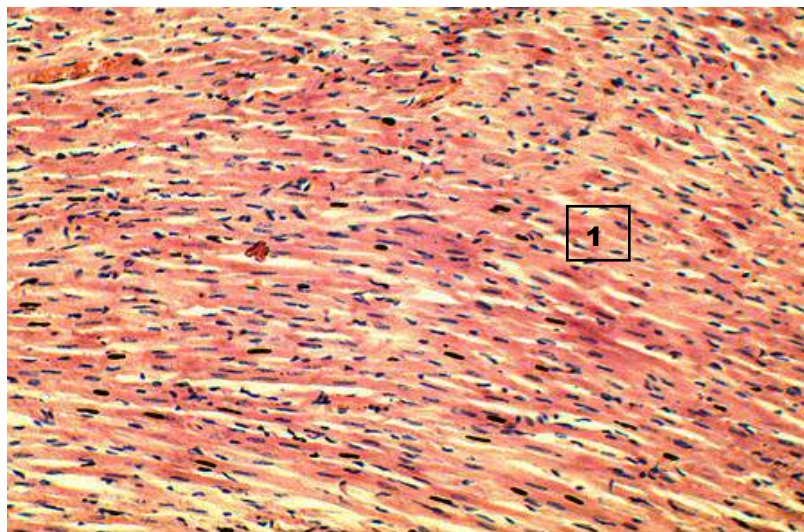


Рис. 5.52. Мікроскопічна будова серця тварини старечого віку групи інтактного контролю. Кардіоміоцити (1) в складі м'язових волокон міокарда. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

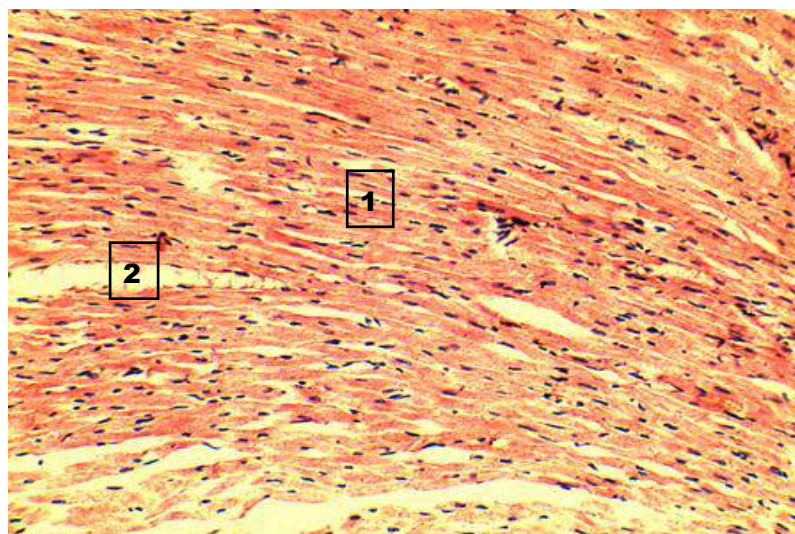


Рис. 5.53. Мікроскопічні зміни серця статевонезрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту. Кардіоміоцити (1) в складі м'язових волокон міокарда, гемокапіляр (2). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

Більш виразні зміни міокарда серця встановлені у старечого віку тварин. Характерний набряк, розшарування м'язових волокон, розширення просвітів і кровонаповнення судин та лейкоцитарна інфільтрація сполучної тканини (рис. 5.54).

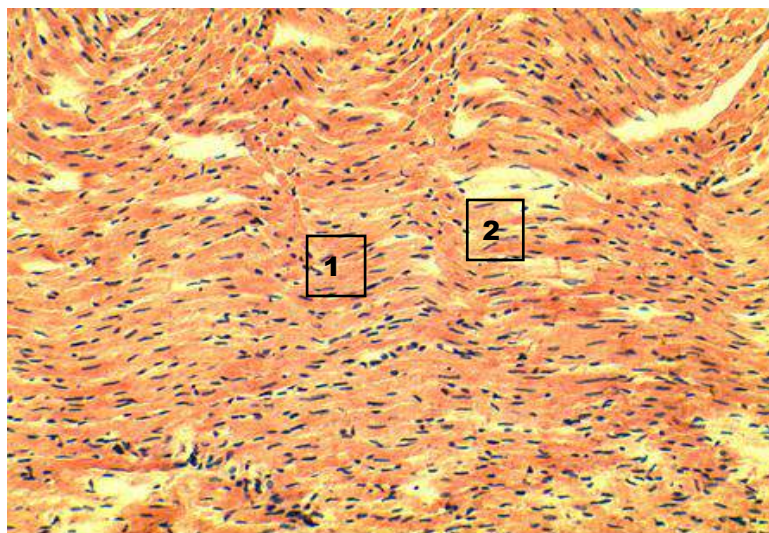


Рис. 5.54. Мікроскопічні зміни серця тварини старечого віку за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту. Кардіоміоцити (1) в складі м'язових волокон міокарда, ділянка набряку (2). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

Мікроскопічні дослідження серця уражених тварин та після застосування карболайну показали, що препарат позитивно впливає на структурні компоненти органу щурів усіх вікових груп. Проте, у міокарді статевонезрілих і старечого віку тварин місцями відмічається неоднорідне забарвлення м'язових волокон та вогнищева лейкоцитарна інфільтрація периваскулярної сполучної тканини (рис. 5.55).

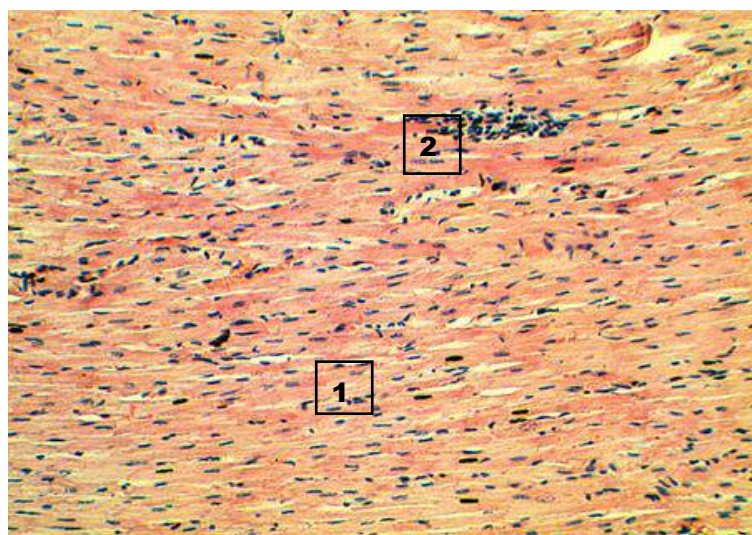


Рис. 5.55. Мікроскопічні зміни серця статевонезрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування карболайну. Кардіоміоцити (1) в складі м'язових волокон міокарда, інфільтрована ділянка (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

У міокарді тварин старечого віку також наявний набряк стромальної сполучної тканини та ділянки розшарування м'язових волокон, проте ці зміни не такі значні, як у серці тварин після ураження (рис. 5.56).

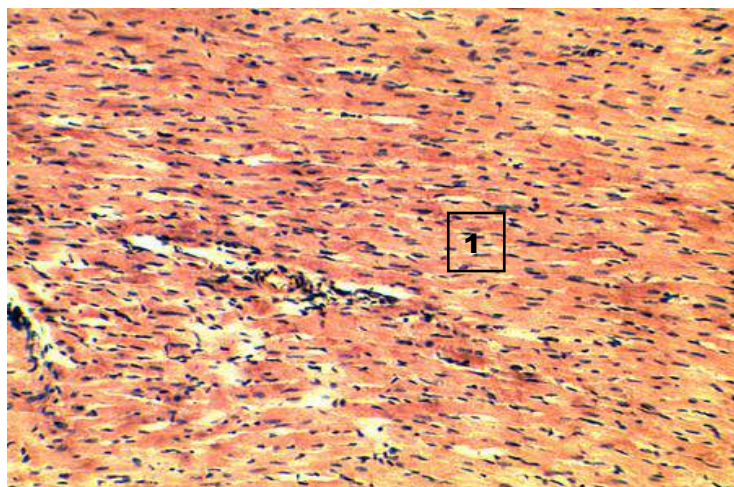


Рис. 5.56. Мікроскопічні зміни серця статевозрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування карболайну. Кардіоміоцити (1) в складі м'язових волокон міокарда. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

Гістологічні дослідження серця уражених щурів різних вікових груп після застосуванні препарату мілдронату встановили більш позитивний його вплив, ніж карболайну. У тварин, особливо статевозрілої групи, структурні компоненти міокарду за структурною організацією подібні тваринам групи інтактного контролю. М'язові волокна мають однорідне забарвлення, прошарки сполучної тканини без ознак набряку (рис. 5.57).

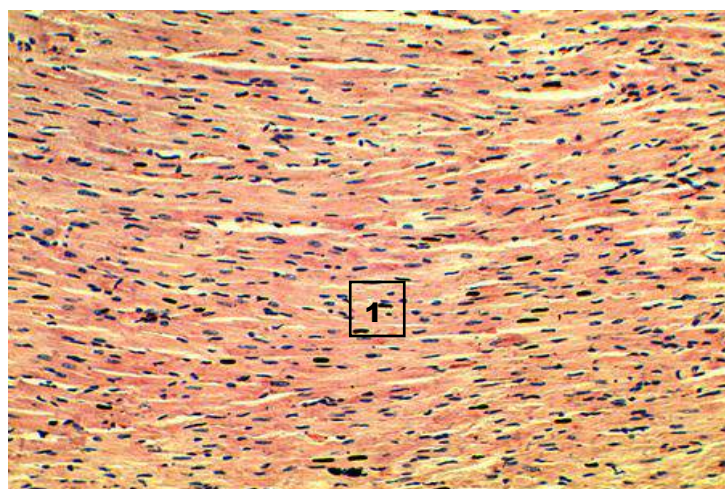


Рис. 5.57. Мікроскопічні зміни серця статевозрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування мілдронату. Кардіоміоцити (1) в складі м'язових волокон міокарда. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

Отже, проведені мікроскопічні дослідження серця білих щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації встановили, що структурна реорганізація серця тварин усіх вікових груп характеризується змінами судинного русла, основних морфофункціональних компонентів м'язових волокон міокарда. Найбільші зміни відбуваються у міокарді старечого віку та статевонезрілих тварин. Гістологічні дослідження серця різних вікових груп уражених щурів після застосування препарату мілдронату встановили більш позитивний його вплив, ніж карболайну. У тварин, особливо статевозрілої групи, структурні компоненти міокарду за структурною організацією подібні тваринам контрольної групи. М'язові волокна мають однорідне забарвлення, прошарки сполучної тканини без ознак набряку.

Отримані в даному розділі результати дозволяють зробити наступні висновки:

1. Отруєння щурів натрію нітритом на тлі 45 добової тютюнової інтоксикації призводило до посиленого утворення АФО, яке більш виражене, ніж при дії кожного токсиканта окремо. До кінця експерименту (45 доба ураження тютюновим димом та 72 год з моменту потрапляння натрію нітриту) в організмі щурів усіх вікових груп розвивався оксидативний стрес, на що вказувало збільшення вмісту АФО у крові щурів. Найбільш чутливими до дії токсикантів виявились статевонезрілі щури, у яких вміст АФО у нейтрофілах крові підвищився в 3,3 раза, порівняно з групою інтактного контролю. Надмірна генерація АФО зумовила інтенсифікацію процесів ліпопероксидації та окисної модифікації протеїнів. У статевонезрілих щурів відмічали найбільш виражене збільшення вмісту ТБК-активних продуктів у всіх органах до кінця експерименту (у печінці у 3,3 раза, у нирках у 3,6 раза, у легенях у 4,3 раза, у міокарді – у 6 разів). Відмічено підвищення вмісту 2,4-динітрофенілгідразонів нейтрального та основного характеру у всіх вікових групах до кінця експерименту. Найбільш виражене зростання було в органах статевонезрілих щурів. У крові статевонезрілих тварин вірогідно підвищувався вміст

метгемоглобіну після ураження, який досяг максимуму наприкінці дослідження і у 2,7 раза був вищим порівняно з контролем. Паралельно встановлено зростання вмісту карбоксигемоглобіну (у статевонезрілих тварин у 1,7 раза, статевозрілих у 1,4 раза та у старечих – у 1,6 раза). Застосовані антигіпоксанти мілдронат та ентеросорбент карболайн проявили позитивний вплив на продукти вільнорадикальних реакцій, вміст мет- та карбоксигемоглобіну. Більш ефективним виявився мілдронат.

2. Активація прооксидантних процесів викликала зміни в антиоксидантній системі. Відмічено пригнічення супероксиддисмутазної активності у сироватці крові та печінці щурів усіх вікових груп після одночасного ураження натрію нітритом та тютюновим димом. Активність ензиму у сироватці крові знизилась у 2,5 раза при отруєнні двома токсикантами у статевонезрілих щурів, у статевозрілих у 1,6 раза, у старечих – у 1,9 раза порівняно з контрольними щурами відповідних вікових груп. Встановлено вірогідне зниження каталазної активності у сироватці крові, печінці, легенях, нирках і міокарді щурів різного віку. Пригнічення ензимної ланки антиоксидантного захисту за дії обох токсикантів проявляється значно більше, ніж при отруєнні кожним токсикантом окремо. До кінця експерименту прогресує зростає вміст церулоплазмину в групі статевонезрілих щурів і наприкінці експерименту перевищив норму в 2,4 раза. Найнижчий вміст відновленого глутатіону в сироватці крові до кінця експерименту спостерігався у групі статевонезрілих тварин, який на 45 % був нижче контролю, у статевозрілих – на 31% знижувався після ураження щодо контрольних щурів, у старечих – на 37 %. Зниження вмісту відновленого глутатіону спостерігалось у всіх органах упродовж експерименту. Встановлено ефективний вплив на показники антиоксидантної системи мілдронату та відсутність позитивного впливу карболайну.

3. У сироватці крові щурів усіх вікових груп після ураження натрію нітритом токсикованим димом щурів вірогідно підвищувався вміст ензимів – маркерів цитолізу. Найбільш виражені зміни були у статевонезрілих щурів, у

яких до кінця експерименту активність аланінаасмінотрансферази підвищилась у 7,7 раза, аспартатамінотрасферази у 5,0 разів, лактатдегідрогенази в 1,8 раза, гама-глутамілтраспептидази в 4,1 раза, лужної фосфатази в 3,6 раза. Відповідно в органах щурів різного віку відмічали вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження органоспецифічних ензимів, що свідчило про деструкцію та зміну проникності клітинних мембран. Підтвердженням цьому є вірогідне збільшення відсотку проникності еритроцитарних мембран після ураження токсикантами у статевонезрілих щурів на 55,6 %, у статевозрілих на 38 % та у старечих на 54,1 % відповідно до контролю. Виявлені деструктивні процеси призвели до нагромадження в ураженому організмі вторинних ендогенних токсинів – молекул середньої маси, вміст яких у сироватці крові виявився найвищим у кінці експерименту в статевонезрілих щурів (фракції з переважанням ланцюгових амінокислот у 4 рази та фракції з переважанням ароматичних амінокислот у 2,8 раза). Антигіпоксанти мілдронат проявив ефективний вплив на активність маркерних ензимів як у сироватці крові, так і в органах уражених щурів усіх вікових груп. Ентеросорбент карболайн ефективний вплив проявив на вміст молекул середньої маси, вірогідно знижуючи його в усіх вікових групах.

4. Ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації призвело до пригнічення процесів енергозабезпечення, на що вказувало зниження активності мітохондріальних ензимів – сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази у печінці, легенях та міокарді тварин усіх вікових груп. Найбільш чутливими виявились статевонезрілі щури, у яких активність ензимів зазнала найбільш вираженого зниження до кінця експерименту. Поряд із пригніченням мітохондріальної функції встановлено активацію запальних процесів у щурів після ураження токсикантами, що підтверджено збільшенням у сироватці крові вмісту С-реактивного протеїну, який найвищим виявився у щурів старечого віку (у 3,3 раза перевищив норму) у кінцевий термін ураження. Виявлено дисбаланс у вмісті про-та протизапальних цитокінів після ураження у щурів усіх вікових груп. Упродовж експерименту вірогідно

зростав вміст прозапального цитокіну та найвище його значення зареєстровано у сироватці крові статевонезрілих щурів (у 4,6 раза вище контролю) наприкінці дослідження (45-та доба ураження тютюновим димом та 72 год з моменту отруєння натрію нітритом). Одночасно у сироватці крові щурів знижувався вміст протизапального цитокіну ІЛ-4 (у статевонезрілих щурів у 2,2 раза, у статевозрілих – у 1,7 раза та у старечого віку – у 1,8 раза щодо групи інтактного контролю). Коригуючий середник мілдронат впродовж усього експерименту призвів до вірогідного підвищення активності енергозабезпечувальних ензимів та зниження вмісту С-реактивного протеїну. Антигіпоксанти викликав зсув у балансі цитокінів у сторону збільшення вмісту протизапального ІЛ-4. Карболайн не проявив ефективного впливу на процеси мітохондріального окиснення та розвиток запалення в ураженому організмі.

5. Встановлено, що за умов одночасного ураження щурів різного віку натрію нітритом та тютюновим димом поряд з оксидативним стресом розвивався нітрооксидативний стрес, що зумовлено збільшенням у всіх органах вмісту нітрит-іону (найбільше це проявляється у сироватці крові (у 2 рази), печінці, легенях та нирках статевонезрілих щурів). Після ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації у сироватці крові прогресуюче зростала активність іNOS у всіх вікових групах (у статевонезрілих щурів у 3,3 раза, у зрілих – у 1,7 раза, у старечих – у 2,7 раза щодо контролю. Активація індукцибельної NOS супроводжувалась зниженням ендотеліальної форми ензиму. Упродовж експерименту прогресуюче знижувалась активність еNOS у сироватці крові щурів усіх вікових груп. Мілдронат ефективно вплинув на активність NO-системи (знижив активність іNOS та підвищив активність еNOS), а також призвів до вірогідного зниження вмісту нітрит-іону в ураженому організмі. Карболайн проявив менш виражений вплив на функціонування NO-системи в ураженому організмі.

6. Проведені мікроскопічні дослідження внутрішніх органів білих щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації встановили, що структурна реорганізація легень, печінки, нирки, серця тварин усіх вікових

груп характеризується змінами судинного русла, основних морфо-функціональних компонентів (ацинусів, гепатоцитів часточок, нефронів та м'язових волокон міокарда). Найбільші зміни відбуваються у легенях тварин старечого віку та статевонезрілих. Після застосування карболайну та мілдронату структурні зміни в органах тварин були меншими і, особливо, у статевозрілих щурів. Мілдронат більш ефективно, ніж карболайн, покращував стан судинної системи органів, сприяв нормалізації будови респіраторного відділу легень, часточок печінки, нефронів нирки, м'язових волокон міокарда.

Результати досліджень, наведені в даному розділі, опубліковані в наступних наукових працях:

1. Лихацький ПГ. Зміни запальних та біоенергетичних процесів у щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом, після застосування мілдронату. Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2018;1(72):102-110.

2. Лихацький ПГ. Корекція вільнорадикальних процесів та мітохондріальної дисфункції в щурів, отруєних натрію нітритом і тютюновим димом, препаратом "Мілдронат". Медична та клінічна хімія. 2017;3(19):93-102.

3. Лихацький ПГ. Дослідження показників ендогенної антиоксидантної системи у щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. ScienceRise: Biological Science. 2017;5(8):18-23.

4. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Динаміка маркерів запалення під впливом мілдронату за експериментального ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом. Sciences of Europe. 2017;1(20):10-15.

5. Лихацький ПГ., Фіра ЛС. Особенности процессов липопероксидации и энергетического обмена у крыс разных возрастных групп после отравления их натрия нитритом на фоне интоксикации табачным дымом. Проблемы биологии и медицины. 2017;3(96):145-152.



6. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Грицишин ЛЄ. Біохімічні механізми розвитку стресу за умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Біологія тварин. 2017;1(19):65-72.

7. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Фіра ДБ, Кузьмак ІП. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. 2017;2(8):259-264.

8. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Гонський ЯІ. Динаміка змін маркерів біоенергетичних процесів та цитолізу у щурів після ураження нітритом натрію на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник проблем біології і медицини. 2017;2(136):147-152.

9. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Дослідження активності окиснювальних та запальних процесів у щурів різного віку, одночасно отруєних натрію нітритом та тютюновим димом. Фітотерапія. Часопис. 2017;2:53-58.

10. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Ендогенна інтоксикація та запальні процеси в організмі щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом Наукові доповіді НУБіП України. 2017;5(69):1-14.

11. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Ендогенна інтоксикація у старечих щурів, одночасно уражених тютюновим димом та нітритом натрію. Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2017;3(70):158-163.

12. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Застосування мілдронату за умов окиснювального стресу у щурів, уражених натрію нітритом, на тлі інтоксикації тютюновим димом. Світ медицини та біології. 2017;3(61):128-134.

13. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Можливість застосування сорбенту “Карболайн” для корекції порушень в організмі щурів, уражених натрію нітритом, на тлі тютюнової інтоксикації. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2017;4:31-40.

14. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Застосування ентеросорбенту “Карболайн” для корекції окиснювальних процесів у щурів різного віку,

уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Медична та клінічна хімія. 2017;2(19):45- 52.

15. Lykhatskyi PH., Fira LS. Free radicals and inflammation in rats of different age in cases of sodium nitrites and tobacco smoke poisoning. *International Journal of Medicine and Medical Research*. 2017;1(3):84-88.

16. Lykhatskyi PH., Fira LS. Experimental study of the toxic effects of tobacco smoke and nitrites on the body of immature and mature rats. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017;1(48):12-16.

17. Lykhatskyi PH., Fira LS., Fedorovich UM. Proteins oxidative modification and mitochondrial enzymes activity in rats of different ages under affection by sodium nitrites and tobacco smoke. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017;3(50):38-46.

18. Lykhatskyi PH., Fira LS. Activity of oxidative processes in the rats' body of different age, affected by sodium nitrite, on the background of tobacco intoxication. *The Pharma Innovation*. 2017;6(6):18-24.

19. Лихацький ПГ Зміни показників антиоксидантної системи щурів, уражених натрію нітритом, на тлі тютюнової інтоксикації. *Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар.участю Бабенківські читання; 2017 Жовт 26-27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ДВНЗ «Ів-ФДМУ»; 2017, с. 68.*

20. Лихацький ПГ, Окиснювальний стрес в організмі щурів різного віку, одночасно уражених натрію нітритом та тютюновим димом. В: Фіра ЛС. Підсумкова LX наук.-практ.конф. Здобутки клінічної та експериментальної медицини (присвячена 60-річчю ТДМУ) 2017 Черв 14; Тернопіль. Тернопіль: ДВНЗ «ТДМУ»; 2017, с.258

21. Лихацький ПГ, Розвиток запальних процесів у щурів, отруєних натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. В: Фіра ЛС. *Матеріали наук.-практ. конф. The 4th international scientific conference current problems of Biochemistry and cell Biology; 2017 Жовт 5-6; Дніпро. Дніпро: «ДНУ ім. Олесь Гончара»; 2017, с. 158-160.*

## РОЗДІЛ 6

## АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

В Україні ситуація з курінням оцінюється експертами ВООЗ як критична – до паління щорічно долучаються 500 тисяч молодих людей, а кожен третій – курить понад 20 років [124, 144]. Тютюнопаління – це причина смерті приблизно 120 тис. українців щорічно. До того ж це фактор ризику більше ніж 25 хвороб, що складає 75% структури смертності населення.

В останні роки велике значення надається пасивному курінню [159]. Вдихання вторинного диму на 60% збільшує ризик захворювань серця та судин і на 22–32% підвищує ймовірність виникнення раку органів дихання [172]. У боковому потоці диму, що виділяється сигаретою поза моментом затягування, міститься в 4 рази більше канцерогенів, ніж у тому, що вдихається [251]. Приблизно 25 % раку легенів у осіб, що не курять, дослідники пов'язують із пасивним курінням [289, 429, 496].

З тютюновим димом потрапляють сотні хімічних речовин і сполук, більшість з яких шкідливо діють на організм людини. Організм намагається знешкодити та компенсувати вплив тютюнових отрут і диму, що потрапили в органи дихання. Вважають, що вплив тютюнового диму здійснюється за рахунок синергічної дії його компонентів [275, 329].

Насьогодні все більша увага науковців-дослідників приділяється поєднаним патологіям, що можуть бути зумовлені дією декількох токсичних чинників на організм.

Зацікавленість у з'ясуванні механізмів дії на організм нітритів та нітратів обумовлена їх широким використанням у промисловості, сільському господарстві та медицині. Підвищений вміст нітратів у харчових продуктах став реальним фактом сучасного життя.

Потрапляння до організму екзогенних токсикантів супроводжується розвитком оксидативного стресу та нагромадженням токсичних продуктів у

різних органах [290, 296, 300, 305, 306, 329, 367], що призводить у подальшому до деструкції клітинних мембран, порушень у процесах енергозабезпечення та розвитку запальних процесів.

Останнім часом багато досліджень присвячені вивченню важливого ендотеліального фактора – нітроген оксиду [166, 173, 189, 426, 507]. Тютюновий дим містить екзогенний нітроген оксид, який легко перетворюється в легенях у токсичний пероксинітрит. У свою чергу, потрапляння до організму нітратів та нітритів зумовлює вільнорадикальне утворення нітрит-іону та активацію індукцйбельної NOS. Все це зумовлює розвиток в організмі нітрооксидативного стресу.

Враховуючи, що вищезазначені токсиканти призводять до виникнення в організмі оксидативного та нітрооксидативного стресу, наслідком чого є зниження захисно-компенсаторних сил, зокрема пригнічення антиоксидантної системи захисту та, в подальшому розвиток запальних процесів, доцільним є пошук адекватних схем корекції виявлених порушень.

Вищенаведені дані виявилися можливими для реалізації на моделі експериментальної інтоксикації, індукованої тютюновим димом та натрію нітритом. Враховуючи зручність такої моделі ураження та її адекватність до токсичних уражень та шкідливих звичок людини, експериментальне отруєння саме цими токсикантами може бути рекомендовано для широкого використання з метою вирішення актуальних проблем отруєнь різного походження – детального вивчення фундаментальних механізмів інтоксикацій та пошуку ефективних коригувальних середників за даної патології.

Наявні в літературі дані не дають змоги скласти єдину схему молекулярних механізмів пошкодження в організмі за умов дії натрію нітриту на тлі тютюнової інтоксикації. Практично залишається не вивчена роль у патогенезі тютюново-нітритного токсикозу порушень взаємозв'язку між інтенсивністю оксидативних та запальних процесів, функціональним станом захисних систем та нітрооксидативним стресом. Вирішення цих проблем буде

сприяти впровадженню в клініку токсикозів методів діагностики ступеня тяжкості ураження та нових методів корекції порушень.

На даний час широко проводиться вивчення препаратів метаболічної дії, для яких характерні антиоксидантні, антигіпоксанти та мембранопротекторні властивості [73, 74, 93, 98, 112, 121, 141, 163]. Враховуючи, що при дії хімічних чинників утворюється велика кількість ендogenous токсинів, які потрапляють в кров, є доцільним застосування при отруєннях ентеросорбентів [8, 86, 97, 105, 134, 151, 169, 190]. У літературі відсутні повідомлення про вплив ентеросорбції на конкретні механізми розвитку одночасного ураження організму натрію нітритом та тютюновим димом. Немає досліджень, які проводились би з врахуванням вікового аспекту за умов нітритно-тютюнового токсикозу.

Отже, виходячи з того, що у повсякденному житті має місце ураження організму декількома чинниками, ми поставили за мету з'ясувати особливості порушень метаболізму в динаміці ураження щурів різного віку натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, а також оцінити ефективність застосування за даних умов препарату метаболічної дії мілдронату та ентеросорбента карболайну.

Розвиток багатьох патологічних станів відбувається за вільнорадикальним механізмом, що на клітинному рівні характеризується посиленням продукування вільних радикалів, серед яких особливе місце належить активним формам кисню та азоту (АФО/АФН) [202, 280, 321, 366]. Надлишкове утворення АФО призводить до розвитку глибоких оксидативних пошкоджень клітинних компартментів, що поглиблює розвиток патологічного процесу [389, 433, 454].

Деякими авторами показано [202, 392, 505], що тютюновий дим є одним із основних екзогенних джерел вільних радикалів, які містяться як в газовій фазі, так і смолі, та які можуть породжувати стійкі високі рівні АФО та призводити до розвитку оксидативного стресу. АФО, незважаючи на важливе значення для біологічних систем [202, 205, 266, 405], мають потенціал, що

може викликати окисне пошкодження клітин і тканин, якщо їх рівні стають надмірними [412, 454, 471].

Результати наших досліджень показали, що за умов отруєння щурів різного віку натрію нітритом, у всіх дослідних групах у крові підвищувався вміст АФО, що продукуються нейтрофільними гранулоцитами. Найбільш чутливими до дії токсиканта були статевонезрілі щури, у нейтрофільних гранулоцитах яких вміст АФО збільшився в 1,7 раза порівняно з контрольними тваринами через 72 год з моменту потрапляння натрію нітриту в організм.

Після ураження щурів усіх вікових груп тютюновим димом виявлено, що продукування АФО залежить не тільки від віку тварин, але і від тривалості дії токсиканта. Найбільш чутливими до даного ураження виявились статевонезрілі щури, вміст АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові яких зростав у 2,8 раза до кінця експерименту в порівнянні з контрольними тваринами.

Отруєння натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації щурів усіх вікових груп активізувало продукування АФО в ураженому організмі. Вміст АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові статевонезрілих щурів після ураження прогресуюче зростав у залежності від тривалості експерименту та терміну застосування обох токсикантів (з 2,5 раза на 15-ту добу отруєння ТД+ 24 год НН до 3,3 раза на 45-ту добу ТІ +72 год НН). Аналогічне зростання даного показника відмічали і у двох інших вікових групах, але зміни були менш вираженими.

Таким чином, при одночасному ураженні декількома токсикантами в організмі відбувається гіперпродукція АФО, що призводить до модифікації протеїнів і ліпідів з наступною деградацією плазматичних і цитоплазматичних мембран.

АФО можуть викликати перекисне окислення ліпідів і порушити двошарове розташування мембранних ліпідів, що супроводжується інактивацією мембранозв'язаних рецепторів та ензимів, підвищити проникність тканин. Більшість продуктів перекисного окислення ліпідів, такі

як МДА та ненасичені альдегіди, здатні інактивувати клітинні протеїни шляхом блокування або руйнування зв'язків. Продукти перекисного окислення ліпідів, такі як ізопростани та реактивні сполуки з тіобарбітуровою кислотою, використовують як непрямі біомаркери оксидативного стресу [213, 222, 225, 321].

Вміст одного із показників перекисного окиснення ліпідів, ТБК-АП, ми дослідили у сироватці крові та органах щурів різного віку, отруєних натрію нітритом, тютюновим димом та при їх одночасній дії.

Через 72 год після потрапляння натрію нітриту до організму вірогідне збільшення продуктів ліпопероксидації у сироватці крові відмічено у всіх вікових групах щурів. Найбільш виражене це збільшення було у статевонезрілих тварин (в 1,9 раза перевищувало рівень контролю).

Інтоксикація тютюновим димом впродовж 45 діб призвела до значної активації процесів ліпопероксидації, що проявлялося вірогідним підвищенням вмісту ТБК-АП у сироватці крові тварин усіх дослідних груп (у статевонезрілих та статевозрілих щурів даний показник збільшився практично у 2 рази, у старечого віку – в 1,8 раза).

Вміст ТБК-АП у сироватці крові щурів, уражених одночасно обома токсикантами, значно перевищував вміст, який відмічався після окремої дії кожного чинника. В усіх групах тварин даний показник прогресуюче зростав і в кінці експерименту перевищив норму в сироватці крові статевонезрілих щурів у 5 разів, статевозрілих – у 8 разів, старечого віку – у 3,6 раза.

Ураження натрію нітритом до кінця експерименту призвело до більш вираженого збільшення вмісту продуктів ліпопероксидації у печінці та легенях тварин старечого віку і в міокарді статевонезрілих.

Тютюновий дим впродовж 45 діб викликав вірогідне підвищення ТБК-АП у всіх досліджуваних органах статевонезрілих тварин (печінка, легені, нирки та міокард).

Одночасне застосування обох токсикантів (натрію нітриту та тютюнового диму) поглибило активність процесів ПОЛ. Нами відмічено

білльш виражене збільшення продуктів ліпопероксидації, особливо в органах статевонезрілих щурів.

Вірогідно, що активація під впливом тютюнового диму та натрію нітриту вільнорадикальних реакцій у органах і крові є наслідком прооксидантного ефекту вищеназваних чинників, що узгоджується із результатами інших авторів [50, 192, 205, 225], які показали, що вільні радикали можуть викликати перекисне окислення ліпідів ланцюгових реакцій шляхом абстрагування атома гідрогену від метиленового карбону бічного ланцюга. Ліпідний радикал потім вступає в реакцію з киснем із отриманням пероксильного радикала. Пероксильний радикал ініціює ланцюгову реакцію та перетворює поліненасичені жирні кислоти в ліпідні гідроперекиси. Ліпідні гідроперекиси дуже нестійкі та легко розпадаються на вторинні продукти, такі як альдегіди (4-гідрокси-2,3-ноненаль) та малоновий диальдегід.

Утворений продукт взаємодіє з тіобарбітуровою кислотою і може слугувати маркером активності процесів ліпопероксидації в організмі, що і було підтверджено в наших експериментах.

З літератури відомо, що за умов оксидативного стресу й надмірної генерації АФО розвиваються процеси неконтрольованої модифікації протеїнів, які спричиняють їх фрагментацію, денатурацію, а також утворення первинних амінокислотних радикалів, що далі вступають у вторинну взаємодію із сусідніми амінокислотними залишками. У цілому створюється досить складна картина пошкоджувальної дії АФО на протеїнові макромолекули. Все це призводить до втрати протеїнами їхньої біологічної активності й порушення обмінних, зокрема регенеративних процесів [204, 237, 291, 374, 442].

Визначення вмісту продуктів ОМП нейтрального та основного характеру в сироватці крові та органах щурів, уражених досліджуваними токсикантами поокремо, показало їх збільшення у всіх групах тварин. Отруєння натрію нітритом супроводжувалось збільшенням вмісту 2,4-ДНФГ у сироватці крові та органах щурів усіх вікових групах. Найчутливішими до



даного токсиканта виявились статевонезрілі тварини, у яких вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру найбільш виражений у сироватці крові та печінці після ураження. До кінця експерименту (72 год) даний показник найвищим був у нирках та міокарді статевозрілих щурів.

Найвищого значення досяг вміст продуктів ОМП основного характеру в сироватці крові статевонезрілих тварин до кінця дослідження. Аналогічно найбільш чутливими стосовно даного показника виявилися легені даної групи тварин.

Інтоксикація тютюновим димом впродовж 45 діб призвела до вірогідного підвищення вмісту 2,4-ДНФГ нейтрального характеру в сироватці крові, печінці та легенях статевонезрілих та старечого віку щурів. Даний показник вірогідно підвищувався та досяг максимального значення до кінця експерименту в нирках статевонезрілих щурів, де збільшився у 2,3 рази порівняно з групою інтактного контролю.

Вивчення вмісту 2,4-ДНФГ основного характеру після ураження тютюновим димом показало найвищі його значення у сироватці крові, печінці та легенях щурів молодого віку.

Під час дослідження окисної модифікації протеїнів в організмі щурів нами встановлено підвищення вмісту 2,4-ДНФГ як основного, так і нейтрального характеру у сироватці крові тварин усіх вікових груп після ураження їх натрію нітритом на тлі інтоксикації тютюновим димом, яке значно перевищувало рівень даних показників за отруєння кожним токсикантом окремо. У статевонезрілих щурів ці зміни носили більш виражений характер порівняно з такими в інших вікових групах.

Отже, ми відмітили, що після ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації відбуваються інтенсивні процеси модифікації протеїнових молекул, які призводять до значного нагромадження у сироватці крові та органах тварин альдегідо-та кетопохідних цих сполук.

На думку багатьох дослідників, кисневозалежне окиснення протеїнів є раннім індикатором пошкодження органів і тканин. Вважають, що ОМП

відіграє ключову роль у молекулярних механізмах оксидативного стресу та є пусковим механізмом до окиснювальної деструкції інших молекул, наприклад ліпідів і нуклеїнових кислоти [204, 220, 237, 291].

Отже, тютюновий дим та натрію нітрит, маючи різний механізм впливу на організм, призводять до посиленого утворення активних форм кисню, що активують процеси ПОЛ та призводять до модифікації мембранних протеїнів. Це викликає зменшення рідинних властивостей мембран, мембранного потенціалу, збільшення проникності мембрани для різних іонів. Наслідком цього може бути вихід внутрішньоклітинних компонентів, зокрема гідролітичних ензимів лізосом, у кров. З іншого боку, утворені гідроперекиси та продукти їх розпаду - цитотоксичні.

Гемічна гіпоксія, зумовлена потраплянням до організму нітратів, спричиняє функціональні та морфологічні зміни в багатьох органах, у тому числі в нирках і печінці, що може призвести в подальшому до розвитку їх поєднаної патології [200, 204, 409, 463].

У наших експериментах потрапляння до організму натрію нітриту призвело до підвищення вмісту метгемоглобіну в крові статевонезрілих щурів у 2,3 раза, у старечих – у 2,4 раза ( $p \leq 0,05$ ). У статевозрілих щурів зміни не були вірогідними.

Дослідження вмісту MetHb у крові щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації показало його збільшення в усіх вікових групах упродовж експерименту. Після ураження обома токсикантами найбільш чутливими виявились статевонезрілі щури, у яких даний показник до кінця експерименту був найвищим – 328 % порівняно з контрольними тваринами.

У літературі є дані, які підтверджують порушення транспортної функції гемоглобіну крові у курців [209, 231, 255, 270, 300]. Відомо, що в основі дихальної функції крові лежить насичення гемоглобіну киснем з утворенням основної лігандної форми цього гемопротеїну – оксигемоглобіну. У процесі гострої інтоксикації спостерігається зниження рівня  $HbO_2$ , причому з тривалістю інтоксикації вміст його суттєво знижується [302, 326, 453].

Одночасно зі зниженням концентрації оксигемоглобіну спостерігається зростання рівня неактивних стосовно транспорту кисню форм гемоглобіну, насамперед таких лігандів, як метгемоглобін і сульфгемоглобін. Метгемоглобін утворюється в результаті окислення гемоглобіну з утворенням супероксид-аніона, який служить первинним месенджером вільнорадикальних процесів і не тільки здійснює пошкоджувальний вплив на клітинні мембрани, а й ініціює появу інших хімічно активних та цитотоксичних форм кисню.

Наведені факти узгоджуються з отриманими нами результатами, що підтвердили значне збільшення в крові щурів різного віку вмісту АФО та метгемоглобіну після ураження натрію нітритом на тлі 45-ти добової інтоксикації тютюновим димом.

Значну роль у розвитку метаболічних порушень під дією диму сигарет відводять монооксиду карбону та окислювальним газам. У даний час їх патогенна дія на судини, пов'язана з курінням, є найбільш вивченою. Монооксид карбону зменшує транспорт кисню в крові та його доступність для міокарда шляхом збільшення в крові рівня карбоксигемоглобіну [453, 460, 503, 522].

Найвищий вміст карбоксигемоглобіну в крові відмічено нами впродовж всього терміну ураження ТД у статевонезрілих щурів. Через 45 діб від початку тютюнової інтоксикації даний показник у 2,8 раза був вищим, ніж у контрольних тварин даної вікової групи.

Ускладнення тютюнової інтоксикації додатковим чинником натрію нітритом призвело до більш вираженого підвищення вмісту НbCO, який найвищого значення досяг у кінці експерименту (45 доба ТП+72 год з моменту введення НН) у крові статевонезрілих щурів (перевищив норму в 3 рази).

Відмічене нами підвищення вмісту мет- та карбоксигемоглобіну за умов ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації підтверджує виникнення гемічної гіпоксії, яка призводить до порушення транспортної функції крові та нестачі постачання кисню до тканин, що в подальшому

супроводжувалося розвитком тканинної гіпоксії. Можна стверджувати, що використані нами токсиканти підсилюють дію один одного. Результат їх одночасного впливу виявився адитивним.

Однією з причин активації вільнорадикальних процесів за умов патології може бути порушення в системі антиоксидантного захисту організму. Сигаретний дим містить багато окисників, вільних радикалів і органічних сполук, таких як супероксид і нітрогену оксид. Крім того, вдихання сигаретного диму в легені активує деякі ендogenousні механізми, такі як накопичення нейтрофілів і макрофагів, що ще більше поглиблює токсичне пошкодження екзогенними окислювачами [369, 390, 393, 495, 496].

Рівень процесів ВРО пов'язаний із активністю антиоксидантних ензимів, що утворюють єдиний метаболічний ланцюг, внаслідок функціонування якого відбувається перетворення АФО на воду, спирти та інші нетоксичні для організму метаболіти. Представником першої лінії антиоксидантного захисту є супероксиддисмутаза, яка забезпечує переривання ланцюгів кисневозалежних вільнорадикальних реакцій шляхом дисмутації супероксидного аніон-радикала ( $O_2^-$ ) з подальшим утворенням триплетного кисню та пероксиду гідрогену. За нейтралізацію пероксиду гідрогену відповідає інший гемвмісний ензим – каталаза [430, 438].

При дослідженні супероксиддисмутазної активності у щурів усіх вікових груп після отруєння натрію нітритом встановлено її зниження як у сироватці крові, так і в печінці. У статевонезрілих щурів це зниження виявилось найбільш вираженим.

Ураження тютюновим димом призвело до аналогічного пригнічення активності ензиму в сироватці крові та печінці щурів, причому в статевонезрілих щурів супероксиддисмутазна активність знизилась найбільше.

Одночасне ураження обома токсикантами ще більше поглибило зміни супероксиддисмутазної активності. У сироватці крові статевонезрілих щурів до кінця експерименту активність знизилась у 2,5 раза за отруєння обома

токсикантами у статевонезрілих щурів, у статевозрілих у 1,6 раза та у старечого віку була нижча контрольної групи в 1,9 раза. Найбільше зниження активності ензиму відмічено впродовж експерименту в печінці статевонезрілих тварин.

Пригнічення СОД активності, очевидно, може бути обумовлено суттєвим виснаженням пулу ензимів внаслідок посиленого їх використання на нейтралізацію вільних радикалів, продукція яких значно інтенсифікується в організмі тварин під впливом використаних нами токсикантів.

З іншого боку, достовірно відомо про безпосередній вплив активних форм кисню на ступінь окиснення іонів металів в активних центрах ензимів, що обумовлює пригнічення їх функціонування [195, 293, 450]. Ще однією із причин зниження супероксиддисмутазної активності може бути накопичення пероксиду гідрогену, який є інгібітором супероксиддисмутази [430, 280].

У наших експериментах виявлено, що отруєння щурів натрію нітритом призводило до зниження каталазної активності впродовж експерименту в усіх органах щурів усіх вікових груп. Найбільше зниження активності ензиму відмічали у сироватці крові та нирках щурів старечого віку. Це зумовлює пригнічення процесу знешкодження пероксиду гідрогену, утвореного в результаті супероксиддисмутазної реакції, що призводило до інтоксикації ним організму.

Ураження щурів тютюновим димом супроводжувалось суттєвим пригніченням каталазної активності на всіх стадіях патологічного процесу. Однією із причин зниження активності ензиму може бути викликана тривалою дією токсину (45-та доба) деградація вільних та зв'язаних із мембранами ендоплазматичної сітки рибосом, які відповідають за синтез протеїнів. Найбільш чутливими до тютюнового диму виявились легені та міокард статевонезрілих щурів, у яких каталазна активність до кінця дослідження знижувалась у 1,7 та 1,5 раза відповідно.

Більш глибоких змін зазнала каталазна активність у сироватці крові та органах щурів після ураження їх натрію нітритом на тлі тютюнової

інтоксикації, яка прогресуюче знижувалась упродовж усього експерименту та найнижчих значень досягла у кінцевий термін дослідження (45 доба ПІ+72 год отруєння НН).

Найнижчою КАТ активність виявилась у сироватці крові статевонезрілих щурів у кінці експерименту, в 1,9 раза була нижче контролю. У печінці найнижчою була активність у старечого віку щурів – на рівні 37 % щодо контролю. Аналогічно найнижчим виявився даний показник у міокардів старечих щурів після ураження токсикантами.

Отже, зниження каталазної активності в органах щурів усіх вікових груп сприяє накопиченню токсичного продукту дисмутації супероксидного аніон радикалу – пероксиду гідрогену та свідчить про швидке виснаження системи антиоксидантного захисту за умов токсичних уражень організму, що призводить до ушкодження молекул ензимів продуктами перекисного окислення.

Нами відмічено негативний зворотній зв'язок середньої сили між продуктами ліпопероксидації (ТБК-АП) та КАТ активністю у сироватці крові статевонезрілих щурів  $|r = - 0,67|$ , у статевозрілих  $|r = - 0,30|$  та у старечих  $|r = - 0,38|$  до кінця дослідження. Найбільш виражений кореляційний зв'язок між даними показниками спостерігався у групі статевонезрілих тварин. В органах щурів усіх груп зв'язок носив однонапрямлений характер (зворотній середньої сили). В останній термін експерименту відмічався зворотній негативний зв'язок середньої сили між вмістом ТБК-АП та СОД активністю в печінці щурів усіх вікових груп: у статевонезрілих  $|r = - 0,37|$ , статевозрілих  $|r = - 0,16|$  та у старечих  $|r = - 0,39|$ .

Отримані нами результати підтверджують обернену залежність між активністю процесів ліпопероксидації та показниками антиоксидантної системи.

Нами досліджено вміст ще одного компонента антиоксидантної системи – протеїну з ензиматичною активністю – церулоплазмину.

Церулоплазмін – багатофункціональний глікопротеїн альфа-2-глобулінової фракції сироватки крові, транспортна форма купруму – є універсальним позаклітинним «гасником» вільних радикалів. Має активність супероксиддисмутази: відновлює в крові супероксидні радикали до кисню та води і в такий спосіб захищає від пошкодження ліпідні структури мембран. Він окиснює різні субстрати – серотонін, катехоламіни, поліаміни, поліфеноли, перетворює двовалентний ферум на тривалентний, переносить купрум із печінки до органів і тканин, де останній функціонує у вигляді цитохром-С-редуктази і СОД [277, 427, 478].

Концентрація церулоплазміну корелює з рівнем інших гострофазних маркерів, його синтез стимулює ІЛ-6 [30, 242, 270, 289], що сприяє розвитку запальних процесів у організмі.

Через 72 год з моменту ураження натрію нітритом вірогідне підвищення вмісту ЦП було у сироватці крові всіх вікових груп: у статевонезрілих – у 1,5 раза, у статевозрілих та старечого віку щурів – у 1,4 раза.

Так, на 45-ту добу тютюнової інтоксикації найвираженіші зміни вмісту ЦП були у статевонезрілих щурів (даний показник збільшився на 65 % щодо контролю;  $p \leq 0,05$ ). У статевозрілих та старечого віку тварин зміни були менш виражені.

Одночасне ураження щурів усіх вікових груп натрію нітритом та тютюновим димом викликало ще більше підвищення вмісту ЦП, яке найвираженішим було у статевонезрілих тварин (у 2,4 раза перевищило рівень контрольних щурів даної вікової групи).

На нашу думку, підвищений вміст ЦП, очевидно, зумовлений зниженням СОД активності за умов патології, так як відомо, що саме цей ензим має здатність видаляти з крові супероксидні аніон-радикали. Можливо, збільшення вмісту ЦП також пов'язане зі зміною його катаболізму в ураженому організмі. У нормі катаболізм здійснюється в печінці за допомогою нейрамінідази, яка здійснює його десіалювання до асіалоцерулоплазміну, здатного виводитися з органу [30]. В уражених гепатоцитах десіалізація,

мабуть, менш ефективна, і тому розпад ЦП печінки пригнічується, що призводило до підвищення його вмісту в сироватці крові.

Під час проведення багатьох досліджень показано зниження антиоксидантних властивостей крові в осіб, які палять, а саме зниження глутатіонпероксидазної активності [333]. Глутатіон – біологічно активний трипептид, який виявляють у всіх живих організмах, складається із залишків глутамінової кислоти, цистеїну та гліцину, наявний в окисненій і відновленій формах [342, 515]. Відновлена форма глутатіону захищає SH-групи протеїнів від окиснення різними окиснювальними чинниками. Механізм захисту полягає в окисненні SH-групи самого глутатіону з утворенням окисненої форми й збереженням SH-груп протеїнів у активній відновленій формі. Глутатіон також відіграє важливу роль у зв'язуванні вільних радикалів, відновленні пероксиду гідрогену та інших пероксидів, що запобігає розвитку вільнорадикальних процесів [515].

Ураження щурів усіх вікових груп натрію нітритом призвело до зниження вмісту ВГ у сироватці крові, печінці, легенях, нирках та міокарді щурів як через 24 год після отруєння, так і через 72 год від початку експерименту. Найбільш виражене зниження відмічали у печінці щурів після ураження, що можливо, пов'язано з токсичним впливом натрію нітриту саме на цей орган. Очевидно, після отруєння токсикантом відбувається порушення синтезу трипептиду в печінці.

У щурів різних вікових груп, які впродовж 45-ти діб піддавались дії тютюнового диму прогресуюче знижувався вміст ВГ і до кінця експерименту найбільш виражені зміни відмічені в сироватці крові (72 % від контролю), легенях (у 1,5 раза нижче рівня контрольних тварин), міокарді (у 2,2 раза нижче контролю) та нирках (зниження становило 33 %) статевонезрілих тварин.

Одночасне отруєння щурів обома токсикантами призвело до глибоких порушень у функціонуванні глутатіонової системи. Найбільш виражене зниження вмісту ВГ у печінці відмічено у кінці експерименту (45-та доба ТІ та



72 год отруєння НН) у статевонезрілих щурів (у 3,5 раза). У легенях тварин усіх вікових груп вміст ВГ знижувався однаково впродовж усіх термінів дослідження. У міокарді та нирках статевонезрілих щурів після ураження вміст трипептиду (відновленої форми) зазнав найбільшого зниження у порівнянні з іншими віковими групами тварин.

Очевидно, зниження рівня ВГ у сироватці крові у випадку ураження кожним ксенобіотиком зокрема та одночасне їх застосування є компенсаторною реакцією на токсичну дію ксенобіотиків, а також пов'язане з пригніченням процесів утворення НАДФН. Зниження вмісту відновленого глутатіону пов'язують зі зниженням активності глутатіонредуктази, яка здатна за допомогою НАДФН<sub>2</sub> відновлювати дисульфідну його форму. Деякі автори вважають, що ВГ здатний конкурувати з O<sub>2</sub> за вільні радикали, взаємодіючи з останніми, перетворюється в окиснений глутатіон, який може бути регенований з (Fe<sup>2+</sup>) за допомогою аскорбінової кислоти, НАДН і цитохрому та може знову вступати в реакції з вільними радикалами [61, 458, 466].

Одним із наслідків зниження вмісту відновленого глутатіону в органах тварин після ураження може бути оксидативний стрес, який супроводжувався інтенсифікацією процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, а також пригнічення протеїнсинтезувальної функції печінки за даних умов.

Отримані нами дані та дані літератури [202, 271, 304], дозволяють стверджувати, що токсична дія натрію нітриту може бути пов'язана як безпосередньо з процесом окиснення феруму гему та внаслідок цього гемічною гіпоксією, так і з процесами радикального пошкодження протеїнових і клітинних структур у результаті процесів ліпопероксидації. Підтвердженням цього є підвищення проникності еритроцитарної мембрани, на що вказує високий відсоток ендogenousного індексу інтоксикації після ураження тварин NaNO<sub>2</sub>.

Найбільшого пошкодження зазнали еритроцитарні мембрани у статевонезрілих та старечого віку щурів, проникність яких збільшилась на 15 % через 72 год після отруєння натрію нітритом.

При отруєнні щурів усіх вікових груп тютюновим димом до кінця експерименту ми спостерігали підвищення проникності еритроцитарної мембрани у статевонезрілих тварин на 30 %, у статевозрілих на 28 % , у старечого віку на 52 % порівняно з таким показником у контрольних тварин кожної вікової групи.

Одночасне ураження щурів натрію нітритом та тютюновим димом призвело до більш значного збільшення відсотку проникності еритроцитарних мембран, ніж кожен із цих токсикантів окремо. У статевонезрілих щурів до кінця експерименту ЕП збільшився на 55,6 %, у старечого віку – на 54,1 % та у статевозрілих – на 38 %.

Однією з причин зміни проникності клітинних мембран під дією натрію нітриту на тлі тютюнової інтоксикації може бути токсичний вплив їх метаболітів на структурні компоненти саме мембран – як ліпідні, так і протеїнові.

Відомо, що, незалежно від фактора, який ініціює реакцію окиснення або переокиснення ліпідів, зростає проникність мембран, що призводить до ряду змін всередині клітини та завершується пошкодженням мембран клітинних органел та виходом ензимів у кров [219, 371, 383].

На пошкодження структури мембран клітин за дії токсикантів, залежно від віку тварин, вказує зміна активності органоспецифічних ензимів АЛТ і АСТ у сироватці крові щурів. Оскільки досліджувані ензими локалізуються, відповідно в цитозолі та лізосомах гепатоцитів, то за змінами їх активності можна оцінити ступінь пошкодження плазматичних і цитоплазматичних мембран клітин печінки [311, 399].

Найвища активність АЛТ зареєстрована у сироватці крові статевонезрілих щурів (у 6,7 раза перевищувала рівень контрольних тварин) після отруєння натрію нітритом. Це може бути наслідком ураження, в першу

чергу, печінки, так як основна локалізація ензиму саме в цьому органі. Підтвердженням є вірогідне ( $p \leq 0,05$ ) зниження активності АЛТ у печінці щурів даної вікової групи.

Активність АЛТ була найнижчою в нирках щурів старечого віку після ураження натрію нітритом. Можливо, однією із причин цього є порушення процесів трансамінування в даному органі, а також токсичний вплив на нефроцити проміжних продуктів вільнорадикального окиснення.

При дослідженні активності АСТ найвище значення відмічено у сироватці крові статевозрілих та старечого віку щурів, що можливо, пов'язано із значною стресовою ситуацією для тварин даних дослідних груп та відповідним гормональним фоном статевозрілих та старечого віку щурів.

Після ураження статевонезрілих щурів ТД спостерігали вірогідне підвищення ( $p \leq 0,05$ ) активності АЛТ у сироватці крові в усі терміни дослідження та до кінця експерименту активність ензиму перевищувала в 6,7 раза рівень контрольних тварин.

Найнижчі значення активності АЛТ відмічені в органах старечого віку щурів (печінці, легенях, міокарді), уражених впродовж 45 діб тютюновим димом. Це, очевидно, пов'язано з віковими особливостями метаболізму амінокислот та певними адаптаційними реакціями організму на пізніших етапах онтогенезу.

Отруєння щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації призвело до вираженого підвищення у сироватці крові активності АЛТ у всіх вікових групах. Досліджуваний показник прогресуюче зростав у залежності від терміну дослідження. Найбільш чутливими до одночасної дії обох токсикантів виявились статевонезрілі щури, у яких до кінця експерименту активність АЛТ у сироватці крові підвищилась у 7,7 раза щодо рівня інтактного контролю. Найнижчі рівні активності АЛТ відмічено у печінці статевонезрілих та легенях, нирках і міокарді старечого віку щурів у кінці експерименту.

Підвищення активності АЛТ у сироватці крові щурів усіх вікових груп можна розглядати як посилення аланінглюкозного шляху метаболізму з викидом із клітин глюкози за рахунок її дефосфорилування збільшеним вмістом ЛФ [387, 407, 460], що нами показано в подальшому.

Визначення активності АСТ у сироватці крові та органах щурів після одночасного ураження натрію нітритом та тютюновим димом показало, що найчутливішими до токсикантів є старечого віку статевонезрілі щури.

Підвищення активності досліджуваних ензимів у сироватці крові є свідченням гострого ураження клітин печінки, а також інших органів. Така зміна також підтверджує ураження клітин нирок та порушення в них процесів реабсорбції.

Оскільки деякі ензими або їх ізоензими локалізуються у цитоплазмі клітини або її органелах, визначення активності дає можливість характеризувати не тільки ступінь ушкодження клітин, але й внутрішньоклітинну локалізацію патологічного процесу. Ензими, що локалізуються у цитоплазмі, легко проникають через мембрану, а ті, що містяться в органелах, всмоктуються в кров повільніше. В гепатоцитах, кардіоцитах та нефроцитах досить висока активність ЛДГ, тому навіть незначне їх ушкодження спричиняє зростання активності цих ензимів у крові.

Найбільшого значення досягла активність ЛДГ у сироватці крові статевонезрілих щурів після отруєння натрію нітритом і в 1,5 раза перевищила норму контрольних тварин цієї вікової категорії.

У печінці, легенях, нирках і міокарді активність ЛДГ різко знижувалась у залежності від терміну дослідження в усіх вікових групах тварин, хоча найбільш виражене зниження відмічено у групі статевонезрілих тварин.

Ураження тютюновим димом щурів усіх вікових груп впродовж 45 діб призвело до вірогідного підвищення активності ензиму в сироватці крові та зниження її в органах щурів. Вірогідне зниження даного показника відмічали у легенях щурів усіх вікових груп. У кінці експерименту чутливим до дії токсиканта виявився міокард статевонезрілих та старечого віку щурів.

Активність ЛДГ у міокарді статевонезрілих щурів у 1,35 раза була нижче контролю, у старечих – у 1,3 раза.

Активність ЛДГ у сироватці крові щурів усіх вікових груп прогресуюче зростала після одночасного отруєння обома токсикантами та найвища відмічена наприкінці експерименту у статевонезрілих тварин. У терміні 45-та доба отруєння тютюновим димом та 72 год з моменту поступлення натрію нітриту активність ензиму в цієї групи тварин у 1,8 раза була вище контролю.

У наших експериментах після отруєння натрію нітритом та тлі тютюнової інтоксикації в організмі щурів виникає гіпоксичний стан, зумовлений як посиленням метгемоглобіноутворенням (під впливом натрію нітриту), так і значною кількістю карбоксигемоглобіну, що має місце за тривалого ураження тютюновим димом. Підвищення активності ЛДГ у сироватці крові за даних умов свідчило про активацію анаеробного гліколізу, що спостерігається при порушенні аеробного гліколізу. У процесі гіпоксії більшість біохімічних реакцій йдуть за анаеробним типом метаболізму, що зумовлює зростання активності ЛДГ у сироватці крові [393].

Одночасне застосування токсикантів призвело до вірогідного зниження активності ензиму в органах щурів усіх вікових груп, яке найбільш вираженим було у статевонезрілих тварин.

Суттєвих змін зазнала активність ще одного органоспецифічного ензиму печінки (маркера некрозу) – гаммаглутамілтранспептидази. Як показали наші дослідження, активність ензиму виражено зростала в сироватці крові статевонезрілих щурів (на 38 %) через 72 год після ураження натрію нітритом. У цей же час спостерігали виражене зниження даного ензиму в печінці статевонезрілих тварин.

При дослідженні активності ГГТП, ензиму, важливого при детоксикації, синтезі лейкотрієнів і транспорті амінокислот, у сироватці щурів, уражених тютюновим димом, відмічено його підвищення на завершальних етапах експерименту, яке у статевонезрілих щурів становило 90 %. У печінці тварин цієї вікової категорії впродовж експерименту вірогідно знижувалась

активність ГГТП. Нирки тварин старечого віку були більш чутливими до дії токсиканта. У них активність ГГТП була найнижчою через 45 діб ураження тютюновим димом.

Після застосування обох токсикантів активність ензиму до кінця експерименту найбільше зросла у сироватці крові статевонезрілих щурів і перевищувала норму в 4,1 раза. У цей же час вона виражено знизилась у печінці даної вікової категорії (до 48 %). Отруєння НН за 72 год до завершення 45-добової інтоксикації ТД викликало зниження активності ензиму в нирках статевонезрілих та старечого віку щурів у 1,6 раза, у статевозрілих – у 1,5 раза відповідно до рівня інтактного контролю.

Очевидно, що за умов ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації масовано відбувається цитоліз гепатоцитів та нефроцитів внаслідок активації в організмі вільнорадикальних процесів, що може бути однією із причин підвищення активності ГГТП у сироватці крові та зниження її у печінці та нирках.

Відомо, що у мембранах біліарних шляхів печінки локалізуються гамаглутамілтранспептидаза та лужна фосфатаза. ГГТП зв'язана з епітелієм внутрішньопечінкових жовчних протоків, ЛФ із плазматичною мембраною епітелію жовчовивідних шляхів та гепатоцитів [30, 97, 100, 119, 468].

Після отруєння натрію нітритом найвищого значення досягла активність ЛФ у сироватці крові щурів старечого віку через 72 год від початку потрапляння токсиканта (підвищилась у 1,5 раза). Найбільш чутливими до дії натрію нітриту виявились печінка та нирки статевонезрілих щурів, у яких активність ензиму була нижчою після ураження в порівнянні з іншими віковими групами.

Інтоксикація тютюновим димом різних вікових груп щурів викликала підвищення активності ЛФ у сироватці крові, найвищий рівень якої відмічався у статевонезрілих тварин (у 1,9 раза порівняно з контролем). У цей же час нами зареєстровано зниження активності ензиму в печінці та нирках щурів за умов

нітритно-тютюнового токсикозу, яке найбільше проявилось у статевонезрілих тварин.

Активність ензиму в сироватці крові тварин усіх вікових груп достовірно лінійно зростала після ураження щурів обома токсикантами та найвищого значення досягла у кінцевий термін дослідження (значно перевищила рівень ензиму при ураженні кожним із ксенобіотиків окремо). У печінці та нирках статевонезрілих щурів активність ЛФ до кінця експерименту була найнижчою у порівнянні з іншими віковими групами.

Отримані нами результати з вивчення активності ЛФ, очевидно, є ознакою розвитку внутрішньопечінкового холестазу та запального процесу, що супроводжує ураження паренхіми печінки.

Зважаючи на те, що ЛФ є органоспецифічним ензимом для печінки, зростання якого є типовою ознакою холестазу, одержані результати слід розглядати як підтвердження ураження гепатоцитів із проявами запальних процесів, цитолізом та застоєм жовчі в жовчних капілярах і протоках. Все це разом вносить свою частку в загальний ендогенний токсикоз, який проявляється зростанням МСМ [201, 221].

Однією з причин підвищеного їх вмісту, можливо, є посилений протеоліз в пошкоджених тканинах, а також у самій сироватці крові при виході в кров протеолітичних ензимів. Утворені при цих умовах гідрофобні токсини, зокрема, продукти деградації протеїнів, вважаються найбільш токсичними [7, 331, 483].

Показник рівня МСМ вважають основним біохімічним маркером, що відображає рівень ендотоксемії та патологічного протеїнового метаболізму [93, 94, 98, 136].

З огляду на вищесказане, нами був досліджений вміст МСМ у сироватці крові щурів різного віку, уражених натрію нітритом, тютюновим димом та за їх одночасного застосування. Впродовж експерименту в усіх вікових групах вміст фракції, у якій переважають ланцюгові амінокислоти, збільшився в 2 рази після отруєння натрію нітритом. Даний токсикант через 72 год з

моменту потрапляння до організму тварин, викликав підвищення вмісту фракції МСМ, у якій переважають ароматичні амінокислоти, у сироватці крові щурів старечого віку у 1,7 раза щодо рівня інтактного контролю, у статевонезрілих – у 1,6 раза.

Більш виражені зміни вмісту СМ<sub>1</sub> спостерігали через 45 діб ураження тютюновим димом: у статевонезрілих і статевозрілих щурів даний показник у цей термін дослідження підвищився у 3 рази, у старечих – у 2,8 раза. Аналогічні зміни відмічені при дослідженні фракції СМ<sub>2</sub> у сироватці крові щурів за умов тютюнової інтоксикації. Вміст їх збільшувався з подовженням терміну інтоксикації.

При отруєнні щурів обома токсикантами одночасно рівень ендогенної інтоксикації значно поглиблювався. У сироватці крові статевонезрілих щурів вміст СМ<sub>1</sub> у кінці дослідження підвищився в 4 рази, що було найвищим показником серед інших вікових груп.

Нами відмічено прогресуюче підвищення вмісту СМ<sub>2</sub> упродовж експерименту в усіх вікових групах щурів. Найбільш чутливими виявились статевонезрілі тварини, у сироватці крові яких даний показник підвищився у 2,8 раза.

Досліджений нами вміст МСМ обох фракцій прямопропорційно позитивно корелює зі вмістом продуктів ОМП. Між вмістом фракції СМ<sub>1</sub> та продуктами ОМП основного характеру у сироватці крові відмічався сильний позитивний зв'язок у статевонезрілих щурів  $|r = 0,78|$ , у зрілих слабкий  $|r = 0,16|$  та старечого віку тварин  $|r = 0,55|$  зв'язок був середньої сили. Пряма позитивна залежність відмічена між 2,4-ДНФГ основного характеру та вмістом СМ<sub>2</sub> у всіх вікових групах. Найбільш вираженою вона була в кінці експерименту у щурів старечого віку  $|r = 0,75|$ . Між вмістом продуктів ОМП нейтрального характеру та СМ<sub>1</sub> сильний кореляційний зв'язок був у старечого віку щурів  $|r = 0,89|$ . У двох інших вікових групах залежність показників відмічалась як середньої сили. Аналогічні кореляційні зв'язки спостерігали між 2,4-ДНФГ нейтрального характеру та вмістом СМ<sub>2</sub>.



Дослідження деструктивних процесів, які зумовлюють цитоліз клітин та зміну проникності плазматичних мембран і мембран органел після ураження щурів як натрію нітритом, так і тютюновим димом, а також їх одночасним застосуванням, підтвердили токсичність даних ксенобіотиків та довели їх адитивний вплив на розвиток метаболічних порушень в організмі. За умов нітритно-тютюнового токсикозу відбувається отруєння як екзогенними токсикантами, так і продуктами їх метаболізму, тобто вторинними ендogenousними токсинами, що поглиблювало загальну інтоксикацію. Найбільш виражені зміни спостерігали у організмі статевонезрілих та щурів старечого віку.

Мітохондріям належить центральне місце у клітинній адаптації до зміни вмісту кисню завдяки залученню їх у метаболічні, енергетичні та вільнорадикальні процеси [101, 163, 211, 216]. За умов оксидативного стресу, що супроводжує гіпоксію, дослідження функціонування мітохондрій набуває особливого значення, оскільки вони відіграють ключову роль в енергозабезпеченні організму, і є одним із джерел активних кисневих метаболітів, які з одного боку, можуть виступати деструктивним фактором, а з іншого – центральним регуляторним та виконавчим ланцюгом сигнальних клітинних каскадів [227, 263].

Необоротні порушення у структурі та функціонуванні мітохондрій, спричинені дією надмірних кількостей АФО, зумовлюють зсув енергетичного метаболізму в бік зростання інтенсивності гліколізу та пригнічення окиснювальних фосфорилування [263, 303, 326]. Інтенсифікація окисних процесів забезпечує перебудову анаеробного й аеробного енергетичного обміну із включенням трансаміназного циклу окислення субстратів у клітинах.

Для розгляду біохімічних механізмів дисбалансу мітохондріальної системи енергозабезпечення в разі токсичного ураження тварин, актуальним є визначення ланок, що лімітують його можливості.

Основними маркерними ензимами, задіяними в порушенні окисного фосфорилування, є сукцинатдегідрогеназа та цитохромоксидаза, активність

яких ми визначали за умов окремого ураження натрію нітритом, тютюновим димом та за їх поєднаного впливу на організм.

У результаті наших досліджень встановлено, що після ураження натрію нітритом у печінці, легенях та міокарді щурів знижується сукцинатдегідрогеназна активність. Найбільш чутливими до дії токсиканта виявились легені статевонезрілих щурів, у яких активність ензиму до кінця дослідження знизилась на 24 %. Вірогідне зниження ( $p \leq 0,05$ ) активності СДГ відмічено у печінці та міокарді щурів старечого віку.

Ураження щурів впродовж 45 діб тютюновим димом призвело до вірогідного зниження активності СДГ у всіх досліджуваних органах (печінці, міокарді та легенях). Максимальне зниження активності ензиму у печінці зареєстровано у кінці експерименту в статевонезрілих щурів (даний показник знизився в 1,8 раза). Найбільш виражене зниження активності ензиму спостерігали у легенях статевонезрілих щурів, показник якого сягнув 57 % щодо рівня інтактного контролю в останній термін дослідження. У міокарді щурів старечого віку, токсикованих тютюновим димом, спостерігали найбільше зниження сукцинатдегідрогеназної активності порівняно з іншими віковими групами тварин.

Встановлено, що за умов одночасного ураження щурів натрію нітритом та тютюновим димом у тканинах печінки, легень та міокарду відмічалось зниження показників системи мітохондріального транспорту електронів уже на початку дослідження (24 год та 72 год з моменту потрапляння до організму натрію нітриту токсикованих впродовж 15 діб ТД щурів) з максимальним енергодефіцитом клітин у кінці експерименту. Найнижчий показник активності СДГ був у печінці статевонезрілих щурів у кінці експерименту (знизився у 2,2 раза щодо групи інтактного контролю).

Після ураження токсикантами спостерігалось зниження активності СДГ у легенях щурів усіх вікових груп упродовж усього експерименту. Зниження було значно виразнішим, ніж при отруєнні кожним із токсикантів окремо. До кінця дослідження у легенях статевонезрілих щурів активність СДГ знизилась

у 2,1 раза, що було значно нижчим, ніж у двох інших вікових групах щурів після ураження.

Найвираженіші зміни СДГ активності відмічено у міокарді старечого віку щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації.

Зниження СДГ активності вказувало на зміни у початкових етапах процесу мітохондріального окиснення, яке супроводжувалося порушенням енергетичного обміну та призводило до формування тканинної гіпоксії. При токсичних ураженнях (натрію нітритом на тлі хронічної тютюнової інтоксикації) подальше зниження активності цього ензиму свідчило про прогресування порушень і формування тяжких дисенергетичних розладів.

Дослідження цитохромоксидазної активності (ензим, який бере участь у термінальній стадії мітохондріального окиснення) показало її зниження після ураження натрію нітритом у печінці статевонезрілих щурів на 22 %, що було найнижчим серед усіх вікових груп. У легенях тварин усіх вікових груп активність ензиму зазнала однакового зниження – в 1,2 раза після введення токсиканта. Найнижчі значення цитохромоксидазної активності відмічались у міокарді уражених статевонезрілих та старечого віку щурів.

На порушення електронного транспорту в термінальній ланці дихального ланцюга вказувало вірогідне пригнічення цитохромоксидазної активності в мітохондріях органів отруєних щурів усіх груп під впливом тютюнового диму. Найбільш чутливими до дії диму були статевонезрілі тварини, в яких активність ензиму була найнижчою у печінці, легенях і міокарді порівняно з іншими віковими групами.

Існує все більше доказів того, що компоненти сигаретного диму погіршують мітохондріальну функцію та викликають мітохондріальний окислювальний стрес у різних типах клітин. Недавні дослідження показали, що акролеїн, головний токсикант в сигаретному димі, викликає окисне пошкодження мітохондрій [248, 326], що узгоджується з нашими результатами.

Одночасне ураження щурів натрію нітриту та тютюновим димом призвело до вираженого пригнічення активності векторного ензиму дихального ланцюга, яке проявилось найбільшим зниженням у печінці, легенях та міокарді статевонезрілих тварин. У легенях та міокарді старечого віку щурів зниження цитохромоксидазної активності практично знаходилось на рівні показника у статевонезрілих щурів за умов одночасного отруєння токсикантами.

Зниження цитохромоксидазної активності, з одного боку, можна пояснити обмеженим надходженням електронів від субстратної ланки дихального ланцюга через цитохроми b-c [216, 263, 478, 504]. Пригнічення активності ензиму може також виникати через зв'язування вільних кисневих радикалів з атомами металів, які є в активному центрі цитохромоксидази.

Отримані зміни активності дихальних ензимів свідчать про пригнічення функції мітохондрій у легенях, серці та печінці щурів, що може бути однією з причин поліорганної недостатності в організмі після ураження тварин натрію нітритом на тлі хронічної тютюнової інтоксикації.

Такий енергетичний дисбаланс у мітохондріях призводить до зниження синтезу аденозинтрифосфату, посилення генерації активних форм кисню, розвитку окислювального стресу, цитотоксичного ушкодження мембран, ДНК і, як наслідок, загибелі клітин [276].

Наші результати узгоджуються з даними літератури [326, 390, 404, 424], які вказують на те, що для функціонування внутрішньомітохондріальної частини процесу енергообміну необхідний кисень, однак саме гіпоксія є причиною найбільш виражених порушень енергозабезпечення та невідповідності між енергопотребами клітини й енергопродукцією в системі мітохондріального окислювального фосфорилування [458, 462]. При гіпоксії зниження надходження кисню в клітину призводить до порушення мітохондріального окислення та дефіциту АТФ [465, 467]. За рахунок активації процесів анаеробного гліколізу посилюється внутрішньоклітинний ацидоз, що, у свою чергу, призводить до ушкодження цитомембран, яке

супроводжується ініціацією перекисного окислення ліпідів і накопиченням його продуктів [219, 222, 318].

Всі ці порушення відмічені і в наших експериментах, так як за отруєння токсикантами мала місце і гемічна, і циркуляторна гіпоксія, які призвели до виникнення тканинної гіпоксії в органах щурів.

Отже, отримані нами результати досліджень функціонування мітохондріального ланцюга окиснення довели, що сумарний ефект різних видів гіпоксії призводить до значних токсикогіпоксичних порушень окисно-відновних процесів і біоенергетичної недостатності у тварин, отруєних натрію нітритом і тютюновим димом одночасно.

Узагальнюючи, слід зазначити, що потрапляння до організму щурів натрію нітриту одночасно з тютюновим димом зумовлює дезорганізацію енергозабезпечувального окиснення з максимальним енергодефіцитом у легенях, печінці та міокарді в кінці експерименту, що значною мірою відображається на перебігу усіх метаболічних перетворень, які залежать від постачання енергії.

Проведені нами експерименти дали можливість стверджувати, що за умов ураження щурів натрію нітритом та тютюновим димом як окремо, так і при їх одночасному застосуванні, в організмі щурів усіх вікових груп першочерговим є розвиток оксидативного стресу. Це призводить до нагромадження АФО, порушення процесів їх інактивації, дисфункції мітохондрій, поглиблення ендогенної інтоксикації.

У свою чергу, високий вміст АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові, який нами констатовано при ураженні дослідними токсикантами, може супроводжуватися розвитком запальних процесів та активацією деяких індукованих стресом факторів транскрипції, на що вказували різні дослідники [199, 276]. Не виключено також, що поліциклічні ароматичні вуглеводні, які є основними складовими тютюнової смоли та диму посилюють продукування АФО шляхом активації клітинних компонентів, зокрема НАД(Ф)Н-оксидаз [61, 458, 466].

Звідси, доцільним було з'ясувати чи розвиваються запальні процеси на тлі підвищеного вмісту АФО, та чи існує залежність від віку досліджуваних тварин.

Є дані, які вказують на те, що тютюновий дим може викликати запальні процеси, зокрема, за допомогою індукції прозапальних цитокінів. Прозапальні цитокіни виробляються переважно активованими макрофагами та беруть участь у регуляції запальних реакцій [6, 122, 154, 242]. Макрофаги відіграють регулюючу роль у запаленні шляхом викиду таких медіаторів, як фактор некрозу пухлини -  $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), інтерлейкіну - 1, інтерлейкіну- 6, що сприяють нейтрофільному запаленню [270, 289, 295]. Підвищення концентрації прозапальних медіаторів і цитокінів відображає активність та тяжкість перебігу патологічного процесу.

Серед біомаркерів, які відображають зміни при запаленні, велике значення мають протеїни гострої фази, що з'являються в плазмі крові через 4-6 годин після ураження тканини різними чинниками, до яких відноситься С-реактивний протеїн [2, 3, 22, 23].

Ураження щурів натрію нітритом викликало збільшення вмісту С-РП у сироватці крові статевонезрілих щурів через 72 год після отруєння на 38 %, що виявилось значно більшим, ніж у статевозрілих та старечого віку тварин.

Найбільшого значення у всі терміни дослідження після отруєння тютюновим димом досяг вміст С-РП у сироватці крові щурів старечого віку і через 45 діб перевищив рівень контрольних тварин у 1,4 раза. Отруєння ТД статевонезрілих щурів викликало прогресуюче підвищення у сироватці крові С-РП у залежності від терміну дослідження, вміст якого наприкінці експерименту був у 2,2 раза вищим порівняно з контролем.

Зареєстровані нами підвищені рівні С-РП можуть бути діагностичним критерієм оцінки запальних процесів у курців та слугувати прогностичним фактором розвитку захворювання легень.

С-реактивний протеїн є високочутливим, але неспецифічним гострофазовим показником, котрий продукується у відповідь на більшість

форм тканинного ушкодження, інфекцію чи запалення [27, 223, 237, 306], тому доцільним було вивчити вміст даного показника за умов одночасного ураження щурів натрію нітритом та тютюновим димом.

Найвищий вміст С-РП за поєднаної патології зареєстровано у сироватці крові щурів старечого віку, в яких до кінця експерименту він підвищився у 3,3 раза. Аналогічне підвищення вмісту гострофазового протеїну відмічено у сироватці крові статевонезрілих тварин. Значно менше зростав даний показник після ураження токсикантами у крові статевозрілих щурів.

Для ранньої оцінки тяжкості багатьох захворювань в якості маркера запалення використовують ІЛ-6, один із найбільш активних цитокінів, які беруть участь у реалізації імунної відповіді та запальної реакції [241, 269, 355, 417, 447].

Як свідчать отримані нами дані, вміст прозапального цитокіну ІЛ-6 у сироватці крові щурів після отруєння натрію нітритом зростав як через 24 год після потрапляння токсиканта, так і через 72 год з моменту отруєння. У сироватці крові статевонезрілих та старечого віку тварин в останній термін дослідження вміст прозапального цитокіну зріс у 1,5 раза.

Через 45 діб тютюнової інтоксикації вміст ІЛ-6 найбільшим виявився у сироватці крові статевонезрілих тварин і перевищував норму в 3,4 раза. У цей же термін даний показник у статевозрілих щурів зріс у 2,8 раза, у старечих – у 2,4 раза.

Одночасне ураження обома токсикантами призвело до активації запальних процесів у організмі, на що вказувало збільшення в 4,6 раза вмісту ІЛ-6 у сироватці крові статевонезрілих щурів у кінці експерименту, в старечих у 2,6 раза та у статевозрілих – у 3,5 раза вище контролю.

Така гіперпродукція прозапальних цитокінів може призвести до розвитку системної запальної реакції та бути причиною розвитку ряду патологічних станів. Саме баланс прозапальних та протизапальних цитокінів визначає вираженість та направленість системної запальної реакції. Підвищення рівня прозапальних цитокінів у сироватці крові та їх роль у

формуванні метаболічних зсувів є свідченням того, що ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом перебігає на тлі хронічного запального процесу.

Дослідження вмісту протизапального ІЛ-4 у сироватці крові щурів, отруєних натрію нітритом показало, що у всіх вікових групах щурів у обидва терміни дослідження спостерігалась тенденція до зниження даного показника, вірогідних змін не було відмічено.

Впродовж 45 діб ураження тютюновим димом спостерігалось прогресуюче зниження вмісту протизапального цитокіну в групах щурів усіх вікових груп і до кінця експерименту воно найбільш вираженим було у сироватці крові статевонезрілих тварин (у 1,5 раза нижче контролю).

За умов нітритно-тютюнового токсикозу вміст ІЛ-4 знижувався ще більше у сироватці крові тварин у залежності від терміну інтоксикації. До кінця дослідження вміст протизапального цитокіну найбільш виражено знизився у статевонезрілих щурів ( $p \leq 0,05$ ).

Отже, ураження щурів різних вікових груп призводило до розвитку запальних процесів у організмі, що проявляється дисбалансом у вмісті про- та протизапальних цитокінів. Відмічається збільшення вмісту прозапального ІЛ-6 та зниження вмісту протизапального ІЛ-4. Найбільш виражені зміни даних показників спостерігались у статевонезрілих тварин при одночасному ураженні обома токсикантами.

Нами досліджено взаємозалежність між вмістом ІЛ-4 та вмістом АФО у щурів різних вікових груп, одночасно отруєних натрію нітритом та тютюновим димом. Між концентрацією АФО та ІЛ-4 спостерігався зворотній негативний зв'язок середньої сили, який у всіх групах був на одному рівні  $|r| = -0,30-0,32$ . Проведений кореляційний аналіз між показниками оксидативного стресу та активністю запальних процесів, дозволяє стверджувати, що пусковим механізмом розвитку запалення є саме посилена генерація АФО, що призводить до поширення його в органах тварин за умов нітритно-тютюнового токсикозу.



Отримані результати з вивчення запальних процесів при ураженні обома токсикантами узгоджуються та підтверджують отримані нами раніше дані [75, 82, 90] про активацію окиснювальних процесів, розвиток гіпоксичного стану нагромадження вторинних ендогенних токсинів, що може бути рушійною силою при запуску системного запалення за даного патологічного стану.

Тривала гіпоксія, яка зумовлена використаними нами токсикантами, суттєво змінює структуру гемоутримуючих протеїнів, що призводить до накопичення зв'язаних з ними нітрит-іонів із подальшим утворенням нітроген оксиду та порушенням функції ензимів, які регулюють електролітний обмін [75, 280, 408, 422]. За таких умов навіть незначне підвищення продукції NO може негативно впливати шляхом цитотоксичної дії.

Утворення великої кількості NO має місце при розвитку цілого ряду патологічних процесів: гіпоксії, інтоксикацій, гострого та хронічного запалення, тяжкої травматичної хвороби, пухлин [488, 494].

Головними шляхами утворення нітроген оксиду вважають NO-синтазну активність, а також ензимні та неензимні реакції відновлення нітрат- та нітрит-іонів [452, 508].

У той же час рядом авторів показано, що один із продуктів перетворення NO нітрит-іон може доволі ефективно (особливо за умов дефіциту кисню) знов перетворюватись у NO [121, 461]. У зв'язку з цим, нітрити називають основним внутрішньосудинним сховищем NO [169, 173, 174].

Після ураження щурів усіх вікових груп натрію нітритом відбувалося збільшення в органах вмісту нітрит-аніону, який утворюється шляхом відновлення нітритів у редуктазних реакціях. Найбільш чутливими до дії токсиканта були статевонезрілі щури, у печінці яких даний показник зазнав вірогідного збільшення, у міокарді в 1,4 раза перевищував норму, у легенях в 1,8 раза виявився вище рівня контрольних тварин ( $p \leq 0,05$ ).

Доцільним було визначити вміст нітрит-іону в організмі щурів після тютюнової інтоксикації. Виражене збільшення ( $p \leq 0,05$ ) вмісту нітрит-іону

було у міокарді, легенях і нирках статевонезрілих щурів у кінці експерименту (на 45 день отруєння тютюновим димом).

У сироватці крові статевонезрілих щурів після ураження обома токсикантами в останній термін дослідження вміст нітрит-іону підвищився у 2,3 рази, що може зумовити значне утворення ендogenous нітроген оксиду та розвиток нітрооксидативного стресу. Інтотоксикація натрію нітритом та тютюновим димом викликала вірогідне збільшення вмісту нітрит-іону в міокарді щурів старечого віку, у легенях та нирках статевонезрілих щурів.

Оскільки нітрит-іон та нітрат-іон є стабільними метаболітами нітроген оксиду, за їх кількістю можна робити висновок про утворення цієї поліфункціональної біорегуляторної молекули. Саме утворення NO розглядається як провідний ланцюг патогенезу гострої та хронічної інтоксикації солями нітратної та нітритної кислот, які є одними з найрозповсюдженіших забруднювачів довкілля. Проте досі залишається невизначеною роль у цьому процесі NO, що утворюється *de novo* NO-синтазами, та високоактивного метаболіту NO – пероксинітриту [185, 250, 307].

NO-синтазний механізм утворення NO – це синтез NO у присутності кисню. При патологічних процесах, які протікають на тлі гіпоксії або ішемії, активність NO-синтазного механізму може знижувати та підвищувати активність нітритредуктазних систем [324, 359].

У наших експериментах ми дослідили активність eNOS за умов ураження кожним токсикантом окремо та при їх одночасному потраплянні до організму щурів.

Визначення активності eNOS у сироватці крові статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом, показало вірогідне зниження її в обидва терміни дослідження. У двох інших вікових групах спостерігалась тенденція до зниження даного показника. У печінці щурів усіх вікових груп впродовж експерименту вірогідно знижувалась активність eNOS і найменшого значення досягла через 72 год після ураження натрію нітритом.

Результати досліджень, проведених нами, показали, що зниження активності eNOS залежало від тривалості дії тютюнового диму. У статевонезрілих щурів активність ензиму в сироватці крові прогресуюче знижувалась і досягла в останній термін дослідження 49 % щодо контролю. Аналогічне зниження відмічено у печінці даної групи тварин – до кінця експерименту активність eNOS в органі знизилась на 77 %. У групах статовозрілих та старечого віку щурів зниження даного ензиму як у сироватці крові, так і в печінці, було менш вираженим після дії тютюнового диму.

Ураження тварин натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації поглибило розвиток нітрооксидативного стресу в організмі, що проявилось більш вираженим зниженням активності eNOS та значним підвищенням індукцибельної її форми. Найбільш чутливими до токсикантів були статевонезрілі щури, у яких активність eNOS в останній термін експерименту знизилась у сироватці крові на 56 %, у печінці – в 5,1 раза щодо групи інтактного контролю.

Нами проведений кореляційний аналіз між активністю eNOS та вмістом АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів різного віку за умов одночасного ураження натрію нітритом та тютюновим димом. Встановлено, що між даними показниками існує зворотній негативний зв'язок, на що вказує коефіцієнт кореляції середньої сили  $|$  від  $r = - 0,37$  до  $r = - 0,49$  в залежності від віку  $|$ .

За дії токсикантів окремо (натрію нітриту та тютюнового диму) вірогідно підвищувалась активність iNOS. У цих експериментах даний показник підвищувався найбільше у сироватці крові та печінці статевонезрілих щурів.

Відмічено, що після ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації у сироватці крові прогресуюче зростала активність iNOS у всіх вікових групах. Найактивнішою була iNOS у сироватці крові статевонезрілих щурів, яка до кінця експерименту підвищилась у 3,3 раза після ураження

токсикантами. Аналогічне підвищення активності ензиму (в 4,3 раза) було в печінці статевонезрілих тварин ( $p \leq 0,05$ ).

За умов нітритно-тютюнового токсикозу встановлена позитивна прямопропорційна кореляція середньої сили між активністю iNOS та АФО, що продукуються нейтрофільними гранулоцитами крові в усіх вікових групах щурів. Найбільш виражені зміни встановлені у статевонезрілих щурів, у яких коефіцієнт кореляції був найвищим  $|r = 0,64|$  між активністю ензиму та АФО, що були досліджені в нейтрофільних гранулоцитах крові. У двох інших вікових групах кореляційний зв'язок був дещо слабшим, хоча спостерігалась однапрямлена залежність між показниками (збільшення вмісту АФО призводило до підвищення активності iNOS).

З літератури відомо, що індукцйбельна NOS з'являється у клітинах тільки після індукції їх бактеріальними ендотоксинами та деякими медіаторами запалення. Цей процес може провокуватися бактеріальними ліпополісахаридами, деякими ендотоксинами та цитокінами, такими як інтерлейкін-1, -2, 6,  $\gamma$ -інтерферон, фактор некрозу пухлин та ін. [189, 387]. Такі дані підтверджені нашими результатами з вивчення вмісту цитокінів після ураження щурів натрію нітритом і тютюновим димом.

Отже, отримані нами результати досліджень, дозволяють стверджувати, що ураження щурів різного віку натрію нітритом і тютюновим димом зумовлює розвиток в організмі оксидативного та нітрооксидативного стресів, які поглиблюються за умов одночасного використання токсикантів. Найбільш чутливими до дії використаних ксенобіотиків виявились статевонезрілі щури.

Узагальнюючи дані літератури та отримані нами результати, можна запропонувати схему розвитку нітритно-тютюнового токсикозу, яка наведена нижче (рис. 6.1).

Із схеми випливає, що отруєння щурів натрію нітритом на тлі хронічної тютюнової інтоксикації супроводжувалося гіперпродукцією агресивних АФО в ураженому організмі, що призводило до розвитку оксидативного стресу. На це вказує інтенсифікація процесів ліпопероксидації та окиснювальної

модифікації протеїнів після ураження та зниження активності компонентів антиоксидантної системи.



Рис. 6.1. Схема розвитку нітритно-тютюнового токсикозу

Натрію нітрит викликає посилене метгемоглобіноутворення, яке проходить за вільнорадикальним механізмом. Первинною реакцією тютюнового диму на організм є утворення карбоксигемоглобіну. Обидва похідних гемоглобіну не спроможні транспортувати кисень до органів і тканин. Отже, за нітритно-тютюнового токсикозу розвивалася тканинна гіпоксія, що підтверджено зниженням активності мітохондріальних ензимів, результатом чого є пригнічення процесів утворення енергії. Вищезазвані фактори викликали деструкцію плазматичних та цитоплазматичних мембран і зміну їх проникності. При цьому відмічено підвищення активності органоспецифічних ензимів у сироватці крові та зниження їх у органах тварин. Виявлені порушення супроводжувалися синдромом ендогенної інтоксикації, яка обумовлена нагромадженням в організмі продуктів деградації ліпідних та протеїнових молекул, зокрема МСМ. Значна кількість ендогенних токсинів, а також екзогенних, які потрапляли до організму з тютюновим димом,

призводила до активації запальних процесів. За умов нітритно-тютюнового токсикозу відмічався дисбаланс у вмісті про- та протизапальних цитокінів. Тривала гіпоксія, викликана натрію нітритомі тютюновим димом, зумовлювала посилене утворення нітроген оксиду під дією індукцйбельної NO-синтази, яка активується за патологічних станів. В ураженому організмі виникав нітрооксидативний стрес, підтверджений пригніченням активності ендотеліальної NO-синтази та нагромадженням нітрит-іону в органах тварин.

Таким чином, підводячи підсумок із запропонованої схеми розвитку нітритно-тютюнового токсикозу, можна стверджувати, що первинною реакцією на потрапляння цих токсикантів в організм є активація вільнорадикальних окиснювальних процесів, які призводять до розвитку оксидативного та нітрооксидативного стресів, поглиблення ендогенної інтоксикації та запальних процесів, порушення енергозабезпечення та змін у захисних системах організму.

Виходячи з отриманих результатів та механізмів розвитку метаболічних порушень в організмі токсикованих димом та отруєних натрію нітритом тварин, виникла проблема їх корекції. Одним із ключових механізмів розвитку порушень за даних умов є активація окиснювальних процесів та виникнення тканинної гіпоксії. Зрозумілим стає використання середників, які б пригнічували активовані вільнорадикальні процеси та відновлювали процеси енергозабезпечення в організмі.

Незважаючи на наявність великої кількості лікарських засобів, що використовуються для корекції гіпоксичних станів, одними з найбільш актуальних є препарати, які здатні за допомогою різних механізмів усувати енергетичний дефіцит, захищати клітини на зворотній стадії від пошкодження та активувати становлення структури та функції, тобто антигіпоксанти. Вони поєднують у собі властивості мембраностабілізатора та антиоксиданта, адже дефіцит енергії спричиняє різноманітні метаболічні порушення, у тому числі активує вільнорадикальне окиснення в клітині [70, 71].

Нашу увагу привернув мілдронат – препарат метаболічної дії, який проявляє антигіпоксичну, кардіопротекторну та ангіопротекторну дії [25, 32, 38, 69, 220], що є доцільним при використанні за умов розвитку як гемічної, так і циркуляторної гіпоксії.

Враховуючи, що при дії токсичних чинників на організм утворюється велика кількість ендогенних токсинів, які потрапляють у кров, не викликає сумнівів застосування за таких отруень ентеросорбентів, що підтвержено цілим рядом клінічних та експериментальних досліджень [94, 102, 130, 147]. Однак, питання ефективності та доцільності застосування сорбційних середників з метою зменшення проявів синдрому ендогенної інтоксикації, зумовленої одночасним впливом натрію нітритом та тютюновим димом практично не доведена. На особливу увагу заслуговує вуглецевий ентеросорбент IV покоління карболайн, що складається з вуглецевих волокон АУТ-М з питомою поверхнею пор близько 2000–2500 м<sup>2</sup>/г [8, 83, 94], який був використаний нами в експериментах.

Результати проведеного дослідження свідчать, що змодельована патологія в організмі тварин призводить до оксидативного стресу. Це підтверджено підвищенням у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів усіх вікових груп вмісту АФО впродовж усього експерименту. Найбільш значуще підвищення спостерігали у нейтрофільних гранулоцитах крові статевонезрілих щурів після ураження обома токсикантами. Застосування мілдронату призвело до вірогідного зниження ( $p \leq 0,05$ ) вмісту АФО у клітинах крові щурів усіх вікових груп. В ураженому організмі карболайн призвів до зниження вмісту АФО, але вірогідних змін після його застосування не відмічали.

Нами встановлено, що після одночасного ураження щурів усіх вікових груп ТД та НН у сироватці крові активувались процеси ПОЛ, на що вказувало підвищення вмісту ТБК-АП у досліджуваних тканинах, який більш виражений характер носив у статевонезрілих тварин. Ми відмітили, що після ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації відбувалися процеси

модифікації протеїнових молекул, які призводять до нагромадження у сироватці крові та органах тварин альдегідо- та кетопохідних цих сполук. Найбільший вміст їх зареєстровано в органах статевонезрілих тварин.

Застосування мілдронату призвело до пригнічення вільнорадикальних процесів в організмі щурів усіх вікових груп, на що вказувало вірогідне зниження вмісту продуктів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів у сироватці крові, легенях і міокарді тварин після одночасного ураження токсикантами. Ентеросорбент карболайн виявився менш ефективним щодо даних показників.

Очевидно, мілдронат зменшує інтенсивність перекисного окислення ліпідів та окисної модифікації протеїнів шляхом підвищення активності ендогенних антиоксидантів, нівелюючи наслідки оксидативного стресу. Скоріш за все, він є опосередкованим індуктором покращення функціонування системи NO за рахунок впливу на процеси оксидативного стресу.

Активація процесів вільнорадикального окиснення при отруєнні  $\text{NaNO}_2$  та тютюновим димом носить дещо різнонапрямлений характер. При потраплянні  $\text{NaNO}_2$  у кров відбувається взаємодія окси-форми Hb з нітрит-іоном. Реакція носить ланцюговий характер і веде до утворення радикальних метаболітів [73, 76, 77, 79]. Ці метаболіти є активними окиснювачами біологічних субстратів, здійснюють виражену токсичну дію, ініціюють процеси ПОЛ та ОМП. Всі утворені радикальні метаболіти здійснюють окиснювальну дію, взаємодіючи з SH-групами протеїнів, відновними формами коензимів, поліненасиченими сполуками. Іон-нітриту окиснює ферум в молекулі гемоглобіну, переводячи його з двоатомного в триатомний. Утворений MetHb не може здійснювати зворотнє зв'язування кисню [84, 88, 91].

Потрапляння в організм натрію нітриту призводило до значного зростання вмісту MetHb в крові, що може бути наслідком, з одного боку, взаємодії нітрит-іону з оксигемоглобіном, а з другого, пов'язане з недостатністю НАДН- та НАДФН-метгемоглобінредуктаз, які здійснюють



відновлення MetHb до Hb. Таким чином, при потраплянні в організм  $\text{NaNO}_2$  утворювалась велика кількість MetHb, а метгемоглобіноутворення – це радикалоутворювальний процес. Утворені радикали кисню активують реакції ПОЛ та ОМП, збільшують ендогенне утворення пероксидів жирних кислот, блокують сульфгідрильні групи, пригнічують гліколіз, гальмують генерацію НАДН в НАДФН, необхідних для функціонування метгемоглобінредуктаз та інших важливих біологічних систем, пошкоджують систему глутатіону, руйнують антирадикальні механізми [85, 99].

Після ураження обома токсикантами найбільш чутливими виявились статевонезрілі щури, у яких вміст метгемоглобіну прогресуюче зростав і до кінця експерименту був найвищим. Щоденне введення упродовж 30-ти діб як мілдронату, так і карболайну проявило позитивний вплив на процеси метгемоглобіноутворення в організмі щурів усіх вікових груп. Вміст метгемоглобіну вірогідно знижувався під дією коригувальних чинників.

У літературі є дані, які показують, що оксид карбону, або чадний газ, що міститься у тютюновому димі, має властивість зв'язувати гемоглобін. Утворений при цьому карбоксигемоглобін не здатний переносити кисень, в результаті чого порушуються процеси тканинного дихання [205, 338].

У наших дослідженнях ми вивчили вміст карбоксигемоглобіну в крові токсикованих тютюновим димом щурів різного віку та після ураження їх натрію нітритом, а також при застосуванні антигіпоксанта мілдронату та ентеросорбента карболайну. До кінця експерименту найбільший вміст карбоксигемоглобіну зареєстровано у крові статевонезрілих щурів, який у 3 рази перевищував норму. Мілдронат позитивно вплинув на даний показник, знижуючи його в усіх вікових групах. Після застосування карболайну спостерігали тенденцію до зниження вмісту карбоксигемоглобіну.

Очевидно, такий вплив мілдронату на вміст похідних гемоглобіну пов'язаний із його антиоксидантними властивостями.

Беленічев І.Ф. та співавт. [17] показали, що захист від ендогенних АФО заснований на ефективній елімінації первинних АФО. У цих процесах

приймають участь ензими супероксиддисмутаза, каталаза та пероксидази. Оскільки СОД утилізує АФО з утворенням  $H_2O_2$ , важливим для життєздатності клітини є встановлення балансу між активністю СОД та ензимами, які окислюють  $H_2O_2$ . Оскільки в цитозолі основною мішенню для АФО є протеїни, важливу роль у їх захисті від ендогенних АФО відіграють глутатіон відновлений та цистеїн. SH-групи цих речовин окислюються набагато легше, ніж SH-групи протеїнових молекул, захищаючи тим самим останні від ушкоджувальної окисної модифікації.

Після ураження токсикованих димом щурів різного віку натрію нітритом ми відмітили пригнічення активності антиоксидантної системи, яке проявилось зниженням супероксиддисмутазної та каталазної активностей у сироватці крові та органах щурів, а також вмісту відновленого глутатіону. Найбільш виражені зміни спостерігали у статевонезрілих тварин. Порушення у функціонуванні антиоксидантної системи проявляються уже на перших етапах активації вільнорадикальних процесів (зниження супероксиддисмутазної активності) і тривають у термінальній стадії цього процесу (зниження каталазної активності).

На нашу думку, одночасне отруєння обома токсикантами призводить до виснаження захисно-компенсаторних сил організму, що проявлялося зниженням активності антиоксидантних ензимів. Відомо, що як натрію нітрит [197, 201, 212, 271, 317], так і тютюновий дим і продукти його метаболізму [385, 389, 405, 408, 409] можуть проявити токсичний вплив на печінку. Звідси, після її ушкодження пригнічується протеїнсинтезувальна функція, що призводить до зниження активності протеїнів-ензимів та продуктів протеїнового походження.

Препарат метаболічної дії мілдронат після потрапляння в уражений організм викликав вірогідне підвищення активності антиоксидантних ензимів, яке найбільше проявилось в органах статевонезрілих тварин. Карболайн виявився менш ефективним, підвищуючи незначно активність ензимів тільки на деяких етапах дослідження.

За умов ураження натрію нітритом і тютюновим димом встановлено підвищення вмісту церулоплазміну в сироватці крові щурів усіх вікових груп. Відомо, що церулоплазмін синтезується мембранозв'язаними полісомами гепатоцитів [79, 82, 100]. Можливо, збільшення вмісту ензиму пов'язане зі зміною його катаболізму.

Застосований нами мілдронат виявився ефективним стосовно даного показника, при застосуванні карболайну спостерігали тенденцію до зниження вмісту ЦП у сироватці крові щурів усіх вікових груп.

Отже, отримані нами результати з вивчення показників антиоксидантної системи, дозволяють прийти до висновку, що ефективним за умов змодельованої патології є препарат метаболічної дії мілдронат, який підвищує активність її ензимної ланки, очевидно, взявши на себе функцію ендогенних антиоксидантів і захищаючи їх від перевитрачання. У цей час ендогенні антиоксиданти мають можливість синтезуватись *de novo* та відновити свою активність.

Порушення метаболізму – один із найбільш характерних проявів гіпоксії, яка має місце за дослідної патології. Необоротні порушення в структурі та функціонуванні мітохондрій, спричинені дією надмірних кількостей АФО, зумовлюють зсув енергетичного метаболізму в бік зростання інтенсивності гліколізу та пригнічення окисного фосфорилування [370, 390, 424, 427].

Важливими ензимами-маркерами, які використовують для оцінки енергетичного обміну та перебігу гіпоксії, є сукцинатдегідрогеназа і цитохромоксидаза [49], активність яких ми визначали в печінці, легенях та міокарді щурів після їх ураження ТД і НН, а також після застосування мілдронату та карболайну.

Результати наших досліджень узгоджуються з іншими авторами [61, 338, 390, 458], які показали, що за умов ураження тютюновим димом відмічаються порушення в процесах енергозабезпечення, що призводить до

порушення транспорту електронів у дихальному ланцюгу та пригнічення синтезу АТФ.

Очевидно, що мілдронат, як вказується у науковій літературі [321, 335, 484], оптимізує синтез АТФ у мітохондріях, покращує метаболізм тканин, зменшує потребу їх у кисні та підвищує стійкість до кисневої недостатності. Наявні на сьогодні експериментальні та клінічні дані свідчать про універсальну здатність мілдронату справляти оптимізуєчий вплив на енергетичний обмін, зменшуючи потребу тканин в кисні, незалежно від її виду та локалізації. Саме це визначає показання та можливості використання препарату для корекції метаболічних змін при патологіях, які супроводжуються явищами гіпоксії, активацією вільнорадикальних процесів, і дозволяє назвати препарат перспективним лікарським засобом з метою широкого впровадження його в медичну практику.

Активация вільнорадикальних процесів, порушення балансу в про- та антиоксидантній системі, в процесах енергозабезпечення та розвиток гіпоксичного стану за умов змодельованої патології призводили до накопичення токсичних продуктів в організмі, які чинили деструктивний вплив на клітинні мембрани. Підтвердженням цьому є досліджені нами еритроцитарний індекс інтоксикації та активності органоспецифічних ензимів.

При поглибленні гіпоксії єдиним можливим механізмом синтезу АТФ залишається анаеробний гліколіз з утворенням АТФ і лактату. Під дією лактатдегідрогенази молочна кислота може окислюватися знову, утворюючи піруват, який бере участь у подальших перетвореннях. Надлишок молочної кислоти формує лактат-ацидоз, що приводить до роз'єднання окисного фосфорилування та тканинного дихання [393].

За умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації доцільним було дослідити активність лактатдегідрогенази. Ензим існує у вигляді ізоформ, кожна з якої має певну локалізацію, тому збільшення його активності, відмічене нами після ураження

у сироватці крові щурів усіх вікових груп, свідчило про розвиток цитолітичного синдрому в організмі.

Аналогічне збільшення у сироватці крові щурів після ураження токсикантами відмічено для індикаторних ензимів – АСТ, АЛТ та ГГТП.

Підвищення органоспецифічних ензимів у сироватці крові зумовлене зниженням їх в органах щурів після ураження натрію нітритом і тютюновим димом. Найбільш виразні зміни активності ензимів відмічено при одночасному отруєнні вищеназваними токсикантами, що підтверджує адитивний ефект їх впливу на організм.

Отримані нами результати з вивчення ЛДГ, АСТ, АЛТ та ГГТП дозволяють стверджувати, що за даних умов отруєння проходить цитоліз плазматичних мембран клітин, зміна їх проникності, що зумовлює вихід внутрішньоклітинних компонентів у кров. На це вказувало і збільшення проникності еритроцитарної мембрани за дії токсикантів на організм. У статевонезрілих та старечого віку щурів цитолітичний синдром носив більш виражений характер. При застосуванні антигіпоксанта та ентрсорбента відмічено, що мілдронат ефективніше знижував активність індикаторних ензимів у сироватці крові та підвищував їх в органах щурів впродовж усього експерименту.

З літератури відомо, що виражені розлади метаболізму, накопичення недоокислених токсичних продуктів та активація процесів перекисного окислення ліпідів, призводять до активації мембранодеструктивних процесів, зростання ендотоксикозу та виникнення поліорганної недостатності [25, 374, 476], що підтверджено і нашими дослідженнями за умов нітритно-тютюнового токсикозу.

Наступним етапом наших досліджень було встановити рівень ендогенної інтоксикації в ураженому обома токсикантами організмі, маркерами якої є молекули середньої маси та вплив на них мілдронату та карболайну.

У сироватці крові статевонезрілих щурів відмічалось найбільше нагромадження МСМ обох фракцій (з переважанням ланцюгових та ароматичних амінокислот), що свідчило про глибоку інтоксикацію тварин даної вікової групи. Очевидно, ураження щурів обома токсикантами пов'язане з токсичною дією не тільки натрію нітриту, але і тютюновим димом, вміст нітратів у якому корелює з утворенням неспецифічних летючих нітрозамінів (наприклад, N-нітрозодіметіламін, N-нітрузо-діетиламін і т.д.) які можуть проявляти канцерогенний вплив на організм.

Препарат мілдронат практично не впливав на даний показник в організмі уражених щурів. Ефективний вплив проявив карболайн на вміст молекул середньої маси у сироватці крові щурів усіх вікових груп, що зумовлено його сорбтивними властивостями.

Слід відзначити, що карболайн сорбує деякі продукти обміну речовин в організмі, в тому числі надлишок жовчних кислот, білірубину, сечовини, холестеролу та ліпідних комплексів, а також метаболіти, відповідальні за розвиток ендогенного токсикозу [8, 84, 95, 103]. Щодо фармакокінетичних особливостей препарату, то карболайн не розщеплюється та не всмоктується в шлунково–кишковому тракті, тому виділяється в незміненому вигляді. Очевидно, такі його властивості зумовили більший виражений вплив, ніж мілдронату, на вміст МСМ.

Відомо, що куріння сигарет, головний причинний фактор розвитку запальних процесів у дихальних шляхах із подальшим поширенням запалення у всьому організмі [22, 51, 56, 65, 186]. У літературі є повідомлення про те, що ТД може призвести до розвитку запалення за допомогою індукції прозапальних цитокінів. Вплив ТД (особливо ультрадисперсних частинок фракції), як відомо, може активувати циркулюючі імуніцити в легенях, які потім вивільняють прозапальні цитокіни [141, 163].

Запалення розвивається у відповідь на пошкодження та проникнення у тканини патогенів при участі прозапальних цитокінів, до яких відносяться: ІЛ-1, TNF- $\alpha$ , ІЛ-6, ІЛ-8, хемокіни. У разі порушень місцевих захисних реакцій

запальна реакція поширюється, синтез цитокінів збільшується, вони попадають до кровотоку та проявляють свою дію вже на системному рівні. У цьому випадку прозапальні цитокіни впливають практично на всі органи та системи організму [190, 283, 307, 312].

Відомо, що цитокіни втягуються у запальний процес на рівні імунних механізмів і ефекторної ланки, запускаючи послідовний ланцюг реакцій, що проявляється у порушенні мікроциркуляції, виникненні гіпоксії, ушкодженні метаболічної функції органів [390, 467, 478].

Маркером ранньої діагностики та моніторингу запального захворювання є С-реактивний протеїн – високочутливий, але неспецифічний гострофазовий показник, який продукується у відповідь на більшість форм тканинного ушкодження, інфекцію чи запалення.

Ми дослідили вміст СРП у сироватці крові щурів різних вікових груп, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Найвищий вміст даного показника зареєстровано у сироватці крові старечого віку щурів, у яких до кінця експерименту він підвищився у 3,3 раза. Найменше після ураження підвищувався вміст С-РП у сироватці крові статевозрілих щурів. Введення в уражений обома токсикантами організм мілдронату призвело до вираженого зниження вмісту даного показника, що може бути зумовлено його опосередкованим впливом на запальні процеси (через прояв його антигіпоксантичних та антиоксидантних властивостей). Карболайн ефективного впливу на даний показник не проявив.

З огляду наукової літератури відомо, що синтез і секреція СРП здійснюється в печінці та регулюється прозапальними цитокінами, у першу чергу ІЛ-6, проте може продукуватися макрофагами, лімфоцитами. Необхідно відмітити, що пік концентрації СРП корелює з максимальним збільшенням концентрації ІЛ-6 [201, 217, 482, 493, 505].

Дослідження вмісту прозапального цитокіну показало, що найвищий вміст ІЛ-6 впродовж експерименту спостерігався у сироватці крові статевонезрілих щурів, отруєних натрію нітритом на тлі тютюнової

інтоксикації. Впродовж усього дослідження спостерігався виражений вплив мілдронату на вміст даного показника у сироватці крові. Ефективність карболайну проявилася тільки у кінці експерименту для статевозрілих та старечого віку щурів.

Багатьма дослідженнями доведено, що при токсичних ураженнях виникає дисбаланс про- і протизапальних цитокінів [242, 270, 285, 289, 295, 356], що і спонукало нас дослідити вміст протизапальних цитокінів, зокрема ІЛ-4, у сироватці крові усіх дослідних груп тварин.

Цей інтерлейкін – найважливіший протизапальний цитокін, який пригнічує індуковану активність лімфоки активованих моноцитів і кілерних клітин, інгібує ІЛ-8 і ряд інших цитокінів [154].

Нами встановлено, що вміст протизапального цитокіну ІЛ-4 у сироватці крові щурів усіх вікових груп прогресуюче однаково знижувався впродовж експерименту в щурів усіх вікових груп, одночасно отруєних натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Після застосування мілдронату вміст даного показника вірогідно підвищувався в усіх вікових групах. Найбільшу ефективність проявив досліджуваний антигіпоксанти при дослідженні активності протизапального цитокіну в статевонезрілих щурів. Карболайн не проявив позитивного впливу на даний показник у жоден термін дослідження.

Оксидативний стрес та нагромадження токсичних продуктів екзо- та ендогенного походження в організмі щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, призводили до розвитку запальних процесів з їх поглибленням у залежності від тривалості експерименту. Це підтверджено дисбалансом про- та протизапальних цитокінів та збільшенням у сироватці крові протеїну гострої фази – С-РП.

З оксидативним стресом, який посилюється під впливом тютюнопаління, тісно пов'язаний нітрооксидативний стрес. Він розвивається в результаті дії активних метаболітів нітроген оксиду та разом із оксидативним стресом призводить до пошкодження мембран клітин. Слід відзначити, що у високих концентраціях NO виявляє не регуляторну, а цитотоксичну дію, що



зумовлює прискорення прогресування запальних та автоімунних порушень [163, 170, 186, 251, 297]. При адаптації до гіпоксії в органах і тканинах проходять зміни експресії генів, які кодують різні форми NO-синтази, що веде до змін вмісту NO і NO-залежних реакцій.

Куріння сигарет є фактором ризику багатьох захворювань, в тому числі серцево-судинних, що в значній мірі пов'язано з ендотеліальною дисфункцією [453, 509, 512]. Важливим проявом ендотеліальної дисфункції є зменшення біодоступності NO, що, можливо, пов'язано зі зменшенням експресії або активності ендотеліальної NO синтази. Утворення ендотелієм NO з амінокислоти L-аргінін за допомогою eNOS може бути використано як індикатор ендотеліальної функції [453].

Тютюновий дим містить тисячі хімічних речовин, в тому числі карбону оксид, ціаністий гідроген, нітроген оксиди, альдегіди, N-нітрозаміни, поліароматичні гідрокарбонати. Тютюновий дим має більш високу концентрацію токсичних речовин, через більш низьку температуру згоряння, ніж сам тютюн. Наприклад у димі сигарет є в 5 разів більше акролеїну, ніж у самій сигареті. Акролеїн є ненасичений альдегід, який може відігравати певну роль в ослабленні ацетилхоліново-індукованої релаксації, що спостерігається за дії тютюнового диму на організм. Однак, численні інші компоненти, такі як насичені альдегіди, кетони та хінон можуть також призводити до ендотеліальної дисфункції, викликаній пасивним курінням [163, 186].

У той же час деякими авторами показано, що один із продуктів перетворення NO нітрит-іон може доволі ефективно (особливо за умов дефіциту кисню) знов перетворюватись у NO [122, 170].

На нашу думку, тютюновий дим є основним фактором у порушеннях функціонування NO-системи в організмі щурів за умов пасивного куріння та одночасного отруєння натрію нітритом.

Звідси, доцільним було дослідити вміст нітрит-іону в органах щурів після ураження токсикантами та активність eNOS та iNOS у сироватці крові та печінці уражених щурів. Встановлено, що одночасне ураження натрію

нітритом і тютюновим димом, призводило до значної активації процесів утворення нітрит-іону в організмі щурів різного віку. Найчутливішими до дії токсикантів виявився міокард щурів старечого віку, нирки та легені статевонезрілих тварин, у яких вміст нітрит-іону вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) перевищував норму упродовж усіх термінів дослідження. Більшу ефективність на даний показник проявив мілдронат, карболайн призвів до незначного зниження вмісту нітрит-іону в органах щурів, що свідчило про опосередкований вплив на процес його утворення.

В експерименті та клініці показано, що мілдронат (мельдоній) здатний позитивно впливати на дисфункцію ендотелію і, відповідно, сприяти нормалізації судинного тону. Розглядається й інший механізм підвищення біодоступності нітроген оксиду на фоні застосування мілдронату — зменшення інтенсивності його вільнорадикальної інактивації [76, 99].

У наших експериментах відмічено, що після ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації у сироватці крові різко зростала активність iNOS у всіх вікових групах. Найактивнішою була iNOS у сироватці крові статевонезрілих щурів, яка до кінця експерименту підвищилась у 3,3 раза після ураження токсикантами. Застосування мілдронату призвело до вірогідного зниження активності iNOS упродовж експерименту в сироватці крові щурів усіх вікових груп. Після введення в уражений організм карболайну у сироватці крові всіх груп тварин спостерігали тенденцію до зниження активності ензиму. Аналогічні зміни відмічені в печінці дослідних тварин.

Очевидно, саме активацією iNO-синтази можна пояснити отримані нами результати, які свідчать про достовірне збільшення рівня метаболітів нітроген оксиду, зокрема нітрит-іону, в сироватці крові та органах щурів після ураження.

При різних патологічних станах дисфункція ендотелію значною мірою пов'язана з абсолютним або відносним дефіцитом ендотеліального нітроген оксиду, який може бути зумовлений зниженням активності eNO-синтази,

інактивацією NO вільними радикалами, нестачею субстратів чи коензимів для синтезу NO [509].

Дослідження активності eNO-синтази у сироватці крові щурів різного віку після ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації показало її вірогідне зниження впродовж усього експерименту, яке найбільш виражене у статевонезрілих тварин. Аналогічне зниження активності ензиму відмічено у печінці дослідних тварин. Упродовж усього дослідження відмічено позитивний вплив мілдронату на активність eNO-синтази. Ефективність застосування карболайну проявилася у кінці дослідження.

Отже, отримані результати дозволяють стверджувати, що отруєння щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації призводило до порушення балансу у функціонуванні NO-системи. Це проявляється значною активацією iNOS та пригнічення конститутивної форми eNOS, внаслідок чого в організмі розвивався нітрооксидативний стрес, що зумовлює тяжкість перебігу патологічного процесу.

Мілдронат значно зменшував ендотеліальну дисфункцію, про що свідчать зміни в системі NO. Скоріше за все, на нашу думку, препарат є опосередкованим індуктором покращення функціонування системи NO за рахунок впливу на процеси оксидативного стресу.

Для підтвердження отриманих результатів, нами проведені морфологічні дослідження органів щурів різних вікових груп після ураження їх натрію нітритом та впливу на них препарата метаболічної дії мілдронату та ентеросорбента карболайну.

Встановлено, що структурна реорганізація легень, печінки, нирки, серця тварин усіх вікових груп після ураження токсикантами характеризується змінами судинного русла, основних морфофункціональних компонентів (ацинусів, гепатоцитів часточок, нефронів та м'язових волокон міокарда). Найбільші зміни відбуваються у легенях старечого віку та статевонезрілих тварин. Після застосування карболайну та мілдронату структурні зміни в органах тварин були менш вираженими, особливо у статовозрілих щурів.

Мілдронат більш ефективно, ніж карболайн, покращував стан судинної системи органів, сприяв нормалізації будови респіраторного відділу легень, часточок печінки, нефронів нирки, м'язових волокон міокарда.

Враховуючи, що за умов нітритно-тютюнового токсикозу першочергова роль належить активації вільнорадикальних процесів, які зумовлюють виникнення оксидативного та нітрооксидативного стресів, розвиток гіпоксичного стану з порушенням процесів енергозабезпечення, цитолітичного синдрому та нагромадження ендогенних токсинів з подальшим розвитком запалення в організмі, можна вважати, що запропоновані нами середники, запобігатимуть розвитку гіпоксії, деструктивних процесів, покращать функціональний стан антиоксидантної системи та знизять прояви запального процесу після ураження. Усе вищезазначене призведе до нормалізації гомеостазу всього організму.

У даній роботі вивчено вплив натрію нітриту на тлі 45-добової інтоксикації тютюновим димом на організм тварин різного віку. Відмічено, що після ураження щурів упродовж всього експерименту проходить гіперпродукування активних форм кисню, що обумовлює активацію процесів вільнорадикального окиснення (посилюються процеси ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів) в організмі тварин. Поряд з цим в організмі розвивається гіпоксичний стан, зумовлений посиленням утворення мет- та карбоксигемоглобіну під впливом токсичних чинників. Утворені токсичні продукти викликають деструкцію біомембран та вихід внутрішньоклітинних компонентів у кров. При цьому активуються кислі гідролази, які викликають деградацію протеїнових та ліпідних компонентів. В організмі нагромаджуються вторинні ендогенні токсини. На ступінь ендогенної інтоксикації вказують молекули середньої маси, вміст яких значно зростає у сироватці крові щурів усіх вікових груп після ураження.

Ендогенна інтоксикація призводить до змін в антиоксидантній системі захисту, зокрема знижується активність ензимної ланки антиоксидантної

системи та зазнає змін неензимний компонент глутатіонової системи – відновлений глутатіон.

Виявлені зміни в мітохондріальній системі окиснення, зокрема зниження сукцинатдегідрогеназної та цитохромоксидазної активності, призводять до зниження синтезу АТФ в організмі. Нагромадження проміжних токсичних продуктів знешкодження натрію нітриту та компонентів тютюнового диму, а також продуктів вільнорадикального окиснення супроводжувалося розвитком запальних процесів, про що свідчив дисбаланс про- та протизапальних цитокінів та вміст С-реактивного протеїну – маркера ранньої діагностики запалення.

На тлі розвитку оксидативного стресу під дією токсикантів відмічено порушення у функціонуванні NO-системи та виникнення нітрооксидативного стресу, який проявляється підвищенням активності індукцибельної NO-синтази та зниженням активності ендотеліальної її ізоформи.

Виявлені порушення викликають важку інтоксикацію організму, що потребує додаткового введення коригувальних чинників.

Отже, враховуючи дані літератури та отримані нами результати, можна запропонувати використання препарату метаболічної дії мілдронату, який проявляє антигіпоксанти та антиоксидантні властивості, ентеросорбента карболайну для корекції метаболічних порушень, викликаних нітратними сполуками, а також токсичними компонентами тютюнового диму та включити їх в комплексну терапію за умов нітритно-тютюнового токсикозу.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вперше наведено теоретичне узагальнення та нове розв'язання наукової проблеми, що полягає у визначенні вікових особливостей метаболічних порушень у щурів за умов токсичного ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Це наукове завдання розв'язане шляхом вивчення інтенсивності окиснювальних, енергозабезпечувальних і мембранодеструктивних процесів, функціонування ендогенної NO-системи та розвитку запалення у щурів різних вікових періодів. Експериментально обґрунтовано застосування препарату метаболічної дії мілдронат і ентеросорбенту карболайн з метою корекції виявлених порушень досліджуваних процесів. За результатами проведеного дослідження зроблено такі наукові та прикладні висновки:

1. Ураження щурів усіх вікових груп окремо натрію нітритом і тютюновим димом спричинює в організмі щурів інтенсифікацію процесів вільнорадикального окиснення, що виявляється виникненням оксидативного та нітрооксидативного стресу, активацією процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, пригніченням антиоксидантної системи, активності процесів енергозабезпечення, формуванням ендогенної інтоксикації та підвищенням інтенсивності запальних процесів у організмі. Найчутливішими до дії обох токсикантів були статевонезрілі щури.

2. Одночасне ураження щурів натрію нітритом і тютюновим димом призводить до посилення генерації активних форм кисню нейтрофільними гранулоцитами крові. До кінця експерименту (45-та доба ураження тютюновим димом і 72 год отруєння натрію нітритом) у статевонезрілих щурів фіксували максимальне збільшення вмісту ТБК-активних продуктів у всіх органах (у печінці – у 3,3 раза, нирках – у 3,6 раза, легенях – у 4,3 раза, міокарді – у 6,0 рази), а також вміст 2,4-динітрофенілгідразонів нейтрального й основного характеру. У крові молодих тварин наприкінці експерименту вірогідно підвищувався (у 2,6 раза) вміст метгемоглобіну після ураження. Констатовано

зростання вмісту карбоксигемоглобіну (у статевонезрілих тварин – у 1,7 раза, статевозрілих – у 1,4 раза та у тварин старечого віку – у 1,6 раза), що призвело до розвитку тканинної гіпоксії.

3. Одночасний вплив натрію нітриту й тютюнового диму викликає глибокі порушення в антиоксидантній системі. Виявлено пригнічення супероксиддисмутазної активності в сироватці крові та печінці щурів усіх вікових груп (найвираженіше в сироватці крові статевонезрілих тварин – у 2,5 раза нижче рівня контрольних щурів). Реєстрували зниження ( $p \leq 0,05$ ) каталазної активності у сироватці крові, печінці, легенях, нирках і міокарді щурів різного віку протягом усього експерименту. До кінця експерименту прогресував вміст церулоплазміну в групі статевонезрілих щурів, наприкінці експерименту перевищивши рівень контрольних тварин у 2,4 раза. Наприкінці дослідження фіксували найнижчий вміст відновленого глутатіону в сироватці крові статевонезрілих тварин, який на 45 % був нижче рівня контрольних тварин. Вміст глутатіону знижувався в печінці, легенях, нирках та міокарді щурів усіх вікових груп, найбільше у статевонезрілих.

4. За одночасного ураження щурів різного віку натрію нітритом і тютюновим димом розвивається нітрооксидативний стрес, про що свідчить збільшення у всіх органах вмісту нітриту-іону протягом експерименту. У сироватці крові прогресувала активність індукцибельної NO-синтази у всіх вікових групах (у статевонезрілих щурів – у 3,3 раза, зрілих – у 1,7 раза, старечого віку – у 2,7 раза щодо контрольної групи), що спостерігали і в печінці уражених щурів. Протягом експерименту знижувалась активність ендотеліальної NO-синтази в сироватці крові та печінці щурів усіх вікових груп.

5. Після ураження натрію нітритом токсикованих протягом 45 діб тютюновим димом щурів різного віку в сироватці крові вірогідно підвищується активність ензимів – маркерів цитолізу, найбільше у статевонезрілих щурів. Активність аланінамінотрансферази у сироватці крові підвищилась у 7,7 раза ( $p \leq 0,05$ ), аспартатамінотрансферази у 5,0 раза ( $p \leq 0,05$ ), лактатдегідрогенази в 1,8 раза, гамма-глутамілтранспептидази – в 4,1 раза ( $p \leq 0,05$ ), лужної фосфатази

– в 3,6 раза. Відповідно в органах щурів різного віку вірогідно знижувалася активність цих ензимів, що свідчить про зміну проникності клітинних мембран. Вірогідно зростала проникність еритроцитарних мембран (після ураження токсикантами у статевонезрілих щурів на 55,6 % щодо рівня контрольної групи). В ураженому організмі нагромаджувалися вторинні ендogenousні токсини – молекули середньої маси, вміст яких у сироватці крові був найвищим наприкінці експерименту у статевонезрілих щурів.

6. Ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації призводить до пригнічення процесів енергозабезпечення, про що свідчить зниження сукцинатдегідрогеназної та цитохромоксидазної активності в печінці, легенях і міокарді тварин усіх вікових груп. Сукцинатдегідрогеназна активність у печінці статевонезрілих щурів знизилась у 2,2 раза після ураження, у легенях – у 2,1 раза. Найвираженіше зниження активності ензиму реєстрували в міокарді уражених щурів старечого віку (в 2,1 раза). У печінці статевонезрілих щурів до кінця експерименту цитохромоксидазна активність знизилась у 2,7 раза ( $p \leq 0,05$ ) порівняно з контрольною групою тварин. Найбільш чутливим до дії токсикантів був міокард щурів старечого віку, у якому активність ензиму до кінця експерименту була у 2,2 раза нижче контролю. У легенях статевонезрілих та щурів старечого віку цитохромоксидазна активність знизилася в 1,4 раза наприкінці експерименту.

7. В умовах одночасного ураження щурів натрію нітритом і тютюновим димом відбувається інтенсифікація запальних процесів, що підтверджується зростанням вмісту С-реактивного протеїну, який був найбільшим у сироватці крові щурів старечого віку (у 3,3 раза перевищив рівень контрольних тварин) наприкінці ураження. Виявлено дисбаланс у вмісті про- і протизапальних цитокінів за умов нітритно-тютюнового токсикозу у щурів усіх вікових груп. Упродовж експерименту вірогідно зростав вміст прозапального цитокіну ІІ-6, найбільше його значення зареєстровано в сироватці крові статевонезрілих щурів (у 4,6 раза більше від контролю) наприкінці дослідження (45 діб ураження тютюновим димом і 72 год від моменту отруєння натрію нітритом). Одночасно в



сироватці крові щурів знижувався вміст протизапального цитокіну ІЛ-4 (у статевонезрілих – у 2,2 раза, статевозрілих – у 1,7 раза та у щурів старечого віку – у 1,8 раза ( $p \leq 0,05$ ) щодо групи контролю).

8. Мілдронат позитивно впливає на процеси вільнорадикального окиснення, енергозабезпечення, деструктивні та запальні зміни, функціонування NO-системи в організмі щурів усіх вікових груп, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової інтоксикації, що зумовлюється його антиоксидантними й антигіпоксантиними властивостями.

9. У результаті застосування карболайну за умов одночасного ураження щурів натрію нітритом і тютюновим димом зменшуються прояви ендогенної інтоксикації, про що свідчить зниження вмісту молекул середньої маси у сироватці крові.

10. За умов нітритно-тютюнового токсикозу структурна організація легень, печінки, нирки, міокарда щурів характеризується змінами судинного русла, основних морфофункціональних компонентів (ацинусів, часточок гепатоцитів, нефронів і м'язових волокон міокарда). Найвираженіші зміни відбуваються у легнях статевонезрілих і старечого віку тварин. Після застосування карболайну та мілдронату структурні зміни в органах тварин були незначними, особливо у статевозрілих щурів. Мілдронат більш ефективно ніж карболайн поліпшував стан судинної системи органів, сприяв нормалізації будови респіраторного відділу легень, часточок печінки, нефронів нирки, м'язових волокон міокарда.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абдуллаев АА, Магомедова АД, Исламова УА, Умаханова ЗР. Эффективность мельдония в уменьшении электрической нестабильности сердца у пациентов с ишемическим инсультом. Рационал. Фармакотер. в кардиол. 2014;10(1):43-48.
2. Авдеев СН, Баймаканова ГЕ. С-реактивный белок – новый или старый маркер бронхолегочных инфекций. Атмосфера. Пульмонология и аллергология. 2008;4:26-32.
3. Акімов ОЄ, Костенко ВО. Вплив різних карбонових сорбентів на функціонування циклу оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2017;58(17):5-8.
4. Алибаева КМ, Бердиярова НА, Мухамеджанова НК, Маймакова АМ, Нурахова АД. Анализ количественного определения уровня С-реактивного белка и прокальцитонина у пациентов с инфекционной патологией. Вестник АГИУВ. 2015;1-2:36-40.
5. Алтынбаева ЕИ, Теплова СН. Маркеры повреждения клеток, цитокины и конечные стабильные метаболиты оксида азота в слюне у курящих пациентов при ранних стадиях хронической обструктивной болезни легких. Цитокины и воспаление. 2011;4:15-22.
6. Андрейчин СМ, Голомаша ТМ. Сучасні уявлення про метаболічну ендогенну інтоксикацію. Інфекційні хвороби. 2012;1(67):84-88.
7. Андрейчин СМ, Лотоцька СВ. Ефективність застосування ентеросорбенту «Карболайн» при лікуванні хворих на хронічне обструктивне захворювання легень. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(5):125-130. doi: 10.5281/zenodo.17463

8. Андрейчин СМ, Лотоцька СВ, Мерецький ВМ. Зміни показників цитокінової ланки імунітету у хворих на ХОЗЛ при застосуванні ентеросорбції. Інфекційні хвороби. 2015;3:44-47.

9. Андрейчин СМ, Лотоцька СВ. Зміни показників імунологічного статусу у хворих з ХОЗЛ різного віку при застосуванні ентеросорбції. Експериментальна і клінічна медицина. 2015;3:48-52.

10. Артеменко ВВ, Шабунова АА Курение или здоровье? Проблемы развития территории. 2010;6 (52):75-80.

11. Артюшкова ЕВ, Покровский МВ, Артюшкова ЕБ и др. Эндотелио и кардиопротективные эффекты мельдония и триметазидина при L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции в эксперименте. Курский науч.-практ. Вестник «Человек и его здоровье». 2010;3:5-10.

12. Баджинян СА. Влияние оксидативного стресса на организм человека. Медицинская наука Армении НАН РА т. LVI. 2016;2:12-20.

13. Балакіреєва ОМ, Бондар ТВ, Галіч ЮП. Рівень поширення і тенденції вживання тютюну, алкогольних напоїв, наркотичних речовин серед учнівської молоді України. Укр. ін-т соц. дослідж. ім. О. Яременка. Київ: Обнова. 2011. 176 с.

14. Бардахівська КІ, Гуріна НМ, Шаламай АС, Ніколаєв ВГ. Поглинальна активність засобів детоксикації щодо деяких основних протитуберкульозних препаратів. Український пульмонологічний журнал. 2009;2:70-72.

15. Бахарєв ВС, Корцова ОЛ, Жарікова МО, Гуцин ОВ. Шкідливі звички як чинник формування екологічної небезпеки імпаکتного рівня. Екологічна безпека. 2009;1(5):68-72.

16. Беленічев ІФ, Левицький ЕЛ, Губський ЮІ, Коваленко СІ, Марченко ОМ. Антиоксидантна система захисту організму. Сучасні проблеми токсикології. 2002;3:15-23.

17. Блюм НЕ, Антонов АР, Асадуллина РР. Особенности цитокинового баланса при хронической обструктивной болезни легких. Росс. мед. журн. 2006;14(22):34-39.

18. Боброва ИА. Энтеросорбенты вчера та сьогодні: аспекти застосування. Новости медицины и фармации. 2015;3:8-11.

19. Болдырев АА, Кяйвярйнен ЕИ, Илюха ВА. Биомембранология. Петрозаводск: Кар НЦ РАН; 2006. 226 с.

20. Буряк ВВ, Овская ЕГ, Насоненко АВ, Буханец ОА. Клинический опыт применения мельдония у больных ишемической болезнью сердца, ассоциированной с артериальной гипертензией. Молодий вчений. 2014;1(03):202-205.

21. Варунків ОІ, Малофій ЛС, Островський ММ, Дельцова ОІ, Савеліхіна ІО, Кулинич-Міськів МО, та ін. Вплив куріння на функціонування органів дихання та розвиток патології легень. Галицький лікарський вісник. 2012;19(2):146-151.

22. Вельков ВВ. Прокальцитонин и С-реактивный белок в современной лабораторной диагностике. Лабораторная диагностика. 2010;2(52):39-76.

23. Вёрткин АЛ, Ховасова НО. Коморбидность — новая патология. технологии её профилактики и лечения. Общее дело. 2013;4(12):68-72.

24. Виничук СМ, Мохнач ВА, Крылова ВЮ. Клинико-гемодинамические эффекты и антиоксидантная активность препарата милдронат в остром периоде ишемического инсульта. Клинічна медицина. 2006;11(2):85-91.

25. Виткина ТИ. Средние молекулы в оценке уровня эндогенной интоксикации при хроническом необструктивном бронхите. Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2014;56(2):70-72.

26. Волкова ЛИ, Тимофеева АВ С-реактивный белок как показатель системного воспаления у больных хронической обструктивной болезнью легких. Современные проблемы науки и образования. 2013;6:122-138.

27. Воробьева ЕА, Долотова НВ, Кочерова ОЮ. Особенности перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности у детей раннего возраста с задержкой нервно-психического развития и перинатального поражения ЦНС в анамнезе. Вестник новых медицинских технологий. 2011;18(1):49-51.

28. Гаїна ЖМ, Косуба РБ. Фактор статі при дослідженні впливу милдронату на функцію нирок. Буковин. мед. вісник. 2012;16(3): 77-79.

29. Гопций ЕВ, Железнякова НМ, Зеленая ИИ, Степанова ЕВ. Церулоплазмин как маркер системного воспаления у пациентов с коморбидностью хронической обструктивной болезни легких и хронического панкреатита. Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье: материалы XVII Всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей (с международным участием), Санкт-Петербург, 19 апреля 2014 г. СПб, 2014:157–158.

30. Горальський ЛП, Хомич ВТ, Кононський ОІ. Основи гістологічної техніки і морфологічні методи досліджень у нормі та при патології. Навчальний посібник. Видання третє, виправлене і доповнене. Житомир: «Полісся», 2015;286 с.

31. Гордеев ИГ, Лучинкина ЕЕ, Люсов ВА. Антиоксидантный эффект кардиопротектора милдроната у пациентов, подвергшихся коронарной реваскуляризации. Российский Кардиологический Журнал. 2009;1(75):31-37.

32. Гривенникова ВГ, Виноградов АД. Генерация активных форм кислорода митохондриями. Усп.биол.хим. 2013;53:245-296.

33. Грищук ЛА, Марущак МІ. Динаміка перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в щурів за умов гострого ураження легень. Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. 2011;2(05):16-20.

34. Гунчак ВМ. До токсикології нітратів і нітритів у тварин. Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. 2013;57(3):62-70.

35. Гуріна НМ, Бардахівська КІ. Ентеросорбенти як засіб детоксикації організму. Довкілля та здоров'я. 2007;42(3):64-66.
36. Дамбаева СВ, Мазуров ДВ, Пинегин БВ. Оценка продукции активных форм кислорода методом лазерной проточной цитометрии в клетках периферической крови человека. Иммунология. 2001;6:58-61.
37. Дзерве В, Кукулис И, Матисоне Д. Влияние милдроната на сократимость миокарда у больных с хронической сердечной недостаточностью: результаты клинического исследования. Мед. новости. 2007;6:80-84.
38. Дзускаева ЗО, Еналдиева РВ, Амбалова СА, Антониади ИВ, Айдарова ВА. Особенности синтеза оксида азота у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких. Кубанский научн. мед. вестн. 2015;152(3):27-31.
39. Долженко МН, Перепельченко НА, Поташев СВ, Соколова ЛК. Гиполипидемическая активность энтеросорбента энтеросгель у больных с ишемической болезнью сердца и сопутствующим сахарным диабетом II типа. Медицина неотложных состояний. 2006;3(4):15-23.
40. Домашенко МА, Максимова МЮ. Эффективность мельдония при хронических формах нарушений мозгового кровообращения. Медицинский совет. 2016;11:32-36. doi: 10.21518/2079-701X-2016-11-32-36.
41. Дубинина ЕЕ. Окислительный стресс и окислительная модификация белков. Med.chemistry 2001;2:5-12.
42. Дубинина ЕЕ. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состоянии окислительного стресса. Вопросы мед. хим. 2001;47(6):561-581.
43. Дугаров ИД, Анаев ЭХ, Чучалин АГ. О роли цитокинов при бронхиальной астме. Пульмонология. 2009;4:96-102.

44. Елисеева СВ, Грачев СВ, Егорова НД. Влияние триметазидина на энергетическую активность митохондрий. Эксперим. кардиология. 2008;7(8):72-77.

45. Ена ЛМ, Христофорова АМ. Эффективность пролонгированной лекарственной формы мельдония (Тризипин® лонг) у пациентов с ишемической болезнью сердца. Укр. мед. часопис. 2014;5(103):71-75.

46. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. 2003;2 (22):108-109.

47. Ещенко НД, Вольский ГГ. Определение янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы. Методы биохимических исследований. Ленинград. Изд-во Ленинградского университета: 1982;207-210.

48. Заморський П, Букатару ЮС, Мельничук СП. Аналіз активності сукцинатдегідрогенази та лактатдегідрогенази при гострій та хронічній гіпоксії на фоні введення похідного 2-бензамідо-2-(2-оксоіндолін-3-ілден) оцтової кислоти. Scientific Journal ScienceRise: Pharmaceutical Science. 2017;2(6):9-13. doi: 10.15587/2519-4852.2017.98164.

49. Зинь А. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз і мембранний транспорт у живих організмах. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2012;60:21–39.

50. Илькович ММ, Кузубова НА, Киселева ЕА. Борьба с табакокурением как основа профилактики хронической обструктивной болезни легких. Пульмонология. 2010;2:37-39.

51. Инякина ТВ. С-реактивный белок. Методики оценки в биологических жидкостях. Медицина и экология. 2011;1:25-30.

52. Иргашев ТА, Каримов АИ. Влияние нитратов на организм человека и животных. Душанбе: Нодир; 2009. 58 с.

53. Камышников ВС. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. Москва: МЕДпресс-информ; 2009. 43 с.

54. Карякина ЕВ, Белова СВ. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы). Клиническая Лабораторная Диагностика. 2004;(3):3-8.

55. Кваша ЕА. Медицинские аспекты табакокурения. Здоров'я України. 2010;20(249):40-41.

56. Коваль ВВ, Наталочка ВО, Ткаченко СК. Динаміка забруднення вод сільськогосподарського призначення нітратами в умовах Полтавської області. Вісник Полтавської державної аграрної академії. 2011;2:32-36.

57. Колеснікова ЄЕ, Носар ВІ, Братусь ЛВ. Корекція експериментальної мітохондріальної дисфункції нейронів стовбура мозку фармакологічними препаратами ритмокор і мілдронат. Фізіологічний журнал. 2013;59(3):58-64.

58. Колісник МІ, Колісник ГВ, Нідзюлка Є, Влізло ВВ. Активні форми кисню та їх роль у метаболізмі клітин. Біологія тварин. 2009;1-2(11):59-70.

59. Контроль над тютюном в Україні. Національний звіт. – Київ: МОЗ України, Європейське регіональне бюро ВООЗ; 2012. 128 с.

60. Копильчук ГП, Волощук ОМ. Активність NADH-убіхінонредуктази та сукцинатдегідрогенази печінки щурів за умов токсичного гепатиту, індукованого ацетоамінофеном на тлі аліментарної нестачі протеїну. Ukr. Biochem. J. 2015;87(1):121-126.

61. Королюк МА, Иванова ЛИ, Майорова ИГ. Метод определения активности каталазы. Лаб. дело. 1988;1:16-19.

62. Костенко ВО, Соловйова НВ, Коваленко ОВ. Механізми ауторегуляції утворення оксиду азоту в організмі ссавців та їх порушення при розвитку патологічних процесів. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2011;11(3):150-154.



63. Красовський КС. Наслідки глобальної тютюнової епідемії. Профілактична медицина. 2009;4:72-74.
64. Красовський КС. Оцінка динаміки поширеності тютюнокуріння в Україні. Вісн. соц. гігієни та організації охорони здоров'я України. 2009;2:91-99.
65. Кривченкова РС. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий. Современные методы в биохимии. Москва: Медицина; 1977. С.47-49.
66. Криницька ІЯ, Кліщ ІМ, Куліцька МІ. Особливості цитокінового профілю крові щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом. Клінічна та експериментальна патологія. 2012;4(42):82-86.
67. Кузнецова ВЛ, Соловьева АГ. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия. Современ. пробл. науки и образов. 2015;4:24–29.
68. Курение в Украине: последние тенденции в борьбе с вредной привычкой на национальном уровне. Здоров'я України. 2010;251(22):62-63.
69. Курята АВ, Гейченко ВП, Мужчиль ИЛ, Караванская ИЛ. Эффективность использования препарата метаболического действия Милдронат® в комплексной терапии хронической сердечной недостаточности с сохраненной систолической функцией у больных с ишемической болезнью сердца и ее влияния на функциональное состояние эндотелия сосудов. Ліки України. 2011;4(150):107-112.
70. Левченкова О., Новиков ВЕ. Антигипоксантаы: возможные механизмы действия и клиническое применение. Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2011;4:43-57.
71. Левченкова ОС, Новиков ВЕ, Пожилова ЕВ. Фармакодинамика и клиническое применение антигипоксантов. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2012;10(3):3–12.
72. Лизурчик ЛВ, Шейда ЕВ. Влияние табачного дыма на содержание токсичных элементов в организме крыс. Вестник ОГУ. 2014;6(167):71-74.

73. Лихацкий ПГ, Фира ЛС. Особенности процессов липопероксидации и энергетического обмена у крыс разных возрастных групп после отравления их натрия нитритом на фоне интоксикации табачным дымом. Проблемы биологии и медицины. 2017;3(96):145-152.

74. Лихацький ПГ, Вміст активних форм кисню у щурів різних вікових груп за умов нітритного отруєння. В: Фіра ЛС, Трохимчук НБ, редактор. Медична хімія. 2014;3(16):123.

75. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Розвиток нітрооксидативного стресу та запальних процесів у щурів різного віку, уражених тютюновим димом. Світ медицини та біології. 2017;4(62):145-149. doi: 10.26724/2079-8334-2017-4-62-145-149.

76. Лихацький ПГ, Вікові особливості перебігу вільнорадикальних процесів у щурів, отруєних нітритом натрію. В: Фіра ЛС. Бюллетень XI чтений им. В.В. Подвысоцкого; 2012 Мая 24-25; Одесса; 2012, с. 81.

77. Лихацький ПГ, Вплив нітриту натрію на розвиток вільнорадикальних процесів в організмі щурів різних вікових груп. В: Фіра ЛС. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю Бабенківські читання; 2013 Жовт 24-25; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ДВНЗ «Ів-ФДМУ»; 2013, с.47.

78. Лихацький ПГ, Зміни деяких показників антиоксидантного захисту в органах старечих щурів за умов нітритної інтоксикації. В: Фіра ЛС. Матеріали XI Українського біохімічного конгресу; 2014 Жовт 06-10; Київ. Київ: Нац.акад.наук України «Ін-т біохімії ім. О.О. Палладіна Нац.академії наук України», 5(86)(дод.2): Укр. біох. журн., 2014, с. 96.

79. Лихацький ПГ, Окиснювальний стрес в організмі щурів різного віку, одночасно уражених натрію нітритом та тютюновим димом. В: Фіра ЛС. Підсумкова LX наук.-практ.конф. Здобутки клінічної та експериментальної медицини (присвячена 60-річчю ТДМУ) 2017 Черв 14; Тернопіль. Тернопіль: ДВНЗ «ТДМУ»; 2017, с.

80. Лихацький ПГ, Перебіг процесів вільнорадикального окиснення у щурів різного віку за умов нітритної інтоксикації. В: Фіра ЛС, Іванець ЛМ. Матеріали III Всеукраїнської наук.-практ. конф. Хімія природних сполук; 2012 Жовт 30-31; Тернопіль. Тернопіль: ДВНЗ «ТДМУ»; 2012, с. 84.

81. Лихацький ПГ, Показники антиоксидантної системи щурів різних вікових груп при ураженні нітритом натрію. В: Фіра ЛС., Грималюк ОІ. Матеріали наук.-практ. конф. Здобутки клінічної та експериментальної медицини; 2012 Квіт 17-18; Тернопіль. Тернопіль: ДВНЗ «ТДМУ»; 2012, с. 191.

82. Лихацький ПГ, Розвиток запальних процесів у щурів, отруєних натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. В: Фіра ЛС. Матеріали наук.-практ. конф. The 4th international scientific conference current problems of Biochemistry and cell Biology; 2017 Жовт 5-6; Дніпро. Дніпро: «ДНУ ім. Олесь Гончара»; 2017, с. 158-160.

83. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Можливість застосування сорбенту “Карболайн” для корекції порушень в організмі щурів, уражених натрію нітритом, на тлі тютюнової інтоксикації. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2017;4:31-40. doi: 10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i2.7970.

84. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Бурмас НІ, Кернична ІЗ. Стан клітинних мембран щурів різного віку за умов ураження нітритом натрію. Медична хімія. 2011;1(46):74-77.

85. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Гонський ЯІ. Динаміка змін маркерів біоенергетичних процесів та цитолізу у щурів після ураження нітритом натрію на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник проблем біології і медицини. 2017;2(136):147-152.

86. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Грицишин ЛЄ. Біохімічні механізми розвитку стресу за умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом

на тлі тютюнової інтоксикації. Біологія тварин. 2017;1(19):65-72. doi:10.15407/animbiol19.01.065.

87. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Качур ОІ. Показники енергозабезпечення в щурів за умов хронічного ураження тютюновим димом. Медична та клінічна хімія. 2016;4(18):34-38. doi: 10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i4.7253.

88. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Підгірний ВВ. Динаміка активності вільнорадикальних процесів в органах щурів різних вікових груп після інтоксикації нітритом натрію. Актуальные проблемы транспортной медицины. 2014;3(37):139-145.

89. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Фіра ДБ, Кузьмак ПІ. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. 2017;2(8):259-264. doi: 10.15421/021740.

90. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Динаміка маркерів запалення під впливом мілдронату за експериментального ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом. Sciences of Europe. 2017;1(20):10-15.

91. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Дослідження активності окиснювальних та запальних процесів у щурів різного віку, одночасно отруєних натрію нітритом та тютюновим димом. Фітотерапія. Часопис. 2017;2:53-58.

92. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Ендогенна інтоксикація та запальні процеси в організмі щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом. Наукові доповіді НУБіП України. 2017;5(69):1-14.

93. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Ендогенна інтоксикація у старечих щурів, одночасно уражених тютюновим димом та нітритом натрію. Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2017;3(70):158-163.

94. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Застосування ентеросорбенту “Карболайн” для корекції окиснювальних процесів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Медична та клінічна хімія. 2017;2(19):45-52. doi: 10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i2.7970.

95. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Застосування мілдронату за умов окиснювального стресу у щурів, уражених натрію нітритом, на тлі інтоксикації тютюновим димом. Світ медицини та біології. 2017;3(61):128-134. doi: 10.26724 / 2079-8334-2017-3-61-128-134.

96. Лихацький ПГ, Фіра ЛС., Бойко ЛА., Федорович УМ. Розвиток цитолітичного синдрому в організмі щурів різного віку, уражених тютюновим димом. Укр.журн.клін. та лаб.медицини. 2017;2(12):12-19.

97. Лихацький ПГ. Дослідження показників ендогенної антиоксидантної системи у щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. ScienceRise: Biological Science. 2017;5(8):18-23. doi: 10.15587/2519-8025.2017.113539.

98. Лихацький ПГ. Зміни запальних та біоенергетичних процесів у щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом, після застосування мілдронату. Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2018;1(72):102-110.

99. Лихацький ПГ. Зміни показників антиоксидантної системи щурів, уражених натрію нітритом, на тлі тютюнової інтоксикації. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар.участю Бабенківські читання; 2017 Жовт 26-27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ДВНЗ «Ів-ФДМУ»; 2017, с. 68.

100. Лихацький ПГ. Корекція вільнорадикальних процесів та мітохондріальної дисфункції в щурів, отруєних натрію нітритом і тютюновим димом, препаратом “Мілдронат”. Медична та клінічна хімія. 2017;3(19):93-102. doi: 10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i3.8197.

101. Лісничук НЄ. Дослідження параметрів вільнорадикального окиснення та стан антиоксидної системи білих щурів з експериментальним токсичним ураженням печінки. Вісник проблем біології і медицини. 2007;2:83-85.

102. Лотоцька СВ. Застосування ентеросорбенту «Карболайн» при корекції змін вільнорадикального окиснення у хворих на хронічне

обструктивне захворювання легень. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2015;2-3:96-98. doi: 10.11603/1811-2471.2015.v23.i2-3.5247.

103. Лукьянова ЛД. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции. Пат. физиол. и эксперим. терапия. 2011;1:3-19.

104. Лукьянова ЛД. Фармакология митохондриальной дисфункции. Consilium Medicum. 2007;9(8):102-103.

105. Лутай МИ, Лысенко АФ, Товстуха ВВ, Моисеенко ОИ. Оценка антиангинальной эффективности мельдония (Тризипина) у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и стенокардией напряжения. Укр. мед. часопис. 2014;4(102):50-53.

106. Луценко БО. Зміни окисного метаболізму у тканинах шлунка білих щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію. Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2007;7(3):174-176.

107. Луцкий МА. Свободнорадикальное окисление липидов и белков – универсальный процесс жизнедеятельности организма. Усп.совр.естеств. 2014;126:24–28.

108. Луцк ВІ, Багнюкова ТВ, Луцк ОВ. Показники оксидативного стресу. Тіобарбітурактивні продукти і карбонільні групи білків. Укр. біохім. журнал. 2004;26:136-141.

109. Максимова МЮ, Кистенев АБ, Домашенко МА. Клиническая эффективность и антиоксидантная активность милдроната при ишемическом инсульте. Рос. кардиол. журн. 2009;4(84):54-62.

110. Манжалій ЕГ, Вірченко ОВ, Фалалєєва ТМ, Берегова ТВ, Савчук ОМ, Кондратюк ВЄ. Оцінка рівня цитокінів при експериментальній печінковій енцефалопатії у щурів. Клін.хірургія. 2016;10:63-66.

111. Маніщенкова ЮО, Орлова ОА, Шкала ЛВ. Окислювальна модифікація білків у хворих з коморбідною патологією. Український журнал екстремальної медицини імені Г. О. Можаяєва. 2010;11(1):119–122.

112. Мартусевич АК, Соловьева АГ, Перетягин СП. Влияние различных форм оксида азота на свойства альдегиддегидрогеназы эритроцитов. *Вопр.биол., мед. и фарм. хим.* 2014;11:60–65.

113. Марущак МІ. Встановлення кореляційних зв'язків між рівнем активних форм кисню, вмістом нейтрофільних гранулоцитів та газовим складом крові при експериментальному гострому ураженні легень. *Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина».* 2012;1(43):9-12.

114. Марущак МІ. Роль активних форм кисню у розвитку і прогресуванні гострого ураження легень в експерименті. *Мед. хімія.* 2012;14:104-108.

115. Матвеев СБ, Федорова НВ, Годков МА. Оценка эндогенной интоксикации по показателям среднемолекулярных пептидов при неотложных состояниях. *Клин. лаб. диагностика.* 2009;5:16-18.

116. Михайленко ВМ, Михайленко ПМ, Головіна ІС. Маркери нітрозативного стресу при інгаляційній дії оксидів азоту в нормі та при пухлинному рості. *Сучасні проблеми токсикології.* 2011;4:28-35.

117. Михин ВП, Поздняков ЮМ, Хлебодаров ФЕ. Милдронат в кардиологической практике – итоги, новые направления, перспективы. *Кардиоваскулярная Терапия и Профилактика.* 2012;11(1):96-103.

118. Михно ММ, Сукало ЕА, Пристром АМ. Опыт применения Милдроната в лечении пациентов с ишемической болезнью сердца. *Theoria.* 2013;72(2):61-64.

119. Мороз ЛВ, Палій ІГ, Ткаченко ТВ. Застосування препарату Ентеросгель у комплексній терапії пацієнтів із гострими вірусними гепатитами із супутнім дисбактеріозом кишечника. *Внутренняя медицина.* 2008;1(7):11-18.

120. Москаленко ВФ, Грузева ТС, Галієнко ЛІ. Поширеність тютюнопаління серед молоді: проблеми та шляхи вирішення. *Східноєвроп. журн. громадського здоров'я.* 2008;4:71-77.

121. Мудра АЄ. NO-синтаза та прозапальні цитокіни при гострому токсичному гепатиті та за впливу модуляторів синтезу оксиду азоту. Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2014;4(61):141-147.
122. Мурашко НК. Возможности милдроната в кардионеврологической практике. Міжнар. неврол. журн. 2012;4(50):111-120.
123. Нагорная НВ, Четверик НА. Оксидативный стресс: влияние на организм человека, методы оценки. Здоровье ребенка. 2010;2(23):140-145.
124. Нетюхайло ЛГ, Харченко СВ. Активні форми кисню (огляд літератури). Молодий вчений. 2014;9(12):131-135.
125. Нечаева ГИ, Дрокина ОВ, Дубилей ГС, Друк ИВ. Клинический опыт применения милдроната при восстановительном лечении пациентов с дисплазией соединительной ткани. Кардиология. 2014;4(54):46-50.
126. Николайчик ВВ, Кирковский ВВ, Маин ВМ. „Средние молекулы” – образование и способы определения. Лаб. дело. 1989;8:31-33.
127. Никольская ВА, Данильченко ЮД, Меметова ЗН. Биохимический аспект рассмотрения роли молекул средней массы в организме в организме. Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского Серия «Биология, химия». 2013;26(65):139-145.
128. Нікітін ЄВ, Чабан ТВ, Сервецький СК. Сучасні уявлення про систему цитокінів. Інфекційні хвороби. 2007;2:64-68.
129. Новиков ВЕ, Левченкова ОС, Пожилова ЕВ. Роль активных форм кислорода в физиологии и патологии клетки и их фармакологическая регуляция. Обз.по клин. фармак. лек.терап. 2014;12(4):13-19.
130. Новокшенов АА, Соколова НВ, Бережкова ТВ, Сахарова АА. Клінічна ефективність нового ентеросорбенту в комплексній терапії гострих кишкових інфекцій вірусної етіології у дітей. Лікуючий лікар. 2009;7:78-80.
131. Олійник СА, Козеренко ОЛ. Окисний стрес за гіпоксичних станів. Вісник проблем біології і медицини. 2010;1:15-21.



132. Оренчук ЕП, Костенко ВА. Окислительные процессы в коже в условиях длительного поступления нитрата натрия в организм белых крыс. Світ мед. та біол. 2008;3:78-81.

133. Осадчая ОИ, Боярская АМ. Клиническая эффективность применения энтеросорбции для купирования синдрома эндогенной интоксикации у больных с неспецифическим язвенным колитом. Ліки України. 2009;6:87-89.

134. Палий ИГ. Роль энтеросорбции в лечении заболеваний печени (обзор литературы). Consilium medicum Ukraina. 2009;3(3):8-9.

135. Паніна ЛВ, Терлецька СМ, Ковальчук СМ. Оцінка ендогенної інтоксикації організму за умов експериментальної гемічної гіпоксії. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2008;2:72-76.

136. Перемот СД, Смілянська МВ, Волянський АЮ. Активність цитокінів у хворих на гострий коронарний синдром. Annals of Mechnikov Institute. 2010;3:33-37.

137. Пизова НВ. Опыт применения милдроната. Мед.совет. 2015;5:14-17.

138. Пишак ВП, Кривчанская МИ, Громик ОА. Никотинзависимый оксидативный стресс и роль мелатонина. Український журнал клінічної та лабораторної медицини. 2013;4(8):17-19.

139. Пікас ОБ. Особливості дії оксиду азоту та його метаболітів в організмі людини, їх значення у виникненні патологічних процесів. Вісник проблем біології та медицини. 2015;1(122):28-33.

140. Пікас ОБ. Про стан куріння цигарок у сучасних умовах, його вплив на виникнення захворювань в організмі людини. Буковинський медичний вісник. 2015;76(4):227-230.

141. Пожилова ЕВ, Новиков ВЕ, Левченкова ОС. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки. Вест. Смоленской гос. мед. акад. 2015;14(2):13-21.

142. Поликарпова АВ, Перский ЕЭ. Сравнительное изучение динамики уровней провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при ожогах кожи различной природы. Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія : Біологія. 2011;97(14):27-32.

143. Пономарев ВВ, Хомиченко ТВ, Крюкова ОВ. Эффективность милдроната в лечении пациентов с хронической сосудистой мозговой недостаточностью. Мед.новости. 2013;1:51-54.

144. Попилов А, Вершинин А, Захарова М, Калёв О, Коробкин А. Полисорб МП при энтеропатии и проявлениях токсичности химиотерапии у больных острым миелобластным лейкозом. Врач. 2007;10:46-47.

145. Попова ТН, Пашков АН, Семенихина АВ. Свободнорадикальные процессы в биосистемах. Воронеж: Старый Оскол; 2008. 192 с.

146. Проданчук ГН, Балан ГМ. Токсические метгемоглобинемии: механизмы формирования и пути оптимизации. Современ. пробл. токсикологии. 2007;1:37-45.

147. Прохорова МИ. Методы биохимических исследований. Ленинград. ЛГУ: 1982; 168.

148. Посохова КА, Ніколаєв ВГ, Шевчук ОО, Олещук ОМ, Кліщ ІМ, Ніколаєва ВВ. Вивчення можливостей корекції гепатотоксичної дії антиретровірусних засобів за допомогою ентеросорбенту ентеросгель - паста для перорального застосування. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2009;10(4):121-125.

149. Рекомендації з профілактики та лікування тютюнопаління. Здоров'я України. 2010;231(2):34-36.

150. Рыболовлев ЮР, Рыболовлев РС. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности. Журнал АМН СССР. 1979;247(6):1513–1516.

151. Самородская ИВ. Мельдоний: Обзор результатов исследований. Русский мед. журн. 2013;21(36):1818-1822.

152. Сахарова ГМ, Антонов НС. Противодействие табачной эпидемии — сохранение здоровья людей. Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. Профилактическая медицина. 2010;13(6):3-7.
153. Сергиенко ИВ, Кухарчук ВВ, Габрусенко СА. Оценка влияния комбинированной терапии милдронатом на липидный спектр, факторы воспаления и функцию эндотелия у больных ишемической болезнью сердца. Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. 2007;(3):10-14.
154. Симбирцев АС. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма. Цитокины и воспаление. 2002;1(1):9-17.
155. Симонова ИН, Бобровник КК. Содержание оксида азота в крови больных хронической обструктивной болезнью легких. Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2014;56(2):120–121.
156. Слепченко НС, Сидоров АА. Тютюн: складові захворювань людини. Здоров'я України. 2011;13-14:38-39.
157. Смоляр ВІ, Циганенко ОІ, Петрашенко ГІ. Нітрати, нітрити та нітрозаміни у харчових продуктах і раціоні. Проблеми харчування. 2007;3:7-8.
158. Соловьева АГ, Кузнецова ВЛ, Перетягин СП, Диденко НВ, Дударь АИ. Роль оксида азота в процессах свободнорадикального окисления. Вестн. Рос.военно-мед. акад. 2016;1(53):228-233.
159. Стаценко МЕ, Туркина СВ, Беленкова СВ. Влияние милдроната в составе комбинированной терапии хронической сердечной недостаточности у больных сахарным диабетом типа 2 на углеводный, липидный обмен и показатели оксидативного стресса. Российский кардиологический журнал 2010;(2):45-51.
160. Стаценко МЕ, Туркина СВ, Тыщенко ИА, Фабрицкая СВ. Возможности применения Милдроната у коморбидных пациентов. Терапія. 2016;5:44-49.
161. Степанова ЄІ, Колпаков ІЄ, Кондрашова ВГ, Литвинець ОМ. Оксид азоту і перекисне окислення ліпідів у дітей, мешканців радіоактивно

забруднених територій. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2013;18:261-269.

162. Стойка ОО. Розробка шляхів оптимізації медико-соціальної технології профілактики тютюнокуріння та оцінка її ефективності [автореферат]. Київ: Нац. мед. акад. післядипломної освіти; 2007. 26 с.

163. Струтинська НА, Коцюрuba АВ, Будько АЮ, Мись ЛА, Сагач ВФ. Порушення функціонування мітохондрій у серці при старінні супроводжувалося неспряженням конститутивних NO-синтаз на тлі оксидативного та нітрозативного стресу. Фізіол. журн. 2016;62(2):3-11.

164. Товт-Коршинська МІ, Рудакова СО. Особливості психоемоційного стану та схильність до гострих респіраторних захворювань у курців тютюну різної статі. Наук.вісн. Ужгород. універ., Серія Медицина. 2011;40:145-147.

165. Тогайбаев АА, Кургузкин АВ, Рикун ИВ. Способ диагностики эндогенной интоксикации. Лаб. дело. 1988;9:22-24.

166. Томчук ВА. Ентеросорбенти, їх властивості та застосування. Біологія тварин. 2014;16(1):148-159.

167. Торчинов АМ, Цахилова СГ, Остаева ЛН, Сарахова ДХ, Совдагарова ЮЭ. Комплексное лечение гестоза с применением энтеросорбента «Полисорб МП». Поликлиника. 2008;5:74-75.

168. Треумова СІ. Роль оксиду азоту, простацикліну в патогенезі бронхолегеневої та серцево-судинної патології. Вісн.пробл.біол. і мед. 2013;103(2):47-50

169. Тяжка ОВ, Ванханова ОВ. Пасивне куріння дітей раннього віку. Медицина транспорту України. 2012;1:93-99.

170. Фартушна АМ, Костенко ВО. NO-залежні зміни окиснювального метаболізму у тканинах ясен білих щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію. Проблеми екології та медицини. 2012;16(3-4):48-51.

171. Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Вікові аспекти біохімічної оцінки ступеня інтоксикації за умов нітритного отруєння. Інформ. лист. 2015; №128:1-4.

172. Хаитов РМ, Пинегин БВ, Ярилин АА. Руководство по клинической иммунологии. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009; 352 с

173. Хасенова ГП, Кайшибаев НС, Кайшибаева ГС. Эффективность применения препарата милдронат у больных с дисциркуляторной энцефалопатией атеросклеротического генеза. Междунар. неврол. Журнал. 2012;7(53):87–93.

174. Хміль ДО, Костенко ВО. Роль NO-синтази і аргінази у механізмах дезорганізації сполучної тканини шкіри щурів за умов надлишкового надходження в організм нітрату натрію. Світ мед. та біол. 2017;60(2):169-171.

175. Хміль ДО, Міщенко АВ, Костенко ВО. Роль NO-синтази і аргінази у механізмах окисно-нітративного стресу в шкірі щурів за умов надлишкового надходження в організм нітрату натрію. Український журнал медицини, біології та спорту. 2017;2(11):54-59.

176. Чевари С, Чаба И, Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах. Лаб. дело. 1985;11:678-681.

177. Чеснокова НП, Понукалина ЕВ, Бизенкова МН. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах. Усп. совр. Естествознания. 2006;7:29-35.

178. Чучалін АГ. Хвороби органів дихання та тютюнопаління. Терапевтичний архів. 2009;3:5-9.

179. Шабалин АВ, Любимцева СА, Каштанова ЕВ. Милдронат в лечении пожилых больных ИБС: липидный профиль крови и окислительно-антиоксидантный потенциал липопротеинов низкой плотности. Клиническая геронтология. 2005;11:20-25.

180. Швайко ЛІ. Епідеміологічні, діагностичні, клінічні аспекти ХОЗЛ в осіб, які не курять. *Здоров'я України*. темат номер. 2010;1:10-11.
181. Шейман БС, Богдасарова ИВ, Осадчая ОИ, Семенов ВГ. Изучение детоксикационных свойств и клинической эффективности энтеросорбента «Энтеросгель» в комплексном лечении детей с пиелонефритом. *Мистецтво лікування*. 2007;2:11-16.
182. Шеламова МА, Инсарова НИ, Лещенко ВГ. Статистический анализ медико-биологических данных с использованием программы EXCEL. Минск: БГМУ. 2010;96 с.
183. Шитов АЮ. Молекулы средней массы как показатель «гипербарической интоксикации» у водолазов. *Альманах клинич.медицины*. 2013;28:48-52.
184. Шмараков Ю, Борщовецька ВЛ, Марченко ММ. Особливості генерування активних форм кисню та азоту за гострої гепатотоксичності. *Visn. Dnìpropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.* 2014;22(1):3-7. doi:10.15421/011401
185. Юнусов ВЮ, Горбач ТВ, Мартынова СН. Уровень интоксикации организма и эластичность сосудов новорожденных крысят-потомков крыс, подвергавшихся действию табачного дыма. *Буковинський медичний вісник*. 2014;4(72):20-24.
186. Юнусов ВЮ. Содержание эндотелина-1 и активность NO-синтаз в сосудах крыс-потомков самок, подвергшихся пассивному табакокурению. *Матеріали VI конгресу патофізіологів України; 2012 жовтня 3–5; Місхор, Крим. Крим: Таврический медико-биологический вестник; 2012, с. 397.*
187. Юшко ЛО, Сарнацька ВВ, Сахно ЛО, Мельник ВД. Аналіз адсорбції білокзв'язаних метаболітів і токсинів, характерних для печінкової недостатності, ентеросорбентами різного походження. *Доп. Нац. акад. наук України*. 2009;(9):177–181.
188. Яремчук ОЗ, Посохова КА. Зміни біохімічних показників печінки та нирок при експериментальному панкреатиті та за дії модуляторів синтезу

оксида азоту і рекомбінантної супероксиддисмутази. Укр. біохім. журн. 2011;83(4):57-66.

189. Abdolsamadi H, Goodarzi M, Mortazavi H, Robati M, Ahmadi-Motemayel F. Comparison of Salivary Antioxidants in Healthy Smoking and Non-smoking Men. *Chang. Gung. Med. J.* 2011 Nov-Dec;34(6):607-611.

190. Abedchabuk S, Al-Momen A, Alsamarae I. Correlation Between Interleukins 1  $\alpha$ ,6 and Echocardiographic Results in Patients with Heart Failure. *Journal of Babylon University. Pure and Applied Sciences.* 2014;22(4):1442-1451.

191. Afridi HI, Kazi TG, Kazi NG, Jamali MK, Arain MB, Sirajuddin SV, et.al. Evaluation of cadmium, lead, nickel and zinc status in biological samples of smokers and nonsmokers hypertensive patients. *J Human Hypert.* 2010;24:34–43; doi:10.1038/jhh.2009.39.

192. Akimov OYe, Kostenko VO. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. *Ukr. Biochem. J.* 2016;88(6):70-75. doi: 10.15407/ubj88.06.070.

193. Aksoy S, Cam N, Gurkan U, Oz D, Özden K, Altay S, Durmus G, Agirbasli M. Oxidative stress and severity of coronary artery disease in young smokers with acute myocardial infarction. *Cardiology Journal.* 2012;19(4):381–6. doi: 10.5603/CJ.2012.0069. [PubMed]

194. Alaghmand M, Blough NV. Source-dependent variation in hydroxyl radical production by airborne particulate matter. *Environ Sci Technol.* 2007 Apr; 41(7):2364–2370. doi:10.1021/Es061902. [PubMed].

195. Allen BW, Stamler JS, Piantadosi CA. Hemoglobin, nitric oxide and molecular mechanisms of hypoxic vasodilation. *Trends Mol Med.* 2009 Oct;15(10):452-60. doi: 10.1016/j.molmed.2009.08.002. [PubMed].

196. Al-Qudah KM. Oxidative stress resulting from subclinical nitrite poisoning in cattle. *Toxicol. Environmental Chem.* 2010 Feb;92(2):347-354. doi:10.1080/02772240902828395.

197. Alyoussef A, Al-Gayyar MMH. Thymoquinone ameliorated elevated inflammatory cytokines in testicular tissue and sex hormones imbalance induced by oral chronic toxicity with sodium nitrite. *Cytokine*. 2016 Jul;83:64–74. doi: 10.1016/j.cyto.2016.03.018 [PubMed]

198. Amigo H, Erazo M, Oyarzún M, Bello S, Peruga A. Smoking and chronic obstructive pulmonary disease: attributable risk determination. *Rev Med Chil*. 2006 Oct;134(10):1275-82. doi: /S0034-98872006001000009

199. Anderson C, Majeste A, Hanus J, Wang S. E-Cigarette Aerosol Exposure Induces Reactive Oxygen Species, DNA Damage, and Cell Death in Vascular Endothelial Cells. *Toxicological Sciences*. 2016 Dec;154(2):332–340, doi:10.1093/toxsci/kfw166.

200. Andrew J, Hirst J, Hirst Judy. A spectrophotometric coupled enzyme assay to measure the activity of succinate dehydrogenase. *Anal Biochem*, 2013 Nov;442(1):19-23. doi: 10.1016/j.ab.2013.07.018. [PubMed].

201. Ansari FA, Ali SN, Mahmood R. Sodium nitrite-induced oxidative stress causes membrane damage, protein oxidation, lipid peroxidation and alters major metabolic pathways in human erythrocytes. *Toxicology in Vitro*. 2015 Oct;29(7):1878–1886. doi: 10.1016/j.tiv.2015.07.022.

202. Ansari FA, Mahmood R. Sodium nitrite enhances generation of reactive oxygen species that decrease antioxidant power and inhibit plasma membrane redox system of human erythrocytes. *Cell Biol Int*. 2016 Aug;40(8):887-94. doi: 10.1002/cbin.10628.

203. Appaix F, Minatchy M, Riva-Lavieille C, Olivares J, Antonsson B, Saks V. Rapid spectrophotometric method for quantitation of cytochrome c release from isolated mitochondria or permeabilized cells revisited. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2000 Apr;1457(3):175-181. doi: 10.1016/S0005-2728(00)00098-0. [PubMed].

204. Arakaki LS, Ciesielski WA, Thackray BD, Feigl EO, Schenkman KA. Simultaneous Optical Spectroscopic Measurement of Hemoglobin and Myoglobin



Saturations and Cytochrome aa3 Oxidation In Vivo. *Appl Spectrosc.* 2010; 64(9): 973–979. doi: 10.1366/000370210792434387. [PubMed].

205. Arnson Y, Shoenfeld Y, Amital H. Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *J Autoimmun.* 2010 May;34(3):J258-65. doi: 10.1016/j.jaut.2009.12.003.

206. Ashurst J, Urquhart M, Cook M. Carbon monoxide poisoning secondary to hookah smoking. *J. Am. Osteopath Assoc.* 2012 Oct;112(10):686-8

207. Asthana A, Johnson HM, Piper ME, Fiore MC, Baker TB, Stein JH. Effects of smoking intensity and cessation on inflammatory markers in a large cohort of active smokers. *Am Heart J.* 2010;160(3):458-463. doi: 10.1016/j.ahj.2010.06.006.

208. Asthana A, Piper ME, McBride PE, Ward A, Fiore MC, Baker TB, et al. Long-term effects of smoking and smoking cessation on exercise stress testing: three-year outcomes from a randomized clinical trial. *Am Heart J.* 2012; 163(1):81-87.e1. doi: 10.1016/j.ahj.2011.06.023.

209. Avila-Tang E, Al-Delaimy WK, Ashley DL, Benowitz N, Bernert JT, Kim S, et.al. Assessing secondhand smoke using biological markers. *Tob Control.* 2013 May;22(3):164-71. doi: 10.1136/tobaccocontrol-2011-050298.

210. Ayala A, Mucoz M, Argbelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2014;2014:360-438. doi:10.1155/2014/360438. [PubMed]

211. Babizhayev MA. Mitochondria induce oxidative stress, generation of reactive oxygen species and redox state unbalance of the eye lens leading to human formation: disruption of redox lens organization by phospholipid hydroperoxides. *Cell Biochem Funct.*, 2011 Apr; 29(3):183-206. doi: 10.1002/cbf.1737. [PubMed]

212. Baek J, Zhang X, Williams M, Hicks W, Buehler P, D'Agnillo F. Sodium nitrite potentiates renal oxidative stress and injury in hemoglobin exposed guinea

pigs. *Toxicology*, 2015 Jul;333:89-99. doi: 10.1016/j.tox.2015.04.007. [PubMed] [Cross Ref].

213. Balietti M, Fattoretti P, Giorgetti B, Casoli T, Di Stefano G, Solazzi M, et.al. A ketogenic diet increases succinic dehydrogenase activity in aging cardiomyocytes. *Ann N Y Acad Sci*. 2009 Aug;1171:377-84.doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.04704.x.[PubMed].

214. Balietti M, Fattoretti P, Skalicky M, Viidik A, Giorgetti B, Grossi Y, et.al. The effect of chronic physical exercise on succinic dehydrogenase activity in the heart muscle of old rats. *Biogerontology*. 2005;6(2):95-100.doi: 10.1007/s10522-005-3463-9.[PubMed].

215. Balietti M, Giorgetti B, Di Stefano G, Casoli T, Platano D, Solazzi M, et.al. A ketogenic diet increases succinic dehydrogenase (SDH) activity and recovers age-related decrease in numeric density of SDH-positive mitochondria in cerebellar Purkinje cells of late-adult rats. *Micron*. 2010 Feb;41(2):143-8.doi: 10.1016/j.micron.2009.08.010.[PubMed].

216. Ballweg K, Mutze K, Königshoff M, Eickelberg O, Meiners S. Cigarette smoke extract affects mitochondrial function in alveolar epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2014 Dec 1;307(11):L895-907. doi: 10.1152/ajplung.00180.2014. [PubMed].

217. Barelli S, Canellini G, Thadikkaran L, Crettaz D, Quadroni M, Rossier JS, et.al. Oxidation of proteins: Basic principles and perspectives for blood proteomics. *Proteomics Clin. Appl*. 2008 Nov;2:142–157. doi: 10.1002/prca.200780009.

218. Barua RS, Ambrose JA. Mechanisms of coronary thrombosis in cigarette smoke exposure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013 Jul;33(7):1460-7. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.300154. [PubMed].

219. Basant KP, Treasaden IH, Cocchi M, Tsaluchidu S, Tonello L, Ross BM. A comparison of oxidative stress in smokers and non-smokers: an in vivo

human quantitative study of n-3 lipid peroxidation. *BMC Psychiatry*. 2008;8(1):4. doi:10.1186/1471-244X-8-S1-S4 . [PubMed]

220. Behera S, Xian H, Balasubramanian R. Human health risk associated with exposure to toxic elements in mainstream and sidestream cigarette smoke. *Sci Total Environ.*, 2013 Dec;472:947-56. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.11.063.

221. Beitnere U, Dzirkale Z, Isajevs S, Rumaks J, Svirskis S, Klusa V. Carnitine congener mildronate protects against stress- and haloperidol-induced impairment in memory and brain protein expression in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 2014 Dec;745:76–83. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.10.014. [PubMed].

222. Bikkad MD, Ghuge SH, Somwanshi SD, Ingle SB. Evaluation of Lipid Peroxide and Antioxidants in Smokers. *International Journal of Basic and Applied Medical Sciences*. 2014;4(1):1–6.

223. Birben E, Sahiner M, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense World Allergy. *Organ J*. 2012 Jan;5(1):9-19. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.

224. Bircan A, Gokirmak M, Kilic O, Ozturk O, Akkaya A. C-reactive protein levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease: role of infection. *Med Princ Pract*. 2008 Apr;17(3):202-208. doi: 10.1159/000117793. [PubMed].

225. Birrell MA, Wong S, Catley MC, Belvisi MG. Impact of tobacco-smoke on key signaling pathways in the innate immune response in lung macrophages. *J Cell Physiol*. 2008 Jan;214(1):27-37. doi: 10.1002/jcp.21158

226. Braeckman BP, Smolders A, Back P, De Henau S. In Vivo Detection of Reactive Oxygen Species and Redox Status in *Caenorhabditis elegans*. *Antioxid Redox Signal*. 2016 Oct;25(10):577-92. doi: 10.1089/ars.2016.6751.

227. Brand MD, Nicholls DG. Assessing mitochondrial dysfunction in cells. *Biochem J.*, 2011 Apr;435(2):297-312. doi:10.1042/BJ20110162. [PubMed]

228. Brody AL, Mandelkern MA, London ED, Olmstead RE, Farahi J, Scheibal D, et al. Cigarette smoking saturates brain alpha 4 beta 2 nicotinic

acetylcholine receptors. *Arch Gen Psychiatry*. 2006 Aug;63(8):907-15. doi: 10.1001/archpsyc.63.8.907.

229. Brokl M, Bishop L, Wright CG, Liu C, McAdam K, Focant J-F. Analysis of mainstream tobacco smoke particulate phase using comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. *J. Sep. Sci.* 2013, 36, 1037–1044. doi: 10.1002/jssc.201200812.

230. Bryan NS, Grisham MB. Nitric Oxide and its Metabolites in Biological Samples. *Free Radic Biol Med.* 2007 Sep1;43(5): 645–657. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.04.026

231. Buehler P, Butt O, D'Agnillo F. Sodium nitrite induces acute central nervous system toxicity in guinea pigs exposed to systemic cell-free. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2011 Jun;409(3):412–417. doi:10.1016/j.bbrc.2011.05.009. [PubMed] [Cross Ref]

232. Bullen CH. Impact of tobacco smoking and smoking cessation on cardiovascular risk and disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2008;6(6):883-895. doi: 10.1586/14779072.6.6.883.

233. Burns DM, Dybing E, Gray N, Hecht S, Anderson C, Sanner T, et al. Mandated lowering of toxicants in cigarette smoke: a description of the World Health Organization TobReg proposal. *Tob. Control.* 2008 Apr;17(2):132-41. doi:10.1136/tc.2007.024158.

234. Cai Z, Yan Liang-Jun. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health. *J. Biochem. Pharmacol. Res.* 2013 Mar;1(1):15–26.

235. Cantin AM, Richter MV. Cigarette smoke-induced proteostasis imbalance in obstructive lung diseases. *Curr Mol Med.* 2012 Aug;12(7):836-49. [PubMed].

236. Cantin AM. Cellular response to cigarette smoke and oxidants adapting to survive. *Proc Am Thorac Soc.* 2010;7:368–375. doi: 10.1513/pats.201001-014AW.

237. Cardoso JF, Souza BR, Amadeu TP, Valenca SS, Porto LC, Costa AM. Effects of cigarette smoke in mice wound healing is strain dependent. *Toxicologic Pathology*. 2007;35:890–896. doi: 10.1080/01926230701459986 [PubMed].
238. Casas JP, Shah T, Hingorani AD, et al. C-reactive protein and coronary heart disease: a critical review. *J Intern Med*. 2008;264:295–314. doi: 10.1111/j.1365-2796.2008.02015.x. [PubMed]
239. Cena H, Tesone A, Niniano R, Cerveri I, Roggi C, Turconi G. Prevalence rate of Metabolic Syndrome in a group of light and heavy smokers. *Diabetol Metab Syndr*. 2013; 5(1):28. doi: 10.1186/1758-5996-5-28. [PubMed]
240. Chandrashekhara S. C-reactive protein: An inflammatory marker with specific role in physiology, pathology, and diagnosis. *J Rheumatol Clin Immunol*. 2014; 2(1):1-7. doi: 10.15305/ijrci/v2iS1/91. [PubMed]
241. Chen X, Zhong Z, Xu Z, Chen L, Wang Y. 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein as a fluorescent probe for reactive oxygen species measurement: Forty years of application and controversy. *Free Radic. Res.*, 2010 Jun;44(6):587-604. doi: 10.3109/10715761003709802. [PubMed]
242. Chen Z, Li R, Xie Z, Huang G, Yuan Q, Zeng J. IL-6, IL-10 and IL-13 are associated with pathogenesis in children with Enterovirus 71 infection. *Int. J. Clin. Exp. Med*. 2014 Sep;7(9):2718-2723. [PubMed]
243. Chowdhury IH, Ahmed AM, Choudhuri S, Sen A, Hazra A, Pal NK, et al. Alteration of serum inflammatory cytokines in active pulmonary tuberculosis following anti-tuberculosis drug therapy. *Molecular Immunology*. 2014 Nov;62(1): 159-168. doi:10.1016/j.molimm.2014.06.002. [PubMed]
244. Churg A, Cosio M, Wright JL. Mechanisms of cigarette smoke-induced COPD: insights from animal models. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008 Apr;294(4):612-31. doi: 10.1152/ajplung.00390.2007. [PubMed].
245. Churg A, Wright J. Animal models of cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease. *Expert Rev Respir Med*. 2010;4(6):723-34. doi: 10.1586/ers.10.68. [PubMed].

246. Churg A, Wright JL. Testing drugs in animal models of cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc.* 2009 Sep;6(6):550-2. doi: 10.1513/pats. [PubMed]

247. Chwa M, Atilano S, Reddy V, Jordan N, Kim DW, Kenney MC. Increased stress-induced generation of reactive oxygen species and apoptosis in human keratoconus fibroblasts. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2006 May;47(5):1902-1910. doi: 10.1167/iovs.05-0828. [PubMed].

248. Cigremis Y, Turkoz Y, Tuzcu M, Ozen H, Kart A, Gaffaroglu M, et.al. The effects of chronic exposure to ethanol and cigarette smoke on the formation of peroxynitrite, level of nitric oxide, xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in rat kidney. *Mol Cell Biochem.* 2006 Oct;291(1-2):127-38. doi: 10.1007/s11010-006-9205-8. [PubMed]

249. Cohen NA, Zhang S, Sharp DB, Tamashiro E, Chen B, Sorscher EJ, et.al. Cigarette smoke condensate inhibits transepithelial chloride transport and ciliary beat frequency. *Laryngoscope.* 2009 Nov;119(11):2269-2274. doi: 10.1002/lary.20223. [PubMed]

250. Council of Europe European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes; CETS No.: 123. Council of Europe. <https://rm.coe.int/168007a67b>. [PubMed]

251. Crawford JH, Isbell TS, Huang Z, Shiva S, Chacko BK, Schechter AN, et.al. Hypoxia, red blood cells, and nitrite regulate NO-dependent hypoxic. *BLOOD,* 2006 Jan;107(2):566-574. doi:10.1182/blood-2005-07-2668. [PubMed]

252. Csiszar A, Podlutzky A, Wolin M, Losonczy G, Pacher P, Ungvari Z. Oxidative stress and accelerated vascular aging: implications for cigarette smoking. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2009 Jan;14:3128-44. [PubMed]

253. Csordas A, Bernhard D. The biology behind the atherothrombotic effects of cigarette smoke. *Nat Rev Cardiol.* 2013 Apr;10(4):219-30. doi: 10.1038/nrcardio.2013.8. [PubMed].

254. Dahl M, Vestbo J, Lange P, Bojesen SE, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. C-Reactive Protein as a predictor of prognosis in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Amer. J. of Respiratory and critical care medicine*. 2007 Feb;175(3):250-255.doi:10.1164/rccm.200605-713OC. [PubMed].

255. Dambrova M, Makrecka-Kuka M, Vilskersts R, Makarova E, Kuka J, Liepinsh E. Pharmacological effects of meldonium: Biochemical mechanisms and biomarkers of cardiometabolic activity. *Pharmacol Res*. 2016 Nov;113(Pt B):771-780. doi:10.1016/j.phrs.2016.01.019. [PubMed]

256. David P, Dunsford D, Lu J, Moochhala S. Animal of smoke inhalation induced injuries. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2009 Jan;14:4618-30. [PubMed].

257. De Torres JP, Cordoba-Lanus E, López-Aguilar C, Muros de Fuentes M, Montejo de Garcini A, Aguirre-Jaime A, et al. C-reactive protein levels and clinically important predictive outcomes in stable COPD patients. *Eur. Respir. J*. 2006 May;27(5):902–907.doi:10.1183/09031936.06.00109605. [PubMed].

258. De Torres JP, Pinto-Plata V, Casanova C, et al. C-reactive protein levels and survival in patients with moderate to very severe. COPD. *Chest*. 2008;133:1336–43. doi: 10.1378/chest.07-2433. [PubMed]

259. De Torres JP, Pinto-Plata V, Casanova C, Mullerova H, Córdoba-Lanús E, de Fuentes MM, et al. C-reactive protein levels and survival in patients with moderate to very severe COPD. *Chest*. 2008 Jun;133(6):1336-1343.doi:10.1378/chest.07-2433. [PubMed]

260. DeMarini DM, Gudi R, Szkudlinska A, Rao M, Recio L, Kehl M, et.al. Genotoxicity of 10 cigarette smoke condensates in four test systems: comparisons between assays and condensates. *Mutat Res*. 2008 Jan;650(1):15-29. doi: 10.1016/j.mrgentox.2007.09.006. [PubMed]

261. Deng ZC, Zhao P, Cao C, Sun SF, Zhao F, Lu CY, et al. C-reactive protein as a prognostic marker in chronic obstructive pulmonary disease. *Exp Ther Med* 2014;7:443-6. doi: 10.3892/etm.2013.1441.

262. Dikalov SI, Harrison DG. Methods for detection of mitochondrial and cellular reactive oxygen species. *Antioxid Red Signal*. 2014 Jan;20(2):372–382. doi: 10.1089/ars.2012.4886

263. Dikalov SI, Li W, Doughan AK, Blanco RR, Zafari AM. Mitochondrial reactive oxygen species and calcium uptake regulate activation of phagocytic NADPH oxidase. *Am J Physiol Regul Integ Comp Physiol*. 2012 May;302(10):R1134–R1142. doi: 10.1152/ajpregu.00842.2010.

264. Dolinay T, Choi AM, Ryter SW. Heme Oxygenase-1/CO as protective mediators in cigarette smoke- induced lung cell injury and chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012 May;13(6):769-76. [PubMed].

265. Domagala-Kulawik J. Effects of cigarette smoke on the lung and systemic immunity. *J Physiol Pharmacol*. 2008 Dec;59(6):19-34.

266. Donadee C, Raat N-JH, Kaniyas T, Tejero J, Lee JS, Kelley EE, et al. Nitric oxide scavenging by red blood cell microparticles and cell-free hemoglobin as a mechanism for the red cell storage lesion clinical perspective. *Circulation*. 2011;124:465–476. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.008698.

267. Duskova M, Hruskovicova H, Simunkova K, Starka L, Parizek A. The effects of smoking on steroid metabolism and fetal programming. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*. 2014 Jan;139:138-143. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.05.003. [CrossRef] [PubMed]

268. Edwards D. Immunological effects of tobacco smoking in "healthy" smokers. *COPD*. 2009 Feb;6(1):48-58. doi: 10.1080/15412550902724206.

269. Eisner MD, Wang Y, Haight TJ, Balmes J, Hammond SK, Tager IB. Secondhand smoke exposure, pulmonary function, and cardiovascular mortality. *Ann Epidemiol*. 2007 May;17(5):364-73. doi: 10.1016/j.annepidem.2006.10.008.

270. Elsaid A, Abdel-Aziz AF, Elmougy R, Elwaseef AM. Association of polymorphisms G(-174)C in IL-6 gene and G(-1082)A in IL-10 gene with traditional cardiovascular risk factors in patients with coronary artery disease. *Indian J Biochem Biophys*. 2014 Aug;51(4):282-292.



271. El-Sheikh N, Khalil F. L-Arginine and L-glutamine as immunonutrients and modulating agents for oxidative stress and toxicity induced by sodium nitrite in rats. *Food Chem Toxicol.* 2011 Apr;49(4):758-762. doi:10.1016/j.fct. 2010.11.039. [PubMed] [Cross Ref]

272. Emre MH, Aktay G, Polat A, Vardt N. Effects of benzo(a)pyrene and ethanol on oxidative stress of brain, lung tissues and lung morphology in rats. *Chin J Physiol.* 2007 Jun;50(3):143-8. [PubMed]

273. Faoro V, Fink B, Taudorf S, Dehnert C, Berger MM, Swenson ER et al., Acute in vitro hypoxia and high-altitude (4,559 m) exposure decreases leukocyte oxygen consumption. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2011 Jan;300(1):R32–R39. doi: 10.1152/ajpregu.00413.2010.

274. Ferranti SD, Rifai N. C-reactive protein: a nontraditional serum marker of cardiovascular risk. *Cardiovasc. Pathol.* 2007 Jan-Feb;16(1):14-21. doi:10.1016/j.carpath.2006.04.006.

275. Festing S, Wilkinson R. The ethics of animal research. Talking Point on the use of animals in scientific research. *EMBO Rep.*, 2007 Jun;8(6):526–530. doi: 10.1038/sj.embor.7400993. [PubMed]

276. Fetterman JL, Pompilius M, Westbrook DG, Uyeminami D, Brown J, Pinkerton KE et.al. Developmental exposure to second-hand smoke increases adult atherogenesis and alters mitochondrial DNA copy number and deletions in apoE(-/-) mice. *PLoS One.*, 2013 Jun; 8(6):e66835. doi: 10.1371/journal.pone.0066835.

277. Fina BL, Lombarte M, Rigalli JP, Rigalli A. Fluoride increases superoxide production and impairs the respiratory chain in ROS 17/2.8 osteoblastic cells. *PLoS One.* 2014 Jun;9(6):1-6. doi:10.1371/journal.pone.0100768.

278. Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species. *J Cell Biol.* 2011 Jul;1(194):7–15. doi:10.1083/jcb.201102095.

279. Flouris AD, Metsios GS, Carrillo AE, Jamurtas AZ, Gourgouljanis K, Kiropoulos T, et. al. Acute and short-term effects of secondhand smoke on lung

function and cytokine production. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009 Jun 1;179(11):1029-33. doi: 10.1164/rccm.200812-1920OC. [PubMed].

280. Flouris AD, Metsios GS, Jamurtas AZ, Koutedakis Y. Cardiorespiratory and immune response to physical activity following exposure to a typical smoking environment. *Heart.* 2010 Jun;96(11):860-4. doi: 10.1136/hrt.2009.190744. [PubMed].

281. Foster MW, Liu L, Zeng M, Hess DT, Stamler JS. A genetic analysis of nitrosative stress. *Biochemistry.* 2009 Feb 3;48(4):792-9. doi: 10.1021/bi801813n. [PubMed].

282. Fruehauf JP, Meyskens FL. Reactive Oxygen Species: A Breath of Life or Death. *Clin. Cancer Res.* 2007 Feb;13(1):789-794. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2082. [PubMed].

283. Gaber W, Azkalany GS, Gheita TA, et al. Clinical significance of serum interleukin-6 and -174 G/C promoter polymorphism in Rheumatoid arthritis patients. *Egypt Rheumatol.* 2013 Apr;35(2):107-113. doi:10.1016/j.ejr.12.11.002. [PubMed].

284. Gambardella J, Sardu C, Sacra C, Giudice CD, Santulli G. Quit smoking to outsmart atherogenesis: Molecular mechanisms underlying clinical evidence. *Atherosclerosis.* 2017 Aug;257:242-245. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2016.12.010. [PubMed].

285. Gao S, Zhou J, Liu N, Wang L, Gao Q, Wu Y. et al. Curcumin induces M2 macrophage polarization by secretion IL-4 and/or IL-13. *J Mol Cell Cardiol.* 2015 Aug;85:131-9. doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.04.025. [PubMed].

286. Gebel S, Gerstmayer B, Bosio A, Haussmann H, Van Miert E, Müller T. Gene expression profiling in respiratory tissues from rats exposed to mainstream cigarette smoke. *Carcinogenesis.* 2004 Feb;25(2):169-78. doi:10.1093/carcin/bgg193. [PubMed].

287. Gentric G, Maillet V, Paradis V, Couton D, L'Hermitte A, Panasyuk G, et al. Oxidative stress promotes pathologic polyploidization in nonalcoholic fatty

liver disease. *J Clin. Invest.* 2015 Mar;125(3):981-992. doi: 10.1172/JCI73957. [PubMed].

288. Gepner AD, Piper ME, Johnson HM, Fiore MC, Baker TB, Stein JH. Effects of smoking and smoking cessation on lipids and lipoproteins: outcomes from a randomized clinical trial. *Am Heart J.* 2011;161(1):145-51. doi: 10.1016/j.ahj.-2010.09.023/ [PubMed].

289. Ghazizadeh M. Essential role of IL-6 signaling pathway in keloid pathogenesis. *J. Nippon. Med. Sch.* 2007 Feb;74(1):11–22. [PubMed].

290. Ghio AJ, Hilborn ED, Stonehuerner JG, Dailey LA, Carter JD, Richards JH, et.al. Particulate matter in cigarette smoke alters iron homeostasis to produce a biological effect. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008 Dec;178(11):1130-8. doi: 10.1164/rccm.200802-334OC. [PubMed].

291. Gibbs K, Collaco J, McGrath-Morrow S. Impact of Tobacco Smoke and Nicotine Exposure on Lung Development. *Chest.* 2016 Feb;149(2):552-561.doi: 10.1378/chest.15-1858. [PubMed].

292. Gilchrist M, Shore AC, Benjamin N. Inorganic nitrate and nitrite and control of blood pressure. *Cardiovascular Research.* 2011;89:492–498 doi:10.1093/cvr/cvq309. [PubMed].

293. Gladwin M, Grubina R, Doyle M. The new chemical biology of nitrite reactions with hemoglobin: R-state catalysis, oxidative denitrosylation, and nitrite reductase/anhydrase. *Acc Chem Res.* 2009 Jan; 42(1):157-67. doi:10.1021/ar800089j. [PubMed].

294. Goktas C, Cosun A, Bicik Z, Horuz R, Unsal I, Serteser M, et al. Evaluating ESWL-induced renal injury based on urinary TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , and IL-6 levels. *Urol Res.* 2012 Oct;40(5):569-73.doi:10.1007/s00240-012-0467-1. [PubMed].

295. Goncalves S, Paupe V, Dassa E, Briere J-J, Favier J, Gimenez-Roqueplo A-P, et. al. Rapid determination of tricarboxylic acid cycle enzyme activities in biological samples. *BMC Biochemistry.* 2010 Jan;11(5):11-15. doi:10.1186/1471-2091-11-5. [PubMed]

296. Grassi D, Desideri G, Ferri L, Aggio A, Tiberti S, Ferri C. Oxidative stress and endothelial dysfunction: say NO to cigarette smoking! *Curr Pharm Des.* 2010;16(23):2539-50. [PubMed].

297. Gross D, Tolba RH. Ethics in Animal-Based Research. *Eur Surg Res.* 2015 Apr;55(1-2), 43-57. doi:10.1159/000377721. [PubMed]

298. Grubina R, Huang Z, Shiva S, Joshi MS, Azarov I, Basu S, et.al. Concerted nitric oxide formation and release from the simultaneous reactions of nitrite with deoxy- and oxyhemoglobin. *J Biol Chem.* 2007 Apr 27;282(17):12916-27. doi:10.1074/jbc.M700546200. [PubMed].

299. Hagstad S, Bjerg A, Ekerljung L, Backman H, Lindberg A, Rönmark E, et.al. Passive smoking exposure is associated with increased risk of COPD in never smokers. *Chest.*, 2014 Jun;145(6):1298-304. doi:10.1378/chest.13-1349. [PubMed].

300. Hagstad S, Bjerg A, Ekerljung L, Backman H, Lindberg A, Ronmark E, et.al. Passive smoking exposure is associated with increased risk of COPD in never smokers. *Chest.* 2014 Jun;145:1298-1304. doi: 10.1378/chest.13-1349. [PubMed]

301. Halima B, Sarra K, Kais R, Salwa E, Najoua G. Indicators of oxidative stress in weanling and pubertal rats following exposure to nicotine via milk. *Hum Exp Toxicol.* 2010 Jun;29(6):489–496. doi:10.1177/0960327109354440. [PubMed].

302. Harrison CM, Pompilius M, Pinkerton KE, Ballinger SW. Mitochondrial oxidative stress significantly influences atherogenic risk and cytokine-induced oxidant production. *Environ Health Perspect.* 2011 May; 119(5):676-81. doi: 10.1289/ehp.1002857. [PubMed]

303. Harvey M, Cave G, Chanwai G. Fatal methaemoglobinaemia induced by self-poisoning with sodium nitrite. *Emerg. Med. Australas.* 2010 Oct;22(5):463-465. [PubMed] [View at Publisher] · [View at Google Scholar] · [View at Scopus]

304. He S, Rehman H, Wright GL, Zhong Z. Inhibition of inducible nitric oxide synthase prevents mitochondrial damage and improves survival of steatotic partial liver grafts. *Transplantation.* 2010 Feb;89(3):291–298. doi:10.1097/TP.0b013e3181c99185. [PubMed].

305. Heijink IH, Pouwels SD, Leijendekker C, de Bruin HG, Zijlstra GJ, van der Vaart H, et al. Cigarette smoke-induced damage-associated molecular pattern release from necrotic neutrophils triggers proinflammatory mediator release. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2015 May;52(5):554-62. doi: 10.1165/rcmb.2013-0505OC. [PubMed].

306. Heikkilä K, Harris R, Lowe G, et al. Associations of circulating C-reactive protein and interleukin-6 with cancer risk: findings from two prospective cohorts and a meta-analysis. *Cancer Causes Control.* 2009;20:15–26. doi: 10.1007/s10552-008-9212-z. [PubMed].

307. Helmke SM, Duncan MW. Measurement of the NO metabolites, nitrite and nitrate, in human biological fluids by GC-MS. *J Chromatography.* 2007 Jun;851(1-2):83-92. doi:10.1016/j.jchromb.2006.09.047. [PubMed].

308. Helms CC, Gladwin MT, Kim-Shapiro DB. Erythrocytes and Vascular Function: Oxygen and Nitric Oxide. *Front. Physiol.* 2018 Feb;125(9):1-9. doi:10.3389/fphys.2018.00125. [PubMed].

309. Hua P, Feng W, Ji S, Raij L, Jaimes EA. Nicotine worsens the severity of nephropathy in diabetic mice: implications for the progression of kidney disease in smokers. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010 Oct;299(4):F732-9. doi: 10.1152/ajprenal.00293.2010. [PubMed].

310. Huang XJ, Choi YK, Im HS, Yarimaga O, Yoon E, Kim HS. Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) and Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Detection Techniques. *Sensors (Basel).* 2006 Jul; 6(7): 756–782. [PubMed].

311. Hubeau C, Kubera JE, Masek-Hammerman K, Williams CM. Interleukin-6 neutralization alleviates pulmonary inflammation in mice exposed to cigarette smoke and poly(I:C). *Clin. Sci.(Lond).* 2013 Nov;125:483–493. doi: 10.1042/CS20130110. [PubMed]

312. Ichiki T. Collaboration between smokers and tobacco in endothelial dysfunction. *Cardiovascular Research.* 2011 June;90(3,1):395–396. doi:10.1093/cvr/cvr085.

313. Ignatowicz E, Woźniak A, Kulza M, Seńczuk-Przybyłowska M, Cimino F, Piekoszewski W, et.al. Exposure to alcohol and tobacco smoke causes oxidative stress in rats. *Pharmacological Reports*. 2013;65(4):906-913. doi: 10.1016/S1734-1140(13)71072-7. [PubMed].

314. Imlay JA. The mismetallation of enzymes during oxidative stress. *J Biol Chem*. 2014 Oct;289(41):28121-8. doi: 10.1074/jbc.R114.588814. [PubMed].

315. Isajevs S, Isajeva D, Beitnere U, Jansone B, Kalvinsh I, Klusa V. Mildronate as a regulator of protein expression in a rat model of Parkinson's disease. *Medicina (Kaunas)*, 2011;47(10): 552–559. [PubMed].

316. Ivanov I, Gluhcheva Y, Petrova E, Antonova N. Hemorheological changes and hematometric erythrocyte characteristics in rats after sodium nitrite intoxication. *Korea Australia Rheology Journal*. 2014 May;26(2):225-228. doi: 10.1007/s13367-014-0025-1. [PubMed] [Cross Ref].

317. Jambunathan N. Determination and detection of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation, and electrolyte. *Methods Mol Biol*. 2010;639:292-8. doi:10.1007/978-1-60761-702-0\_18. [PubMed].

318. Jannot AS, Agoritsas T, Gayet-Ageron A, Perneger TV. Citation bias favoring statistically significant studies was present in medical research. *J Clin Epidemiol*. 2013 Mar;66(3):296-301. doi:10.1016/j.jclinepi.2012.09.015. [PubMed]

319. Jansen EH, Beekhof P, Ruskovska T. The effect of smoking on biomarkers of (anti) oxidant status. *Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis*. 2015:2014. doi:10.4172/2155-9929.1000207. [PubMed].

320. Jargin SV. Meldonium (Mildronate): Primum non nocere. *Pharmacological Research*. 2016 Dec;114:294. doi:10.1016/j.phrs.2016.10.004. [PubMed].

321. Jaroenpool J, Pattanapanyasat K, Noonin N, Prachongsai I. Aberrant neutrophil function among heavy smokers and chronic obstructive pulmonary disease patients. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*. 2016;34:278-283 doi:10.12932/AP0724. [PubMed].

322. Jensen FB. Nitric oxide formation from the reaction of nitrite with carp and rabbit hemoglobin at intermediate oxygen saturations. *FEBS J.* 2008 Jul;275(13):3375-87. doi: 10.1111/j.1742-4658.2008.06486.x. [PubMed].

323. Jensen FB. The role of nitrite in nitric oxide homeostasis: a comparative perspective. *Biochim Biophys Acta.* 2009 Jul;1787(7):841-8. doi: 10.1016/j.bbabbio.2009.02.010. [PubMed].

324. Jia HY, et al. Potential oxidative stress of gold nanoparticles by induced-NO releasing in serum. *Journal of the American Chemical Society* 2009;131:40–41. doi: 10.1021/ja808033w. [PubMed].

325. Jia L, Liu Z, Sun L, Miller SS, Ames BN, Cotman CW; Liu J. Acrolein, a Toxicant in Cigarette Smoke, Causes Oxidative Damage and Mitochondrial Dysfunction in RPE Cells: Protection by (R)- $\alpha$ -Lipoic Acid. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2007Jan;48:339-348. doi:10.1167/iovs.06-0248. [PubMed].

326. Jones AJ, Hirst J. A spectrophotometric coupled enzyme assay to measure the activity of succinate dehydrogenase. *Anal. Biochem.* 2013 Nov;442(1):19–23. doi: 10.1016/j.ab.2013.07.018. [PubMed].

327. Kaľucka S. Consequences of passive smoking in home environment. *Przeł Lek.* 2007;64(10):632-41. [PubMed].

328. Kamceva G, Arsova-Sarafinovska Z, Ruskovska T, Zdravkovska M, Kamceva-Panova L, Stikova E. Cigarette Smoking and Oxidative Stress in Patients with Coronary Artery Disease. *Open Access Maced J Med Sci.* 2016 Dec 15; 4(4): 636–640. doi: 10.3889/oamjms.2016.117. [PubMed].

329. Kaur M. C-reactive protein: A prognostic indicator. *International Journal of Applied and Basic Medical Research.* 2017;7(2):83-84. doi: 10.4103/ijabmr.IJABMR\_63\_17. [PubMed].

330. Kim SY, Lee JH, Huh JW, Ro JY, Oh YM, Lee SD, et.al. Cigarette smoke induces Akt protein degradation by the ubiquitin-proteasome system. *J Biol Chem.* 2011 Sep;286(37):31932-43. doi: 10.1074/jbc.M111.267633. [PubMed].

331. Kim-Shapiro DB, Schechter AN, Gladwin MT. Unraveling the reactions of nitric oxide, nitrite, and hemoglobin in physiology and therapeutics. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006 Apr;26(4):697-705. doi:10.1161/01.ATV.0000204350.44226.9a. [PubMed].

332. Kiral F, Ulutas PA, Fidanci UR. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rats exposed to cigarette smoke. *Ankara Univ. Vet. Fac. Derg.* 2008;117(6):145-148. [PubMed].

333. Klusa V, Muceniece R, Isajevs S, Isajeva D, Beitnere U, Mandrika I, et.al. Mildronate enhances learning/memory and changes hippocampal protein expression in trained rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2013 May;106:68-76. doi: 10.1016/j.pbb.2013.03.012. [PubMed].

334. Klusa V, Beitnere U, Pupure J, Isajevs S, Rumaks J, Svirskis S, et.al. Mildronate and its neuroregulatory mechanisms: targeting the mitochondria, neuroinflammation, and protein expression. *Medicina (Kaunas).* 2013;49(7):301-9. [PubMed].

335. Koob TJ, Lim JJ, Zabek N, Masee M. Cytokines in single layer amnion allografts compared to multilayeramnion/chorion allografts for wound healing. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2015 Jul;103(5):1133-40. doi: 10.1002/jbm.b.33265. [PubMed].

336. Kregel KC, Zhang HJ. An integrated view of oxidative stress in aging: Basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007 Jan;292(1):R18–R36. doi: 10.1152/ajpregu.00327.2006. [PubMed].

337. Kregiel D. Succinate Dehydrogenase of *Saccharomyces cerevisiae* – The Unique Enzyme of TCA Cycle – Current Knowledge and New Perspectives. *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology* » "Dehydrogenases", book edited by Rosa Angela Canuto; 2012, c. 210-234. doi:10.5772/48413. [PubMed].

338. Krzych-Falta E, Modzelewska D, Samolinski B. Levels of exhaled carbon monoxide in healthy active and passive smokers. *Przegl. Lek.* 2015;72:99-102. [PubMed]



339. Kuka J, Vilskersts R, Cirule H, Makrecka M, Pugovics O, Kalvinsh I, et.al. The cardioprotective effect of mildronate is diminished after co-treatment with L-carnitine. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2012 Jun;17(2):215-22. doi: 10.1177/1074248411419502. [PubMed].

340. Kuznetsov A, Kehrer I, Kozlov A, Haller M, Redl H, Hermann M, et.al. Mitochondrial ROS production under cellular stress: comparison of different detection methods. *Anal Bioanal Chem.* 2011 Jun;400(8):2383-90. doi:10.1007/s00216-011-4764-2. [PubMed]

341. Labunskyy VM, Gladyshev VN. Role of reactive oxygen species-mediated signaling in aging. *Antioxid Red Signal.* 2013 Oct;19(12):1362–1372. doi: 10.1089/ars.2012.4891. [PubMed].

342. Lagente V, Planquois J, Leclerc O, Schmidlin F, Bertrand C. Oxidative stress is an important component of airway inflammation in mice exposed to cigarette smoke or lipopolysaccharide. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2008 May; 35(5-6):601-5. doi:10.1111/j.1440-1681.2007.04848.x. [PubMed].

343. Lakatos PL, Szamosi T, Lakatos L. Smoking in inflammatory bowel diseases: good, bad or ugly? *World J Gastroenterol.* 2007;13:6134–9. [PubMed]

344. Lang NN, Gudmundsdóttir IJ, Boon NA, Ludlam CA, Fox KA, Newby DE. Marked impairment of protease-activated receptor type 1-mediated vasodilation and fibrinolysis in cigarette smokers: smoking, thrombin, and vascular responses in vivo. *J Am Coll Cardiol.* 2008 Jul 1;52(1):33-9. doi: 10.1016/j.jacc.2008.04.003. [PubMed].

345. Lau WK, Mak JC, Chan KH, Law AC. Cigarette smoke-induced cerebral cortical interleukin-6 elevation is not mediated through oxidative stress. *Neurotoxicity Research.* 2012 Aug;22(2):170–176. [PubMed].

346. Leslie FM. Multigenerational epigenetic effects of nicotine on lung function. *BMC Med.* 2013 Feb;11:27. doi: 10.1186/1741-7015-11-27.[PubMed]

347. Leuenberger P, Schwartz J, Ackermann-Liebrich U, Blaser K, Bolognini G, Bongard JP, et.al. Passive smoking exposure in adults and chronic respiratory symptoms (SAPALDIA Study). *Swiss Study on Air Pollution and Lung Diseases in*

Adults, SAPALDIA Team. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Nov;150(5 Pt 1):1222-1228. doi:10.1164/ajrccm.150.5.7952544. [PubMed].

348. Li H, Hemann C, Abdelghany TM, El-Mahdy MA, Zweier JL. Characterization of the mechanism and magnitude of cytoglobin-mediated nitrite reduction and nitric oxide generation under anaerobic conditions. *J. Biol. Chem*. 2012;287:36623–36633. doi: 10.1074/jbc.M112.342378. [PubMed].

349. Liebsch M, Grune B, Seiler A, Butzke D, Oelgeschläger M, Pirow R, et.al. Alternatives to animal testing: current status and future perspectives. *Arch Toxicol*. 2011 Aug;85(8):841–858. doi: 10.1007/s00204-011-0718-x. [PubMed].

350. Liu C, Wajih N, Liu X, Basu S, Janes J, Marvel M, et al. Mechanisms of human erythrocytic bioactivation of nitrite. *J. Biol. Chem*. 2015;290:1281–1294. doi: 10.1074/jbc.M114.609222. [PubMed].

351. Lo RV, Haynes K, Forde KA, Goldberg DS, Lewis JD, Carbonari DM, Leidl KB, et.al. Risk of Acute Liver Failure in Patients With Drug-Induced Liver Injury: Evaluation of Hy's Law and a New Prognostic Model. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015 Dec;13(13):2360-8. doi: 10.1016/j.cgh.2015.06.020. [PubMed].

352. Loddenkemper R, Kreuter M. The Tobacco Epidemic. *Prog Respir Res*. 2015;42:37-46. doi:10.1159/000369323. [PubMed].

353. Looney MR, Matthay MA. Neutrophil sandwiches injure the microcirculation. *Nat. Med.*, 2009 Apr;15(4):364–366. doi:10.1038/nm0409-364. [PubMed].

354. Lovric J, Mesi M, Macan M, Koprivanac M, Kelava M, Bradamante V. Measurement of malondialdehyde (MDA) level in rat plasma after simvastatin treatment using two different analytical methods. *Periodicum Biologorum*. 2008;61(1):63–67. [PubMed].

355. Lockett-Chastain LR, Gallucci RM. Interleukin (IL)-6 modulates transforming growth factor-beta expression in skin and dermal fibroblasts from IL-6-deficient mice. *Br. J. Dermatol*. 2009 Aug;161(2): 237–248. doi: 10.1111/j.1365-2133.2009.09215.x. [PubMed].

356. Lundberg J, Weitzberg E, Gladwin M. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat. Rev. Drug Disc.* 2008;7:156. doi: 10.1038/nrd2466. [PubMed].
357. Lundberg JO, Gladwin MT, Weitzberg E. Strategies to increase nitric oxide signalling in cardiovascular disease. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2015;14:623–641. doi: 10.1038/nrd4623. [PubMed].
358. Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat. Rev. Drug Discovery.* 2008 Feb;7(2):156-67. doi: 10.1038/nrd2466. [PubMed].
359. Lundberg JO, Weitzberg E. NO generation from inorganic nitrate and nitrite: Role in physiolog. *Arch Pharm Res.* 2009 Aug;32(8):1119-26. doi: 10.1007/s12272-009-1803-z. [PubMed].
360. Luo L, Schomaker S, Houle C, Aubrecht J, Colangelo JL. Evaluation of serum bile acid profiles as biomarkers of liver injury in rodents. *Toxicol Sci.* 2014 Jan;137(1):12-25. doi: 10.1093/toxsci/kft221. [PubMed].
361. Lyhatskiy PG, Fira LS. 7th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry. Age-related changes in the protection systems of rats organism after the intoxication by sodium nitrite; 2013 May 23-24; Lviv, Львів: Львів.Нац.мед.ун-т ім. Данила Галицького; 2013.
362. Lykhatskyi PH, Fira LS, Lisnychuk N, Kulitska MI. Effect of tobacco smoke on ros production and inflammation in rats of different age. *Georgian Medical News* 2018;2(275):150-157.
363. Lykhatskyi PH, Fira LS. 8th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry. Research of activity of oxidative and inflammation processes in the rat s of different ages after their affection by tobacco smoke.; 2017 Sep 18-20; Poland, AU. Lublin (AU); 2017.
364. Lykhatskyi PH., Fira LS. Activity of oxidative processes in the rats' body of different age, affected by sodium nitrite, on the background of tobacco intoxication. *The Pharma Innovation.* 2017;6(6):18-24.

365. Lykhatskyi PH., Fira LS. Free radicals and inflammation in rats of different age in cases of sodium nitrites and tobacco smoke poisoning. *International Journal of Medicine and Medical Research*. 2017;1(3):84-88. doi: 10.11603/ijmmr.2413-6077.2017.1.7923.

366. Lykhatskyi PH., Fira LS. Experimental study of the toxic effects of tobacco smoke and nitrites on the body of immature and mature rats. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017;1(48):12-16. doi: 10.24959/ubphj.17.91.

367. Maduell F, Sánchez-Canel JJ, Blasco JA, Navarro V, Ríus A, Torregrosa E, et.al. Middle molecules removal. Beyond beta2-microglobulin. *Nefrologia*. 2006;26(4):469-75. [PubMed]

368. Maher AR, et al. Hypoxic modulation of exogenous nitrite-induced in humans. *Circulation* 2008;117:670–677. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.719591. [PubMed].

369. Makrecka M, Svalbe B, Volska K, Sevostjanovs E, Liepins J, Grinberga S, et al. Mildronate, the inhibitor of L-carnitine transport, induces brain mitochondrial uncoupling and protects against anoxia-reoxygenation. *Eur. J. Pharmacol.*, 2014 Jan;723:55-61. doi: 10.1016/j.ejphar.2013.12.006.

370. Maksymova I. The Process of Protein Oxidative Modification and Lipid Peroxidation Activity in Rats under Prolonged Imidazoline Mixture Action. *Галицький лікарський вісник*. 2015;22(3):20-22.

371. Malinska D, Szymański J, Patalas-Krawczyk P, Michalska B, Wojtala A, Prill M, et.al. Assessment of mitochondrial function following short- and long-term exposure of human bronchial epithelial cells to total particulate matter from a candidate modified-risk tobacco product and reference cigarettes. *Food and Chemical Toxicology*. 2018 May;115:1-12. doi:10.1016/j.fct.2018.02.013.

372. Matsunaga Y, Vardavas CI, Plada M, Wärnberg J, Gómez-Martinez S, Tzatzarakis MN, et. al. The relationship between cotinine concentrations and inflammatory markers among highly secondhand smoke exposed non-smoking adolescents. *Cytokine*. 2014 Mar;66(1):17-22. doi: 10.1016/j.cyto.2013.12.007. [PubMed].

373. McGill M. The past and present of serum aminotransferases and the future of liver injury biomarkers. *EXCLI J.* 2016;15(15):817-828.doi: 10.17179/excli2016-800. [PubMed].

374. Megson IL, Haw SJ, Newby DE, Pell JP. Association between Exposure to Environmental Tobacco Smoke and Biomarkers of Oxidative Stress Among Patients Hospitalised with Acute Myocardial Infarction. *PLoS ONE.* 2013;8(12):e81209. doi: 10.1371/journal.pone.0081209 . [PubMed]

375. Meisgen T, Roemer E, Conroy L, Hostens J, Vasquez M, Humeny A, et.al. Cigarette-Smoke- and Age-Dependent Oxidative Stress Effects in Rats. *BTFI J.* 2014 Sep;26(3):109-120. doi: 10.2478/cttr-2014-0014. [PubMed].

376. Melikian AA, Djordjevic MV, Chen S, Richie J Jr, Stellman SD. Effect of delivered dosage of cigarette smoke toxins on the levels of urinary biomarkers of exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007 Jul;16(7):1408-15. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-06-1097 [PubMed]

377. Merritt TA, Mazela J, Adamczak A, Merritt T. The impact of second-hand tobacco smoke exposure on pregnancy outcomes, infant health, and the threat of third-hand smoke exposure to our environment and to our children. *Przegl Lek.* 2012;69(10):717-20.

378. Messner B, Bernhard D. Smoking and cardiovascular disease: mechanisms of endothelial dysfunction and early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014 Mar;34(3):509-15. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.300156. [PubMed].

379. Metsios GS, Flouris AD, Angioi M, Koutedakis Y. Passive Smoking and the Development of Cardiovascular Disease: A Systematic Review. *Cardiology Research and Practice.* 2011;2011:587650, 6 pages doi:10.4061/2011/587650. [PubMed].

380. Metta S, Basalingappa DR, Uppala S, Mitta G. Erythrocyte Antioxidant Defenses Against Cigarette Smoking in Ischemic Heart Disease. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* 2015;9(6):8–11. doi:10.7860/jcdr/2015/12237.-6128. [PubMed]

381. Meyer J, Leung M, Rooney J, Sendoel A, Hengartner M, Kisby G, et.al. Mitochondria as a target of environmental toxicants sodium nitrite. *Toxicol Sci.* 2013 Jul;134(1):1-17. doi: 10.1093/toxsci/kft102. [PubMed].
382. Miro O, Alonso J, Jarreta D, Casademont J, Urbano-Marquez A, Cardellach F. Smoking disturbs mitochondrial respiratory chain function and enhances lipid peroxidation on human circulating lymphocytes. *Carcinogenesis*, 2009 Jul; 20(7):1331-1336. doi:10.1093/carcin/20.7.1331. [PubMed]
383. Miyazaki M, Rosenblum JS, Kasahara Y, Nakagawa I, Patricelli MP. Determination of enzymatic source of alanine aminotransferase activity in serum from dogs with liver injury. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2009 Nov-Dec;60(3):307-15. doi: 10.1016/j.vascn.2009.09.001.
384. Mora S, Musunuru K, Blumenthal RS. The clinical utility of high-sensitivity C-reactive protein in cardiovascular disease and the potential implication of JUPITER on current practice guidelines. *Clin Chem.* 2009 Feb;55(2):219-28. doi: 10.1373/clinchem.2008.109728.
385. Mrakic-Sposta S, Gussoni M, Montorsi M, Porcelli S, Vezzoli A. Assessment of a standardized ROS production profile in humans by electron paramagnetic resonance. *Oxid Med Cell Longev.* 2012;2012:973927. doi: 10.1155/2012/973927.
386. Muriel P. Role of free radicals in liver diseases. *Hepatol. Int.* 2009;3(4):526–536. doi: 10.1007/s12072-009-9158-6.
387. Nam J, Park K, Park E, Lee YB, Lee HG, Baik HH, et al. Interleukin-13/-4-induced oxidative stress contributes to death of hippocampal neurons in a $\beta$ 1-42-treated hippocampus in vivo. *Antioxid Redox Signal.* 2012 Jun;16(12):1369-83. doi: 10.1089/ars.2011.4175.
388. Ng M, Freeman M, Fleming T, Robinson M, Dwyer-Lindgren L, Thomson B, et.al. Smoking prevalence and cigarette consumption in 187 countries. *JAMA* 2014 Jan;311(2):183-192. doi:10.1001/jama.2013.284692.
389. Niatetskaya ZV, Sosunov SA, Matsiukevich D, Utkina-Sosunova IV, Ratner VI, Starkov AA, et.al. The oxygen free Radicals originating from

mitochondrial complex I contribute to oxidative brain injury following hypoxia – ischemia in neonate mice. *J. Neurosci.* 2012 Feb;32(9):3235–3244. doi: 10.1523/JNEUROSCI.6303-11.2012.

390. Nikolaidis MG, Jamurtas AZ. Blood as a reactive species generator and redox status regulator during exercise. *Arch Biochem Biophys.* 2009 Oct;490(2):77–84. doi: 10.1016/j.abb.2009.08.015.

391. Nikota JK, Stämpfli MR. Cigarette smoke-induced inflammation and respiratory host defense: Insights from animal models. *Pulm Pharmacol Ther.* 2012 Aug;25(4):257-62. doi: 10.1016/j.pupt.2012.05.005.

392. Nillawar Anup N, Bardapurkar JS, Bardapurkar SJ. High sensitive C-reactive protein as a systemic inflammatory marker and LDH-3 isoenzyme in chronic obstructive pulmonary disease. *Lung India.* 2012 Jan-Mar; 29(1): 24–29. doi: 10.4103/0970-2113.92358.

393. Ning Y, Shang Y, Huang H, Zhang J, Dong Y, Xu W, Li Q. Attenuation of Cigarette Smoke-Induced Airway Mucus Production by Hydrogen-Rich Saline in Rats. *PLoS One.* 2013 Dec;8(12):e83429. doi: 10.1371/journal.pone.0083429

394. Nita M, Grzybowski A. The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxid Med. Cell. Longev.* 2016;2016:3164734:23. doi:10.1155/2016/3164734

395. Noar SM, Hall MG, Francis DB, Ribisl KM, Pepper JK, Brewer NT. Pictorial cigarette pack warnings. *Tob Control.* 2016 May;25(3):341-54. doi: 10.1136/tobaccocontrol-2014-051978.

396. Nolan Y, Maher FO, Martin DS, Clarke RM, Brady MT, Bolton AE, et al. Role of interleukin-4 in regulation of age-related inflammatory changes in the hippocampus. *J. Biol. Chem.* 2005 Mar;280(10): 9354–9362. doi: 10.1074/jbc.M412170200.

397. Novitskiy G, Potter JJ, Wang L, Mezey E. Influences of reactive oxygen species and nitric oxide on hepatic fibrogenesis. *Liver Int.* 2006 Dec;26(10):1248–1257. doi: 10.1111/j.1478-3231.2006.01364.x.

398. Noya Y, Sek, K, Asano H, Ma, Y, Horinouchi T, Higashi T, Terada K, et al. Identification of stable cytotoxic factors in the gas phase extract of cigarette smoke and pharmacological characterization of their cytotoxicity. *Toxicology* 2013 Dec;314(1):1-10. doi: 10.1016/j.tox.2013.08.015. [PubMed]

399. O’Loughlin J, Lambert M, Karp I, et al. Association between cigarette smoking and C-reactive protein in a representative, population-based sample of adolescents. *Nicotine Tob Res.* 2008;10:525–32. doi: 10.1080/1462220080190-1997. [PubMed]

400. Odewumi C, Latinwo L, Ruden M. Badisa VL, Fils-Aime S, Badisa RB. Modulation of cytokines and chemokines expression by NAC in cadmium chloride treated human lung cells. *Environ Toxicol.* 2016 Nov;31(11):1612-1619. doi: 10.1002/tox.22165.

401. Ogawa K, Suzuki K, Okutsu M, Yamazaki K, Shinkai S. The association of elevated reactive oxygen species levels from neutrophils with low-grade inflammation in the elderly. *Immun Ageing.* 2008 Oct;5:1-8. doi:10.1186/1742-4933-5-13

402. Okeh U. Statistical problems in medical research. *East Afr J Public Health.* 2009 Apr;6(1):1-7. [PubMed].

403. O-Uchi JO, Ryu SY, Jhun BS, Hurst S, Sheu SS. Mitochondrial ion channels/transporters as sensors and regulators of cellular redox signaling. *Antioxid. Redox Signal.* 2014 Aug;21(6):987-1006 doi:10.1089/ars.2013.5681.

404. Ozaki K, Hori T, Ishibashi T, Nishio M, Aizawa Y. Effects of chronic cigarette smoking on endothelial function in young men. *J Cardiol.* 2010 Nov;56(3):307-13. doi: 10.1016/j.jjcc.2010.07.003. [PubMed].

405. Ozen H, Kamber U, Karaman M, Gül S, Atakişi E, Ozcan K, et al. Biochemical and genotoxic investigations on chronic sodium nitrite toxicity in



mice. *Exp Toxicol Pathol*. 2014 Oct;66(8):367–375. doi: 10.1016/j.etp.2014.05.003. [PubMed]

406. Ozer J, Ratner M, Shaw M, Bailey W, Schomaker S. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*. 2008 Mar;245(3), 194-205. doi: 10.1016/j.tox.2007.11.021. [PubMed].

407. Pace E, Ferraro M, Di Vincenzo S, Gerbino S, Bruno A, Lanata L, et.al. Oxidative stress and innate immunity responses in cigarette smoke stimulated nasal epithelial cells. *Toxicol In Vitro*. 2014 Mar;28(2):292-9. doi: 10.1016/j.tiv.2013.11.0

408. Padmavathi P, Raghu PS, Vaddi Reddy D, Bulle S, Marthadu SB, Maturu P, et.al. Chronic cigarette smoking-induced oxidative/nitrosative stress in human erythrocytes and platelets. *Molec. Cell Toxicol*. 2018 Jan;14(1):27–34. doi: 10.1007/s13273-018-0004-6.

409. Papathanasiou G, Georgakopoulos D, Papageorgiou E, Zerva E, Michalis L, Kalfakou V, et al. Effects of smoking on heart rate at rest and during exercise, and on heart rate recovery in young adults. *Hellenic J Cardiol*. 2013; 54:168-177.

410. Pappas RS, Polzin GM, Zhang L, Watson C, H Paschal DC, Ashley DL. Cadmium, lead, and thallium in mainstream tobacco smoke particulate. *Food Chem Toxicol*. 2006 May; 44(5):714-23. doi: 10.1016/j.fct.2005.10.004. [PubMed]

411. Pappas RS. Toxic elements in tobacco and in cigarette smoke: inflammation and sensitization. *Metallomics*. 2011 Nov;3(11):1181-98. doi: 10.1039/c1mt00066g.

412. Parihar A, Parihar MS, Milner S, Bhat S. Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury. *Burns*. 2008 Feb;34(1):6-17. doi: 10.1016/j.burns.2007.04.009.

413. Paumgarten FJ-R, Gomes-Carneiro MR, Amado Xavier de Oliveira AC. The impact of tobacco additives on cigarette smoke toxicity: a critical appraisal of tobacco industry studies. *Cad. Saúde Pública* 2017;33(3):40-59. doi: 10.1590/0102-311X00132415

414. Pereira C, Ferreira NR, Rocha BS, Barbosa RM, Laranjinha J. The redox interplay between nitrite and nitric oxide: From the gut to the brain. *Redox Biol.* 2013 May;1:276-84. doi: 10.1016/j.redox.2013.04.004.

415. Perfetti TA, Rodgman A. The Complexity of Tobacco and Tobacco Smoke. *Contributions to Tobacco Research.* 2011;24(5):215-232. doi: 10.2478/cttr-2013-0902.

416. Pickering AM, Vojtovich L, Tower J, A Davies KJ. Oxidative stress adaptation with acute, chronic, and repeated stress. *Free Radic Biol Med.* 2013 Feb;55:109–118. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.11.001. [PubMed].

417. Pileri D, Palombo AA, D'Amelioetal L, D'Arpa N, Amato G, Maselli s A, et.al. Concentrations of cytokines IL-6 and IL-10 in plasma of burn patients: their relationship to sepsis and outcome. *Ann Burns Fire Disasters.* 2008 Dec;21(4):182-185.

418. Pilkauskaite G, Miliauskas S, Sakalauskas R. Reactive oxygen species production in peripheral blood neutrophils of obstructive sleep apnea patients. *ScientificWorldJournal.* 2013 May 12;2013:421763. doi: 10.1155/2013/421763. [PubMed].

419. Pinho RA, Chiesa D, Mezzomo KM, Andrades ME, Bonatto F, Gelain D, et.al. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease patients submitted to a rehabilitation program. *Respirat. Med.* 2007;101:1830–1835. doi: 10.1016/j.rmed.2007.02.004. [PubMed]

420. Pinto-Plata VM, Müllerova H, Toso JF, Feudjo-Tepie M, Soriano JB, Vessey RS, et al. C-reactive protein in patients with COPD, control smokers and nonsmokers. *Thorax.* 2006 Jan;61(1):23-8. doi: 10.1136/thx.2005.042200.

421. Pouwels SD, Zijlstra GJ, van der Toorn M, Hesse L, Gras R, Ten Hacken NH, et.al. Cigarette smoke-induced necroptosis and DAMP release trigger neutrophilic airway inflammation in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2016 Feb;310(4):L377-86. doi: 10.1152/ajplung.00174.2015.

422. Powers SK, Talbert EE, Adhietty PJ. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. *J. Physiol.* 2011 May;589(9), 2129–2138. doi: 10.1113/jphysiol.2010.201327.

423. Poyton RO, Ball KA, Castello PR. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling and nitrogen species. *Trends Endocrinol. Metab.* 2009 Sep;20(7), 332–340. doi: 10.1016/j.tem.2009.04.001.

424. Prasad K, Dhar I, Caspar-Bell G. Role of advanced glycation end products and its receptors in the pathogenesis of cigarette smoke-induced cardiovascular disease. *Int. J. Angiol.* 2015 Jun;24(2):75-80. doi: 10.1055/s-0034-1396413. [PubMed]

425. Protano C, Andreoli R, Manini P, Guidotti M, Vitali M. A tobacco-related carcinogen: Assessing the impact of smoking behaviours of cohabitants on benzene exposure in children. *Tob. Control* 2012 May;21(3):325-329. doi:10.1136/tc.2010.039255 [PubMed].

426. Quinlan CL, Goncalves RLS, Hey-Mogensen M, Yadava N, Bunik VI, Brand MD, The 2-oxoacid dehydrogenase complexes in mitochondria can produce superoxide/hydrogen peroxide at much higher rates than complex I. *J Biol Chem.* 2014 Mar;289(12):8312–8325. doi: 10.1074/jbc.M113.545301. [PubMed]

427. Rasmussen DB, Jacobsen VB. Severe recurrent carbon monoxide poisoning caused by smoking. *Ugeskr Laeger.* 2015 Jan 26;177(2A):78-9.

428. Rassaf T, Lauer T, Heiss C, Balzer J, Mangold S, Leyendecker T, et.al. Nitric oxide synthase-derived plasma nitrite predicts exercise capacity. *Br J Sports Med.* 2007;41:669–673. doi: 10.1136/bjism.2007.035758.

429. Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling* 2012 May;24(5):981–990. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.01.008.

430. Reh DD, Lin SY, Clipp SL, Irani L, Alberg AJ, Navas-Acien A. Secondhand tobacco smoke exposure and chronic rhinosinusitis: a population-based case-control study. *Am J Rhinol Allergy.* 2009 Nov-Dec;23(6):562-567. doi: 10.2500/ajra.2009.23.3377.

431. Nolan Y, Rohatgi A, McMahon K, Wolfe ML, Pinto SC, Rhodes T, et. al. Plasma cytokines, metabolic syndrome, and atherosclerosis in humans. *J. Invest. Med.* 2007 Jan;55(1): 26–35.

432. Reitman S, Frankel S. Definition of biochemical indicators of the toxicity of liver. *Amer. J. Clin. Path.* 1957;28(1):56–60.

433. Rezonzew G, Chumley P, Feng W, Hua P, Siegal GP, Jaimes EA. Nicotine exposure and the progression of chronic kidney disease: role of the  $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptor. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2012 Jul;303(2):304-12. doi: 10.1152/ajprenal.00661.2011.

434. Rhee SG, Chang TS, Jeong W, Kang D. Methods for detection and measurement of hydrogen peroxide inside and outside of cells. *Mol Cells.* 2010 Jun;29(6):539-49. doi: 10.1007/s10059-010-0082-3

435. Ribou AC. Synthetic Sensors for Reactive Oxygen Species Detection and Quantification: A Critical Review of Current Methods. *Antioxid Redox Signal.* 2016 Sep;25(9):520-33. doi: 10.1089/ars.2016.6741.

436. Rifkind JM, Nagababu E. Hemoglobin redox reactions and red blood cell aging. *Antioxid Redox Signal.* 2013 Jun 10;18(17):2274-83. doi: 10.1089/ars.2012.4867.

437. Robinson, AB, Stogsdill JA, Lewis JB, Wood TT, Reynolds PR. Rage and tobacco smoke: Insights into modeling chronic obstructive pulmonary disease. *Front. Physiol.* 2012 May;3:301. doi: 10.3389/fphys.2012.00301 [PubMed]

438. Rocha BS, Gago B, Barbosa RM, Lundberg JO, Radi R, Laranjinha J. Intra-gastric nitration by nitrite: implications for modulation of protein and lipid signaling. *Free Radic Biol Med.* 2012 Feb;52(3):693-8. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.11.011.

439. Rocha BS, Gago B, Pereira C, Barbosa RM, Bartesaghi S, Lundberg JO, et.al. Nitrite in nitric oxide biology: a redox interplay with implications for pathophysiology and therapeutics. *Curr Drug Targets.* 2011 Aug;12(9):1351-63. [PubMed]

440. Romero F, Bosch-Morell F, Romero M, Jareno E, Romero B, Marin N. Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease. *Environ Health Perspect.* 2008 Oct;106(5):1229–1234.

441. Roza SJ, Verburg BO, Jaddoe VW, Hofman A, Mackenbach JP, Steegers EA, et.al. Effects of maternal smoking in pregnancy on prenatal brain development. The generation R study. *Eur. J. Neuroscience.* 2007 Feb;25(3):611-617. doi: 10.1111/j.1460-9568.2007.05393.x.

442. Ruiz-Gonzalez A, Lacasta D, Ibarz M, Martinez-Alonso M, Falguera M, Porcel JM. C-reactive protein and other predictors of poor outcome in patients hospitalized with exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Respirology.* 2008 Nov;13(7):1028-33. doi: 10.1111/j.1440-1843.2008.01403.x.

443. Saha SP, Bhalla DK, Wayne TF Jr, Gairola CG. Cigarette smoke and adverse health effects: An overview of research trends and future needs. *Integr J Angiol.* 2007 Fall;16(3):77–83. [PubMed].

444. Salgado MT, Cao Z, Nagababu E, Mohanty JG, Rifkind JM. Red blood cell membrane-facilitated release of nitrite-derived nitric oxide bioactivity. *Biochemistry.* 2015;54:6712–6723. doi: 10.1021/acs.biochem.5b00643.

445. Sandelowsky H, Ställberg B, Nager A, Hasselström J. The prevalence of undiagnosed chronic obstructive pulmonary disease in a primary care population with respiratory tract infections - a case finding study. *BMC Fam Pract.* 2011 Nov;12:122. doi: 10.1186/1471-2296-12-122.

446. Santarelli E, Gonnella R, Giovenale G, Cuomo L, Capobianchi A, et al. STAT3 activation by KSHV correlates with IL-10, IL-6 and IL-23 release and an autophagic block in dendritic cells. *Scientific Reports.* 2014 Feb;4:1-7. doi:10.1038/srep04241

447. Schaer CA, Deuel JW, Schildknecht D, Mahmoudi L, Garcia-Rubio I, Owczarek C, et al. Haptoglobin preserves nitric oxide signaling during hemolysis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2016;193:1111–1122. doi: 10.1164/rccm.201510-2058OC.

448. Scherer G. Carboxyhemoglobin and thiocyanate as biomarkers of exposure to carbon monoxide and hydrogen cyanide in tobacco smoke. *Exp Toxicol Pathol.* 2006 Nov;58(2-3):101-24. doi: 10.1016/j.etp.2006.07.001. [PubMed].

449. Schieber M, Chandel NS. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative stress. *Curr Biol.* 2014 May;24(10):R453–462. doi:10.1016/j.cub.2014.03.034. [PubMed].

450. Schneider S, Gadinger M, Fischer A. Does the effect go up in smoke? A randomized controlled trial of pictorial warnings on cigarette packaging. *Patient Educ Couns.* 2012 Jan;86(1):77-83. doi: 10.1016/j.pec.2011.03.005.

451. Seimetz M, Parajuli N, Pichl A, Veit F, Kwapiszewska G, Weisel FC, et.al. Inducible NOS Inhibition Reverses Tobacco-Smoke-Induced Emphysema and Pulmonary Hypertension in Mice. *Cell.* 2011 Oct;147:293–305. doi:10.1016/j.cell.2011.08.035.

452. Sen S, Peltz C, Beard J, Zeno B. Recurrent carbon monoxide poisoning from cigarette smoking. *Am J Med Sci.* 2010 Nov;340(5):427-8. doi: 10.1097/MAJ.0b013e3181ef712d. [PubMed].

453. Seo SB, Choe ES, Kim KS, Shim SM. The effect of tobacco smoke exposure on the generation of reactive oxygen species and cellular membrane damage using co-culture model of blood brain barrier with astrocytes. *Toxicol Ind Health.* 2017 Jun;33(6):530-536. doi: 10.1177/0748233716687708. [PubMed].

454. Serrano J, Encinas JM, Fernandez AP, Rodrigo J, Martinez A.. Effects of acute hypobaric hypoxia on the nitric oxide system of the rat cerebral cortex: protective role of nitric oxide inhibitors. *Neurosci.* 2006 Oct;142(3):799-808. doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.07.046.

455. Shah BK , Nepal AK , Agrawal M , Sinha AK. The effects of cigarette smoking on hemoglobin levels compared between smokers and non smokers. *Sunsari Technical College Journal.* 2012Oct;1(1):42-44.

456. Sharova IV, Vekshin NL. Insensitive NADH oxydation in mitochondrial suspension occurs by NADH dehydrogenase of nitrite in nitric oxide. *Biophysic.* 2004 Sep-Oct;49(5):814-821.

457. Shaykhiev R, Krause A, Salit J, Strulovici-Barel Y, Harvey BG, O'Connor TP, et.al. Smoking-dependent reprogramming of alveolar macrophage polarization: implication for pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *J Immunol.* 2009 Aug;183(4):2867-83. doi: 10.4049/jimmunol.0900473.

458. Sherif IO, Al-Gayyar MM. Antioxidant, anti-inflammatory and hepatoprotective effects of silymarin on hepatic dysfunction induced by sodium nitrite. *Eur Cytokine Netw.* 2013 Jul-Sep;24(3):114-21. doi: 10.1684/ecn.2013.0341.

459. Shihadeh A, Schubert J, Klaiany J, Sabban M, Luch A, Saliba NA. Toxicant content, physical properties and biological activity of tobacco smoke and its tobacco-free alternatives. *Tob Control.* 2015 Mar;24(1):22-30. doi: 10.1136/tobaccocontrol-2014-051907. [PubMed].

460. Shiva S, Rassaf T, Patel RP, Gladwin MT. The detection of the nitrite reductase and NO-generating properties of hemoglobin by mitochondrial inhibition. *Cardiovasc Res.* 2011 Feb 15;89(3):566-73. doi: 10.1093/cvr/cvq327.

461. Shiva S. Nitrite: A physiological store of nitric oxide and modulator of mitochondrial function. *Redox Biology.* 2013;1(1):40-44. doi:10.1016/j.redox.-2012.11.005.

462. Singh SP, Chand HS, Langley RJ, Mishra N, Barrett T, Rudolph K, et.al. Gestational Exposure to Sidestream (Secondhand) Cigarette Smoke Promotes Transgenerational Epigenetic Transmission of Exacerbated Allergic Asthma and Bronchopulmonary Dysplasia. *J Immunol.* 2017 May 15;198(10):3815-3822. doi: 10.4049/jimmunol.1700014.

463. Slebos DJ, Ryter SW, van der Toorn M, Liu F, Guo F, Baty CJ, et.al. Mitochondrial localization and function of heme oxygenase-1 in cigarette smoke-induced cell death. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2007 Apr;36(4):409-17. doi:10.1165/rcmb.2006-0214OC. [PubMed].

464. Sokolova IB, Vekshin NL. Loss of the flavin NADH-dehydrogenase by the mitochondria complex. *Biofizika.* 2008 Jan-Feb;53(1):73-77.

465. Solaini G, Baracca A, Lenaz G, Sgarbi G. Hypoxia and mitochondrial oxidative metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. 2010 Jun–Jul;1797(6–7):1171-1177. doi:10.1016/j.bbabi.2010.-02.011.

466. Stangherlin EC, Luchese C, Ardaís AP, Nogueira CW. Passive smoke exposure induces oxidative damage in brains of rat pups: Protective role of diphenyl diselenide. *Inhal Toxicol*. 2009 Aug;21(10):868-874. doi: 10.1080/08958370802526881.

467. Stolz D, Christ-Crain M, Morgenthaler NG, Leuppi J, Miedinger D, Bingisser R, et al. C-Reactive Protein, and Procalcitonin as Prognostic Biomarkers in Active Exacerbation of COPD. *Chest*. 2007 Apr;131(4):1058-1067. doi:10.1378/chest.06-2336.

468. Strasak AM, Zaman Q, Marinell G, Pfeiffer KP, Ulmer H. The Use of Statistics in Medical Research. *Journal The American Statistician*. 2007;61(1):47-55. doi.org/10.1198/000313007X170242.

469. Sunyer J, Forastiere F, Pekkanen J, Plana E, Kolz M, Pistelli R, et.al. Interaction between smoking and the interleukin-6 gene affects systemic levels of inflammatory biomarkers. *Nicotine & Tobacco Research*. 2009 Nov;11(11, 1):1347–1353, doi:10.1093/ntr/ntp144.

470. Svalbe B, Zvejniece L, Vavers E, Pugovics O, Muceniece R, Liepinsh E, et.al. Mildronate treatment improves functional recovery following middle cerebral artery occlusion in rats. *Behav Brain Res*. 2011 Sep;222(1):26–32. doi: 10.1016/j.bbr.2011.03.027.

471. Szumska M, Damasiewicz-Bodzek A, Tyrpien-Golder K. Environmental tobacco smoke – Assessment of formaldehyde concentration in urine samples of exposed medicine. *Przegl. Lek*. 2015;72:140–143. [PubMed].

472. Talhout R, Schulz T, Florek E, van Benthem J, Wester P, Opperhuizen A. Hazardous Compounds in Tobacco Smoke. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2011, 8, 613-628; doi:10.3390/ijerph8020613.

473. Tamashiro E, Xiong G, Anselmo-Lima WT, Kreindler JL, Palmer JN, Cohen NA. Cigarette smoke exposure impairs respiratory epithelial ciliogenesis.



Am J Rhinol Allergy. 2009 Mar-Apr;23(2):117-122. doi: 10.2500/ajra.2009.23.3280.

474. Tarrant J, Meyer D, Katavolos P. Use of optimized aminotransferase methods in regulated preclinical studies. *Vet Clin Pathol*. 2013 Dec;42(4): 535-8. doi: 10.1111/vcp.12082.

475. Tarrant JM. Blood Cytokines as Biomarkers of In Vivo Toxicity in Preclinical Safety Assessment: Considerations for Their Use. *Toxicological Sciences*. 2010 Sep.;117(1):4–16, doi:10.1093/toxsci/kfq134.

476. Taylor CT, Moncada S. Nitrate, nitrite Nitric oxide, cytochrome c oxidase, and the cellular response to hypoxia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010 Apr; 30(4):643-7. doi: 10.1161/atvbaha.108.181628. [PubMed]

477. Thatcher MO, Tippetts TS, Nelson MB, Swensen AC, Winden DR, Hansen ME, et al. Ceramides mediate cigarette smoke-induced metabolic disruption in mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 2014 Nov;307(10):919–927. doi: 10.1152/ajpendo.00258.2014 [PubMed]

478. Tippetts TS, Winden DR, Swensen AC, Nelson MB, Thatcher MO, Saito RR, et.al. Cigarette smoke increases cardiomyocyte ceramide accumulation and inhibits mitochondrial respiration. *BMC Cardiovasc. Disord*. 2014 Nov;14:165. doi: 10.1186/1471-2261-14-165. [PubMed]

479. Tong EK, Glantz SA. Tobacco industry efforts undermining evidence linking secondhand smoke with cardiovascular disease. *Circulation*. 2007 Oct 16;116(16):1845-54. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.715888 [PubMed].

480. Tonstad S, Cowan JL. C-reactive protein as a predictor of disease in smokers and former smokers: a review. *Int J Clin Pract*. 2009 Nov; 63(11): 1634–1641. doi: 10.1111/j.1742-1241.2009.02179.x. [PubMed].

481. Tota B, Quintieri AM, Angelone T. The emerging role of nitrite as an endogenous modulator and therapeutic agent of cardiovascular function. *Current Medicinal Chemistry*, 2010 Jun;17(18):1915-1925. doi:10.2174/0929867-10791163948.

482. Trumbeckaite S, Kincius M, Preidis A, Preidiene M, Veikutis V, Borutaite V, et.al. Effects of ischemia-reperfusion and pretreatment with mildronate on rat liver mitochondrial function. *Pharmacol. Rep.* 2009 Sep-Oct;61(5):859–69.

483. Tsikas D. Analysis of nitrite and nitrate in biological fluids by assays based on the Griess reaction: appraisal of the Griess reaction in the L-arginine/nitric oxide area of research. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007 May 15;851(1-2):51-70 doi: 10.1016/j.jchromb.2006.07.054.

484. Tsikas D. Methods of quantitative analysis of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in human biological fluids. *Free Radic Res.* 2005 Aug;39(8):797-815. doi: 10.1080/10715760500053651. [PubMed].

485. Tuttle AM, Stampfli M, Foster WG. Cigarette smoke causes follicle loss in mice ovaries at concentrations representative of human exposure. *Hum Reprod.* 2009 Jun;24(6):1452-9. doi: 10.1093/humrep/dep023. [PubMed]

486. Urban HJ, Tricker AR, Leyden DE, Forte N, Zenzen V, Feuersenger A, et.al. Reduced exposure evaluation of an Electrically Heated Cigarette Smoking System. Part 8: Nicotine bridging-estimating smoke constituent exposure by their relationships to both nicotine levels in mainstream cigarette smoke and in smokers. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2012 Nov;64(2 Suppl):S85-97. doi: 10.1016/j.yrtph.2012.08.005.

487. Urtasun R, Conde de la Rosa L, Nieto N. Oxidative and nitrosative stress and fibrogenic response. *Clin. Liver Dis.* 2008 Nov;12(4), 769–790. doi: 10.1016/j.cld.2008.07.005.

488. Vaitkus M, Lavinskiene S, Bieksiene K, Jeroch J, Sakalauskas R. Analysis of reactive oxygen species in sputum neutrophils during acute exacerbation of COPD. *European Respiratory Journal.* 2012;40(56):793-798.

489. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis K. Tobacco smoke: involvement of reactive oxygen species and stable free radicals in mechanisms of oxidative damage, carcinogenesis and synergistic effects with other respirable particles. *Int J Environ Res Public Health.* 2009 Feb;6(2):445–462. doi: 10.3390/ijerph 6020445. [PubMed].

490. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2007; 39:44–84. doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001.

491. Van Durme YM, Verhamme KM, Aarnoudse AJ, Van Pottelberge GR, Hofman A, Witteman JC, et.al. C-reactive protein levels, haplotypes, and the risk of incident chronic obstructive pulmonary. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 Mar;179(5):375–382. doi: 10.1164/rccm.200810-1540OC.

492. Vanholder R, Van Laecke S, Glorieux G. The middle-molecule hypothesis 30 years after: lost and rediscovered in the universe of uremic toxicity? *J Nephrol*. 2008 Mar-Apr;21:146–160. [PubMed].

493. Vardavas CI, Fthenou E, Patelarou E, Bagkeris E, Murphy S, Hecht SS, et.al. Exposure to different sources of second-hand smoke during pregnancy and its effect on urinary cotinine and tobacco-specific nitrosamine (NNAL) concentrations. *Tob Control*. 2013 May;22(3):194-200. doi: 10.1136/tobaccocontrol-2011-050144.

494. Varela-Carver A, Parker H, Kleinert C, Rimoldi O. Adverse effects of cigarette smoke and induction of oxidative stress in cardiomyocytes and vascular endothelium. *Curr Pharm Des*. 2010;16(23):2551-2558. doi: 10.2174/138161210792062830. [PubMed].

495. Vilskersts R, Kuka J, Svalbe B, Cirule H, Liepinsh E, Grinberga S, et.al. Administration of L-carnitine and mildronate improves endothelial function and decreases mortality in hypertensive Dahl rats. *Pharmacol Rep*. 2011;63(3):752–62. doi: 10.1016/S1734-1140(11)70587-4.

496. Vilskersts R, Liepinsh E, Mateuszuk L, Grinberga S, Kalvinsh I, Chlopicki S, et.al. Mildronate, a Regulator of Energy Metabolism, Reduces Atherosclerosis in apoE/LDLR<sup>-/-</sup> Mice. *Pharmacology* 2009;83:287–293. doi:10.1159/000210015.

497. Vitturi DA, Teng X, Toledo JC, Matalon S, Lancaster JR Jr, Patel RP. Regulation of nitrite transport in red blood cells by hemoglobin oxygen fractional

saturation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009 May;296(5):H1398-407. doi: 10.1152/ajpheart.01303.2008.

498. Wajih N, Basu S, Jailwala A, Kim HW, Ostrowski D, Perlegas A, et al. Potential therapeutic action of nitrite in sickle cell disease. *Redox Biol*. 2017;12:1026–1039. doi: 10.1016/j.redox.2017.05.006.

499. Wang X, Fang H, Huang Z, Shang W, Hou T, Cheng A, et.al. Imaging ROS signaling in cells and animals. *J Mol Med. (Berl)* 2013 Aug;91(8):917-27. doi: 10.1007/s00109-013-1067-4. [PubMed]

500. Webb AJ. Mechanisms underlying erythrocyte and endothelial nitrite reduction to nitric oxide in hypoxia. Role for xanthine oxidoreductase and endothelial nitric oxide synthase. *Circ. Res* 2008;108:175-810. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.175810.

501. Weidinger A, Kozlov AV. Biological Activities of Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Oxidative Stress versus Signal Transduction. *Biomolecules*. 2015;5:472–484. doi: 10.3390/biom5020472.

502. Westbrook DG, Anderson PG, Pinkerton KE, Ballinger SW. Perinatal tobacco smoke exposure increases vascular oxidative stress and mitochondrial damage in non-human primates. *Cardiovasc Toxicol*. 2010 Sep;10(3):216-26.doi: 10.1007/s12012-010-9085-8. [PubMed]

503. Wilkinson JD, Lee DJ, Arheart KL. Secondhand smoke exposure and C-reactive protein levels in youth. *Nicotine Tob Res*. 2007;9:305–7. doi: 10.1080/14622200601080299 [PubMed]

504. Wilson KM, Wesgate SC, Pier J, Weis E, Love T, Evans K, et.al. Secondhand smoke exposure and serum cytokine levels in healthy children. *Cytokine*. 2012 Oct;60(1):34-7. doi: 10.1016/j.cyto.2012.06.236. [PubMed].

505. Wipfli H, Samet JM. Global economic and health benefits of tobacco control. *Clin Pharmacol Ther*. 2009 Sep;86(3):263-271.doi: 10.1038/clpt.2009.93. [PubMed]

506. Wirth N. Respiratory diseases related to passive smoking. *Rev Mal Respir*. 2009 Jun;26(6):667-678.

507. Wright JL, Zhou S, Churg A. Pulmonary hypertension and vascular oxidative damage in cigarette smoke exposed eNOS(-/-) mice and human smokers. *Inhal Toxicol*. 2012 Sep;24(11):732-40. doi: 10.3109/08958378.2012.715698.

508. Wu A, Duan T, Tang D, Xu Y, Feng L, Zheng Z, et.al. Nitric Oxide-Derived Nitrite and Nitrate in Biological Samples by HPLC Coupled to Nitrite Oxidation. *Chromatographia*. 2013 Dec;76(23-24):1649–1655. doi:10.1007/s10337-013-2529-0.

509. Wu G, Meininger CJ. Nitric oxide and vascular insulin resistance. *Biofactors*. 2009 Jan-Feb;35(1):21-7. doi: 10.1002/biof.3.

510. Wu SJ, Ng LT. Tetrandrine inhibits proinflammatory cytokines, iNOS and COX-2 expression in human monocytic cells. *Biol Pharm Bull*. 2007 Jan;30(1):59-62. doi: 10.1248/bpb.30.59.

511. Yanbaeva DG, Dentener MA, Spruit MA, Houwing-Duistermaat JJ, Kotz D, Passos VL, et.al. IL6 and CRP haplotypes are associated with COPD risk and systemic inflammation: a casecontrol study. *BMC Med Genet*. 2009 Mar;10:23. doi: 10.1186/1471-2350-10-23.

512. Yang Z, Harrison CM, Chuang GC, Ballinger SW. The role of tobacco smoke induced mitochondrial damage in vascular dysfunction and atherosclerosis. *Mutat Res.*, 2007 Aug;621(1-2):61-74. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2007.02.010. [PubMed].

513. Yokus B, Mete N, Cakir UD, Toprak G. Effects of active and passive smoking on antioxidant enzymes and antioxidant micronutrients. *Biotechnol. Biotechnol. Eq.* 2015 Apr;19(3):117-123. doi: 10.1080/13102818.2005.10817238.

514. Yoshida T, Tuder RM. Pathobiology of cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease. *Physiol Rev*. 2007 Jul;87(3):1047-82. doi: 10.1152/physrev.00048.2006.

515. Yuan JM, Butler LM, Stepanov I, Hecht SS. Urinary tobacco smoke-constituent biomarkers for assessing risk of lung cancer. *Cancer Res*. 2014 Jan 15;74(2):401-11. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-3178.

516. Zaouter C, Zavorsky GS. The measurement of carboxyhemoglobin and methemoglobin using a non-invasive pulse CO-oximeter. *Respir Physiol Neurobiol.* 2012 Jul; 182(2-3):88-92. doi: 10.1016/j.resp.2012.05.010. [PubMed].

517. Zeng JC, Xiang WY, Lin DZ, Zhang JA, Liu GB, Kong B, et al. Elevated HMGB1-related interleukin-6 is associated with dynamic responses of monocytes in patients with active pulmonary tuberculosis. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015 Feb 1;8(2):1341-53.

518. Zhang JM, An J, Cytokines, Inflammation and Pain *Int Anesthesiol Clin.* 2007 Spring; 45(2):27-37. doi: 10.1097/AIA.0b013e318034194e

519. Zhang XT, Yu CJ, Liu JW, Zhang YP, Zhang C, Song CX, et al. Qizhi Jiangtang jiaonang improves insulin signaling and reduces inflammatory cytokine secretion and reactive oxygen species formation in insulin resistant HepG2 cells. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015;2015:518639. doi: 10.1155/2015/518639.

520. Zheng H. Development and characterization of a rat model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) induced by sidestream cigarette smoke. *Toxicol Lett.* 2009 Sep;28(3):225-34. doi: 10.1016/j.toxlet.2009.06.850.

521. Zvejniece L, Svalbe B, Makrecka M, Liepinsh E, Kalvinsh I, Dambrova M. Mildronate exerts acute anticonvulsant and antihypnotic effects. *Behavioural Pharmacology.* 2010 Sep;21(5-6):548-555. doi: 10.1097/FBP.0b013-e32833d5a59.

# ДОДАТКИ

Вміст ТБК-АП (мкмоль/кг) у нирках щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	20,30±3,06	12,28±1,28	28,84±2,34
15 доба ТД+24 год НН	45,94±1,97*	25,25±2,36*	47,01±1,35*
15 доба ТД+72 год НН	64,63±7,18*	28,34±2,29*	66,23±2,57*
30 доба ТД+24 год НН	50,10±1,10*	28,25±2,47*	60,14±1,76*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	32,47±1,46 <sup>#</sup>	25,77±1,12	46,25±1,76 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	49,46±1,48	26,84±2,14	55,13±1,64
30 доба ТД+72 год НН	60,57±1,97*	30,84±2,63*	65,17±2,46*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	43,80±1,77 <sup>#</sup>	26,74±1,07	51,49±2,52 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	55,08±1,44	28,80±2,18	55,33±2,37 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	47,22±2,24*	28,44±2,13*	50,10±1,17*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	24,03±1,33 <sup>#</sup>	22,68±1,93	32,15±1,92 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	37,71±2,14 <sup>#</sup>	26,54±2,61	37,28±1,48 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	73,50±1,94*	30,04±2,87*	101,70±1,12*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	34,40±1,96 <sup>#</sup>	23,11±1,53	54,91±1,64 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	56,08±1,60 <sup>#</sup>	26,40±2,02	66,23±1,77 <sup>#</sup>



Вміст 2,4-динітрофенілгідразонів нейтрального характеру (мкмоль/г білка) у печінці щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,101±0,003	0,072±0,001	0,083±0,002
15 доба ТД+24 год НН	0,155±0,004*	0,108±0,002*	0,153±0,003*
15 доба ТД+72 год НН	0,172±0,002*	0,124±0,001*	0,156±0,002*
30 доба ТД+24 год НН	0,181±0,009*	0,122±0,001*	0,173±0,001*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,153±0,003 <sup>#</sup>	0,097±0,002 <sup>#</sup>	0,124±0,001 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,162±0,002	0,116±0,003	0,159±0,007
30 доба ТД+72 год НН	0,210±0,001*	0,125±0,001*	0,187±0,001*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,178±0,001 <sup>#</sup>	0,094±0,001 <sup>#</sup>	0,152±0,002 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,194±0,008	0,114±0,005	0,183±0,001
45 доба ТД+24 год НН	0,188±0,002*	0,161±0,002*	0,171±0,002*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,147±0,002 <sup>#</sup>	0,124±0,001 <sup>#</sup>	0,142±0,002 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,176±0,002 <sup>#</sup>	0,145±0,008	0,157±0,008
45 доба ТД+72 год НН	0,222±0,002*	0,177±0,002*	0,208±0,003*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,174±0,001 <sup>#</sup>	0,142±0,001 <sup>#</sup>	0,160±0,002 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,200±0,009	0,162±0,002 <sup>#</sup>	0,185±0,002 <sup>#</sup>

Вміст 2,4-динітрофенілгідразонів нейтрального характеру (мкмоль/г білка) у міокарді щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,074±0,001	0,057±0,001	0,068±0,001
15 доба ТД+24 год НН	0,104±0,002*	0,098±0,002*	0,110±0,002*
15 доба ТД+72 год НН	0,108±0,007*	0,117±0,006*	0,134±0,002*
30 доба ТД+24 год НН	0,155±0,003*	0,127±0,001*	0,148±0,002*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,129±0,001 <sup>#</sup>	0,109±0,001 <sup>#</sup>	0,120±0,001 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,139±0,001 <sup>#</sup>	0,118±0,001 <sup>#</sup>	0,137±0,004
30 доба ТД+72 год НН	0,178±0,001*	0,136±0,001*	0,153±0,009*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,149±0,003 <sup>#</sup>	0,113±0,002 <sup>#</sup>	0,134±0,003
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,169±0,002 <sup>#</sup>	0,130±0,002 <sup>#</sup>	0,143±0,003
45 доба ТД+24 год НН	0,178±0,003*	0,130±0,002*	0,163±0,002*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,162±0,002 <sup>#</sup>	0,111±0,002 <sup>#</sup>	0,141±0,002 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,172±0,001	0,125±0,001 <sup>#</sup>	0,151±0,001 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	0,185±0,003*	0,155±0,002*	0,177±0,001*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,159±0,002 <sup>#</sup>	0,130±0,002 <sup>#</sup>	0,153±0,002 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,174±0,003	0,149±0,001 <sup>#</sup>	0,169±0,001 <sup>#</sup>

Вміст 2,4-динітрофенілгідразонів нейтрального характеру (мкмоль/г білка) у нирках щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,045±0,001	0,030±0,001	0,041±0,002
15 доба ТД+24 год НН	0,064±0,006	0,046±0,001*	0,067±0,002*
15 доба ТД+72 год НН	0,091±0,002*	0,060±0,001*	0,086±0,001*
30 доба ТД+24 год НН	0,099±0,002*	0,049±0,002*	0,053±0,004
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,078±0,001 <sup>#</sup>	0,033±0,002 <sup>#</sup>	0,069±0,001 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,082±0,007	0,044±0,001 <sup>#</sup>	0,068±0,006
30 доба ТД+72 год НН	0,111±0,001*	0,070±0,001*	0,099±0,002*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,092±0,002 <sup>#</sup>	0,060±0,001 <sup>#</sup>	0,081±0,001 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,107±0,002	0,066±0,003	0,088±0,001 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	0,119±0,002*	0,069±0,001*	0,085±0,001*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,109±0,001 <sup>#</sup>	0,057±0,001 <sup>#</sup>	0,066±0,004 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,121±0,001	0,065±0,001 <sup>#</sup>	0,079±0,001 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	0,132±0,002*	0,079±0,002*	0,103±0,002*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,110±0,002 <sup>#</sup>	0,067±0,002 <sup>#</sup>	0,085±0,001 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,126±0,003	0,077±0,001	0,097±0,001

Вміст 2,4-динітрофенілгідразонів основного характеру (мкмоль/г білка) у печінці щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,042±0,001	0,026±0,001	0,041±0,001
15 доба ТД+24 год НН	0,058±0,001*	0,037±0,002*	0,054±0,003*
15 доба ТД+72 год НН	0,079±0,002*	0,052±0,003*	0,075±0,003*
30 доба ТД+24 год НН	0,070±0,002*	0,052±0,001*	0,065±0,002*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,053±0,001#	0,041±0,002#	0,048±0,003#
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,065±0,002	0,047±0,001	0,060±0,002
30 доба ТД+72 год НН	0,084±0,002*	0,061±0,003*	0,078±0,001*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,066±0,002#	0,048±0,003#	0,058±0,002#
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,079±0,002	0,059±0,003	0,073±0,003
45 доба ТД+24 год НН	0,080±0,003*	0,064±0,003*	0,080±0,005*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,068±0,003#	0,045±0,003#	0,068±0,003#
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,076±0,003	0,059±0,003	0,075±0,003
45 доба ТД+72 год НН	0,091±0,005*	0,074±0,004*	0,083±0,006*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,076±0,003#	0,060±0,001#	0,071±0,004#
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,086±0,004	0,070±0,003	0,080±0,004

Вміст 2,4-динітрофенілгідразонів основного характеру (мкмоль/г білка) у міокарді щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,028±0,002	0,020±0,002	0,025±0,001
15 доба ТД+24 год НН	0,034±0,002	0,027±0,001*	0,029±0,002
15 доба ТД+72 год НН	0,044±0,001*	0,032±0,002*	0,030±0,002
30 доба ТД+24 год НН	0,049±0,003*	0,037±0,001*	0,044±0,003*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,037±0,003 <sup>#</sup>	0,029±0,002 <sup>#</sup>	0,033±0,002 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,042±0,002	0,033±0,002	0,037±0,002
30 доба ТД+72 год НН	0,059±0,003*	0,035±0,002*	0,047±0,002*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,041±0,002 <sup>#</sup>	0,027±0,001 <sup>#</sup>	0,036±0,003 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,048±0,002 <sup>#</sup>	0,031±0,002	0,042±0,003
45 доба ТД+24 год НН	0,061±0,002*	0,043±0,001*	0,050±0,002*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,049±0,002 <sup>#</sup>	0,032±0,002 <sup>#</sup>	0,040±0,002 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,054±0,001 <sup>#</sup>	0,040±0,002	0,046±0,003
45 доба ТД+72 год НН	0,069±0,002*	0,049±0,003*	0,066±0,002*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,057±0,002 <sup>#</sup>	0,039±0,002 <sup>#</sup>	0,056±0,002 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,063±0,002	0,046±0,002	0,059±0,003

Вміст 2,4-динітрофенілгідразонів основного характеру (мкмоль/г білка) у нирках щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,023±0,002	0,016±0,001	0,018±0,001
15 доба ТД+24 год НН	0,032±0,002*	0,022±0,001*	0,030±0,002*
15 доба ТД+72 год НН	0,037±0,003*	0,030±0,003*	0,037±0,002*
30 доба ТД+24 год НН	0,041±0,002*	0,028±0,002*	0,039±0,002*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,033±0,002	0,021±0,001	0,028±0,002 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,039±0,004	0,024±0,001	0,037±0,002
30 доба ТД+72 год НН	0,053±0,004*	0,040±0,003*	0,049±0,002*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,043±0,002	0,032±0,001	0,041±0,002
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,049±0,003	0,034±0,002	0,046±0,002
45 доба ТД+24 год НН	0,057±0,003*	0,044±0,002*	0,052±0,002*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,047±0,003 <sup>#</sup>	0,035±0,002 <sup>#</sup>	0,044±0,003 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,052±0,003	0,037±0,003	0,049±0,003
45 доба ТД+72 год НН	0,066±0,003*	0,053±0,002*	0,064±0,002*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,054±0,003 <sup>#</sup>	0,042±0,002 <sup>#</sup>	0,051±0,002 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,062±0,003	0,049±0,003	0,058±0,002

Каталазна активність (мккат/г білка) у легенях щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,127±0,010	0,188±0,018	0,135±0,013
15 доба ТД+24 год НН	0,113±0,011	0,165±0,013	0,098±0,008*
15 доба ТД+72 год НН	0,093±0,015	0,140±0,011	0,092±0,008*
30 доба ТД+24 год НН	0,065±0,006*	0,102±0,006*	0,060±0,006*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,128±0,011 <sup>#</sup>	0,173±0,011 <sup>#</sup>	0,135±0,010 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,073±0,006	0,125±0,012	0,097±0,007 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН	0,053±0,004*	0,093±0,007*	0,055±0,004*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,097±0,007 <sup>#</sup>	0,158±0,015 <sup>#</sup>	0,130±0,013 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,067±0,006	0,120±0,010	0,112±0,009 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	0,058±0,005*	0,063±0,005*	0,083±0,008*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,112±0,010 <sup>#</sup>	0,168±0,011 <sup>#</sup>	0,145±0,013 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,077±0,007	0,152±0,014 <sup>#</sup>	0,082±0,007
45 доба ТД+72 год НН	0,052±0,004*	0,070±0,007*	0,068±0,006*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,103±0,010 <sup>#</sup>	0,090±0,006	0,122±0,009 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,078±0,007 <sup>#</sup>	0,085±0,007	0,087±0,008

Каталазна активність (мккат/г білка) у нирках щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,087±0,006	0,132±0,011	0,127±0,011
15 доба ТД+24 год НН	0,077±0,007	0,120±0,008	0,108±0,010
15 доба ТД+72 год НН	0,060±0,006*	0,097±0,007*	0,097±0,006*
30 доба ТД+24 год НН	0,058±0,005*	0,093±0,005*	0,087±0,008*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,078±0,006	0,118±0,010 <sup>#</sup>	0,115±0,010
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,060±0,006	0,102±0,007	0,090±0,007
30 доба ТД+72 год НН	0,053±0,005*	0,088±0,005*	0,067±0,006*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,073±0,007	0,120±0,011 <sup>#</sup>	0,125±0,010 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,060±0,005	0,100±0,010	0,105±0,010 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	0,052±0,005*	0,048±0,004*	0,052±0,005*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,072±0,006	0,135±0,013 <sup>#</sup>	0,133±0,010 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,058±0,005	0,117±0,011 <sup>#</sup>	0,090±0,006 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	0,045±0,004*	0,042±0,003*	0,047±0,003*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,090±0,006 <sup>#</sup>	0,120±0,010 <sup>#</sup>	0,122±0,010 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,067±0,006 <sup>#</sup>	0,095±0,008 <sup>#</sup>	0,073±0,007 <sup>#</sup>



Каталазна активність (мккат/г білка) у міокарді щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,178±0,016	0,128±0,010	0,200±0,019
15 доба ТД+24 год НН	0,145±0,011	0,107±0,008	0,152±0,012
15 доба ТД+72 год НН	0,130±0,012	0,095±0,008*	0,147±0,012
30 доба ТД+24 год НН	0,140±0,010	0,063±0,006*	0,125±0,009*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,150±0,012	0,113±0,010	0,150±0,013
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,142±0,013	0,090±0,008 <sup>#</sup>	0,122±0,010
30 доба ТД+72 год НН	0,132±0,012	0,070±0,007*	0,113±0,011*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,172±0,014	0,110±0,011 <sup>#</sup>	0,173±0,014 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,140±0,012	0,100±0,007 <sup>#</sup>	0,122±0,011
45 доба ТД+24 год НН	0,125±0,011*	0,082±0,007*	0,107±0,009*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,165±0,013	0,120±0,012 <sup>#</sup>	0,157±0,014 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,123±0,011	0,103±0,010	0,132±0,010
45 доба ТД+72 год НН	0,118±0,011*	0,065±0,006*	0,090±0,009*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,168±0,011 <sup>#</sup>	0,120±0,010 <sup>#</sup>	0,147±0,012 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,127±0,012	0,100±0,009 <sup>#</sup>	0,125±0,012

Вміст відновленого глутатіону (ммоль/кг) у легенях щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,61±0,05	0,50±0,05	0,56±0,05
15 доба ТД+24 год НН	0,54±0,03	0,41±0,04	0,48±0,04
15 доба ТД+72 год НН	0,50±0,05	0,36±0,02	0,43±0,03
30 доба ТД+24 год НН	0,43±0,04*	0,41±0,04	0,38±0,03*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,58±0,05	0,48±0,04	0,54±0,04 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,53±0,03	0,36±0,02	0,42±0,03
30 доба ТД+72 год НН	0,32±0,03*	0,33±0,03*	0,35±0,03*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,55±0,05 <sup>#</sup>	0,47±0,03 <sup>#</sup>	0,53±0,04 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,46±0,04	0,37±0,02	0,46±0,04
45 доба ТД+24 год НН	0,34±0,03*	0,28±0,02*	0,32±0,03*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,54±0,02 <sup>#</sup>	0,45±0,04 <sup>#</sup>	0,52±0,04 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,41±0,03	0,32±0,02	0,38±0,04
45 доба ТД+72 год НН	0,28±0,02*	0,24±0,02*	0,27±0,02*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,51±0,03 <sup>#</sup>	0,46±0,04 <sup>#</sup>	0,51±0,03 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,37±0,04	0,40±0,04 <sup>#</sup>	0,30±0,03

Вміст відновленого глутатіону (ммоль/кг) у нирках щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	1,75±0,13	1,71±0,13	1,73±0,14
15 доба ТД+24 год НН	1,52±0,15	1,57±0,08	1,54±0,08
15 доба ТД+72 год НН	1,48±0,14	1,53±0,12	1,50±0,05
30 доба ТД+24 год НН	1,17±0,11*	1,24±0,06*	1,27±0,09*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	1,56±0,10	1,67±0,10 <sup>#</sup>	1,62±0,10
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,34±0,11	1,48±0,10	1,54±0,09
30 доба ТД+72 год НН	1,11±0,11*	1,11±0,06*	1,18±0,09*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	1,57±0,11 <sup>#</sup>	1,53±0,11 <sup>#</sup>	1,51±0,11 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	1,52±0,11	1,40±0,11	1,48±0,11
45 доба ТД+24 год НН	0,95±0,09*	1,20±0,09*	1,05±0,08*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	1,58±0,11 <sup>#</sup>	1,70±0,12 <sup>#</sup>	1,70±0,12 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,32±0,13	1,56±0,09 <sup>#</sup>	1,60±0,08
45 доба ТД+72 год НН	0,88±0,08*	1,08±0,08*	0,97±0,07*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	1,66±0,15 <sup>#</sup>	1,69±0,14 <sup>#</sup>	1,67±0,10 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	1,31±0,12 <sup>#</sup>	1,31±0,08	1,24±0,11

Вміст відновленого глутатіону (ммоль/кг) у міокарді щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	0,67±0,05	0,55±0,04	0,59±0,04
15 доба ТД+24 год НН	0,61±0,03	0,52±0,03	0,53±0,05
15 доба ТД+72 год НН	0,56±0,03	0,50±0,03	0,48±0,03
30 доба ТД+24 год НН	0,31±0,02*	0,42±0,04	0,39±0,03*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,64±0,06 <sup>#</sup>	0,51±0,04	0,54±0,05 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,49±0,04	0,47±0,04	0,46±0,04
30 доба ТД+72 год НН	0,27±0,02*	0,37±0,03*	0,30±0,02*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,61±0,04 <sup>#</sup>	0,50±0,03	0,50±0,03 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,37±0,03	0,41±0,03	0,43±0,04 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	0,25±0,02*	0,38±0,03*	0,28±0,02*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	0,55±0,04 <sup>#</sup>	0,50±0,03	0,53±0,04 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	0,37±0,03 <sup>#</sup>	0,44±0,03	0,35±0,04
45 доба ТД+72 год НН	0,21±0,02*	0,33±0,02*	0,22±0,02*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	0,60±0,03 <sup>#</sup>	0,48±0,03 <sup>#</sup>	0,55±0,04 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	0,27±0,02	0,39±0,03	0,32±0,03 <sup>#</sup>

Активність АЛТ (мкмоль/л×год) у легенях щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників (M±m; n=6)

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	4,12±0,31	2,75±0,41	3,87±0,31
15 доба ТД+24 год НН	3,04±0,26*	1,98±0,20	2,84±0,24*
15 доба ТД+72 год НН	2,33±0,24*	1,72±0,24	2,66±0,14*
30 доба ТД+24 год НН	2,47±0,23*	1,67±0,14	2,20±0,17*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,20±0,27	1,87±0,17	2,64±0,14
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	2,48±0,17	1,72±0,17	2,17±0,18
30 доба ТД+72 год НН	1,90±0,19*	1,72±0,17	1,63±0,14*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	2,97±0,18 <sup>#</sup>	2,22±0,20	1,83±0,18
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	1,85±0,16	1,90±0,13	1,87±0,17
45 доба ТД+24 год НН	1,92±0,19*	1,08±0,16*	1,85±0,21*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,53±0,34 <sup>#</sup>	2,62±0,15 <sup>#</sup>	3,12±0,22 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	2,73±0,22 <sup>#</sup>	1,72±0,12 <sup>#</sup>	2,02±0,14 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	1,72±0,12*	1,21±0,14*	1,12±0,07*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	3,72±0,18 <sup>#</sup>	2,86±0,12 <sup>#</sup>	3,15±0,15 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	2,18±0,17	1,75±0,15 <sup>#</sup>	2,03±0,14 <sup>#</sup>

Активність АЛТ (мкмоль/л×год) у міокарді щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників (M±m; n=6)

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	3,91±0,16	4,67±0,34	4,38±0,09
15 доба ТД+24 год НН	2,95±0,19*	3,44±0,06*	2,89±0,14*
15 доба ТД+72 год НН	2,07±0,10*	2,73±0,08*	2,46±0,09*
30 доба ТД+24 год НН	2,23±0,10*	2,44±0,10*	2,78±0,18*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,37±0,08 <sup>#</sup>	3,57±0,05 <sup>#</sup>	3,29±0,14
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	2,63±0,13	2,72±0,18	3,04±0,16
30 доба ТД+72 год НН	1,92±0,11*	2,32±0,13*	2,07±0,14*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	3,22±0,12 <sup>#</sup>	3,43±0,10 <sup>#</sup>	3,55±0,16 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	2,72±0,19 <sup>#</sup>	2,40±0,19	2,92±0,17 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	1,70±0,08*	1,45±0,05*	1,42±0,07*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,80±0,16 <sup>#</sup>	3,78±0,13 <sup>#</sup>	3,52±0,08 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	2,71±0,16 <sup>#</sup>	3,07±0,11 <sup>#</sup>	3,12±0,13 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	0,90±0,07*	1,27±0,05*	0,92±0,09*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	3,61±0,12 <sup>#</sup>	3,94±0,12 <sup>#</sup>	3,61±0,12 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	2,74±0,14 <sup>#</sup>	3,09±0,14 <sup>#</sup>	2,71±0,16 <sup>#</sup>

Активність АЛТ (мкмоль/л×год) у нирках щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників (M±m; n=6)

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	7,80±0,28	6,98±0,11	7,35±0,27
15 доба ТД+24 год НН	6,28±0,51*	6,62±0,33	6,78±0,39
15 доба ТД+72 год НН	6,12±0,54*	6,32±0,37	6,58±0,53
30 доба ТД+24 год НН	5,43±0,42*	5,85±0,38*	5,02±0,37*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	6,90±0,09 <sup>#</sup>	6,63±0,26	6,27±0,28 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	5,95±0,31	6,18±0,31	5,83±0,37
30 доба ТД+72 год НН	5,10±0,34*	5,15±0,33*	4,62±0,24*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	7,03±0,09 <sup>#</sup>	6,67±0,34 <sup>#</sup>	6,55±0,24 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	5,88±0,39	5,90±0,34	5,15±0,33
45 доба ТД+24 год НН	5,30±0,42*	5,05±0,10*	5,50±0,63*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	6,63±0,33	6,88±0,09 <sup>#</sup>	6,67±0,26
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	5,56±0,35	5,83±0,37	5,93±0,36
45 доба ТД+72 год НН	2,60±0,20*	3,02±0,20*	1,30±0,17*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	7,12±0,07 <sup>#</sup>	6,78±0,34 <sup>#</sup>	4,67±0,25 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	6,00±0,33 <sup>#</sup>	5,63±0,46 <sup>#</sup>	3,74±0,27 <sup>#</sup>

Активність АСТ (мкмоль/л×год) у печінці щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників (M±m; n=6)

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	4,37±0,17	4,23±0,22	4,68±0,29
15 доба ТД+24 год НН	2,93±0,14*	2,25±0,10*	2,87±0,14*
15 доба ТД+72 год НН	2,34±0,11*	1,82±0,13*	2,78±0,11*
30 доба ТД+24 год НН	2,07±0,10*	1,95±0,07*	2,35±0,17*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,67±0,17 <sup>#</sup>	3,37±0,08 <sup>#</sup>	3,77±0,15 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	2,25±0,08	2,77±0,15 <sup>#</sup>	2,54±0,16
30 доба ТД+72 год НН	1,73±0,10*	1,67±0,08*	1,91±0,15*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	3,06±0,13 <sup>#</sup>	3,51±0,10 <sup>#</sup>	3,50±0,25 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	1,87±0,10	2,42±0,16 <sup>#</sup>	2,50±0,14 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	1,14±0,04*	1,79±0,12*	1,34±0,06*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,15±0,20 <sup>#</sup>	3,65±0,09 <sup>#</sup>	3,50±0,18 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,62±0,11 <sup>#</sup>	2,15±0,13	2,12±0,11 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	0,91±0,05*	1,54±0,07*	1,26±0,06*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	3,46±0,18 <sup>#</sup>	3,80±0,14 <sup>#</sup>	3,78±0,15 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	1,44±0,06 <sup>#</sup>	2,37±0,10 <sup>#</sup>	2,38±0,17 <sup>#</sup>



Активність АСТ (мкмоль/л×год) у легенях щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників (M±m; n=6)

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	3,86±0,14	4,35±0,26	3,98±0,3
15 доба ТД+24 год НН	2,83±0,14*	2,13±0,10*	2,50±0,19*
15 доба ТД+72 год НН	1,93±0,10*	2,33±0,09*	2,16±0,16*
30 доба ТД+24 год НН	2,07±0,10*	2,38±0,10*	2,36±0,11*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,22±0,13 <sup>#</sup>	3,34±0,09 <sup>#</sup>	3,43±0,10 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	2,77±0,13 <sup>#</sup>	2,81±0,15	2,56±0,05
30 доба ТД+72 год НН	1,73±0,10*	1,98±0,12*	2,10±0,12*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	3,08±0,15 <sup>#</sup>	3,43±0,10 <sup>#</sup>	3,52±0,08 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	2,63±0,13 <sup>#</sup>	3,09±0,14 <sup>#</sup>	2,95±0,12 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	1,31±0,03*	1,51±0,13*	1,30±0,06*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,36±0,15 <sup>#</sup>	3,61±0,12 <sup>#</sup>	3,63±0,09 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,82±0,09 <sup>#</sup>	3,02±0,12 <sup>#</sup>	2,23±0,10 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	1,03±0,05*	1,17±0,08*	1,08±0,025*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	3,70±0,08 <sup>#</sup>	3,66±0,08 <sup>#</sup>	3,47±0,15 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	2,91±0,16 <sup>#</sup>	3,09±0,14 <sup>#</sup>	2,07±0,10 <sup>#</sup>

Активність АСТ (мкмоль/л×год) у нирках щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників (M±m; n=6)

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	4,87±0,29	4,69±0,18	3,00±0,13
15 доба ТД+24 год НН	3,09±0,17*	3,69±0,19*	2,15±0,09*
15 доба ТД+72 год НН	2,32±0,20*	2,78±0,23*	1,80±0,08*
30 доба ТД+24 год НН	1,75±0,09*	2,80±0,12*	1,75±0,09*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,53±0,14 <sup>#</sup>	3,39±0,08 <sup>#</sup>	2,63±0,13 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	2,58±0,06 <sup>#</sup>	2,96±0,15	2,07±0,10
30 доба ТД+72 год НН	1,67±0,09*	2,52±0,15*	1,49±0,05*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	3,67±0,09 <sup>#</sup>	3,43±0,10 <sup>#</sup>	2,80±0,12 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	2,86±0,13 <sup>#</sup>	2,74±0,14	2,02±0,10 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	1,19±0,05*	1,22±0,04*	1,68±0,15*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,98±0,18 <sup>#</sup>	3,79±0,13 <sup>#</sup>	2,97±0,13 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	2,61±0,12 <sup>#</sup>	2,98±0,14 <sup>#</sup>	2,41±0,10 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	1,04±0,07*	0,92±0,06*	1,12±0,05*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	3,97±0,15 <sup>#</sup>	4,07±0,22 <sup>#</sup>	3,05±0,10 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	2,73±0,16 <sup>#</sup>	3,17±0,19 <sup>#</sup>	2,15±0,07 <sup>#</sup>

Активність ЛДГ (мккат/кг) у міокарді щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників (M±m; n=6)

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	2,86±0,21	3,25±0,25	3,07±0,24
15 доба ТД+24 год НН	2,17±0,18	2,75±0,24	2,39±0,24
15 доба ТД+72 год НН	2,03±0,19*	2,63±0,23	2,24±0,21*
30 доба ТД+24 год НН	2,11±0,19*	2,69±0,16	2,27±0,18*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	2,81±0,20 <sup>#</sup>	3,09±0,19	2,93±0,25
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	2,31±0,15	2,73±0,29	2,37±0,23
30 доба ТД+72 год НН	2,03±0,20*	2,54±0,23	2,20±0,22*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	2,80±0,24	3,01±0,26	2,93±0,17 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	2,33±0,16	2,68±0,15	2,69±0,17
45 доба ТД+24 год НН	2,01±0,19*	2,47±0,22	2,21±0,21*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	2,79±0,11 <sup>#</sup>	3,17±0,14 <sup>#</sup>	2,96±0,18 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	2,25±0,14	2,79±0,21	2,64±0,16
45 доба ТД+72 год НН	1,92±0,18*	2,42±0,18*	2,09±0,20*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	2,63±0,17 <sup>#</sup>	3,02±0,13 <sup>#</sup>	2,92±0,13 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	2,05±0,16	2,63±0,25	2,31±0,15

Активність ЛДГ (мккат/кг) у печінці щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	2,53±0,22	2,94±0,25	2,76±0,25
15 доба ТД+24 год НН	1,75 ±0,14*	2,24±0,16	1,94±0,15*
15 доба ТД+72 год НН	1,67±0,17*	2,11±0,12*	1,85±0,15*
30 доба ТД+24 год НН	1,70±0,13*	2,10±0,15*	1,86±0,16*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	2,38±0,21 <sup>#</sup>	2,72±0,18 <sup>#</sup>	2,56±0,21 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,97±0,13	2,17±0,18	1,95±0,15
30 доба ТД+72 год НН	1,62±0,15*	2,05±0,16*	1,81±0,17*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	2,19±0,14 <sup>#</sup>	2,67±0,16 <sup>#</sup>	2,54±0,20 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	1,92±0,14	2,24±0,19	1,97±0,16
45 доба ТД+24 год НН	1,62±0,14*	2,07±0,16*	1,80±0,16*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	2,28±0,19 <sup>#</sup>	2,74±0,17 <sup>#</sup>	2,58±0,22 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,95±0,17	2,30±0,19	2,06±0,14
45 доба ТД+72 год НН	1,56±0,12*	2,03±0,15*	1,70±0,16*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	2,04±0,12 <sup>#</sup>	2,73±0,20 <sup>#</sup>	2,45±0,22 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	1,92±0,16	2,35±0,23	1,96±0,12

Активність ЛДГ (мккат/кг) у легенях щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	2,91±0,23	3,34±0,26	3,17±0,27
15 доба ТД+24 год НН	2,11±0,18*	2,72±0,16	2,38±0,21
15 доба ТД+72 год НН	2,01±0,18*	2,59±0,20	2,25±0,16*
30 доба ТД+24 год НН	1,98±0,17*	2,53±0,19	2,19±0,16*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	2,54±0,17	3,17±0,15 <sup>#</sup>	2,92±0,24
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,99±0,18	2,37±0,18	2,25±0,19
30 доба ТД+72 год НН	1,86±0,16*	2,45±0,16*	2,08±0,17*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	2,55±0,23	3,09±0,18 <sup>#</sup>	2,82±0,21 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	1,94±0,13	2,68±0,16	2,29±0,19
45 доба ТД+24 год НН	1,81±0,14*	2,37±0,22*	2,00±0,18*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	2,61±0,24 <sup>#</sup>	3,11±0,11 <sup>#</sup>	2,82±0,21 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,98±0,13	2,76±0,24	2,15±0,15
45 доба ТД+72 год НН	1,76±0,16*	2,31±0,22*	1,94±0,17*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	2,68±0,22 <sup>#</sup>	3,12±0,15 <sup>#</sup>	2,93±0,27 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	1,94±0,13	2,84±0,23	2,21±0,16

Активність ГГТП (мккат/кг) у нирках щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників (M±m; n=6)

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	1,53±0,16	0,85±0,07	1,32±0,13
15 доба ТД+24 год НН	1,35±0,11	0,76±0,06	1,11±0,09
15 доба ТД+72 год НН	1,25±0,12	0,72±0,06	1,01±0,08
30 доба ТД+24 год НН	1,13±0,12	0,69±0,06	1,03±0,09
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	1,36±0,13	1,02±0,10	1,48±0,11
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,15±0,13	0,71±0,06	1,17±0,10
30 доба ТД+72 год НН	1,09±0,10	0,61±0,06*	0,91±0,09*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	1,39±0,11	0,89±0,07 <sup>#</sup>	1,44±0,12 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	1,12±0,08	0,68±0,05	1,04±0,09
45 доба ТД+24 год НН	1,04±0,08*	0,61±0,04*	0,88±0,08*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	1,44±0,11 <sup>#</sup>	0,94±0,09 <sup>#</sup>	1,42±0,11 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	1,13±0,07	0,77±0,05	1,10±0,09
45 доба ТД+72 год НН	0,98±0,08*	0,57±0,04*	0,81±0,05*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	1,42±0,12*	0,96±0,09 <sup>#</sup>	1,39±0,11 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	1,10±0,08	0,77±0,06	1,00±0,09

Активність лужної фосфатази (нмоль/кг×год) у нирках щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	13,26±1,26	15,43±1,46	12,43±0,95
15 доба ТД+24 год НН	8,87±0,81*	11,46±0,96	8,91±0,75*
15 доба ТД+72 год НН	7,81±0,66*	10,26±0,84*	8,21±0,70*
30 доба ТД+24 год НН	7,13±0,60*	12,65±1,26	7,56±0,74*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	9,73±0,92	13,83±1,24	9,95±0,96
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	7,84±0,66	12,89±1,12	8,24±0,79
30 доба ТД+72 год НН	6,95±0,66*	12,40±1,09	6,80±0,62*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	9,15±0,82	12,79±1,08	9,18±0,80
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	7,40±0,68	12,91±1,11	7,73±0,62
45 доба ТД+24 год НН	5,43±0,50*	11,47±1,04	5,78±0,50*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	8,23±0,76 <sup>#</sup>	14,10±1,27	9,07±0,79 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	6,93±0,67	12,03±1,02	6,82±0,70
45 доба ТД+72 год НН	4,86±0,44*	10,14±1,00*	4,93±0,48*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	8,21±0,69 <sup>#</sup>	14,30±1,28 <sup>#</sup>	8,48±0,84 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	4,31±0,43	12,00±1,11	5,92±0,49

Активність сукцинатдегідрогенази (ммоль/кг×год) у легенях щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	28,00±0,73	31,00±0,86	28,67±0,67
15 доба ТД+24 год НН	22,33±1,20*	27,33±0,99*	22,67±0,67*
15 доба ТД+72 год НН	20,00±1,36*	24,66±1,43*	20,83±0,75*
30 доба ТД+24 год НН	17,83±0,40*	24,66±0,99*	21,00±0,82*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	24,67±1,33 <sup>#</sup>	27,66±0,95 <sup>#</sup>	25,33±0,84 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	19,66±0,56 <sup>#</sup>	21,33±0,67 <sup>#</sup>	20,17±0,60
30 доба ТД+72 год НН	17,16±0,60*	22,33±0,80*	20,33±0,92*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	22,33±0,61 <sup>#</sup>	24,66±0,84	23,00±1,12
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	19,83±0,48 <sup>#</sup>	22,00±1,03	19,66±0,56
45 доба ТД+24 год НН	14,83±0,75*	19,83±0,48*	17,33±0,80*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	20,00±0,45 <sup>#</sup>	22,17±1,04	22,16±0,91 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	18,50±0,43 <sup>#</sup>	19,66±0,65	19,17±0,31
45 доба ТД+72 год НН	13,50±0,62*	16,50±0,56*	16,50±0,34*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	21,33±0,67 <sup>#</sup>	24,33±1,08 <sup>#</sup>	22,33±0,80 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	17,50±0,43 <sup>#</sup>	19,50±0,96 <sup>#</sup>	18,67±0,61 <sup>#</sup>



Активність цитохромоксидази (ммоль/кг×хв) у міокарді щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	41,70±1,55	45,93±1,79	38,98±1,30
15 доба ТД+24 год НН	28,40±0,90*	32,33±1,27*	27,80±0,76*
15 доба ТД+72 год НН	26,89±0,73*	27,80±0,76*	26,59±1,01*
30 доба ТД+24 год НН	28,40±0,60*	35,05±0,60*	25,38±0,66*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	36,86±1,66 <sup>#</sup>	38,98±1,60	36,26±0,81 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	33,24±0,90 <sup>#</sup>	30,53±0,29 <sup>#</sup>	32,33±0,56 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН	24,47±0,78*	30,22±0,76*	22,06±0,56*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	35,35±1,02 <sup>#</sup>	36,26±0,81 <sup>#</sup>	35,05±0,60 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	28,40±0,89 <sup>#</sup>	32,03±0,90	27,50±0,86 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	23,46±1,18*	25,38±0,66*	20,85±0,91*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	34,75±0,56 <sup>#</sup>	35,96±0,86 <sup>#</sup>	34,14±0,56 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	30,82±0,81 <sup>#</sup>	28,57±1,21	27,80±0,76 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН	23,27±0,55*	26,29±0,91*	17,52±0,90*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	33,24±0,60 <sup>#</sup>	34,76±1,42 <sup>#</sup>	33,65±0,41 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	26,89±0,56 <sup>#</sup>	30,82±0,93 <sup>#</sup>	26,59±0,76 <sup>#</sup>

Вміст нітрит-іону (нмоль/кг) у печінці щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	7,60±0,22	3,20±0,16	9,90±0,39
15 доба ТД+24 год НН	14,90±0,57*	10,3±0,30*	11,90±0,40*
15 доба ТД+72 год НН	17,00±0,77*	13,30±0,98*	15,80±0,66*
30 доба ТД+24 год НН	13,10±0,10*	9,70±0,15*	13,30±0,16*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	11,10±0,15 <sup>#</sup>	7,70±0,12 <sup>#</sup>	11,10±0,20 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	13,00±0,35	8,90±0,15 <sup>#</sup>	12,10±0,21 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН	14,40±0,16*	10,50±0,23*	15,00±0,13*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	12,70±0,21 <sup>#</sup>	9,20±0,16 <sup>#</sup>	12,90±0,20 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	13,60±0,21 <sup>#</sup>	9,40±0,12 <sup>#</sup>	13,80±0,19 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	15,60±0,21*	11,00±0,29*	16,10±0,79*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	12,60±0,11 <sup>#</sup>	8,90±0,12 <sup>#</sup>	12,50±0,14 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	14,30±0,17 <sup>#</sup>	10,10±0,23	14,40±0,29
45 доба ТД+72 год НН	11,30±0,48*	17,30±0,48*	21,50±0,73*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	14,40±0,21 <sup>#</sup>	14,40±0,21 <sup>#</sup>	19,30±0,13 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	15,30±0,59 <sup>#</sup>	15,30±0,59 <sup>#</sup>	20,20±0,61

Вміст нітрит-іону (нмоль/кг) у міокарді щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	2,20±0,14	1,60±0,16	1,80±0,15
15 доба ТД+24 год НН	3,40±0,15*	2,20±0,11	2,90±0,15*
15 доба ТД+72 год НН	3,80±0,20*	2,40±0,17*	3,20±0,25*
30 доба ТД+24 год НН	3,80±0,23*	2,60±0,15*	3,30±0,14*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	2,80±0,13 <sup>#</sup>	1,90±0,11 <sup>#</sup>	2,70±0,10 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	3,60±0,11	2,30±0,11	3,10±0,13
30 доба ТД+72 год НН	4,30±0,22*	2,80±0,13*	3,70±0,21*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	3,70±0,24	2,20±0,17 <sup>#</sup>	2,90±0,13 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	4,10±0,18	2,60±0,15	3,40±0,15
45 доба ТД+24 год НН	4,40±0,21*	2,90±0,17*	3,70±0,20*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	3,80±0,20	2,10±0,15 <sup>#</sup>	3,10±0,14
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	4,10±0,17	2,70±0,17	3,50±0,20
45 доба ТД+72 год НН	4,90±0,16*	3,20±0,13*	4,10±0,13*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	4,00±0,22 <sup>#</sup>	2,20±0,11 <sup>#</sup>	3,20±0,17 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	4,60±0,20	3,00±0,16	3,80±0,28

Вміст нітрит-іону (нмоль/кг) у нирках щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечі щури
Контрольні щури	8,50±0,29	10,00±0,29	10,40±0,32
15 доба ТД+24 год НН	14,50±1,30*	11,60±0,21*	20,50±0,87*
15 доба ТД+72 год НН	17,50±0,74*	15,00±0,80*	24,70±1,00*
30 доба ТД+24 год НН	13,90±0,21*	11,40±0,13*	16,60±0,14*
30 доба ТД+24 год НН +мілдронат	12,00±0,18 <sup>#</sup>	9,70±0,13 <sup>#</sup>	14,80±0,19 <sup>#</sup>
30 доба ТД+24 год НН +карболайн	12,90±0,14 <sup>#</sup>	11,10±0,34	16,10±0,12
30 доба ТД+72 год НН	18,10±0,11*	12,20±0,20*	18,70±0,19*
30 доба ТД+72 год НН +мілдронат	17,00±0,17 <sup>#</sup>	11,30±0,13 <sup>#</sup>	17,40±0,14 <sup>#</sup>
30 доба ТД+72 год НН +карболайн	17,70±0,24	11,90±0,10	17,90±0,16 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН	19,30±0,18*	12,90±0,21*	18,70±0,47*
45 доба ТД+24 год НН +мілдронат	17,60±0,15 <sup>#</sup>	11,40±0,10 <sup>#</sup>	16,90±0,16 <sup>#</sup>
45 доба ТД+24 год НН +карболайн	18,30±0,12 <sup>#</sup>	12,40±0,21	17,50±0,13
45 доба ТД+72 год НН	24,10±0,83*	20,30±0,49*	20,60±0,27*
45 доба ТД+72 год НН +мілдронат	20,00±0,37 <sup>#</sup>	16,90±0,19 <sup>#</sup>	18,30±0,20 <sup>#</sup>
45 доба ТД+72 год НН +карболайн	21,70±0,37 <sup>#</sup>	19,10±0,18	20,30±0,12

**Список публікацій здобувача**

1. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Бурмас НІ, Кернична ІЗ. Стан клітинних мембран щурів різного віку за умов ураження нітритом натрію. Медична хімія. 2011;1(46):74-77.
2. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Підгірний ВВ. Динаміка активності вільнорадикальних процесів в органах щурів різних вікових груп після інтоксикації нітритом натрію. Актуальные проблемы транспортной медицины. 2014;3(37):139-145.
3. Lyhatskyu PG., Rytsyk OB., Fira LS., Yaremchuk OZ. Age related oxidative processes and endogenous intoxication dynamics of rats arter tobacco smoke affect. International Journal of Medicine and Medical Research. 2016;2(2):47-51.
4. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Качур ОІ. Показники енергозабезпечення в щурів за умов хронічного ураження тютюновим димом. Медична та клінічна хімія. 2016;4(18):34-38.
5. Lykhatskyi PH, Fira LS. Free radicals and inflammation in rats of different age in cases of sodium nitrites and tobacco smoke poisoning. International Journal of Medicine and Medical Research. 2017;1(3):84-88.
6. Лихацький ПГ., Фіра ЛС, Грицишин ЛЄ. Біохімічні механізми розвитку стресу за умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Біологія тварин. 2017;1(19):65-72.
7. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Динаміка маркерів запалення під впливом мілдронату за експериментального ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом. Sciences of Europe. 2017;1(20):10-15.
8. Lykhatskyi PH, Fira LS. Experimental study of the toxic effects of tobacco smoke and nitrites on the body of immature and mature rats. Український біофармацевтичний журнал. 2017;1(48):12-16.

9. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Дослідження активності окиснювальних та запальних процесів у щурів різного віку, одночасно отруєних натрію нітритом та тютюновим димом. Фітотерапія. Часопис. 2017;2:53-58.

10. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Фіра ДБ, Кузьмак П. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. 2017;2(8):259-264.

11. Лихацький ПГ, Фіра ЛС., Бойко ЛА., Федорович УМ. Розвиток цитолітичного синдрому в організмі щурів різного віку, уражених тютюновим димом. Укр.журн.клін. та лаб.медицини. 2017;2(12):12-19

12. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Застосування ентеросорбенту “Карболайн” для корекції окиснювальних процесів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Медична та клінічна хімія. 2017;2(19):45- 52.

13. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Гонський ЯІ. Динаміка змін маркерів біоенергетичних процесів та цитолізу у щурів після ураження нітритом натрію на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник проблем біології і медицини. 2017;2(136):147-152.

14. Лихацький ПГ. Корекція вільнорадикальних процесів та мітохондріальної дисфункції в щурів, отруєних натрію нітритом і тютюновим димом, препаратом “Мілдронат”. Медична та клінічна хімія. 2017;3(19):93-102.

15. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Застосування мілдронату за умов окиснювального стресу у щурів, уражених натрію нітритом, на тлі інтоксикації тютюновим димом. Світ медицини та біології. 2017;3(61):128-134.

16. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Ендогенна інтоксикація у старечих щурів, одночасно уражених тютюновим димом та нітритом натрію. Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2017;3(70):158-163.

17. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Особенности процессов липопероксидации и энергетического обмена у крыс разных возрастных групп после отравления

их натрія нітритом на фоні інтоксикації тютюновим димом. Проблемы биологии и медицины. 2017;3(96):145-152.

18. Lykhatskyi PH, Fira LS, Fedorovich UM. Proteins oxidative modification and mitochondrial enzymes activity in rats of different ages under affection by sodium nitrites and tobacco smoke. Український біофармацевтичний журнал. 2017;3(50):38-46.

19. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Можливість застосування сорбенту “Карболайн” для корекції порушень в організмі щурів, уражених натрію нітритом, на тлі тютюнової інтоксикації. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2017;4:31-40.

20. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Розвиток нітрооксидативного стресу та запальних процесів у щурів різного віку, уражених тютюновим димом. Світ медицини та біології. 2017;4(62):145-149.

21. Лихацький ПГ. Дослідження показників ендогенної антиоксидантної системи у щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. ScienceRise: Biological Science. 2017;5(8):18-23.

22. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Ендогенна інтоксикація та запальні процеси в організмі щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом Наукові доповіді НУБіП України. 2017;5(69):1-14.

23. Lykhatskyi PH, Fira LS. Activity of oxidative processes in the rats' body of different age, affected by sodium nitrite, on the background of tobacco intoxication. The Pharma Innovation. 2017;6(6):18-24.

24. Лихацький ПГ. Зміни запальних та біоенергетичних процесів у щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом, після застосування мілдронату. Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2018;1(72):102-110.

25. Lykhatskyi PH, Fira LS, Lisnychuk N, Kulitska MI. Effect of tobacco smoke on ros production and inflammation in rats of different age. Georgian Medical News 2018;2(275):150-157.

26. Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Вікові аспекти біохімічної оцінки ступеня інтоксикації за умов нітритного отруєння. Інформ. лист. 2015; №128:1-4.

27. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Спосіб застосування ентеросорбенту карболайн для зниження ступеня інтоксикації у щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом”Патент України. №26778/ЗУ/17.

28. Лихацький ПГ, Показники антиоксидантної системи щурів різних вікових груп при ураженні нітритом натрію. В: Фіра ЛС., Грималюк ОІ. Матеріали наук.-практ. конф. Здобутки клінічної та експериментальної медицини; 2012 Квіт 17-18; Тернопіль. Тернопіль: ДВНЗ «ТДМУ»; 2012, с. 191.

29. Лихацький ПГ, Перебіг процесів вільнорадикального окиснення у щурів різного віку за умов нітритної інтоксикації. В: Фіра ЛС, Іванець ЛМ. Матеріали III Всеукраїнської наук.-практ. конф. Хімія природних сполук; 2012 Жовт 30-31; Тернопіль. Тернопіль: ДВНЗ «ТДМУ»; 2012, с. 84.

30. Lyhatskiy PG, Fira LS. 7th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry. Age-related changes in the protection systems of rats organism after the intoxication by sodium nitrite; 2013 May 23-24; Lviv, Львів: Львів.Нац.мед.ун-т ім. Данила Галицького; 2013.

31. Лихацький ПГ, Вплив нітриту натрію на розвиток вільнорадикальних процесів в організмі щурів різних вікових груп. В: Фіра ЛС. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю Бабенківські читання; 2013 Жовт 24-25; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ДВНЗ «Ів-ФДМУ»; 2013, с.47.

32. Лихацький ПГ, Вміст активних форм кисню у щурів різних вікових груп за умов нітритного отруєння. В: Фіра ЛС, Трохимчук НБ, редактор. Медична хімія. 2014;3(16):123.

33. Лихацький ПГ, Зміни деяких показників антиоксидантного захисту в органах старечих щурів за умов нітритної інтоксикації. В: Фіра ЛС. Матеріали XI Українського біохімічного конгресу; 2014 Жовт 06-10; Київ. Київ: Нац.акад.наук України «Ін-т біохімії ім. О.О. Палладіна Нац.академії наук України», 5(86)(дод.2): Укр. біох. журн., 2014, с. 96.



34. Лихацький ПГ, Окиснювальний стрес в організмі щурів різного віку, одночасно уражених натрію нітритом та тютюновим димом. В: Фіра ЛС. Підсумкова LX наук.-практ.конф. Здобутки клінічної та експериментальної медицини (присвячена 60-річчю ТДМУ) 2017 Черв 14; Тернопіль. Тернопіль: ДВНЗ «ТДМУ»; 2017, с.258

35. Lykhatskyi PH, Fira LS. 8th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry. Research of activity of oxidative and inflammation processes in the rats of different ages after their affection by tobacco smoke.; 2017 Sep 18-20; Poland, AU. Lublin (AU).

36. Лихацький ПГ, Розвиток запальних процесів у щурів, отруєних натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. В: Фіра ЛС. Матеріали наук.-практ. конф. The 4th international scientific conference current problems of Biochemistry and cell Biology; 2017 Жовт 5-6; Дніпро. Дніпро: «ДНУ ім. Олеся Гончара»; 2017, с. 158-160.

37. Лихацький ПГ Зміни показників антиоксидантної системи щурів, уражених натрію нітритом, на тлі тютюнової інтоксикації. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар.участю Бабенківські читання; 2017 Жовт 26-27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: ДВНЗ «Ів-ФДМУ»; 2017, с. 68.

### Апробація результатів дисертації

Результати роботи доповідались на:

- підсумковій науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (м. Тернопіль, 17-18 квітня 2012) публікація та усна доповідь;
- XI читаннях В. В. Підвисоцького (м. Одеса, 24-25 травня 2012) усна доповідь;
- III Всеукраїнській науково-практичній конференції «Хімія природних сполук» (м. Тернопіль, 30-31 жовтня 2012) публікація та усна доповідь;
- 7th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry (м. Львів, 23-24 травня 2013) публікація та усна доповідь;
- XI Українському біохімічному конгресі (м. Київ, 06-10 жовтня 2014) публікація та стендова доповідь;
- науково-практичній конференції «Актуальні питання експериментальної і клінічної біохімії та фармакології» (м. Тернопіль, 2014) публікація та усна доповідь;
- науково-практичній конференції з міжнародною участю «Бабенківські читання» (м. Івано-Франківськ, 24-25 жовтня 2015) публікація та усна доповідь;
- підсумковій науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» м. Тернопіль, 14 червня 2017 публікація та усна доповідь;
- 8 th Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry (Lublin, 18-20 вересня 2017) публікація та стендова доповідь;
- науково-практичній конференції з міжнародною участю «Бабенківські читання» (м. Івано-Франківськ, 26-27 жовтня 2017) публікація та усна доповідь;

➤ 4th International scientific conference current problems of Biochemistry and cell Biology (м. Дніпро, 5-6 жовтня 2017) публікація та усна доповідь.

➤ підсумковій науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (7 червня Тернопіль, 2018) публікація та усна доповідь.

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
Український центр наукової медичної інформації  
та патентно-ліцензійної роботи  
(Укрмедпатентінформ)

## **ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ**

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СФЕРІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№128-2015

Випуск 1 з проблеми  
«Біологічна та медична хімія»  
Підстава: Рішення ПК  
«Біологічна та медична хімія»  
Протокол № 15 від 23.12.2015 р.

ЗАВДУВАЧАМ НАУКОВО-ДОСЛІДНИХ  
ЛАБОРАТОРІЙ ВИЩИХ МЕДИЧНИХ  
(ФАРМАЦЕВТИЧНОГО) НАВЧАЛЬНИХ  
ЗАКЛАДІВ, НАУКОВО-ДОСЛІДНИХ  
УСТАНОВ

### **ВІКОВІ АСПЕКТИ БІОХІМІЧНОЇ ОЦІНКИ СТУПЕНЯ ІНТОКСИКАЦІЇ ЗА УМОВ НІТРИТНОГО ОТРУЄННЯ**

УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО  
МОЗ УКРАЇНИ

УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ  
МОЗ УКРАЇНИ

А В Т О Р И:

д.біол.н., проф. ФІРА Л.С.,  
к.біол.н., доц. ЛИХАЦЬКИЙ П.Г.

м. Київ



УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 125659

**СПОСІБ ВИКОРИСТАННЯ ЕНТЕРОСОРБЕНТУ КАРБОЛАЙН  
ДЛЯ ЗНИЖЕННЯ СТУПЕНЯ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ,  
УРАЖЕНИХ НАТРІО НІТРИТОМ ТА ТЮТЮНОВИМ ДИМОМ**

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 25.05.2018.

Заступник міністра економічного розвитку і торгівлі України

*M.I. Tigarчук*  
М.І. Тігарчук





МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **125659** (13) **U**  
(51) МПК  
**A61K 33/44** (2006.01)

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: <b>u 2017 08090</b>	(72) Винахідник(и): <b>Лихацький Петро Григорович (UA), Фіра Людмила Степанівна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>03.08.2017</b>	(73) Власник(и): <b>ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ", вул. Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001 (UA)</b>
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.05.2018</b>	
(46) Публікація відомостей про видану патенту: <b>25.05.2018, Бюл.№ 10</b>	

**(54) СПОСІБ ВИКОРИСТАННЯ ЕНТЕРОСОРБЕНТУ КАРБОЛАЙН ДЛЯ ЗНИЖЕННЯ СТУПЕНЯ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ, УРАЖЕНИХ НАТРІЮ НІТРИТОМ ТА ТІОТЮНОВИМ ДИМОМ**

**(57) Реферат:**

Спосіб використання антиоксиданту для зниження ступеня інтоксикації у щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом, причому для лікуванні отруень різного генезу, які супроводжуються активацією окислювальних процесів, як антиоксидант використовують ентеросорбент карболайн, який пригнічує вільнорадикальні реакції.

**UA 125659 U**

«Затверджую»  
Перший проректор ДВНЗ  
"Івано-Франківський національний  
медичний університет"  
професор *А.М. Ерстенюк*  
2018 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Розвиток оксидативного та нітрооксидативного стресів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. **Джерела інформації:** 1. Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Грицишин ЛС. Біохімічні механізми розвитку стресу за умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Біологія тварин. 2017;1(19):65-72.  
2. Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Фіра ДБ, Кузьмак П. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. 2017;2(8):259-264
4. **Де впроваджено:** кафедра біологічної та медичної хімії імені академіка Г. О. Бабенка Івано-Франківського національного медичного університету
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей функціонування нітросистеми та активність окиснювальних процесів у щурів після одночасного їх ураження натрію нітритом та тютюновим димом
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 рік.

Завідувач кафедри біологічної та  
медичної хімії  
імені академіка Г. О. Бабенка,  
д.біол наук

*А.М. Ерстенюк* проф. Ерстенюк А.М.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Розвиток оксидативного та нітрооксидативного стресів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації
2. Установа, автор: Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. Джерела інформації: 1. Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Грицишин ЛС. Біохімічні механізми розвитку стресу за умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Біологія тварин. 2017;1(19):65-72.  
2. Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Фіра ДБ, Кузьмак ІП. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. 2017;2(8):259-264
4. Де впроваджено: кафедра біологічної та біоорганічної хімії ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Протокол №19 від 4.06.2018
5. Форма впровадження: науково-навчальний процес кафедри
6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з вивчення особливостей функціонування нітросистеми та активність окиснювальних процесів у щурів після одночасного їх ураження натрію нітритом та тютюновим димом
7. Строки впровадження: 2017-2018 рік.

Завідувач кафедри біологічної та біоорганічної хімії  
ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»

д.мед.н., професор




Непорада К.С.



„Затверджую”



Проректор з науково-педагогічної роботи  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І.Пирогова  
професор Ю.І.Гумінський

„Вересня” 2018 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Розвиток оксидативного та нітрооксидативного стресів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. **Джерела інформації:** 1.Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Грицишин ЛЄ. Біохімічні механізми розвитку стресу за умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Біологія тварин. 2017;1(19):65-72.  
2. Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Фіра ДБ, Кузьмак ІП. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. 2017;2(8):259-264
4. **Де впроваджено:** кафедра біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей функціонування нітросистеми та активність окиснювальних процесів у щурів після одночасного їх ураження натрію нітритом та тютюновим димом
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 рік.

Відповідальний за впровадження:  
завідувач кафедри біологічної та загальної хімії  
Вінницького національного  
медичного університету ім. М. І. Пирогова  
доктор медичних наук, професор

Заїчко Н.В.



**„Затверджую”**  
Проректор з науково-педагогічної роботи  
Національного фармацевтичного університету  
професор А.Л.Загайко  
” 2018 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Розвиток оксидативного та нітрооксидативного стресів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. **Джерела інформації:** 1.Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Грицишин ЛЄ. Біохімічні механізми розвитку стресу за умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Біологія тварин. 2017;1(19):65-72.  
2. Лихацький П.Г, Фіра ЛС, Фіра ДБ, Кузьмак ІП. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. 2017;2(8):259-264
4. **Де впроваджено:** кафедра біологічної хімії Національного фармацевтичного університету
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей функціонування нітросистеми та активність окиснювальних процесів у щурів після одночасного їх ураження натрію нітритом та тютюновим димом
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 рік.

Завідувач кафедри біологічної хімії  
НФаУ, д.біол наук



проф. Кравченко В.М.

„Затверджую”

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Дніпровського національного  
університету імені Олеся Гончара  
професор В.А. Куземко  
„ 4 ” 14.06.2018 ” 2018 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Розвиток оксидативного та нітрооксидативного стресів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. **Джерела інформації:** 1.Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Грицишин ЛС. Біохімічні механізми розвитку стресу за умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Біологія тварин. 2017;1(19):65-72.  
2. Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Фіра ДБ, Кузьмак П. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. 2017;2(8):259-264
4. **Де впроваджено:** кафедра біофізики і біохімії Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей функціонування нітросистеми та активність окиснювальних процесів у щурів після одночасного їх ураження натрію нітритом та тютюновим димом
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 рік.

Завідувач кафедри біофізики і біохімії  
Дніпровського національного  
університету імені Олеся Гончара,  
д-р біол. наук

проф. Ушакова Г.О.

**„Затверджую”**  
 Проректор з наукової роботи  
 Львівського національного медичного  
 університету імені Данила Галицького,  
 д.м.н., професор Наконечний А.Й.

« 16 » \_\_\_\_\_ 2018 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Розвиток оксидативного та нітрооксидативного стресів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. **Джерела інформації:** 1.Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Грицишин ЛС. Біохімічні механізми розвитку стресу за умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Біологія тварин. 2017;1(19):65-72.  
 2. Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Фіра ДБ, Кузьмак П. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. 2017;2(8):259-264.
4. **Де впроваджено:** кафедра біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей функціонування нітросистеми та активність окиснювальних процесів у щурів після одночасного їх ураження натрію нітритом та тютюновим димом.
7. **Строки впровадження:** 2018 рік.

Завідувач кафедри  
 біологічної хімії, д. мед. наук



проф. Скларов О. Я.

„Затверджую”  
 Проректор з наукової роботи ДВНЗ "Тернопільський  
 державний медичний університет  
 імені І.Я.Горбачевського  
 МОЗ України"  
 професор І.М.Кліщ  
 "14" "Серпень" 2018 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Розвиток оксидативного та нітрооксидативного стресів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. **Джерела інформації:** 1.Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Грицишин ЛЄ. Біохімічні механізми розвитку стресу за умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Біологія тварин. 2017;1(19):65-72.  
2. Лихацький П.Г, Фіра ЛС, Фіра ДБ, Кузьмак ІП. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. 2017;2(8):259-264.
4. **Де впроваджено:** кафедра медичної біохімії Тернопільського державного медичного університету
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей функціонування нітросистеми та активність окиснювальних процесів у щурів після одночасного їх ураження натрію нітритом та тютюновим димом
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 рік.

Завідувач кафедри  
 медичної біохімії Тернопільського  
 державного медичного університету  
 імені І.Я.Горбачевського, д.мед.наук

доц. Підручна С.Р.

„Затверджую”

Проректор із науково-педагогічної роботи  
 Миколаївського національного університету  
 імені В.О. Сухомлинського  
 професор А.Л. Ситченко  
 ” 2018 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Розвиток оксидативного та нітрооксидативного стресів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. **Джерела інформації:** 1. Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Грицишин ЛС. Біохімічні механізми розвитку стресу за умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Біологія тварин. 2017;1(19):65-72.  
2. Лихацький П.Г., Фіра ЛС, Фіра ДБ, Кузьмак ІП. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. 2017;2(8):259-264
4. **Де впроваджено:** кафедра лабораторної діагностики Миколаївського національного університету імені В.О. Сухомлинського
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей функціонування нітросистеми та активність окиснювальних процесів у щурів після одночасного їх ураження натрію нітритом та тютюновим димом
7. **Строки впровадження:** 2018 рік.

Завідувач кафедри лабораторної діагностики  
 Миколаївського національного університету  
 імені В.О. Сухомлинського, д.мед.наук

проф. Зюзін В.О.



«Затверджую»  
 Перший проректор ДВНЗ  
 "Івано-Франківський національний  
 медичний університет"  
 професор *А.М. Ерстенюк*  
 „24” „2018 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Активність запальних процесів у щурів різних вікових категорій в умовах нітритно-тютюнового токсикозу
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. **Джерела інформації:** 1. Lykhatskyi PH, Fira LS. Free radicals and inflammation in rats of different age in cases of sodium nitrites and tobacco smoke poisoning. International Journal of Medicine and Medical Research. 2017;1(3):84-88.  
 2. Лихацький П.Г., Фіра Л.С. Ендогенна інтоксикація та запальні процеси в організмі щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом Наукові доповіді НУБіП України. 2017;5(69):1-14.  
 3. Лихацький П.Г., Фіра Л.С. Динаміка маркерів запалення під впливом мідронату за експериментального ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом. Sciences of Europe. 2017;1(20):10-15.  
 4. Lykhatskyi PH, Fira LS, Lisnychuk N, Kulitska MI. Effect of tobacco smoke on ros production and inflammation in rats of different age. Georgian Medical News 2018;2(275):150-157.
4. **Де впроваджено:** кафедра біологічної та медичної хімії імені академіка Г. О. Бабенка Івано-Франківського національного медичного університету
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей про- та протизапальних процесів у щурів різного віку, отруєних натрію нітритом на тлі 45-денної інтоксикації тютюновим димом
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 рік.

Завідувач кафедри біологічної та  
 медичної хімії  
 імені академіка Г. О. Бабенка,  
 д.біол наук

*А.М. Ерстенюк*

проф. Ерстенюк А.М.



„Затверджую”

Перший проректор ВДНЗУ

«Українська медична

стоматологічна академія»

д.мед.н., проф. Дворник В.М.



” 2018 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. Найменування пропозиції для впровадження: Активність запальних процесів у щурів різних вікових категорій в умовах нітритно-тютюнового токсикозу
2. Установа, автор: Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. Джерела інформації: 1) Lykhatskyi PH, Fira LS. Free radicals and inflammation in rats of different age in cases of sodium nitrites and tobacco smoke poisoning. International Journal of Medicine and Medical Research. 2017;1(3):84-88.  
2) Лихацький П.Г., Фіра Л.С. Ендогенна інтоксикація та запальні процеси в організмі щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом Наукові доповіді НУБіП України. 2017;5(69):1-14.  
3) Лихацький П.Г., Фіра Л.С. Динаміка маркерів запалення під впливом мілдронату за експериментального ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом. Sciences of Europe. 2017;1(20):10-15.  
4) Lykhatskyi PH, Fira LS, Lisnychuk N, Kulitska MI. Effect of tobacco smoke on ros production and inflammation in rats of different age. Georgian Medical News 2018;2(275):150-157.
4. Де впроваджено: кафедра біологічної та біоорганічної хімії ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Протокол №19 від 4.06.2018
5. Форма впровадження: науково-навчальний процес кафедри
6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з вивчення особливостей про- та протизапальних процесів у щурів різного віку, отруєних натрію нітритом на тлі 45-денної інтоксикації тютюновим димом
7. Строки впровадження: 2017-2018 рік.



Завідувач кафедри біологічної та біоорганічної хімії  
ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»

д.мед.н., професор

Непорада К.С.



„Затверджую”



Проректор з науково-педагогічної роботи  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І.Пирогова  
професор Ю.І.Гумінський  
” 2018 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Активність запальних процесів у щурів різних вікових категорій в умовах нітритно-тютюнового токсикозу
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. **Джерела інформації:** 1. Lykhatskyi PH, Fira LS. Free radicals and inflammation in rats of different age in cases of sodium nitrites and tobacco smoke poisoning. International Journal of Medicine and Medical Research. 2017;1(3):84-88.  
2. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Ендогенна інтоксикація та запальні процеси в організмі щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом Наукові доповіді НУБіП України. 2017;5(69):1-14.  
3. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Динаміка маркерів запалення під впливом мілдронату за експериментального ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом. Sciences of Europe. 2017;1(20):10-15.  
4. Lykhatskyi PH, Fira LS, Lisnychuk N, Kulitska MI. Effect of tobacco smoke on ros production and inflammation in rats of different age. Georgian Medical News 2018;2(275):150-157.
4. **Де впроваджено:** кафедра біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей про- та протизапальних процесів у щурів різного віку, отруєних натрію нітритом на тлі 45-денної інтоксикації тютюновим димом
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 рік.

Відповідальний за впровадження:  
завідувач кафедри біологічної та загальної хімії  
Вінницького національного  
медичного університету ім. М. І. Пирогова  
доктор медичних наук, професор

Заїчко Н.В.

**„Затверджую”**  
 Проректор з науково-педагогічної роботи  
 ВДНЗ України «Буковинський  
 державний медичний університет»  
 доцент 2010971 І.В. Геруш  
 \_\_\_\_\_ 2018 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Активність запальних процесів у щурів різних вікових категорій в умовах нітритно-тютюнового токсикозу
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. **Джерела інформації:** 1. Lykhatskyi PH, Fira LS. Free radicals and inflammation in rats of different age in cases of sodium nitrites and tobacco smoke poisoning. International Journal of Medicine and Medical Research. 2017;1(3):84-88.  
 2. Лихацький П.Г., Фіра Л.С. Ендогенна інтоксикація та запальні процеси в організмі щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом Наукові доповіді НУБіП України. 2017;5(69):1-14.  
 3. Лихацький П.Г., Фіра Л.С. Динаміка маркерів запалення під впливом мілдронату за експериментального ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом. Sciences of Europe. 2017;1(20):10-15.  
 4. Lykhatskyi PH, Fira LS, Lisnychuk N, Kulitska MI. Effect of tobacco smoke on ros production and inflammation in rats of different age. Georgian Medical News 2018;2(275):150-157.
4. **Де впроваджено:** кафедра біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей про- та протизапальних процесів у щурів різного віку, отруєних натрію нітритом на тлі 45-денної інтоксикації тютюновим димом
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 рік.

Завідувач кафедри біоорганічної і  
 біологічної хімії та клінічної біохімії,  
 к.біол.наук, доцент



Григор'єва Н.П.

„Затверджую”  
 Проректор з науково-педагогічної роботи  
 Дніпровського національного  
 університету імені Олеся Гончара  
 професор В.А. Куземко  
 „ 4 ” \_\_\_\_\_ ” 2018 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Активність запальних процесів у щурів різних вікових категорій в умовах нітритно-тютюнового токсикозу
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. **Джерела інформації:** 1. Lykhatskyi PH, Fira LS. Free radicals and inflammation in rats of different age in cases of sodium nitrites and tobacco smoke poisoning. International Journal of Medicine and Medical Research. 2017;1(3):84-88.  
 2. Лихацький П.Г., Фіра Л.С. Ендогенна інтоксикація та запальні процеси в організмі щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом Наукові доповіді НУБіП України. 2017;5(69):1-14.  
 3. Лихацький П.Г., Фіра Л.С. Динаміка маркерів запалення під впливом мілдронату за експериментального ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом. Sciences of Europe. 2017;1(20):10-15.  
 4. Lykhatskyi PH, Fira LS, Lisnychuk N, Kulitska MI. Effect of tobacco smoke on ros production and inflammation in rats of different age. Georgian Medical News 2018;2(275):150-157.
4. **Де впроваджено:** кафедра біофізики і біохімії Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей про- та протизапальних процесів у щурів різного віку, отруєних натрію нітритом на тлі 45-денної інтоксикації тютюновим димом
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 рік.

Завідувач кафедри біофізики і біохімії  
 Дніпровського національного  
 університету імені Олеся Гончара,  
 д-р біол. наук

проф. Ушакова Г.О.

**„Затверджую”**  
 Проректор з науково-педагогічної роботи  
 Національного фармацевтичного університету  
 професор А.Л.Загайко  
 „\_\_\_\_\_” 2018 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Активність запальних процесів у щурів різних вікових категорій в умовах нітритно-тютюнового токсикозу
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. **Джерела інформації:** 1. Lykhatskyi PH, Fira LS. Free radicals and inflammation in rats of different age in cases of sodium nitrites and tobacco smoke poisoning. International Journal of Medicine and Medical Research. 2017;1(3):84-88.  
 2. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Ендогенна інтоксикація та запальні процеси в організмі щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом Наукові доповіді НУБіП України. 2017;5(69):1-14.  
 3. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Динаміка маркерів запалення під впливом мілдронату за експериментального ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом. Sciences of Europe. 2017;1(20):10-15.  
 4. Lykhatskyi PH, Fira LS, Lisnychuk N, Kulitska MI. Effect of tobacco smoke on ros production and inflammation in rats of different age. Georgian Medical News 2018;2(275):150-157.
4. **Де впроваджено:** кафедра біологічної хімії Національного фармацевтичного університету
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей про- та протизапальних процесів у щурів різного віку, отруєних натрію нітритом на тлі 45-денної інтоксикації тютюновим димом
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 рік.

Завідувач кафедри біологічної хімії  
 НФаУ, д.біол.наук

проф. Кравченко В.М.

**„Затверджую”**  
 Проректор з наукової роботи  
 Львівського національного медичного  
 університету імені Данила Галицького,  
 д.м.н., професор Никонечний А.Й.  
 \_\_\_\_\_ 2018 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Активність запальних процесів у щурів різних вікових категорій в умовах нітритно-тютюнового токсикозу
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент **Лихацький П.Г.**
3. **Джерела інформації:** 1. Lykhatskyi PH, Fira LS. Free radicals and inflammation in rats of different age in cases of sodium nitrites and tobacco smoke poisoning. International Journal of Medicine and Medical Research. 2017;1(3):84-88.  
 2. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Ендогенна інтоксикація та запальні процеси в організмі щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом Наукові доповіді НУБіП України. 2017;5(69):1-14.  
 3. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Динаміка маркерів запалення під впливом мілдронату за експериментального ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом. Sciences of Europe. 2017;1(20):10-15.  
 4. Lykhatskyi PH, Fira LS, Lisnychuk N, Kulitska MI. Effect of tobacco smoke on ros production and inflammation in rats of different age. Georgian Medical News 2018;2(275):150-157.
4. **Де впроваджено:** кафедра біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей про- та протизапальних процесів у щурів різного віку, отруєних натрію нітритом на тлі 45-денної інтоксикації тютюновим димом
7. **Строки впровадження:** 2018 рік.

**Завідувач кафедри**  
**біологічної хімії, д. мед. наук**

*Скляр О. Я.*

**проф. Скляр О. Я.**

„Затверджую”

Проректор із науково-педагогічної роботи  
Миколаївського національного університету  
імені В.О. Сухомлинського  
професор А.Л. Ситченко  
” 2018 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Активність запальних процесів у щурів різних вікових категорій в умовах нітритно-тютюнового токсикозу
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра медичної біохімії, доцент Лихацький П.Г.
3. **Джерела інформації:**
  1. Lykhatskyi PH, Fira LS. Free radicals and inflammation in rats of different age in cases of sodium nitrites and tobacco smoke poisoning. International Journal of Medicine and Medical Research. 2017;1(3):84-88.
  2. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Ендогенна інтоксикація та запальні процеси в організмі щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом Наукові доповіді НУБіП України. 2017;5(69):1-14.
  3. Лихацький ПГ, Фіра ЛС. Динаміка маркерів запалення під впливом мілдронату за експериментального ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом. Sciences of Europe. 2017;1(20):10-15.
  4. Lykhatskyi PH, Fira LS, Lisnychuk N, Kulitska MI. Effect of tobacco smoke on ros production and inflammation in rats of different age. Georgian Medical News 2018;2(275):150-157.
4. **Де впроваджено:** кафедра лабораторної діагностики Миколаївського національного університету імені В.О. Сухомлинського
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення особливостей про- та протизапальних процесів у щурів різного віку, отруєних натрію нітритом на тлі 45-денної інтоксикації тютюновим димом
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 рік.

Завідувач кафедри лабораторної діагностики  
Миколаївського національного університету  
імені В.О. Сухомлинського, д.мед.наук



проф. Зюзін В.О.