

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН**

**ЛИХАЦЬКИЙ ПЕТРО ГРИГОРОВИЧ**

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

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

03.00.04 – біохімія

**Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора біологічних наук**

Львів – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Державному вищому навчальному закладі «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України».

**Науковий консультант** – доктор біологічних наук, професор  
**Фіра Людмила Степанівна**,  
Державний вищий навчальний заклад  
«Тернопільський державний медичний  
університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ  
України», завідувач кафедри фармації,  
професор кафедри медичної біохімії

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук, старший науковий  
співробітник  
**Данилович Юрій Володимирович**,  
Інститут біохімії імені О. В. Палладіна  
НАН України, провідний науковий  
співробітник відділу біохімії м'язів;

доктор медичних наук, старший науковий  
співробітник  
**Новікова Світлана Миколаївна**, Інститут  
генетичної та регенеративної медицини  
НАМН України, заступник директора з  
наукової роботи;

доктор біологічних наук, старший науковий  
співробітник  
**Салига Юрій Тарасович**, Інститут  
біології тварин НААН, завідувач  
лабораторії обміну речовин

Захист відбудеться *«11» грудня* 2018 року о 12<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.368.01. в Інституті біології тварин НААН за адресою: 79034, м. Львів, вул. В. Стуса, 38

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту біології тварин НААН за адресою: 79034, м. Львів, вул. В. Стуса, 38

Автореферат розісланий *«10» листопада* 2018 року.

**Вчений секретар**  
спеціалізованої вченої ради

**О. І. Віщур**

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** У повсякденному житті людина зазнає впливу низки токсичних чинників, що призводить до загального отруєння організму. Значну роль у розвитку патології відіграють шкідливі звички – тютюнопаління, зловживання алкоголем і медикаментозними засобами. Активне та пасивне куріння тютюну може викликати утворення активних форм кисню (Михайленко В. М., 2011; Пікас О. Б., 2015; Behera S., 2013). Останні активують процеси вільнорадикального окиснення в організмі. Доведено, що компоненти сигаретного диму погіршують мітохондріальну функцію та спричиняють мітохондріальний окислювальний стрес у різних типах клітин. Активні форми кисню (АФО) викликають складну прозапальну реакцію в організмі, внаслідок чого збільшується утворення прозапальних цитокінів (Нетюхайло Л. Г., 2014; Пожилова Е. В., 2015; Anderson C., 2016; Braeckman V. P., 2016).

Незважаючи на високу актуальність, дослідження впливу тютюнового диму на організм у віковому аспекті, зокрема на вільнорадикальні та запальні процеси, проникність клітинних мембран і ступінь ендогенної інтоксикації, а також на функціонування NO-системи після ураження, є недостатніми.

Значною екологічною та медико-біологічною проблемою в аграрно-промислових регіонах України є комбінована дія неорганічних нітросполук на організм людини та тварин, що супроводжується нітратно-нітритними інтоксикаціями (Смоляр В. І., 2007; Гунчак В. М., 2013; Buehler P., 2011). Через надходження в організм нітратів і нітритів утворюється надмірна кількість нітрогену оксиду, який здатний ініціювати ланцюгові вільнорадикальні реакції. При цьому виникають передумови для утворення інших активних форм нітрогену, що можуть спричинити гіпоксичний та вільнорадикальний некробіоз (Gilchrist M., 2011; Ashurst J., 2012; Baek J., 2015; Helms C. S., 2018).

У літературі відсутні 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.

Для корекції порушень метаболізму за умов гіпоксичного стану щораз частіше застосовують засоби, які можуть забезпечити відновлення функціонування мітохондріального ланцюга окиснення. До таких препаратів належить антигіпоксикант мілдронат (Абдуллаєв А. А., 2014; Dambrova M., 2016).

Зростання кількості захворювань і патологічних станів, де суттєву роль відіграють порушення окиснювальних процесів, імунної та запальної відповіді, призводить до поглиблення проявів ендогенної інтоксикації (Андрейчин С. М., 2012; Aksoy S., 2012). Серед великої кількості сорбентів, які сьогодні застосовуються в клінічній практиці, одне з чільних місць посідає препарат карболайн (Лотоцька С. В., 2015; Акімов О. Є., 2017).

Таким чином, беручи до уваги поширеність тютюнопаління, а також активне використання у народному господарстві нітритів, актуальність

дослідження механізмів одночасного впливу на організм токсикантів із урахуванням вікового аспекту не викликає сумнівів. Перспективним є пошук та вивчення ефективності нових коригувальних чинників для 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 і біогенних токсикантів в біологічних системах» (шифр теми 0112U000542) та міжкафедральної планової наукової теми ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» «Біохімічні механізми порушень метаболізму за умов надходження до організму токсикантів різного генезу» (шифр теми 0116U003353), в якій автор досліджував активність оксидативного та нітрооксидативного стресу, 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 й тютюнового диму, а також вивчав ефективність використання за цих умов препаратів мілдронат і карболайн.

**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 ентеросорбенту 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 щурів 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 мембранодеструктивних і 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 поєднаного 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 індубельної 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 антигіпоксиксактну 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 антигіпоксиксактними властивостями) мілдронату для корекції змодельованого патологічного стану, що дозволяє рекомендувати його для використання в клініці гострих отруень 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 кафедр медичної біохімії ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, кафедри біохімії Національного фармацевтичного університету, кафедри 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 корисну модель, інформаційному листі автору належать фактичний матеріал і основний творчий доробок: результати власних досліджень, участь у аналізі та узагальненні отриманих даних, підготовка матеріалів до друку.

**Апробація результатів дисертації.** 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 2012р., Тернопіль, Україна); 7<sup>th</sup> 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); 8<sup>th</sup> Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry (18–20 September 2017, Lublin, Poland); 4<sup>th</sup> International scientific conference current problems of Biochemistry and cell Biology (5–6 жовтня 2017 р., Дніпро, Україна).

**Публікації.** Результати дисертації висвітлені у 37 друкованих працях, з яких – 18 статей у фахових наукових 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 і конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 488 сторінках комп'ютерного тексту (основна частина становить 389 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 посилання (188 – кирилицею і 333 – латиницею) та 55 додатків. Робота ілюстрована 68 таблицями та 84 рисунками (обсяг 55 сторінок).

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Огляд літератури.** В огляді літератури висвітлено сучасні дані про метаболічні порушення за умов нітритного отруєння у віковому аспекті, а також роль оксидативного та нітрооксидативного стресу, виникнення гіпоксичних станів і розвиток запальних процесів після інтоксикації тютюновим димом. Значну увагу приділено коригувальним чинникам, які виявляють антиоксидантні та антигіпоксанти властивості, охарактеризовано новітні ентеросорбенти з можливістю їх використання за умов нітритно-тютюнового токсикозу.

**Матеріали й методи дослідження.** Експериментальну частину роботи виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. 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, яких утримували на стандартному раціоні віварію ТДМУ. Щурів поділено на три вікові групи: статевонезрілі з масою тіла 60–80 г (3-місячного віку), статевозрілі з масою тіла 180–200 г (12-місячного віку) та старечого віку – з масою тіла 300–350 г (18-місячного віку).

Моделями токсичного ураження тварин була інтоксикація натрію нітритом, тютюновим димом, а також одночасна дія цих чинників. Натрію нітрит тварини отримували одноразово інтрагастрально за допомогою зонда у вигляді водного розчину дозою 45 мг/кг маси тіла, що становить 1/4 від LD<sub>50</sub> (Луценко Б. О., 2007; Гунчак В. М., 2013; Фіра Л. С., 2015). Дослідження проводили через 24 та 72 год після потрапляння до організму цього токсиканта.

Модель залежності від хронічної дії тютюнового диму створювали за допомогою герметичної камери об'ємом 30 літрів, щоденно піддаючи 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 «Імперіал Табакко Продакшин Україна» ДСТУ ГОСТ 3935:2004), через отвори в камері надходив усередину. У камері одночасно перебувало 6 тварин протягом 6 хв. Тварини контрольної групи також поміщали на 6 хв у герметичну камеру, але не піддавали дії тютюнового диму (Лизурчик Л. В., 2014; Churg A., 2008, 2010). Через 15, 30 та 45 діб від початку ураження тварин тютюновим димом їх виводили із експерименту шляхом етаназії під тіопенталовим наркозом.

За одночасної дії обох токсикантів на 30-ту добу тютюнової інтоксикації (за 24 і 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 вказані вище ксенобіотики вводили в аналогічних дозах.

Статевонезрілим, статевозрілим і 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, щодня до кінця експерименту (Лісничук Н. Є., 2014; Андрейчин С. М., 2015; Лотоцька С. В., 2015). 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 (з антигіпоксантними властивостями) 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, щодня до кінця експерименту (Колеснікова Є. Е., 2013; Нечаева Г. И., 2014). Дози препаратів добирали, виходячи із середньотерапевтичної дози для людей у перерахунку їх на тварин (Рыболовлев Ю. Р., 1979).

У дослідженнях використано 792 щури. Для проведення біохімічних досліджень використано 720 щурів, поділених на групи (табл.1), по 36 тварин у



кожній групі. Для проведення морфологічних досліджень використано 72 щури. Евтаназію проводили з використанням тіопенталу натрію.

Матеріалом дослідження слугували гомогенати печінки, серця, легень, нирок, цільна кров та сироватка крові. Кров забирали із серця тварин і центрифугували при 1100 g упродовж 30 хв. Отриману сироватку крові (надосадову рідину) використовували для проведення досліджень. Тканини відібраних органів (250 мг) використовували для отримання гомогенату за допомогою гомогенізатора магнітного Silent Crusher S після попередньої перфузії з 2,5 мл фізіологічного розчину.

Таблиця 1

### Розподіл тварин на групи

Групи тварин	Терміни 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 старечі тварини, уражені натрію нітритом; # – статевонезрілі, статевозрілі та старечі тварини, яких отруювали тютюновим димом; #+ – статевонезрілі, статевозрілі, старечі тварини, яких отруювали натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації; & – статевонезрілі, статевозрілі, старечі тварини, токсиковані натрію нітритом та тютюновим димом, та після застосування мілдронату; \* – статевонезрілі, статевозрілі, старечі тварини, токсиковані натрію нітритом та тютюновим димом та після застосування карболайну.

Проводили дві серії досліджень. У першій серії експерименту визначали такі показники: вміст активних форм кисню (АФО) методом проточної лазерної цитофлуориметрії, використовуючи дихлорфлуоресцеїну діацетат (ДХФ-ДА) фірми виробника Sigma Aldrich, USA (Chen X., 2010; Dikalov S. I., 2014), ТБК-активних продуктів (ТБК-АП; Луцк В. І., 2004), окисної

модифікації протеїнів (ОМП; Дубинина Е. Е., 2001), метгемоглобіну (MetHb; Arakaki L. S., 2010), карбоксигемоглобіну (HbCO; Arakaki L. S., 2010) з використанням стандартних наборів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна); вмісту церулоплазміну (ЦП; ЕС 1.16.3.1; Камышников В. С., 2009), відновленого глутатіону (ВГ; Камышников В. С., 2009), молекул середньої маси (МСМ; Николайчик В. В., 1989), супероксиддисмутазну активність (СОД; ЕС 1.15.1.1; Чевари С., 1985), каталазну активність (КАТ; ЕС 1.11.1.6; Корольок М. А., 1998), а також визначення еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІ; Тогайбаев А. А., 1988).

У другій серії експерименту вивчали активність аспартатаміно-трансферази (АСТ; ЕС 2.6.1.1; Huang X. J., 2006), аланінаміно-трансферази (АЛТ; ЕС 2.6.1.2; Huang X. J., 2006), лактатдегідрогенази (ЛДГ; ЕС 1.1.1.27; Камышников В. С., 2009),  $\gamma$ -глутаміл-транспептидази (ГГТП; ЕС 2.3.2.2; Камышников В. С., 2009), лужної фосфатази (ЛФ; ЕС 3.1.3.1; Камышников В. С., 2009) із використанням стандартних наборів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна); сукцинатдегідрогеназну активність (СДГ; ЕС 1.3.99.1; Andrew J., 2013), цитохромоксидазну активність (ЦО; ЕС 1.9.3.1; Arraix F., 2000). Активність індубібельної NO-синтази (iNOS; ЕС 1.14.13.39) визначали методом імуноферментного аналізу, використовуючи стандартний набір реактивів, адаптований до щурів «Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit for Rat Nitric Oxide Synthase 2, Inducible (NOS2)», Uscn, Life Science Inc, SEA837Ra, USA (Wu S. J., 2007); ендотеліальної NO-синтази (eNOS; ЕС 1.14.13.39) – методом імуноферментного аналізу, використовуючи стандартний набір реактивів, адаптований до щурів «Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit for Rat Nitric Oxide Synthase 3, Endothelial (NOS3)», Uscn, Life Science Inc, SEA868Ra (USA). 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 (Nam J., 2012); 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 (Chen Z., 2014) та вміст нітрит-іона в реакції з реактивом Грісса (Bryan N. S., 2007).

Утримання тварин та експерименти проводили відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин..., 2003; Festing S., 2007; Gross D., 2015). Комісія з біоетики ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол № 30 від 1 вересня 2015 р) 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.

Обробку статистичних даних проводили за допомогою пакета програмного забезпечення SPSS-22. Розподіл даних аналізували за критерієм нормальності Колмогорова–Смірнова. Отримані значення мали параметричний розподіл, тому різниця між групами була проаналізована відповідно до t-критерію Стьюдента і непараметричного критерію Вілкоксона для зв'язаних вибірок. Критерій  $\chi^2$  використовувався для оцінки різниці між категоріальними даними. Різниця значень імовірності становила  $p \geq 0,95$  (рівень значимості P). Розбіжності вважали вірогідними при  $p \leq 0,05$  (Шеламова М. А., 2010; Okeh U., 2009; Jannot A. S., 2013).

При проведенні кореляційного аналізу застосовували метод параметричної кореляції з визначенням лінійного коефіцієнта Пірсона (r). Від'ємне значення коефіцієнта вказує 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  $|r| = 0,01–0,29$ .

### Результати досліджень та їх обговорення

**Метаболічні порушення в організмі щурів різного віку, уражених натрію нітритом.** Ураження тварин різного віку натрію нітритом (НН) викликало посилене утворення АФО та активацію вільнорадикальних процесів, що підтверджувалось збільшенням у тканинах і органах вмісту продуктів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, а також посиленням процесу метгемоглобіноутворення, утворенням значної кількості вторинних ендогенних токсичних продуктів (збільшувався вміст молекул середньої маси), зміною проникності мембран гепатоцитів, кардіоцитів і еритроцитів, на що вказувало підвищення активності амінотрансфераз,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази в сироватці крові, збільшенням відсотка проникності мембрани еритроцитів, зниження активності органоспецифічних ензимів у органах щурів. У отруєних щурів знижувалась активність мітохондріальних ензимів, що провокувало порушення у процесах енергозабезпечення, а також активувались запальні процеси, на що вказував дисбаланс у вмісті про- і протизапальних цитокінів. Ураження щурів усіх вікових груп натрію нітритом призводило до нітрооксидативного стресу, зумовленого підвищенням активності індукцибельної NO-синтази (iNOS) та зниженням активності її ендотеліальної (eNOS) форми, а також нагромадженням у всіх органах нітрит-іона. Найбільш виражені зміни фіксували в організмі статевонезрілих щурів.

**Вплив тютюнового диму на метаболічні процеси в організмі щурів різного віку.** Тютюнова інтоксикація щурів різного віку протягом 45 діб призводила до збільшення у нейтрофільних гранулоцитах крові вмісту АФО, у крові вмісту карбоксигемоглобіну (у статевонезрілих у 2,7 раза, у статевозрілих у 1,5 раза та у старечого віку у 2 рази в останній термін дослідження), активації процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та ОМП. На тлі інтенсифікації вільнорадикальних реакцій після ураження тютюновим димом (ТД) виявлено

пригнічення системи антиоксидантного захисту в організмі, що підтверджувалося зниженням у сироватці крові й органах токсикованих щурів СОД, КАТ активності, вмісту ВГ, які мали прогресуючий характер залежно від тривалості ураження. За інтоксикації щурів різних вікових груп тютюновим димом спостерігали активацію деструктивних процесів в організмі, що супроводжувалося підвищенням у сироватці крові та зниженням у печінці, легенях, нирках і міокарді мембранозв'язаних ензимів – амінотрансфераз, ГГТП та ЛФ. Одночасно збільшувалась проникність еритроцитарних мембран, на що вказувало підвищення відсотка ЕП. На тлі активації деструктивних процесів спостерігали поглиблення ендогенної інтоксикації в організмі щурів. Це підтверджувалося збільшенням у сироватці крові маркерів токсемії – МСМ обох фракцій, вміст яких підвищувався з подовженням терміну інтоксикації та залежав від віку тварин (найбільшого значення цей показник досяг у статевонезрілих щурів до кінця дослідження). Тютюновий дим суттєво пригнічував активність ензимів дихального ланцюга – СДГ та ЦО в печінці, міокарді та легенях щурів. Це призвело до порушень у функціонуванні мітохондрій і розвитку гіпоксичного стану в організмі щурів. Після 45-добового отруєння щурів виявлено прогресуюче збільшення у сироватці крові вмісту С-РП та ІЛ-6, що свідчило про активацію запальних процесів протягом експерименту на тлі зниження вмісту протизапального ІЛ-4. Ураження тютюновим димом активувало утворення в організмі щурів різного віку нітрогену оксиду, що підтверджувалося підвищеним вмістом нітрит-іона в сироватці крові та органах токсикованих тварин. Одночасно фіксували дисбаланс у функціонуванні системи NO-синтаз. Тютюнова інтоксикація призвела до підвищення активності iNOS та зниження конститутивної її ізоформи – eNOS, внаслідок чого розвинувся нітрооксидативний стрес після ураження. Найбільш чутливими до дії тютюнового диму виявились статевонезрілі щури, у яких до кінця експерименту порушення були найбільш вираженими.

**Механізми ураження щурів різного віку натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації і корекція виявлених порушень антигіпоксантом мілдронат та ентеросорбентом карболайн.** За комбінованої дії на 15-ту, 30-ту та 45-ту доби тютюнової інтоксикації (за 24 і 72 год до вказаного терміну) щурам інтрагастрально вводили натрію нітрит.

Дванадцяти групам щурів (статевонезрілим, статевозрілим та старечого віку) після ураження обома токсикантами інтрагастрально вводили ентеросорбент карболайн, починаючи з (15-ї доби інтоксикації тютюновим димом щодобово і до завершення експерименту). Аналогічно дванадцять груп щурів щодобово отримували інтрагастрально після ураження препаратом мілдронат (починаючи з 15-ї доби інтоксикації тютюновим димом і до завершення експерименту).

Інтоксикація тютюновим димом викликала генерацію АФО ( $O_2^{\cdot -}$ ,  $OH^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$ ), що призвело до оксидативного стресу в організмі, який супроводжувався

активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів і окисної модифікації протеїнів (Powers S. K., 2011; Ray P. D., 2012; Pilkauskaite G., 2013; Weidinger A., 2015; Ribou A. C., 2016).

Вміст АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові статевонезрілих щурів після ураження зростає залежно від тривалості експерименту й терміну застосування обох токсикантів (від 2,5 раза на 15-ту добу отруєння ТД+24 год НН до 3,3 раза на 45-ту добу ТД +72 год НН). Аналогічне підвищення вмісту АФО зареєстровано у нейтрофільних гранулоцитах крові статевозрілих і старечого віку щурів, уражених обома токсикантами (рис.1).

У нейтрофільних гранулоцитах крові статевонезрілих щурів після їх ураження обома токсикантами зміни вмісту АФО виражені більшою мірою. Статевозрілі щури виявились найбільш стійкими, про що свідчив найменший відсоток генерування нейтрофільними гранулоцитами крові АФО саме у цієї групи тварин.

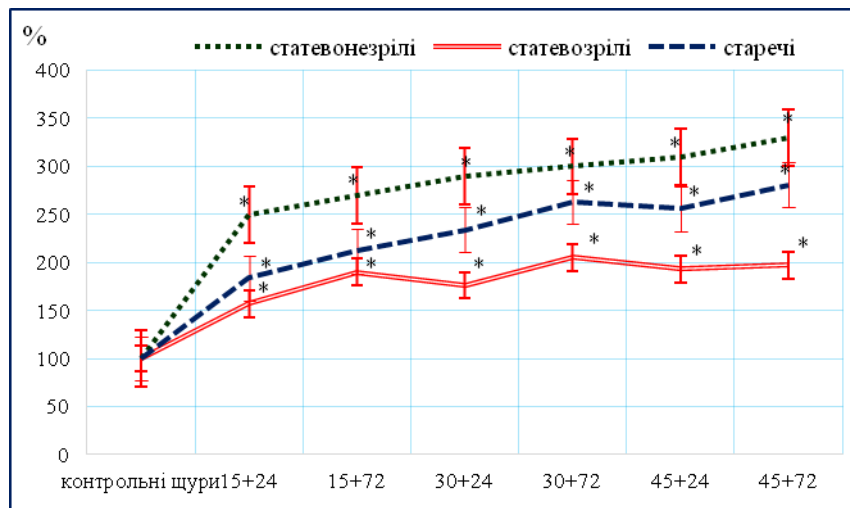


Рис. 1. Вміст АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів різного віку, отруєних натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, %

Примітка. На цьому рисунку \* – вірогідні зміни між показником контрольних та уражених токсикантами тварин.

Застосування мілдронату сприяло зниженню ( $p \leq 0,05$ ) вмісту АФО у нейтрофільних гранулоцитах крові щурів усіх вікових груп на 30-ту добу ураження тютюновим димом та через 24 і 72 год отруєння натрію нітритом. Ще більшого зниження зазнав цей показник при ураженні щурів натрію нітритом (24 і 72 год) через 45 діб тютюнової інтоксикації на тлі 30-добового введення мілдронату. Зниження АФО під впливом карболайну в усі терміни дослідження у всіх дослідних групах щурів не було вірогідним.

Інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення під дією АФО призвела до посилення ПОЛ, окисної модифікації протеїнів, деструкції нуклеїнових кислот, вуглеводів, що спричинило структурні та метаболічні порушення у клітинах.

З'ясовано, що після одночасного ураження щурів усіх вікових груп ТД та НН значно активувалися процеси ПОЛ. Вміст ТБК-АП у сироватці крові щурів,

уражених одночасно обома токсикантами, значно перевищував вміст, зареєстрований після окремої дії кожного чинника.

Мілдронат ефективно впливав на цей показник, знижуючи вміст ТБК-АП порівняно з ураженими тваринами у всі терміни експерименту та в усіх дослідних групах щурів. Аналогічно позитивно впливав на вміст продуктів ліпопероксидації у сироватці крові уражених токсикантами щурів ентеросорбент карболайн ( $p \leq 0,05$ ).

Констатовано найвищий вміст ТБК-АП у печінці молодих і зрілих щурів після отруєння, який поступово збільшувався та досяг максимального значення наприкінці дослідження. Аналогічна активація процесів ліпопероксидації після ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації спостерігалась у нирках щурів різного віку. До кінця експерименту вміст ТБК-АП вірогідно підвищився у нирках статевонезрілих щурів у 3,6 раза, старечого віку – у 3,5 раза та у статевозрілих – у 2,4 раза ( $p \leq 0,05$ ).

Позаяк мішенями токсичної дії тютюнового диму є легені та міокард, вважали за доцільне дослідити активність процесів ліпопероксидації у цих органах. Найчутливішими до дії обох токсикантів були легені статевонезрілих щурів, у яких вміст ТБК-АП був найвищим ( $p \leq 0,05$ ) як на 15-ту добу інтоксикації, так і на 45-ту добу ураження ТД (24 і 72 год після потрапляння на цьому тлі натрію нітриту). Після застосування мілдронату зменшився вміст продуктів ліпопероксидації у легенях щурів різних вікових груп у всі терміни дослідження, але вміст ТБК-АП не досяг рівня контрольних тварин, що, можливо, вимагає більш тривалого використання цього коригувального чинника. Ефективність застосування карболайну проявилась лише наприкінці експерименту.

Дослідження вмісту ТБК-АП у міокарді щурів після ураження токсикантами показало його підвищення протягом експерименту в усіх вікових групах ( $p \leq 0,05$ ). Найбільш виражені зміни вмісту ТБК-АП фіксували у міокарді статевонезрілих тварин. Вміст ТБК-АП у міокарді молодих щурів зростав після ураження залежно від терміну дослідження і наприкінці експерименту в 12,3 раза перевищував показник контрольних тварин. Це може бути наслідком підвищеної чутливості до стресу саме цієї групи тварин. Однією із причин такого стану є посилений викид у кров катехоламінів у відповідь на стресовий чинник (дим), зокрема адреналіну, який у разі збільшення токсично впливає на міокард, більше активуючи процеси ліпопероксидації та підвищення вмісту проміжних його продуктів у серці. Обидва коригувальні чинники призвели до зниження вмісту продуктів ліпопероксидації у міокарді статевонезрілих щурів.

Під час дослідження окисної модифікації протеїнів у організмі щурів констатовано підвищення вмісту 2,4-динітрофенілгідразонів (2,4-ДНФГ) як основного ( $\lambda=430$  нм), так і нейтрального ( $\lambda=370$  нм) характеру в сироватці крові та органах тварин усіх вікових груп після ураження їх натрію нітритом на тлі інтоксикації тютюновим димом.

При дослідженні вмісту продуктів ОМП нейтрального характеру в легенях щурів виявлено, що найчутливішими до дії токсикантів були статевонезрілі тварини, у яких цей показник зріс до кінця експерименту у 2,4 раза ( $p \leq 0,05$ ) порівняно з групою контрольних тварин. За введення в організм токсикованих щурів мілдронату вірогідно знизився дослідний показник у легенях молодих, зрілих і старечого віку щурів у всі терміни дослідження.

Найбільш чутливими до дії токсикантів були нирки статевонезрілих щурів, у яких через 72 год після надходження в організм натрію нітриту на тлі 45-добової інтоксикації ТД вміст продуктів ОМП нейтрального характеру підвищився у 2,9 раза ( $p \leq 0,05$ ) порівняно з показниками контрольних тварин.

Аналогічне підвищення 2,4-ДНФГ основного характеру спостерігали в сироватці крові та органах щурів після ураження токсикантами. Препарат метаболічної дії мілдронат ефективно знижував вміст продуктів ОМП основного характеру в органах щурів усіх вікових груп ( $p \leq 0,05$ ).

Відомо, що потрапляння в організм натрію нітриту супроводжується розвитком гемічної гіпоксії (Allen B. W., 2009; Ansari F. A., 2015, 2016; Akimov O. Ye., 2016), на що вказує підвищений вміст метгемоглобіну у крові отруєних щурів. Після ураження обома токсикантами найчутливішими виявились статевонезрілі щури, у яких цей показник прогресував і до кінця експерименту був найвищим – у 3,3 раза порівняно з контрольними тваринами. Застосування мілдронату призвело до зниження даного показника у крові статевонезрілих щурів на 53 % ( $p \leq 0,05$ ).

Ще одним показником, який характеризує патологічні зміни в організмі тварин після ураження тютюновим димом і свідчить про поглиблення гіпоксії є карбоксигемоглобін. До кінця експерименту у крові статевонезрілих щурів (за дії обох токсикантів) вміст НbCO підвищився найбільше – у 3,0 рази перевищував рівень контролю, у статевозрілих – у 1,5 раза, у щурів старечого віку – у 2,3 раза перевищував показники тварин контрольної групи. В усі терміни дослідження мілдронат позитивно впливав на цей показник у крові щурів усіх дослідних груп. Вміст карбоксигемоглобіну у статевонезрілих щурів знизився в 1,7 раза ( $p \leq 0,05$ ) через 45 діб отруєння ТД та 72 год з моменту потрапляння в організм натрію нітриту. Ефективність застосування мілдронату фіксували протягом усього експерименту: вірогідно знижувався вміст карбоксигемоглобіну у крові тварин усіх дослідних груп.

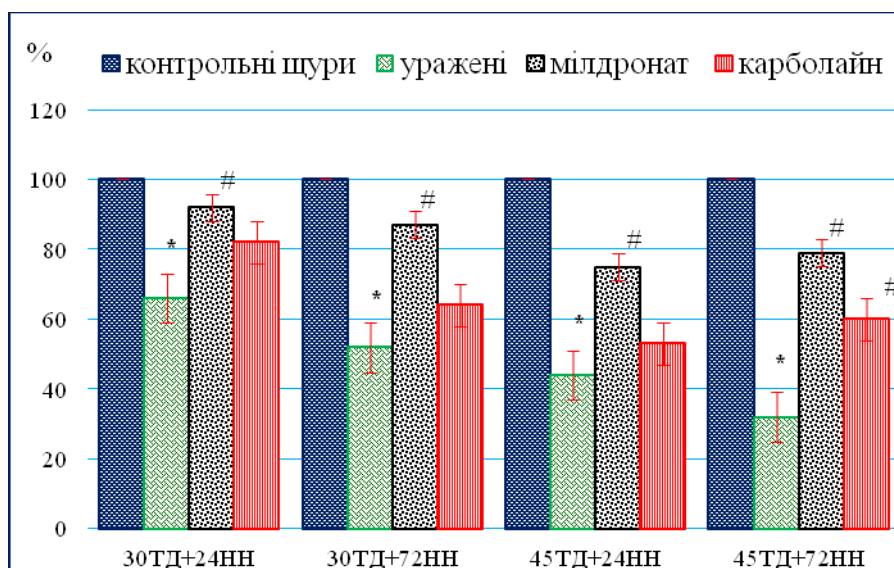
Результати дослідження показали, що більш чутливими до дії натрію нітриту на тлі ураження тютюновим димом є статевонезрілі щури. Ефективніше впливав на процеси вільнорадикального окиснення мілдронат.

Порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу є потенційною передумовою розвитку оксидативного стресу. Надмірна активація вільнорадикальних процесів провокує каскад негативних реакцій і патологічних процесів (Зинь А., 2012; Jensen F. B., 2009; El-Sheikh N., 2011; Ivanov I., 2014).

За умов ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації ми дослідили супероксиддисмутазну активність у сироватці крові та печінці щурів

усіх вікових груп. Супероксиддисмутазна активність у сироватці крові статевонезрілих щурів до кінця експерименту знизилась у 2,5 раза при отруєнні двома токсикантами, у статевозрілих – у 1,6 раза та у щурів старечого віку в 1,9 раза ( $p \leq 0,05$ ) порівняно з контрольною групою. До кінця експерименту мілдронат ефективно впливав на супероксиддисмутазну активність у сироватці крові щурів усіх вікових груп, вірогідно її підвищуючи.

Дослідження СОД активності в печінці підтвердило її зниження в усі терміни дослідження у всіх вікових групах. Найбільше активність ензиму протягом експерименту знизилась у печінці статевонезрілих тварин (рис. 2).



**Рис. 2. Супероксиддисмутазна активність у печінці статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %**

Примітка. Тут і в рисунках 3–7 \* – вірогідні зміни між показниками контрольних та уражених токсикантами тварин ( $p \leq 0,05$ ); # – вірогідні зміни між показниками уражених щурів та тваринами, яким застосовували коригувальні чинники ( $p \leq 0,05$ ).

У печінці статевонезрілих щурів після застосування мілдронату СОД активність вірогідно підвищувалася у всі терміни дослідження. Наприкінці експерименту в печінці молодих щурів активність ензиму підвищилася на 47 % щодо уражених тварин. Введення в уражений організм карболайну не викликало виражених змін у СОД активності під час експерименту.

Досліджено каталазну активність у сироватці крові та органах щурів усіх вікових груп після ураження токсикантами та застосування коригувальних чинників. З'ясовано, що каталазна активність у сироватці крові щурів усіх вікових груп знижувалася протягом усього експерименту, що може призвести до інтоксикації організму гідрогену пероксидом. Найнижча каталазна активність зафіксована у сироватці крові статевонезрілих щурів, що наприкінці експерименту, в 1,9 раза була нижче рівня контролю, у статевозрілих – у 1,6 раза, у старечого віку тварин – у 1,4 раза ( $p \leq 0,05$ ).



У печінці уражених токсикантами щурів спостерігали зниження цього показника і найнижчим він був у останній термін дослідження. Найбільше знижувалася каталазна активність у печінці щурів старечого віку. Після застосування мілдронату каталазна активність підвищувалась у печінці усіх дослідних тварин ( $p \leq 0,05$ ). У кінці експерименту карболайн ефективно впливав на печінку молодих та старечого віку тварин, вірогідно підвищуючи каталазну активність у ній ( $p \leq 0,05$ ).

Каталазна активність у легенях щурів різного віку знижувалась залежно від тривалості експерименту та до кінця дослідження у молодих тварин у 2,4 раза була нижче контролю, у зрілих – у 2,7 раза та у старечого віку щурів – у 2 рази ( $p \leq 0,05$ ) нижче контролю. За введення в уражений організм мілдронату підвищувалася каталазна активність у легенях щурів усіх вікових груп у всі терміни дослідження, зміни були вірогідними.

Виражене зниження каталазної активності зареєстровано у нирках щурів усіх вікових груп після ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Після 15-добового застосування мілдронату каталазна активність вірогідно підвищилась у групах статевозрілих та старечого віку тварин.

Найбільш чутливим до дії обох токсикантів був міокард щурів старечого віку, у яких каталазна активність знизилась у 2,2 раза ( $p \leq 0,05$ ) щодо рівня контрольних тварин у останній термін дослідження. До кінця експерименту мілдронат виявив виражений вплив на активність ензиму в міокарді щурів різного віку, вірогідно підвищуючи її.

Дослідження вмісту церулоплазміну – протеїну з ензимною активністю показало, що через 15 діб тютюнової інтоксикації та 72 год ураження натрію нітритом найвищого значення досяг він у сироватці крові статевонезрілих щурів, перевищуючи рівень інтактного контролю в 1,7 раза ( $p \leq 0,05$ ). Це, очевидно, зумовлено зниженням активності СОД за умов патології, позаяк відомо, що саме цей ензим здатний видаляти з крові супероксидні аніон-радикали (Ogawa K., 2008; Labunsky V. M., 2013). У разі застосування з метою корекції мілдронату вірогідно ( $p \leq 0,05$ ) знизилася активність ензиму в сироватці крові щурів усіх вікових груп та у всі терміни дослідження.

Функціональною основою системи антиоксидантного захисту є глутатіонова система, яка бере участь у інактивації гідрогену пероксиду та ліпопероксидів, виконує захисну функцію для SH-груп у протеїнах мембран (Parihar A., 2008; Powers S. K., 2011; Prasad K., 2015). Одним із компонентів цієї системи є глутатіон. Дослідження вмісту ВГ у сироватці крові щурів різного віку показало його зниження ( $p \leq 0,05$ ) у всі терміни спостереження після ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Після застосування мілдронату в сироватці крові уражених щурів спостерігали підвищення вмісту ВГ, яке було вірогідним в останні два терміни дослідження (45 днів ТІ та 24 год отруєння НН; 45 діб ТІ та 72 год отруєння НН) у всіх вікових групах.

За умов нітритно-тютюнового токсикозу фіксували прогресування зниження вмісту ВГ в печінці, легенях, нирках та міокарді щурів усіх вікових груп, але найбільш виражені зміни виявили у статевонезрілих щурів.

Застосований для корекції порушень антигіпоксанти мілдронат виявив ефективний вплив на вміст відновленого глутатіону в органах щурів.

Для оцінки функціонального стану цитоплазматичних мембран еритроцитів важливе значення має визначення відсотка їх проникності. Через 15 діб після отруєння тютюновим димом та 72 год від моменту ураження натрію нітритом у крові статевонезрілих щурів ЕП підвищився на 38,7 % ( $p \leq 0,05$ ), через 30 діб ТІ та 72 год отруєння НН – на 31,6 % ( $p \leq 0,05$ ) та наприкінці експерименту на 55,6 % ( $p \leq 0,05$ ) перевищував рівень контрольних тварин. У статевозрілих щурів цей показник перевищував контрольні значення на 38,0 % наприкінці експерименту ( $p \leq 0,05$ ), у тварин старечого віку – на 54,1 % ( $p \leq 0,05$ ). Отже, найвираженіше проникність еритроцитарних мембран зростала у статевонезрілих щурів протягом експерименту.

При вивченні функціонального стану печінки в умовах ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації діагностували цитолітичний синдром за показниками активності АЛТ і АСТ, холестатичний синдром – за активністю  $\gamma$ -глутамілтранспептидази та лужної фосфатази.

Отруєння щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації призвело до підвищення у сироватці крові активності АЛТ (маркерного ензиму печінки) у всіх вікових групах. Досліджуваний показник зростав залежно від терміну дослідження. До кінця експерименту активність АЛТ у сироватці крові статевонезрілих щурів підвищилась у 7,7 раза щодо рівня контролю, у двох інших вікових групах – у 5,3 – 5,4 раза ( $p \leq 0,05$ ).

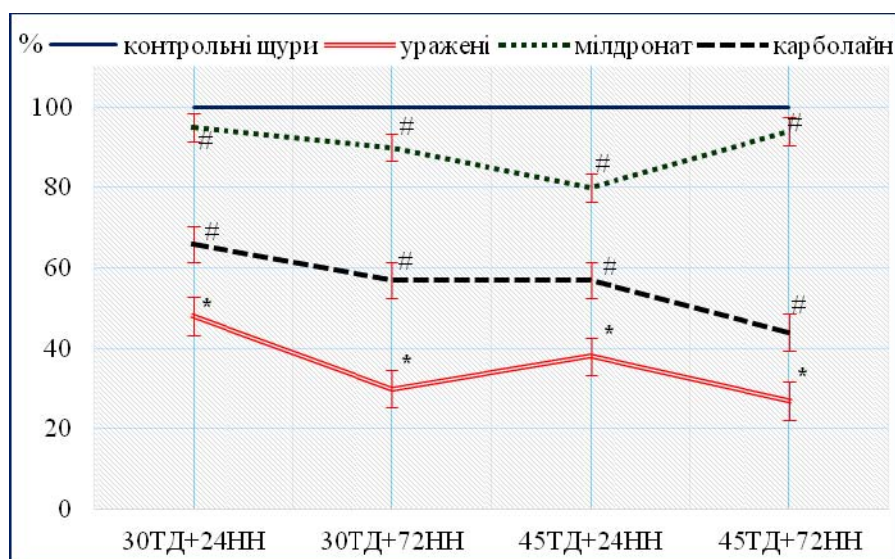
Серед коригувальних чинників ефективний вплив чинив мілдронат, після введення якого активність АЛТ в сироватці крові уражених щурів вірогідно знижувалась у всі терміни дослідження у всіх вікових групах. Карболайн викликав вірогідне зниження активності ензиму в групі статевозрілих та старечого віку щурів на 30-ту добу тютюнової інтоксикації та через 72 год з моменту ураження натрію нітритом.

При визначенні активності АЛТ у печінці зміни мали зворотний характер. Активність ензиму знижувалися в усіх групах щурів у всі терміни дослідження, що носило прогресуючий характер. Найбільш виражені зміни відбулися у печінці статевонезрілих щурів (рис. 3).

До кінця експерименту активність АЛТ в печінці статевонезрілих щурів знизилась на 73 %, тобто становила всього 27 % від рівня контрольних тварин. Застосування мілдронату було ефективним у всі терміни дослідження, до кінця експерименту цей показник зростав до 90–95 %. Аналогічний вплив виявив карболайн, після введення якого в організм активність АЛТ вірогідно підвищувалась у печінці статевонезрілих щурів.

Виявлено зниження активності АЛТ у легенях уражених щурів у всі терміни дослідження. Більш виражене зниження спостерігалось у легенях щурів старечого віку, у яких активність ензиму була у 3,5 раза ( $p \leq 0,05$ ) менше рівня контролю наприкінці дослідження. У статевонезрілих і старечого віку щурів цей показник знизився у легенях у 2,4 та 2,3 раза відповідно ( $p \leq 0,05$ ). Ефективність застосування мілдронату виявилась наприкінці експерименту,

карболайну – на 30-ту добу ураження тютюновим димом та через 72 год після застосування натрію нітриту.



**Рис. 3. Активність аланінамінотрансферази у печінці статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %**

Найбільш чутливим до дії токсикантів був міокард щурів старечого віку. Через 72 год отруєння натрію нітритом на тлі 45-добової інтоксикації ТД активність АЛТ у цієї групи тварин знизилась у 4,5 раза ( $p \leq 0,05$ ). У цей же термін активність АЛТ була нижчою за контроль у 4,3 раза в міокарді статевонезрілих щурів і в 3,7 раза у статевозрілих ( $p \leq 0,05$ ). При застосуванні мілдронату вірогідно підвищилася активність ензиму у всі терміни дослідження у всіх вікових групах тварин. Ефективність карболайну фіксували через 15 діб після його застосування у групах статевонезрілих та старечого віку щурів.

Дослідження активності ензиму в нирках щурів різного віку показало, що найчутливішими до одночасної дії НН і ТД старечого віку щури, у яких досліджуваний показник знизився у 5,7 раза, у статевонезрілих – 3,0 раза та у статевозрілих – у 2,3 раза ( $p \leq 0,05$ ). Наприкінці експерименту застосування мілдронату зумовило вірогідне підвищення дослідного показника в нирках щурів усіх вікових груп.

Найвища активність АСТ зафіксована в сироватці крові щурів старечого віку після ураження натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. Досліджуваний показник зростав протягом експерименту й наприкінці дослідження сягнув найвищого рівня (у 8,2 раза перевищував рівень контрольних тварин). У статевонезрілих щурів у цей період він підвищився у 5,0 разів, у статевозрілих – у 6,9 раза ( $p \leq 0,05$ ) щодо контролю. Після застосування мілдронату вірогідно зменшилася активність показника у всі терміни дослідження в сироватці крові щурів усіх вікових груп. Карболайн після 15-добового застосування позитивно вплинув на досліджуваний показник тільки у групі статевонезрілих щурів, а до кінця експерименту вірогідно знижувалася активність АСТ у всіх дослідних групах.

Найбільш виражені зміни активності АСТ після ураження токсикантами спостерігали в печінці статевонезрілих щурів, у яких даний показник знизився у 4,8 раза ( $p \leq 0,05$ ) щодо рівня контрольних тварин наприкінці дослідження. У цей же термін у печінці статевозрілих і старечого віку щурів активність ензиму знизилась у 2,7 і 3,7 раза ( $p \leq 0,05$ ) відповідно. У всі терміни дослідження мілдронат виявив ефективний вплив на цей показник. Після ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації активність АСТ у легенях щурів усіх вікових груп до кінця експерименту знизилась у 3,7 раза. Всі зміни були вірогідними. Обидва коригувальні чинники позитивно впливали на активність ензиму в легенях щурів.

Враховуючи, що підвищення активності АСТ в сироватці крові щурів усіх вікових груп є тестом на ступінь ураження міокарда, ми дослідили цей показник саме у міокарді. Після отруєння щурів натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації знижувалася активність АСТ в міокарді щурів різного віку. У міокарді статевонезрілих і старечого віку щурів показник знижувався залежно від терміну дослідження. До кінця експерименту активність ензиму знизилась у 3,8 і 3,9 раза відповідно порівняно з рівнем тварин контрольної групи ( $p \leq 0,05$ ). Введення в організм щурів як мілдронату, так і карболайну супроводжувалось підвищенням активності ( $p \leq 0,05$ ) ензиму в міокарді щурів у всі терміни дослідження. Дослідження активності АСТ в нирках щурів різного віку після ураження їх натрію нітритом показало аналогічне її зниження ( $p \leq 0,05$ ) протягом експерименту. Антигіпоксанти мілдронат і ентеросорбент карболайн зумовили вірогідне підвищення дослідного показника в нирках усіх груп тварин.

Для підтвердження розвитку цитолітичного синдрому в ураженому організмі досліджували активність ще одного органоспецифічного ензиму – ЛДГ – в сироватці крові та органах щурів після їх отруєння натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації та застосування коригувальних чинників. Активність ЛДГ в сироватці крові щурів усіх вікових груп зростала та досягла найвищого значення наприкінці експерименту у статевонезрілих тварин. Через 45 діб отруєння тютюновим димом і 72 год від моменту ураження натрію нітритом активність ензиму цієї групи тварин у 1,8 раза перевищувала рівень контрольних, у статевозрілих і старечого віку щурів – 1,7 раза ( $p \leq 0,05$ ). Через 30 діб застосування мілдронату вірогідно знижувалася активність ЛДГ в сироватці крові щурів усіх вікових груп.

Дослідження активності ЛДГ у міокарді показало її зниження у щурів усіх дослідних груп. Найнижче значення активності ензиму після ураження щурів обома токсикантами фіксували у міокарді статевонезрілих і старечого віку щурів наприкінці експерименту – у 1,5 раза ( $p \leq 0,05$ ). Ефективність застосування мілдронату проявилась після його 30-добового застосування в міокарді усіх груп щурів ( $p \leq 0,05$ ). Найнижче значення активності ЛДГ зареєстровано в печінці статевонезрілих та старечого віку щурів унаслідок ураження токсикантами. Після застосування мілдронату підвищилася ( $p \leq 0,05$ ) активність ензиму в печінці щурів усіх вікових груп. У легенях уражених статевонезрілих щурів активність ЛДГ була найнижчою (в 1,6 раза нижче

контрольного рівня) наприкінці дослідження. 30-добове застосування мілдронату зумовило виражене підвищення активності ензиму в легенях тварин усіх дослідних груп ( $p \leq 0,05$ ).

Ураження щурів усіх вікових груп натрію нітритом на тлі 45-добової інтоксикації ТД призвело до зниження активності ЛДГ у їх нирках. Найбільш виражені зміни спостерігались у нирках молодих і старечого віку щурів, у яких показник був нижче рівня контролю в 1,7 рази ( $p \leq 0,05$ ). Протягом усього терміну дослідження спостерігався позитивний вплив мілдронату на активність ензиму в нирках щурів усіх вікових груп.

Активність ГГТП у сироватці крові щурів підвищувалася після ураження обома токсикантами одночасно. У сироватці крові статевонезрілих щурів активність ГГТП підвищилася після ураження в останній термін найбільше – в 4,1 рази ( $p \leq 0,05$ ) порівняно з контрольними тваринами. У цей період у сироватці крові статевозрілих щурів показник зростав у 1,6 рази ( $p \leq 0,05$ ), у тварин старечого віку – у 2,3 рази.

Дослідження активності ГГТП в печінці показало її зниження після ураження у всіх дослідних групах тварин. Найбільше зниження активності цього ензиму спостерігали у печінці статевонезрілих щурів. У них досліджуваній показник постійно знижувався залежно від тривалості експерименту й наприкінці дослідження досяг 48 % від контролю ( $p \leq 0,05$ ). Введений в уражений організм мілдронат виявив ефективність тільки після 30-добового його застосування, коли активність ензиму в печінці вірогідно зросла у всіх вікових групах щурів. Так само знижувалася активність ГГТП після ураження обома токсикантами в нирках щурів різного віку. Через 15 діб застосування мілдронат позитивно вплинув на цей показник у нирках зрілих та старечого віку щурів. Після 30-добового застосування мілдронату вірогідно підвищилася активність ензиму в нирках щурів усіх вікових груп. У жоден із термінів дослідження після застосування карболайну не зафіксували вірогідного підвищення цього показника в нирках щурів різного віку.

Про пошкодження мембранних структур гепатоцитів свідчать результати досліджень органоспецифічного ензиму (маркера холестази) – лужної фосфатази в сироватці крові. Дослідження ЛФ показало її статистично значиме зростання в сироватці крові протягом експерименту в усіх дослідних групах тварин. Активність ензиму в сироватці крові ( $p \leq 0,05$ ) лінійно зростала й найвищого значення досягла наприкінці дослідження. Активність ЛФ в сироватці крові статевонезрілих щурів наприкінці дослідження підвищилася у 3,6 рази, у статевозрілих – у 1,6 рази та щурів старечого віку – у 3,4 рази після їх ураження НН на тлі тютюнової інтоксикації. Після 30-добового застосування мілдронату та карболайну знизилася активність ензиму в сироватці крові щурів різного віку внаслідок потрапляння в організм антигіпоксанта ( $p \leq 0,05$ ).

У нирках статевонезрілих щурів цей показник знизився у 2,7 рази, зрілих – у 1,5 рази, у щурів старечого віку – в 2,5 рази. Мілдронат ефективно впливав на цей показник, підвищуючи його в усіх вікових групах тварин. Ефективності від застосування карболайну не виявили.

Аналогічні результати отримані при дослідженні активності ЛФ в печінці токсикованих щурів. Найбільше знизилася активність ЛФ після отруєння НН на тлі тютюнової інтоксикації в печінці статевонезрілих тварин (на 76 % щодо контролю) наприкінці експерименту (рис. 4).

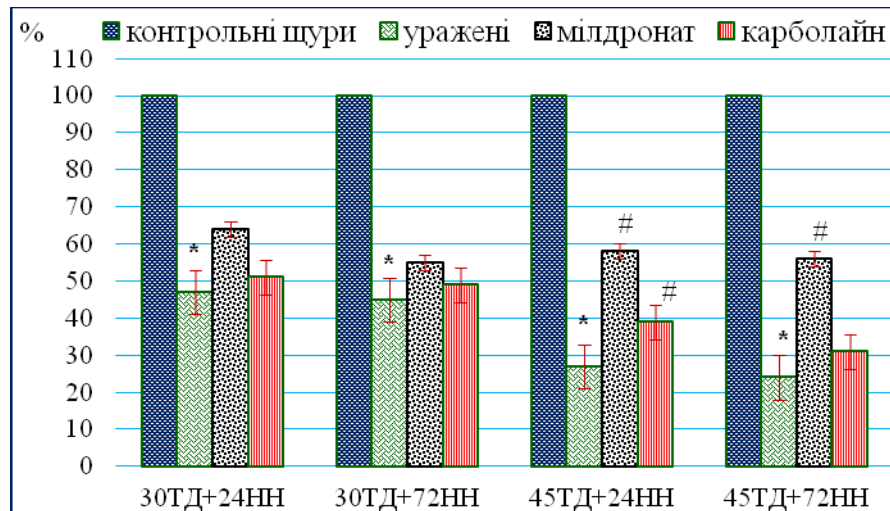


Рис. 4. Активність лужної фосфатази у печінці статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

На початкових етапах дослідження мілдронат не чинив позитивного впливу на активність ЛФ в печінці щурів усіх дослідних груп. У термінальній стадії експерименту ефективність його виявилася у групах молодих та старечого віку щурів, у печінці яких цей показник вірогідно підвищувався в 2,3 рази та 2,0 рази відповідно. Застосування карболайну для корекції активності ЛФ не було ефективним.

Зважаючи на те, що ЛФ – органоспецифічний ензим печінки, зростання активності 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. Усе це разом вносить свою частку в загальний ендогенний токсикоз, який проявляється зростанням МСМ – маркерів токсичного синдрому (Никольская В. А., 2013; Виткина Т. И., 2014; Vanholder R., 2008).

В експерименті після отруєння щурів різного віку НН на тлі тютюнової інтоксикації в сироватці крові зафіксовано підвищення вмісту МСМ фракції СМ<sub>1</sub> (з переважанням ланцюгових амінокислот): до кінця дослідження у статевонезрілих щурів у 4,0 рази, у зрілих і старечого віку – у 3,2 та 3,5 рази ( $p \leq 0,05$ ) відповідно. При дослідженні вмісту СМ<sub>1</sub> виявлено більш ефективний вплив ентеросорбенту карболайн. За його введення в уражений організм знизився вміст СМ<sub>1</sub> у сироватці крові статевонезрілих та старечого віку щурів у 2,6 рази ( $p \leq 0,05$ ), у статевозрілих – у 2,4 рази ( $p \leq 0,05$ ) порівняно з відповідними групами уражених щурів (в останній термін дослідження).

Констатовано прогресуюче підвищення вмісту МСМ фракції СМ<sub>2</sub> (переважають ароматичні амінокислоти) протягом експерименту у всіх вікових

групах щурів. Найчутливішими виявились статевонезрілі тварини, у сироватці крові яких цей показник підвищився у 2,8 раза ( $p \leq 0,05$ ), у статевозрілих – у 2,0 ( $p \leq 0,05$ ) рази та у щурів старечого віку – в 2,3 раза ( $p \leq 0,05$ ). До вірогідного зниження вмісту  $SM_2$  в сироватці крові щурів старечого віку протягом усього експерименту призвело застосування ентеросорбенту карболайн ( $p \leq 0,05$ ). Мілдронат практично не впливав на цей показник в організмі уражених щурів.

Отримані результати підтверджують сорбтивні властивості карболайну, а отже, його можна запропонувати для зниження ступеня ендогенної інтоксикації як у курців, так і після інтоксикації організму екзогенними нітратвмісними сполуками.

Отруєння щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації призвело до оксидативного стресу в організмі з утворенням значної кількості АФО, що супроводжувалося розвитком деструктивних процесів та цитолітичним синдромом, а також зміною проникності клітинних мембран із подальшим порушенням функцій внутрішньоклітинних органел. Незворотні порушення в структурі та функціонуванні мітохондрій, спричинені дією надмірної кількості АФО, призводять до зсуву енергетичного метаболізму в бік зростання інтенсивності гліколізу та пригнічення окисного фосфорилування (Варунків О. І., 2012; Гривенникова В. Г., 2013; Баджинян С. А., 2016).

За умов змодельованої нами патології у тканинах печінки, легень і міокарда, знижувалися показники системи мітохондріального транспорту електронів уже на початку дослідження (24 год та 72 год від моменту потрапляння натрію нітриту в організм токсикованих впродовж 15-ти діб ТД щурів) із максимальним енергодефіцитом клітин у кінці експерименту.

У печінці щурів усіх вікових груп СДГ активність різко знижувалась залежно від тривалості експерименту. Найбільшого зниження активність ензиму досягла в печінці статевонезрілих щурів у останній термін дослідження (45 діб ТД і 72 год з моменту отруєння НН) – у 2,2 раза ( $p \leq 0,05$ ) нижче рівня контрольних щурів.

Після ураження токсикантами спостерігалось зниження СДГ активності у легенях щурів усіх вікових груп протягом експерименту. Зниження було значно виразнішим, ніж при отруєнні кожним із токсикантів окремо. До кінця дослідження у легенях статевонезрілих щурів СДГ активність знизилась у 2,1 раза ( $p \leq 0,05$ ), статевозрілих – у 1,9 раза ( $p \leq 0,05$ ) та в щурів старечого віку – у 1,7 раза ( $p \leq 0,05$ ) щодо рівня контрольної групи.

Чутливим до дії токсикантів був міокард, у якому активність ензиму прогресуюче знижувалась у всі терміни дослідження у щурів усіх вікових груп. Найвираженіші зміни виявлено у міокарді щурів старечого віку. Мілдронат ефективніше впливав на цей показник, ніж карболайн.

Дослідження СДГ активності в органах щурів, отруєних натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації, та виявлене її зниження, створило передумови



для дослідження ЦО активності у тварин різного віку за такого патологічного стану. Найбільшого зниження зазнала ЦО активність у печінці статевонезрілих щурів – до кінця експерименту вона знизилась у 2,7 раза ( $p \leq 0,05$ ) порівняно з контролем.

Аналогічне зниження активності ЦО після ураження спостерігалось у міокарді щурів різного віку. Найчутливішим до дії токсикантів виявився міокард щурів старечого віку: активність ензиму знижувалась в усі терміни дослідження. До кінця експерименту вона у 2,2 раза ( $p \leq 0,05$ ) була нижче рівня групи контрольних тварин. Застосування як мілдронату, так і карболайну забезпечило вірогідне підвищення цього показника у міокарді щурів усіх вікових груп.

Ураження обома токсикантами призвело до глибокого порушення ЦО активності в легенях щурів. У статевонезрілих (рис.5) та щурів старечого віку цей показник знизився на 60,0 % наприкінці експерименту, у статевозрілих – на 50,0 %.

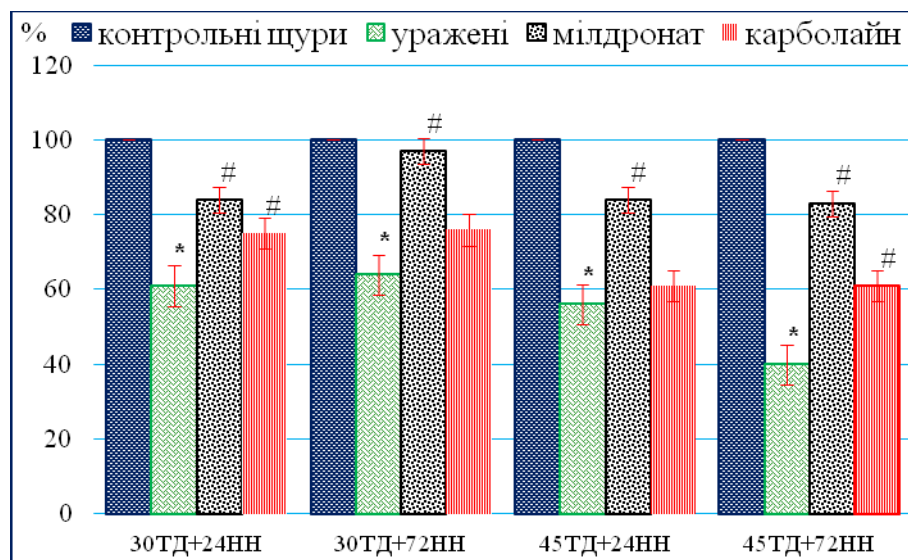


Рис. 5. Цитохромоксидазна активність у легенях статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

Впродовж усього експерименту констатували позитивний вплив мілдронату на ЦО активність. Зниження ЦО активності в мітохондріях різних органів за ураження токсикантами можна обґрунтувати обмеженням надходження електронів від субстратної ланки дихального ланцюга через цитохроми b-c (Елисеєва С. В., 2008; Струтинська Н. А., 2016). Пригнічення активності ЦО може також виникати через зв'язування вільних кисневих радикалів із атомами металів, які є в складі досліджуваного ензиму.

Дослідження вмісту С-реактивного протеїну є одним із найбільш прийнятних маркерів ранньої діагностики та моніторингу запального захворювання (Авдеев С. Н., 2008; Вельков В. В., 2010; Волкова Л. И., 2013).



Найвищий вміст цього показника зареєстровано в сироватці крові щурів старечого віку, отруєних обома токсикантами, у яких до кінця експерименту він підвищився у 3,3 раза (рис. 6).

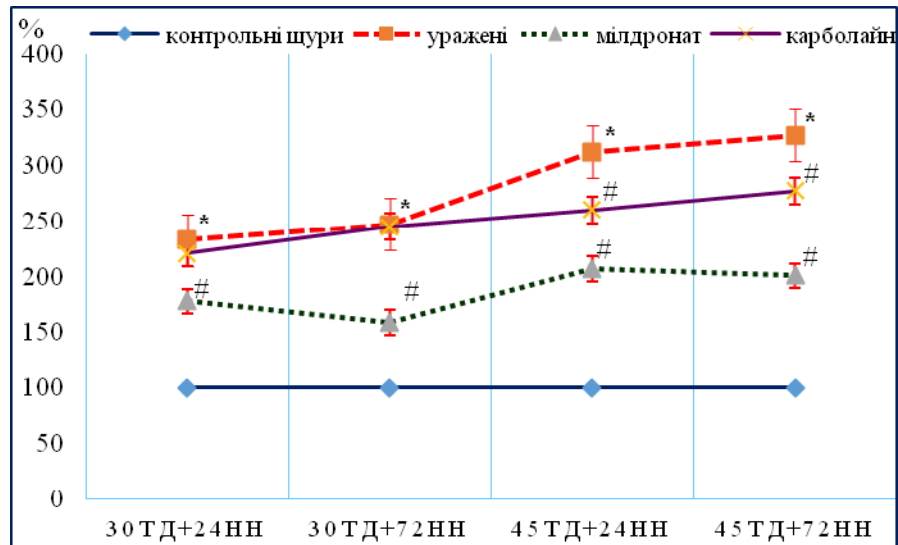


Рис. 6. Вміст С-реактивного протеїну у сироватці крові старечих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %

За введення в уражений токсикантами організм мілдронату суттєво знижувався вміст С-РП, що може бути зумовлене його опосередкованим впливом на запальні процеси (через прояв його антигіпоксантичних і антиоксидантних властивостей). Карболайн виявився менш ефективним, хоча в останні терміни дослідження під його впливом вміст С-РП вірогідно знижувався.

У сироватці крові статевонезрілих та статевозрілих щурів спостерігались аналогічні зміни вмісту С-РП після ураження та застосування коригувальних чинників. Більш стійкими до таких змін виявились статевозрілі щури, у яких цей показник зростав найменше після ураження.

Відомо, що синтез і секреція С-РП здійснюється в печінці та регулюється прозапальними цитокінами, насамперед ІЛ-6, проте може продукуватися макрофагами, лімфоцитами (Криницька І. Я., 2012; Манжалій Е. Г., 2016).

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. 2).

Найвищий вміст ІЛ-6 спостерігали в сироватці крові статевонезрілих щурів, який вірогідно збільшився уже на початку дослідження (15 діб інтоксикації ТД і 24 год ураження НН). До кінця експерименту після ураження обома токсикантами вміст прозапального цитокіну в сироватці крові статевозрілих щурів збільшився у 3,5 раза, у тварин старечого віку – у 2,6 раза щодо контрольної групи.

Впродовж усього експерименту спостерігали виражений вплив мілдронату на вміст цього показника у сироватці крові. Після його

застосування вміст ІЛ-6 у останній термін дослідження знизився в сироватці крові молодих щурів у 1,3 раза, у статевозрілих – у 1,7 раза ( $p \leq 0,05$ ) та у щурів старечого віку – у 1,5 раза. Ефективність від застосування карболайну виявилась, головним чином, у групах статевозрілих та старечого віку щурів, у сироватці крові яких до кінця експерименту вміст ІЛ-6 знижувався ( $p \leq 0,05$ ).

Таблиця 2

**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±m, n=6)**

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечого віку 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>

**Примітка.** Тут і в наступних таблицях \* – вірогідні зміни між показниками контрольних та уражених токсикантами тварин ( $p \leq 0,05$ ); # – вірогідні зміни між показниками уражених щурів та тварин, яким застосовували коригувальні чинники ( $p \leq 0,05$ ).

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

переважно визначає характер перебігу та результат захворювання (Abedchabuk S., 2014; Chowdhurya I. H., 2014). Відомо, що IL-4 виявляє потужний протизапальний ефект і відіграє ключову роль у виникненні запальної реакції (Nolan Y., 2005, 2007; Tarrant J. M., 2010).

Дослідний показник прогресуюче знижувався у всіх вікових групах тварин залежно від термінів інтоксикації. До кінця дослідження вміст проти-запального цитокіну найвираженіше знизився у сироватці крові статевонезрілих щурів – у 2,2 раза ( $p \leq 0,05$ ), тоді як у зрілих і старечих – у 1,7 та 1,8 раза ( $p \leq 0,05$ ) відповідно (щодо контролю). Ефективність застосування мілдронату реєстрували в усі терміни та у всіх вікових групах ( $p \leq 0,05$ ). Наприкінці експерименту після його застосування вміст IL-4 підвищився майже до рівня контрольних тварин у сироватці крові статевозрілих і старечого віку щурів.

Оксидативний стрес і нагромадження токсичних продуктів екзо- й ендogenousного походження в організмі уражених щурів призвели до розвитку запальних процесів із їх поглибленням залежно від тривалості експерименту та віку тварин. Це підтверджувалося дисбалансом про- і протизапальних цитокінів та збільшенням у сироватці крові протеїну гострої фази – С-РП. Застосування за таких умов антигіпоксанта мілдронат було ефективним, після його потраплення в організм підвищувалась активність процесів енергозабезпечення, пригнічувались запальні реакції в організмі.

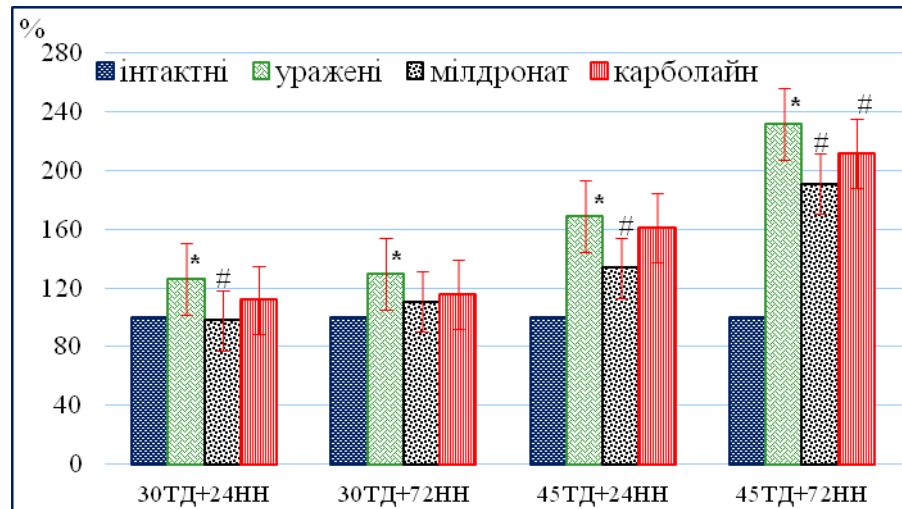
Показано, що отруєння натрію нітритом призводило до виникнення у щурів нітрооксидативного стресу, через утворення значної кількості нітрогену оксиду. Тютюновий дим містить нітрогену діоксид, а також нітрогену оксид, які, потрапляючи в організм, виявляли токсичність за рахунок утворення пероксинітриту, нітрит- і нітрат-іонів, що ініціюють реакції ПОЛ. Таким чином, в організмі поряд із окисними порушеннями розвивався нітрооксидативний стрес.

Як показали результати досліджень, одночасне ураження натрію нітритом і тютюновим димом призводить до значної активації процесів утворення нітрит-іона в організмі щурів різного віку. У сироватці крові статевонезрілих щурів після ураження обома токсикантами в останній термін дослідження вміст нітрит-іона підвищився у 2,3 раза (рис. 7), що може зумовити значне утворення ендogenousного нітрогену оксиду та розвиток нітрооксидативного стресу. У цей же термін показник перевищував рівень контролю вдвічі у сироватці крові статевозрілих і старечого віку тварин.

Як бачимо з рис. 7, максимум утворення нітрит-іона припадає на останні терміни дослідження. Застосований нами мілдронат виявився ефективнішим, ніж карболайн, вірогідно знижуючи цей показник протягом експерименту.

Після ураження токсикантами зростав вміст нітрит-іона в печінці, міокарді та нирках щурів усіх вікових груп. Отруєння тварин натрію нітритом на тлі 45-добової інтоксикації тютюновим димом викликало підвищення вмісту нітрит-іона в легенях щурів усіх дослідних груп. У легенях статевонезрілих тварин цей показник до кінця експерименту підвищився у 3,7 раза, у статевозрілих – у 3,2 раза та у щурів старечого віку – у 2,7 раза порівняно з

контрольною групою, що підтверджує тропність тютюнового диму саме до цього органа.



**Рис. 7. Вміст нітрит-іона в сироватці крові статевонезрілих щурів, уражених натрію нітритом на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації, та після застосування коригувальних чинників, %**

Введення в уражений організм мілдронату супроводжувалось зниженням вмісту нітрит-іона в легенях щурів практично у всі терміни дослідження (окрім початкового). При застосуванні карболайну в останній термін дослідження цей показник знижувався без вірогідних змін.

Надмірне нагромадження нітрит-іона в органах щурів після ураження може зумовити посилене утворення нітрогену оксиду.

Доведено, що після ураження щурів натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації в сироватці крові прогресивно зростала активність iNOS у всіх вікових групах. Найактивнішою була iNOS у сироватці крові статевонезрілих щурів, яка до кінця експерименту підвищилась у 3,3 раза ( $p \leq 0,05$ ) після ураження токсикантами. Після застосування мілдронату активність iNOS знижувалася ( $p \leq 0,05$ ) протягом експерименту в сироватці крові щурів усіх вікових груп. Наприкінці експерименту у статевонезрілих щурів цей показник знизився в 1,8 раза ( $p \leq 0,05$ ) щодо групи уражених тварин, у статевозрілих і старечого віку – у 1,5 раза ( $p \leq 0,05$ ).

Дослідження активності iNOS у печінці щурів різного віку після ураження токсикантами показало, що найбільшу активність вона виявляє у статевонезрілих тварин. На початку експерименту активність ензиму в печінці цієї групи щурів збільшилась у 3,0 раза ( $p \leq 0,05$ ), та до кінця експерименту в 4,3 раза ( $p \leq 0,05$ ) перевищувала рівень контрольних тварин. Застосування коригувальних чинників позитивно впливало на активність ензиму в печінці. Особливо ефективним виявився мілдронат, після введення якого в організм щурів даний показник ( $p \leq 0,05$ ) знижувався у всі терміни дослідження. У статевонезрілих щурів наприкінці дослідження активність iNOS у 2,1 раза виявилася нижче рівня уражених тварин.

Ми дослідили активність eNOS у сироватці крові та печінці щурів різних вікових груп після ураження токсикантами. Активність ензиму в сироватці

крові статевонезрілих щурів у всі терміни дослідження зазнала практично однакового зниження та наприкінці експерименту виявилась нижче контролю на 56,0 %. У старечого віку щурів цей показник знизився на 56,0 %, у статевозрілих – на 50,0 % ( $p \leq 0,05$ ). Мілдронат ефективно підвищував активність eNOS у сироватці крові щурів різного віку протягом усього експерименту. При застосуванні карболайну спостерігалась тенденція до підвищення активності ензиму, але вірогідного збільшення не відбулося.

Ураження обома токсикантами одночасно призвело до зниження активності eNOS у печінці тварин усіх вікових груп (табл. 3).

Таблиця 3

**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 ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )**

Термін дослідження, доба/година	Групи дослідних тварин		
	статевонезрілі щури	статевозрілі щури	старечого віку 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>

Найнижчу активність eNOS реєстрували в печінці статевонезрілих щурів наприкінці експерименту, вона знизилась після ураження в 5,1 раза щодо групи інтактного контролю того ж віку. У статевозрілих щурів цей показник знизився

у 3,0 рази, у тварин старечого віку – у 3,7 рази щодо контрольної групи в останній термін дослідження. Використаний нами антигіпоксанти 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 виявилася наприкінці експерименту. Після 30-добового введення його в організм активність eNOS підвищувалася в печінці щурів усіх дослідних груп (у останній термін дослідження).

За отруєння натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації в організмі тварин розвивався оксидативний і нітрооксидативний стрес, що зумовлювало тяжкість перебігу патологічного процесу. Найвираженіші зміни у функціонуванні NO-системи фіксували в організмі статевонезрілих щурів після одночасного ураження натрію нітритом та тютюновим димом.

Отримані результати дають змогу стверджувати, що гіперпродукування NO, яке пов'язане зі зростанням вмісту нітрит-іона після ураження та активності iNOS, поряд із активацією кисневих вільнорадикальних реакцій, є однією з ключових ланок за токсичних уражень організму, зокрема в разі отруєння натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації.

Для підтвердження отриманих результатів проведено морфологічні дослідження органів щурів різних вікових груп після ураження їх натрію нітритом та впливу на них препарату метаболічної дії мілдронату та ентеросорбенту карболайн.

Проведені мікроскопічні дослідження внутрішніх органів білих щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації показали, що структурна організація легень (рис. 8, 8а) і серця (рис. 9, 9а) тварин усіх вікових груп характеризується змінами судинного русла та основних морфофункціональних компонентів. Найвираженіші зміни відбуваються у легенях статевонезрілих та старечого віку тварин.

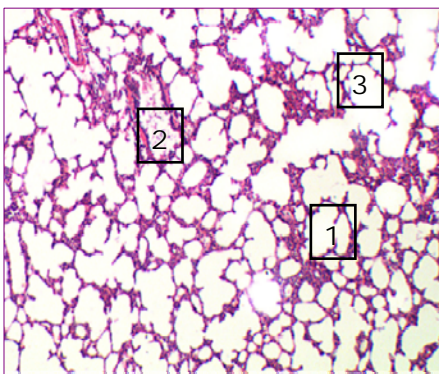


Рис. 8 Мікроскопічна будова легень статевонезрілої тварини контрольної групи. Респіраторний відділ (1), бронхіола (2), альвеоли в складі альвеолярного мішечка (3). Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 100$

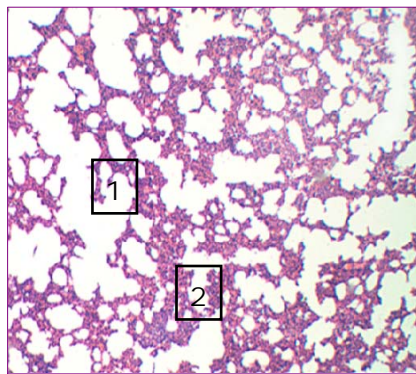


Рис. 8а Мікроскопічні зміни легень статевонезрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму на натрію нітриту. Респіраторний відділ (1), альвеоли (2) в складі альвеолярного мішечка. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 100$

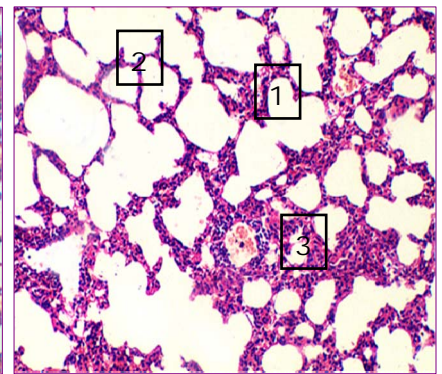


Рис. 8б Мікроскопічні зміни легень статевонезрілої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування мілдронату. Альвеола (1), міжальвеолярна перетинка (2), інфільтрат (3). Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 200$

Мікроскопічні дослідження легень за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування мілдронату показали, що препарат



позитивно впливає на структурні компоненти органа 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. 8б).

З'ясовано, що мілдронат ефективніше ніж карболайн поліпшував стан судинної системи органів, сприяв нормалізації будови респіраторного відділу легень та м'язових волокон міокарда (рис. 9б).

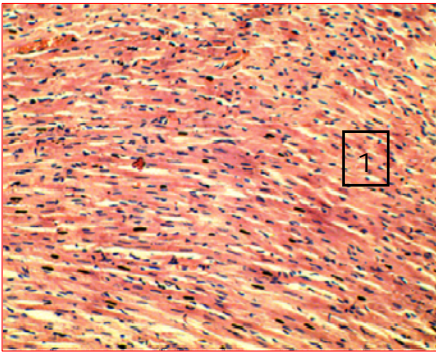


Рис. 9 Мікроскопічна будова серця старої тварини контрольної групи. Кардіоміоцити (1) в складі м'язових волокон міокарда. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

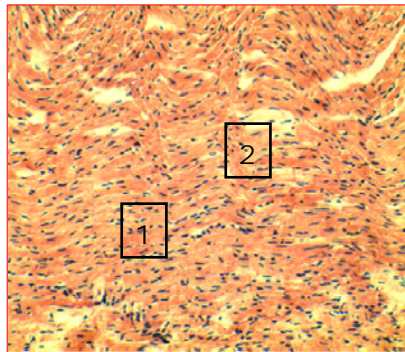


Рис. 9а Мікроскопічні зміни серця старої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту. Кардіоміоцити (1) в складі м'язових волокон міокарда, ділянка набряку (2). Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

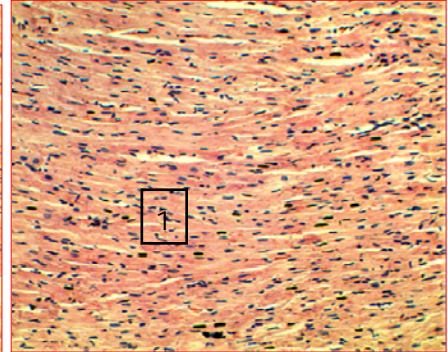


Рис. 9б Мікроскопічні зміни серця старої тварини за умов одночасної дії тютюнового диму та натрію нітриту після застосування мілдронату. Кардіоміоцити (1) в складі м'язових волокон міокарда. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$

Отримані результати досліджень дозволяють стверджувати, що за ураження щурів різного віку натрію нітритом і тютюновим димом в організмі розвивається оксидативний та нітрооксидативний стрес, що поглиблюється за умов одночасного застосування токсикантів. Найчутливішими до дії використаних нами ксенобіотиків були статевонезрілі щури.

Узагальнюючи дані літератури й отримані результати, пропонуємо схему нітритно-тютюнового токсикозу (рис. 10).

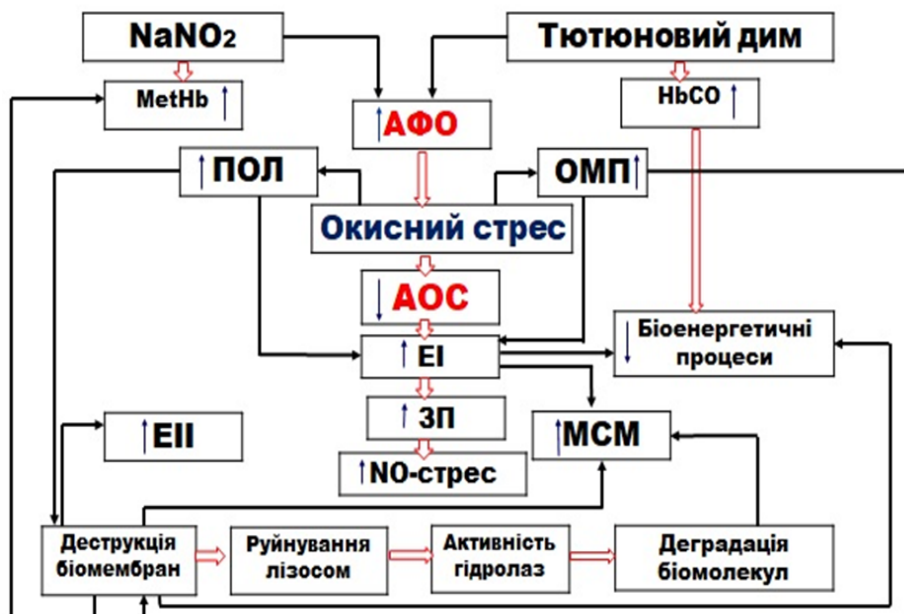


Рис. 10. Схема розвитку нітритно-тютюнового токсикозу

Як бачимо з рис. 10, отруєння щурів натрію нітритом на тлі хронічної тютюнової інтоксикації супроводжується гіперпродукцією агресивних АФО в ураженому організмі, що призводить до розвитку оксидативного стресу. На це вказує інтенсифікація процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів після ураження та зниження активності компонентів антиоксидантної системи. Натрію нітрит викликає посилене метгемоглобіноутворення за вільнорадикальним механізмом. Первинною реакцією тютюнового диму на організм є утворення карбоксигемоглобіну. Обидва похідні гемоглобіну не здатні транспортувати кисень до органів і тканин.

Отже, за нітритно-тютюнового токсикозу розвивається тканинна гіпоксія, що підтверджується зниженням активності мітохондріальних ензимів, у результаті чого пригнічуються процеси утворення енергії. Названі вище чинники викликають деструкцію плазматичних і цитоплазматичних мембран та зміну їх проникності. При цьому підвищується активність органоспецифічних ензимів у сироватці крові та знижується в органах тварин. Виявлені порушення супроводжуються синдромом ендогенної інтоксикації, обумовленої нагромадженням у організмі продуктів деградації ліпідних і протеїнових молекул, зокрема МСМ. Значна кількість ендогенних токсинів, а також екзогенних, які потрапляють в організм з тютюновим димом, призводить до активації запальних процесів. За умов нітритно-тютюнового токсикозу настає дисбаланс у вмісті про- і протизапальних цитокінів. Тривала гіпоксія, викликана натрію нітритом і тютюновим димом, зумовлює посилене утворення нітрогену оксиду під дією індукцибельної NO-синтази, яка активується за патологічних станів. В ураженому організмі виникає нітрооксидативний стрес, підтверджений пригніченням активності ендотеліальної NO-синтази та нагромадженням нітрит-іона в органах тварин.

Із запропонованої схеми розвитку нітритно-тютюнового токсикозу випливає, що первинною реакцією на потрапляння цих токсикантів у організм є активація вільнорадикальних окиснювальних процесів, внаслідок чого розвивається оксидативний і нітрооксидативний стрес, поглиблюється ендогенна інтоксикація та активуються запальні процеси, порушуються процеси енергозабезпечення та відбуваються зміни у захисних системах організму.

Виявлені порушення призводять до тяжкої інтоксикації організму, що вимагає додаткового введення коригувальних чинників. Враховуючи дані літератури та отримані нами результати, можна запропонувати застосування препарату метаболічної дії мілдронат, який має антигіпоксантні та антиоксидантні властивості, ентеросорбенту карболайн для корекції метаболічних порушень, викликаних нітратними сполуками, а також токсичними компонентами тютюнового диму, та включити їх до комплексної терапії 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 супероксиддисмутази 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 ( $p \leq 0,05$ ) каталази активності у сироватці крові, печінці, легенях, нирках і міокарді щурів різного віку протягом усього експерименту. До кінця експерименту прогресував вміст церулоплазмину 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 знижувалась 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 ендогенні 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 знизилась 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 ІЛ-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 антигіпоксантичними 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 легенях 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 ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С., Бурмас Н. І., Кернична І. З. Стан клітинних мембран щурів різного віку за умов ураження нітритом натрію. *Медична хімія*. Тернопіль, 2011. № 1(46). С. 74–77. (Здобувач провів експериментальні дослідження, визначив активність АЛТ, і АСТ та статистично обчислив їх результати).

2. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С., Підгірний В. В. Динаміка активності вільнорадикальних процесів в органах щурів різних вікових груп після інтоксикації нітритом натрію. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. Одеса, 2014. № 3(37). С. 139–145. (Здобувач провів експериментальні дослідження, визначив вміст активних форм кисню та метгемоглобуну, підготував статтю до друку).

3. **Lyhatskyi P. G.**, Rytsyk O. V., Fira L. S., Yaremchuk O. Z. Age related oxidative processes and endogenous intoxication dynamics of rats arter tobacco smoke affect. *International Journal of Medicine and Medical Research*. Ternopil, 2016. № 2(2). С. 47–51. (Здобувач провів забір матеріалу, експериментальні дослідження, визначив вміст молекул середньої маси та ТБК-АП, підготував статтю до друку).

4. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С., Качур О. І. Показники енергозабезпечення в щурів за умов хронічного ураження тютюновим димом. *Медична та клінічна хімія*. Тернопіль, 2016. № 4(18). С. 34–38. (Здобувач провів експериментальні дослідження, визначив активність СДГ та вміст ТБК-АП, їх статистичну обробку, узагальнив результати).

5. **Lykhatskyi P. H.**, Fira L. S. 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*. Ternopil, 2017. № 1(3). С. 84–88. (Здобувач провів експериментальні дослідження, статистичну обробку результатів, підготував статтю до друку).

6. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С., Грицишин Л. Є. Біохімічні механізми розвитку стресу за умов ураження щурів різних вікових груп натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. *Біологія тварин*. Львів, 2017. № 1(19). С. 65–72. (Здобувач провів визначення вмісту активних форм кисню та метгемоглобіну, їх статистичну обробку та узагальнення).

7. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. Динаміка маркерів запалення під впливом мілдронату за експериментального ураження щурів тютюновим димом та натрію нітритом. *Sciences of Europe*. Прага, 2017. № 1(20). С. 10–15. (Здобувач провів експериментальну частину, узагальнив результати, підготував статтю до друку).

8. **Lykhatskyi P. H.**, Fira L. S. Experimental study of the toxic effects of tobacco smoke and nitrites on the body of immature and mature rats. *Український біофармацевтичний журнал*. Харків, 2017. № 1(48). С. 12–16. (Здобувач провів експериментальні дослідження, їх статистичну обробку та узагальнення, підготував статтю до друку).

9. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. Дослідження активності окиснювальних та запальних процесів у щурів різного віку, одночасно отруєних натрію нітритом та тютюновим димом. *Фітотерапія. Часопис*. Київ, 2017. № 2. С. 53–58. (Здобувач провів експериментальну частину досліджень, їх статистичну обробку та підготував статтю до друку).

10. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С., Фіра Д. Б., Кузьмак І. П. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина*. Дніпро, 2017. № 2(8). С. 259-264. (Здобувач провів експериментальні дослідження, визначив вміст МСМ та АФО, узагальнив результати).

11. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С., Бойко Л. А., Федорович У. М. Розвиток цитолітичного синдрому в організмі щурів різного віку, уражених тютюновим димом. *Укр. журн. клін. та лаб. медицини*. Рубіжне, 2017. № 2(12). С. 12–19. (Здобувач провів експериментальні дослідження, визначив ступінь проникності еритроцитарних мембран та підготував статтю до друку).

12. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. Застосування ентеросорбенту “Карболайн” для корекції окиснювальних процесів у щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. *Медична та клінічна хімія*. Тернопіль, 2017. № 2(19). С. 45–52. (Здобувач провів експериментальні дослідження, їх статистичну обробку та узагальнення, підготував статтю до друку).

13. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С., Гонський Я. І. Динаміка змін маркерів біоенергетичних процесів та цитолізу у щурів після ураження нітритом натрію на тлі тютюнової інтоксикації. *Вісник проблем біології і медицини*. Полтава, 2017. № 2(136). С. 147–152. (Здобувач провів забір матеріалу, експериментальні дослідження, визначив активність АЛТ, АСТ, їх статистичну обробку, здійснив їх узагальнення).

14. **Лихацький П. Г.** Корекція вільнорадикальних процесів та мітохондріальної дисфункції в щурів, отруєних натрію нітритом і тютюновим димом, препаратом “Мілдронат”. *Медична та клінічна хімія*. Тернопіль, 2017. № 3(19). С. 93–102.

15. **Lykhatskyi P. H.**, Fira L. S., Fedorovich U. M. Proteins oxidative modification and mitochondrial enzymes activity in rats of different ages under affection by sodium nitrites and tobacco smoke. *Український біофармацевтичний журнал*. Харків, 2017. № 3(50). С. 38–46. (Здобувач визначив вміст 2,4-ДНФГ основного і нейтрального характеру, активність СДГ та ЦО, статистично обчислив їх результати).

16. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. Застосування мілдронату за умов окиснювального стресу у щурів, уражених натрію нітритом, на тлі інтоксикації тютюновим димом. *Світ медицини та біології*. Полтава, 2017. № 3(61). С. 128–134. (Здобувач провів забір матеріалу, експериментальні дослідження, обчислив отримані результати, підготував статтю до друку).

17. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. Ендогенна інтоксикація у старечих щурів, одночасно уражених тютюновим димом та нітритом натрію. *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол.* Тернопіль, 2017. № 3(70). С. 158–163. (Здобувач провів планування експерименту, проаналізував результати та провів їх узагальнення).

18. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. 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*. Узбекистан, 2017. № 3(96). С. 145–152. (Здобувач проаналізував літературні дані, провів експериментальні дослідження, статистичну обробку, узагальнив результати).

19. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. Можливість застосування сорбенту “Карболайн” для корекції порушень в організмі щурів, уражених натрію нітритом, на тлі тютюнової інтоксикації. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. Львів, 2017. № 4. С. 31–40. (Здобувач провів експериментальні дослідження, узагальнив результати та підготував статтю до друку).

20. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. Розвиток нітрооксидативного стресу та запальних процесів у щурів різного віку, уражених тютюновим димом. *Світ медицини та біології*. Полтава, 2017. № 4(62). С. 145–149. (Здобувач провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень, провів їх статистичну обробку та підготував статтю до друку).

21. **Лихацький П. Г.** Дослідження показників ендогенної антиоксидантної системи у щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. *ScienceRise: Biological Science*. Харків, 2017. № 5(8). С. 18–23.

22. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. Ендогенна інтоксикація та запальні процеси в організмі щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом. *Наукові доповіді НУБіП України*. Київ, 2017. № 5(69). С. 1–14. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/view/9481/8496>. (Здобувач провів експериментальні дослідження, їх статистичну обробку, підготував статтю до друку).

23. **Lykhatskyi P. H.**, Fira L. S. Activity of oxidative processes in the rats' body of different age, affected by sodium nitrite, on the background of tobacco intoxication. *The Pharma Innovation*. India, 2017. № 6(6). С. 18–24. (Здобувач

провів експериментальні дослідження, їх статистичну обробку та узагальнення).

24. **Лихацький П. Г.** 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.* Тернопіль, 2018. № 1(72). С. 102–110.

25. **Lykhatskyi P. H.**, Fira L. S., Lisnychuk N. Ye., Kulitska M. I. Effect of tobacco smoke on ros production and inflammation in rats of different age. *Georgian Medical News.* Georgia, 2018. № 2(275). С. 150–157. (Здобувач провів визначення вмісту інтерлейкіну-4 та 6, провів їх статистичну обробку та підготував статтю до друку).

26. Спосіб застосування ентеросорбенту карболайн для зниження ступеня інтоксикації у щурів, уражених натрію нітритом та тютюновим димом : декл. пат. на корисн. мод. 125659, Україна / **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. № u201708090 ; заявл. 03.08.2017 ; опубл. 25.05.2018, Бюл. № 10. 4 с.

27. Вікові аспекти біохімічної оцінки ступеня інтоксикації за умов нітритного отруєння. Інформ. лист. 128–2015, Україна / Фіра Л. С., **Лихацький П. Г.** 2015. С. 1–4.

28. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С., Грималюк О. І. Показники антиоксидантної системи щурів різних вікових груп при ураженні нітритом натрію. *Матеріали наук.–практ. конф. «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 17–18 квітня 2012 р.)*. Тернопіль, 2012. С. 191. (Здобувач провів експериментальні дослідження, визначив каталазну активність та підготував матеріали до друку).

29. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С., Іванець Л. М. Перебіг процесів вільнорадикального окиснення у щурів різного віку за умов нітритної інтоксикації. *Матеріали III Всеукраїнської наук.–практ. конф. «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 30–31 жовтня 2012 р.)*. Тернопіль, 2012. С. 84. (Здобувач провів експериментальні дослідження, визначив вміст метгемоглобіну та статистичну обробку).

30. **Lyhatskiy P. G.**, Fira L. S. Age-related changes in the protection systems of rats organism after the intoxication by sodium nitrite. *7th Lviv-Lublin Conference of «Experimental and Clinical Biochemistry» (Львів, 23–24 травня 2013 р.)*. Львів, 2013. С. 56. (Здобувач провів експериментальні дослідження, статистичну обробку та узагальнення результатів, підготував матеріали до друку).

31. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. Вплив нітриту натрію на розвиток вільнорадикальних процесів в організмі щурів різних вікових груп. *Матеріали наук.–практ. конф. з міжнар. участю «Бабенківські читання» (Івано–Франківськ, 24–25 жовтня 2013 р.)*. Івано–Франківськ, 2013. С. 47. (Здобувач провів експериментальні дослідження, їх статистичну обробку, підготував матеріали до друку).

32. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. Зміни деяких показників антиоксидантного захисту в органах старечих щурів за умов нітритної інтоксикації. *Укр. біохім. журн.* 2014. Т. спец. Вип. 4 : Матеріали XI Українського біохімічного конгресу (м. Київ, 6–10 жовтня 2014 р.). Київ, 2014. С. 96. (Здобувач провів

експериментальні дослідження показників антиоксидатного захисту та їх статистичну обробку).

33. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С., Трохимчук Н. Б. Вміст активних форм кисню у щурів різних вікових груп за умов нітритного отруєння *Медична хімія*. 2014 : Матеріали наук.-практ. конференції «Актуальні питання експериментальної і клінічної біохімії та фармакології» (Тернопіль, 9–10 жовтня 2014 р.). Тернопіль, 2014. № 3(16). С. 123. (Здобувач провів експериментальні дослідження, визначив вміст активних форм кисню та підготував матеріали до друку).

34. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. Окиснювальний стрес в організмі щурів різного віку, одночасно уражених натрію нітритом та тютюновим димом. 2017 : *Матеріали Підсумкової LX наук.–практ. конф. «Здобутки клінічної та експериментальної медицини»* (Тернопіль, 14 червня 2017 р.). Тернопіль, 2017. С. 258. (Здобувач дослідив процеси ліпопероксидації та вільнорадикального окиснення, отримав результати, здійснив їх узагальнення).

35. **Lykhatskyi P. H.**, Fira L. S. Research of activity of oxidative and inflammation processes in the rats of different ages after their affection by tobacco smoke. *8th Lviv-Lublin Conference of «Experimental and Clinical Biochemistry»* (Lublin, 18–20 Sep. 2017 r.). Poland, AU. Lublin (AU), 2017. С. (Здобувач провів експериментальні дослідження, їх статистичну обробку та узагальнення).

36. **Лихацький П. Г.**, Фіра Л. С. Розвиток запальних процесів у щурів, отруєних натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. *Матеріали наук.–практ. конф. 4th international scientific conference current problems of «Biochemistry and cell Biology»* (Дніпро, 5–6 жовтня 2017 р.). Дніпро, 2017. С. 158–160. (Здобувач провів експериментальні дослідження, їх статистичну обробку, підготував матеріали до друку).

37. **Лихацький П. Г.** Зміни показників антиоксидантної системи щурів, уражених натрію нітритом, на тлі тютюнової інтоксикації. *Матеріали наук.–практ. конф. з міжнар. участю «Бабенківські читання»* (Івано–Франківськ, 26–27 жовтня 2017 р.). Івано–Франківськ, 2017. С. 68.

## АНОТАЦІЇ

**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. – Інститут біології тварин НААН, Львів, 2018.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню впливу натрію нітриту на тлі 45-добової тютюнової інтоксикації на організм щурів різного віку, а також пошуку за даних умов адекватних методів корекції за допомогою антигіпоксантів та ентеросорбентів.

Виявлено, що після ураження щурів токсикантами відбувається гіперпродукція активних форм кисню, що зумовлює активацію процесів

вільнорадикального окиснення (ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів) у організмі тварин. За даних умов виникає гіпоксія, зумовлена значним утворенням мет- і карбоксигемоглобіну. Утворені токсичні продукти провокують деструкцію біомембран та вихід внутрішньоклітинних компонентів у кров. В організмі нагромаджуються вторинні ендogenousні токсини (молекули середньої маси), вміст яких зростає у сироватці крові щурів усіх вікових груп. Посилена ендogenousна інтоксикація призводить до змін у антиоксидантній системі (пригнічення ензимної та неензимної ланок).

Пригнічення ензимів мітохондріальної системи окиснення більш виражене за одночасного ураження обома токсикантами. Зафіксовано розвиток запальних процесів, про що свідчить дисбаланс про- і протизапальних цитокінів та підвищення в сироватці крові вмісту С-реактивного протеїну. Відмічаються порушення у функціонуванні NO-системи та виникає нітрооксидативний стрес, який проявляється підвищенням активності індукцибельної NO-синтази та зниженням активності ендотеліальної її ізоформи.

Найвираженіші зміни метаболізму в умовах нітритно-тютюнової інтоксикації відбуваються у статевонезрілих щурів.

Отримані результати підтверджені морфологічними дослідженнями органів щурів після ураження. Експериментально обґрунтовано доцільність використання антигіпоксанта мілдронат та ентеросорбента карболайн за умов нітритно-тютюнового ураження.

**Ключові слова:** натрію нітрит, тютюновий дим, оксидативний і нітрооксидативний стрес, біоенергетичні й запальні процеси, ендogenousна інтоксикація, мілдронат, карболайн.

**Лихацкий П. Г. Возрастные особенности метаболизма у крыс при воздействии натрия нитрита и табачного дыма, пути коррекции выявленных нарушений. – Квалификационный научный труд на правах рукописи.**

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.04 – биохимия. – Институт биологии животных НААН, Львов, 2018.

Диссертационная работа посвящена исследованию влияния натрия нитрита на фоне 45-суточной табачной интоксикации на организм крыс разного возраста, а также поиск в данных условиях адекватных методов коррекции с помощью антигипоксантов и энтеросорбентов.

Выявлено, что после поражения крыс токсикантами происходит гиперпродукция активных форм кислорода, что приводит к активации процессов свободнорадикального окисления (липопероксидации и окислительной модификации протеинов) в организме животных. При данных условиях возникает гипоксия, обусловленная значительным образованием мет- и карбоксигемоглобина. Образованные токсичные продукты провоцируют деструкцию биомембран и выход внутриклеточных компонентов в кровь. В организме накапливаются вторичные эндогенные токсины (молекулы средней



массы), содержание которых растет в сыворотке крови крыс всех возрастных групп. Усиленная эндогенная интоксикация приводит к изменениям в антиоксидантной системе (угнетение энзимного и неэнзимного звеньев).

Угнетение энзимов митохондриальной системы окисления более выраженное при одновременном поражении обеими токсикантами. Зафиксировано развитие воспалительных процессов, о чем свидетельствует дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов и повышение в сыворотке крови содержания С-реактивного протеина. Отмечаются нарушения в функционировании NO-системы и возникает нитрооксидативный стресс, который проявляется повышением активности индуцибельной NO-синтазы и снижением активности эндотелиальной ее изоформы.

Наиболее выраженные изменения метаболизма в условиях нитритно-табачной интоксикации отмечали у неполовозрелых крыс.

Полученные результаты подтверждены морфологическими исследованиями органов крыс после поражения. Экспериментально обоснована целесообразность использования антигипоксанта милдронат и энтеросорбента карболайн в условиях нитритно-табачного поражения.

**Ключевые слова:** натрия нитрит, табачный дым, оксидативный и нитрооксидативный стресс, биоэнергетические и воспалительные процессы, эндогенная интоксикация, милдронат, карболайн.

## 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. – Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, 2018.

The study of the effect of sodium nitrite on the bodies of rats of different ages under the influence of a 45-day tobacco intoxication, as well as the search of adequate correction methods using antihypoxants and enterosorbents under these conditions, is presented in the thesis.

It has been established, that during the whole experiment, after the affection of the rats, the hyperproduction of active forms of oxygen is present. Hyperproduction of ROI caused activation of free radical oxidation processes (increased lipoperoxidation and oxidative modification of proteins) in the animals' body.

Additionally, a hypoxic state developed in the body that was caused by the enhanced development of methemoglobin and carboxyhemoglobin under the influence of toxic factors. The highest content of carboxyhemoglobin in blood was evidenced during the whole period of TS affection in the immature rats. The generated toxic products caused the destruction of biomembranes and release of intracellular components into the blood. Moreover, the results of studies of organ-specific enzymes (aminotransferases, gamma-glutamyltranspeptidases, lactate dehydrogenase, and alkaline phosphatase) in blood serum proved the damage to

membrane structures of hepatocytes. Under the given conditions, secondary endogenous toxins accumulated in the body. The degree of endogenous intoxication was defined by average weight molecules, the content of which significantly increased in blood serum of the rats of all age groups after the affection.

Endogenous intoxication caused changes in the antioxidant defense system, in particular, the activity of the enzyme level of the antioxidant system decreased. With underlying nitrite-tobacco toxicity, the progressive decrease in reduced glutathione content in the liver, lungs, kidneys, and myocardium of the rats of all age groups was evidenced, but the most significant changes were present in the immature rats.

The changes in the mitochondrial system of oxidation, in particular, the decrease of succinate-dehydrogenase and cytochrome-oxidase activity, caused a decrease of ATP synthesis in the body.

Additionally, the accumulation of intermediate toxic products of neutralizing of sodium nitrite and components of tobacco smoke as well as free-radical oxidation products was accompanied by the development of inflammatory processes, as evidenced by the imbalance of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines and increase in C-reactive protein content in serum – a marker for early diagnosis of inflammation. The highest content of this index was evidenced in blood serum of the senile rats poisoned by both toxicants.

With underlying oxidative stress development caused by the influence of toxicants, the dysfunctioning of the NO-system and development of nitro-oxidative stress was evidenced, which was manifested by increased activity of inducible NO-synthase and decreased activity of its endothelial isoform. It was established that after the affection of rats by sodium nitrite with underlying tobacco intoxication, the activity of iNOS in serum progressively increased in all age groups. The activity of eNOS in blood serum of the immature rats decreased nearly equally in all stages of the study and at the end of the experiment was below the norm by 56 %.

Microscopic examination of organs revealed that structural reorganization of lungs, liver, kidneys, myocardium of the animals of all age groups was characterized by changes in vascular bed, main morphofunctional components.

The most pronounced metabolic changes with underlying nitrite-tobacco intoxication were evidenced in the immature rats that were proved by the experimental data.

The expediency of the use of mildronate, antihypoxant, and carboline, enterosorbent, in cases of nitrite-tobacco affection has been proved. A higher efficacy of mildronate, the drug of metabolic action, in cases of the revealed changes has been proved.

**Key words:** sodium nitrite, tobacco smoke, oxidative and nitro-oxidative stress, bioenergetic processes, endogenous intoxication, inflammatory and destructive processes, mildronate, carboline.