

Міністерство освіти і науки України
Львівський національний університет імені Івана Франка

**ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС У ТЕПЛОКРОВНИХ
І ХОЛОДНОКРОВНИХ ТВАРИН ЗА ДІЇ ГІСТАМІНУ
ТА ПІСЛЯ ЙОГО ОКИСНЕННЯ ГІПОХЛОРИТОМ НАТРИЮ**

Електронна монографія

Львів

2024

УДК 577.3:59

Г 20

Автори: **Н. П. Гарасим, Г. І. Коцюмбас, А. Р. Зинь, О. І. Бішко-Москалюк, Д. І. Санагурський**

Рецензенти:

член-кореспондент НАН України, д-р біол. наук, проф. *Р. С. Стойка*
(Інституту біології клітини НАН України);

д-р біол. наук, проф. *Р. В. Фафула*

(Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького);

д-р біол. наук, *О. В. Копач*

(Інститут неврології Університетського Коледжу Лондона, Велика Британія)

Рекомендовано до друку Вченою Радою

Львівського національного університету імені Івана Франка

Протокол № 58/11 від 29 листопада 2023 р.

Г 20 **Оксидативний стрес у теплокровних і холоднокровних тварин за дії гістаміну та після його окиснення гіпохлоритом натрію** : електронна монографія / [Н. П. Гарасим, Г. І. Коцюмбас, А. Р. Зинь, О. І. Бішко-Москалюк, Д. І. Санагурський]. – Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2024. – 357 с.

ISBN 978-617-8489-12-0

Електронна монографія присвячена дослідженню впливу гістаміну та гіпохлориту натрію на клітинному й організменому рівнях. Перші два розділи описують проблематику вільнорадикальних процесів у живих організмах. У третьому розділі висвітлено дослідження дії гістаміну і гіпохлориту натрію на вільнорадикальні та структурні параметри клітин різних органів щурів. У четвертому розділі монографії описано дослід на курях з метою вивчення впливу гіпохлориту натрію низьких концентрацій на прооксидантно-антиоксидантний стан різних органів. Засвідчено, що гіпохлорит натрію (5 і 10 мг/л) інтенсифікує процеси ліпопероксидації у печінці, серцевому м'язі, селезінці, нирці, сім'янику птахів, проте у легені зумовлює сповільнення.

У п'ятому розділі для детальнішого вивчення дії гіпохлориту натрію (у діапазоні концентрацій 0,5–12,5 мг/л) на клітинному рівні проведено серію експериментів на зародках в'юна.

Дане наукове дослідження дає змогу оцінити ступінь впливу гістаміну на різні органи за максимальних і мінімальних концентрацій, що має важливе значення для клітинної біології, алергології. Результати експериментів свідчать на користь обрання гіпохлориту натрію для знезараження водопровідної води, а також у медицині для дезінтоксикації організму, в якому виявлено посилені гістамін-опосередковані реакції. Відзначено перспективність подальшого планування експериментів щодо пошуку зниження гіперчутливості організму за алергічних станів, де гістамін відіграє провідну роль.

Для наукових працівників, спеціалістів у галузі біології, медицини та фармакології, аспірантів, студентів.

УДК 577.3:59

© Гарасим Н. П., Коцюмбас Г. І., Зинь А. Р., Бішко-Москалюк О. І., Санагурський Д. І., 2024

© Львівський національний університет імені Івана Франка, 2024

ISBN 978-617-8489-12-0

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	5
ВСТУП	6
Розділ 1. ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ТА МЕМБРАНОПОВ'ЯЗАНІ ПРОЦЕСИ В ОРГАНІЗМАХ ЗА ДІЇ РІЗНИХ ЧИННИКІВ	9
1.1. Вільнорадикальні процеси в організмі тварин.....	9
1.2. Стан Na^+ , K^+ -АТФ-ази, Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФази еукаріотичних організмів за дії різних чинників.....	25
1.3. Гістамін, гістамінові рецептори та гістамін-опосередковані реакції.....	32
1.4. Гіпохлорит натрію та його дія на клітини і тканини.....	43
Розділ 2. МЕТОДОЛОГІЧНІ ПІДХОДИ ДО ВИВЧЕННЯ ЗМІН МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ОРГАНІЗМІВ	51
2.1. Дослідження прооксидантного стану біологічних об'єктів.....	51
2.1.1. Вміст гідропероксидів ліпідів у біологічних зразках.....	51
2.1.2. Вміст дієнових кон'югатів у біологічних зразках.....	51
2.1.3. Вміст ТБК-позитивних продуктів у біологічних зразках.....	52
2.1.4. Вміст сіалових кислот у біологічних зразках (метод Гесса).....	53
2.1.5. Вміст карбонільних груп протеїнів у біологічних зразках.....	53
2.2. Вивчення антиоксидантної системи біологічних об'єктів.....	54
2.2.1. Супероксиддисмутазна активність.....	54
2.2.2. Каталазна активність.....	55
2.2.3. Глутатіонпероксидазна активність.....	56
2.2.4. Глутатіон-S-трансферазна активність.....	57
2.2.5. Вміст відновленого глутатіону.....	58
2.3. Дослідження активності мембранопов'язаних ензимів.....	58
2.3.1. Mg^{2+} -залежна Na^+ , K^+ -АТФазна активність.....	58
2.3.2. Mg^{2+} -залежна Ca^{2+} -АТФазна активність.....	59
2.4. Фарбування гістопрепаратів для світлової мікроскопії.....	60
2.4.1. Фарбування гістозрізів гематоксилін-еозином.....	60
2.4.2. Фарбування гістозрізів за методом Браше.....	60

2.5.	Електронно-мікроскопічне дослідження.....	61
2.6.	Біометричний аналіз експериментальних даних.....	61
2.6.1.	Кореляційний і регресійний аналіз.....	61
2.6.2.	Дисперсійний аналіз.....	63
2.6.3.	Кластерний аналіз.....	65
2.6.4.	Факторний аналіз.....	67
2.6.5.	Дискримінантний аналіз.....	67
Розділ 3. ДІЯ ГІСТАМІНУ, ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ ТА ЇХНІЙ СПІЛЬНИЙ ВПЛИВ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ, СТРУКТУРУ КЛІТИН РІЗНИХ ОРГАНІВ ЩУРІВ.....		
		69
Розділ 4. ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У КЛІТИНАХ РІЗНИХ ОРГАНІВ ПТАХІВ ЗА ВПЛИВУ ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ.....		
		160
Розділ 5. СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ЗАРОДКОВИХ КЛІТИН В'ЮНА <i>MISGURNUS FOSSILIS</i> L. УПРОДОВЖ РАНЬОГО ЕМБРІОГЕНЕЗУ ЗА ВПЛИВУ ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ.....		
		199
УЗАГАЛЬНЕННЯ.....		
		245
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....		
		253
ДОДАТОК А.....		
		288
ДОДАТОК Б.....		
		304
ДОДАТОК В.....		
		318
ДОДАТОК Г.....		
		328

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АОЗ	– антиоксидантний захист
АОС	– антиоксидантна система
АТФ	– аденозинтрифосфат
АФК	– активні форми кисню
ВГ	– відновлений глутатіон
ГП	– гідропероксидази
ГПО	– глутатіонпероксидаза
ГТ	– глутатіон-S-трансфераза
ГХН	– гіпохлорит натрію
ДК	– дієнові кон'югати
ЕДТА	– етилендіамінтетраоцтова кислота
КАТ	– каталаза
КБ нейтр. хар.	– карбонільні групи нейтрального характеру
КБ осн. хар.	– карбонільні групи основного характеру
МДА	– малоновий діальдегід
ОМП	– оксидативна модифікація протеїнів
ПОЛ	– пероксидне окиснення ліпідів
СК	– сіалові кислоти
СОД	– супероксиддисмутаза
ТБК	– тіобарбітурова кислота
ТБК-ПП	– ТБК-позитивні продукти
ТЕМЕД	– N,N,N,N-тетраметилетилендіамін
ТХО	– трихлороцтова кислота
ССС	– металошаперон
GSH	– глутатіон відновлений
GSSG	– глутатіон окиснений
H ₂ O ₂	– пероксид водню
НОСІ	– гіпохлоритна кислота
NaOCl	– гіпохлорит натрію
OCl ⁻	– гіпохлорит-аніон
O ₂ ^{·-}	– супероксид-аніон радикал

ВСТУП

Оксидативний стрес проявляється у стійкому зсуві балансу про- й антиоксидантних процесів і зумовлює цитотоксичну дію. Він призводить до пошкодження найважливіших біополімерів клітини, в першу чергу, нуклеїнових кислот, протеїнів, ліпідів. Високі концентрації активних форм кисню та гідропероксидів ліпідів викликають пошкодження структури ДНК, впливають на поділ клітин і можуть індукувати апоптоз [209, 242, 314, 322]. Дія регуляторів оксидативного стресу здійснюється через специфічні рецептори клітинної мембрани, які, таким чином, є однією з найважливіших молекулярних систем, що забезпечують життєдіяльність клітин. За різних умов функціонування клітини кількість рецепторів може змінюватись, але їхня структура залишається стабільною. Мембранні рецептори є переважно глікопротеїнами, які можуть утворювати надмолекулярні комплекси, що відіграють ключову роль у механізмах міграції клітин, їхньої адгезії, проліферації й апоптозу.

За різних патологічних станів можливі зміни кількості та якісних характеристик поверхневих глікокон'югатів клітин [232, 282]. Біологічні мембрани проявляють високу чутливість до активації пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), яке швидко і суттєво змінює їхні властивості. Накопичення гідروفільних угруповань у гідрофобному шарі плазматичної мембрани сприяє утворенню в її структурі своєрідних пор і порушує мембранний транспорт, у тому числі селективний. Пошкодження мембраноасоційованих ензимів з інгібуванням їхньої активності та зміна властивостей мембранних протеїнів-переносників є важливим механізмом патологічного ефекту ПОЛ [232].

Гістамін – це біогенний амін, який утворюється під час декарбоксілювання амінокислоти гістидину і бере участь у регуляції багатьох фізіологічних процесів. Гістамін, що вивільняється з тканинних базофілів, базофілів крові, зв'язується з рецепторами – H1, H2, H3 і H4, які містяться на поверхні клітин. Взаємодія гістаміну з рецепторами зумовлює активацію аденілатциклази, а згодом протеїнкінази А. Унаслідок цього відбуваються ініціація біологічних процесів за допомогою H2 рецепторів і гальмування – за допомогою H3 і H4 рецепторів. Під час взаємодії з H1 рецептором гістамін активує фосфоліпазу С, протеїнкіназу С, що стимулює різні біологічні процеси [54, 85, 99, 132, 155, 157].

Організм може також зазнавати негативного впливу гістаміну, зокрема, за алергічних захворювань. Вільний гістамін спричиняє головний біль, нежить, гіперемію шкіри, діарею, тахікардію чи аритмію, спазм гладеньких м'язів бронхів та інші дії [321].

За алергічних станів також порушується інтенсивність ПОЛ, відбувається пригнічення метаболізму продуктів арахідонової кислоти, синтез цитокінів та інші процеси. Дисрегуляція метаболічних процесів за

алергії підвищує енерговитрати організму, викликає зниження активності ензимів дихального ланцюга мітохондрій, зумовлює дефіцит АТФ, що призводить до зміни властивості мембранних структур, зокрема, транспортних АТФаз.

У парієтальних клітинах шлунку гістамін активує H₂ рецептори, що супроводжується збільшенням кількості внутрішньоклітинного цАМФ і, відповідно, веде до зростання активності H⁺, K⁺-АТФази [1], безпосередньо через активацію протеїнкінази А. Таким чином, фосфорилування протеїнів є необхідною умовою здійснення секреторних функцій.

Гіпохлорит натрію (ГХН), який отримують електрохімічним методом, використовують у медицині як дезінтоксикант. У першу чергу, цю речовину вживають для знезараження водопровідної води [76]. За молекулярним механізмом ГХН діє подібно до цитохрому Р-450 печінки, знешкоджуючи різні шкідливі для організму сполуки та проявляючи дезінфікуючий і детоксуючий ефекти. Суттєвою перевагою ГХН як переносника активного кисню є те, що він дає змогу подолати ефект «білкового захисту» шкідливих метаболітів. Гіпохлорит натрію (NaOCl) постійно наявний в організмі як один із важливих компонентів природних факторів дезінтеграції інфекційного чинника в лейкоцитах [239]. Потрапляючи у кров'яне русло, NaOCl окиснює токсини та різні метаболіти. Поряд із тим, залишаються невідомими механізми дії ГХН на клітини і тканини здорового організму, тому вивчення впливу даного чинника на прооксидантно-антиоксидантний стан зародкових клітин, клітин печінки, нирки, серця, селезінки й інших органів є актуальною проблемою.

Відомо, що гістамін є нестабільною речовиною і легко окиснюється, зокрема, за дії ГХН, який знижує вміст гістаміну в крові людини за важких отруєнь психотропними речовинами [111]. Аналіз наукової літератури не виявив інформації про безпосередній вплив гістаміну на прооксидантно-антиоксидантний стан клітин різних органів із залученням специфічних рецепторів гістаміну на клітинах. Не досліджено вплив гістаміну на еритроцити крові. Не вивчено спільної дії гістаміну і гіпохлориту натрію на вільнорадикальні процеси в організмі. Оскільки ГХН може потрапляти в організм як дезінтоксикант і з кожним роком зростає кількість людей із гістамін-опосередкованими проявами, то важливо вивчати незалежну дію цих двох речовин і їхній поєднаний вплив на морфофункціональний стан організму. Дослідження в цьому напрямі актуальні як у теоретичному, так і в науково-практичному аспектах. Такі експерименти також розширюватимуть уявлення про біохімічний стан організму за надмірного вивільнення гістаміну, екзогенного введення ГХН та за їхньої поєднаної дії залежно від переважаючої наявності H₁, H₂, H₃ чи H₄ рецепторів на

плазматичних мембранах клітин різних органів та від стійкості тканин до оксидативного стресу.

Ці процеси доцільно вивчати на різних об'єктах, наприклад, у щурів і птахів, щоб мати можливість порівняти особливості їхнього перебігу у теплокровних і холоднокровних тварин (костистої риби в'юна). Оскільки вплив гістаміну, ГХН та їхнього поєднання на репродуктивні процеси, зокрема, на ембріональний розвиток, не вивчені, то доцільно запропонувати зручну експериментальну модель для проведення такого дослідження, що й було зроблено в нашій монографії. Попередній досвід роботи нашої кафедри (кафедри біофізики та біоінформатики ЛНУ імені Івана Франка) [11, 194, 387, 388, 407, 408] із зародками холоднокрової костистої риби в'юна (*Misgurnus fossilis L.*) дав змогу провести серію досліджень на зародкових клітинах в'юна, починаючи від запліднених яйцеклітин і продовжуючи спостереження за бластомерами на різних стадіях розвитку (2, 16, 64, 256, 1024 бластомери), вивчити реакцію різних органів зародка в'юна на дію гістаміну і/чи ГХН, а також на особливості метаболічних процесів у зародкових клітинах.

Перед нами постали завдання:

- з'ясувати роль гістаміну в розвитку оксидативного стресу у тканинах теплокровних (щури і кури);
- визначити вплив ГХН на розвиток оксидативного стресу за дії гістаміну в різних тканинах цих тварин;
- порівняти особливості дії гістаміну і/чи ГХН на морфофункціональні показники і метаболічні процеси в організмах теплокровних (щури та кури) й холоднокровних (зародки костистої риби в'юна) тварин.

Розділ 1.

ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ТА МЕМБРАНОПОВ'ЯЗАНІ ПРОЦЕСИ В ОРГАНІЗМАХ ЗА ДІЇ РІЗНИХ ЧИННИКІВ

1.1. Вільнорадикальні процеси в організмі тварин

Одним із актуальних питань сучасної біохімії є дослідження процесів ПОЛ і вплив деяких чинників на їхню інтенсивність [47, 77]. Пероксидне вільнорадикальне окиснення ліпідів, яке відбувається в організмі, є життєво важливою ланкою в регуляції ліпідного складу біомембран і мембраноасоційованих ензимів, бере участь у регуляції проникності й у транспорті речовин крізь мембрану, у синтезі простагландинів, лейкотрієнів, тромбоксанів, простагландинів, стероїдних гормонів, метаболізм катехоламінів. За фізіологічних умов рівень ПОЛ підтримується завдяки рівновазі про- й антиоксидантів, а вони, у свою чергу, є важливими складовими гомеостазу організму. Активація ПОЛ викликає значні зміни у клітинному обміні та функціонуванні біомембран, вона є важливою ланкою патогенезу багатьох захворювань [195, 283, 376]. ПОЛ є первинною реакцією у ланцюзі фізико-хімічних перетворень, які призводять до деструкції ліпопротеїдного комплексу мембран і порушують їхні транспортні функції, а також пригнічують процеси генерації енергії, що, зрештою, знижують життєдіяльність клітин. Водночас ці реакції є найбільш значними в адаптаційному процесі та в репарації функціональних структур, ліпопротеїдних мембран. Зростання потужності й буферної ємності редокс-системи, а також підвищення ефективності ферментативного, неферментативного антиоксидантного захисту та тонка регламентація реакцій ПОЛ у мембранних структурах відбувається за рахунок функціонування механізмів контролю за вмістом активних кисневих радикалів, ліпідних пероксидів і каталізаторів пероксидазних реакцій. Індукція ПОЛ відбувається під час найрізноманітніших порушень функцій організму, за умов патології та стресу [178, 201]. Утворені пероксиди ліпідів розчиняються у рідині краще, ніж поліненасичені жирні кислоти, тому вони легше вимиваються з мембран, що сприяє самооновленню мембранних структур. Це створює сприятливі умови для функціонування ензиматичних об'єктів у мембрані. Накопичення активних форм кисню може порушити рідкокристалічну структуру ліпопротеїдів мембран і призвести до таких негативних наслідків: зниження щільності біологічних мембран, їхнє руйнування; набрякання та руйнування мітохондрій; структурно-функціональні зміни ензиматичних систем дихання; окиснення сульфгідрильних груп глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази та ін.; послаблення синтезу АТФ; дезорганізація транспортних механізмів переносу іонів і різноманітних метаболітів між цитозолем, мітохондріями та рибосомами;

гальмування процесів синтезу протеїнів, нуклеїнових кислот; розрив клітинних лізосом і вихід гідролітичних ензимів; руйнування мембран еритроцитів, послаблення процесів дихання, розвиток гемолізу; накопичення, внаслідок порушення окисно-відновних процесів, продуктів проміжного обміну, в тому числі молочної кислоти, окси-, кетокислот, і розвиток ацидозу, інактивація глутатіону та ліпоєвої кислоти [72, 299].

У разі зростання інтенсивності процесів ПОЛ в організмі активуються ензими антиоксидантної системи (АОС). АОС захисту організму контролює і гальмує усі етапи вільнорадикальних реакцій, починаючи від їхньої ініціації та закінчуючи утворенням продуктів ліпопероксидації. Основний механізм контролю цих реакцій пов'язаний із ланцюгом оборотних окисно-відновних реакцій іонів металів, глутатіону, аскорбату, токоферолу й інших речовин, значення яких особливо важливе для збереження довгоіснуючих макромолекул нуклеїнових кислот і протеїнів, деяких складових мембран. Не випадково рівень активності АОС захисту організму досягає максимальних значень до початку S-фази, коли ДНК деспіралізується і стає особливо вразливою до продуктів вільнорадикального пероксидного окиснення. Тривалість життя макромолекул у клітині часто визначається саме їхньою стійкістю до атаки вільнорадикальних продуктів. Під час реплікації ядерної ДНК, коли спостерігається деспіралізація її вторинної структури, вона особливо чутлива до пошкоджень різного генезу, у першу чергу, вільнорадикального [349]. Особливо це стосується клітин тканин, які перебувають у стадії активного поділу: клітин імунної системи; тканин, що регенерують; слизової оболонки тонкого кишечника.

Однією із причин пошкодження клітинних мембран є надмірна активація вільнорадикального окиснення (рис. 1.1). Порушення окисного гомеостазу характеризується підвищенням вмісту продуктів ПОЛ на фоні зниження функціональних можливостей антиоксидантної системи. Пероксиди, радикали ненасичених жирних кислот пошкоджують мембрану гепатоцитів та інших клітин. Це викликає появу додаткових каналів у мембрані, через які здійснюється обмін електролітами і водою з міжклітинною рідиною. Пошкодження мембрани ускладнює доступ субстрату до ензимів, локалізованих у мембрані, а також порушує регуляцію внутрішньоклітинного обміну, що може призвести до роз'єднання фосфорилування і загибелі клітини [14, 104, 347]. За дії активних форм кисню відбувається також експресія редокс-чутливих генів, більшість із яких необхідні для захисту клітини від токсичних ефектів, зокрема, експресія генів каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази. Відомо, що ензими супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза і каталаза визначають стійкість гепатоцитів до дії вільних радикалів у різних зонах печінки.

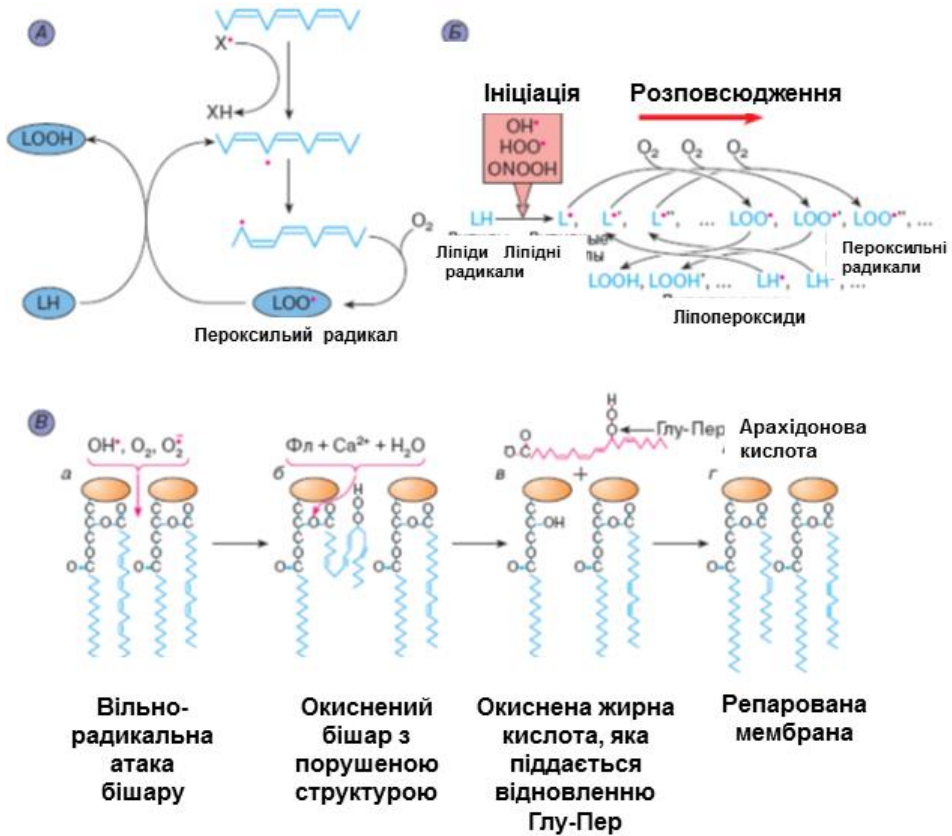


Рис. 1.1. Вільнорадикальна активація процесів пероксидного окиснення ліпідів. Радикал X^\cdot атакує ненасичені зв'язки жирних кислот, зумовлюючи утворення ліпідних радикалів (А). Процес ПОЛ, ініційований цими радикалами, здійснюється як ланцюгова реакція, що веде до накопичення різних ліпопероксидів (Б). Останні викликають порушення упаковки мембрани і проникнення в ділянки мембранних дефектів молекул води та гідрофільних сполук, у тому числі й іонів Ca^{2+} (В). Кальцій активує фосфоліпазу (Фл), яка розриває дефектну молекулу ліпіда. Найлегше окиснюються фосфоліпіди, які містять поліненасичену арахідонову кислоту. Вивільнення арахідонової кислоти дає змогу використовувати її для утворення біологічно активних сполук. У подальшому ензим глутатіонпероксидаза (Глу-Пер) забезпечує репарацію мембрани [12]

Відомо, що підвищення процесів ПОЛ виникає внаслідок тривалого впливу екстремальних чинників. Вільні радикали виступають фактором окиснювальної модифікації багатьох клітинних структур. Вони окиснюють молекули протеїнів і ліпідів, атакують мембранні ліпіди, які містять ненасичені подвійні зв'язки. Вільні радикали є нестабільними частинками з непарним числом електронів на зовнішній орбіталі, вони

містять активований кисень, що вступає у реакцію з ліпідами мембрани клітини, в результаті якої відбувається її руйнування, порушується проникність, звільняється надлишкова енергія, а це, у свою чергу, веде до руйнування всієї клітини [280, 345].

Вільні радикали утворюються за дії несприятливих факторів навколишнього середовища (забруднена атмосфера, тютюновий дим, гіпоксія у осіб із захворюваннями легеневої системи; радіація, хімічні сполуки, які потрапляють в організм із їжею). Такі молекули прагнуть забрати електрон у інших повноцінних молекул, унаслідок чого постраждала молекула сама стає вільним радикалом, і, таким чином, розвивається руйнівна ланцюгова реакція. У відповідь на дію вільних радикалів в організмі активується система антиоксидантного захисту (АОЗ), до якої належать ензими, такі як: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), глутатіонпероксидаза (ГПО), глутатіонредуктаза, що сповільнюють або припиняють процеси окиснення [207, 212, 310, 330, 375]. Основна їхня функція полягає у нейтралізації супероксиданіон-радикала ($O_2^{\cdot-}$) і H_2O_2 , які утворюються, наприклад, у результаті «витоку» неспареного електрона з мітохондріального ланцюга переносу електронів. СОД дисмутує $O_2^{\cdot-}$ до пероксиду водню, який відновлюється КАТ до води та молекулярного кисню або ГПО до води [16].

Вільний радикал є атомом або молекулою з єдиним непарним електроном, наприклад: оксид азоту (NO^{\cdot}), супероксид-аніон радикал ($O_2^{\cdot-}$), гідроксильний радикал (OH^{\cdot}), ліпопероксидний радикал (LOO^{\cdot}). Хоча молекулярний кисень (O_2) має два непарних електрони у двох різних орбіталях, він не є вільним радикалом. Проте молекулярний кисень здатний найшвидше реагувати з більшістю радикалів, утворюючи інші вільні радикали, які є більш реакційноздатними і зумовлюють селективне окиснення молекул ліпідів, протеїнів або ДНК [7, 352]. Кисень, чи молекулярний кисень, є життєво необхідним для виживання всіх аеробних організмів. Під час аеробного обміну в нормальних клітинах 30–32 молекули АТФ генеруються з однієї молекули кисню. Під час цього процесу кисень відновлюється до води (4-електронне відновлення) (рис. 1.2) [7].

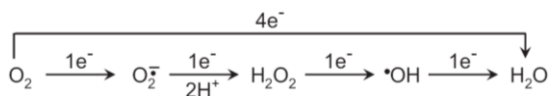


Рис. 1.2. Послідовне відновлення кисню до води [7]

Кисень є важливим кофактором у біологічному окисненні і метаболізмі лікарських препаратів, які каталізуються монооксигеназами або у поєднанні з функціональними оксидазами (цитохром Р-450) [7].

В ідеалі клітини мають використовувати кисень для отримання АТФ і води без утворення токсичних продуктів або активного кисню. Проте

пошкодження мітохондрій у патофізіологічних умовах або під час дисфункції мітохондрій порушує електронно-транспортний механізм у мітохондріальному дихальному ланцюзі. Це шлях утворення активних форм кисню (наприклад, супероксид-аніон радикал) під час одноелектронного відновлення кисню. На рис. 1.3 показано молекулярні орбітальні діаграми кисню, супероксиду, діоксиду пероксиду та синглетного кисню. З молекулярної орбітальної діаграми видно, що не всі активні форми кисню є вільними радикалами [7].

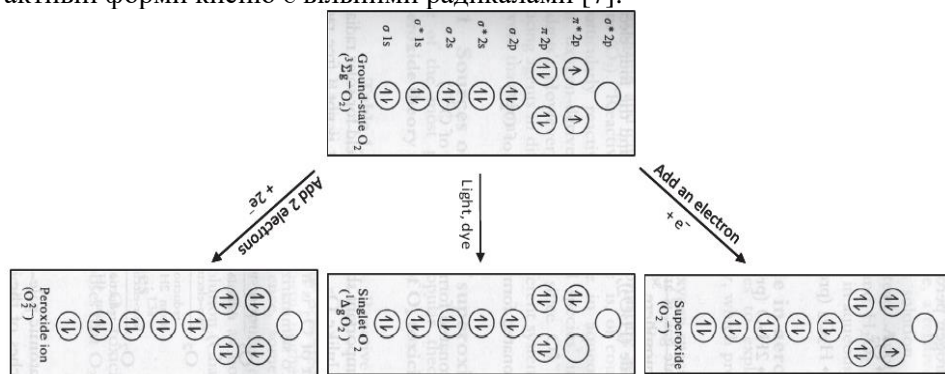


Рис. 1.3. Молекулярне орбітальне зображення кисню і його активних форм [7]

Молекулярний кисень в основному стані (³Σ_g) – це бірадикал, два неспарених електрони якого з паралельними спінами розташовуються на рихлих молекулярних π*-орбіталях. Це робить його відносно інертною молекулою, оскільки за законом збереження спіна в електромагнітних взаємодіях, які лежать в основі хімічних реакцій, результатом реакції O₂ з речовинами, що мають заповнені орбіталі, має утворитися бірадикал, а для перебігу такої реакції необхідна висока енергія активації. Іншою причиною, яка обмежує реакційну здатність молекулярного кисню, є структура зв'язку O=O, завдяки якій 4-електронне відновлення O₂ до двох молекул води супроводжується вивільненням 150 ккал/моль енергії, в той час як приєднання одного електрона до O₂ з утворенням O₂⁻ є ендотермічним процесом і потребує затрати 33 ккал/моль енергії. На відміну від сполук із заповненими орбіталями, молекулярний кисень активно взаємодіє з органічними радикалами, що мають неспарений електрон, при цьому константа швидкості приєднання O₂ до радикалів слабо залежить від природи субстрату і визначається переважно дифузійною, наближаючись до 10⁹ М⁻¹с⁻¹.

Супероксид-аніон радикал утворюється або НАДФН-оксидазним комплексом цитоплазматичної мембрани, або мембран ендоплазматичного ретикулуму, або дихальним ланцюгом внутрішньої мембрани мітохондрій [84, 212]. У біологічних системах він існує кілька секунд. Супероксид-

аніон радикал швидко реагує з іншою молекулою супероксиду (реакція самодисмутації) з утворенням пероксиду водню. Однією з важливих реакцій є підконтрольна дифузії взаємодія між супероксидом і оксидом азоту (радикально-радикальна реакція). При цьому утворюється потужний окиснювач і дуже реактивний пероксинітрил (період напіврозпаду визначається секундами). Пероксид водню відносно стабільний (період напіврозпаду – місяці) і захищає від легких металів. Проте H_2O_2 швидко руйнується антиоксидантними ферментами (каталазою, глутатіонпероксидазою). Синглетний кисень швидко реагує з гістидином і цистеїновими групами, які є у протеїнах, ненасичених ліпідах та деяких нуклеїнових кислотах. Як правило, він має період напіврозпаду 10 мкс [7, 342].

Пероксид водню утворюється у реакціях за участю флавозалізопротеїдів, оксидаз, які містять мідь, а також ферментів, що містять молібден (ксантиндегідрогеназа, ксантиноксидаза, альдегідоксидаза). До дегідрогеназ, за участю яких відбувається перенесення водню на молекулярний кисень з утворенням H_2O_2 , належать моноаміно-, діаміно-, гліцин-глікольоксидази. Дія ферментів групи монооксигеназ, у даному випадку флавопротеїдних, має послідовні стадії, в яких відновник перетворює флавін на дигідроформу, що відновлює O_2 до H_2O_2 , а далі цей комплекс гідроксилує субстрат. До групи монооксигеназ належать ферменти цитохрому Р-450. У мембранах ендоплазматичного ретикулуму клітин печінки відбувається оксигенування різних продуктів метаболізму, чужорідних агентів. Проміжним продуктом цих реакцій є супероксидний радикал. Він утворюється у процесі реакцій, каталізованих діоксигеназами. Утворення $O_2^{\cdot-}$ та H_2O_2 відбувається під час самовільного окиснення гемоглобіну, ферредоксинів, відновлених цитохромгідроксінонів, тетрагідроптеритинів, адреналіну. Утворення активних форм кисню каталізують іони заліза. Активні форми кисню постійно утворюються під час взаємодії O_2 з флавіновими коферментами [299].

Поняття «вільні радикали» й «активні кисневі метаболіти» не збігаються – неспарений електрон може бути локалізований на атомах вуглецю, сірки, азоту. Тому для об'єднання сполук в одну групу з радикалами введено поняття «активні форми кисню» (рис. 1.4).

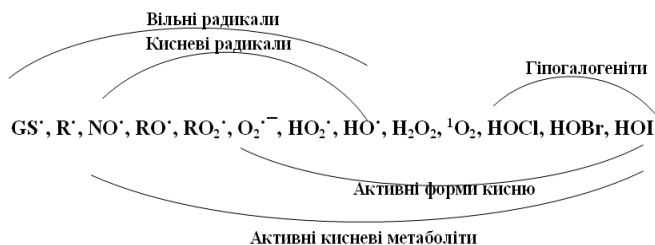


Рис. 1.4. Активні кисневі метаболіти, активні форми кисню та радикали

Важливою для імунології активною формою кисню є гіпохлоритна кислота (HOCl). HOCl утворюється під час мієлопероксидазної реакції (H₂O₂-залежного окиснення аніона хлору). HOCl більш реакційноздатний, ніж H₂O₂, але значно менш реактивний, ніж гідроксильний радикал. На рис. 1.5 зображено реакції, ініційовані активними формами кисню й азоту [7].

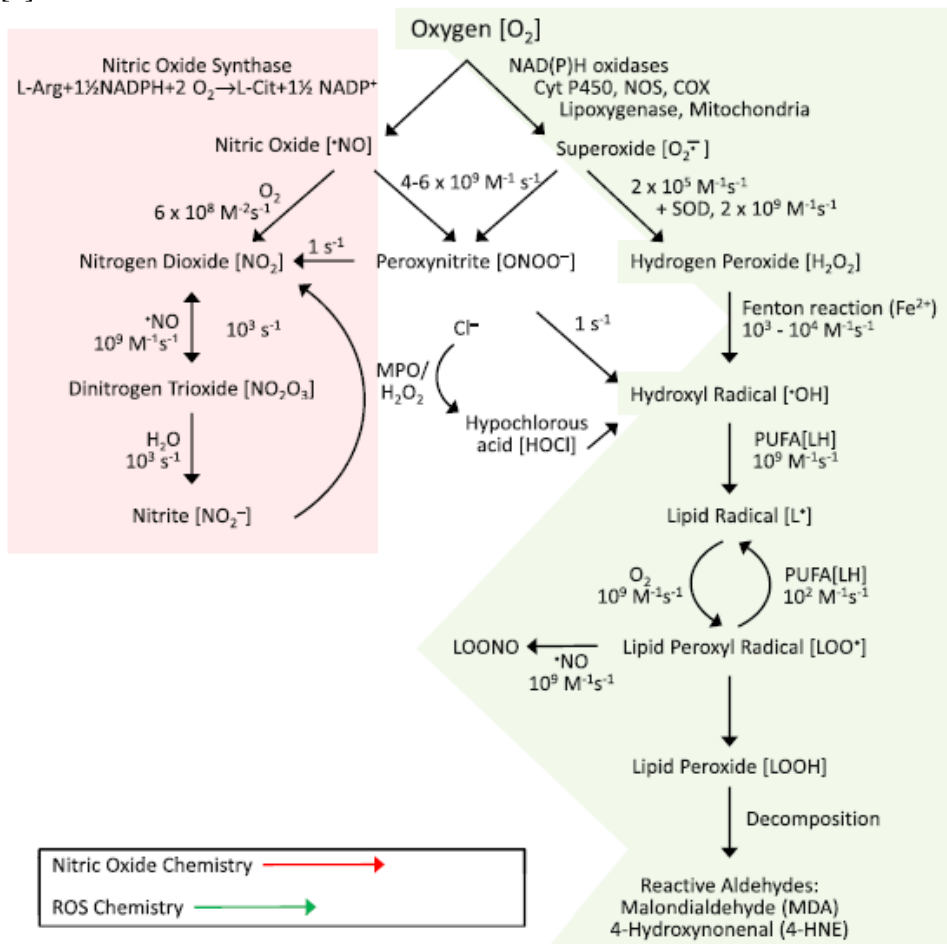
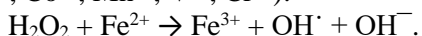


Рис. 1.5. Реактивні форми кисню й азоту: генерація та реакції [7]

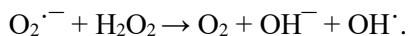
Гіпохлоритна кислота перебуває в рівновазі з іоном ОСІ⁻ (HOCl → H⁺ + ОСІ⁻; pK_a 7,53). Гіпогалогеніти є важливим компонентом мікробіцидного потенціалу поліморфноядерних лейкоцитів. На утворення HOCl витрачається 28 % використаного активованими нейтрофілами кисню і до 70 % H₂O₂. При цьому концентрація HOCl у вогнищі запалення може перевищувати 100 мкМ. Оскільки мієлопероксидаза має хорошу розчинність у ліпідній фазі мембран, під час вивільнення у процесі

грануляції вона концентрується на границі розділення фаз і бере участь у створенні мікробіцидного потенціалу слизових поверхонь тіла людини, кристалика ока. Гіпогалогеніти є потужними токсинами, надзвичайно реакційно здатними. Вони взаємодіють з мішенню або галогенуючи її (галогенід-аніон ковалентно зв'язується з мішенню), або окиснюючи. Під час взаємодії з гіпогалогенітами, в першу чергу, окиснюються сульфгідрильні й тіоєфірні групи протеїнів, тому наявність у середовищі молекул, які містять дані групи (глутатіон, альбумін, 2-нітро-5-тіобензойна кислота), суттєво знижує цитотоксичну і деструктивну дію як самих гіпогалогенітів, так і активованих гранулоцитів. Так, основним сироватковим інгібітором гіпогалогенітів є альбумін. HOCl може взаємодіяти з біологічними амінами, продукуючи хлораміни: $\text{HOCl} + \text{RNH}_2 \rightarrow \text{RNHCl} + \text{H}_2\text{O}$. Деякі з них неактивні (наприклад, таурин), в той час як інші (наприклад, хлорамін NH_2Cl) мають значно більший деструктивний потенціал, ніж HOCl.

Гідроксильний радикал OH^\cdot є найбільш реакційним і шкідливим з усіх активних форм кисню. Його утворення часто пов'язують із цитотоксичною і мутагенною дією активних кисневих метаболітів в умовах оксидативного стресу. OH^\cdot -радикал може розривати C–H- чи C–C-зв'язки, при цьому швидкість його взаємодії з більшістю органічних сполук досягає значень, що дорівнюють швидкості дифузії. У результаті цього тривалість життя OH^\cdot у біологічних субстратах становить від $2 \cdot 10^{-9}$ до $8 \cdot 10^{-9}$ с. Утворення OH^\cdot -радикала відбувається в реакціях окиснення арахідонової кислоти, за мікосомального окиснення, у реакціях із флавіновими ензимами, убіхіноном і пероксинітридом, за взаємодії гіпохлориту з іонами заліза, проте основним джерелом OH^\cdot -радикалів у більшості біологічних систем є реакція Фентона за участю металів змінної валентності (Fe^{2+} , Cu^+ , Co^{2+} , Mn^{2+} , V^{2+} , Cr^{4+}):



За наявності в середовищі $\text{O}_2^{\cdot-}$ і H_2O_2 може відбуватися реакція Габера-Вейса:



Відомо, що підвищення вмісту продуктів ліпопероксидації слугує маркером пошкодження клітин організму [176]. Дослідження активності ензимів АОС клітин відображає міру знешкодження вільних радикалів, які ініціюють вільнорадикальні процеси, та первинних продуктів ПОЛ. У біологічній системі зростання вільнорадикальних реакцій можуть зумовлювати не лише радикали ендogenousного походження, але і речовини, які надходять в організм. За дії цих сполук відбувається інтенсифікація процесів ліпопероксидації, в ланцюзі реакцій яких вивільнюються вільні радикали. На ці радикали реагують ензими АОС [27].

Важливу функцію в патогенезі запальних процесів (де провідну роль виконує гістамін) відіграють порушення роботи факторів АОЗ організму,

інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення ліпідів. Усі клітинні структури чутливі до дії вільних радикалів, що призводить до некрозу клітин.

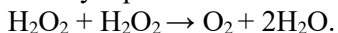
До системи АОЗ належать високомолекулярні (ферментні) та низькомолекулярні (неферментні) антиоксиданти. До низькомолекулярних належить відновлений глутатіон, вітаміни Е, С, А, каротиноїди [92, 396], а до високомолекулярних – СОД, КАТ, ГПО, глутатіонредуктаза, глутатіонтрансфераза (ГТ) та ін. [178, 402].

СОД (КФ 1.15.1.1; супероксид: супероксид-оксидоредуктаза) є важливим ферментом антиоксидантного захисту, який перетворює супероксидні радикали на пероксид водню, який є менш активним і розкладається за участю інших ферментів. Показано, що клітина швидко реагує на оксидативний стрес підвищенням активності СОД і синтезом глутатіону. СОД розглядають як стрес-протеїн, який синтезується у відповідь на оксидативний стрес. Є декілька форм СОД: у цитозолі – Cu і Zn-залежна СОД, у мітохондріях – Mn-залежна СОД, у бактерій – Fe-залежна СОД. У печінці щурів і людини є Mn-вмісна СОД. Цей фермент прискорює руйнування супероксид-аніон радикала на 4 порядки. СОД – фермент, стійкий у діапазоні від -20 до $+80$ °C, його повна інактивація досягається за 130 °C, а кип'ятіння протягом 30 хв знижує активність на 70 %. Фермент складається з двох субодиниць із загальною молекулярною масою 32 кДа та містить по одному атому Cu і Zn. Поверхня ферменту несе негативний заряд, проте в будові молекули є позитивно заряджені канали, які ведуть до активних центрів і слугують для захоплення негативно заряджених молекул $O_2^{\cdot-}$. У результаті вибіркового захоплення іонів $O_2^{\cdot-}$ значно підвищується швидкість реакції дисмутації. Під час синтезу ферменту утворюється апопротеїн, до якого додаються ще іони Cu і Zn. Процес доставки Cu і Zn в фермент відбувається спеціальними допоміжними протеїнами, які належать до родини шаперонів (металошаперонів CCS). Головна їхня функція – це пряме введення металу-кофактора в фермент-мішень, у результаті чого останній переходить із неактивного стану в активний.

Перетворення апо-СОД1 на активний голофермент: невідомим на сьогодні чином відбувається введення в молекулу атомів цинку; в результаті утворення тимчасового гетеродимера (чи гетеромультимера) між апо-СОД1 і CCS фермент отримує атоми міді. Важливим етапом є окиснення залишків цистеїну в положенні 57 і 146 з утворенням внутрішньомолекулярного дисульфідного зв'язку. Цей зв'язок виникає або в результаті відновлення глутатіондисульфїду (GSSG), або за участю CCS. Повністю активований фермент не проникає крізь мітохондріальну мембрану. Апо-Cu, Zn-СОД проникає крізь мітохондріальну мембрану і вже у міжмембранному просторі мітохондрій зазнає посттрансляційної модифікації, аналогічної тій, яка відбувається в цитоплазмі клітини

(введення атомів цинку та міді й утворення внутрішньосубодиничного дисульфідного зв'язку). Отже, CCS здатний прямо впливати на розподіл Cu, Zn-СОД між цитозольним і мітохондріальним пулами.

Каталаза (КФ 1.11.1.6; пероксид-водню:пероксид-водню-оксидоредуктаза) – це гемопротейн, який каталізує реакцію розкладання пероксиду водню на воду і молекулярний кисень:

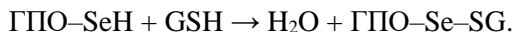
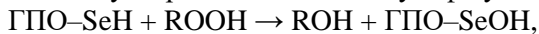


Біологічна роль каталази полягає в деградації пероксиду водню, що утворюється в клітинах у результаті дисмутації супероксиду, і в забезпеченні ефективного захисту клітинних структур від руйнування під дією пероксиду водню. Каталаза є високоефективним ензимом, що не потребує енергії для активації. Молекула каталази складається з 4-х субодиниць, кожна з яких містить гем, що входить до складу активного центру. До активного центру веде вузький канал, який запобігає проникненню більших молекул, ніж H_2O_2 . Каталаза переважно локалізована в пероксисомах, позаклітинно вона існує в незначних концентраціях. У людини найбільша кількість каталази міститься у печінці, в еритроцитах і легенях [317, 384, 395].

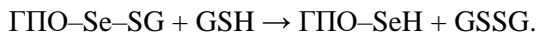
ГПО (КФ 1.11.1.9; глутатіон:пероксид-водню-оксидоредуктаза). Є сім ізоформ ензиму. ГПО1 є класичною ізоформою. Це тетрамер, який складається з чотирьох ідентичних сферичних субодиниць. ГПО є гідрофільною, що утруднює її проникнення крізь ліпідний бішар мембран. Тому основна частина ензиму (~ 70 %) зосереджена в цитозолі, а решта (~ 20–30 %) – у мітохондріях усіх клітин ссавців. Кожна субодиниця містить по одному атому селену, який входить до складу селеноцистеїнових залишків. На тетрамері є два активних GSH-зв'язуючих центри. За недостачі селену в раціоні харчування знижується рівень ГПО, що ослаблює стійкість організмів до окиснювального стресу та може призвести до розвитку вільнорадикальної патології, аналогічної авітамінозу Е (руйнуванням еритроцитів, некрозом і ожирінням печінки). Усі ГПО каталізують реакцію відновлення глутатіоном органічних гідропероксидів, включаючи гідропероксиди поліненасичених жирних кислот, у стабільні сполуки – оксикислоти:



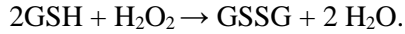
У результаті взаємодії з гідропероксидом ROOH селеноцистеїновий залишок ензиму переходить зі селенової у селенонову кислоту, з якою потім зв'язується GSH з утворенням селененілсульфіду:



Прореагувавши з другою молекулою глутатіону, ГПО повертається у вихідний стан:

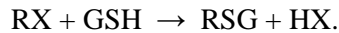
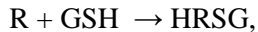
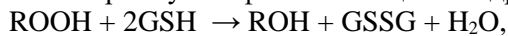


Подібно до каталази, ГПО здатна також утилізувати H_2O_2 :



Селеновмісні ГПО проявляють пероксинітритредуктазну активність, відновлюючи ONOO^- до нітрит аніона NO_2^- і цим запобігають небезпечним реакціям окиснення та нітрування, в які активно вступає пероксинітрит. Взаємодіючи з ONOO^- , ензим окислюється до селенової кислоти і потім відновлюється до вихідного стану двома молекулами глутатіону; швидкість реакції становить $8 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ [326].

Глутатіонтрансфераза (КФ 2.5.1.18; RX:глутатіон-R-трансфераза) здійснює пряму регенерацію ліпопероксидів у мембранах без попереднього фосфоліпазного гідролізу, знижуючи наслідки окисдативного стресу і ендогенної інтоксикації. Кон'югація з глутатіоном токсичних продуктів ПОЛ і окисдавної модифікації протеїнів сприяє їхньому виведенню з організму [266, 360, 384]. Ензими, які мають глутатіонтрансферазну активність, належать до трьох основних родин (I, II – цитозольні та мітохондріальні ГТ, належать до водорозчинних білків; III – мікосомальні, ліпофільні). У ссавців ГТ представлена, переважно, цитозольною родиною. ГТ – це гомодимерні та гетеродимерні протеїни, які складаються зі субодиниць з $\text{Mg} \sim 26 \text{ кДа}$. У кожен субодиницю входять 2 домени і менший N-кінцевий містить ділянку зв'язування для глутатіону (G-сайт), а більший – кінцевий домен зв'язується з косубстратом у гідрофобній порожнині (H-сайт). Основна функція ГТ – це захист клітин від ксенобіотиків і продуктів ПОЛ через їхнє відновлення, глутатіонілювання або через нуклеофільне заміщення гідрофобних груп:



ГТ не взаємодіють з H_2O_2 , але відновлюють гідрофобні гідропероксиди з великим об'ємом молекули: гідропероксиди поліненасичених жирних кислот (лінолевої і арахідонової), фосфоліпідів, а також гідропероксиди мононуклеотидів і ДНК. Завдяки цьому ГТ беруть участь у їхній репарації.

ГТ, подібно до мономерної ГПО, здатні відновлювати гідропероксильні групи окиснених фосфоліпідів безпосередньо у мембранах без їхнього попереднього фосфоліпазного гідролізу. Продукти фосфоліпазного гідролізу (вільні жирні кислоти) інгібують ГТ, тоді як ГПО, навпаки, абсолютно резистентна до дії вільних жирних кислот.

Відомо, що основною функцією еритроцитів є доставка кисню, оксиду азоту до периферії, а вуглекислого газу в легені. Одночасно ці клітини виконують функції циркулюючого інактиватора (поглинач) продуктів окиснювального та нітрозильного стресу. В еритроцитах є високий рівень сполук, які належать до антиоксидантної системи захисту: відновленого глутатіону, тіоредоксину, вітамінів С і Е,

супероксиддисмутази, тіоредоксинредуктази, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, оксидоредуктази плазматичних мембран, метгемоглобінредуктази [161, 197]. Глутатіонова антиоксидантна система, яка включає глутатіонпероксидазу, глутатіонтрансферазу, глутатіонредуктазу, відновлений глутатіон перешкоджає накопиченню токсичних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, відіграє важливу роль у детоксикації, деградації та виведенні з організму чужорідних органічних субстанцій [213]. Глутатіонпероксидаза знешкоджує і пероксид водню, який також перехоплює каталаза.

У клітині 90 % відновленого глутатіону (GSH) міститься в цитозолі, 10 % – у мітохондріях (еквівалентно 10–12 мМ з урахуванням об'єму мітохондрій) і невеликий відсоток – в ендоплазматичному ретикулумі та ядрі. Період напіввиведення цитозольного GSH становить 2–3 год, у той час як мітохондріального GSH – 30 год. У більшості глутатіон GSH перебуває переважно ($\approx 99\%$) у відновленій формі, за винятком ендоплазматичного ретикулуму, де, в основному, є окислена форма GSSG. Зрушення в цьому балансі є показником клітинного оксидативного стресу [381, 396]. Редокс-потенціал глутатіону у клітинах печінки може сягати значень $-330\dots-300$ мВ [182]. Система знешкодження ксенобіотиків за участю глутатіону є найбільш важливим механізмом захисту клітини. Відновлений глутатіон має вільну SH-групу, яка є сильним нуклеофілом і здатна зв'язувати електрофіли, тоді як його гідрофобні центри можуть нековалентно з'єднуватися з ліпофільними сполуками (фізична взаємодія), що запобігає їхньому зануренню у ліпідний шар мембран. Тому глутатіон іноді називають внутрішньоклітинним альбуміном. Під час кон'югації ксенобіотиків із глутатіоном утворюються тіоефіри, які згодом перетворюються на меркаптурати. Більшість кон'югатів реакційно-інертні та гідрофільні, а отже, нетоксичні й легко елімуються з організму. Кон'югацію глутатіону з ксенобіотиками каталізують ензими γ -глутатіонтрансферази [КФ2.5.1.18], що широко представлені у клітинах. Вони є посередником у нуклеофільній атаці відновленого глутатіону на електрофільні зони ксенобіотиків з утворенням нетоксичних гідроксильних кон'югатів. Глутатіон також захищає клітину від токсичної дії пероксиду водню. Ця реакція здійснюється за участю ГПО [281].

Тканини тварин мають різний для кожного органа фізіологічний рівень вмісту пероксидів ліпідів, при цьому їхній рівень вищий у тканинах із високою метаболічною активністю. Особливістю перебігу процесів ПОЛ упродовж раннього онтогенезу є зміна інтенсивності ПОЛ як протягом окремого клітинного циклу, так і у різні періоди розвитку зародків. Встановлено, що на початкових етапах раннього ембріогенезу риб інтенсивність ПОЛ низька, як і у незапліднених яйцеклітин, а загальний вміст ліпідів у зародках залишається незмінним, лише

збільшується вміст фосфоліпідів, що пов'язано з високою інтенсивністю поділів клітин у перші години розвитку. Однак встановлено, що ПОЛ інтенсивно зростає упродовж ембріонального розвитку гребінця *Mizuhopecten yessoensis*, у мембранній фракції органів морського їжака *Strongylocentrotus intermedius*, ембріонів японського перепела *Coturnix japonica* (зокрема, у тканинах мозку, печінки та міокарда) і палтуса *Scophthalmus maximus*. Продукти ліпопероксидації здатні змінювати провідність плазматичної мембрани, що, у свою чергу, безпосередньо впливає на роботу систем первинного та вторинного активного транспорту [305].

В умовах оксидативного стресу переважають процеси нерегульованої модифікації протеїнів, які можуть призвести до втрати їхньої біологічної активності. Окиснення амінокислот у складі протеїнів веде до їхніх структурних змін, які проявляються агрегацією, фрагментацією, а також підвищеною чутливістю до протеолізу [250, 398]. Гідроксильний радикал найчастіше зумовлює агрегацію протеїнів, а в комбінації зі супероксид-аніоном – фрагментацію з утворенням низькомолекулярних фрагментів. Радикали ліпідів можуть також викликати фрагментацію молекул протеїнів. Механізм формування агрегатів такий: за дії оксидантів порушується нативна конформація ряду доменів протеїнів. У результаті зростає кількість гідрофобних залишків на поверхні глобул, що й обумовлює формування великих протеїнових конгломератів. Оксидативна деструкція протеїнів є одним із перших показників пошкодження тканини. Рівень альдегідних і карбонільних груп, що утворюються під час вільнорадикального окиснення амінокислотних радикалів, є головним маркером оксидативної модифікації протеїнів [398].

На сьогодні запропоновано такі механізми оксидативної модифікації протеїнів (ОМП):

- кон'югація ліпідних пероксидів з амінокислотними залишками гістидину, цистеїну і лізину у протеїнах;

- окиснення за участю активних форм кисню з утворенням карбонільних похідних, а також дисульфідів Cys-S-S-Cys, цистеїн-сульфенової (SO), -сульфінової (SO₂-) чи -сульфонової (SO₃-) кислот, сульфоксиду метіоніну (MetSO).

Останнім часом до ОМП залучають і глікірування, і глікооксидацію лізинових і аспарагінових залишків [339].

Оксидативній атаці піддаються поліпептидні ланцюги, що супроводжується відщепленням за рахунок реакції з OH[·] α-водневого атома амінокислотного залишка з утворенням вуглецевого радикального центру (реакція *в*, рис. 1.6). Джерелом OH[·] можуть бути або іонізуюча радіація, або метал-каталізоване розщеплення H₂O₂ (реакції *а* і *б*, рис. 1.6). Утворений карбонільний радикал швидко реагує з O₂ з утворенням

алкілперокси-радикальної проміжної сполуки (реакція *z*, рис. 1.6), яка може дати алкілпероксид (реакція *д*, рис.1.6), потім алкоксирадикал (реакція *з*, рис. 1.6). Останній може перетворюватися на гідроксил-похідне протеїну (реакція *и*, рис. 1.6). Із металів змінної валентності в цьому процесі можуть брати участь мідь, залізо. Утворений алкіл-, алкілперокси- і алкокси-радикальні продукти таким самим чином можуть вступати у реакції з іншими амінокислотними залишками тих самих протеїнів або інших протеїнових молекул, беручи участь в утворенні нових вуглець-радикальних центрів.

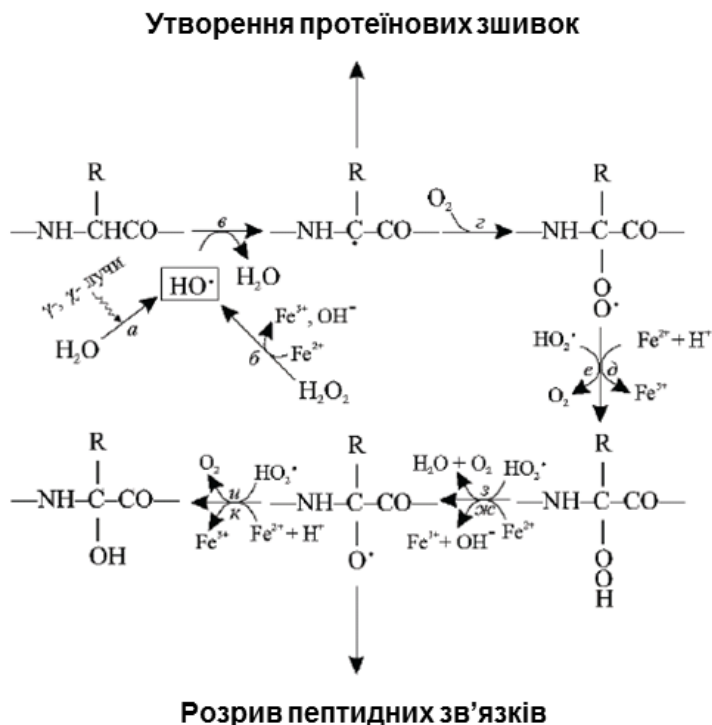


Рис. 1.6. Оксидативна деструкція протеїнів

За відсутності O_2 реакція окиснення протеїну обривається на етапі утворення вуглецевого центру, який може реагувати з іншими радикальними центрами з утворенням протеїн-протеїнових зшивок R_1CCR_2 , що призводить до утворення високомолекулярних агрегатів протеїнів [255].

Агрегація протеїнових молекул пов'язана з утворенням S-S містків між цистеїновими залишками і 2,2'-біфенільних зшивок тирозинових залишків протеїнів. Ковалентні зв'язки можуть утворюватися між радикальними центрами одних і тих самих амінокислотних залишків і між різними амінокислотними залишками 2-х протеїнових молекул [255].

Фрагментація поліпептидного ланцюга відбувається на етапі утворення алкокси-радикала. Процес розчеплення може іти по шляху α-амідації або діамідним шляхом (рис. 1.7) [255].

Карбонільні похідні протеїнів – це стабільні продукти, які утворюються за участю амінокислотних залишків проліну, аргініну, лізину, треоніну з утворенням аддуктів Міхаеля. Також карбонільні похідні протеїнів можуть утворюватися за участю амінокислотних залишків лізину, цистеїну і гістидину з продуктами ПОЛ. При цьому карбонілювання аргініну та лізину супроводжується втратою одного або більше атомів азоту. Крім того, вони можуть утворюватись у процесі глікування/глікооксидації аміногруп лізину. Карбонільні похідні формуються під час металкаталізованого окиснення протеїнів. Найважливішим наслідком ОМП є інактивація ензимів. Наприклад, альдегіди викликають інактивацію мембранних транспортерів, таких як Na⁺, K⁺-АТФази, транспортерів глюкози у головному мозку, що призводить до нейродегенеративних розладів. Альдегіди інактивують шаперон Hsp90 і протеїн-дисульфідізомераз, що здійснюють контроль фолдингу. Альдегіди найчастіше взаємодіють із залишками цистеїну чи гістидину кіназ, які беруть участь у сигнальній трансдукції, що призводить до втрати їхньої активності.

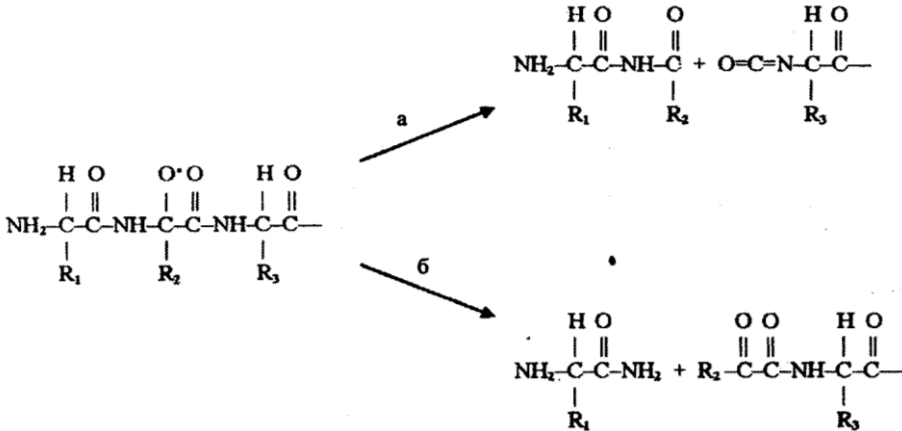


Рис. 1.7. Імовірні шляхи розриву пептидних зв'язків окиснених протеїнів [255]

У 1996 р. шведський вчений Antony Van der Valk запропонував терапію синглетним киснем, а компанія PolyValk (Швеція) розробила спеціальний апарат «Valcion» для проведення інгаляційної терапії й активації води. Цей метод лікування успішно застосовують упродовж багатьох років у різних клініках Європи, Америки і т. п. Молекула кисню O₂ у синглетному стані живе обмежений час, після чого вона розпадається і відновлюється до звичайного стану. Цей процес синглетно-триплетного

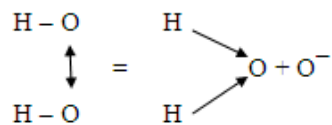
дипольного переходу супроводжується випромінюванням електромагнітних хвиль ультрафіолетового діапазону, які активують ланцюг біохімічних і біофізичних процесів, спрямованих на нормалізацію обмінно-окиснювальних реакцій в організмі. Результати практичного застосування синглетного кисню свідчать про те, що за його дії у хворих, зокрема, на бронхіальну астму, суттєво знижувалася частота нападів ядухи [350].

О. О. Отчич та співавтори зазначають, що озонотерапія є потужним немедикаментозним терапевтичним ефективним засобом у лікуванні багатьох захворювань. Метод озонотерапії реалізує свій вплив через терапевтичні ефекти: бактерицидний; дезінтоксикаційний; імуномодельючий; стимуляцію мікроциркуляції; посилення функціонування системи антиоксидантного захисту; оптимізацію обмінних процесів. Одним із провідних біологічних ефектів дії озону (O_3) є оптимізація метаболічних процесів в організмі через нормалізацію балансу про- й антиоксидантної систем, сприяння синтезу арахідонової кислоти і простагландинів, які знижують тканинну гіпоксію та корегують електролітний баланс, що особливо важливо для пацієнтів з туберкульозом легень. Так, виявлено позитивний вплив застосування озono-, лазеротерапії у комплексній хіміотерапії пацієнтів з уперше діагностованим деструктивним туберкульозом легень з бактеріовиділенням на прооксидантно-антиоксидантну рівновагу та рівень молекул середньої маси, порівняно зі самою тільки хіміотерапією [333]. Медичний озон використовують для лікування інфекцій сечових шляхів під час вагітності. Застосування озонотерапії за безсимптомної бактеріурії, хронічного пієлонефриту поліпшує перебіг вагітності, пологів і стану новонароджених, нормалізує окиснювально-антиоксидантний стан та імунний гомеостаз, цитокіновий статус. Імуномодулююча та протизапальна дія озону має стабілізуючий вплив на гуморальний і клітинний імунітет, що забезпечує зниження частоти рецидивів сечових інфекцій у вагітних [334].

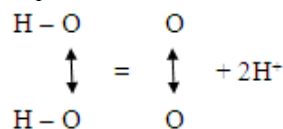
Розроблено схему лікування різних патологічних станів пероксидом водню. Відомо, що ця речовина є природною для організму, оскільки вона утворюється, наприклад, у лейкоцитах, гранулоцитах для захисту від патогенної флори. Під час руйнування пероксиду водню утворюється атомарний кисень, без якого не відбувається жодна біоенергетична реакція. Варто зазначити, що під час розкладання однієї молекули H_2O_2 утворюється один атом кисню: $H_2O_2 = H_2O + O + 23$ ккал. Розпаданню двох молекул пероксиду водню дає два атоми кисню, які об'єднуються у молекулу кисню: $2H_2O_2 = 2H_2O + O_2 + 47$ ккал. Проте ймовірність утворення з H_2O_2 молекул кисню низька, оскільки за рахунок високої активності атомарного кисню він використовується насамперед для нормалізації окисно-відновних реакцій органічних радикалів, які

потребують меншої енергії, ніж для утворення молекул кисню. Ці реакції відбуваються одночасно, але з різними енергіями і, відповідно, швидкостями, які не збігаються в часі. Таким чином, у цих реакціях має місце більш складний рівноважний процес отримання молекулярного й атомарного кисню, який відіграє головну роль в окисно-відновних процесах, і його порушення зумовлює розвиток патології [106].

Структурна формула пероксиду водню H-O-O-H засвідчує, що два атоми кисню безпосередньо сполучені один з одним і що цей зв'язок нестійкий. За введення H_2O_2 в організм перорально чи внутрішньо окиснювальний його розпад відбувається за схемою:



– на окиснення, характерне для кислого середовища.



– на відновлення, характерне для лужного середовища.

H_2O_2 має слабо виражені кислотні властивості, з якими і пов'язана його окиснювальна функція у кислому середовищі, а відновлювальна – в лужному, тобто та, яка є у «хворому організмі». Активність атомарного кисню дуже висока, і він окислює насамперед атоми елементів, які невластиві організму, наприклад, патогенні мікроорганізми [106].

У медицині також застосовують розчини ГХН з метою дезінтоксикації організму [111, 174, 252, 308].

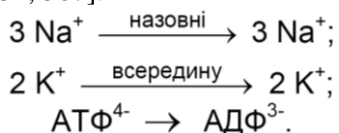
Отже, у розвитку оксидативного стресу, який проявляється порушенням процесів ПОЛ, оксидативною модифікацією протеїнів, провідну роль відіграють вільні радикали, зокрема, гідроксильний, супероксид-аніон радикал, пероксид водню, а також гіпогалогеніти. У відповідь на генерацію вільних радикалів активується система антиоксидантного захисту клітин. Ініціація вільнорадикальних процесів в організмі відбувається за різних патологічних станів і у відповідь на вплив екзогенних та ендогенних чинників. Проте вільнорадикальні ефекти деяких сполук також застосовують у медицині з терапевтичною метою.

1.2. Стан Na^+ , K^+ -АТФази, Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФази евкаріотичних організмів за дії різних чинників

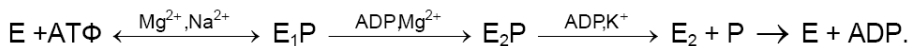
Відомо, що в евкаріот концентрація Na^+ у клітині нижча, ніж в оточуючому середовищі, а концентрація K^+ – вища. Цей дисбаланс

виникає і підтримується переважно активною транспортувальною системою плазматичної мембрани – Na⁺, K⁺-АТФазою (КФ 3.6.1.37). Na⁺, K⁺-АТФаза належить до АТФаз Р-типу (Р₂-підтипу АТФаз), яку вперше дослідив Є. Скоу [175, 199]. Загальною властивістю АТФаз Р-типу є здатність утворювати ковалентний фосфорильований інтермедіат (Р), який бере участь у реакційному циклі. До цих АТФаз, крім Na⁺, K⁺-АТФази, належать Ca²⁺-АТФаза і H⁺-АТФаза плазматичної мембрани еукаріотичних клітин, а також Ca²⁺-АТФаза ендо(сарко)плазматичного ретикулулу і K⁺-АТФаза зовнішньої мембрани прокаріотів (*E. coli*, *Streptococcus faecalis*) [177].

Уабайнчутлива Na⁺, K⁺-АТФаза (АТФ-фосфогідролаза, КФ 3.6.1.37) є маркерним ферментом плазматичної мембрани клітин більшості тканин, який здійснює спряження гідролізу АТФ з активним транспортом іонів проти електрохімічного градієнта. Na⁺, K⁺-АТФаза є інтегральним протеїном і виконує функцію помпи: три іони Na⁺ виводить з клітини, а всередину клітини впопвоює два іони K⁺, що супроводжується гідролізом однієї молекули АТФ [332, 387]:



Гідроліз АТФ цією ферментною системою відбувається за такою схемою:



Активация енізу відбувається за наявності іонів Na⁺ та Mg²⁺ на внутрішній поверхні плазматичної мембрани, що викликає фосфорилування енізу за рахунок кінцевої γ-фосфатної групи АТФ з утворенням проміжного комплексу EP. Ця стадія інгібується іонами Ca²⁺ та не пригнічується уабіном. Утворений фосфорильований продукт EP підлягає розпаду, що стимулюється іонами K⁺ на зовнішній поверхні мембрани. Натрій вивільняється у позаклітинне середовище, а калій надходить усередину клітини. Ця стадія калійзалежного гідролізу енізу інгібується серцевим глікозидом уабіном. У процесі гідролізу фосфорильованого комплексу вивільняється енергія, необхідна для транслокації K⁺ крізь мембрану в цитоплазму. Фосфорильований еніз може перебувати у двох конформаційних станах: E₁P та E₂P [93, 332], рівновага між якими контролюється іонами Mg²⁺, причому перша форма має більшу спорідненість з АДФ, а друга – з K⁺. Na⁺, K⁺-АТФаза має молекулярну масу 250–300 кДа і складається з двох субодиноць (рис. 1.8). α-Субодиноця є ліпопротеїдом (100 кДа) і містить центри зв'язування іонів Na⁺ і K⁺ та гідролітичний центр, що є локалізованим на зовнішній поверхні плазматичної мембрани й фосфорилується під час транслокації

іонів [332]. Варіабельність ізоформ α -субодиниці Na^+ , K^+ -АТФази і широке коло її функцій обумовлює значення помпи для запуску внутрішньоклітинних тимчасових процесів, збереження тимчасової структури клітини як біосистеми й обміну із позаклітинним простором речовиною, енергією, інформацією і часом. β -Субодиниця є сіалоглікопротеїдом (40–60 кДа) і, на відміну від α -субодиниці, не пронизує ліпідний бішар, а є вмонтованою у мембрану на зовнішній поверхні. Частина β -субодиниці, яка обернена в позаклітинне середовище, несе на собі ковалентно приєднані вуглеводні фрагменти. Ця субодиниця виконує регуляторні функції, зокрема, забезпечує вихід α -поліпептиду з ендоплазматичного ретикулуму, його вмонтовування, правильну орієнтацію Na^+ , K^+ -АТФази в мембрані, формування функціонально активного ензиму та відповідає за антигенні властивості Na^+ , K^+ -АТФази. Оскільки обидві субодиниці беруть участь у зв'язуванні убаїну на зовнішній поверхні, то вважають, що цей ензим є інтегральним протеїном плазматичної мембрани [193, 332].

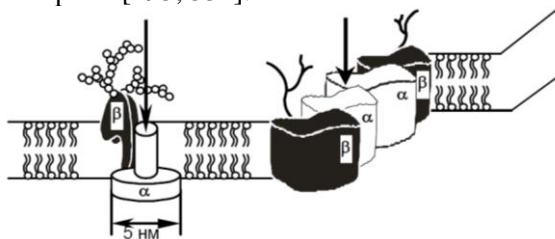


Рис. 1.8. Модель будови Na^+ , K^+ -АТФази: ліворуч – незалежне функціонування $\alpha\beta$ -протомера з проходженням катіонів крізь канал в α -субодиниці; праворуч – $(\alpha\beta)_2$ -протомерна структура з іонним каналом у просторі між двома α -субодиницями [332]

α -Субодиниця пронизує ліпідний бішар і утворює 6 або 8 трансмембранних сегментів. Центр зв'язування глікозидів розташований на α -субодиниці на зовнішній поверхні мембрани, а центр фосфорилування – на внутрішній (цитоплазматичній) поверхні (рис. 1.9).

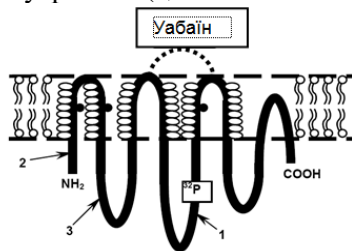


Рис. 1.9. Модель розташування α -субодиниці Na^+ , K^+ -АТФази всередині ліпідного бішару мембрани. Пронумеровані стрілки вказують на ділянки поліпептидного ланцюга, за якими відбувається розщеплення трипсином за наявності KCl і NaCl [332]

Основна маса α -субодиниці зосереджується на цитоплазматичній поверхні мембрани, утворюючи виступ порядку 5 нм. β -Субодиниця розташована на зовнішній поверхні мембрани і має, ймовірно, тільки один трансмембранний сегмент. У безпосередньому контакті з ліпідним матриксом мембрани перебувають α - та β -субодиниці Na^+ , K^+ -АТФази [332].

У нативному стані Na^+ , K^+ -АТФаза є олігомерним ансамблем α - та β -субодиниць, стехіометрія яких, за даними різних авторів, значно варіює: 2 : 1; 3 : 2; 4 : 2 та ін. Вважається, що ступінь олігомеризації субодиниць пов'язаний з особливостями функціонування натрієвої помпи у різних фізіологічних умовах. Імовірно, $\alpha\beta$ -протомер є тією мінімальною структурою, яка здійснює як гідроліз АТФ, так і транспорт Na^+ і K^+ . Спряження цих двох функцій і забезпечує активний транспорт-перенесення Na^+ (із цитоплазми в позаклітинне середовище) та K^+ (у протилежному напрямку) проти електрохімічного градієнта за рахунок енергії гідролізу АТФ, що забезпечує підтримання різниці потенціалів на мембрані (порядку -90 мВ). Енергія гідролізу АТФ перетворюється на електрохімічний потенціал, за рахунок якого не тільки забезпечуються процеси збудження й осморегуляції та регулюються міжклітинні взаємодії, а й створюються умови для регуляції окремих стадій клітинного циклу. Na^+ , K^+ -АТФаза, крім активного центру, центрів зв'язування Na^+ , K^+ і Mg^{2+} , має центр зв'язування уабаїну (та інших серцевих глікозидів), розташований на α -субодиниці та локалізований на зовнішній поверхні мембрани. Уабаїн, зв'язуючись із цим центром, відокремлений від внутрішньоклітинного центру ензиму ліпідним бішаром, ефективно (достатньо його концентрації 10^{-5} моль/л) пригнічує спряжений Na^+/K^+ -транспорт і повністю інгібує Na^+ , K^+ -АТФазну активність [332].

Зв'язування уабаїну за низьких концентрацій стимулює утворення сигнального комплексу, що містить Na^+ , K^+ -АТФазу, Src і EGF рецептори. Сигнальні шляхи, які виникають, включають мітоген-активуючу протеїнкіназу (МАРК), Ca^{2+} й активні форми кисню і впливають на експресію генів. Na^+ , K^+ -АТФаза відіграє істотну роль у передачі сигналів у клітині. Na^+ , K^+ -АТФаза є сигнальним трансдуктом і входить до сигнального комплексу через зв'язування уабаїну. Na^+ , K^+ -АТФаза в межах цього сигнального комплексу локалізується в кавеолах, де цей ензим регулює інозитол 1,4,5-трифосфатзалежне вивільнення кальцію. Це має важливе значення у передачі рецепторами сигналів, асоційованих з G-протеїнами. Сигналізація у нирках через рецептори, асоційовані з G-протеїнами, має регуляторний вплив на експресію генів Na^+ , K^+ -АТФази у проксимальних канальцях нирок. Два основних типи генетичної регуляції включають у себе сигналізацію через солейндуковану кіназу 1 (SIK1). З одного боку, SIK1 діє як блокатор сигналізації через

цАМФ-регульовані транскрипційні коактиватори, а, з іншого боку, SIK1 діє таким чином, щоб стимулювати сигналізацію через регулювання генів міозит-підсилюючого фактора 2 (MEF2)/ядерного фактора активації Т-клітин (NFAT) [93].

П. Ф. Литвицький зазначає, що порушення енергозабезпечення клітин і розлади їхньої життєдіяльності можуть розвиватись у результаті пошкодження механізмів використання енергії, головню за рахунок зниження активності АТФаз (АТФаза міозину, Na^+ , K^+ -АТФаза плазмолемі, протонна і калієва АТФаза, Ca^{2+} -АТФаза (Ca^{2+} -помпа) та ін.). Як наслідок розлади життєдіяльності клітин можливі навіть в умовах нормального або підвищеного вмісту АТФ у клітині.

Д. І. Санагурський, М. В. Целевич у науковій праці засвідчили, що Na^+ , K^+ -АТФаза забезпечує підтримку трансмембранного потенціалу за рахунок впливу на іонні градієнти Na^+ та K^+ і що це необхідно для реалізації важливих процесів клітинної фізіології, а також для регуляції енергетики та синтезу макромолекул і загального розвитку зародків. Функціонування Na^+ , K^+ -АТФази зумовлює підвищення рівня трансмембранного потенціалу у ранньому розвитку в'юна, а активний транспорт Na^+ і K^+ є одним із факторів, що зумовлюють коливний характер цього потенціалу зародків в'юна протягом ембріогенезу [387]. Ці ж дослідники пов'язують інгібування Na^+ , K^+ -АТФази за впливу антибіотиків-фторхінолонів з активацією вільнорадикальних процесів, що, у свою чергу, призводить до дефіциту Ca^{2+} і Mg^{2+} у клітинах. Саме ці іони беруть участь у складних механізмах регуляції Na^+ , K^+ -АТФази і є ефективними модуляторами її активності. Вони засвідчують, що за впливу фторхінолонів активність Na^+ , K^+ -АТФази найбільш виражено знижується на пізніх етапах ембріогенезу (VIII і X поділи бластомерів) [387].

Зміни в АТФазній активності значною мірою обумовлені дезорієнтацією ліпідного мікрооточення і порушенням конформаційної стабільності молекулярних комплексів ензимів. Полярні продукти ПОЛ можуть мати пряму пошкоджуючу дію на сульфгідрильні групи ензиму, інактивуючи каталітичні й алостеричні центри Na^+ , K^+ -АТФазного комплексу [404].

Встановлено, що прогестерон в епітелії підвищує експресію генів Na^+ , K^+ -АТФази [21]. У хворих за тривалої дії етанолу відбувається зниження ензиматичної активності Na^+ , K^+ -АТФази клітин печінки і головного мозку. Вірогідне зниження Na^+ , K^+ - та H^+ -АТФазних активностей відбувається у лімфоцитах периферичної крові хворих на реактивний артрит [315].

У структурі Na^+ , K^+ -АТФази сперматозоїдів ідентифіковано унікальну $\alpha 4$ -субодиноцю, інгібування експресії якої призводить до пригнічення їхньої рухливості. При цьому слід відзначити, що Na^+ , K^+ -АТФаза сперматозоїдів відіграє ключову роль як у забезпеченні

їхньої рухливості, так і у здатності до запліднення яйцеклітин. Активність Na^+ , K^+ -АТФази яйцеклітин в'юна, *Xenopus laevis*, морського їжака низька або відсутня в ооцитах, а після запліднення різко знижується і швидко відновлюється в період ранньої/середньої бластули [199]. Продемонстровано ефективний інгібуючий вплив H_2O_2 на убаїчутливу Na^+ , K^+ -АТФазу активність сперматозоїдів фертильних та інфертильних чоловіків за рахунок зниження спорідненості ензиму до субстрату і зниження числа обертів ензиму (лише для сперматозоїдів фертильних чоловіків) [380].

Встановлено, що з підвищенням температури водного середовища знижується активність Na^+ , K^+ -АТФази, що зумовлено послабленням окисно-відновних і посиленням анаеробних процесів за низького вмісту кисню у воді. Особливо відчутне зниження активності ензиму в ікрі відбувається за температури води $30\text{ }^\circ\text{C}$ [211].

У праці О. М. Філінської зазначено, що молекула Na^+ , K^+ -АТФази є поліпептидним трансмембранним ланцюгом, який кілька разів перетинає мембрану та має позамембранні петлі із зарядженими амінокислотними залишками. Власне, активність ензиму значно залежить від зарядів гідрофільних головок оточуючих ліпідів [379].

В. М. Ковалишин зазначає, що активність Na^+ , K^+ -АТФази залежить від електронної щільності клітин. Основною ультраструктурною відмінністю у клітинах різної електронної щільності є співвідношення гіалоплазма/органели. У «світлих» клітинах таке співвідношення зсунуте у бік гіалоплазми, а в «темних» – у бік органел, тоді як у «проміжних» немає помітного переважання органел чи гіалоплазми. Максимальну активність Na^+ , K^+ -АТФази мають «проміжні» клітини. У міру збільшення електронної щільності клітин або, навпаки, зменшення їхньої електронної щільності відбувається зменшення активності Na^+ , K^+ -АТФази, аж до повного зникнення її активності як у максимально «світлих», так і у максимально «темних» клітинах [285].

Гліальна Na^+ , K^+ -АТФаза відіграє важливу роль у пізнавальних функціях. У дослідженнях показано, що у мишей із дефіцитом гена, який кодує Na^+ , K^+ -АТФазу, знижується орієнтація у просторі та погіршується пам'ять. Було виявлено значне зниження рівня й активності Na^+ , K^+ -АТФази у пацієнтів із хворобою Альцгеймера та значне збурення іонів Na^+ і K^+ у постсмертній тканині головного мозку таких пацієнтів. Імовірно, порушення функції Na^+ , K^+ -АТФази може сприяти зміні метаболізму глюкози, що спостерігають у осіб із хворобою Альцгеймера, і, можливо, дисфункції астроцитів, що виявлено на ранній стадії цього захворювання [34].

Система внутрішньоклітинного передавання сигналів за участю катіонів Ca^{2+} відіграє важливу роль у багатьох фізіологічних процесах різних типів клітин [290]. Mg^{2+} -залежна Ca^{2+} -АТФаза (КФ 3.6.1.38) є

мембранозв'язаним ензимом і має важливе значення в оцінці функціонального стану мембран. Зміна стану мембран за умов патологічного процесу, у свою чергу, є важливим регуляторним чинником каталітичної активності ензимів, асоційованих з мембранами. Зниження Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФазної активності може бути пов'язане з порушенням Ca^{2+} гомеостазу та з початком апоптичних змін у клітинах. Зростання рівня іонів Ca^{2+} є результатом зниження активності Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФази. Це один із факторів, що бере участь у стресових дистрофіях тканин, а також у запальних процесах і некротичних змінах слизової оболонки шлунка на пізніх етапах розвитку виразкової хвороби. Тривале підвищення рівня Ca^{2+} у цитоплазмі (від 10^{-7} до 10^{-5} М і вище) призводить до загибелі клітин [404].

Ca^{2+} -АТФаза – міститься як на плазматичній, так і на внутрішньоклітинних мембранах (ендоплазматичний ретикулум, мітохондрії). Це мономерні протеїни, які розрізняються за молекулярною масою (108–120 кДа). Ця АТФаза використовує енергію гідролізу АТФ для перенесення іонів Ca^{2+} проти градієнта концентрації. Ca^{2+} -АТФаза плазматичних мембран забезпечує викачування Ca^{2+} з клітини в міжклітинний простір, має центр зв'язування протеїну кальмодуліну. Наприклад, завдяки плазматичній Ca-помпі в еритроцитах вміст Ca^{2+} менший 0,001 мМ, а в плазмі крові становить 1,2–2,5 мМ. Ca^{2+} -помпа внутрішньоклітинних мембран забезпечує закачування Ca^{2+} з цитоплазми до внутрішньоклітинних депо (наприклад, Ca^{2+} -АТФаза саркоплазматичного ретикулуму переносить Ca^{2+} з цитоплазми до цистерн ретикулуму і є важливим компонентом, що регулює цикл скорочення-розслаблення м'язового волокна). Ca^{2+} -АТФаза є електронейтральною: відкачування іонів Ca^{2+} супроводжується надходженням у клітину еквівалентної кількості іонів Mg^{2+} або Na^{+} (рис. 1.10). Інгібується Ca^{2+} -АТФаза рутенієм червоним, ванадатом і SH-реагентами [177].

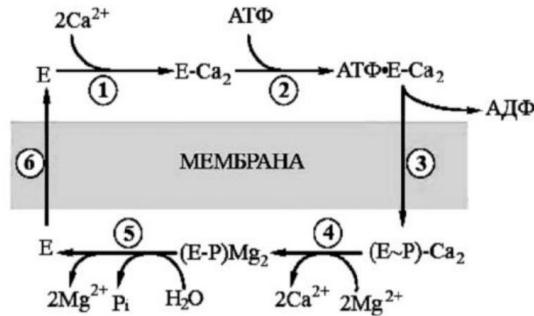


Рис. 1.10. Цикл роботи Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФази: 1 – зв'язування іонів кальцію; 2 – зв'язування АТФ; 3 – утворення фосфоензиму; 4 – відщеплення іонів кальцію; 5 – гідроліз фосфоензиму; 6 – повернення ензиму в початковий стан

Роль Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФази є значною, оскільки у клітині є ряд Ca^{2+} -залежних ензимів, активація яких веде до зміни структурно-функціонального стану протеїнів цитоскелету, ліпідних компонентів плазматичної мембрани, модифікації функціонування систем активного транспорту. Все це може вплинути на стійкість клітини до екстремальних факторів [265].

За подібної амінокислотної послідовності Na^+ , K^+ -АТФази і Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФази у молекулі Na^+ , K^+ -АТФази, крім α -субодиниці, є ще один малий поліпептидний ланцюг, що формує β -субодиницю і регулює активність ензиму. Більш виражені зміни за екзогенних впливів Na^+ , K^+ -АТФазної активності, порівняно з Mg^{2+} -залежною Ca^{2+} -АТФазною, можуть бути пов'язані з впливом ушкоджуючих чинників на β -субодиницю [379].

L. Sousa показав, що надлишок заліза знижує активність Ca^{2+} -АТФази, підвищує цитоплазматичну активність Ca^{2+} і зменшує активність Ca^{2+} сарко/ендоплазматичного ретикулуму та концентрацію Ca^{2+} в апараті Гольджі, що може сприяти окисненню, азотуванню та фрагментації ензиму [130].

Було виявлено, що плацентарні гомогенати й тіні еритроцитів експериментальних самок вагітних щурів, у організм яких вводили надмірну кількість $NaCl$, мають підвищений рівень ПОЛ і знижену активність Ca^{2+} -АТФази, порівняно з контролем самок вагітних щурів [120].

Отже, робота мембранопов'язаних ензимів суттєво залежить від дії ушкоджуючих чинників і від інтенсивності вільнорадикальних процесів, які, у свою чергу, змінюють структуру мембран.

1.3. Гістамін, гістамінові рецептори та гістамін-опосередковані реакції

За останні кілька десятиліть набули поширення такі захворювання як алергічна астма, риніт, кон'юнктивіт, харчова алергія і анафілаксія. Системна анафілаксія спричиняє серед них найбільшу смертність. Приблизно 300 млн людей у всьому світі страждають від астми, а смертність через астму щорічно сягає більше 180 тис. осіб. Астма розвивається в усіх вікових групах. Патогенез, в основному, включає запалення дихальних шляхів, що, в свою чергу, впливає на чутливість їхніх нервових закінчень і призводить до подразнення, задишки та хрипів. Екологічні агенти (сірководень, вуглеводні, викиди заводів із виробництва кормів для тварин та ін.), які у нормі є нешкідливими, виступають причиною цього захворювання. Астма, алергічний риніт, атопічний дерматит і харчова алергія належать до гіперчутливості I типу. Багато типів клітин, які беруть участь у запальних процесах, такі як Т-хелпери 2 типу, тканинні базофіли, В-клітини, еозинофіли та ряд лейкоцитів і цитокіни, пов'язані з гіперчутливістю I типу. Алергени активують

В-клітини для утворення антитіл, імуноглобулінів Е та G. Зв'язування IgE з високоафінним рецептором IgE (FcεR1) на поверхні тканинних базофілів і базофільних тригерах активації тканинних базофілів зумовлює вивільнення запальних медіаторів, таких як гістамін та біологічно активні ліпіди, у тому числі ейкозаноїди, фактор активації тромбоцитів, численні прозапальні цитокіни, які є важливими у патогенезі алергічних захворювань і анафілаксії [2, 17, 24, 25, 55, 70, 124, 263]. Секреція хемокінів із тканинних базофілів ініціює реакцію пізньої фази, яка сприяє проникненню лейкоцитів у вражені патогенними мікроорганізмами та шкідливими речовинами тканини. Кортикостероїди, антигістамінні препарати і стабілізатори мембран тканинних базофілів, зазвичай, використовують у лікуванні гіперчутливості I типу. Ці препарати є протизапальними або запобігають активації клітин, які беруть участь у запальних процесах, а отже, блокують дію медіаторів запалення. Хоча ці препарати корисні у лікуванні підвищеної чутливості I типу, за тривалого застосування вони можуть мати побічні ефекти. Наприклад, пероральні кортикостероїди викликають загальну імуносупресію, подразнення шкіри, синдром Кушинга. Навіть антигістамінні препарати нового покоління не повністю позбавлені седативних властивостей. Тому нові антиастматичні агенти, які ефективні в ранню та пізню фази з хорошою переносимістю за тривалого застосування, як і раніше, є життєво важливою необхідністю [17].

Гістамін (2-[4-імідазоліл] етиламін) уперше описаний як ендогенна речовина в 1910 р., а як медіатор алергічних реакцій – у 1932 р. Гістамін синтезується з амінокислоти гістидину за участю коензиму піридоксальфосфату (похідне вітаміну B₆) і ензиму L-гістидиндекарбоксилази. Він виробляється у тканинних базофілах, базофілах крові, тромбоцитах і деяких нейронах, де міститься внутрішньоклітинно у пухирцях і виділяється під час стимуляції. Гістамін є потужним медіатором низки біологічних реакцій (бронхоспазм, тахікардія, аритмія, головокружіння, головний біль, нежить, гіперемія шкіри, діарея, алергічне висипання на шкірі та ін.). Крім дегрануляції тканинних базофілів, яка здійснюється через сполучення антитіл класу IgE з поверхнею клітин після зв'язування ними алергена, вивільнення гістаміну може відбуватися незалежно від IgE. IgE-незалежне вивільнення гістаміну регулюється циклічними нуклеотидами цАМФ і цГМФ, котрі виступають як вторинні месенджери. Тригери (такі як гістамін чи β-адренергічна стимуляція) підвищують концентрацію цАМФ, яка інгібує дегрануляцію тканинних базофілів шляхом негативного оберненого зв'язку. Вивільнення гістаміну зростає за дії подразників, які знижують концентрацію цАМФ (α-адренергічних і холінергічних), певних цитокінів, що утворюються під час запалення, а також за рахунок зв'язування комплемент-факторів C5a і C3a додатковими рецепторами тканинних базофілів. Такими «неалергічними» факторами, що

зумовлюють вивільнення гістаміну, можуть бути лікарські препарати, продукти харчування, хімічні й фізичні агенти, гіпоксія, нейропептиди, ензими (наприклад, фосфоліпаза) [5, 57, 99, 108, 109, 133, 149, 158, 184, 321, 358].

Отже, вивільнення гістаміну з депо відбувається такими шляхами:

1. Механічне пошкодження клітин спричиняє руйнування гранулоцитів і тканинних базофілів з вивільненням гістаміну.

2. Багато хімічних речовин і лікарських засобів (апресин, декстран, тубокурарин, морфін, поліглюкін та ін.) сприяють виділенню цього біогенного аміну.

3. За допомогою імунних реакцій виділяється гістамін [391].

В організмі гістамін депонується у тканинних базофілах і базофілах крові, а також у тромбоцитах, еозинофілах, лімфоцитах та різних біологічних рідинах. У цих клітинах гістамін міститься в неактивній формі у комплексі з протеїнами, сульфатними полісахаридами, сульфатом гепарину, хондроїтином. Розподілений гістамін нерівномірно. Більш високу його концентрацію виявлено у шкірі, слизовій оболонці травного каналу, носа та ротової порожнини, у кровоносних судинах, серці, стопах, легенях, у зоні IV шлуночка головного мозку, а також у базофільних гранулоцитах гіпофіза, гіпоталамуса [112, 391].

Дія гістаміну опосередкована через його взаємодію з чотирма G-протеїнзв'язаними рецепторами (H1, H2, H3 і H4). Активація чи інгібування гістамінових рецепторів запускає сигнальні шляхи, викликаючи імуномодулюючу або прозапальну клітинну відповідь. Головним сигналом H1 рецептора є індукція зв'язування ліганду й активація фосфоліпази C і генерація інозитол-1,4,5-трифосфату, а також 1,2-діацилгліцеролу, що веде до збільшення цитозольного Ca^{2+} . H2 рецептор пов'язаний з аденілатциклазою та фосфоінозитидом вторинною сигнальною системою через окремі ГТФ-залежні механізми. Гістамін є сильним стимулятором накопичення цАМФ у багатьох клітинах, і H2-залежна сигналізація гістаміну, як правило, опосередкована через цАМФ. Навпаки, активація H3 рецептора викликає гальмування утворення цАМФ, накопичення Ca^{2+} та стимуляцію мітоген-активованої протеїнкінази. H4 рецептор експресується у багатьох ділянках тіла, в тому числі у кишковій тканині (intestinal tissue), базофілах і тканинних базофілах. Подібно до H3 рецептора, сигнальні механізми H4 рецептора запускають гальмування аденілілциклази та зниження потоку цАМФ-відповіді елементів, а також активацію мітоген-активованої протеїнкінази [99, 135].

Відомо, що організм може зазнавати значного негативного впливу гістаміну, зокрема, за алергічних захворювань [321]. Гістамін, взаємодіючи з рецепторами, активує аденілатциклазу, а згодом протеїнкіназу А. Унаслідок цього відбувається стимуляція біологічних

процесів за допомогою H2 і гальмування – за допомогою H3 і H4 рецепторів. При взаємодії з H1 рецептором гістамін активує фосфоліпазу C, протеїнкіназу C. У результаті цього стимулюється біологічна відповідь [99].

H1 рецептори належать до надродини G-протеїнів'язаних рецепторів (GPCRs). До цієї родини належать 500 мембранних протеїнів, які мають 7 трансмембранных α -спіральных структурних мотивів (рис. 1.11). Це глікопротеїн, який складається з 487 амінокислотних залишків, з прогнозованою молекулярною масою 55,8 кДа.

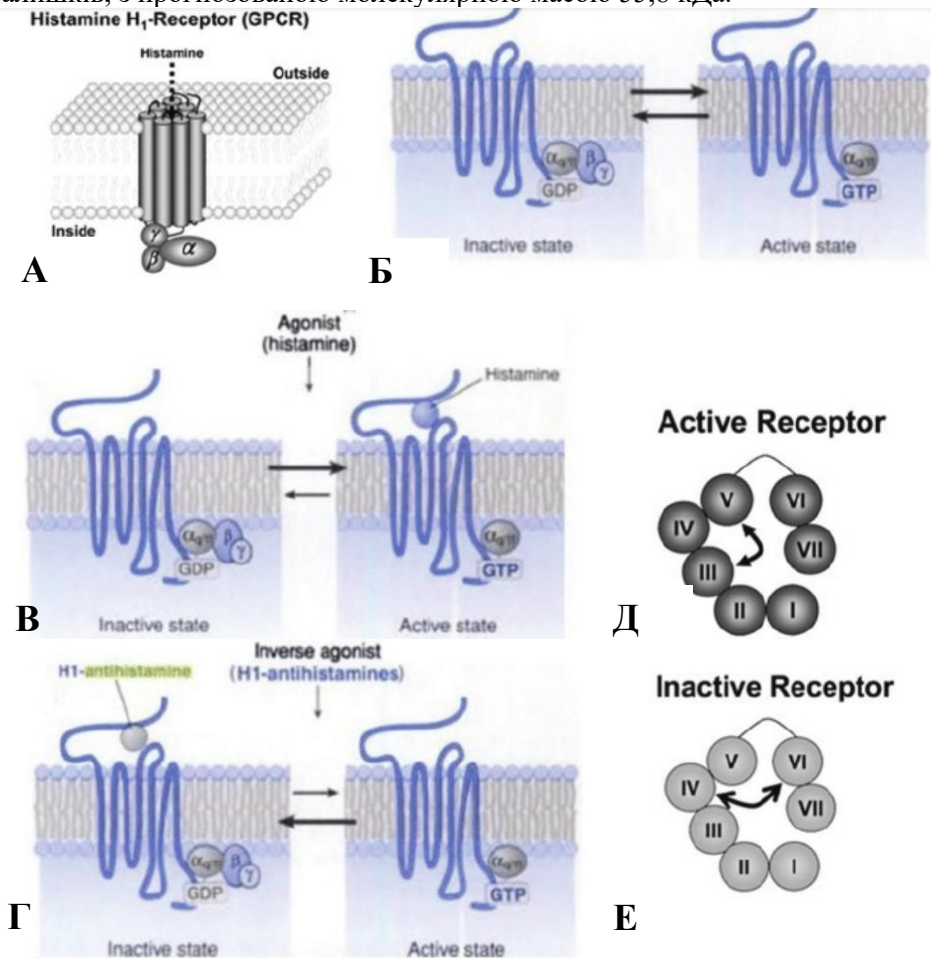


Рис. 1.11. Модель рецептора H1-гістаміну. А – структура гістамінового H1 рецептора; Б – рецептори H1 мають 2 конформаційних стани; В – гістамін діє як агоніст, щоб активувати H1 рецептор; Г – антигістамінні препарати діють як зворотні агоністи для інактивації H1 рецептора; Д – поверхню H1 рецептора приєднано до трансмембранных доменів III та V для його активації; Е – поверхню H1 рецептора приєднано до трансмембранных доменів IV та VI для інактивації H1 рецептора [61]

Відсутність інтронів у гені H1 рецепторів вказує на те, що відбувається лише транскрипція гена, який кодує протеїн єдиного рецептора. H1 Рецептори відіграють важливу роль у активації та інактивації клітин. Перехресне зв'язування з трансмембранними доменами III і V рецептора призводить до його активації. Цетиризин зв'язує IV і VI трансмембранні домени і стабілізує рецептор, переводячи його в неактивний стан [61]. Ці рецептори містяться в гладеньких м'язах бронхів, шлунку, кишечнику, жовчного і сечового міхурів, ендотелії судин, мозку [391]. У головному мозку найбільша щільність H1 рецепторів є у таламусі, пірамідальному шарі гіпокампі, а також у шарі клітин Пуркінє в мозочку, розташованих на мембранах постсинаптичних клітин. Під час збудження рецепторів цього типу підвищуються тонус гладеньких м'язів, проникність судин, збільшується випотівання рідини, пригнічується передсердно-шлуночкова провідність, виникає артеріальна гіпотензія [391]. Дія гістаміну реалізується через збільшення продукції цАМФ і концентрації внутрішньоклітинного кальцію. TRPC6 (транзиторний потенціалкерований рецептор-6; рис. 1.12) є катіон-селективним, діацилгліцерол-регульованим, Ca^{2+} -проникним каналом, який активується агоністами Gq-протеїнів. Дисфункція TRPC6 пов'язана з патогенезом різних серцево-судинних і ниркових захворювань, таких як вазоспазм та гломерулосклероз [151].

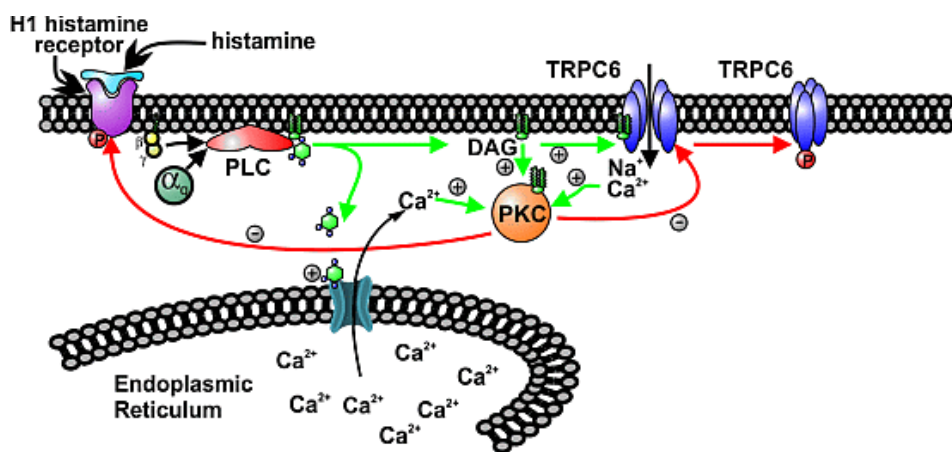


Рис. 1.12. Зв'язок H1 рецептора з TRPC6 [151]

За стимуляції агоністами H1 рецептора активність TRPC6 зменшується у часі до вихідного рівня, незважаючи на постійну наявність агоніста. Протеїнкіназа-залежне фосфорилування H1 рецептора призводить до зменшення утворення внутрішньоклітинного діацилгліцеролу, що сприяє регулюванню діяльності TRPC6 [151].

H2 рецептор – це глікопротеїн, що складається з 358 амінокислотних залишків і на 40 % гомологічний з H1 рецепторами. Молекулярна маса рецептора – 40098 Да. Містяться в парієтальних клітинах слизової оболонки шлунка, секреторних клітинах слинної залози, підшлунковій залозі, міометрії, гладеньких м'язах стінки артерій, жировій тканині, нейтрофільних гранулоцитах, тканинних базофілах, Т-лімфоцитах, рецепторах симпатичних нервів, нейронах ЦНС. Стимуляція цих рецепторів спричиняє підвищення секреторної активності екскреторних залоз шлунка, підшлункової залози, пригнічення скоротливої активності міометрію, активізацію вивільнення жирних кислот, пригнічення електричної активності нейронів кори великого мозку та ін. [20, 150, 391]. H2 рецептори також розташовані на постсинаптичній мембрані нейронів хвостатого ядра, шкаралупи, мигдалин і кори великих півкуль, а також клітин глії. Оскільки H2 рецептори зв'язані з G_s-протеїнами, то їхня активація веде до підвищення внутрішньоклітинної концентрації цАМФ. Більшість селективних антагоністів H2 рецепторів не здатна долати гемато-енцефалічний бар'єр.

H3 рецептор складається з 445 амінокислот і має молекулярну масу 48 671 Да. Виокремлення цих рецепторів в окрему групу пов'язане з фармакологічними властивостями. Розташовані пресинаптично, переважно у нейронах ЦНС, а саме у мембрані пресинаптичних терміналей (ауторецептори), в нервових закінченнях кишечника та інших нейронах. Активація цих рецепторів зумовлює пригнічення вивільнення медіаторів: гістаміну, норадреналіну, серотоніну, ацетилхоліну. H3 рецептори виявлено у ділянках лобної частки кори, базальних ядрах і *substantia nigra* середнього мозку. Внутрішньоклітинні ефекти обумовлені активацією Gi-протеїнів [37, 391].

H4 рецептор – рецептор, який пов'язаний теж з G-протеїнами (рис. 1.13). Протеїн містить 390 амінокислотних залишків, молекулярна маса його – 44 496 Да. Має дуже низьку гомологію до класичних H1 і H2 рецепторів і тільки на 35 % гомологічний з H3 рецептором. Висока експресія H4 рецептора у клітинах гемопоетичного походження та імунних клітин дає підстави припустити, що цей новий гістаміновий рецептор відіграє важливу роль у запальних та імунних реакціях. Активація H4 рецептора може бути посередником активації кальцій-опосередкованих шляхів і хемотаксису у тканинних базофілах [9, 125]. Ці рецептори ідентифіковано у селезінці, тимусі, імунних клітинах (Т-лімфоцитах, нейтрофілах, еозинофілах).

У статті E. Zampeli засвідчено, що H4 рецептор задіяний в експресії гемопоетичних клітин, а його хемотаксичні властивості визначають регулюючу роль цього рецептора в імунній системі. H4 рецептори модулюють міграцію еозинофілів і вибірккову рецепцію тканинних базофілів, що призводить до посилення гістамін-опосередкованої імунної

відповіді та, зрештою, до хронічного запалення. Участь H₄ рецепторів в активації дендритних клітин і диференціюванні Т-клітин засвідчує його імуномодулюючу функцію. Тому H₄ рецептор є важливим у лікуванні запальних захворювань, таких як алергія, астма, хронічний свербіж і аутоімунні захворювання [160].

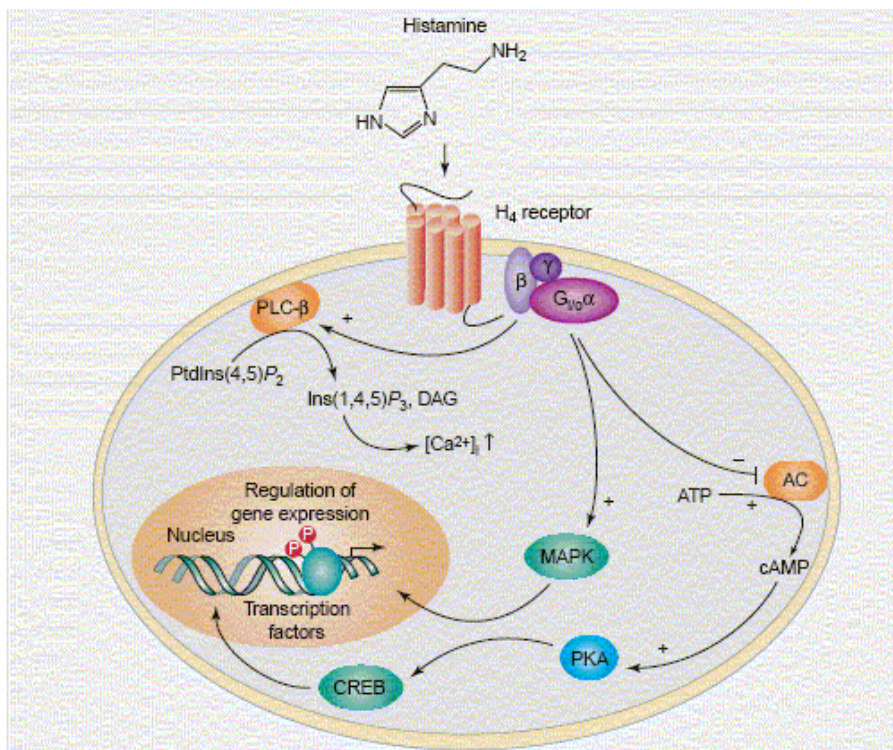


Рис. 1.13. Схема взаємодії гістаміну з H₄ рецептором [125]

За алергічних станів відбувається порушення інтенсивності процесів ПОЛ, пригнічення метаболізму продуктів арахідонової кислоти, синтез цитокінів та ін. Дисрегуляція метаболічних процесів за алергії підвищує енерговитрати, знижує активність мітохондрій, зумовлює дефіцит АТФ, що, у свою чергу, призводить до змін властивостей базових мембранних структур (транспортних АТФаз) [363].

Відомо, що у парієтальних клітинах шлунку гістамін активує H₂ рецептори. Це супроводжується збільшенням кількості внутрішньоклітинного цАМФ і, відповідно, веде до зростання активності H⁺, K⁺-АТФази безпосередньо через активацію протеїнкінази А. Фосфорилування протеїнів, таким чином, є необхідною умовою секреторних механізмів [1].

Поряд із негативною дією гістаміну, є повідомлення, що

лактобактерії *Lactobacillus Reuteri* 6475 (Lr) людської мікробіоти синтезують гістамін і можуть пригнічувати запалення через активацію 2-го типу рецепторів до гістаміну (H₂) у кишечнику ссавців. Мікроорганізми кишечника, такі як *Lactobacillus Reuteri* 6475, сприяють передачі сигналу від H₂ рецепторів і можуть пригнічувати H₁ рецептори до гістаміну, прозапальні сигнальні шляхи, проте механізм цей невідомий [38].

За підшкірного введення собакам гістаміну в концентрації 0,05 мг/кг відбувається пригнічення діурезу після водного навантаження. Його ефект знижується антигістамінним препаратом димедролом. Введення собакам гістаміну (в дозах 0,3–9 мкг/кг/хв) у кровотік нирок за інфузії протягом 10–20 хв викликає підвищення натрійурезу та діурезу в цьому органі. Екскреція калію зростає менш суттєво. Клубочкова фільтрація не змінюється. Тому пряма дія гістаміну на нирки полягає у пригніченні канальцевої реабсорбції натрію і води та пов'язана з впливом на H-гістамінові рецептори. Це свідчить, що антидіуретичний ефект гістаміну, який відбувається за резорбтивної дії, є непрямим і відбувається за участю антидіуретичного гормону. Великі дози гістаміну можуть пригнічувати діурез унаслідок різкої зміни гемодинаміки. За введення у ниркову артерію гістаміну в дозі 20 і більше мкг/кг/хв діурез сповільнюється аж до анурії [10, 141].

Відомо, що процес синтезу гістаміну переважно відбувається у тканинних базофілах, а також в епітелії кишечника, звідки біогенний амін надходить у кров і додатково акумулюється базофілами крові та тканинними базофілами. Синтез гістаміну також можуть виконувати молочнокислі бактерії. Вивільнення гістаміну з тканинних базофілів відбувається під час низки фізіологічних (вагітність, пологи) і патологічних (пошкодження тканин, запалення, алергічні реакції, atopічна астма, кон'юнктивіт) процесів у результаті дегрануляції тканинних базофілів під впливом численних ендогенних факторів, у тому числі Ig E і цитокінів, естрогенів, катехоламінів за взаємодії з α -адренорецепторами. Синтезовано екзогенні індуктори дегрануляції, наприклад, речовину 48/80 (це полімер, отриманий шляхом конденсації N-метил-p-метоксифенетиламіну з формальдегіду). Також наявні ендогенні й екзогенні стабілізатори тканинних базофілів; серед ендогенних – катехоламіни, які діють через b₂-адренорецептори і глюкокортикоїди, а серед екзогенних – кромолін (динатрієва сіль 5, 5- [(2-оксиприметил)діокси біс(-4-оксо)-4H-1-бензопіран-2-карбонової кислоти]), який застосовують у лікуванні алергічного риніту. Відомо, що гістамін інактивується шляхом метилювання, за участю N-метилтрансферази, ацетилювання й окисного дезамінування, за участю діамінооксидази чи гістамінази (рис. 1.14). Крім того, в організмі гістамін може метаболізуватися мікроорганізмами [59, 90].

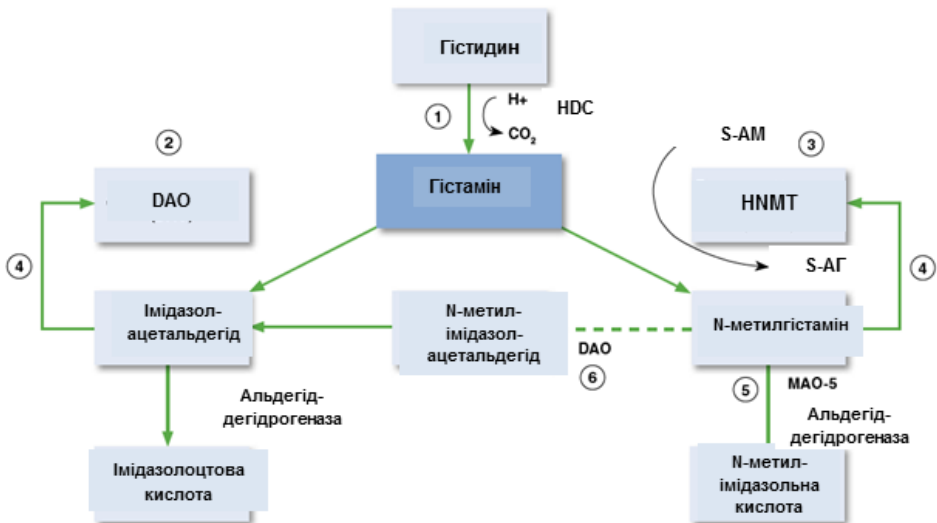


Рис. 1.14. Метаболізм гістаміну в організмі. Гістамін (1) синтезується шляхом декарбокислювання гістидину за допомогою гістидин-декарбоксилази (HDC). Руйнується він двома шляхами: поза клітиною через оксидативне дезамінування, реакція каталізується діаміноксидазою (DAO) (2), а також у клітині шляхом метилювання циклічної структури гістаміну за допомогою ензиму гістамін-N-метилтрансферази (HNMT) (3). У ділянках, де дії ензиму недостатньо (знижений рівень інгібування), відбувається накопичення гістаміну. Активність обох ензимів блокується продуктами їхнього ж гідролізу через ланцюг оборотного зв'язку (4). N-метилгістамін окиснюється моноаміноксидазою-B (MAO-B) (5) або DAO (6). Тим не менше, оскільки реакція метилювання відбувається у цитоплазмі, MAO-B (5) є головною складовою у руйнуванні N-метилгістаміну *in vivo*. S-АГ – S-аденозилгомоцистеїн; S-АМ – S-аденозилметіонін [321]

Відомо, що тканинні базофіли містяться як у паренхіматозних органах (серце, нирки, легені, селезінка), де вони розташовані переважно в капсулі, сполучнотканинних перетинках та інтерстиціальному просторі, так і у стінці порожнистих трубчастих органів [260]. У тканинах серця тканинні базофіли в більшості випадків розташовані навколо судин, інші мають інтерстиціальну локалізацію або містяться біля кардіоміоцитів. Тканинні базофіли скупчуються біля тих компонентів тканини, які є найбільш функціонально активними і тому мають можливість оперативно реагувати на зміни у функціонуванні робочого органа, зокрема, кардіоміоцитів, а розташування біля судин може слугувати підтвердженням теорії розселення тканинних базофілів через кров'яне русло. Це сприяє якнайшвидшому потраплянню секрету мастоцитів у кров'яне русло [260, 368].

За рахунок своїх біологічно активних речовин тканинні базофіли можуть впливати на процеси ангіогенезу: гепарин посилює міграцію

ендотеліальних клітин капілярів; гістамін активує проліферацію ендотелію, а фактор некрозу пухлин безпосередньо стимулює ангиогенез [260]. Активація H1 гістамінорецепторів веде до скорочення часу проведення імпульсу по атріо-вентрикулярному вузлу. Взаємодія гістаміну з H1 і H2 рецепторами зумовлює тахікардію. Діючи на H1 рецептори, біогенний амін також призводить до скорочення гладкої мускулатури дихальних шляхів, хронотропного ефекту в серці та до стимуляції закінчень сенсорних нервів, що спричиняє свербіння слизових оболонок і шкіри через стимуляцію тонких немієлінізованих C-волокон, які мають низьку швидкість передачі імпульсів та великі площі іннервації [29]. Деякі автори зазначають, що гістамін у серці через H1 рецептори зумовлює пригнічення передсердно-шлуночкової провідності, а через H2 рецептори веде до зниження тону міокарда. Взаємодія гістаміну з H3 рецепторами у серцево-судинній системі пригнічує вивільнення медіаторів у синапсах і зумовлює пригнічення функцій [392].

Гістамін – це перший встановлений медіатор алергії. Гістамін міститься в гранулах (у яких низьке рН) тканинних базофілів і базофілів крові у вигляді комплексу з протеогліканами [107]. У тканинних базофілах, розташованих у сполучній тканині, роль протеогліканового матриксу виконує гепарин, у базофілах – хондроїтин-4-сульфат. Концентрація гістаміну у тканинних базофілах слизових оболонок висока (5 мг/106). У тромбоцитах і базофілах його значно менше (1 мг/106). Вміст гістаміну в крові коливається протягом доби і в середньому становить 300 пг/мл. Пік дії гістаміну – через 1–2 хв після його вивільнення, тривалість дії – до 10 хв [107]. У позаклітинному середовищі, рН якого значно вище, ніж усередині гранул базофілів чи тканинних базофілів, гістамін стає легкорозчинним і дифундує з місця його синтезу. Частина гістаміну зв'язується з протеїнами сироватки крові. Стимуляція H1 рецепторів викликає скорочення гладеньких м'язів бронхів і шлунково-кишкового тракту, підвищення проникності судин, посилення секреції слизу залозами слизової носа, парез периферичних прекапілярів шкіри, подразнення нервових закінчень і свербіж. Гістамін відіграє важливу роль у регуляції імунної відповіді, оскільки H2 рецептори є на цитотоксичних Т-лімфоцитах і базофілах, а стимуляція цього рецептора гістаміном веде до активації Т-супресорів [107]. Matthew C. Wagner та ін. показали, що вивільнення гістаміну сприяє прикріпленню серпоподібних клітин еритроцитів до ендотелію у посткапілярних венулах і вазооклюзії. Адгезія серпоподібних клітин еритроцитів, викликаних гістаміном, залежить від одночасної стимуляції H2 та H4 рецепторів гістаміну й експресії ендотеліального Р-селектину [146]. Є низка медіаторів запалення, які продукуються лейкоцитами, в основному нейтрофілами, під час бактеріальної інвазії. Нейтрофіли виробляють і вивільняють еозинофіловий катіонний протеїн та гістамін – два важливих медіатори

запалення. У пацієнтів із пародонтитом нейтрофіли утворюють гістамін у відповідь на дію ліпополісахаридів [119].

Встановлено, що електроліти беруть активну участь у патогенезі бронхіальної астми, зокрема, у звільненні гістаміну й інших медіаторів з тканинних базофілів, у синтезі циклічних нуклеотидів. Іони кальцію беруть участь у звільненні з тканинних базофілів медіаторів алергічної реакції, різко підвищують секрецію слизу та скорочення гладеньких м'язів бронхів. Особливе місце серед електролітів займає магній. Він відіграє суттєву роль у механізмах алергічних реакцій. Показано, що через недостатність магнію в організмі виникає «дегрануляція» тканинних базофілів і звільняється гістамін, а також знижується здатність тканин зв'язувати ендogenous гістамін. У хворих на бронхіальну астму спостерігається значна втрата внутрішньоклітинного магнію та збільшення його вмісту в сироватці крові. Унаслідок дефіциту внутрішньоклітинного магнію знижується рівень цАМФ. Магній є регулятором переміщення іонів кальцію крізь клітинну мембрану і пригнічує бронхозвужувальний вплив деяких гуморальних речовин так ефективно, як і інгібітори кальцієвих каналів [343].

Результати досліджень О. Vasicek показують, що інгібуючі ефекти гістаміну на синтез активних форм кисню у фагоцитах цільної крові були викликані H₂ рецепторами. Агоністи H₄ рецепторів у концентраціях вище 10⁻⁶ М можуть також впливати на вироблення активних форм кисню через зв'язування з H₂ рецепторами [142].

Засвідчено, що гістамін у низьких концентраціях (близько 10⁻⁶ моль/л) під час взаємодії з H₁ рецепторами на мембрані нейтрофілів викликає респіраторний вибух, який супроводжується вивільненням у кров активних форм кисню. Вони, у свою чергу, ініціюють процеси ПОЛ, що лежать в основі медіаторної дії гістаміну під час запалення. У більш високих концентраціях (близько 10⁻⁵ моль/л) біогенний амін через H₂ рецептори знижує хемілюмінесцентну відповідь нейтрофілів і проявляє протизапальну дію. Гістамін і споріднені сполуки (гістидин, карнозин) можуть проявляти антирадикальну активність, яка визначається, в першу чергу, імідазольним кільцем, що є у складі їхніх молекул. Показано здатність гістаміну до взаємодії з O₂^{•-}, ¹O₂, [•]ОН і H₂O₂. Встановлено можливість участі гістидину в редокс-циклі заліза, у формуванні різних його комплексів, а також здатність попередника гістаміну виступати як активатор чи інгібітор ПОЛ у модельних системах, тому ця амінокислота може модулювати ПОЛ *in vivo*. Інкубація суспензії нейтрофілів із гістаміном у концентрації 10⁻⁶ моль/л зумовлює збільшення інтенсивності люцигензалежної хемілюмінесценції клітин, тоді як додавання гістаміну до цільної крові виявляє коригувальну дію на активність НАДФН-оксидазної ензиматичної системи [56].

Виявлено, що у пацієнтів із гострим мієлоїдним лейкозом (AML)

лікування гістаміном дигідрохлоридом і низькою дозою IL-2 на стадії після хіміотерапії зменшує частоту рецидиву лейкемії. Вплив гістаміну дигідрохлориду змінює експресію генів, які беруть участь у процесі диференціювання та прогресування клітинного циклу в клітинах мієлоїдного лейкозу. Виявлено, що ці ефекти потребували наявності NADPH оксидази-2 [68].

Із дослідів *in vitro* відомо, що гістамін через H₂ рецептори на еозинофілах пригнічує дегрануляцію останніх (тобто вивільнення гістамінази), а також власне вивільнення – за механізмом ауторегуляції. Гістаміназа інактивує гістамін у середовищі й таким чином підсилює дегрануляцію еозинофілів і тканинних базофілів [400].

Встановлено, що гістамін у концентрації 10⁻⁷–10⁻⁵ М зменшує вивільнення гістаміну з людських базофілів, діючи на H₂ рецептори. Цей біогенний амін пригнічує хемотаксис базофілів крові людини, а також проліферацію Т-лімфоцитів у морських свинок, мишей, людини. За достатньо високої дози гістаміну (для морських свинок 1 мг) виникає небезпечний гістаміновий шок.

Відомо, що підвищена концентрація гістаміну у крові може з'явитись у людей після вживання їжі з високим вмістом гістаміну, що призводить до інтоксикації [73].

Важливо зазначити, що гістаміназа знешкоджує гістамін (шляхом окиснювального дезамінування) до NH₃, аміноальдегіду та пероксиду водню. У свою чергу, аміноальдегід за допомогою альдегіддегідрогеназ окиснюється до органічних кислот. Власне, такі органічні кислоти можуть утворюватися під час взаємодії ГХН з гістаміном.

1.4. Гіпохлорит натрію та його дія на клітини і тканини

На сьогодні в медицині та ветеринарії широко застосовують ГХН (NaOCl) з метою детоксикації організму за різноманітних патологічних станів. ГХН дозволений для клінічного використання. ГХН, отриманий шляхом електролізу водного розчину хлористого натрію (електрохімічним методом), окиснює токсини не лише у крові, а й у тканинах органів, долаючи мембранний бар'єр. ГХН застосовують у ветеринарії для профілактики токсикозів, а також для очищення і знезараження питної водопровідної води [4, 18, 30, 36, 64, 76, 103, 243, 278, 298, 355]. У невеликих концентраціях ГХН є нетоксичним і легко виводиться з організму [4, 22, 53, 115]. У медичній практиці ГХН використовують у концентрації 200 мг/л, тоді як у ветеринарії з терапевтичною та профілактичною метою для дрібних тварин застосовують розчини у концентрації 20 мг/л [292, 297]. Цю речовину з 2007 р. почали застосовувати для очищення питної водопровідної води. Варто відзначити, що ці розчини мають сильні окисні властивості (редокс-потенціал

системи – OCl^-/Cl^- дорівнює 1,49 В), які можуть спричинити інтенсифікацію процесів ліпопероксидації у клітинах [4, 22, 154, 274].

Нині поширене біомедичне використання NaOCl для дезінфекції приміщень завдяки його ефективній дії на бактерії, віруси та гриби великого спектра [30, 58]. На сьогодні ГХН почали застосовувати для детоксикації організму під час отруєнь токсинами, у лікуванні цукрового діабету і т. п. [63, 111, 174, 308]. ГХН легко віддає активний кисень, виводиться з організму, має невелику молекулярну масу та малі розміри, завдяки чому швидко проходить крізь клітинні мембрани і, як наслідок, окиснює токсини та різні метаболіти, що містяться не тільки у крові, але й у тканинах [239]. ГХН може реагувати з водою з утворенням гіпохлоритної кислоти (HOCl) [30], яка характеризується високою хімічною активністю і відносно низькою стабільністю [4]: $\text{NaOCl} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HOCl} + \text{Na}^+ + \text{OH}^-$. У ветеринарії ГХН вже застосовують для профілактики токсикозів [296]. Проте відкритим залишається питання механізму його дії на організм, не уражений шкідливими сполуками. Дослідження, проведені у цьому напрямі, дадуть відповідь про ступінь безпечності застосування ГХН для профілактики патологічних станів людини і тварин.

Розчин ГХН є електрохімічною моделлю цитохрому Р-450, який локалізований у мембранах ендоплазматичної сітки печінки, нирок та інших органів, тому він ефективно діє на різні шкідливі сполуки, проявляючи дезінфікуючий і детоксикаційний ефект [239]. Цитохром Р-450 каталізує реакцію гідроксилування, в якій органічний субстрат RH гідроксильється до R-OH за рахунок одного з атомів кисню, тоді як другий атом кисню відновлюється до H_2O . Ці реакції активно проявляються, коли до організму потрапляють сторонні речовини, які погано розчиняються у воді. У результаті гідроксилування розчинність таких сполук підвищується, що сприяє їхній дезінтоксикації та виведенню з організму. Виходячи з вищесказаного, механізм дії розчину ГХН полягає у тому, що в організмі він вивільняє активний кисень, окиснюючи наявні там токсичні речовини, причому окиснення ксенобіотиків приводить до утворення кінцевого продукту, аналогічно тому, що отримують за участі цитохрому Р-450 [196]. Значною перевагою ГХН як переносника активного кисню є те, що він дає змогу обійти ефект «білкового захисту» шкідливих метаболітів. ГХН постійно наявний в організмі як один із головних компонентів природних факторів дезінтеграції інфекційного агента в лейкоциті [239]. NaOCl , потрапляючи у кров'яне русло, окиснює токсини та різні метаболіти. Відомо, що гістамін легко піддається окисненню. Є відомості, що ГХН знижує вміст гістаміну у крові людей за важких отруєнь психофармакологічними речовинами [111].

Встановлено, що ГХН у розбавлених водних розчинах за $\text{pH} = 7$ здійснює гідроксилювання органічних речовин: $\text{RH} + \text{NaClO} \rightarrow \text{ROH} + \text{NaCl}$ [111, 354].

Із літературних джерел [204, 205] відоме використання ГХН у медицині для санації ран, детоксикації організму. Він ефективно діє на різні токсини [297]. Ця сполука у великих концентраціях негативно впливає на організм, призводячи до некрозів тканин, оскільки надлишок активного кисню пошкоджує ліпіди клітинних мембран. Відомо про здатність гіпохлориту (OCl^-) активувати процеси ПОЛ як сильного окисника. OCl^- реагує з органічним гідропероксидом без утворення синглетного кисню. Реакція проходить через вільнорадикальні стадії, з утворенням алкоксильних радикалів. Особливо чутливими до ГХН є ліпіди клітинних мембран і, більшою мірою, ті, до складу яких входять ненасичені жирні кислоти. ГХН окиснює ліпіди у складі ліпопротеїнів за вільнорадикальним механізмом. Реакційна здатність гіпохлориту натрію зменшується у такому порядку: ліпопротеїни дуже низької густини \rightarrow ліпопротеїни низької густини \rightarrow ліпопротеїни високої густини [297]. Встановлено, що ГХН здатний окиснювати ліпіди ліпопротеїнів і що цей процес відбувається з пригніченням вільних радикалів. Також ця речовина окиснює холестерин, у результаті чого утворюється ряд оксипохідних, аналогічних тим, які утворюються за його гідроксилювання у печінці. ГХН здатний перетворювати білірубін на білівердин та інші водорозчинні продукти, що пришвидшує виведення цього токсичного метаболіту з організму. Проте вказано, що ГХН позитивно впливає на АОС через посилення відновної модифікації дисульфідних груп [111].

У медицині як дезінтоксикант використовують ГХН. Так, застосування ГХН у комплексному лікуванні алкогольного абстинентного синдрому в соматогенній стадії гострих отруень етанолом супроводжується більш інтенсивною корекцією показників гомеостазу, а також значним зниженням вираженого ендотоксикозу. Це сприяє підвищенню ефективності детоксикації організму і дає суттєве поліпшення результатів лікування [262]. Його використовують у комплексі з перманганатом калію і морською сіллю для купання новонароджених дітей, щоб інгібувати діяльність бактерій, знизити свербіння і посилити десквамацію [263].

ГХН є найбільш зручним і фізіологічним джерелом активного кисню. Розчин ГХН дедалі частіше починають застосовувати для профілактики інтоксикацій організму [205, 296, 297].

ГХН широко використовують в урології, оскільки він має антибактеріальні, детоксикуючі, дезагрегантні, гіпокоагуляційні властивості. Розроблено методи для внутрішнього, внутріпорожнинного і зовнішнього застосування. Важливою особливістю ГХН є його здатність виявляти нефропротекторну дію. Незважаючи на певне посилення

процесів альтерації (ПОЛ, тканинний дозозалежний енергодефіцит), остаточний захисний ефект є домінуючим. Нефропротекторна дія є при парентеральному введенні ГХН протягом 4 днів у передішемічному періоді у дозі 2–3 мг/кг. Це підтвержують дані виживання щурів після 90-хвилинної ішемії нирок, які дорівнюють 80 %, на відміну від 33 % у контрольній групі. ГХН застосовують у клінічних ситуаціях, коли прогнозується погіршення очисної та концентруючої функції нирок унаслідок дії ушкоджувальних екстремальних факторів різної природи і розвитку енергодефіциту в нирках [278].

С. А. Салманов встановив, що ГХН за введення в гостру фазу постішемічної ниркової недостатності виявляє двофазну дію: на 1 фазі (2 доби) збільшує пошкодження нирок, а під час 2 фази (3–7 діб) індукує пришвидшення розвитку репаративної реакції у нирках і відновлення їхньої функціональної повноцінності. Введення ГХН у передішемічному періоді зменшує морфологічні, функціональні й метаболічні наслідки ішемії нирок, дає змогу використовувати його для профілактики ниркової недостатності. Застосування ГХН у лікуванні хворих із нирковою недостатністю інфекційного генезу поліпшує функціональний стан нирок і підвищує ефективність комплексної терапії. Таке непряме електрохімічне окиснення крові розчином ГХН можна застосовувати за порушення функції нирок у післяопераційний період. За комплексного лікування з використанням ГХН хворих з інфекційно-токсичним шоком цей препарат дає змогу протягом доби стабілізувати артеріальний тиск, знизити інтоксикацію і покращити функціональний стан нирок. Механізм захисної дії ГХН за ниркової недостатності інфекційного й ішемічного генезу пов'язаний з активуванням процесів пероксидного окиснення мембранних ліпідів та з індукцією помірного енергодефіцитного стану, що є стимулом для збільшення енергопродукції, підвищення потужності системи АОЗ і стабілізації клітинних мембран [121].

За Т-2 токсикозу застосування розчину ГХН знижує інтенсивність процесів ПОЛ і активує систему АОЗ у корі головного мозку, у мозочку та довгастому мозку. За цих умов посилюється функціональна активність клітин, у яких збільшується кількість ядерць у ядрі, гіпертрофуються клітини й утворюються скупчення хроматофільної субстанції, відбувається відновлення мієлінової оболонки провідних шляхів. Отже, ГХН виступає як чинник знешкодження токсинів [239].

Короткотривале введення щурам розчину ГХН у кількості 5 мл на голову в концентрації 100 мг/л на 5-ту добу сприяє збільшенню кількості еритроцитів, лейкоцитів і концентрації гемоглобіну. Застосування білим мишам розчину ГХН у дозі 0,5 мл на тварину в концентрації 100, 200 і 300 мг/л на 5-ту і 7-му доби зумовлює збільшення рівня гемоглобіну та кількості лейкоцитів [301].

У дослідженнях Г. В. Кушнір показано, що застосування шурам упродовж 10 діб розчину ГХН у концентрації 50, 100 мг/л у кількості 5 мл на тварину суттєво не впливає на еритроцитарний індекс інтоксикації, тоді як концентрація 1000 мг/л в аналогічній дозі зумовлює зростання еритроцитарного індексу на 5-ту добу в 1,3 раза, на 10-ту добу – у 2,3 раза. Це вказує на підвищення концентрації ендogenous токсинів в організмі тварин. Застосування ГХН у концентрації 20 мг/л у кількості 0,75 мл/кг на тлі розвитку хронічної форми Т-2 токсикозу у щурів сприяє покращенню загального стану та наближенню гематологічних і біохімічних показників до контролю. Випоювання поросятam розчину ГХН у кількості 7–10 мл/кг двічі на добу в концентрації 100 та 200 мг/л на 15-ту добу експериментального Т-2 токсикозу сприяє збільшенню у крові рівня загального протеїну, альбумінів і γ -глобулінів, зростанню активності аспартатамінотрансферази у 1,8 та 1,5 раза, а також нормалізації концентрації глюкози, гемоглобіну, кількості еритроцитів, лейкоцитів і поліпшенню загального клінічного стану тварин, що свідчить про зниження активності Т-2 токсину за умови дезінтоксикаційного впливу розчину. Застосування розчину ГХН поросятam на тлі Т-2 токсикозу зумовлює морфофункціональну перебудову органів імунної системи, відновлення гістоструктури печінки та нирок, що забезпечує виражений імунорегулюючий та дезінтоксикаційний ефект [300, 301].

Показано, що ГХН здійснює антиагрегаційний ефект на тромбоцити. Це пов'язано з його впливом на рецепторний апарат цих клітин, а також з оборотною реакцією між тромбоцитами і продуктами модифікації плазми [111]. Зазначається, що низькі (мікромольні) концентрації ГХН посилюють процеси пероксидного окиснення у нейтрофілах та інгібують агрегацію лейкоцитів, що пов'язано з послабленням монооксигеназної пероксидації (яка необхідна для агрегації) у результаті посилення конкуруючої циклооксигеназної пероксидації ліпідів. Високі концентрації (0,5–1,5 ммоль/л) викликають агрегацію лейкоцитів [111].

У своїй праці А. С. Владика зазначає, що під час токсикозів застосовують ентеросорбцію, ультрафіолетове опромінення крові, інфузію ГХН, які підвищують імунітет, і гіпербаричну оксигенацію, яка зменшує зсув метаболічних процесів у бік катаболізму [210]. Антистафілококову активність ГХН було встановлено в дослідженнях *in vitro* та *in vivo* за концентрацій до 0,005 %. У цих концентраціях він є безпечним і ефективним. Його антимікробний ефект пояснюється здатністю викликати необоротну агрегацію основних бактеріальних протеїнів [94]. Інкубація *E. faecalis* за наявності ГХН 10^{-3} % (об'єм/об'єм) зумовлює різке зниження протеїнового синтезу, тоді як синтез лише семи протеїнів був активований. Протеїни, синтез яких був посилений, – це, в основному, кислі протеїни (рІ 4,5 до 5,6) з молекулярною масою нижче 14 кДа. Загальне зниження синтезу протеїнів, що спостерігається у клітинах,

обумовлене гіпохлоритом і може бути результатом окиснення ензимів, які беруть участь у біосинтезі протеїну, що й довели Хаслі та Леклерк. Про таке ферментативне окиснення також повідомив Ланглес та ін., використовуючи озон як дезінфікуючий засіб [58]. ГХН краще переноситься, легко доступний і дешевший, порівняно з іншими антисептичними засобами [94]. Внутрішньовенне введення комерційного препарату ГХН «ВетОкс» зі 40 % розчином глюкози у співвідношенні 1:1 у комплексі лікування хворих на субклінічний кетоз корів сприяє швидкому відновленню біохімічних показників крові, функції печінки, імунного й антиоксидантного статусу [377].

Показано, що антибактеріальна дія ГХН пов'язана зі збільшенням K^+ -іонної проникності за рахунок порушення цілісності ліпідних мембран унаслідок ПОЛ, а також із порушенням ліпід-протеїнової взаємодії. ГХН знижує осмоларність і в'язкість крові, а у поєднанні з фібринолітичною і протиагрегаційною дією він покращує мікроциркуляцію та реологію рідкої сполучної тканини. Засвідчено гіпосенсибілізуючу й імуномодулюючу дію ГХН на функцію імунокомпетентних клітин [111].

S. Quirce повідомляє, що початок або загострення астми у прибиральників можуть бути пов'язані з механізмом, що викликає подразнення або специфічну сенсибілізацію. Основними сенсибілізаторами, які містяться у засобах для чищення, є дезінфікуючі засоби, сполуки з амонієм (такі як бензалконій хлорид), амініні сполуки й ароматизатори. Найсильнішими подразниками дезінфікуючих речовин є відбілювач (ГХН), соляна кислота, кислотні та лужні агенти (аміак і гідроксид натрію), які зазвичай змішують разом [113].

Розчин ГХН отримують за допомогою активації 0,9 % розчину хлориду натрію електрохімічним способом за допомогою електролізерів. Отриманий розчин є безколірною прозорою речовиною, 1 л якої містить 600 мг активної сполуки – гіпохлориту натрію [36]. ГХН є високолужним (рН 11–12,5) та сильним окиснювачем протеїнів [147]. Оптимальною температурою зберігання розчинів ГХН є 3–5 °С [301]. Молярна маса цієї сполуки становить 74,44 г/моль. Використання електродів на титановій основі, мікропромтованих платиною, дає змогу отримувати стерильні розчини ГХН потрібної концентрації, які не містять домішок [111].

Строк зберігання концентратів суттєво скорочується внаслідок підвищення температури понад 30 °С і суттєво залежить від рН розчину. Від кислотності розчину залежить і мікробіцидна активність сполуки. Найвища активність кисневих сполук хлору досягається за рН 7–8, коли концентрації гіпохлоритної кислоти і гіпохлорит-іона практично однакові. Метастабільна суміш оксидантів за такими показниками практично виключає можливість розвитку резистентних штамів мікроорганізмів. Водночас вона негативно не впливає на людський організм. Останніми роками активно розробляють стабілізатори для розчинів гіпохлоритів, які

допоможуть продовжити строк зберігання до 2–2,5 років. Так, для зменшення швидкості розкладання застосовують аміни, зокрема, таурин. Утворений у результаті монохлортаурин запропоновано використовувати як ефективний дезінфектант і антисептик з широким спектром біоцидної активності, високою стабільністю і коротким часом експозиції. Повідомляється, що комбінація гіпохлориту з таурином, так само, як і референтні розчини ГХН, мають виражену тенденцію до потенціювання репаративних процесів в організмі [145, 365].

Повний гемоліз еритроцитів відбувається у дослідях *in vitro* з NaOCl за розбавлення до 1:1000 (приготованого з 5,25 % гіпохлориту натрію). Вплив нерозведеного і розведеного 1:10 розчинів NaOCl на рогівку кроликів призводить до сильного подразнення, яке зникає через 24–48 год. Внутрішньодермальні ін'єкції нерозбавлених і розбавлених розчинів NaOCl у співвідношенні 1:1, 1:2 та 1:4 викликають болючі виразки шкіри, але без екхімозів (крововиливів). На культурах клітин *in vitro* встановлено, що дуже низькі концентрації NaOCl (> 0,01 %) мають смертельний вплив на фібробласти людини [147].

У науковій праці S. I. Petrov зазначено, що ГХН у низьких концентраціях (від 10^{-7} до 10^{-5} моль/л) здатний проникати всередину еритроцитів, не змінюючи їхньої форми. За збільшення концентрації з'являється частковий гемоліз. Інші клітини крові також активно взаємодіють з ГХН [111].

Дослідження впливу ГХН на компоненти крові показало, що він може активно взаємодіяти зі сульфгідрильними та дисульфідними групами амінокислот, пригнічуючи їхню активність. Засвідчено, що ГХН окиснює й інгібує активність пероксидази та каталази [111].

Проте на сьогодні залишається невідомим вплив розчину ГХН на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз тканин не ураженого токсинами організму, оскільки відомо, що за дії різних екстремальних факторів (токсини, шкідливі продукти обміну речовин організму, стресові чинники) відбувається посилення вільнорадикальних реакцій [313]. А ГХН необхідно розглядати як один із таких факторів. Тому вивчення впливу ГХН на здоровий організм, а саме на його прооксидантно-антиоксидантний стан, є актуальною проблемою сьогодення.

Залишається невивченою дія гістаміну (він чинить як регуляторний, так і патологічний вплив на різні органи і тканини організму) на еритроцити. Відкрите питання щодо того, чи є на мембрані еритроцитів рецептори до гістаміну, чи можуть ці клітини адсорбувати гістамін, а також як діє гістамін на систему антиоксидантного захисту в них. Провівши детальний пошук серед наукової літератури, ми не віднайшли інформації про безпосередній вплив гістаміну на прооксидантні та структурні особливості тканин печінки (оскільки відомо, що на мембранах клітин цих органів розташовані рецептори до гістаміну), серцевого м'яза

(оскільки відомо, що він особливо чутливий до дії гістаміну), нирок (оскільки відомо, що надмірна кількість гістаміну, який вивільняється у кров'яне русло, порушує їхню звичну роботу), селезінки (оскільки відомо, що у ньому містяться H₄ рецептори до гістаміну). Невивченим залишається також питання взаємної дії гістаміну і ГХН на вільнорадикальні процеси та морфологію клітин різних тканин організму. Дослідження такого плану мають важливе значення для розуміння механізму дії ГХН та гістаміну на клітинному рівні й відкривають широкі можливості для профілактики різних типів захворювань, що супроводжуються вивільненням гістаміну з тканинних базофілів і базофілів крові. Враховуючи те, що ГХН здійснює непряме електрохімічне окиснення речовин не тільки у крові, а й у тканинах органів, важливо вивчити дію ГХН на морфофункціональний стан клітин.

Розділ 2. МЕТОДОЛОГІЧНІ ПІДХОДИ ДО ВИВЧЕННЯ ЗМІН МОРФО- ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ОРГАНІЗМІВ

2.1. Дослідження прооксидантного стану біологічних об'єктів

2.1.1. Вміст гідропероксидів ліпідів у біологічних зразках

Принцип методу полягає в тому, що в розбавлених водних розчинах гідропероксиди ліпідів окислюють Fe^{2+} до Fe^{3+} . Останній може бути виявлений за допомогою кольорової реакції з тіоціанатом амонію за максимуму поглинання 480 нм [329].

Хід роботи: до 0,2 мл гомогенату додають 2,8 мл 96° етанолу, 0,05 мл 50 %-ного розчину трихлороцтової кислоти (ТХО). Пробірку зі сумішшю струшують протягом 5 хв. Після цього відбирають по 1,5 мл супернатанту, до якого додають 1,2 мл 96° етанолу, 0,02 мл концентрованої HCl, 0,03 мл 1 %-ного розчину солі Мора (приготованого на 3 %-ному розчині HCl), 0,2 мл 20 %-ного розчину тіоціанату амонію. Фотометрування проводять за $\lambda = 480$ нм. Вміст гідропероксидів ліпідів (ГП) визначають за різницею між дослідним зразком і контролем, у який замість гомогенату тканини вносять відповідну кількість бідистильованої води. Вміст ГП ліпідів подають в ум. од./мг протеїну.

2.1.2. Вміст дієнових кон'югатів у біологічних зразках

Визначення вмісту дієнових кон'югатів базується на їхній властивості поглинати світлове випромінювання в ультрафіолетовому спектрі за довжини хвилі 232 нм. Оптична густина розчину пропорційна вмісту дієнових кон'югатів у гомогенаті.

0,2 мл гомогенату змішують з 1,8 мл реактиву А (Н-гептан: ізопропіловий спирт у співвідношенні 1:1), після чого інкубують за кімнатної температури 30 хв. Проводять фільтрацію і до надосадової рідини додають по 3 краплі води. Суміш добре струшують. До гептанової фази (0,5 мл) додають по 2 мл 96° етанолу. Екстинкцію вимірюють на кварцовій лампі за довжини хвилі $\lambda = 233$ нм [364].

Обчислення проводять за формулою:

$$[ДК] = \frac{\Delta E_{233} \cdot V_e}{\varepsilon \cdot V \cdot C} \quad \text{мкмоль/мг протеїну,}$$

де: $[ДК]$ – вміст дієнових кон'югат у пробі; ΔE – різниця екстинкції холостої та дослідної проб; V_e – кінцевий об'єм верхнього гептанового шару; V – об'єм гомогенату тканини; ε – молярний коефіцієнт екстинкції, дорівнює $220\,000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, у розрахунках використовували мілімолярний

коефіцієнт екстинкції, виражений як $220 \text{ см}^2/\text{мкмоль}$; C – концентрація протеїну в гомогенатах.

Отримані результати виражають у мкмоль/мг протеїну.

2.1.3. Вміст ТБК-позитивних продуктів у біологічних зразках

Принцип методу ґрунтується на активації ПОЛ іонами двовалентного заліза до рівня, який реєструється спектрофотометрично. За високої температури в кислому середовищі малоновий діальдегід (МДА) реагує з тіобарбітуровою кислотою (ТБК), утворюючи забарвлений триметиний комплекс із максимумом поглинання за 532 нм (рис. 2.1) [259].

До 0,2 мл гомогенату тканини додають 3 мл 10 мМ К-На фосфатного буферу (рН = 7,4). Для індукції ПОЛ двічі з інтервалом у 10 хв додають по 0,5 мл 10 мМ FeSO₄. Реакцію зупиняють за допомогою 20 %-ного розчину ТХО, відцентрують. До 2 мл супернатанту додають 0,5 мл 1 н НСl і 1 мл 0,7 мМ ТБК та інкубують на водяній бані за температури 95–100 °С протягом 20 хв. Після охолодження додають 3 мл бутанолу, центрифугують упродовж 10 хв за 1500 г. Вимірювання екстинкції проводять у верхньому бутаноловому шарі за $\lambda = 532 \text{ нм}$.

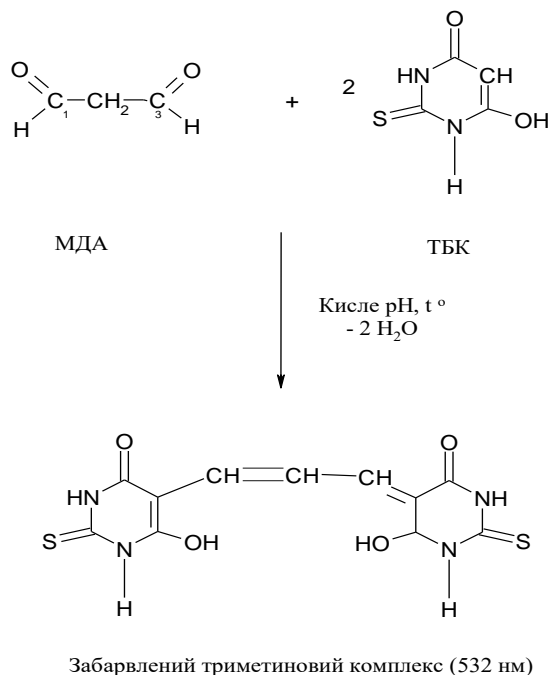


Рис. 2.1. Схема визначення МДА за кольоровою реакцією з ТБК

Обчислення здійснюють за формулою:

$$[ТБК - позитивні_продукти] = \frac{E \cdot V_1 \cdot V_2}{\varepsilon \cdot V \cdot C} \text{ мкмоль/мг протеїну,}$$

де: E – екстинкція дослідної проби; ε – молярний коефіцієнт екстинкції, що дорівнює $156\,000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$, у розрахунках використовували значення мілімолярного коефіцієнта екстинкції, виражене як $156 \text{ см}^2/\text{мкмоль}$; V_1 – об'єм бутанолу; V_2 – об'єм проби; V – об'єм супернатанту; C – концентрація протеїну в супернатанті.

2.1.4. Вміст сіалових кислот у біологічних зразках (метод Гесса)

Принцип методу полягає у тому, що в результаті гідролізу безбілкового фільтрату зі складу сіалоглікопротеїнів виділяються сіалові кислоти, які з розчином сульфатної кислоти в льодяній оцтовій кислоті у кип'ячій водяній бані дають кольорову реакцію [318].

До 1 мл гомогенату додають 1 мл 20 %-ного розчину ТХО. Суміш кип'ятять на водяній бані впродовж 5 хв і охолоджують на льодяній бані впродовж 5 хв. Центрифугують за 2000 об/хв упродовж 5 хв. Відбирають 0,4 мл супернатанту, до якого додають 5 мл оцтово-сульфатного реактиву (до 95 мл льодяної оцтової кислоти влити малими порціями 5 мл концентрованої H_2SO_4 і ретельно перемішати, зануривши ємність у лід). До холостої проби вносять лише 3 мл оцтово-сульфатного реактиву. Пробірки, до яких добавляли оцтово-сульфатний реактив, закривають скляними корками та витримують на кип'ячій водяній бані 30 хв, після чого охолоджують. Колориметричне вимірювання проводять за 500–600 нм при зеленому світлофільтрі проти холостої проби. Обчислення проводять за формулою:

$$СК = (E \cdot 15) / C, \quad \text{ммоль/мг протеїну,}$$

де: $СК$ – вміст сіалових кислот; E – екстинкція дослідної проби; 15 – коефіцієнт перерахунку для представлення значень у мілімолях; C – концентрація протеїну.

2.1.5. Вміст карбонільних груп протеїнів у біологічних зразках

Під час модифікації білкових молекул, за дії активних форм кисню, утворюються додаткові карбонільні групи у бічних ланцюгах амінокислот, вміст яких визначається в реакції з 2,4-динітрофенілгідразином (ДНФГ). Зміна вмісту карбонільних груп є показником раннього окиснювання і чутливим індексом цього процесу за різних патологій.

У процесі окисдатовної модифікації протеїнів у радикалах залишків аліфатичних амінокислот утворюються альдегідні й кетонні групи. Останні взаємодіють з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням

2,4-динітрофенілгідрозонів, що мають характерний спектр поглинання [316].

Відомо, що в результаті окиснення протеїнів, залежно від переважання в їхніх молекулах амінокислот нейтрального (валін, лейцин, ізолейцин та ін.) чи основного (лізин, аргінін та ін.) характеру, утворюються альдегідо- або кетонітрофенілгідрозони нейтрального або основного характеру, які мають різні діапазони спектру поглинання. За довжини хвилі 356 нм визначають альдегідодинітрофенілгідрозони, за 370 нм – кетонітрофенілгідрозони нейтрального характеру, за довжин хвиль 430 нм і 530 нм реєструють відповідно альдегідодинітрофенілгідрозони та кетонітрофенілгідрозони основного характеру [353].

Згідно з даними автора методики І. Ф. Мешишен, альдегідо- і кетонітрофенілгідрозонів нейтрального характеру реєструють за 370 нм, а основного характеру – за 430 нм [316]. На основі молярного коефіцієнта екстинкції ($2,1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) знаходять вміст фенілгідрозонів.

У центрифужні пробірки вносять 0,8 мл 0,85 %-ного розчину NaCl, 0,2 мл гемолізату крові, 1 мл 0,1М 2,4-динітрофенілгідрозину, розчиненого в 2М HCl. Проби інкубують 1 год за 37 °С, а далі центрифугують 10 хв за 3000 об/хв. Одержаний осад промивають тричі 5 %-ною ТХО по 5 мл, щоразу старанно суспендуючи осад скляною паличкою. До одержаного осаду додають 5 мл 8М розчину сечовини, витримують 5 хв у кип'ячій водяній бані до повного розчинення.

Оптичну густину утворених динітрофенілгідрозонів реєструють за 370 і 430 нм проти контролю. Паралельно проводять визначення у зразку вмісту протеїну.

Вміст динітрофенілгідрозонів обчислюють за формулою:

$$A_{370/430} = E \cdot D \cdot 1000 / C \cdot 21, \text{ мкмоль/мг протеїну,}$$

де: $A_{370/430}$ – вміст динітрофенілгідрозонів нейтрального характеру (за 370 нм) та основного характеру (за 430 нм); E – екстинкція проби; D – розведення; C – концентрація протеїну; 21 – коефіцієнт молярної екстинкції.

2.2. Вивчення антиоксидантної системи біологічних об'єктів

2.2.1. Супероксиддисмутазна активність

Принцип методу ґрунтується на тому, що N,N,N,N-тетраметилетилендіамін (ТЕМЕД) каталізує утворення вільних радикалів ($\text{O}_2^{\cdot-}$), які взаємодіють з кверцетином (і його окиснюють). Якщо в середовищі є супероксиддисмутаза, то вона перехоплює $\text{O}_2^{\cdot-}$ і кверцетин залишається у незміненому вигляді (неокиснений).

Визначення активності супероксиддисмутази проводять у кілька етапів:

1. Готують реактив С. Для цього змішують 100 мл 0,08 мМ етилендіамінтетраоцтову кислоту (ЕДТА) та 100 мл 0,1 М фосфатного буферу (рН 7,8), потім суміш доводять ТЕМЕДом до рН ≥ 10 .

2. 1,4 мкМ кверцетин, приготований на диметилсульфоксиді, переводять у рідкий стан, занурюючи у гарячу воду. Безпосередньо перед визначенням кверцетин розводять у розрахунку: 0,2 мл кверцетину доводять дистильованою водою до 2 мл.

У пробірку для контролю додають 1 мл реактиву С, 2,4 мл H_2O , 0,1 мл кверцетину. У дослідну пробірку додають 1 мл реактиву С, 2,3 мл H_2O , 0,1 мл гомогенату, 0,1 мл кверцетину.

3. Суміші в обох пробірках перемішують і швидко вимірюють. Вимірювання проводять на спектрофотометрі СФ-26 за довжини хвилі $\lambda = 406$ нм проти контрольної проби кверцетину в нульовий момент (одразу після додавання кверцетину) та через 20 хв.

Супероксиддисмутазну активність обчислюють за формулою [291]:

$$A_{(акт\ СОД)} = [(D' - D''/D') \cdot 100] \cdot 29,49 \quad \text{од. активності/мг протеїну,}$$

$$D' = E_{к\ вих.} - E_{досл\ 20\ хв},$$

$$D'' = E_{досл\ вих.} - E_{досл\ 20\ хв},$$

де: $A_{(акт\ СОД)}$ – супероксиддисмутазна активність; D – значення оптичної густини; 29,49 – коефіцієнт перерахунку відсотка інгібування окиснення кверцетину супероксиддисмутазою (під час якого утворюється O_2^-), який визначений за графіком калібрувальної кривої, побудованим для чистого кристалічного препарату супероксиддисмутази. Потрібний для того, щоб значення активності супероксиддисмутази можна було представляти в розмірностях [од. акт./хв мг протеїну]; E – екстинкція.

2.2.2. Каталазна активність

Принцип методу базується на здатності H_2O_2 утворювати зі солями молібдену стійкий забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення перекисних сполук молібдену залежить від кількості H_2O_2 в розчині [259]. Каталаза, розкладаючи пероксид водню, зменшує інтенсивність забарвлення у зразку.

Каталазну реакцію запускають додаванням 0,1 мл гомогенату до 2 мл 0,03 %-ного розчину H_2O_2 . У сліпу пробу замість гомогенату вносять 1 мл 4 %-ного розчину молібдату амонію. Реакцію у дослідних пробірках зупиняють через 10 хв додаванням 1 мл 4 %-ного розчину молібдату амонію. У контрольні проби додають 0,1 мл гомогенату. Після ретельного перемішування до дослідних пробірок вносять по 1 мл 0,25 н H_2SO_4 , а до контрольних – по 1 мл 0,5 н H_2SO_4 .

Інтенсивність забарвлення контрольної та дослідної проб визначають спектрофотометрично за довжини хвилі 410 нм проти води.

Каталазну активність визначають за формулою:

$$A_{КАТ} = \frac{\Delta E \cdot V \cdot n}{\varepsilon \cdot C \cdot t \cdot \alpha \cdot l} \quad \text{мкмоль H}_2\text{O}_2/\text{хв мг протеїну},$$

де: $A_{КАТ}$ – каталазна активність; ΔE – різниця екстинкції холостої та дослідної проб; V – загальний об'єм суміші в кюветі; n – розведення вихідного екстракту; ε – молярний коефіцієнт екстинкції комплексу H_2O_2 з молібдатом амонію, рівний $22\,200 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, в розрахунках використовували значення мілімолярного коефіцієнта екстинкції $22,2 \text{ cm}^2/\text{мкмоль}$; C – концентрація протеїну в гомогенатах; t – час реакції; α – об'єм екстракту; l – довжина оптичного шляху.

Отримані результати виражають в мкмоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв мг протеїну}$.

2.2.3. Глутатіонпероксидазна активність

Принцип методу [346]. Мірою ензиматичної активності глутатіонпероксидази є швидкість окиснення глутатіону за наявності гідропероксиду третинного бутилу. Концентрацію відновленого глутатіону до і після інкубації визначають колориметрично. В основі розвитку кольорової реакції лежить взаємодія SH-груп із 5,5' дитіо-біс (2-нітробензойною) кислотою (ДТНБК) з утворенням забарвленого продукту – тіонітрофенільного аніона (ТНФА). Кількість останнього прямо пропорційна кількості SH-груп, які прореагували із ДТНБК.

У ході досліді використовують такі реактиви:

I) трис-НСІ буфер 0,1 М (рН 8,5), який містить 6 мМ ЕДТА та 12 мМ азид натрію. Безпосередньо перед аналізом на цьому буфері готують 4,8 мМ розчин відновленого глутатіону;

II) гідропероксид третинного бутилу 20 мМ (готують перед аналізом розведенням вихідного реактиву в 500 разів);

100 мкл гомогенату інкубують із 830 мкл реактиву I впродовж 10 хв за 37°C , додають 70 мкл реактиву II та інкубують 5 хв. Реакцію зупиняють додаванням 0,2 мл холодного 20 %-ного розчину ТХО, осаджених білків позбуваються шляхом центрифугування за 8000 об/хв. До 100 мкл супернатанту додають 10 мл 0,1 М трис-НСІ буферу (рН 8,5) та 100 мкл 0,01 М реактиву Елмана (ДТНБК), приготованого на метанолі. Через 5 хв проби фотометрують у кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см за 412 нм.

Контрольна проба відрізняється тим, що дослідний зразок вносять безпосередньо перед осадженням протеїнів. Із урахуванням розведення

біологічного матеріалу в даній методиці та коефіцієнта молярної екстинкції ТНФА за 412 нм – 11400, розраховують ГПО активність у мкМ використаного в реакції субстрату за формулою:

$$A_{\text{ГПО}} = \frac{\Delta E \cdot \alpha \cdot b}{\varepsilon \cdot V_{\text{тк.фр}} \cdot V_{\text{super}} \cdot C \cdot t \cdot l} \text{ мкмоль G-SH/хв} \cdot \text{мг протеїну},$$

де: $A_{\text{ГПО}}$ – глутатіонпероксидазна активність; ΔE – різниця екстинкції за час реакції; α – об'єм трис-НСІ буфера, гідропероксиду трет-бутилу, розчину ТХО; b – об'єм супернатанту, трис-НСІ буфера та реактиву Елмана; ε – молярний коефіцієнт екстинкції тіонітрофенільного аніона, дорівнює $11\,400 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$, у розрахунках використовували мілімолярний коефіцієнт екстинкції, виражений як $11,4 \text{ см}^2/\text{мкмоль}$; V_{super} – об'єм супернатанту (0,02 мл); $V_{\text{тк.фр}}$ – об'єм тканинної фракції; t – час реакції; C – концентрація протеїну, мг/мл; α – об'єм проби, яку вносять у кювету; l – довжина оптичного шляху (1 см).

Отримані результати виражають в мкмоль G-SH/хв·мг протеїну.

2.2.4. Глутатіон-S-трансферазна активність

ГТ активність [45] визначається за швидкістю утворення глутатіон-S-кон'югатів між відновленим глутатіоном (GSH) і 1-хлор-2,4-динітробензолом (ХДНБ).

До 2,5 мл 0,1 М К, Na-фосфатного буферу (рН 6,5) додають 0,2 мл 0,015 М розчину GSH та 0,1 мл гомогенату. Реакцію ініціюють внесенням у кювету 0,2 мл 0,015 М розчину ХДНБ. Для виставлення приладу на «0» готують контрольну пробу, яка містить 2,5 мл К, Na-фосфатного буферу та 0,2 мл розчину GSH.

Збільшення концентрації кон'югатів у ході реакції реєструють спектрофотометрично за довжини хвилі 340 нм (максимум поглинання глутатіон-S-ХДНБ) і температури 25 °С протягом 1,5 хв.

ГТ активність визначають за формулою:

$$A = \frac{\left(\frac{\Delta D}{T} \cdot V_{\text{реакц. суміші}} \cdot X\right)}{\varepsilon \cdot V_{\text{проби}} \cdot C \cdot L} \text{ мкмоль 1-хлор-2,4-динітробензол/хв мг протеїну},$$

де: A – глутатіон-S-трансферазна активність; ΔD – зміна оптичної густини в початковий і кінцевий момент часу; T – час реакції, хв; X – розведення використаного об'єму проби в реакційній суміші; ε – коефіцієнт молярної екстинкції за 340 нм – $9,6 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$; C – вміст протеїну у пробі; $V_{\text{проби}}$ – об'єм проби, що використовується для визначення активності ензиму, мл; $V_{\text{реакц. суміші}}$ – об'єм реакційної суміші в кюветі, мл; L – довжина оптичного шляху, см.

2.2.5. Вміст відновленого глутатіону

Вміст відновленого глутатіону визначають за здатністю його тіолових груп за взаємодії з 5,5'-дитіо-біс-2-нітробензойною кислотою (ДТНБК, реактив Елмана) утворювати забарвлену сполуку тіо-2-нітробензойну кислоту [356].

До 1 мл гологенату додають 7 мл 0,36 н H_2SO_4 , 2 мл 10 % Na_2WO_4 та центрифугують за 10 000g протягом 10 хв. Відбирають 1 мл супернатанту, до якого додають 0,75 мл 2 М трис-НСІ буферу (рН 8,4), 0,5 мл ацетону та 0,25 мл реактиву Елмана (9,9 мг довести до 2,5 мл метанолу). Контрольний зразок містить 1 мл 4,8 мМ відновленого глутатіону (приготованого на 0,36 н H_2SO_4), 0,75 мл трис-НСІ буферу, 0,5 мл ацетону та 0,25 мл реактиву Елмана. Вимірювання оптичної густини дослідних і контрольних груп проводять за довжини хвилі 412 нм.

Вміст відновленого глутатіону визначають за формулою:

$$GSH = \frac{(E_k - E_o) \cdot n}{S_t \cdot C} \quad \text{мкмоль/мг протеїну,}$$

де: GSH – вміст відновленого глутатіону; E_k – екстинкція контрольної проби; E_o – екстинкція дослідної проби; n – розведення; S_t – концентрація відновленого глутатіону у стандартній пробі; C – концентрація протеїну.

2.3. Дослідження активності мембранопов'язаних ензимів

2.3.1. Mg^{2+} -залежна Na^+ , K^+ -АТФазна активність

Визначення Na^+ , K^+ -АТФазної активності базується на здатності убаїну інгібувати цей ензим. Для цього визначають активність мембранного препарату в певному інкубаційному середовищі й паралельно вимірюють АТФазну активність за наявності убаїну. Na^+ , K^+ -АТФазну активність визначають як різницю значень активності в середовищі з убаїном і без нього [332].

У проби, які містять 1 мл інкубаційного середовища та 0,1 мл 3 мМ АТФ- Na_2 , вносять по 0,1 мл гомогенату. В одну з контрольних пробірок додають по 0,1 мл 0,1 мМ убаїну (приготованого на 50 мМ трис-СІ буфері, рН 7,4) та 1 мМ NaN_3 (приготованого на 50 мМ трис-СІ буфері, рН 7,4). Після додавання відповідних розчинів проводять інкубацію проб упродовж 15 хв за температури 21 °С. Для припинення гідролізу додають 10 %-ного ТХО (у співвідношенні 1:1). Після припинення ферментативної реакції для осадження протеїну проби центрифугують 10 хв за 2100 об/хв. Нейтралізують ТХО (рН 3,9–4), доливаючи до проб 1,5 мл ацетатного буфера (рН 4,5). До надосадової рідини, що містить P_n , вносять по 0,2 мл

2 %-ного молібдату амонію (приготованого на 0,05 н H_2SO_4 і 0,001 н $CuSO_4$) і 0,2 мл 2 %-ної свіжоприготованої аскорбінової кислоти. Проби перемішують і залишають за кімнатної температури на 20 хв для розвитку забарвлення. Після закінчення цього часу вимірюють значення екстинкції на спектрофотометрі за довжини хвилі 700 нм. Вміст протеїну визначають за методом Лоурі, водночас у 0,1 мл проби його вміст не має перевищувати 100–250 мкг. Розраховують Na^+ , K^+ -АТФазну активність за різницею між загальною активністю АТФаз і активністю за наявності убаїну [214].

АТФазну активність розраховують за формулою:

$$A = \frac{6P_i}{aM} \quad \text{мкмоль/год мг протеїну,}$$

де: A – АТФазна активність; P_i – вміст фосфору у пробі, знайдений за калібрувальним графіком для визначення фосфору неорганічного за методом Фіске-Суббароу [33]; a – вміст протеїну в пробі; M – молекулярна маса фосфору.

2.3.2. Mg^{2+} -залежна Ca^{2+} -АТФазна активність

Mg^{2+} -залежну Ca^{2+} -АТФазну активність визначають шляхом віднімання кальцій незалежної (базової) АТФазної активності (виміряної за наявності етиленгліколь біс(2-аміноетил етер)- N,N,N',N' тетраоцтової кислоти (ЕГТА) і за відсутності Ca^{2+}) від загальної АТФазної активності (за наявності Ca^{2+}).

Ca^{2+} -АТФазну активність визначають у середовищі інкубації об'ємом 1 мл, який містить 20 ммоль/л трис-НСІ (рН 7,4), 100 ммоль/л КСІ, 50 ммоль/л NaСІ, 0,01 ммоль/л CaСІ₂, 3 ммоль/л MgСІ₂. До середовища вносять протеїн мембранного препарату (3–5 мкг/мл). Реакцію розпочинають, додаючи 5 ммоль/л АТФ, розчин якого готують перед використанням. Проби інкубують упродовж 30 хв за температури 24 °С. Реакцію зупиняють, додаючи 1 мл 20 %-ного розчину ТХО. Протеїн осаджують центрифугуванням за 3000 об/хв упродовж 10 хв. У надосадовій рідині визначають вміст неорганічного фосфору за методом Фіске-Суббароу. Щоб зупинити енергозалежний гідроліз АТФ у мітохондріальному контаміні, до інкубаційного середовища додають 1 ммоль/л азиду натрію. Убаїн (1 ммоль/л) додають в інкубаційне середовище, щоб пригнітити Na^+ , K^+ -АТФазну активність плазматичної мембрани. Активність Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФази розраховують за формулою як різницю між загальною АТФазною активністю й активністю Mg^{2+} -АТФази (швидкість гідролізу АТФ у середовищі без кальцію) [332, 382].

АТФазну активність розраховують за формулою:

$$A = \frac{6P_i}{aM} \quad \text{мкмоль/год мг протеїну,}$$

де: A – АТФазна активність; P_i – вміст фосфору в пробі, знайдений за калібрувальним графіком для визначення фосфору неорганічного за методом Фіске-Суббароу; a – вміст протеїну в пробі; M – молекулярна маса фосфору.

2.4. Фарбування гістопрепаратів для світлової мікроскопії

2.4.1. Фарбування гістозрізів гематоксилін-еозином

Фіксацію зразків тканин органів проводять у 15 %-ному нейтральному розчині формаліну впродовж 2 діб. Зразки тканин піддають зневодненню відразу після формалінової фіксації. Уся процедура зневоднення матеріалу полягає в проведенні його через ряд спиртів зростаючої міцності (60°, 70°, 80°, 90°, 96°–I, 96°–II) і витримуванні по 24 год у кожному з них. Після цього проводять заливання зразків парафіном. Парафінові блоки ріжуть на мікротомі та наклеюють на предметні скельця. Наклеєні на предметні скельця гістозрізи проводять через таку послідовність реактивів:

1) ксилол I – 2 хв; 2) ксилол II – 2 хв (промокають фільтрувальним папером); 3) 96° етиловий спирт I – 5 хв; 4) 96° етиловий спирт II – 5 хв; 5) 70° етиловий спирт – 3 хв; 6) вода дистильована – 2 хв (промокають); 7) гематоксилін – 1 хв (капають на скло з гістозрізом, попередньо профільтрувавши); 8) вода дистильована; 9) вода водопровідна – 10–15 хв; 10) вода дистильована; 11) 0,1 %-ний розчин еозину – 30 с–1хв; 12) вода дистильована; 13) 70° етиловий спирт – вмокають; 14) 80° етиловий спирт – вмокають; 15) 96° етиловий спирт – 5 хв, після чого промокають фільтрувальним папером; 16) толуол – 5 хв; 17) ксилол I – 5 хв; 18) ксилол II – 5 хв; 19) краплю канадського бальзаму капають на гістозріз і покривають покривним склом.

Приготування гематоксиліну Ерліха: 2 г гематоксиліну розчиняють у 100 мл 96° етилового спирту. Додають 100 мл дистильованої води, 100 мл гліцерину, 3 г калієвого галуна, 10 мл льодяної оцтової кислоти. Витримують 15 діб у світлому місці за доступу повітря.

Гематоксилін фарбує ядра в темно-фіолетовий колір, еозин – цитоплазму у світло-фіолетовий.

2.4.2. Фарбування гістозрізів за методом Браше

Реакція базується на здатності рибонуклеїнової кислоти сприймати деякі основні барвники, зокрема, піронін. Для фарбування гістозрізів

методом Браше зразки тканин фіксують у розчині Карнуа [239]. Наклеєні на предметні скельця гістозрізи проводять через таку послідовність реактивів:

1) ксилол І – 3 хв; 2) ксилол ІІ – 3 хв (промокають фільтрувальним папером); 3) 96° етиловий спирт І – 2 хв; 4) 96° етиловий спирт ІІ – 2 хв; 5) 70° етиловий спирт – 2 хв; 6) вода дистильована – добре промивають (промокають фільтрувальним папером); 7) ацетатний буфер – змочують; 8) фарба – 10–15 хв; 9) ацетатний буфер – 5–10 с (промокають); 10) абсолютний ацетон – 10–15 с; 11) 16 %-ний ацетон у ксилолі – 30 с; 12) ксилол І – 3–5 хв; 13) ксилол ІІ – 3–5 хв (втирають ксилол навколо зрізу); 14) краплю канадського бальзаму капають на гістозріз і покривають покривним склом.

Приготування фарби: 25 мл 2 %-ного метиленового зеленого, 50 мл 0,2 М ацетатного буферу (рН 4,4), 25 мл дистильованої води, 0,2 г піроніну.

Приготування ацетатного буферу, рН 4,4: змішують 59 мл реактиву А із 41 мл реактиву Б. Реактив А – 13,02 мл CH_3COOH доводять до 1 л дистильованою водою. Реактив Б – 16,4 г ацетату натрію доводять до 1 л дистильованою водою.

Структури тканин, які містять рибонуклеїнову кислоту, зафарбовуються у відтінки чевоного кольору, хроматин – у зелений.

2.5. Електронно-мікроскопічне дослідження

Для електронно-мікроскопічного дослідження зразки бластомерів в'юна й органів шурів фіксують (протягом 1 год за $t = 4^\circ\text{C}$) 1,5 %-ним розчином глютарового альдегіду в 0,2 М какодилатному буфері (рН 7,2). Після цього зразки промивають какодилатним буфером і додатково фіксують 2 %-ним розчином чотирьохокису осмію в тому ж буфері протягом 1 год ($t = 4^\circ\text{C}$). Препарати відмивають від фіксаторів і зневоднюють у зростаючій міцності етилового спирту (50°, 70°, 90° і 100°). Додатково зневоднюють у 2-х змінах окису пропілену і поміщають в епоксидну смолу епон-812. Для виготовлення зрізів використовують ультрамікротом УМТП-6 з алмазним ножом. Ультразрізи контрастують 2 %-ним розчином ураніацетату протягом 15 хв і додатково цитратом свинцю за Рейнольдсом [118]. Зрізи переглядають і фотографують за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа ПЕМ-100 [11, 309].

2.6. Біометричний аналіз експериментальних даних

2.6.1. Кореляційний і регресійний аналіз

Кореляційний аналіз – це аналіз, який дає змогу встановити залежність одного показника від іншого.

Кореляційний аналіз ґрунтується на визначенні т. зв. коефіцієнта кореляції r . Кожне окреме відхилення відповідної варіанти від середнього арифметичного M можна виразити у вигляді нормованого відхилення.

Якщо одночасно вивчати два показники певного явища і значення першого показника назвати рядом іксів, а значення другого – рядом ігреків, то для кожного окремого виміру можна визначити його нормоване відхилення як за ознакою x , так і за ознакою y :

$$t_x = \frac{x - M_x}{\sigma_x},$$

$$t_y = \frac{y - M_y}{\sigma_y}.$$

Коефіцієнт кореляції r є середнім арифметичним значенням добутку нормованих відхилень за обома досліджуваними ознаками. Після підстановки значень середнього квадратичного відхилення для обох рядів формула коефіцієнта кореляції матиме такий вигляд [251]:

$$r = \frac{\sum (x - M_x)(y - M_y)}{\sqrt{\sum (x - M_x)^2 \sum (y - M_y)^2}}$$

Кореляція перебуває в межах від 0 до |1|. Якщо $r < |0,5|$, то це вказує на слабку тісноту між показниками. Якщо $|0,5| \leq r < |0,7|$, то це свідчить про середній ступінь залежності між показниками. За $|0,7| \leq r$ ступінь залежності між показниками є сильною. Важливе значення має знак коефіцієнта. Якщо r зі знаком «+», то це свідчить про позитивну кореляцію, тобто за зростання одного показника інший показник теж зростає, або, навпаки, за зниження одного показника інший показник теж знижується. За наявності знака «-» перед коефіцієнтом кореляції відбуваються різноспрямовані зміни показників. Тобто за зростання одного показника інший знижується [394].

Кореляційний аналіз проводять, використовуючи пакет прикладних програм Microsoft Excel.

Регресія графічно відображає залежність одного показника від іншого. Регресія – це математично очікуване Y за відомого значення X . Найбільш просто регресійні моделі будувати для систем із лінійною залежністю і нормальним розподілом. Лінійну регресію функції від одного аргументу визначають за формулою: $y = a + bx + \varepsilon$, де $b = r \sigma_y / \sigma_x$ – регресійний коефіцієнт; $a = M_y - (r \sigma_y / \sigma_x) M_x$; ε – середня квадратична похибка моделі; $M_x(M_y)$ – математично очікуване $x(y)$. Коефіцієнт кореляції r визначає кут між векторами y і x , а відношення середніх квадратичних масштабує розсіювання y по x . Коефіцієнт рівняння регресії b можна трактувати як коефіцієнт чутливості y до x . Чутливість b

показує, у скільки разів зміниться y (залежна змінна) залежно від зміни x (незалежна змінна).

2.6.2. Дисперсійний аналіз

Біологічні особливості живих організмів постійно залежать від багатьох зовнішніх і внутрішніх факторів. Складна обумовленість біологічних властивостей змусила дослідників розробити відповідні математичні методи, щоб виділити вплив окремих факторів і оцінити їхню відносну роль у загальній зміні цих властивостей. До таких методів належить і дисперсійний аналіз.

Суть дисперсійного аналізу полягає у визначенні ролі окремих факторів впливати на зміну тої чи іншої ознаки. При цьому виникає важливе завдання розкласти загальну мінливість на складові частини:

- мінливість, викликану досліджуваними факторами;
- мінливість, спричинену випадковими, неконтрольованими факторами (наприклад, вплив геомагнітного поля Землі).

$$X - M = A + r,$$

де: X – конкретне значення; M – середнє арифметичне показника, отриманого в експерименті; A – частка відхилення змінної x від середнього, пов'язана з впливом даного конкретного фактора;

r – залишкова частина (відхилення) мінливості, не пов'язана з впливом даного фактора. Це сума всіх неконтрольованих і невизначених факторів, інакше кажучи, результат випадкових відхилень;

$A + r$ – фактична (загальна) мінливість x .

Порівнюючи A і r , можна оцінити вплив фактора A : за достовірного впливу досліджуваного фактора значення A буде великою мірою перевищувати значення r . Цю загальну схему, яка належить до окремого відхилення, можна перевести у варіацію багатьох варіант x_i , тобто виразити ступінь мінливості у дисперсіях σ^2 .

$$\sigma_z^2 = \sigma_A^2 + \sigma_r^2,$$

де σ_z^2 – загальна дисперсія.

Кожен досліджуваний фактор A має не одне, а кілька значень, які називають градаціями, або рівнями фактора A .

Первинна статистична характеристика комплексу експериментальних даних, який містить k рівнів впливаючого фактора по k вибірок для кожного з них, включає обчислення статистичних показників:

- *вибіркових середніх* значень досліджуваного біологічного показника для кожного рівня:

$$M_j = \frac{\sum x_j}{n_j} ,$$

де n_j – обсяг відповідної вибірки ($j=1, 2, \dots, k$);

- загального середнього значення показника для всього комплексу даних:

$$M = \frac{\sum x}{n} ,$$

де n – сумарний обсяг усіх вибірок.

Кількість рівнів фактора задають відповідно до його числових або якісних характеристик. Вплив фактора зумовлює різницю між вибірковими середніми значеннями, яку досліджують, застосовуючи метод порівняльного аналізу за критерієм Стюдента.

Проведення дисперсійного аналізу:

I. 1) Обчислення сум квадратів відхилень даних від загального середнього

$$SS = \sum (x - M)^2$$

2) Обчислення вибіркових середніх для всіх рівнів фактора від загального середнього

$$SS_x = n_j \sum (M_j - M)^2$$

3) Обчислення даних від вибіркових середніх (залишок)

$$SS_R = SS - SS_x$$

4) Обчислення відносної частки впливу: досліджуваного фактора

$$\eta^2_x = \frac{SS_R}{SS}$$

5) Обчислення інших факторів (неврахованих в експерименті)

$$\eta^2_R = \frac{SS_R}{SS}$$

Суми квадратів відхилень (загальна, факторіальна та залишкова) від відповідних середніх значень показника є кількісною характеристикою його змін, зумовлених впливаючими факторами. Оцінки часток впливу факторів можуть бути подані також у %.

Під час встановлення достовірності впливу даного фактора на досліджуваний біологічний показник обчислюють дисперсії:

факторіальну

$$\sigma^2 = \frac{SS_x}{k-1}$$

та залишкову

$$\sigma^2_R = \frac{SS_R}{n-k}.$$

II. Визначення за їхнім відношенням коефіцієнта Фішера для встановлення достовірності впливу фактора:

$$F = \frac{\sigma^2_x}{\sigma^2_R}$$

Значення коефіцієнта Фішера F порівнюють з $F_{табл.}$, для $p \geq 0,95$, яке знаходять за значеннями кількості ступенів вільності: $v_1=k-1$, $v_2 = n-k$.

Якщо $F > F_{табл.}$, то вплив фактора є статистично істотним із вказаним рівнем імовірності [303, 344].

Дисперсійний аналіз проводять, використовуючи пакет прикладних програм засобами Microsoft Excel-2010. Застосовують «Anova: Single Factor» (однофакторний дисперсійний аналіз), «Anova: Two-Factor With Replication» (двофакторний дисперсійний аналіз з повторенням), «Anova: Two-Factor Without Replication» (двофакторний дисперсійний аналіз без повторень).

2.6.3. Кластерний аналіз

Кластерний аналіз – це розбиття об’єктів на підмножини, що називаються кластерами, так, щоб кожен кластер складався з подібних об’єктів, а об’єкти різних кластерів щоб істотно відрізнялися. Завдання кластеризації належать до статистичного опрацювання результатів. Процес кластеризації – розбиття множини даних на кластери. Кластери – це підмножини однорідних одиниць сукупності, параметри яких заздалегідь невідомі [264].

Принцип кластерного аналізу полягає у тому, що за допомогою попередньо заданих змінних формуються групи спостережень. Члени однієї групи (кластера) повинні мати подібні прояви змінних, а члени різних груп – різні. В ієрархічному методі кластерного аналізу кожне спостереження утворює спочатку свій окремий кластер. На першому кроці два сусідніх кластери поєднуються в один; цей процес може тривати доти, поки не залишаться тільки два кластери. Відстань між кластерами є середнім значенням усіх відстаней між усіма можливими парами спостережень з обох кластерів [342]. Як міру відстані зазвичай використовують «Квадрат Евклідової відстані», котра встановлює

подібність між об'єктами. Два об'єкти є ідентичними, якщо змінні, що їх описують, набувають однакових значень. У цьому разі відстань між ними дорівнює нулю [264].

Відстань між двома об'єктами позначають як $d(x_i, y_i)$ – це функція близькості, яку задають за таких умов:

- 1) вона завжди більша або дорівнює нулю;
- 2) відстань від точки x до точки y така сама, як і від y до x ;
- 3) якщо числові значення ознак двох об'єктів однакові, відстань між ними дорівнює нулю;
- 4) якщо існує третя точка u , то сума відстаней між точками x та u завжди більша, ніж відстань між точками x та y . У вигляді формули це записується так [264]:

$$\left\{ \begin{array}{l} d(x_i, y_i) \geq 0 \\ d(x_i, y_i) = d(y_i, x_i) \\ d(x_i, y_i) = 0 \Leftrightarrow x_i = y_i \\ d(x_i, y_i) \leq d(x_i, u_i) + d(u_i, y_i) \end{array} \right\} \forall \{i\} \in N.$$

Квадрат відстані Евкліда розраховують за формулою [264, 303]:

$$d_e^2(x_i, y_i) = \sum_{i=1}^{Nf} (x_i - y_i)^2$$

Крім встановлення виміру відстані між кластерами, проводять стандартизацію спостережень. Рівні значень змінних часто дуже сильно відрізняються один від одного. Відповідно до формули Евклідової міри, змінна, що має велике значення, цілком домінує над змінною з малими значеннями. Рішенням цієї проблеми є z -перетворення (стандартизація) значень змінних. Стандартизація приводить значення всіх перетворених змінних до єдиного діапазону значень, а саме – середнє кожної змінної до 0, а середнє відхилення – до 1. Тоді усі спостереження змінюються приблизно у діапазоні від -3 до +3 [344].

Формування кластерів відбувається шляхом розширення вже наявних кластерів через об'єднання, доки не буде сформований один-єдиний кластер, що об'єднує усі спостереження. Оптимальним вважається число кластерів, яке дорівнює різниці кількості спостережень і кількості кроків, після якого коефіцієнт збільшується стрибкоподібно [344].

Проводити кластерний аналіз можна, використовуючи статистичну програму Statistics17 (SPSS).

2.6.4. Факторний аналіз

Аналіз зовнішніх впливів (особливо за їхньої комбінованої дії) на біологічні об'єкти є складною проблемою, оскільки він включає не тільки вивчення механізмів дії кожного з чинників, але й виявлення характеру, механізму та ступеня їхньої взаємодії. Використання традиційних підходів варіаційної статистики не завжди сприяє створенню цілісного уявлення про характер змін в організмі за патології. Адекватну відповідь можна отримати за використання методу факторного статистичного аналізу. Багатофакторний аналіз (метод головних компонент) використовують для вивчення взаємозв'язків між досліджуваними показниками. За допомогою цього методу можливе виявлення прихованих показників (факторів), які відповідають за наявність лінійних статистичних зв'язків (кореляцій) між ними. Визначення більш впливових за умов проведення досліджень факторів, серед первинно обраних параметрів, а також виявлення статистичного зв'язку обґрунтовує висновки про ефективність тих чи інших впливів на досліджувану систему (прогнозування розвитку процесу) [373].

Факторний аналіз пов'язаний з обчисленням коефіцієнтів кореляції між змінними. Основні результати факторного аналізу виражають у факторних навантаженнях, факторних вагах, власних значеннях факторів. Факторні навантаження (factor loadings) – це коефіцієнти кореляції кожної з аналізованих змінних із кожним з виділених факторів. Що тісніший зв'язок змінної із фактором, то більшим є її факторне навантаження. Позитивний знак факторного навантаження вказує на прямий зв'язок змінної з фактором, негативний – на обернений. Таблиця факторних навантажень, отримана в результаті факторного аналізу, містить кількість стрічок, що дорівнює кількості змінних (стовпчиків у вихідній матриці), та кількість стовпчиків, яка дорівнює кількості виділених факторів. Факторні ваги (factor scores) – кількісні значення зв'язку виділених факторів з об'єктами. Об'єкту з більшою факторною вагою властивий більший рівень прояву властивостей виділеного фактора (більший рівень зв'язку з фактором). Позитивні факторні ваги відповідають об'єктам, що мають рівень прояву властивостей фактора більше середнього, а негативні – нижче середнього. Таблиця факторних ваг складається з кількості стрічок, рівної кількості об'єктів і кількості стовпчиків рівної кількості виділених факторів [284].

Факторний аналіз виконують у статистичній програмі Statistics17 (SPSS).

2.6.5. Дискримінантний аналіз

Дискримінантний аналіз застосовують для того, щоб передбачити, до

якої із груп будуть належати подальші спостереження, якщо вже є певна кількість попередніх спостережень із відомими приналежностями до груп. Дискримінантний аналіз розглядає певну «залежну» змінну, яка визначає приналежність спостереження до відповідної групи, причому кількість і склад груп визначені заздалегідь. Далі визначають лінійну класифікаційну модель для прогнозування нових спостережень на підставі виміру ряду змінних. Основна ідея дискримінантного аналізу полягає в тому, щоби визначити, чи відрізняються у середньому групи якої-небудь змінної (або лінійної комбінації змінних), і потім використовують цю змінну, щоби спрогнозувати для нових спостережень їхню приналежність до тієї або іншої групи. У разі однієї змінної остаточний критерій значимості того, розділяє змінна дві сукупності чи ні, дає F-критерій. Під час застосування дискримінантного аналізу для багатовимірних змінних процедура ідентична процедурі множинного дисперсійного аналізу. Застосовується основне правило: якщо роблять дискримінацію між сукупностями, то має бути помітне розходження між середніми [344].

Для проведення дискримінантного аналізу застосовують програму Statistics17 (SPSS).

Розділ 3.

ДІЯ ГІСТАМІНУ, ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ ТА ЇХНІЙ СПІЛЬНИЙ ВПЛИВ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ, СТРУКТУРУ КЛІТИН РІЗНИХ ОРГАНІВ ЩУРІВ

Вивчали вплив гістаміну і ГХН на вільнорадикальні та структурні параметри клітин різних органів щурів. В експерименті застосовували розчин гістаміну дигідрохлориду (виробник – ТОВ «Імунолог», Україна, м. Вінниця). Використовували високоочищений розчин ГХН, виготовлений в Українському державному хіміко-технологічному університеті (м. Дніпро). Дослід проводили на білих нелінійних щурах-самцях. Маса тварин була в межах 180–220 г. Експеримент тривав 21 добу, в ньому було задіяно 180 тварин. Перша група тварин слугувала контролем. Тваринам другої та третьої груп протягом 14-ти діб підшкірно вводили розчини гістаміну в дозі 1 та 8 мкг/кг, відповідно (розчини гістаміну готували з гістаміну дигідрохлориду, розчинником слугував розчин для ін'єкцій). Дози гістаміну були такими, які спричиняють патологічні прояви в експериментальних умовах [289]. З метою виявлення впливу ГХН на структурні та функціональні параметри клітин інтактних щурів було сформовано четверту і п'яту групи, в яких тваринам випоювали ГХН у концентраціях 5 і 20 мг/л, відповідно (розчинник – водопровідна вода). Шостій групі тварин одночасно вводили гістамін у дозі 1 мкг/кг та випоювали ГХН у концентрації 5 мг/л. Сьомій групі одночасно вводили гістамін у дозі 1 мкг/кг та ГХН концентрацією 20 мг/л. Восьмій і дев'ятій групам щурів одночасно підшкірно вводили гістамін (у дозі 8 мкг/кг) і випоювали ГХН концентрацією 5 мг/л та 20 мг/л, відповідно. З 14-ї доби тваринам припиняли підшкірне введення гістаміну та випоювання ГХН. У період від 14-ї до 21-ї доби досліду щури перебували на реабілітації. На 1-шу, 7-му, 14-ту, 21-шу доби досліду по 5 тварин декапітували під легким ефірним наркозом. Відбирали плазму крові, еритроцити, ліву часточку печінки, респіраторний відділ правої легені, верхівку серцевого м'яза, праву нирку (оскільки вона є більшою мірою функціонально активна), селезінку. Гепаринізовану кров центрифугували і таким чином проводили відбір плазми й еритроцитів. Еритроцити відмивали та проводили гемоліз дистильованою водою (співвідношення еритроцити : H₂O становило 1:5). Наважки тканин органів гомогенізували за низької температури на гомогенізаторі за наявності буферного розчину А (0,32 М сахароза, 1 мМ ЕДТА, 50 мМ трис-НСl, рН = 7,4) [323]. У зразках тканин різних органів визначали вміст ГП за методом Н. П. Олексюка [329], ТБК-позитивних продуктів за методом Р. Р. Тімірбулатова [259], карбонільних груп протеїнів методом І. Ф. Мещишен [316], сіалових кислот (СК) методом Гесса [318], відновленого глутатіону (ВГ) за методом D. S. Thamas [356],

СОД за методом В. А. Костюка [291], КАТ за методом М. А. Королюка [259], ГПО за методом Моїна [346], ГТ за методом W. H. Habig [45] активності.

Для проведення світлової мікроскопії тканини легені, печінки, серця, нирки, селезінки фіксували у формаліні (15 %) та розчині Карнуа. Виготовляли гістозрізи (товщиною 5–7 мкм), які фарбували гематоксилін-еозином (фіксатор – формалін) і за методом Браше (фіксатор – розчин Карнуа). Гістопрепарати вивчали за допомогою мікроскопа МБР-3 на збільшеннях $\times 10$, $\times 40$. Фотографування здійснювали фотокамерою HIGH PERFORMANCE COLOR CAMERA VISION, під'єднаною до мікроскопа МБР-3 і комп'ютера LG (програма OLYMPUS DP-Soft). Отримані зображення тканин органів опрацьовували, використовуючи комп'ютерну програму Image J [71]. За допомогою цієї програми визначали такі морфометричні показники як: площа профілю гепатоцита ($S_{кл}$), мкм²; периметр профілю гепатоцита ($P_{кл}$), мкм; площа профілю ядра гепатоцита, кардіоміоцита ($S_{я}$), мкм²; периметр профілю ядра гепатоцита, кардіоміоцита ($P_{я}$), мкм; відношення $S_{я}$ до $S_{кл}$ гепатоцита ($S_{я}:S_{кл}$); коефіцієнт форми гепатоцита ($F=P^2/4PS$, де P – периметр, S – площа об'єкта, $P=3,14$). Якщо F дорівнює 1, то це свідчить, що округлість клітини є ідеальною. Чим ближче значення F до 0, тим більше витягнутою буде округлість); коефіцієнт елонгації гепатоцита (KE) – відношення більшого діаметра клітини до меншого; кількість вакуолізованих клітин; кількість клітин, ядра яких містять два і більше ядерця; площа поперечного перерізу альвеол (S), мкм²; діаметр просвіту альвеол, мкм; товщина міжальвеолярних перегородок, мкм; коефіцієнт форми ядра кардіоміоцита; більший діаметр поперечного перерізу ядра кардіоміоцита, мкм; менший діаметр поперечного перерізу ядра кардіоміоцита, мкм; коефіцієнт елонгації ядра кардіоміоцита (KE) – відношення більшого діаметра ядра до меншого; площа ниркового тільця, мкм²; площа капсули Шумлянського-Боумана, мкм²; площа судинного клубочка, мкм²; більша вісь поперечного перерізу судинного клубочка, мкм; менша вісь поперечного перерізу судинного клубочка, мкм.

Проводили електронно-мікроскопічне дослідження печінки, легені та серця щурів 1-ї, 3-ї, 8-ї, 9-ї експериментальних груп на 7-му та 14-ту доби досліду.

Застосовували порівняльний, факторний, двофакторний дисперсійний, кластерний аналізи.

Було вивчено дію гістаміну на **плазму** крові щурів і виявлено, що ця сполука зумовлює підвищення вмісту ГП ліпідів на 1-шу добу досліду, проте на подальших етапах дослідження відбувається зниження їхньої кількості. Гістамін у дозі 1 мкг/кг зумовлює динамічні зміни вмісту вторинних продуктів ПОЛ. Так, на 1-шу добу знижується вміст ТБК-позитивних продуктів на 47 %, на 7-му – показник

повертається до меж контролю, на 14-ту – знижується на 16 %, на 21-шу (реабілітація) – зростає на 23 % (табл. А.1*). Гістамін у дозі 8 мкг/кг забезпечує початкове зниження вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації з подальшим підвищенням, яке зберігається і після реабілітації. Найбільш інтенсивне зростання зафіксоване на 7-му добу досліду (на 306 %; див. табл. А.1). Отже, гістамін у дозі 1 мкг/кг сповільнює інтенсивність процесів ПОЛ, тоді як біогенний амін у дозі 8 мкг/кг знижує вміст ГП ліпідів і підвищує кількість ТБК-позитивних продуктів.

Відомо, що серед ліпідів плазми крові є тригліцериди, фосфоліпіди, загальний холестерин, етерифікований холестерин, жирні кислоти (неетерифіковані). Ліпіди як гідрофобні сполуки не здатні перебувати у вільному стані у плазмі крові, яка з фізико-хімічної точки зору є водно-сольовим розчином. Стабілізаторами ліпідів плазми є білки (апопротеїни, або аполіпопротеїни), що сприяють утворенню ліпопротеїнових міцел, у складі яких різні класи ліпідів можуть транспортуватися кров'ю. Є такі транспортні форми ліпопротеїнів плазми: а) хіломікрони – основна транспортна форма триацилгліцеролів; б) ліпопротеїни дуже низької щільності (пре- β -ліпопротеїни) – містять значну кількість триацилгліцеролів, фосфоліпіди та холестерин; в) ліпопротеїни низької щільності (β -ліпопротеїни) – основна транспортна форма холестерину, зростання концентрації цієї форми ліпопротеїнів сприяє проникненню холестерину в ендотелій і утворенню атеросклеротичної бляшки; г) ліпопротеїни високої щільності (α -ліпопротеїни) – містять значну кількість фосфоліпідів, а також холестерин і триацилгліцероли [244]. Гістамін у дозі 8 мкг/кг у плазмі крові сам не окиснює ліпіди (фосфоліпіди, що транспортуються ліпопротеїнами), а, ймовірно, його дія є опосередкованою через вплив на формені елементи крові, зокрема, через нейтрофіли й еозинофіли. Відомо, що еозинофіли є джерелом гістамінази, яка ліквідує надлишок гістаміну у крові і тканинах. На цих клітинах наявні H_2 -, а також і H_4 -рецептори до гістаміну [43, 400]. Дихальний вибух є центральним клітинним механізмом нейтрофілів і еозинофілів у захисті від вторгнених патогенів [117]. Відомо, що еозинофіли беруть участь у гострих неімунних запальних процесах за рахунок активного вивільнення ряду цитотоксичних ензимів (еозинофільної пероксидази, головного основного протеїну, еозинофільного катіонного протеїну), активних форм кисню [401]. Також відомо, що, залежно від концентрації, гістамін стимулює вивільнення активних форм кисню або пригнічує цей процес [56]. У літературі є повідомлення, що за стимуляції гістаміном H_2 рецептор з'єднується з G(S) протеїнами та індукує накопичення цАМФ, опосередкованого аденіліл-циклазою. У нейтрофілах і еозинофілах

* Тут і далі літера в номері таблиці означає назву Додатка

H₂ рецептор зменшує утворення супероксид-аніон радикала [117]. Проте А. Yu. Iskusnih зазначає, що цей процес залежить від концентрації гістаміну, тому ефекти можуть бути протилежні [56]. Враховуючи це, можна зробити висновок, що гістамін у дозі 1 мкг/кг пригнічує вивільнення активних кисневих метаболітів і стимулює синтез гістамінази (яка і його знешкоджує) нейтрофілами й еозинофілами. Гістамін у дозі 8 мкг/кг спричиняє протилежний ефект, який відображається в утворенні ТБК-позитивних продуктів.

Встановлено, що за впливу гістаміну в дозах 1 та 8 мкг/кг відбувається зростання СОД активності у плазмі крові (в діапазоні 2 %–49 %) впродовж усього часу його підшкірного введення щурам (див. табл. А.1). Це свідчить про надмірне накопичення супероксид-аніон радикала. Відомо, що гістамін є потужним запальним агентом, що утворюється у тканинних базофілах, базофілах крові, які швидко дегранулюють у відповідь на прозапальні стимули чи деякі лікарські засоби [146]. Тому додаткове введення у кров гістаміну зумовлює вивільнення активних форм кисню клітинами-нейтрофілами, зокрема, супероксид-аніон радикала, що узгоджується з даними літератури [56]. Проте після реабілітаційного періоду СОД активність повертається до рівня контролю за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг і знижується на 31 % за впливу гістаміну в дозі 1 мкг/кг, хоча вміст ТБК-позитивних продуктів в цей час є вище норми. Дані результати свідчать про те, що на 21-шу добу відбувається перерозподіл вільнорадикальних реакцій і що оксидативний стрес все ж таки зберігається. Зміни роботи КАТ відбуваються за впливу гістаміну в дозі 1 мкг/кг у плазмі крові щурів (див. табл. А.1). Так, за цього впливу КАТ активність зростає на 90 % на 7-му добу введення біогенного аміну, що свідчить про утворення великих кількостей Н₂О₂, і спадає – на 21-шу добу (реабілітація) на 81 %. На 1-шу добу досліду, на фоні зростання СОД активності, ГПО активність також зростає за дії гістаміну в дозі 1 та 8 мкг/кг на 60 % і 69 % відповідно, тоді як КАТ активність достовірно не змінюється. Такі результати свідчать про те, що у плазмі крові за дії гістаміну утворюється незначна кількість пероксиду водню, на знешкодження якого спрямована робота ГПО. Зростання ГПО активності зафіксовано на 7-му добу досліду за дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг у плазмі крові щурів, поряд зі зростанням КАТ активності, що свідчить також про підвищення вмісту пероксидів, які знешкоджує ГПО. Гістамін у вищій досліджуваній дозі веде до зниження ГПО активності на 34 % на 14-ту добу досліду. Проте вже після реабілітаційного періоду ГПО активність спадає у плазмі крові за впливу на організм цього чинника (див. табл. А.1). Отже, гістамін у нижчій концентрації веде до пригнічення ПОЛ і активації ГПО, тоді як вища концентрація чинить зниження вмісту ГП ліпідів, підвищення ТБК-позитивних продуктів. Гістамін у обох дозах спричиняє зростання СОД активності.

Встановлено, що на 1-шу та 7-му доби дії ГХН концентрацією 5 мг/л вміст ТБК-позитивних продуктів залишається в межах контрольних значень. Проте вплив ГХН концентрацією 20 мг/л у плазмі крові щурів зумовлює значну інтенсифікацію процесів ліпопероксидації: на 1-шу добу досліду вміст ТБК-позитивних продуктів зростає на 254 %, а на 7-му – на 139 %. На 14-ту добу у плазмі щурів відбувається підвищення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації на 12 % за дії ГХН нижчої досліджуваної концентрації. Збільшення вмісту продуктів ПОЛ на 29 % виявляється і за дії дезінтоксиканта вищої концентрації. Після реабілітаційного періоду, після дії ГХН концентрацією 5 мг/л, у плазмі крові щурів відбувається незначне зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів, тоді як після дії ГХН концентрацією 20 мг/л, навпаки, вміст вторинних продуктів ліпопероксидації підвищується на 147 % щодо контролю. ГХН за концентрації 5 мг/л зумовлює значне підвищення вмісту ГП ліпідів у плазмі крові щурів упродовж усього досліду. За дії ГХН концентрацією 20 мг/л на 1-шу добу вміст ГП ліпідів у плазмі є в межах норми, проте вже з 7-ї доби вміст первинних продуктів ліпопероксидації підвищується: на 7-му добу – на 22 %, на 14-ту добу – на 7 %; на 21-шу добу – на 105 % щодо контрольних значень. Після реабілітаційного періоду у крові щурів виявлено значне збільшення вмісту ГП ліпідів, що свідчить про порушення системи прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, навіть після припинення дії ГХН на організм (див. табл. А.1). Отже, ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює утворення більшою мірою первинних продуктів ліпопероксидації, тоді як ГХН у концентрації 20 мг/л – утворення і первинних, і вторинних продуктів ПОЛ. Відомо, що особливо чутливими до ГХН є ліпіди клітинних мембран і більшою мірою ті, до складу яких входять ненасичені жирні кислоти. У літературі є відомості, що ГХН окиснює ліпіди у складі ліпопротеїнів за вільнорадикальним механізмом. Реакційна здатність цього дезінтоксиканта зменшується в такому порядку: ліпопротеїни дуже низької щільності → ліпопротеїни низької щільності → ліпопротеїни високої щільності [297]. Враховуючи це, ГХН у плазмі крові безпосередньо вражає поліненасичені жирні кислоти.

За дії ГХН у концентрації 5 мг/л встановлено зростання СОД активності упродовж усього досліду. Так, на 1-шу добу дії досліджуваної сполуки активність ензиму зростає на 127 %, на 7-му – на 86 %, на 14-ту – на 158 % і на 21-шу – на 312 %. Після реабілітаційного періоду СОД активність не спадає, а, навпаки, суттєво зростає, що свідчить про розбалансування прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у плазмі крові щурів, а, відповідно і про зростання оксидативного стресу.

На фоні зростання СОД активності, КАТ і ГПО активність спадають упродовж досліду за впливу ГХН концентрацією 5 мг/л у плазмі (див. табл. А.1).

ГХН у концентрації 20 мг/л зумовлює зниження СОД активності на 7-му добу досліду (на 18 %) і зростання – на 14-ту (на 179 %), а також спадання КАТ і ГПО активності упродовж досліду. Наведені результати доводять, що ГХН у концентраціях 5 і 20 мг/л інтенсифікує процеси ПОЛ та порушує роботу ензимів АОЗ, зокрема, знижує активність ГПО та КАТ. ГХН у концентрації 5 мг/л також зумовлює активацію роботи СОД. Це підтверджує розвиток оксидативного стресу за дії досліджуваного чинника у плазмі крові клінічно здорових щурів. Після 7-денної реабілітації оксидативний стрес не нівелюється, а, навпаки, посилюється, про що свідчить вміст первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації, а також зміна активності ензимів АОС. Зниження ГПО і КАТ активності, ймовірно, відбувається за рахунок перехоплення гіпохлоритом натрію субстратів цих ензимів. Зростання СОД активності ми пов'язуємо з утворенням супероксид-аніон радикала нейтрофілами (каталізує НАДФ•Н-оксидаза), які під дією ГХН вивільняють його (наприклад, за механічного ушкодження мембран або під час запальних реакцій).

Підшкірне введення щурам гістаміну обох доз та випоювання ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює інтенсифікацію процесів ліпопероксидації впродовж досліду. Тоді як сумісна дія гістаміну (1 і 8 мкг/кг) та ГХН у концентрації 20 мг/л спричиняє зниження вмісту первинних продуктів ПОЛ упродовж 14-ти діб і підвищення кількості ТБК-позитивних продуктів на 1-шу і 7-му доби досліду. На 14-ту добу ін'єкції гістаміну у дозі 1 мкг/кг та пероральне введення ГХН у концентрації 20 мг/л знижують вміст ТБК-позитивних продуктів у плазмі крові (див. табл. А.1). Ймовірно, ГХН у вищій концентрації пришвидшує вільнорадикальне перетворення ГП ліпідів у вторинні продукти ліпопероксидації впродовж 7-ми діб, а, ймовірно, на 14-ту добу накопичуються за цим механізмом кінцеві продукти ПОЛ.

Випоювання щурам ГХН у дозі 5 і 20 мг/л на фоні впливу гістаміну обох досліджуваних доз спричиняє інтенсифікацію роботи СОД на 27 %–466 %, порівняно з контролем, а також і порівняно з групами тварин, яким лише підшкірно вводили гістамін упродовж усього досліду. Значну інтенсифікацію роботи СОД зафіксовано після реабілітаційного періоду. Активація роботи СОД відбувається за рахунок, ймовірно, ушкодження гіпохлоритом натрію структури мітохондрій, ендоплазматичної сітки клітин крові (лейкоцитів і тромбоцитів), під час роботи яких (дихальний ланцюг, цитохром Р-450 та ін.) як побічний продукт утворюється $O_2^{\cdot-}$ – субстрат для СОД, що буде, у свою чергу, відобразатись на активності СОД плазми крові. У науковій літературі є повідомлення, що у дослідах *in vitro* на нейтрофілах, фібробластах і ендотеліальних клітинах розчин NaOCl (0,025–0,0025 %) викликає цитоплазматичну вакуолізацію, набрякання мітохондрій і дилатацію ендоплазматичного ретикулуму у

фібробластах та ендотеліальних клітинах і 90 % інгібування міграції нейтрофілів, але не загибель клітин [53].

Одночасне введення щурам гістаміну в дозі 1 мкг/кг і ГХН у концентрації 5 мг/л веде до достовірного зниження КАТ активності на 84 % щодо контролю та на 92 % щодо групи тварин, яким вводили тільки гістамін (1 мкг/кг) на 7-му добу досліду. Такий ефект зафіксовано за одночасної дії ГХН у концентрації 20 мг/л і гістаміну в дозі 1 мкг/кг на 1-шу добу досліду, тоді як гістамін вищої дози на фоні впливу ГХН (20 мг/л) веде до підвищення КАТ активності на 14-ту добу. Отже, ГХН зумовлює переважаюче незначне пригнічення роботи КАТ. Зазначимо, що випоювання інтактним тваринам ГХН веде до спадання КАТ активності у плазмі крові на 1-шу та 14-ту добу досліду. Отже, КАТ плазми крові незначно реагує на вплив гістаміну, тоді як ГХН спричиняє тенденцію до зниження КАТ активності як у інтактних тварин, так і у тварин, яким підшкірно вводили гістамін. Варто відзначити, що ГХН спричиняє значне спадання ГПО активності на фоні дії гістаміну впродовж досліду. Зниження ензиматичної активності відбувається як порівняно з контрольними групами, так і порівняно з групами тварин, яким тільки підшкірно вводили гістамін. Під час спадання ГПО активності СОД активність, навпаки, зростає щодо контрольних груп щурів, а також щодо груп тварин, які отримували ін'єкції гістаміну. Зниження ГПО активності можливе внаслідок пригнічення роботи самого ензиму, оскільки відомо, що ГХН може негативно впливати на структуру білків [53]. Таку можливість підтверджують результати роботи ГПО у плазмі крові щурів за випоювання ГХН у концентрації 5 мг/л, де активність цього ензиму спадає порівняно з контролем упродовж досліду. Проте в наших дослідженнях дії ГХН на прооксидантно-антиоксидантний стан зародків в'юна не зафіксовано зниження ГПО активності. Більш імовірно, що ГХН у плазмі перехоплює пероксид водню та пероксили ліпідів, тому активність цього ензиму спадає. Отже, ГХН у низьких концентраціях на фоні дії гістаміну активує процеси ліпопероксидації, а дезінтоксикант у високих концентраціях знижує вміст ГП ліпідів і зумовлює на перших етапах досліду зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів. Поєднаний вплив гістаміну і ГХН активує роботу СОД та інактивує ГПО.

Таким чином, гістамін у нижчій концентрації веде до пригнічення ПОЛ і активації ГПО. У дозі 8 мкг/кг гістамін знижує вміст ГП ліпідів, підвищує кількість ТБК-позитивних продуктів. Підшкірне введення щурам гістаміну в дозі 1 та 8 мкг/кг у плазмі крові зумовлює зростання СОД активності. Гістамін незначно впливає на роботу КАТ плазми крові. ГХН у концентрації 5 і 20 мг/л спричиняє інтенсифікацію процесів ПОЛ і зниження ГПО активності. ГХН у концентрації 5 мг/л також зумовлює активацію роботи СОД. ГХН у концентрації 5 мг/л на фоні впливу гістаміну активує процеси ПОЛ, а дезінтоксикант у концентрації 20 мг/л за

таких самих умов знижує вміст ГП ліпідів і зумовлює зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів на 1-шу та 7-му доби. Одночасна дія гістаміну та ГХН активує роботу СОД і пригнічує роботу ГПО.

Відомо, що еритроцити характеризуються високою чутливістю до впливу хімічних речовин, а це дає змогу визначати певну специфіку їхньої дії, а також встановити залежність ступеня вираженості морфофункціональних змін еритроцитів від інтенсивності шкідливого впливу [168]. Відсутність органел робить еритроцит зручною моделлю для вивчення дії шкідливих факторів безпосередньо на клітинні мембрани. Зменшення міцності еритроцитів і збільшення гемолізу клітин є однією з ланок включення еритроцита в «ланцюжок» змін, які мають велике значення у розвитку тромбоутворення [232].

Оскільки **еритроцити** мають високу чутливість до дії хімічних речовин, це дає змогу визначати певну специфіку впливу, зокрема, ГХН і гістаміну, а також встановити залежність ступеня вираженості функціональних змін еритроцитів від інтенсивності шкідливого фактора [168].

Встановлено, що гістамін у дозі 1 і 8 мкг/кг в еритроцитах щурів підвищує вміст ГП ліпідів на 1-шу добу досліду, тоді як кількість ТБК-позитивних продуктів знижується тільки за нижчої концентрації. На 7-му добу інтенсивність процесів ліпопероксидації повертається до меж контролю, проте вже на наступному часовому етапі дослідження вміст ГП ліпідів підвищується (на 127 %) за дії гістаміну нижчої дози та знижується (на 19 %) за впливу вищої дози (табл. А.2). Після реабілітаційного періоду інтенсивність накопичення вторинних продуктів ПОЛ зростає в середньому у 10 разів за впливу біогенного аміну обох досліджуваних доз, тоді як така ж тенденція зафіксована під час вивчення вмісту первинних продуктів ліпопероксидації за дії досліджуваної речовини у вищій дозі. Отже, гістамін зумовлює зміни в накопиченні ГП ліпідів (первинних продуктів ПОЛ), які мають динамічний характер. На 7-му добу досліду дія гістаміну нівелюється. Ці зміни свідчать, що гістамін в еритроцитах зумовлює оксидативний стрес. Поліненасичені жирні кислоти, такі як арахідонова та лінолева кислоти, важливі компоненти клітинних мембран і ліпопротеїнів, є основними мішенями для ПОЛ, під час яких утворюються первинні продукти, ГП ліпідів, які згодом шляхом окиснення деградують до різних альдегідів – вторинних продуктів [156]. Перебування ТБК-позитивних продуктів, які відображають вміст малонового діальдегіду, на рівні контролю або навіть нижче, свідчить про обривання ланцюга процесу ПОЛ на рівні первинних продуктів системою АОЗ. Відомо, що в еритроцитах ця система добре розвинена. Значне підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів після реабілітаційного періоду, ймовірно, відбувається за рахунок порушення прооксидантно-антиоксидантної системи еритроцитів. Відомо, що накопичення продуктів ПОЛ може

привести до структурних і функціональних змін клітин, навіть до їхньої смерті [95]. У науковій літературі немає відомостей про наявність на мембранах еритроцитів рецепторів до гістаміну, тому, ймовірно, його дія на еритроцити є опосередкованою через функціональні зміни інших формених елементів крові, зокрема, нейтрофілів, еозинофілів, тромбоцитів. Відомо, що гістамін, залежно від концентрації, зумовлює підвищення або зниження вивільнення нейтрофілами активних форм кисню [56].

Досліджуючи стан ОМП, встановили, що в еритроцитах щурів гістамін знижує вміст карбонільних груп основного і нейтрального характеру на початку досліду приблизно на 50 %, проте подальше підшкірне введення препарату зумовлює інтенсифікацію цих процесів, що свідчить про вільнорадикальне їхнє ушкодження (див. табл. А.2). Відомо, що еритроцити містять 95 % (від сухої маси) гемоглобіну і тільки 5 % припадає на інші сполуки: ліпіди, білки. Тому можна припустити, що в еритроцитах гістамін ушкоджує, в першу чергу, молекули гемоглобіну. Відомо, що гістамін змінює реологічні властивості крові внаслідок збільшення проникності стінок судин для води. Водночас еритроцити виконують як транспортну, захисну, так і регуляторну функції. Остання забезпечується за рахунок наявності у них гемоглобіну: регуляція рН крові, іонний склад плазми і водний обмін. Проникаючи в артеріальний відділ капіляра, еритроцит віддає воду і розчинений у ній O_2 , зменшуючись при цьому в об'ємі, а переходячи у венозний відділ капіляра, зв'язує воду, CO_2 , продукти обміну, які надходять із тканин, і збільшується в об'ємі. Завдяки еритроцитам зберігається відносна постійність складу плазми (солі, протеїни). Отже, в еритроцитах ключову роль відіграє гемоглобін, який за екзогенних впливів ушкоджується першочергово. Відомо, що амінокислоти гемоглобіну здатні до модифікацій шляхом окиснення, азотування, фосфорилування тощо [79]. На 21-шу добу досліду (після припинення введення в організм щурів гістаміну) вміст карбонільних груп білків суттєво знижується – приблизно на 70 %.

Встановлено, що за дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг вміст СК знижується на 1-шу, 7-му, 14-ту доби на 68, 42, 53 % відповідно. Зниження вмісту цих продуктів виявлено за впливу вищої дози біогенного аміну як на 7-му, так і на 14-ту доби на 58 і 71 % (табл. А.3). Відомо, що заряд поверхні плазматичної мембрани еритроцитів залежить від умісту в її структурі вуглеводних компонентів мембранних глікокон'югатів сіалових кислот, які більш ніж на 60 % визначають сумарний негативний заряд. Зниження рівня СК може бути як абсолютним (наприклад, алкоголь різко знижує кількість сіалових кислот; віруси мають нейрамінідазну активність), так і відносним (екранування сіалових кислот високомолекулярними протеїнами, які адсорбуються на поверхні еритроцитів з плазми).

Десіалювання вуглеводних компонентів призводить до захоплення еритроцитів галактозо-специфічними лектинами в печінці та видалення їх із кров'яного руслу. Пошкоджені еритроцити розпізнаються також рецепторами макрофагів, лігандом для яких є сіалоолігосахаридні ланцюги кластеризованого або агрегованого глікофору. Зміна кількості сіалових кислот на поверхні клітини призводить до збільшення їхніх адгезивних властивостей [122, 282, 324]. Тому зниження вмісту СК свідчить про ушкодження еритроцитів за дії гістаміну. Після припинення введення в організм біогенного аміну вміст цих досліджуваних кислот повертається до контрольних значень.

Отже, можна зробити висновок, що гістамін порушує процеси ліпопероксидації з утворенням гідропероксидів, ушкоджує протеїни та знижує вміст СК, а це веде до зміни поверхневого заряду еритроцитів.

Додавання до питної води ГХН в еритроцитах щурів на початку досліду зумовлює підвищення вмісту ГП ліпідів на 67 і 96 % відповідно у нижчій і вищій концентраціях, тоді як на 7-му добу вміст ТБК-позитивних продуктів підвищується за впливу цієї речовини у концентрації 5 мг/л на 58 % (див. табл. А.2). Довготривале вполювання тваринам ГХН знижує інтенсивність процесів ПОЛ. Це зниження зберігається навіть після реабілітаційного періоду (зменшення вмісту ГП ліпідів на 24 %). Варто зазначити, що тенденція до початкового підвищення накопичення продуктів ліпопероксидації з подальшим зниженням є такою ж, як і за одночасного введення в організм щурів гістаміну і ГХН. Це свідчить про домінуючий вплив ГХН на процеси ПОЛ.

Відомо, що внаслідок дії ГП ліпідів відбувається утворення вільних радикалів, лабілізація лізосом, вивільнення протеолітичних ензимів тощо. Це, у свою чергу, призводить до утворення високотоксичних для клітини продуктів – спиртів, кетонів, альдегідів, накопичення яких спричиняє пошкодження мембранозв'язаних ензимів, порушення мембранного транспорту і, як наслідок, загибель клітин [331]. Проте зниження інтенсивності процесів ПОЛ є теж негативним явищем, оскільки відомо, що фізіологічні рівні окиснювачів також модулюють клітинні функції через гомеостатичні каскади, які сигналізують про редокс-чутливість клітин [114]. Продукти ПОЛ є невід'ємною частиною здорового організму та сприяють підтриманню сталого біохімічного статусу клітин [340]. Зниження вмісту продуктів ліпопероксидації зумовлює зміну жорсткості мембрани, що відображається на її проникності. Відомо, що ця функція еритроцитів є надзвичайно важливою. Мікрор'язкість мембран менша, якщо у складі ліпідів переважають ненасичені жирні кислоти, і більша за високого вмісту в них насичених жирних кислот.

Нами виявлено, що ГХН в обох досліджуваних концентраціях зумовлює зниження вмісту карбонільних груп протеїнів як нейтрального, так і основного характеру. Причому речовина у нижчій

концентрації на 1-шу добу зумовлює більш інтенсивне їхнє зниження (приблизно на 60 %), ніж у вищій (приблизно на 30 %) (див. табл. А.2). Двотижневе вipoювання ГХН в еритроцитах щурів спричиняє зниження вмісту тільки карбонільних груп протеїнів нейтрального характеру на 25 % за впливу цієї сполуки у концентрації 20 мг/л. Проте після реабілітаційного періоду сповільнення інтенсивності оксидативної модифікації протеїнів відновлюється (зниження вмісту відповідних продуктів приблизно на 50 %). Отже, ГХН спричиняє переважаюче зниження процесів ПОЛ і оксидативної модифікації протеїнів в еритроцитах щурів. Відомо, що ГХН є потужним оксидантом, який спричиняє у клітинах інтенсифікацію вільнорадикальних процесів. Також відомо, що еритроцити мають відмінний метаболізм порівняно з іншими клітинами організму. Так, у цих клітинах, які позбавлені органел і ядра, основним шляхом утворення енергії є анаеробний гліколіз (90 %), на пентозофосфатний шлях припадає 10 %, наявна потужна система антиоксидантного захисту. Тому в еритроцитах під час «дихання» не відбувається «витоку» вільних радикалів (з мітохондрій), які посилюють процеси ПОЛ та оксидативну модифікацію протеїнів на тлі дії ГХН, а, відповідно, вони є стійкими до дії оксидантів.

Випoювання тваринам ГХН зумовлює зниження вмісту СК впродовж усього терміну його введення, крім концентрації 5 мг/л на 14-ту добу. На початкових етапах дослідження зниження вмісту цих сполук є більш виражене (за дії нижчої концентрації – на 47 %, за впливу вищої – на 60 %), проте в подальшому сповільнення інтенсивності є менш виражене (див. табл. А.3). Після припинення випoювання ГХН у нижчій і вищій концентрації вміст СК підвищується порівняно з контролем на 9 і 34 % відповідно. У науковій літературі є повідомлення, що поліклональне антитіло S реагує з Met29 глікофору В еритроцитів, але може зв'язуватися зі сусідніми амінокислотами. ГХН різних концентрацій впливає на взаємодію поліклонального антитіла S із глікофору В через дію на сіалові кислоти, які є на поверхні останнього [48]. Отже, нами й іншими дослідниками показано, що ГХН впливає на вміст СК на поверхні еритроцитів, що, у свою чергу, негативно діє на рецепцію цих клітин. Підвищення вмісту СК після реабілітаційного періоду є позитивним явищем, що свідчить про поступове відновлення функціональних властивостей еритроцитів після дії ГХН.

За поєданого введення в організм щурам гістаміну і ГХН на першу добу значно підвищується вміст ГП ліпідів у середньому втричі, тоді як кількість ТБК-позитивних продуктів залишається на рівні контролю, окрім одночасної дії цих сполук максимальних концентрацій (підвищення вмісту на 30 %). Комбінація гістаміну в дозі 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює тільки незначне підвищення кількості вторинних продуктів ліпопероксидації на 7-му добу. Проте випoювання тваринам

ГХН у вищій концентрації на фоні дії гістаміну знижує вміст ГП ліпідів. Варто відзначити, що за підшкірного введення тільки гістаміну на цю добу дослідів інтенсивність процесів ПОЛ була у межах контролю. Зменшення вмісту ГП ліпідів зафіксовано і на 14-ту, і на 21-шу (реабілітація) доби дослідів за поєднаного впливу гістаміну та ГХН, окрім дії цих речовин у нижчих концентраціях за двотижневого введення. Водночас вміст первинних продуктів ліпопероксидації зростає на 59 % (див. табл. А.2). Отже, ГХН на фоні дії гістаміну спочатку інтенсифікує, а потім сповільнює процеси ліпопероксидації, про що свідчить вміст первинних продуктів ПОЛ. Відомо, що у мембранах утворення ГП ліпідів відбувається за наявності біологічно важливих окиснювачів, таких як іони металів, пероксинітриту, НОСІ та цитохрому с [98]. Відомо, що під час взаємодії ГХН з водою можливе утворення НОСІ. Подальше зниження інтенсивності процесів ПОЛ зумовлене, ймовірно, реагуванням ГХН з гістаміном і нівелюванням впливу останнього. Відомо, що ГХН поліпшує реологічні властивості крові, зв'язується з продуктами процесів ліпопероксидації та перетворює їх на гідрофільні сполуки, які легко вимиваються з мембран, а це зумовлює їхнє оновлення.

Переважаюче зниження кількості карбонільних груп протеїнів за одночасної дії гістаміну і ГХН виявлене впродовж дослідів, крім впливу біогенного аміну й оксиданта в концентрації 20 мг/л на 7-му добу дослідів, за якого вміст підвищується на 50 % (див. табл. А.2). Сповільнення інтенсивності оксидативної модифікації протеїнів відбувається за активації протеасомного комплексу, який відповідає за протеолітичну деградацію ушкоджених протеїнів, що лежить в основі адаптаційних процесів [166].

Нами виявлено зниження вмісту СК в еритроцитах щурів на 1-шу добу дослідів за поєднаної дії гістаміну (1 і 8 мкг/кг) та ГХН (5 і 20 мг/л) на 32–64 %. Проте вже на 7-му добу за одночасного впливу цих речовин у низьких і високих концентраціях вміст СК зростає (на 8 і 94 % відповідно). Подальше введення шурам досліджуваних речовин повертає кількість цих кислот до контрольних значень (див. табл. А.3). Отже, поєднана дія гістаміну і ГХН позитивно впливає на глікокалікс мембран еритроцитів. Відомо, що СК грають важливу біологічну роль. Перш за все, вони зумовлюють основні біофізичні ефекти клітини. Сіалові кислоти зумовлюють відштовхування між клітинами з урахуванням їхнього негативного заряду і повсюдного вираження на поверхні клітин хребетних (~100 мкм локальної концентрації), і цим впливають на біофізичні властивості клітинних взаємодій. Наявні в крайньому зовнішньому положенні гліканів клітинної поверхні, сіалові кислоти ідеально розташовані для полегшення різних випадків імунного розпізнавання, опосередкованих чутливими рецепторами клітин хазяїна або патогенних чинників. Ці кислоти працюють як “самоасоційовані молекулярні шляхи”,

котрі реагують на “рецептори розпізнавання саморегуляції”. Відповідно, у деяких групах крові наявні антигенні варіанти сіалілованих гліканів, що сприяють алогенним відмінностям між популяціями одного й того ж виду (наприклад, групи MN крові у людей та групи крові A/B у кішок). Сіаловий “плащ” також слугує біологічним маскуванням для охоплення потенційно антигенних глікокон’югатів (тобто криптоантигенів) або для блокування взаємодій між певними рецепторами хазяїна й оголеними гліканами, що лежать в основі. Наприклад, видалення сіалових кислот ендогенними сіалідазами може виявити термінальну галактозу, яка сприятиме механізмові кліренсу галектином через його поперечне зшивання поверхневих молекул або шляхом зв’язування з азіалоглікопротеїновими рецепторами печінки. Навпаки, додавання кінцевих залишків сіалових кислот до глікопротеїнів ефективно збільшує їхній час напівжиття або змінює їхній спосіб дії [3]. Після реабілітаційного періоду показники, які відображають ушкоджуючий вплив біогенних чинників, переважно знижувалися за одночасної дії гістаміну і ГХН усіх можливих досліджуваних концентрацій. Це свідчить, що за таких умов еритроцити щурів не відновлюють структурно-функціональні властивості, що є негативним явищем.

Нами встановлено, що за дії гістаміну в дозі 1 і 8 мкг/кг у гемолізатах еритроцитів щурів знижується ГПО активність на 1-шу, 14-ту доби дослідю (на 89 і 46 % – 1-ша доба; 53 і 63 % – 14-та доба відповідно). Після реабілітаційного періоду зберігається зниження активності цього ензиму (див. табл. А.3). Гістамін зумовлює зниження КАТ активності на 1-шу та 21-шу (реабілітація) доби дослідю. Проте на 7-му виявлено зростання КАТ активності на 13 і 35 % за впливу гістаміну нижчої та вищої концентрацій відповідно. На 14-ту добу дії біогенного аміну за нижчої концентрації виявлено незначне, проте достовірне зниження КАТ активності (на 6 %), тоді як за вищої відбувається підвищення на 10 %. Одночасне зниження ГПО і КАТ активності свідчить про зменшення вмісту в еритроцитах пероксиду водню, а також і ГП ліпідів, оскільки відомо, що ці ензими перехоплюють пероксид водню, а ГПО знешкоджує ще й ГП ліпідів. На 7-му добу виявлено зростання КАТ активності на фоні нормальної роботи ГПО. Це свідчить, що в цей час утворюється значна кількість H_2O_2 . Відомо, що ГПО знешкоджує невеликі кількості пероксиду водню, тоді як КАТ активність зростає за значних концентрацій цього субстрату.

Нами виявлено зниження ГТ активності на 7-му та 14-ту доби дослідю за впливу гістаміну в дозі 1 мкг/кг. Біогенний амін у вищій дозі зумовлює спадання (на 57 %) активності цього ензиму на 7-му добу його дії, а також і після реабілітаційного періоду (на 58 %; див. табл. А.3). Відомо, що ГТ і ВГ відіграють важливу роль у детоксикаційній функції еритроцитів. Так, в утилізації альдегідів (які здатні взаємодіяти з

протеїнами і нуклеїновими кислотами, змінюючи їхні функціональні властивості) беруть участь альдегіддегідрогеназа, альдегідредуктаза і глутатіон-S-трансфераза. Проте основний шлях катаболізму – це кон'югація з глутатіоном. Даний ензим також знешкоджує і лікарські препарати, шкідливі сполуки. Зниження ГТ активності в еритроцитах за впливу гістаміну є негативним явищем, оскільки в такому разі порушується детоксикаційна функція цих клітин.

Вивчаючи ВГ, встановили достовірне зниження його вмісту в еритроцитах за дії гістаміну обох досліджуваних доз упродовж досліду, крім 7-ї доби, де його вміст зростає (на 21 і 13 % за дії біогенного аміну в дозах 1 і 8 мкг/кг, відповідно; див. табл. А.3).

Зниження ГПО активності за дії гістаміну відбувається за рахунок зменшення вмісту в цей час ВГ, а відомо, що глутатіонпероксидаза працює за наявності в середовищі достатньої кількості глутатіону. Ймовірно, гістамін веде до утворення активних форм кисню (АФК) та шкідливих сполук у плазмі крові, які адсорбують еритроцити і знешкоджуються GSH, знижуючи його пул. Значне окиснення внутрішньоклітинного GSH сприяє оксидативному ушкодженню протеїнів і ліпідів, а також піддає ризику структурну цілісність і життєздатність еритроцитів. Порушення редокс-статусу GSH еритроцитів не лише сприяє росту їхнього окиснювального потенціалу, збільшенню гемолізу, але і знижує біодоступність оксиду азоту в зонах окиснювального ушкодження [197]. Гістамін на 7-му добу досліду чинить особливий (більшою мірою адаптаційний) вплив на антиоксидантну систему червоних кров'яних тілець, який полягає у поверненні до норми ГПО, зростанні КАТ активності, зниженні ГТ активності й підвищенні вмісту GSH. Відомо, що концентрація ВГ в еритроцитах становить 2–4 мМ. Приблизно 99,5 % GSH крові наявні в еритроцитах у кількості 8,77 мкмоль/г гемоглобіну або в концентрації 2,73–3,50 ммоль/л [197]. Було показано, що через 3 год після введення 0,1 мл в середнє вухо гістаміну як прозапального чинника для розвитку отиту у зразках еритроцитів із запальної рідини середнього вуха активність глутатіонпероксидази, глутатіон-S-трансферази, глутатіонредуктази та вміст GSH значно знижується в експериментальних морських свинок порівняно з контролем [136]. Отже, наші дослідження узгоджуються з даними літератури. Н. Усунсі припускає, що гістамін зумовлює запальний процес, під час якого утворюються АФК. На них і реагує глутатіонова ланка АОС у дослідах з моделюванням отиту гістаміном та з використанням на фоні запальних реакцій антиоксидантних засобів [139].

Отже, в еритроцитах щурів гістамін зумовлює переважаюче зниження активності ензимів АОС упродовж досліду, крім 7-ї доби.

Випоювання щурам ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює зростання ГПО активності на 229 % на 7-му добу, проте вже на 14-ту відбувається

спадання її активності (на 51 %). Поряд із цим, КАТ активність в еритроцитах щурів незначно, проте достовірно знижується як на 1-шу, так і на 7-му доби досліду. Після 14-денного вipoювання ГХН (5 мг/л) КАТ активність зростає на 81 %, порівняно з контролем. Ймовірно, ГХН у цій концентрації на 7-му добу досліду знешкоджує великі кількості гідропероксидів. Дія ГХН (5 мг/л) упродовж 14 днів веде до утворення значних кількостей пероксиду водню, в результаті чого КАТ активність у цей час зростає понад норму (див. табл. А.3). За введення тваринам ГХН у концентрації 20 мг/л ГПО активність зростає вже на 1-шу добу (на 80 %), проте на 7-му і 14-ту зафіксовано протилежний ефект. На 1-шу і 14-ту доби за дії ГХН у вищій досліджуваній концентрації активність ензиму каталази зростає на 9 і 73 % відповідно. Отже, ГХН у концентрації 20 мг/л зумовлює негативний окисдатовний ефект на початкових етапах дослідження. Варто зазначити, що ГХН в обох концентраціях веде до утворення вищих понад норму концентрацій пероксиду водню після довготривалої його дії. Пероксид водню в крові може утворюватися за межами еритроцитів. H_2O_2 проникає у червоні кров'яні тільця шляхом дифузії, де він знешкоджується каталазою. Fe^{2+} гемоглобіну окиснюється до Fe^{3+} (метгемоглобіну, MetHb) під дією окисників (амілінітри, анілін, нітробензол, нітрати і нітроти, тіосульфати, фериціанід). Можливо, ГХН такий процес супроводжує, оскільки він виступає сильним окисником [275]. Щоденно в організмі 0,5 % усього гемоглобіну перетворюється на метгемоглобін. Але в еритроцитах міститься ензим метгемоглобінредуктаза, який каталізує відновлення метгемоглобіну до гемоглобіну, тому фактично концентрація метгемоглобіну у крові в нормі невелика. Окиснення гемоглобіну до метгемоглобіну киснем зумовлює утворення супероксидного аніон-радикала ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Супероксидний радикал, який проявляє токсичну активність, під дією СОД перетворюється на H_2O_2 . Останній розпадається під впливом КАТ і пероксидаз еритроцитів. Після 7-денної реабілітації ГПО активність зростає, тоді як активність каталази – знижується (див. табл. А.3). Ймовірно, в цей час в еритроцитах робота АОС спрямована на знищення гідропероксидів, а надмірного утворення пероксиду водню вже не відбувається.

Вивчаючи ГТ, встановили, що ГХН тільки у концентрації 5 мг/л зумовлює спадання її активності на 7-му добу на 35 %. Такі результати свідчать, що в еритроцитах за дії ГХН не утворюється шкідливих сполук-субстратів для цього ензиму. Важливо зазначити, що ГХН спричиняє зниження вмісту ВГ впродовж досліду, крім дії цієї сполуки у концентрації 20 мг/л на 7-му добу (підвищення на 5 %). Тому можна зробити висновок, що у червоних кров'яних тільцях за впливу ГХН утворюються речовини, які перехоплює відновлений глутатіон, і пул його знижується. До таких речовин можуть бути залучені й альдегіди.

Отже, ГХН спричиняє початкове зростання ГПО активності з подальшим її зниженням. Введення цієї речовини упродовж 14-ти днів веде до зростання КАТ активності, тоді як вміст ВГ знижується впродовж досліду. Після реабілітації в еритроцитах ГПО активність зростає, а КАТ активність і вміст ВГ знижується, порівняно з контролем. Найбільш інертною до цієї досліджуваної речовини виявилася ГТ. Аналізуючи ці результати досліджень, можна твердити, що в еритроцитах ГХН діє як окисник, у результаті чого утворюються різні АФК і вільні радикали, які перехоплюються ензиматичною та неензиматичною ланками АОС. Утворення гіпогалогенітів у даному разі, ймовірно, не відбувається, про що свідчить глутатіон-S-трансферазна активність ензиму, який знешкоджує шкідливі речовини. Також не відбувається, ймовірно, й ушкодження структури ензимів, оскільки їхня активність коливається впродовж досліду і їхню роботу можна взаємопов'язати.

Нами встановлено, що поєднана дія ГХН у концентрації 5 мг/л та гістаміну в дозі 8 мкг/кг зумовлює порушення роботи ГПО, починаючи з першої доби. Так, на цю добу активність ензиму зростає на 39 %, проте вже на 7-му – спадає на 72 % порівняно з контролем. Зниження ГПО активності відбувається і на 14-ту добу у групах щурів, яким одночасно вводили гістамін обох доз та ГХН (5 мг/л). Вивчаючи КАТ, встановили, що її активність знижується включно з 7-ю добою приблизно на 30 %, проте вже з 14-ї доби відбувається протилежний ефект в еритроцитах за дії ГХН у концентрації 5 мг/л і гістаміну (1 і 8 мкг/кг). Аналізуючи роботу цих двох ензимів, можна припустити, що в еритроцитах з 14-ї доби значно зростає концентрація пероксиду водню, на який реагує КАТ. Випоювання щурів ГХН (5 мг/л) на фоні дії гістаміну обох концентрацій зумовлює зниження ГТ активності впродовж досліду в середньому на 50 %. Активність цього ензиму знижується за дії гістаміну, а одночасний вплив цього біогенного аміну і ГХН (5 мг/л) лише підсилює такий ефект. Нами встановлено зниження вмісту ВГ до 7-ї доби дії гістаміну і ГХН (5 мг/л). На 14-ту добу досліду вміст ВГ вже зростає на 21 % за одночасного впливу ГХН (5 мг/л) і гістаміну в дозі 8 мкг/кг. Після реабілітаційного періоду вміст GSH зростає у групах щурів, яким вводили і гістамін в обох досліджуваних дозах, і ГХН (5 мг/л). Отже, ГХН у концентрації 5 мг/л на фоні дії гістаміну порушує роботу АОС із переважаючим пригніченням ензимів глутатіонової ланки (див. табл. А.3). Найбільш виражений негативний вплив виявлений на ГТ.

Поєднаний вплив ГХН у концентрації 20 мг/л та гістаміну (1 і 8 мкг/кг) зумовлює зниження ГПО, КАТ активності та вмісту ВГ на 1-шу добу досліду в гемолізатах еритроцитів. На 7-му добу за одночасної дії досліджуваних речовин ГПО активність повертається до меж контролю, а КАТ активність і вміст ВГ – підвищуються. Зростання вмісту GSH можна пояснити не використанням його глутатіонпероксидазою та

глутатіон-S-трансферазою, а також не утворенням сполук-субстратів для нього. Після двотижневого введення згаданих речовин у гемолізатах еритроцитів ГПО, ГТ активності і вміст ВГ знижуються, тоді як КАТ активність залишається високою. Зростання КАТ активності, як уже зазначалося, свідчить про утворення високих концентрацій пероксиду водню.

Відомо, що в еритроцитах є високий вміст КАТ [28]. Після реабілітаційного періоду активність досліджуваних ензимів і вміст GSH знижується (див. табл. А.3). Отже, ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну зумовлює більш виражений негативний ефект (порівняно з одночасною дією ГХН нижчої концентрації) на систему АОЗ, про що свідчить зростання КАТ активності (а отже, і утворення високих концентрацій пероксиду водню) та зниження ГПО і ГТ активності. ГПО, ензим, що залежить від мікроелемента селену, відіграє вирішальну роль у зниженні вмісту пероксидів ліпідів і водню. Якщо ГПО активність зменшується, то збільшується вміст пероксиду водню, що призводить до прямого ушкодження клітин і активації прозапальних шляхів [123]. У клітині роль ГТ полягає в забезпеченні окисно-відновного гомеостазу шляхом відновлення залишків цистеїну протеїнів, що запобігає їхній деградації після дії ендogenous (оксидативного або нітратного стресу) чи екзогенного (ксенобіотики) факторів і у зв'язуванні лігандів для регулювання кіназних шляхів (зокрема, JNK), тобто сигнальних механізмів виживання та загибелі клітин [381].

Показано, що ГХН у концентрації 0,1 мг/л на 7-му добу у *Solea senegalensis* зумовлює гіпертрофію, окиснювальний стрес [81]. ГХН (NaClO), який електростанції скидають у прийомні води, зумовлює у травній залозі та зябрі мідії *Mytilus galloprovincialis* на 1, 3, 7 та 14 днів патологічну реакцію, а також зміну діяльності ензимів ГТ, КАТ, ацетилхолінестерази та рівня ПОЛ. Вплив NaClO викликає токсикологічну реакцію [82]. Припускаємо, що за одночасного введення в організм шурів гістаміну і ГХН утворюються шкідливі речовини, які ушкоджують ензими (глутатіон-S-трансферазу, глутатіонпероксидазу). До них належать нітрили і карбонільні сполуки, а також хлораміни.

Проведений двофакторний дисперсійний аналіз дав змогу встановити ступінь впливу гістаміну, ГХН і їхньої поєднаної дії. Нами виявлено, що на вміст ГП ліпідів значний вплив здійснює ГХН на 7-му та 21-шу доби (54 і 61 % відповідно), тоді як гістамін провідну дію спричиняє на 1-шу та 14-ту (48 і 38 % відповідно; рис. 3.1). Однаковий незначний вплив на вміст первинних продуктів ліпопероксидації виявляє поєднане введення гістаміну і ГХН, починаючи з 7-ї доби і до кінця дослідження. На вміст ТБК-позитивних продуктів значну дію чинить гістамін на 14-ту добу (частка пливу 41 %), тоді як інші речовини у різних комбінаціях зумовлюють посередній вплив на вміст цих продуктів

ліпопероксидації. Це свідчить про те, що на первинні продукти ПОЛ впливає ГХН, але продовження ланцюгової реакції ліпопероксидації зумовлюють як гістамін, ГХН, так і сумісна їхня дія.

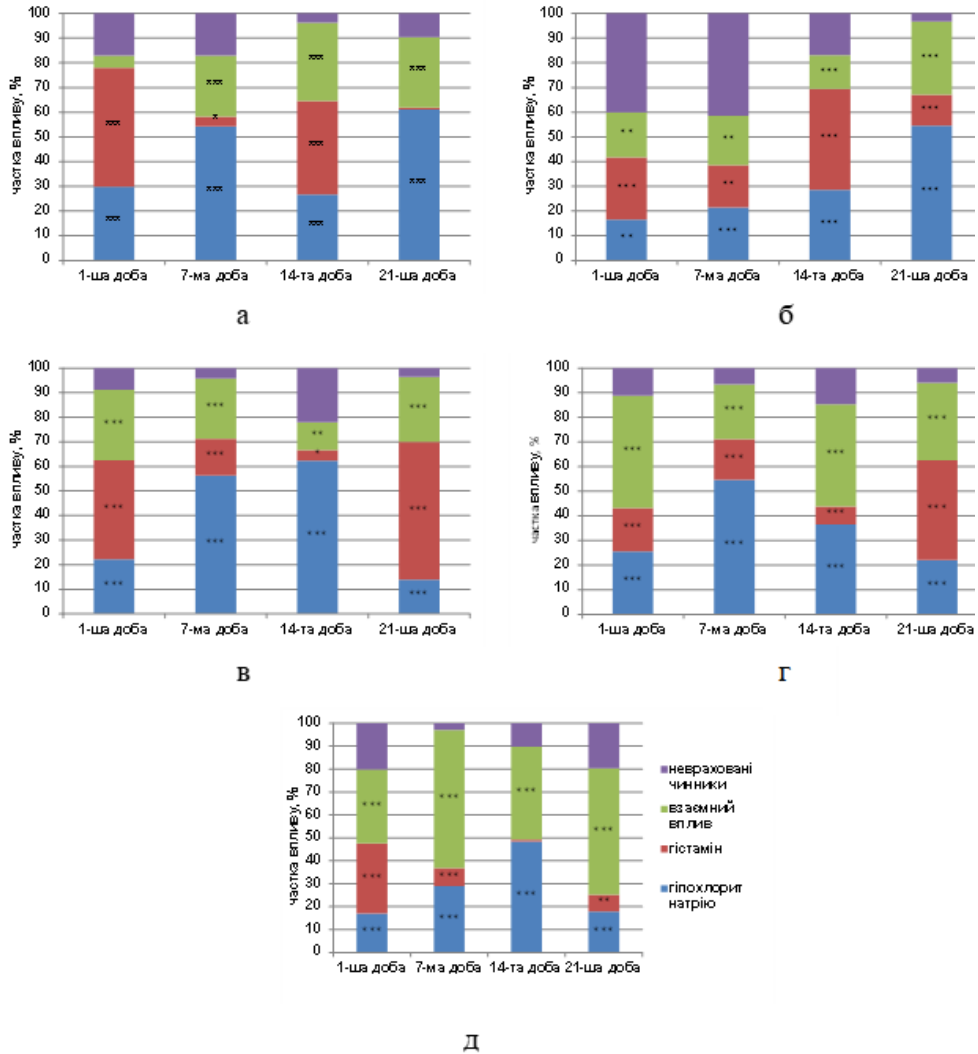


Рис. 3.1. Результати двофакторного дисперсійного аналізу показників прооксидантного стану (а – гідропероксидази; б – ТБК-позитивні продукти; в, г – карбонільні групи протеїнів нейтрального й основного характеру, відповідно; д – сіалові кислоти) у гемолізатах еритроцитів щурів за впливу гістаміну й гіпохлориту натрію; * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

Досліджуючи частки впливу ГХН на вміст карбонільних груп протеїнів як нейтрального, так і основного характеру, встановлено його

провідну дію на 7-му і 14-ту доби (приблизно 50 %). На початковому і кінцевому етапах дослідження на вміст карбонільних груп протеїнів нейтрального характеру значну дію має гістамін (частки впливу 40 і 56 % відповідно). Частки впливу одночасного введення гістаміну і ГХН на оксидативну модифікацію протеїнів основного характеру є значними (45 і 42 %) на 1-шу і 14-ту доби досліду (див. рис. 3.1). Це свідчить про неоднакову дію самого гістаміну і гістаміну в поєднанні з ГХН на вміст карбонільних груп протеїнів основного та нейтрального характеру.

Двофакторний дисперсійний аналіз дав змогу встановити, що на кількість СК в еритроцитах щурів суттєво впливає гістамін і поєднане введення досліджуваних сполук на 1-шу добу. Проте вже на наступних етапах експерименту переважаюча дія належить гіпохлориту натрію і поєднаному впливу гістаміну та ГХН (див. рис. 3.1). Такі результати підтверджують опосередковану дію гістаміну на вміст СК на поверхні еритроцитів щурів.

Встановлено, що на 1-шу добу досліду на ГПО, КАТ активності і вміст ВГ провідний вплив чинить гістамін, де частки впливу становлять 46, 66 і 41 % відповідно. Ймовірно, короткотривала дія гістаміну зумовлює утворення вільних радикалів унаслідок порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу крові, зокрема, еритроцитів. Окрім цього, на ГТ активність значно діє одночасне введення гістаміну і ГХН (частка впливу 46 %). Поєднаний вплив гістаміну і ГХН спричиняє зміни ГПО активності на 7-му і 14-ту доби досліду (частка впливу становить 44 і 30 %, відповідно). На ці доби досліду провідний вплив на КАТ активність і вміст ВГ чинить ГХН. NaClO є потужним окисником, унаслідок дії якого утворюються вільні радикали, що інактивуються саме каталазою та відновленим глутатіоном. GSH є важливим фактором формування тіольного компонента редокс-буферу більшості диференційованих клітин, зокрема, й еритроцитів [197]. Значна частка впливу на ГПО і ГТ активності в еритроцитах щурів належить неврахованим чинникам (рис. 3.2).

Отже, в еритроцитах щурів за впливу гістаміну підвищується вміст ГП ліпідів, знижується вміст СК, змінюється інтенсивність ОМП. Поєднане введення в організм гістаміну і ГХН суттєво підвищує вміст первинних продуктів ліпопероксидації на 1-шу добу досліду, проте вже до 14-ї їхній вміст знижується. За таких умов інтенсивність ОМП і накопичення СК переважно уповільнюється. До таких змін призводить і вполювання тваринам тільки ГХН обох досліджуваних концентрацій. За допомогою двофакторного дисперсійного аналізу встановлено, що на показники вільнорадикальних реакцій суттєвий вплив має вполювання ГХН, а на вміст СК – одночасне введення гістаміну і ГХН [49].

В еритроцитах щурів гістамін призводить до переважаючого зниження активності ензимів АОС та вмісту ВГ упродовж досліду, крім 7-ї

добі. ГХН спричиняє початкове зростання ГПО активності з подальшим її зниженням. Введення ГХН упродовж 14 днів зумовлює зростання КАТ активності, проте вміст ВГ знижується впродовж досліджу. Найменш чутливою до дії ГХН є ГТ. ГХН у концентрації 5 мг/л на фоні дії гістаміну порушує роботу ензимів АОС із переважаючим пригніченням ензимів глутатіонової ланки. ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну зумовлює більш виражений негативний ефект на систему АОЗ, про що свідчить зростання КАТ активності та зниження ГПО і ГТ активності.

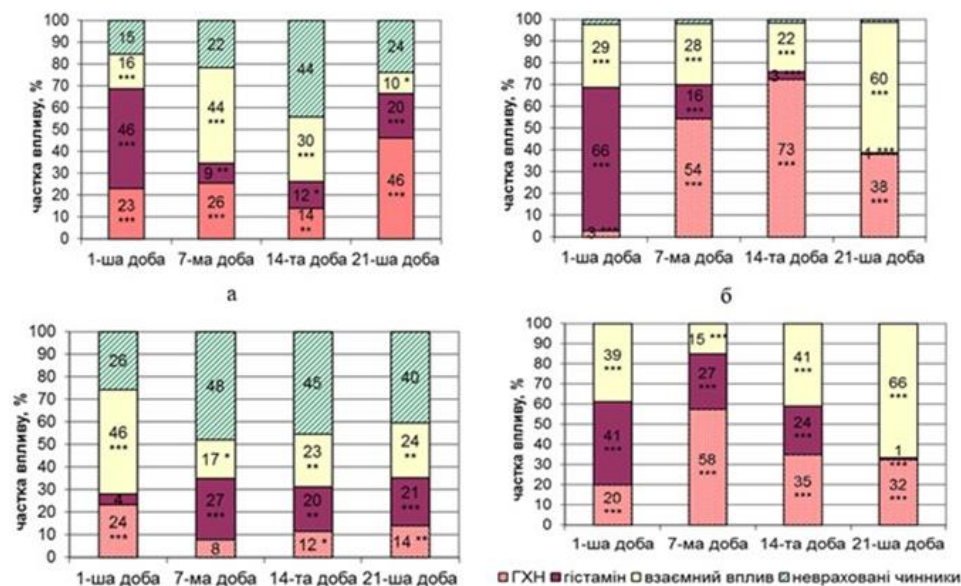


Рис. 3.2. Результати двофакторного дисперсійного аналізу показників антиоксидантного стану (а – глутатіонпероксидаза; б – каталаза; в – глутатіон-S-трансфераза; г – відновлений глутатіон) в гемолізатах еритроцитів щурів за впливу гістаміну й гіпохлориту натрію; * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

За допомогою дисперсійного аналізу встановлено, що на 1-шу добу досліджу на ГПО, КАТ активність і на вміст ВГ чинить провідний вплив гістамін, тоді як на активність ГТ суттєво діє одночасне введення гістаміну і ГХН. Поєднане введення гістаміну і ГХН спричиняє потужну дію на ГПО активність на 7-му і 14-ту доби досліджу, а на КАТ активність і вміст ВГ – ГХН.

Нами встановлено, що у **легені** щурів гістамін спричиняє зниження вмісту ГП ліпідів і ТБК-позитивних продуктів на 1-шу добу досліджу. Проте вже на 7-му, 14-ту і 21-шу (реабілітація) доби вміст цих продуктів ПОЛ підвищується за впливу гістаміну в концентрації 1 мкг/кг. Біогенний амін у вищій дозі підвищує кількість ТБК-позитивних продуктів на 7-му і

14-ту доби, а після реабілітаційного періоду зростає вміст як зазначених продуктів ліпопероксидації (на 111 %), так і ГП ліпідів (на 94 %; табл. А.4). Варто зазначити, що на 1-шу добу дії гістаміну в обох дозах знижується вміст продуктів ПОЛ, значно зростає СОД активність (на 500 %) і активність КАТ (на 35 %) і ГПО (на 80 %; див. табл. А.4). Таке початкове зниження інтенсивності процесів ліпопероксидації відбувається за рахунок значної активації ензимів АОС. Уже на 7-му добу робота СОД трохи послаблюється порівняно з 1-ю добою (за дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг на 49 %), а також і порівняно з контролем (за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг на 28 %), тоді як КАТ і ГПО активності суттєво зростають. Двотижневі ін'єкції гістаміну спричиняють підвищення СОД, КАТ і ГПО активності. Найбільш інтенсивно зростає КАТ активність (1 мкг/кг – на 185 %; 8 мкг/кг – на 154 %). Після реабілітаційного періоду активність досліджуваних ензимів є вище контролю, за винятком СОД після впливу гістаміну в дозі 8 мкг/кг (зниження на 11 %). Отже, гістамін у легені спочатку знижує інтенсивність ПОЛ, а згодом настає підвищення, яке наявне і після реабілітації. Гістамін активує роботу ензимів АОС, крім дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг на СОД активність на 7-му і 21-шу доби (див. табл. А.4). Гістамін у дозі 1 мкг/кг більш виражено негативно діє на прооксидантно-антиоксидантний стан легені, порівняно з біогенним аміном у дозі 8 мкг/кг. У науковій літературі є повідомлення, що у хворих з неспецифічними захворюваннями легень (bronхіт, пневмонія, бронхіальна астма) посилюються радикальні окиснювальні процеси у тканинах легень, що узгоджується з нашими дослідженнями. Відомо, що за дії гістаміну відбувається спазм гладеньких м'язів бронхів, а це негативно впливає на газообмінну функцію легень. Під час запальних процесів (гістамін є медіатором запалення [52]) у легенях продукти ПОЛ впливають на ліпідний склад і структурні властивості клітин, а також на їхню енергетику через пряму дію на процеси окисного фосфорилування в мітохондріях. Показано, що гістамін викликає міграцію тканинних базофілів у легенях. Хемотаксис опосередкований через H4 гістамінові рецептори. Цей механізм може впливати на накопичення тканинних базофілів у легенях [65]. Таке збільшення вмісту тканинних базофілів під впливом гістаміну може спричинити й надмірну їхню дегрануляцію, що посилює прозапальні процеси у легенях і, відповідно, підвищення ПОЛ. Це пояснює інтенсифікацію процесів ліпопероксидації після реабілітаційного періоду.

Випоювання шурам ГХН у концентраціях 5 і 20 мг/л зумовлює значне підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів упродовж усього досліджу. Такий ефект виявлено щодо вмісту ГП ліпідів, крім дії ГХН у концентрації 5 мг/л на 7-му (зниження показника на 94 %) та 14-ту (зниження показника на 60 %) доби. На фоні накопичення продуктів ПОЛ за дії ГХН, загалом, значно зростає СОД активність. Винятком є робота

ензиму за впливу ГХН у концентрації 20 мг/л на 1-шу (показник на рівні контролю) та 7-му доби (зниження активності на 35 %). Зростання КАТ активності виявлено за дії ГХН у концентрації 5 мг/л, тоді як ГПО активність за цих умов знижується впродовж досліджу. Це свідчить, що у легені утворюється більшою мірою H_2O_2 , на який реагує каталаза, а субстрату для ГПО є мінімальна кількість. За вживання щурам ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні стійкого підвищення вмісту первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації (що свідчить про значне окисдаційне ураження ліпідів мембран) КАТ активність незначно зростає тільки на 1-шу добу (на 5 %) із подальшим зниженням її роботи. Водночас ГПО активність зростає на 1-шу і 7-му доби досліджу на 33 і 22 %, проте на 14-ту і 21-шу (реабілітація) – знижується на 66 і 38 % відповідно (див. табл. А.4). Отже, ГХН інтенсифікує процеси ПОЛ, причому вища концентрація спричиняє більш виражений негативний вплив. Дезінтоксикант активує СОД і КАТ, проте пригнічує ГПО активність. Вважається, що у легенях головну роль у захисті від пероксиду водню відіграє каталаза. Так, інгібування каталази, але не глутатіонпероксидази, в умовах дії високих концентрацій H_2O_2 суттєво знижує здатність клітин трахеї й альвеол розкласти пероксид водню. Також показано, що конститутивно експресуюча Cu, Zn-СОД та індукційно експресуюча Mn-СОД ефективно захищають клітини легень від токсичної дії $O_2^{\cdot-}$ (під час впливу прооксидантів і гіпероксії). Тому можна зробити висновок, що за введення в організм тварин ГХН активується система АОЗ, де провідну роль відіграє СОД і КАТ. Показано, що одноразовий вплив ГХН на добу з допустимою концентрацією хлориду на рівні $3,3 \text{ мг/м}^3$ у групі мишей з астмою посилює вміст еозинофілів у перибронхіальному інфільтраті, синтез цитокінів, носового слизу та збільшує кількість позитивних клітин iNOS у дистальному відділі легень [39], що свідчить про розвиток запальних процесів. Відомо, що під час запалення ініціюються вільнорадикальні реакції, і це узгоджується з нашими дослідженнями.

Поєднане введення в організм гістаміну в дозі 1 і 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 20 мг/л спричиняє накопичення первинних і вторинних продуктів ПОЛ упродовж досліджу. ГХН у концентрації 5 мг/л на фоні дії гістаміну обох доз веде до підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів на 1-шу, 7-му, 14-ту і 21-шу (після реабілітації) доби досліджу. У цей час вміст ГП ліпідів змінюється. Варто зазначити, що за одночасного впливу гістаміну і ГХН у нижчій концентрації СОД і КАТ активність підвищується, а ГПО – знижується, що повністю повторює ефект дії самого ГХН. Вплив ГХН вищої концентрації на фоні дії гістаміну посилює роботу СОД, КАТ і ГПО на 1-шу добу, проте вже на подальші доби ефект залежить від дози гістаміну. У поєднанні ГХН (20 мг/л) з гістаміном у дозі 1 мкг/кг СОД і КАТ активності зростають на 7-му добу, але вже на 14-ту СОД активність повертається до меж контролю, а робота КАТ і ГПО

знижується. Одночасна дія гістаміну в дозі 8 мкг/кг і ГХН (20 мг/л) знижує СОД активність і підвищує КАТ і ГПО активності на 7-му та 14-ту доби. Варто відзначити, що після реабілітаційного періоду за дії гістаміну і ГХН усіх концентрацій суттєво інтенсифікується робота СОД, КАТ, пригнічується ГПО активність на фоні підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів (див. табл. А.4). Отже, ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну значно порушує прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у легені щурів.

Отже, гістамін у легені на 1-шу добу знижує вміст первинних і вторинних продуктів ПОЛ із подальшим підвищенням їхньої кількості. Гістамін активує роботу ензимів АОС. Гістамін у дозі 1 мкг/кг більш виражено негативно діє на прооксидантно-антиоксидантний стан легені, порівняно з біогенним аміном у дозі 8 мкг/кг. Випоювання інтактним тваринам ГХН зумовлює посилення інтенсивності процесів ліпопероксидації; вища концентрація спричиняє більш виражений негативний вплив. ГХН також зумовлює зростання СОД, КАТ активностей і пригнічує ГПО активність. За одночасного впливу гістаміну і ГХН у концентрації 5 мг/кг вміст ТБК-позитивних продуктів, СОД і КАТ активності підвищуються, а ГПО активність знижується, що повторює ефект дії ГХН. ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну сильно порушує баланс ПОЛ-АОС у легені щурів. Треба зазначити, що легені виявилися чутливими як до дії самого гістаміну, ГХН, так і до одночасного введення гістаміну і ГХН.

Виконавши морфометричний аналіз, встановили, що гістамін у дозах 1 і 8 мкг/кг не спричиняє змін діаметра просвіту альвеол упродовж усього часу його введення. Після реабілітаційного періоду цей показник знижується на 28 % (порівняно з контролем) після підшкірного введення тваринам гістаміну в дозі 1 мкг/кг (табл. 3.1). Варто зазначити, що хоча діаметр просвіту альвеол є в межах норми за дії гістаміну, проте площа поперечного перерізу альвеол знижується. Так, за впливу гістаміну в дозі 1 мкг/кг відбувається зниження цього показника на 7-му, 14-ту та 21-шу (реабілітація) доби досліду на 31, 32, 58 % відповідно. Нами виявлено, що гістамін у вищій досліджуваній дозі вже з 1-ї доби зумовлює зменшення площі поперечного перерізу альвеол легені приблизно на 30 % і повертається до меж контролю після 7-денної реабілітації (див. табл. 3.1). Ймовірно, зменшення площі поперечного перерізу альвеол (їхнього просвіту) відбувається за рахунок збільшення товщини альвеолярних стінок. Із наукових статей відомо, що в легенях, які піддаються постійному впливу шкідливих сполук (легенях курців), з або без емпіземи відбувається потовщення альвеолярних стінок з істотним відкладенням колагену, що призводить до дифузного потовщення і рубцювання альвеол [8]. Mitsunobu зі співавторами довели, що гістамін бере участь у розвитку atopічної астми [97], за якої ушкоджуються альвеоли, і що це веде до

Таблиця 3.1

Морфометричні показники легені щурів за дії гістаміну та ГХН

Доба	№ групи	Площа поперечного перерізу альвеол, мкм ² , M±m	p	Товщина міжальвеолярних перегородок, мкм, M±m	p	Діаметр просвіту альвеол, мкм, M±m	p
1-ша доба	Контроль	1051,5±62,5		7,3±0,2		27,04±0,8	
	Гістамін, 1 мкг/кг	879,4±177,7	0,6	7,1±0,3	0,49	27,5±1,9	0,16
	Гістамін, 8 мкг/кг	756,4±95,5	*	7,3±0,3	0,2	27,8±1,9	0,26
	ГХН, 5 мг/л	743,9±89,7	*	8,4±0,9	0,63	25,9±2,4	0,3
	ГХН, 20 мг/л	599,1±104,2	**	8,7±0,5	*	24,5±2,4	0,64
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	1212,4±193,5	0,54	10,6±1,2	*	33,4±2,7	0,93
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	1081,2±117,3	0,17	9,2±0,4	**	33,3±2,5	0,94
	Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	884,4±171,3	0,6	8,2±0,5	0,87	29,3±2,8	0,53
Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	673,3±246,3	0,8	10,4±0,7	**	23,6±5,8	0,42	
7-ма доба	Контроль	992,5±75,9		7,24±0,4		27,6±0,8	
	Гістамін, 1 мкг/кг	685,2±73,4	*	8,7±0,4	*	25,2±1,7	0,75
	Гістамін, 8 мкг/кг	612,9±120,2	*	8,7±0,3	*	25,3±1,4	0,8
	ГХН, 5 мг/л	1399,8±325,4	0,71	7,8±0,6	0,55	36,8±4,9	0,87
	ГХН, 20 мг/л	696,7±138,1	0,89	9,5±0,4	**	23,9±3,3	0,66
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	548,6±51,7	**	10,4±0,5	***	21,9±0,9	**
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	955,2±168,9	0,15	10,7±0,9	*	29,5±2,9	0,44
	Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	868,2±147,3	0,52	10,3±0,6	**	31,4±2,7	0,77
Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	1272,7±358,2	0,51	10,9±0,7	**	33,7±4,8	0,72	
14-та доба	Контроль	982,9±34,7		7,1±0,3		27,1±0,4	
	Гістамін, 1 мкг/кг	667,7±112,2	*	8,3±0,3	*	25,7±2,7	0,36
	Гістамін, 8 мкг/кг	599,8±127,9	*	8,4±0,4	*	25,2±2,8	0,45
	ГХН, 5 мг/л	1143±252,5	0,44	8,5±0,3	*	34,4±4,2	0,84
	ГХН, 20 мг/л	729,4±170,9	0,78	10,8±0,9	*	26,2±2,6	0,25
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	917,8±180,6	0,26	11,5±0,9	**	28,1±2,8	0,26
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	543,9±49,5	***	9,9±0,9	*	23,2±1,001	*
	Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	720,8±169,5	0,8	8,6±1,04	0,75	26,3±3,7	0,15
Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	655,4±62,9	**	11,1±0,5	***	25,2±1,9	0,6	
21-ша доба	Контроль	1063,6±103,9		7,2±0,4		28,9±1,6	
	Гістамін, 1 мкг/кг	449,3±89,9	**	8,7±0,6	0,94	20,9±2,1	*
	Гістамін, 8 мкг/кг	679,1±171,9	0,9	8,8±0,6	*	24,2±3,1	0,78
	ГХН, 5 мг/л	854,5±173,8	0,66	9,7±0,7	*	26,7±1,5	0,65
	ГХН, 20 мг/л	542,4±27,9	**	10,2±0,4	***	25,4±1,7	0,83
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	931,3±94,1	0,63	10,8±1,3	*	23,6±0,8	*
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	751,4±133,3	0,9	10,2±0,8	*	22,7±0,9	*
	Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	663,5±60,3	*	10,9±1,5	0,93	25,3±2,03	0,8
Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	814,9±50,3	0,93	10,5±0,5	***	26,04±1,6	0,77	

Примітки: * – p ≥ 0,95; ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

розвитку дихальної недостатності (порушення обміну газів у легенях). Після введення в організм щурів гістаміну в нижчій концентрації (1 мкг/кг) (після реабілітаційного періоду), ймовірно, розвиваються репараційні зміни, за яких відбувається розростання сполучної тканини та підвищення розмірів міжальвеолярних перегородок, а, відповідно, і зменшення площі поперечного перерізу альвеол. У науковій літературі є повідомлення, що велика кількість тканинних базофілів, які синтезують гістамін, в альвеолярних стінках за патологічних станів легень через експресію TGF- β , протеаз фібробластів і вироблення фіброгенних факторів реніну та VEGF, можуть відігравати важливу роль у репарації тканин легень [8]. Зменшення площі поперечного перерізу, що відбувається на тлі нормального показника діаметра просвіту альвеол, ми пояснюємо тим, що просвіт альвеол не має ідеально круглої форми. Тому вплив гістаміну на легеню краще віддзеркалює показник площі поперечного перерізу альвеол.

Підшкірні ін'єкції гістаміну ведуть також до зростання товщини міжальвеолярних перегородок на 7-му та 14-ту доби на 20 %. Цей показник зберігається на такому ж рівні і після реабілітаційного періоду на 21-шу добу за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг (див. табл. 3.1). Відомо, що складовою частиною всіх органів, у тому числі й легень, є сполучна тканина. У легеневій стромі переважають елементи механічного функціонування – колагенові й еластинові волокна. За пошкодження легень різними фізичними чи хімічними факторами відбувається розростання сполучної тканини у паренхімі легень. У цьому процесі важливого значення набувають фібробласти, що мають високу активність синтезу, та гістіоцити, які виконують захисну роль. Фібробласти проліферують у місці пошкодження легень, виробляючи колаген і вуглеводо-протеїнові макромолекули [181]. Отже, збільшення товщини міжальвеолярних перегородок свідчить про розростання сполучної тканини, що є негативним явищем, оскільки в такому разі знижується альвеолярно-капілярний обмін газів.

Застосовуючи світлову мікроскопію, встановили, що за дії гістаміну в дозі 1 та 8 мкг/кг зростає кількість ділянок респіраторних відділів легені з ознаками ателектазу (спадання альвеол, зменшення їхнього просвіту) (рис. 3.3, а, б). Поряд із тим, зафіксовано з 7-ї доби дослідження значне спазмування бронхіол, периваскулярний набряк унаслідок збільшення проникності судин, застій крові в судинах у результаті порушення реологічних властивостей крові (див. рис. 3.3, в). Ці зміни були прогнозованими, оскільки відомо, що гістамін посилює проникність судин і зумовлює спазм гладеньких м'язів. З наукової літератури відомо [29], що, діючи на H1- та H2-рецептори, гістамін індукує вивільнення судинним ендотелієм оксиду азоту, який стимулює гуанілциклазу та підвищує

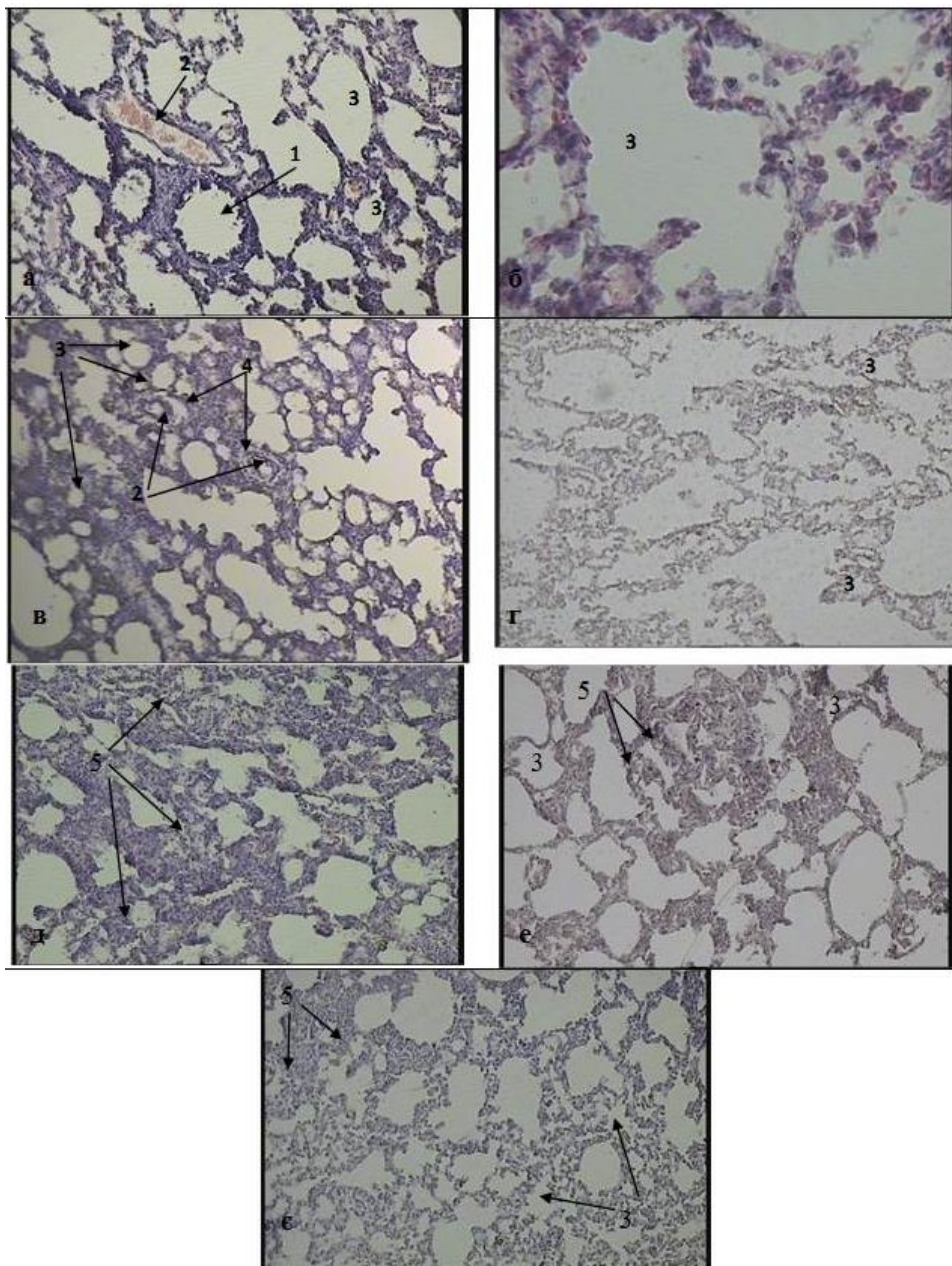


Рис. 3.3. Респіраторний відділ легені щурів. Гематоксилін-еозин: а – контроль, 1-ша доба, ок.10, об.10; б – гістамін, 1 мкг/кг, 1-ша доба, ок.10, об.40; в – гістамін, 8 мкг/кг, 7-ма доба, ок.10, об.10; г – ГХН, 5 мг/л, 1-ша доба, ок.10, об.10; д – ГХН, 5 мг/л, 14-та доба, ок.10, об.10; е – ГХН, 20 мг/л, 1-ша доба, ок.10, об.10; ф – ГХН, 20 мг/л, 14-та доба, ок.10, об.10; 1 – бронхіола; 2 – судина; 3 – альвеола; 4 – периваскулярний набряк; 5 – вакуолізація цитоплазми

кількість гуанозинмонофосфату в ендотеліальних клітинах судин, унаслідок чого відбувається вазодилатація, еритема, набряк і зростання проникності судин. Вазодилатація посилюється через аксонний рефлекс унаслідок вивільнення субстанції P через антидромні проведення по аферентних С-волоконх. Спорідненість гістаміну до H1-рецепторів у судинах приблизно в 10 разів вища, ніж до H2-рецепторів. Діючи через H1- та H2-рецептори, гістамін також зменшує опір периферичних судин, знижує артеріальний тиск і має позитивний інотропний ефект. Впливаючи на H1-рецептори, гістамін також призводить до скорочення гладкої мускулатури дихальних шляхів, хронотропного ефекту в серці та до стимуляції закінчень сенсорних нервів, що спричиняє свербіння слизових оболонок і шкіри через стимуляцію тонких немієлінізованих С-волокон, які мають низьку швидкість передачі імпульсів та великі площі іннервації. H1-рецептори, сполучені з G-протеїнами, демонструють незалежну від агоніста передачу сигналів. H1-блокатори гістаміну пригнічують цю конституційну передачу сигналу, імовірно, через стабілізацію неактивної структури H1-гістамінового рецептора та діючи як зворотні агоністи [29]. Нами встановлено, що паренхіма легені за впливу гістаміну інтенсивно забарвлена, а це свідчить про ушкодження клітин унаслідок підвищення проникності мембран (під час фарбування в клітину надходить значно більше барвника). Відбувається розростання сполучної тканини. Такі типові зміни зберігаються і на 21-шу добу досліду.

За допомогою електронно-мікроскопічних досліджень встановлено, що на 7-му добу дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг у клітинах легені щурів утворюються вакуолоподібні структури дуже низької електронної щільності (розширення ендоплазматичної сітки). У тканинних базофілах легені зростає вміст гранул із ендогенним гістаміном. Збільшується протяжність ділянок із підвищеним вмістом колоїдного розчину глікопротеїнів у гіпофазі сурфактантного комплексу (міститься між мембранною фазою просвіту альвеол і епітеліоцитами) (рис. 3.4, а, б). У тканинних базофілах, макрофагах, альвеолоцитах значна кількість мітохондрій набрякли з електронно-світлим матриксом (див. рис. 3.4, а, в). Набрякання мітохондрій відбувається за рахунок руху молекул води у матрикс під час збільшення колоїдно-осмотичного тиску всередині неї. Зміни в мітохондріях ведуть до зниження споживання кисню, роз'єднання окисного фосфорилування, зниження здатності накопичувати кальцій. У цитоплазмі клітин міжальвеолярних перегородок трапляються мультивезикулярні тільця за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг на 7-му добу досліду. Потрібно зазначити, що всі описані зміни посилюються на 14-ту добу досліду. Поряд із цим, зафіксовано, що в альвеолоцитах другого порядку (великі епітеліоцити), які більші за альвеолоцити першого порядку, у тканинних базофілах з'являється значна кількість вторинних лізосом і пероксисом. Нашими попередніми дослідженнями встановлено,

що в цей час відбувається підвищення каталазної активності, яка, власне, і міститься в пероксисомах [189]. У таких клітинах містяться ядра високої електронної щільності, в яких переважає гетерохроматин, що вказує на їхню знижену функціональну активність (див. рис. 3.4, г).

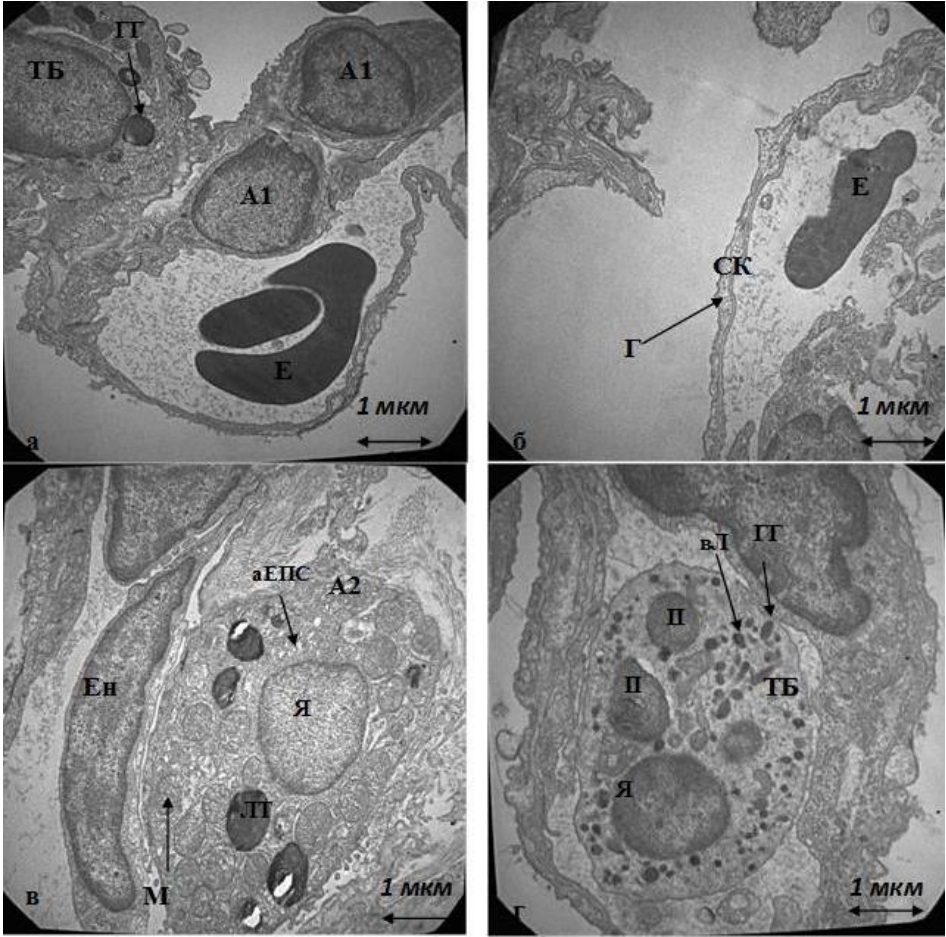


Рис. 3.4. Електронна мікрофотографія клітин респіраторного відділу легні щура: а – контроль, 7-ма доба, $\times 20\ 000$; б – гістамін, 8 мг/кг, 7-ма доба, $\times 20\ 000$; в – гістамін, 8 мг/кг, 7-ма доба, $\times 22\ 000$; г – гістамін, 8 мг/кг, 14-та доба, $\times 20\ 000$; А1 – альвеолоцит 1-го типу; А2 – альвеолоцит 2-го типу; Ен – ендотеліоцит; ТБ – тканинний базофіл; ГГ – гранули з гістаміном та іншими біологічно активними речовинами; СК – сурфактантний комплекс; Г – гіпофаза; Е – еритроцит; М – мітохондрія; аЕПС – агранулярна ендоплазматична сітка; вЛ – вторинна лізосома; П – пероксисома; Я – ядро; ЛТ – ламелярні тілця

Отже, введення гістаміну в легені щурів призводить до зменшення площі поперечного перерізу альвеол і до підвищення товщини міжальвеолярних перегородок. Ці зміни є вираженими на 7-му та 14-ту доби дії біогенного аміну, поряд з якими також відбувається спазмування бронхіол і периваскулярний набряк навколо судин. Гістамін у вищій дозі зумовлює більш виражені зміни морфометричних показників, починаючи з 1-ї доби досліджу. Альтерація клітин респіраторного відділу легені супроводжується набряканням мітохондрій, утворенням вакуолеподібної ендоплазматичної сітки, підвищенням кількості пероксисом і лізосом, із домінуванням на 14-ту добу дії гістаміну у дозі 8 мкг/кг.

Випоювання інтактним щурам ГХН у концентрації 5 та 20 мг/л не спричиняє змін діаметра поперечного перерізу альвеол у легені, проте зумовлює зменшення площі поперечного перерізу альвеол на 29 та 43 %, відповідно, на 1-шу добу, після чого показник повертається до меж норми. Після реабілітаційного періоду площа поперечного перерізу альвеол зменшується лише після випоювання тваринам ГХН у концентрації 20 мг/л на 49 % (див. табл. 3.1). ГХН у концентрації 20 мг/г у легені щурів спричиняє зростання товщини міжальвеолярних перегородок упродовж усього часу його введення в організм (1-ша доба – на 21 %, 7-ма – на 32 %, 14-та – на 52 %), а також і після реабілітаційного періоду (на 42 %). ГХН у нижчій досліджуваній концентрації веде до достовірного зростання цього показника лише на 14-ту та 21-шу (реабілітація) доби досліджу на 19 і 35 % відповідно (див. табл. 3.1). Ступінь негативної дії ГХН залежить від тривалості випоювання ГХН.

Проаналізувавши фотографії гістопрепаратів легені за дії ГХН у концентрації 5 мг/л, ми встановили, що на 1-шу добу досліджу клітини погано сприймають барвник, альвеоли спалі (див. рис. 3.3, г), проте вже на 7-му добу досліджу зростає кількість клітин, які мають у ядрах по два ядерця, розширюються альвеолярні ходи, хоча починає збільшуватися кількість сполучної тканини між ними, клітини яскраво зафарбовані, добре помітні ядра великих розмірів з ядерцями. Вже на 14-ту добу досліджу в багатьох клітинах легені ядра великого розміру з багатьма ядерцями, проте цитоплазма не всіх клітин добре профарбовується по всій площині, що свідчить про її вакуолізацію (див. рис. 3.3, д). Хоча в цей час альвеоли великих розмірів (у нормі), проте міжальвеолярні перегородки є збільшеними, що підтверджується морфометричним аналізом. Такі зміни тканинам легені притаманні і після реабілітаційного періоду.

ГХН у концентрації 20 мг/л, поряд зі змінами, які зафіксовані морфометрично (зменшення площі поперечного перерізу альвеол, зростання товщини міжальвеолярних перегородок) впродовж досліджу, веде до зниження сприйняття клітинами барвника та вакуолізації клітин, проте їхні ядра не містять збільшеної кількості ядерць (див. рис. 3.3, е, є). За впливу цього чинника виявлено периваскулярний набряк навколо судин.

Отже, ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює менш виражені патологічні прояви, які більшою мірою виявляються на 14-ту та 21-шу (реабілітація) доби досліду. ГХН у концентрації 20 мг/л веде до дистрофічних змін, розростання сполучної тканини впродовж усього часу дії цієї сполуки на організм щурів, патологічні прояви не нівелюються навіть після реабілітаційного періоду.

Відомо, що фармакологічна активність ГХН зумовлена киснем, який вступає в реакцію з токсинами. Аналогічну функцію в організмі виконують ензими мієлопероксидази цитохрому Р-450. Вони каталізують реакції гідроокислювання, в яких RН гідроокислюється до R-ОН за рахунок одного із атомів кисню, тоді як другий атом кисню відновлюється до H₂O. Ці реакції активно проявляються, коли до організму потрапляють сторонні речовини, які погано розчиняються у воді. В результаті гідрокислювання розчинність таких сполук підвищується, що сприяє їхній дезінтоксикації та виведенню з організму. Виходячи з вищезазначеного, механізм дії розчину ГХН полягає у тому, що в організмі він вивільняє активний кисень, окиснюючи наявні там токсичні речовини, причому окиснення ксенобіотиків приводить до утворення кінцевого продукту, аналогічно тому, що отримують за участю цитохрому Р-450 [196]. Ймовірно, за відсутності в організмі шкідливих сполук ГХН у вищих концентраціях починає взаємодіяти із ненасиченими жирними кислотами, компонентами мембран, що і зумовлює такі негативні явища у легені щурів. Це підтверджується попередніми нашими дослідженнями, за якими встановлено підвищення вмісту первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (гідропероксидів і малонового діальдегіду) у легені щурів за дії ГХН [189]. Варто зазначити, що легені, зокрема, альвеоли (які містять сурфактант), багаті на ліпіди, які, власне, піддаються окисненню різними оксидантами. У науковій праці Van Den Broecke показано, що у мишей вдихання подразників, таких як хлор і похідні хлору (гіпохлориту OCl⁻), викликає побічні ефекти дихання, включаючи астму [140]. Кальпротектин забезпечує харчовий імунітет. Його вміст є високим у легенях пацієнтів з муковісцидозом, проте він не дає змоги запобігти їхньому повторному інфікуванню. Авторами встановлено, що на здатність кальпротектину обмежувати ріст *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* суттєво впливає гіпохлоритна кислота, яка його окиснює. А відомо, що гіпохлоритна кислота утворюється в мієлопероксидазній реакції для захисту організму від бактерій [88]. Не виключено, що ГХН реагує з водою, в результаті чого утворюється гіпохлоритна кислота, яка разом із гіпохлоритом і активним киснем чинить оксидативну дію на компоненти тканин легені щурів.

Нами встановлено, що поєднаний вплив ГХН у концентрації 5 мг/л та гістаміну в дозі 8 мкг/кг не зумовлює змін діаметра та площі поперечного перерізу альвеол щурів упродовж 14-ти діб. Хоча на 7-му

добу досліду за допомогою морфометричного аналізу встановлено зростання товщини міжальвеолярних перегородок на 43 % (див. табл. 3.1). Після 7-денної реабілітації зменшується лише площа поперечного перерізу альвеол на 38 %. Випоювання тваринам ГХН у концентрації 5 мг/л на фоні дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг зумовлює більш виражені структурні зміни у легені. Так, відбувається зростання товщини міжальвеолярних перегородок упродовж усього часу експерименту приблизно на 50 %, а також на 7-му добу зменшення діаметра і площі поперечного перерізу

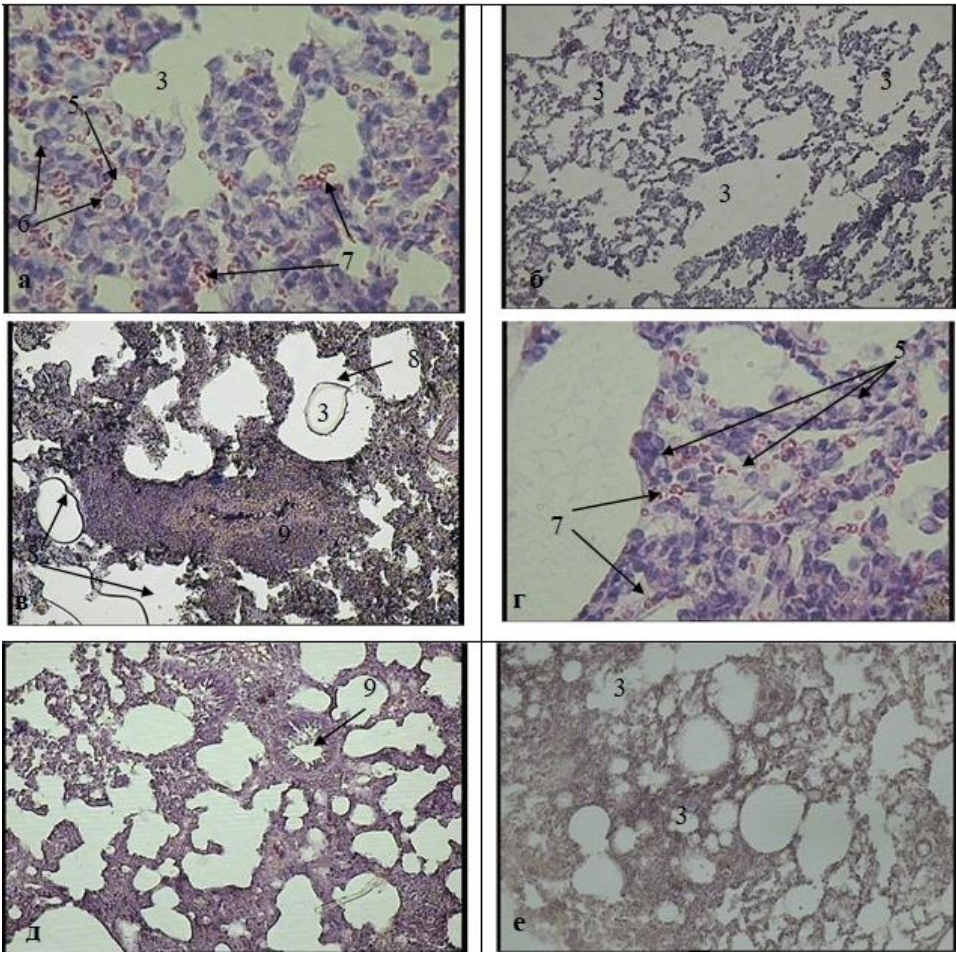


Рис. 3.5. Респіраторний відділ легені щурів. Гематоксилін-езин: а – ГХН, 5 мг/л та гістамін, 1 мкг/кг, 1-ша доба, ок. 10, об. 40; б – ГХН, 5 мг/л та гістамін, 1 мкг/кг, 7-ма доба, ок. 10, об. 10; в – ГХН, 5 мг/л та гістамін, 1 мкг/кг, 14-та доба, ок. 10, об. 10; г – ГХН, 5 мг/л та гістамін, 8 мкг/кг, 21-ша доба, ок. 10, об. 40; д – ГХН, 20 мг/л і гістамін, 8 мкг/кг, 7-ма доба, ок. 10, об. 10; е – ГХН, 20 мг/л і гістамін, 8 мкг/кг, 14-та доба, ок. 10, об. 10. 3 – альвеола; 5 – вакуолізація цитоплазми; 6 – багатоядерцеві ядра; 7 – еритроцити; 8 – сурфактант; 9 – спазм бронхіоли

альвеол легені (див. табл. 3.1; рис. 3.5, б), на 21-шу – зменшення діаметра просвіту альвеол. Аналізуючи гістопрепарати під світловим мікроскопом за впливу ГХН у концентрації 5 мг/л і одночасної дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг, ми виявили велику кількість еритроцитів у тканинах легені на 1-шу добу досліду (див. рис. 3.5, а), що свідчить про зростання проникності судин. Клітини добре сприймають барвник. На «соковитій» цитоплазмі добре проглядаються ядра переважно з двома ядерцями. Проте водночас у цитоплазмі окремих клітин виявлено гідропічну дистрофію (див. рис. 3.5, а). З 7-ї доби у тканинах легені клітини значно перефарбовуються, що свідчить про порушення проникності мембран. Виявлено значне спазмування бронхіол і накопичення сурфактанту в альвеолах (див. рис. 3.5, в). На фоні позитивної динаміки показників морфометричного аналізу за дії ГХН у концентрації 5 мг/л та гістаміну в дозі 8 мкг/кг ми виявили інтенсивне сприймання барвника клітинами з ознаками вакуолізації вже на 1-шу добу досліду. З 14-ї доби наявна також збільшена кількість еритроцитів у капілярах легені (див. рис. 3.5, г). Проте ми не виявили вираженого спазмування бронхіол у респіраторному відділі легені за дії ГХН у концентрації 5 мг/л і гістаміну в дозі 8 мкг/кг.

Електронно-мікроскопічні дослідження дали змогу виявити за дії ГХН у концентрації 5 мг/л і гістаміну в дозі 8 мкг/кг поодинокі розширення цистерн ендоплазматичного ретикулуму, комплексу Гольджі у макрофагах тканин респіраторного відділу легені на 7-му добу досліду (рис. 3.6, а). Клітини середньої електронної щільності, як і у контролі. Чітко виражені контури клітин, отже, плазматична мембрана не ушкоджена. По периферії ядер розташовується конденсований хроматин. У сурфактантному комплексі розширюється гіпофаза зі зростанням рідкого колоїдного розчину глікопротеїнів (див. рис. 3.6, б). У тканинних базофілах, альвеолоцитах 2-го типу легені виявлено значне розширення гранулярної ендоплазматичної сітки із її фрагментацією, внаслідок чого утворюються дрібні вакуолі в цитоплазмі. Мітохондрії цих клітин зазнають змін. Так, матрикс мітохондрій має низьку електронну щільність, подекуди із фрагментацією крист. Наявні піноцитозні пухирці (див. рис. 3.6, в), збільшуються кількість і розміри гранул з гістаміном. Такі зміни притаманні тканинам респіраторного відділу легені і на 14-ту добу досліду.

Вивчаючи вплив ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну (1 та 8 мкг/кг), ми встановили зменшення площі поперечного перерізу альвеол на 14-ту добу (приблизно на 40 %) та зменшення діаметра просвіту альвеол як на 14-ту, так і на 21-шу доби досліду (на тлі дії нижчої дози гістаміну). Беручи до уваги товщину міжальвеолярних перегородок, необхідно засвідчити зростання цього показника за впливу ГХН (20 мг/л) і за одночасної дії гістаміну обох досліджуваних доз упродовж усього досліду (див. табл. 3.1; рис. 3.5, д, е), що свідчить про розростання

сполучної тканини. Встановлено, що клітини респіраторного відділу легені щурів за одночасної дії ГХН (20 мг/л) і гістаміну у дозі 1 і 8 мкг/кг інтенсивно сприймають барвник, оптично непрозорі, значна кількість ядер пікнотичні, виявлено спазмування бронхіол (див. рис. 3.5, д, е).

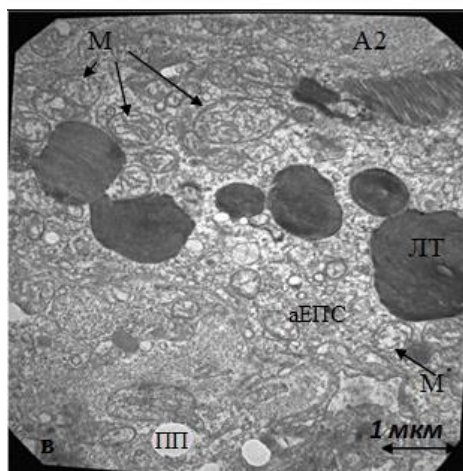
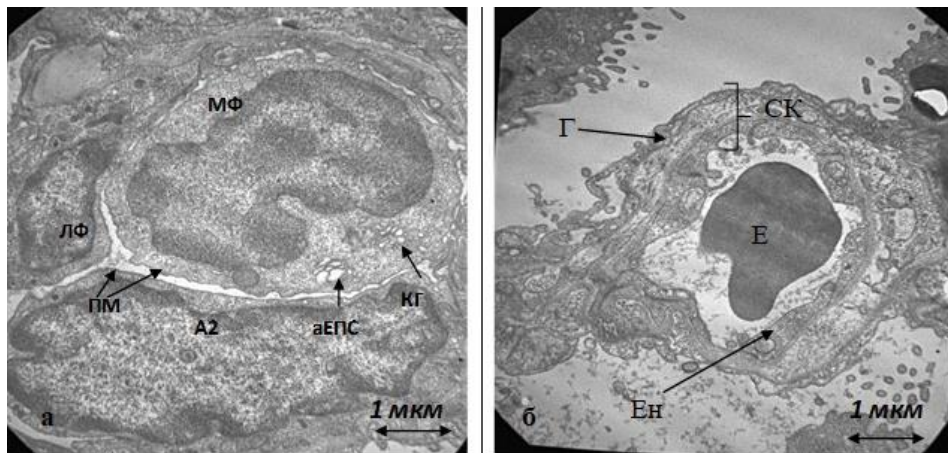


Рис. 3.6. Електронна мікрофотографія клітини легені щурів за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг та гіпохлориту натрію в концентрації 5 мг/л: а-б – 7-ма доба досліді, $\times 20\ 000$; в – 7-ма доба досліді, $\times 22\ 000$. МФ – макрофаг; ЛФ – ліпофібробласт; КГ – комплекс Гольджі; ПМ – плазматична мембрана; ПП – піноцитозний пухирець; А2 – альвеоцит 2-го типу; аЕПС – агранулярна ендоплазматична сітка; Г – гілофаза; СК – сурфактантний комплекс; Ен – ендотеліоцит; Е – еритроцит; М – мітохондрія; ЛТ – ламелярні тільця

На ультраструктурному рівні нами встановлено, що на 7-му добу дії ГХН у концентрації 20 мг/л та гістаміну в дозі 8 мкг/кг відбуваються структурні зміни у мітохондріях, які супроводжуються електронно-світлим матриксом, розширенням цистерн ендоплазматичної сітки, альвеоцити другого типу містять велику кількість ламелярних тілець (сформованих з фосфоліпідів та інших речовин, з яких у подальшому утворюється сурфактант). Ядра клітин легені позбавлені ядерець, проте хроматин дифузний. Клітини містять мультивезикулярні тільця (рис. 3.7, а). Такі зміни залишаються і на 14-ту добу досліді з посиленням

розширення цистерн ендоплазматичної сітки. У цей час в клітинах переважає агранулярна ендоплазматична сітка (див. рис. 3.7, б).

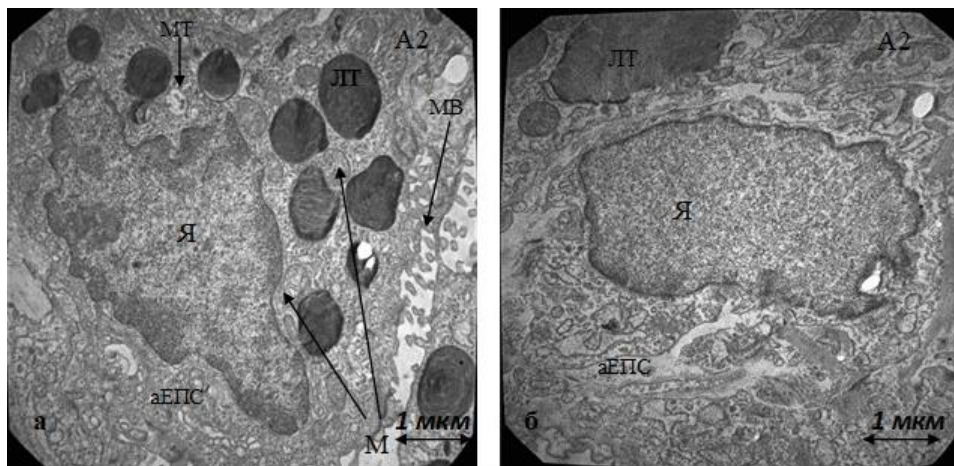


Рис. 3.7. Електронна мікрофотографія клітин легень шурів за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг та гіпохлориту натрію в концентрації 20 мг/л: а – 7-ма доба дослідю, $\times 22\ 000$; б – 14-та доба дослідю, $\times 22\ 000$. МВ – мікрворсинки; МТ – мультівезикулярне тільце; А2 – альвеолоцит 2-го типу; аЕПС – агранулярна ендоплазматична сітка; М – мітохондрія; ЛТ – ламелярні тільця; Я – ядро

Відомо, що у функціонуванні легень беруть участь дві основні системи – повітряносні та кровonosні шляхи, що структурно поєднуються інтерстиціальною строною, яка простягається по всій легені й об'єднує різні її частини. Сполучна тканина, як вже зазначалося, відіграє одну з провідних ролей у легенях. Вона зумовлює передачу рухів повітряного насоса, що характерно для дихального органа, є підтримкою двох інших систем, необхідних для регуляції респіраторної функції (лімфи та нервових зв'язків), слугує бар'єром між відділами легені, забезпечуючи, таким чином, метаболічний зв'язок між різними клітинами легеневої паренхіми. Для цих клітин вона є основним мікрооточенням. У легеневій стромі переважають елементи механічного функціонування – колагенові й еластичні волокна. Під час запалення, крім процесів розпаду, що характеризуються розщепленням вуглеводів, жирів, білків, деполімеризацією білково-полісахаридних комплексів і появою недоокиснених продуктів обміну речовин, починають посилюватися і процеси синтезу. У цьому процесі важливого значення набувають фібробласти, клітини сполучної тканини, що мають високу активність синтезу, та гістіоцити, які виконують захисну роль [208]. Тому розростання сполучної тканини у легені шурів за впливу гістаміну і ГХН є

важливим патогенетичним фактором, який свідчить про наявність запальних процесів. Відомо, що гістамін є медіатором запалення. Екзогенне підшкірне введення гістаміну в низькій досліджуваній дозі у легені щурів зумовлює стимуляцію утворення ендogenous гістаміну тканинними базофілами і його викидом в оточуюче середовище. Водночас ГХН у високій концентрації призводить до ушкодження клітинних мембран, у результаті чого посилюється процес викиду ендogenous гістаміну; це узгоджується з попередніми нашими дослідженнями [189]. ГХН у низькій концентрації (5 мг/л), можливо, лише вступає в реакцію зі шкідливими речовинами організму, включаючи гістамін, тому не відбувається ушкодження білків, жирів і вуглеводів здорових клітин. Потрібно зазначити, що гістамін вищої дози, ймовірно, може стимулювати активацію гістаминази, ензиму, який знешкоджує гістамін, тоді як біогенний амін нижчої дози цього ефекту не дає. Науковці встановили, що попереднє введення блокатора H1-рецепторів не впливає на вміст поверхнево-активного лецитину (основної поверхнево-активної речовини сурфактантної системи легень) в бронхо-альвеолярній рідині після введення гістамін-дифосфату, проте його утворення було заблоковане попереднім введенням блокатора H2-рецепторів. Оскільки переважним джерелом внутрішньоклітинних лецитинів є клітини II типу альвеолярного епітелію, то на їхній поверхні мають бути розташовані H2-рецептори, стимуляція яких призводить до зниження внутрішньоальвеолярного лецитину [116]. У літературі також наведено дані, що нижчі концентрації гістаміну стимулюють утворення активних форм кисню нейтрофілами, тоді як вищі – пригнічують [56]. Ймовірно, гістамін у вищій досліджуваній дозі стимулює H2-рецептори, що веде до пригнічення синтезу лецитину сурфактанта альвеолоцитами. Варто відзначити, що за поєданого впливу ГХН у концентрації 5 мг/л та гістаміну в дозі 8 мкг/кг у легені щурів морфометричні показники, а також якісні зміни світлової та електронної мікроскопії є менш виражені негативні, порівняно з групою щурів, яким тільки робили підшкірні ін'єкції гістаміну, що свідчить про позитивну дію ГХН у нижчій досліджуваній концентрації. Відомо, що НОСІ (яка може утворюватися під час взаємодії ГХН з водою) за низьких концентрацій (від 10^{-7} до 10^{-4} М) не впливає на силу опору в артеріях. НОСІ за концентрації 10^{-4} М знижує гістамін-індуковані релаксації у препаратах ендотелію. Проте за високих концентрацій (10^{-2} до 1 М) НОСІ призводить до звуження в умовах спокою і вазодилатції ендотелію артерій. НОСІ зумовлює також незворотні пошкодження тканин [138]. Загалом ми припускаємо, що ГХН у легені щурів ушкоджує клітини, включаючи тканинні базофіли. Це спричиняє вивільнення ендogenous гістаміну, а також ГХН, реагуючи з гістаміном, веде до утворення NH_3 та інших сполук, які негативно впливають на органи дихання. Отже, ми не рекомендуємо використовувати ГХН у медицині як антигістамінний

чинник, а також як дезінтоксикант на фоні надмірного вивільнення гістаміну в кровоплин.

Враховуючи вищезазначене, можна зробити висновок, що гістамін у легені дозозалежно зумовлює зменшення просвіту альвеол, збільшення товщини міжальвеолярних перегородок, спазмування бронхіол і периваскулярний набряк навколо судин, набрякання мітохондрій, вакуолізацію ендоплазматичної сітки, зростання кількості пероксисом та лізосом. ГХН у концентрації 20 мг/л призводить до дистрофічних змін, унаслідок значного порушення водно-сольового обміну у клітинах, розростання сполучної тканини впродовж усього часу дії цієї сполуки на організм щурів, тоді як ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює менш виражені патологічні прояви, що виявляються на 14-ту та 21-шу (реабілітація) доби досліджу. Одночасна дія гістаміну і ГХН веде до гідропічної дистрофії внаслідок ушкодження структур ендоплазматичної сітки та мітохондрій, спазмування бронхіол, підвищення утворення сурфактанту, розростання сполучної тканини. Ці характерні зміни є значно менш вираженими за одночасної дії ГХН у концентрації 5 мг/л і гістаміну у дозі 8 мкг/кг.

Досліджуючи дію гістаміну на **серцевий м'яз**, встановили, що в обох дозах цей біогенний амін знижує вміст ТБК-позитивних продуктів упродовж усього часу його впливу, а також і після реабілітаційного періоду. Гістамін у нижчій дозі також знижує кількість первинних продуктів ліпопероксидації, тоді як у вищій веде до зниження цих продуктів тільки на 1-шу добу (на 42 %), проте вже з 7-ї зумовлює підвищення (на 38 %), яке зберігається до кінця досліджу (табл. А.5). На фоні спадання інтенсивності процесів ПОЛ за дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг відбувається зростання КАТ активності, спадання ГПО активності. За таких умов СОД активність суттєво зростає на 1-шу, 14-ту і 21-шу (реабілітація) доби на 119, 220, 109 %, відповідно, тоді як на 7-му зафіксовано зниження роботи ензиму на 32 % (див. табл. А.5). Гістамін у дозі 8 мкг/кг під час зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів і підвищення кількості ГП ліпідів зумовлює активацію роботи СОД на 1-шу (на 125 %) і 7-му доби (на 171 %), проте вже на 14-ту відбувається зниження її активності на 58 %. До 14-ї доби КАТ активність зростає, а ГПО активність, навпаки, знижується. Варто зазначити, що після реабілітаційного періоду СОД активність повертається до меж норми, а КАТ і ГПО активності знижуються порівняно з контролем на 6 і 63 %, відповідно. Отже, гістамін у дозі 1 мкг/кг сповільнює накопичення продуктів ПОЛ, а у дозі 8 мкг/кг – посилює утворення ГП ліпідів. Біогенний амін активує ензими СОД і КАТ та пригнічує роботу ГПО. Активація СОД засвідчує про утворення супероксид-аніон радикала, а КАТ – наявність великих кількостей пероксиду водню. Відомо, що за дії гістаміну погіршуються реологічні властивості крові, а це знижує її

здатність переносити кисень до тканин. Джерелом активних кисневих метаболітів за ішемії та реперфузії міокарда є поліморфноядерні лейкоцити, ксантиноксидазна система, мітохондріальне дихання, катаболізм АТФ, молекулярний кисень, деградація арахідонової кислоти, аутоокиснення катехоламінів. Гіпоксія спричиняє підвищення адгезивних властивостей нейтрофілів, які продукують активні форми кисню, на що реагує СОД і КАТ. Відомо, що мітохондріальний ланцюг генерує H_2O_2 і $\text{O}_2^{\cdot-}$ (НАДН-дегідрогеназою і на ділянці убіхінон-цитохром с), що різко зумовлює дисфункцію мітохондрій. Проте в серці на підвищення вмісту цих продуктів швидко активуються СОД і КАТ [46]. У серці наявний захисний ефект «рН-парадоксу» (закислення середовища в період аноксії та швидке відновлення рН за реперфузії). Так, зниження рН до 6,6 пригнічує інтенсивність процесів ПОЛ. Усе це свідчить, що серцевий м'яз має ефективну систему захисту від пошкоджувальної дії вільних радикалів. Гістамін є природним аміном для серцевого м'яза. Тому його дія не спричиняє значного ушкодження серця, шляхом інтенсифікації процесів ліпопероксидації. Разом з тим, дослідник Т. Луо показав, що гістамін знижує життєздатність та індукує апоптоз кардіоміоцитів новонароджених шурів. Мітохондріальна проникність і рівні p-ERK1/2, Вах, p-DAPK2 та каспаза-3 зростають за активації H_2 -рецепторів. Агоністи H_2 -рецепторів посилюють ішемію у мишей дикого типу через посилення мітохондріальної дисфункції міокарда та збільшують проникність ендотелію судин серця [69, 87]. Науковець Yu зі співавторами зазначає, що активізація серцевих тканинних базофілів, які містять гістамін, бере участь у процесі реперфузії ішемії міокарда і загострює інфаркт міокарда [159].

Цікаві результати виявлено у дослідженні впливу ГХН на серцевий м'яз. Встановлено, що дезінтоксикант у концентрації 5 мг/л спричиняє односпрямовані процеси із накопичення продуктів ПОЛ. На 1-шу добу вміст ГП ліпідів і ТБК-позитивних продуктів знижується на 62 і 29 % відповідно; на 7-му добу – підвищується на 25 і 7 % відповідно, проте вже на 14-ту і 21-шу добу знову знижується (див. табл. А.5). ГХН у концентрації 20 мг/л спричиняє різноспрямовані процеси зміни вмісту первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації (див. табл. А.5). На 1-шу і 14-ту доби кількість ГП ліпідів зростає, а вміст ТБК-позитивних продуктів знижується. На 7-му добу відбувається протилежний ефект: кількість ГП ліпідів зменшується, а вміст ТБК-позитивних продуктів зростає. Після реабілітації інтенсивність процесів ПОЛ знижується. Це може бути пов'язане з тим, що ГХН у концентрації 5 мг/л, залежно від тривалості дії, реагує з продуктами ПОЛ та інактивує їх. У цей час буде відбуватися зниження вмісту досліджуваних показників. Проте вже на наступному етапі за їхньої відсутності ГХН (5 мг/л) проявляє окисні властивості й реагує з

неушкодженими ліпідами. ГХН у концентрації 20 мг/л на кожному досліджуваному етапі постійно взаємодіє то з первинними і вторинними продуктами ПОЛ, то з ненасиченими жирними кислотами, які входять у структуру мембран і ушкоджують їх. Варто підкреслити значне зростання СОД (на 111–479 %), КАТ (на 83–482 %) активності та зниження ГПО активності впродовж досліджу за впливу ГХН обох концентрацій (див. табл. А.5). Отже, ГХН у концентрації 20 мг/л спричиняє більш виражену негативну дію на процеси ПОЛ у серцевому м'язі.

Поєднана дія гістаміну і ГХН спричиняє, загалом, зниження вмісту продуктів ПОЛ. Проте є деякі винятки. Так, одночасне введення гістаміну в дозі 1 мкг/кг та ГХН (5 і 20 мг/л) підвищує вміст ТБК-позитивних продуктів на 7-му добу досліджу, тоді як за впливу тільки гістаміну в цій дозі вміст вторинних продуктів ПОЛ був нижче контролю впродовж досліджу. Комбінація гістаміну в дозі 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 20 мг/л також підвищує вміст ТБК-позитивних продуктів на 14-ту добу на 24 %. Варто зазначити, що за підшкірного введення гістаміну високої дози (8 мкг/кг) відбувалося накопичення ГП ліпідів у серцевому м'язі, тоді як одночасна дія гістаміну зазначеної дози і ГХН знижує вміст ГП ліпідів і ТБК-позитивних продуктів впродовж досліджу порівняно з контролем (див. табл. А.5). Ймовірно, гістамін у високій дозі вступає в реакцію з ГХН і, таким чином, знижується його концентрація, тому ефект дії гістаміну на фоні ГХН є таким, як за дози 1 мкг/кг. Важливо, що у серці поєднана дія гістаміну і ГХН значною мірою активує роботу СОД (зростання на 13–521 %). КАТ активність також зростає, а ГПО активність спадає (на 38–95 %) більш виражено. Отже, одночасна дія гістаміну і ГХН уповільнює інтенсивність процесів ПОЛ та значно активує СОД і КАТ, проте інактивує ГПО. Значна активація СОД свідчить про генерацію великих кількостей супероксид-аніон радикала за функціонування ксантинооксидази, НАДФН-оксидази чи дихального ланцюга мітохондрій кардіоміоцитів [369]. У разі інтенсивного накопичення $O_2^{\cdot-}$, а, відповідно, і гідроксильного радикала, ймовірно, з ними реагує і відновлений глутатіон, пул якого знижується, що зумовлює спадання ГПО активності. Відомо, що в серцевому м'язі є високе напруження окиснювальних процесів; широка амплітуда зміни його функцій висуває особливі вимоги до коронарного кровообігу. Використання серцем O_2 в нормальних умовах є більш інтенсивним, ніж в інших органах. Водночас кровозабезпечення міокарда значно менше, ніж інших органів. У цих умовах кисневий запит серця забезпечується вищою екстракцією O_2 із крові. Відомо, що робота серця може ставати активнішою у 5–8 разів, а це потребує високого кисневого забезпечення, яке досягається шляхом посилення коронарного кровотоку та його регуляторних механізмів. Основним енергетичним субстратом для серця є вільні жирні кислоти, глюкоза і молочна кислота. Серце може включати у свій енергетичний обмін недоокиснені продукти

обміну з інших органів, у тому числі і зі скелетних м'язів. Тому головною небезпекою для серця за порушення його кровозабезпечення є не недостатність енергетичних субстратів, а дефіцит кисню [397]. Гістамін безпосередньо знижує кровопостачання серця киснем, що відбувається завдяки зміні реологічних властивостей крові, а також трансформує роботу серцевого м'яза внаслідок активації специфічних H1 і H2 рецепторів, що відображається на уповільненні процесів ліпопероксидації.

Отже, у серцевому м'язі гістамін у дозі 1 мкг/кг знижує утворення ГП ліпідів і ТБК-позитивних продуктів, а у дозі 8 мкг/кг – трохи посилює накопичення первинних продуктів ПОЛ. Випоювання інтактним щурам ГХН порушує процеси ПОЛ із тенденцією до інтенсифікації. За вищої концентрації (20 мг/л) виявляється більш виражена негативна дія на вільнорадикальні процеси. ГХН на фоні впливу гістаміну переважно уповільнює процеси ПОЛ. Гістамін, ГХН і одночасна дія цих сполук активує СОД і КАТ та пригнічує ГПО.

Встановлено, що гістамін у концентрації 1 і 8 мкг/кг зумовлює достовірне зниження показників площі та периметра поперечного перерізу ядер кардіоміоцитів щурів приблизно на 30 % на 1-шу добу досліду. На цю добу ядра клітин серцевого м'яза набувають більш вираженої кулястої форми, про що свідчить коефіцієнт форми F (табл. 3.2). Зменшується більший діаметр поперечного перерізу ядер на 25 % за впливу гістаміну обох досліджуваних концентрацій на 1-шу добу їхнього підшкірного введення. Проте на 7-му добу гістамін тільки у нижчій концентрації зумовлює зниження периметра ядер на 15 % та підвищення їхньої округлості на 30 %, порівняно з контролем. Згідно з теоретичними даними, певне зниження об'єму ядер відбувається за сублетальної альтерації (зворотного пошкодження). За цих умов відбувається конденсація і маргіналія хроматину. Конгломерат хроматину з'являється в результаті зниження внутрішньоклітинного рН за посиленого гліколізу [399]. Двотижневе введення в організм щурів гістаміну в дозі 8 мкг/кг веде до збільшення площі, периметра та більшого діаметра поперечного перерізу ядер кардіоміоцитів на 45, 23 та 26 %, відповідно. Ці зміни посилюються на 21-шу добу (реабілітація). Збільшення площі ядер свідчить про підвищення біосинтетичної активності клітин. Варто відзначити, що клітини серцевого м'яза за впливу гістаміну погано профарбовуються. Їхня саркоплазма або недофарбована, або перефарбована, що свідчить про функціональні зміни в кардіоміоцитах (рис. 3.8, б, в).

За допомогою електронно-мікроскопічних досліджень виявлено, що за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг переважна більшість мітохондрій залишаються морфологічно незмінними (як і у контролі) (рис. 3.9, а), правильної форми з електронно-щільним матриксом, проте деякі з них мають світлий матрикс, що свідчить про початкові зміни їхньої будови та

Таблиця 3.2

Морфометричні показники ядер кардіоміоцитів щурів за дії гістаміну та гіпохлориту натрію

Доба	№ групи	Ся, мкм ² , M±m, p	Ря, мкм, M±m, p	F M±m, p	Більший діаметр попереч. перер. ядра, мкм, M±m, p	Менший діаметр попереч. перер. ядра, мкм, M±m, p	Коефіц. елонгації ядра, M±m, p
1-ша доба	Контроль	106,07±1,15	44,39±1,02	0,68±0,03	14,17±0,69	9,62±0,42	1,5±0,14
	Гістамін, 1мкг/кг	65,75±2,88 ***	31,54±1,16 ***	0,83±0,03 **	10,46±0,33 **	8,02±0,34 *	1,32±0,08
	Гістамін, 8 мкг/кг	73,39±3,87 ***	32,05±0,86 ***	0,89±0,02 **	10,67±0,39 **	8,75±0,28	1,22±0,05
	ГХН, 5 мг/л	110,14±6,95	41,43±1,69	0,81±0,04 *	13,69±0,88	10,32±0,65	1,36±0,15
	ГХН, 20 мг/л	155,47±4,33 ***	58,54±2,3 **	0,58±0,03 *	22,41±0,98 ***	8,88±0,33	2,45±0,15 **
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	185,94±7,22 ***	52,59±1,42 **	0,84±0,02 **	18,66±0,96 **	12,73±0,31 ***	1,47±0,1
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	153,88±7,53 **	49,99±2,19	0,78±0,04	17,76±1,13 *	11,14±0,68	1,59±0,14
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	248,71±14,1 ***	61,63±0,73 ***	0,78±0,01 *	20,37±1,09 **	14,8±0,68 ***	1,4±0,14
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	255,87±8,4 ***	62,24±1,83 ***	0,83±0,03 *	20,1±0,88 ***	16,24±0,23 ***	1,24±0,07
7-ма доба	Контроль	102,36±3,91	45,59±1,83	0,63±0,04	13,06±0,38	9,99±0,28	1,32±0,06
	Гістамін, 1 мкг/кг	98,64±6,29	38,93±1,49 *	0,82±0,04 **	12,39±0,5	10,12±0,42	1,23±0,06
	Гістамін, 8 мкг/кг	100,13±14,27	41,11±4,21	0,76±0,07	14,04±1,12	9,02±1	1,52±0,13
	ГХН, 5 мг/л	130,56±7,66 *	44,75±0,85	0,82±0,05 *	15,65±0,47 **	10,65±0,65	1,5±0,13
	ГХН, 20 мг/л	128,14±4,76 **	44,94±1,4	0,8±0,04 *	15,43±1,11	10,68±0,45	1,41±0,12
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	142,87±6,59 **	47,83±1,31	0,79±0,05 *	17,14±0,75 **	10,7±0,7	1,57±0,12
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	174,75±5,67 ***	53,53±1,32 **	0,77±0,02 *	19,18±0,65 ***	11,64±0,45 *	1,66±0,09 *
	Гістамін, 8 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	194,74±7,51 ***	54,56±1,12 **	0,79±0,03 *	17,99±0,4 ***	13,14±0,31 ***	1,38±0,06
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	133,14±8,54 *	44,23±1,45	0,89±0,01 **	14,42±0,43 *	11,72±0,46 *	1,23±0,04
14-та доба	Контроль	65,96±7,59	31,84±1,4	0,79±0,03	10,49±0,48	7,85±0,53	1,35±0,06
	Гістамін, 1 мкг/кг	85,95±7,72	37,71±2,14	0,76±0,04	13,04±0,77 *	8,43±0,7	1,6±0,19
	Гістамін, 8 мкг/кг	95,48±4,54 *	39,06±1,14 **	0,79±0,05	13,17±0,38 **	9,24±0,39	1,44±0,07
	ГХН, 5 мг/л	128,12±9,24 ***	45,52±3,16 **	0,81±0,06	15,14±0,49 ***	10,52±0,45 **	1,42±0,04
	ГХН, 20 мг/л	143,81±6,58 ***	53,83±1,02 ***	0,62±0,02 **	21,16±0,74 ***	8,67±0,35	2,3±0,08 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	165,43±4,49 ***	52,75±0,85 ***	0,76±0,03	19,16±0,99 ***	11,24±0,79 **	1,65±0,08 *
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	195,79±11,32 ***	57,07±2,12 ***	0,76±0,03	20,59±0,84 ***	12,15±0,75 **	1,72±0,13 *
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	140,77±5,1 ***	47,49±2,17 ***	0,79±0,05	15,63±0,6 ***	11,49±0,26 ***	1,37±0,07
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	123,16±5,78 ***	43,68±1,19 ***	0,89±0,01 *	14,68±0,48 ***	10,75±0,45 **	1,39±0,09

Закінчення табл. 3.2

21-ша доба	Контроль	79,84±5,87	34,51±0,88	0,83±0,04	11,02±0,42	9,12±0,39	1,21±0,05
	Гістамін, 1 мкг/кг	63,79±5,69	31,04±0,97 *	0,82±0,02	9,94±0,66	8,13±0,27	1,22±0,07
	Гістамін, 8 мкг/кг	125,63±3,76 ***	44,15±0,87 ***	0,81±0,03	13,91±0,36 ***	11,4±0,14 **	1,23±0,03
	ГХН, 5 мг/л	136,52±8,88 **	44,81±1,89 **	0,85±0,02	15,52±0,55 ***	10,76±0,33 *	1,39±0,02 *
	ГХН, 20 мг/л	216,19±3,43 ***	59,04±1,01 ***	0,78±0,02	19,12±0,59 ***	14,44±0,39 ***	1,33±0,08
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	187,99±5,5 ***	57,68±2,37 ***	0,72±0,06	21,18±2,09 **	11,77±1,22	1,73±0,16
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	245,23±4,85 ***	59,42±1,41 ***	0,88±0,03	21,09±1,11 ***	14,93±0,61 ***	1,43±0,13
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	255,25±12,11 ***	63,45±1,09 ***	0,79±0,02	23,13±0,48 ***	14,04±0,52 ***	1,66±0,06 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	113,38±4,41 **	43,09±1,65 **	0,87±0,03	14,94±0,93 **	9,78±0,56	1,56±0,17

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

функцій. Окремі ділянки міофібрил розволоknені, що свідчить про незначне порушення зв'язку між актиновими і міозиновими міофіламенами, а як наслідок – і про зміну скоротливої функції міокарда за дії гістаміну. Найявні щільні контакти без видимих змін (див. рис. 3.9, б). Плазматична мембрана утворює щільні контакти, з чіткими контурами, що свідчить про відсутність її ушкодження (див. рис. 3.9, б). Гемокапіляри, як і у контролі, заповнені колоїдним вмістом зі середньою електронною щільністю, в окремих містяться еритроцити. У ядрах переважає еухроматин, що свідчить про їхню функціональну активність. Відомо, що деспіралізація гетерохроматину сприяє активації метаболічної та скоротливої функції кардіоміоцитів [261].

Вже на 14-ту добу дії гістаміну (8 мкг/кг) виявляються зміни у структурі сполучної тканини ретикулярного типу (решітчастих волокон). Відомо, що численні щілини решітчастих волокон наповнені лімфатичною речовиною. Ультраструктурні зміни цієї тканини свідчать про порушення лімфообігу серця. Вміст гемокапілярів на цю добу досліду зазнає змін, де колоїдні включення зосереджуються нерівномірно у його просвіті, утворюють конгломерати. Це свідчить про порушення реологічних властивостей крові за безпосередньої участі гістаміну. На окремих ділянках плазматична мембрана втрачає свою чітку оконтурованість, а також подекуди ушкоджуються щільні контакти (див. рис. 3.9, в, г, д).

Отже, гістамін до 7-ї доби досліду зумовлює зменшення площі та периметра ядер із подальшим зростанням їхніх розмірів, порівняно з контролем, вже на 14-ту добу. Гістамін у вищій досліджуваній дозі призводить до порушення структури кардіоміоцитів. Більш виражені зміни характерні на 14-ту добу дії біогенного аміну. Відомо, що в серцевому м'язі відбувається проведення електрохімічного імпульсу і перетворення хімічної енергії на механічну, необхідну для скорочення

кардіоміоцитів. Тому структурні зміни міокарда на клітинному рівні зумовлюють порушення роботи цього органа за впливу гістаміну. Відомо, що гістамін викликає пряму ішемічну вазоконстрикцію через H1-рецептори, позитивну ізотропію через H2-рецептори та позитивну хронотропію серця за допомогою комбінованих механізмів H1- та H2-рецепторів [62]. Гістамін може перешкоджати деполяризації та реполяризації мембрани через його вплив на потоки кальцію та калію у кардіоміоцитах. Ці ефекти опосередковуються H2-рецептором.

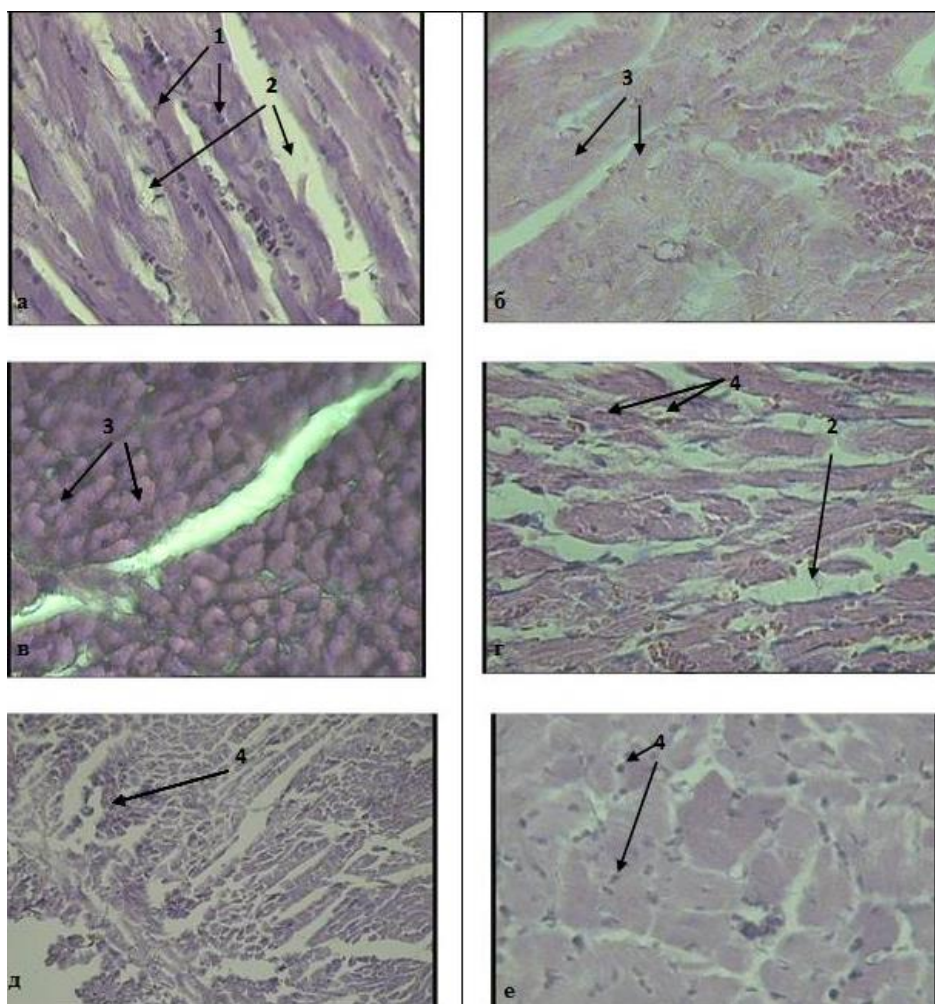


Рис. 3.8. Верхівка серця щура. Гематоксилін-еозин: а – контроль, 7-ма доба, ок. 10, об. 40; б – гістамін, 1 мкг/кг, 1-ша доба, ок. 10, об. 40; в – гістамін, 1 мкг/кг, 21-ша доба, ок. 10, об. 40; г – ГХН, 5 мг/л, 1-ша доба, ок. 10, об. 40; д – ГХН, 5 мг/л, 14-та доба, ок. 10, об. 10; е – ГХН, 20 мг/л, 14-та доба, ок. 10, об. 40; 1 – ядро; 2 – пухка сполучна тканина; 3 – саркоплазма; 4 – вакуолізація саркоплазми

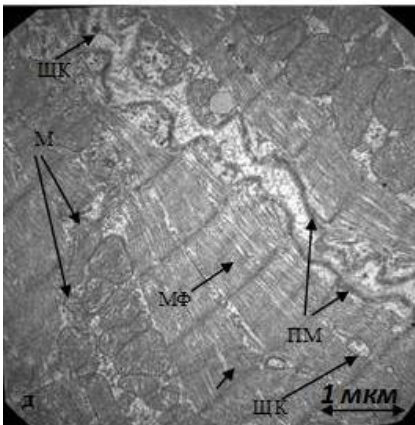
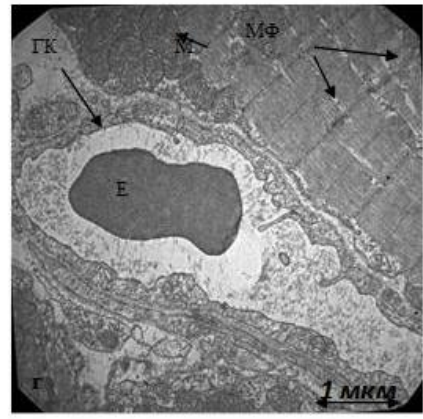
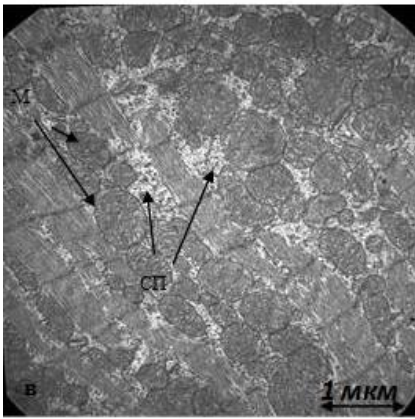
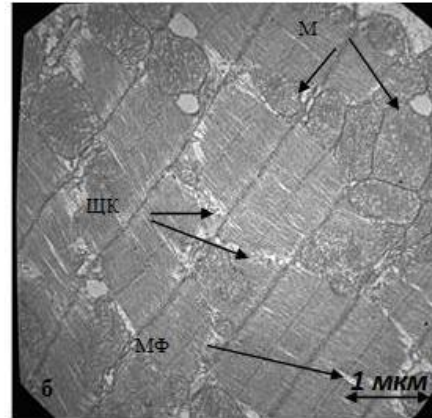
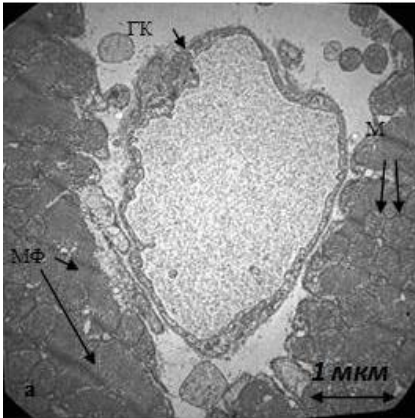


Рис. 3.9. Електронна мікрофотографія кардіоміоцитів верхівки серця щура: а – контроль, 7-ма доба, $\times 20\ 000$; б – гістамін, 8 мкг/кг, 7-ма доба, $\times 22\ 000$; в – гістамін, 8 мкг/кг, 14-та доба, $\times 22\ 000$; г – гістамін, 8 мкг/кг, 14-та доба, $\times 22\ 000$; д – гістамін, 8 мкг/кг, 14-та доба, $\times 22\ 000$; М – мітохондрія; ГК – гемокапіляр; МФ – міофібрила; ШК – щільний контакт; СП – саркоплазма; Е – еритроцит; ПМ – плазматична мембрана

Тому пряма активація гістамінового рецептора може викликати аритмію [40]. Проте є повідомлення, що внаслідок гострого інфаркту міокарда за

результатами аналізів *in vivo* й *in vitro*, дефіцит гістаміну сприяє апоптозу кардіоміоцитів та інгібує інфільтрацію макрофагів, що призводить до загострення пошкодження міокарда [80].

Додавання до питної води ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює на 1-шу добу лише підвищення округлості ядер кардіоміоцитів щурів на 19 %. Такі зміни притаманні і на 7-му добу дії цього чинника, де поряд з ними відбувається збільшення площі поперечного перерізу ядер (на 28 %) та більшого діаметра поперечного перерізу ядер (на 20 %). Двотижневе введення в організм тварин ГХН у нижчій досліджуваній концентрації веде до зміни більшості досліджуваних морфометричних показників. Так, встановлено збільшення площі (на 94 %) та периметра (на 43 %), більшого (на 44 %) і меншого (на 34 %) діаметра поперечного перерізу ядер. Ці зміни у ядрах кардіоміоцитів залишаються і після реабілітаційного періоду (див. табл. 3.2). Збільшення площі, периметра, більшого діаметра, коефіцієнта елонгації поперечного перерізу ядер відбувається вже на 1-шу добу дії ГХН у вищій досліджуваній концентрації – 20 мг/л. Поряд із цим знижується коефіцієнт форми ядер (на 15 %), що свідчить про підвищення овальності ядер. Проте до 7-ї доби морфометричні зміни ядер є менш виражені. На цю добу виявлено підвищення площі профілю ядер (на 25 %) та зростання коефіцієнта форми ядер (на 27 %). Потрібно відмітити, що подальше приймання щурами ГХН у концентрації 20 мг/л зумовлює повторне порушення досліджуваних показників, зміни яких є такими ж самими, як і на 1-шу добу досліду. Після припинення введення в організм тварин ГХН у концентрації 20 мг/л (на 21-шу добу досліду) значно збільшуються розміри площі (на 171 %), периметра (на 71 %), більшого (на 74 %) і меншого (на 58 %) діаметра поперечного перерізу ядер кардіоміоцитів (див. табл. 3.2).

Нами встановлено, що на 1-шу добу дії ГХН у концентрації 5 мг/л у міокарді відбуваються зміни, які виявляються надмірною кількістю еритроцитів у пухкій сполучній тканині, втратою чіткості меж плазматичних мембран кардіоміоцитів, утворенням вакуолей навколо окремих ядер (див. рис. 3.8, г). Ці порушення посилюються до 14-ї доби (вакуолізація саркоплазми, зміни у сполучній тканині) та залишаються такими ж і після реабілітаційного періоду (див. рис. 3.8, д). Менш виражені зміни у серцевому м'язі зафіксовано за дії ГХН у концентрації 20 мг/л. За впливу ГХН (20 мг/л) відбувається незначна вакуолізація саркоплазми переважно на 14-ту добу досліду, тоді як у сполучній тканині структурних порушень не виявлено (див. рис. 3.8, е). Варто зазначити, що будова міокарда є у нормі на 21-шу добу досліду (реабілітація). Відомо, що вакуолізація клітин свідчить про міокардіодистрофію. Структурні зміни серця відбуваються за рахунок порушення концентрації кисню в кардіоміоцитах, що призводить до змін вуглеводного і білкового обмінів, електролітного дисбалансу міокарда [338].

Отже, додавання до питної води ГХН у серцевому м'язі змінює розміри ядер та зумовлює гідропічну дистрофію, причому нижча концентрація цієї сполуки має більш виражений вплив на пізніх етапах досліду, тоді як досліджувана речовина у вищій концентрації зумовлює періодичні порушення будови (на 1-шу та 14-ту доби досліду) кардіоміоцитів.

Нами встановлено, що одночасне підшкірне введення щурам гістаміну в дозах 1 і 8 мкг/кг та вipoювання ГХН у концентрації 5 мг/л на 1-шу добу досліду підвищує досліджувані морфометричні показники. Причому за сумісного введення ГХН (5 мг/л) і гістаміну у вищій дозі (8 мкг/кг) відбувається більш інтенсивне їхнє зростання. Так, площа профілю поперечного перерізу ядра збільшується на 134 %, периметр профілю поперечного перерізу ядра – на 39 %, коефіцієнт форми ядра – на 15 %, більший діаметр поперечного перерізу ядра – на 44 %, менший діаметр поперечного перерізу ядра – на 54 %. Показники збільшуються як порівняно з контролем, так і порівняно з групами тварин, яким підшкірно вводили гістамін, а також яким тільки вipoювали ГХН у концентрації 5 мг/л (див. табл. 3.2). Така ж тенденція щодо змін показників залишається і на 7-му, і на 14-ту доби одночасної дії гістаміну (1 і 8 мкг/кг) та ГХН (5 мг/л), а також і після реабілітаційного періоду (21-ша доба).

Поряд зі збільшенням розмірів ядер за одночасних ін'єкцій гістаміну в дозі 1 мкг/кг і перорального введення щурам ГХН у концентрації 5 мг/л зростає проникність гемокапілярів, внаслідок чого клітини крові (еритроцити) переходять у шар пухкої сполучної тканини. Відомо, що тонкі прошарки цієї сполучної тканини у серцевому м'язі містять капіляри. Збільшення проникності гемокапілярів свідчить про порушення транскапілярного обміну [192]. Саркоплазма клітин добре сприймає барвник. В оптично прозорих і добре профарбованих ядрах чітко видно по два і більше ядерець, що свідчить про зростання біосинтетичних процесів. Між сусідніми клітинами наявні анастомози (рис. 3.10, а, б, в). На 1-шу добу дії гістаміну у вищій досліджуваній дозі (8 мкг/кг) та одночасного впливу ГХН у концентрації 5 мг/л виявлено зменшення просвіту між кардіоміоцитами за рахунок набрякання клітин, саркоплазма яких візуально рихла (див. рис. 3.10, г).

Саркоплазма клітин і ядра оптично непрозорі, що свідчить про порушення у них метаболізму. На 7-му добу поєднаної дії речовин відбувається вакуолізація саркоплазми (див. рис. 3.10, д). До 21-ї доби гідропічна дистрофія зберігається, проте поліпшується сприймання барвника клітинами, що свідчить про позитивні зрушення у кардіоміоцитах. Відомо, що збільшення розмірів ядер, які є неправильної форми, й оточені світлою зоною (так званим перинуклеарним німбом, який утворений масивними скупченнями глікогену), відбувається за гіпертрофічної кардіоміопатії [165]. Отже, поєднана дія гістаміну в дозі

8 мкг/кг та ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлюють виражений негативний вплив на структуру міокарда щурів.

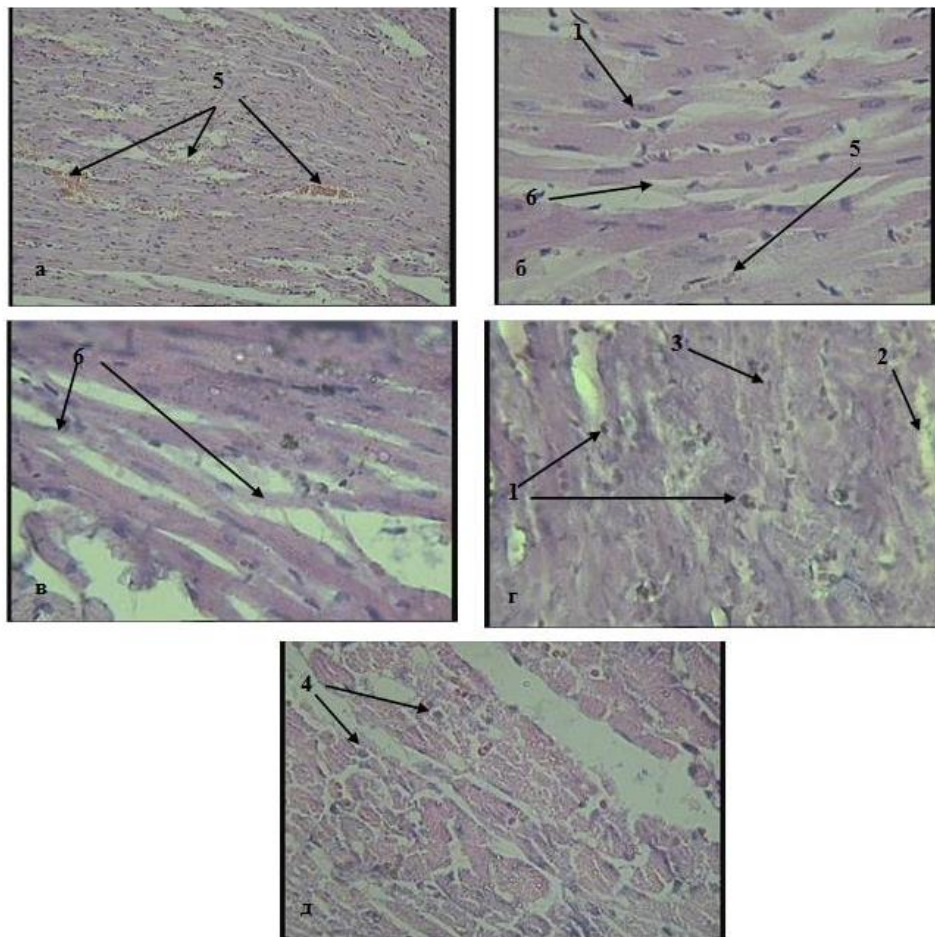


Рис. 3.10. Верхівка серця щура за одночасного впливу гістаміну та гіпохлориту натрію у концентрації 5 мг/л. Гематоксилін-еозин: а – гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 1-ша доба, ок. 10, об. 10; б – гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 1-ша доба, ок. 10, об. 40; в – гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 7-ма доба, ок. 10, об. 40; г – гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 1-ша доба, ок. 10, об. 40; д – гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 7-ма доба, ок. 10, об. 40; 1 – ядро; 2 – пухка сполучна тканина; 3 – саркоплазма; 4 – вакуолізація саркоплазми; 5 – еритроцити; 6 – анастомози

За допомогою електронно-мікроскопічних досліджень виявлено, що одночасне введення в організм тварин гістаміну в дозі 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 5 мг/л на 7-му добу дослідю зумовлює ушкодження

скоротливих елементів. Міофібрили втрачають паралельне розташування, подекуди відбувається їхня руйнація (рис. 3.11, а). Проте ці зміни нівелюються на 14-ту добу досліді (див. рис. 3.11, б). У ядрах клітин переважає еухроматин, що свідчить про зростання їхньої функціональної активності (див. рис. 3.11, б). Крім цього, у значній кількості мітохондрій електронна щільність матриксу знижена, а це свідчить про деструктивні зміни (див. рис. 3.11, в).

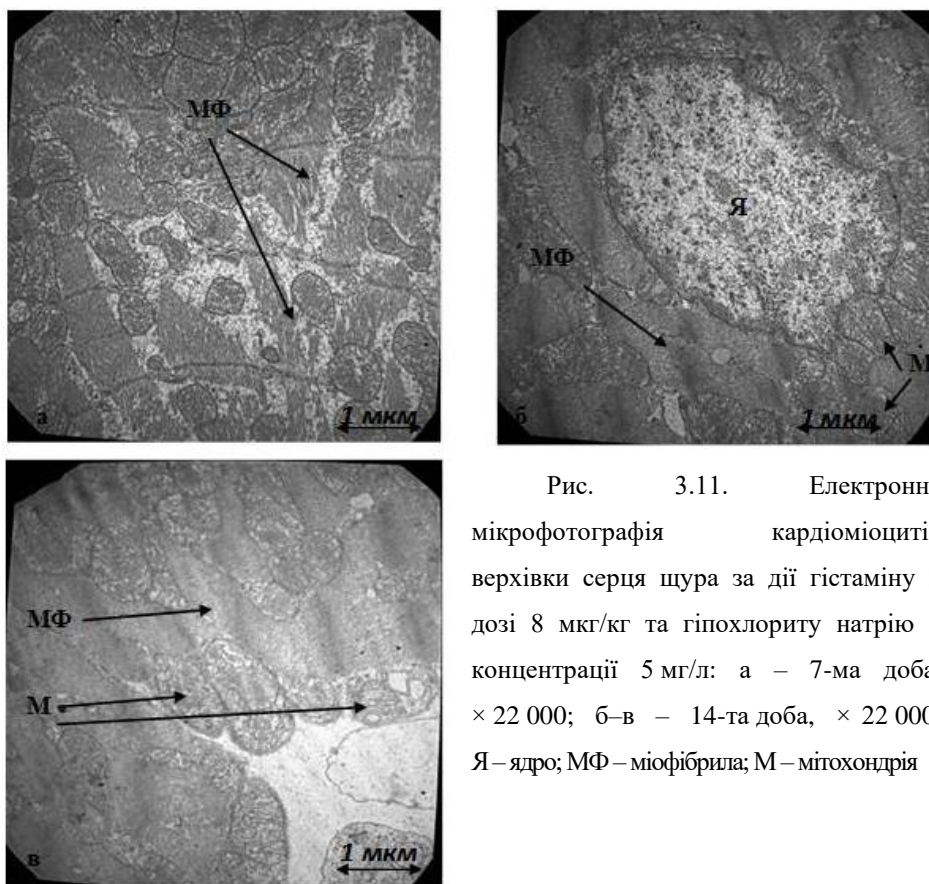


Рис. 3.11. Електронна мікрофотографія кардіоміоцитів верхівки серця щура за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг та гіпохлориту натрію в концентрації 5 мг/л: а – 7-ма доба, × 22 000; б-в – 14-та доба, × 22 000; Я – ядро; МФ – міофібрила; М – мітохондрія

Приймання щурами ГХН у концентрації 20 мг/л на тлі дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг змінює площу поперечного перерізу ядер міокарда та більший діаметр поперечного перерізу ядер, де ці показники підвищуються на 45 та 25 %, відповідно (див. табл. 3.2). Зростання показників відбувається і на 7-му, 14-ту, 21-шу (реабілітація) доби досліді. У цей час змінюються також інші морфометричні показники (збільшення периметра, коефіцієнта форми, меншого діаметра, коефіцієнта елонгації ядер). Одночасна дія ГХН у концентрації 20 мг/л та гістаміну в дозі 8 мкг/кг зумовлює значне зростання позначок

досліджуваних показників на 1-шу добу досліду. Так, площа поперечного перерізу підвищується на 141 %, а периметр – на 40 %, коефіцієнт форми ядер – на 22 %, що свідчить про підвищення округлості ядер кардіоміоцитів. Проте вже на 7-му добу поєднаної дії гістаміну (8 мкг/кг) і ГХН (20 мг/л) зростання показників розміру ядер є менш інтенсивним. Наприклад, площа поперечного перерізу ядер зростає лише на 30 %, і показник залишається на цьому ж рівні також і на 14-ту, і на 21-шу доби.

За допомогою світлової мікроскопії встановлено, що одночасна дія гістаміну (1 мкг/кг) та ГХН (20 мг/л) не зумовлює якісних змін структури міокарда щурів на 1-шу добу досліду. Проте вже до 14-ї доби розвивається перичелюлярний і периваскулярний набряк (рис. 3.12, а). Після реабілітаційного періоду зберігається інфільтрація навколо судин міокарда та відбувається зменшення просвіту між кардіоміоцитами (див. рис. 3.12, б). Зменшення сполучної тканини та вакуолізацію саркоплазми виявлено на 1-шу добу одночасної дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 20 мг/л (див. рис. 3.12, в). З 7-ї доби відбувається набряк сполучної тканини та периваскулярний набряк (див. рис. 3.12, г). Цікаво, що після реабілітаційного періоду ці зміни трохи нівелюються (див. рис. 3.12, д).

Нами встановлено, що вплив ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг зумовлює значне порушення ультраструктури кардіоміоцитів на 7-му добу досліду. Так, виявлено зони із втратою міофібрил, розширенням цистерн саркоплазматичного ретикулуму, просвітленням матриксу та порушенням паралельного розташування крист мітохондрій (рис. 3.13, а). Варто зазначити, що межі клітин залишаються без змін, а це свідчить про перебування у нормі структури плазматичних мембран. У ядрах клітин міокарда наявні ділянки з еухроматином і гетерохроматином, ядерце (див. рис. 3.13, б). На 14-ту добу поєднаної дії досліджуваних речовин зростає кількість мітохондрій різних розмірів, а також тих, які втратили округлу форму; окремі міофібрили скоротливого апарату розташовуються антипаралельно. Збільшення кількості мітохондрій і їхні невеликі розміри свідчать про гіперплазію органел [192]. На цю добу досліду залишаються розширеними цистерни саркоплазматичного ретикулуму (див. рис. 3.13, в, г). Тому можна твердити, що поєднаний вплив гістаміну в дозі 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 20 мг/л зумовлює значні патологічні прояви у міокарді.

Отже, одночасне введення в організм щурів гістаміну і ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює зростання морфометричних показників ядер кардіоміоцитів, підвищення вмісту багатоядерцевих ядер і активацію дистрофічних процесів клітин. Відбувається ушкодження міофібрил, мітохондрій. Приймання ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну зумовлює дистрофічні зміни кардіоміоцитів і посилення проникності судин міокарда, зростання площі, периметра й інших морфометричних

показників ядер, наявні зміни у пухкій сполучній тканині, вакуолізація саркоплазматичного ретикулуму, ушкодження мітохондрій і скоротливого апарату кардіоміоцитів.

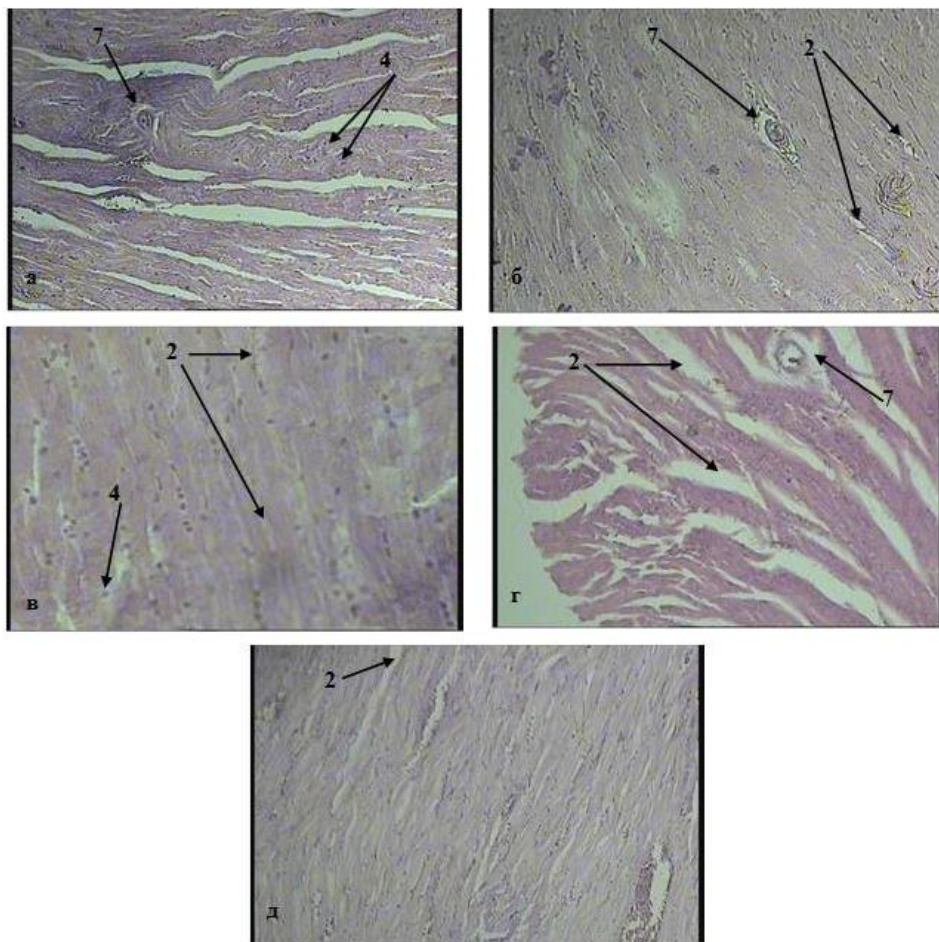


Рис. 3.12. Верхівка серця щура за поєднаного впливу гістаміну та гіпохлориту натрію у концентрації 20 мг/л. Гематоксилін-еозин: а – гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 14-та доба, ок. 10, об. 10; б – гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 21-ша доба, ок. 10, об. 10; в – гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 1-ша доба, ок. 10, об. 40; г – гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 7-ма доба, ок. 10, об. 10; д – гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 21-ша доба, ок. 10, об. 10; 2 – пухка сполучна тканина; 4 – вакуолізація саркоплазми; 7 – периваскулярний набряк

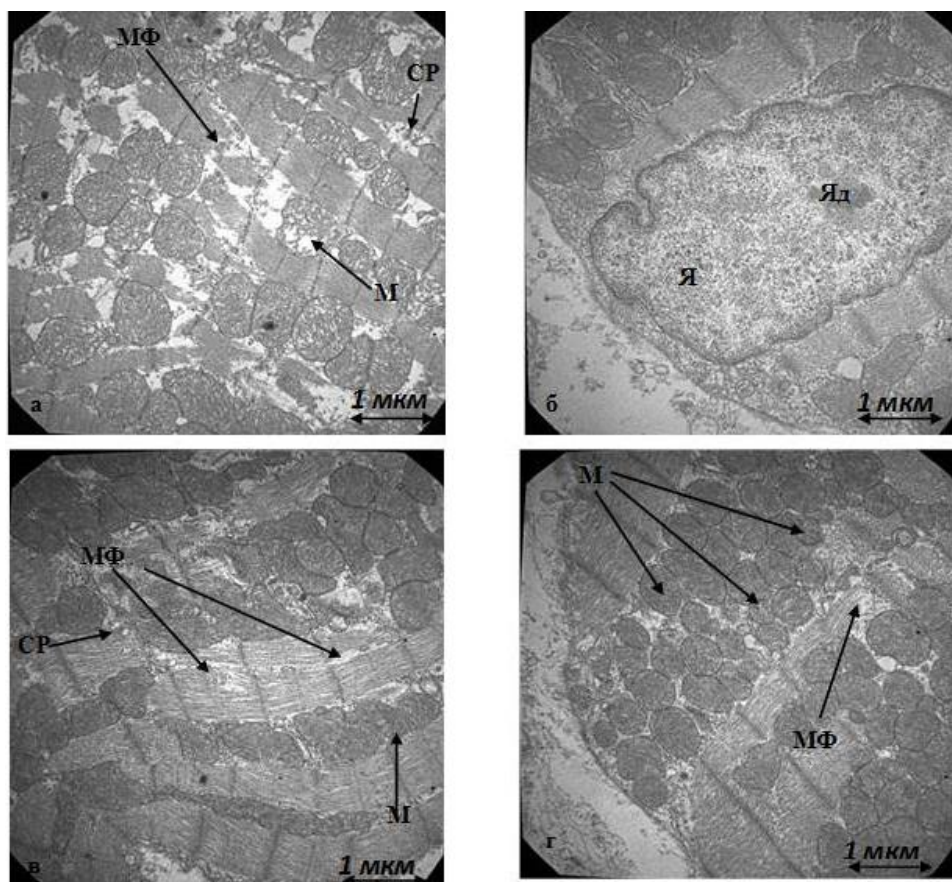


Рис. 3.13. Електронна мікрофотографія кардіоміоцитів верхівки серця щура за одночасної дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг та гіпохлориту натрію в концентрації 20 мг/л: а – 7-ма доба, $\times 22\ 000$; б–г – 14-та доба, $\times 22\ 000$; СР – саркоплазматичний ретикулум; Я – ядро; Яд – ядерце; М – мітохондрія; МФ – міофібрила

На підставі результатів дослідження будови міокарда методами світлової та електронної мікроскопії проведено морфометричний аналіз і встановлено, що гістамін спочатку знижує площу і периметр ядер кардіоміоцитів. Проте до 14-ї доби морфометричні показники зростають, порівняно з контролем. Гістамін у вищій досліджуваній дозі зумовлює розволокнення міофібрил, зміни сполучної тканини кардіоміоцитів. Додавання до питної води ГХН у серцевому м'язі веде до збільшення розмірів ядер і до гідропічної дистрофії. Одночасне підшкірне введення щурам гістаміну та приймання ГХН підвищує позначки морфометричних показників. За поєданого введення ГХН у концентрації 5 мг/л і гістаміну

в дозі 8 мкг/кг відбувається більш інтенсивне зростання досліджуваних показників, а також зменшення просвіту між кардіоміоцитами, гідропічна дистрофія, руйнація міофібрил. Поєднаний вплив ГХН у концентрації 20 мг/л та гістаміну зумовлюють перичелюлярний і периваскулярний набряк кардіоміоцитів. Більш виражені зміни у клітинах відбуваються за одночасної дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 20 мг/л, де зафіксовано порушення будови мітохондрій, саркоплазматичного ретикулуму та скоротливого апарату.

Виявлено, що щоденні ін'єкції гістаміну в дозі 1 мкг/кг зумовлюють зниження вмісту ГП ліпідів і ТБК-позитивних продуктів упродовж досліду в **печінці** щурів. Гістамін у дозі 8 мкг/кг спричиняє, загалом, також зниження інтенсивності процесів ПОЛ. Проте на 1-шу і 7-му доби вміст ГП ліпідів трохи підвищується – на 67 і 42 %, відповідно (табл. А.6). Отже, біогенний амін у вищій дозі спричиняє незначне накопичення продуктів ПОЛ. Варто зазначити, що за дії цієї речовини інгібується робота СОД упродовж досліду, тоді як КАТ активність зростає. Важливо й те, що ГПО активність інтенсифікується з 7-ї доби. Так, за впливу гістаміну (1 і 8 мкг/кг) ГПО активність зростає на 7-му добу на 185 і 143 %, на 14-ту – на 255 і 175 %, на 21-шу (реабілітація) – на 189 і 55 %, відповідно (див. табл. А.6). Зниження інтенсивності процесів ліпопероксидації, СОД активності свідчить про сповільнення метаболічних процесів у гепатоцитах, про зниження роботи цитохромів Р-450, дихального ланцюга мітохондрій. Відомо, що у печінці система АОЗ є на високому рівні, вона запобігає токсичній дії екзо- й ендогенних агентів. Функція детоксикації, яка притаманна печінці, обумовлює більш високий рівень пероксидації та накопичення малонового діальдегіду [357]. За таких умов печінка, за зниження оксигенації (коли згущена кров), реагує зниженням інтенсивності процесів ПОЛ. Відомо, що печінка містить відносно менше гістаміну, ніж шлунок, лімфатичні вузли, тимус (у них найбільша концентрація гістаміну). Як гепатоцити, так і холангіоцити експресують гістамінові рецептори. Діючи через H₂-рецептори, гістамін виявляє захисну дію на ранніх стадіях алкоголь-індукованого ураження печінки у щурів. H₂-рецептори опосередковують також гепатопротективні ефекти гістаміну за експериментального ендотоксин-індукованого ураження печінки. На мембрані гладеньком'язових клітин ворітної вени локалізовані 2 типи гістамінових рецепторів. Активація H₁-рецепторів зумовлює скорочення гладеньком'язових клітин судини, а активація H₂-рецепторів веде до їхнього розслаблення. Гістамін, діючи через H₁-рецептори, зменшує локальний кровотік у печінці собак і підвищує ворітний тиск на фоні зниження системного артеріального тиску, що є результатом порушення відтоку крові з органа внаслідок звуження печінкових вен і перерозподілу внутрішньопечінкового кровотоку. Показано, що гістамін пригнічує споживання кисню печінкою і що це реалізується через

H1-рецептори [173]. Ці дані підтверджують зниження оксигенації печінки та пригнічення метаболізму за дії надмірних концентрацій гістаміну.

Випоювання щурам ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює зниження вмісту ГП ліпідів упродовж досліджу. Зниження кількості ТБК-позитивних продуктів виявлено на 14-ту і 21-шу доби досліджу (на 64 і 42 %), хоча на 1-шу його вміст був вищий за контроль на 109 %. На тлі сповільнення інтенсивності ПОЛ, СОД і ГПО активності теж знижуються упродовж дії дезінтоксиканта, а також і після реабілітації, хоча КАТ активність зростає. ГХН у концентрації 20 мг/л вже на 1-шу добу зумовлює підвищення вмісту ГП ліпідів на 22 % і ТБК-позитивних продуктів на 10 % (див. табл. А.6). У подальшому вміст ГП ліпідів знижується на 7-му і 14-ту доби (на 17 і 8 %), а кількість ТБК-позитивних продуктів підвищується на 14-ту і 21-шу доби на 17 і 163 %, відповідно. За дії дезінтоксиканта (20 мг/л) активуються СОД, КАТ упродовж усього досліджу. Проте робота ензиму ГПО знижується тільки на 1-шу добу на 61 %. Ці результати свідчать, що ГХН у концентрації 5 мг/л знищує продукти обміну в печінці і, тим самим, не вражає ліпідні мембрани. Про це свідчить зниження інтенсивності процесів ПОЛ та спадання СОД і ГПО активностей. Натомість ГХН у концентрації 20 мг/л у печінці проявляє окиснювальні властивості на ненасичені жирні кислоти і зумовлює їхнє окиснення, про що свідчить накопичення ТБК-позитивних продуктів на 14-ту добу досліджу, а також і після реабілітації. Зростання СОД і КАТ активності свідчить про утворення великих концентрацій супероксид-аніон радикала і пероксиду водню, які є потенційними прооксидантами.

Встановлено, що поєднаний вплив гістаміну і ГХН у можливих комбінаціях на 1-шу добу досліджу зумовлює накопичення ТБК-позитивних продуктів, проте вже до 14-ї доби інтенсивність процесів ПОЛ є нижче контролю, крім комбінації гістаміну (8 мкг/кг) і ГХН (20 мг/л), де вміст ТБК-позитивних продуктів підвищується на 53 % (див. табл. А.6). Після реабілітаційного періоду ГХН у концентрації 5 мг/л та одночасного підшкірного введення гістаміну (1 і 8 мкг/кг) вміст ГП ліпідів і ТБК-позитивних продуктів знижується. За поєднаного впливу ГХН (20 мг/л) і гістаміну обох досліджуваних доз відбувається накопичення первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації. За вивчення АОС встановлено, що одночасна дія досліджуваних речовин зумовлює сповільнення СОД і ГПО активності, а також зростання КАТ активності. Із цих результатів випливає, що поєднана дія ГХН і гістаміну порушує прооксидантно-антиоксидантний баланс, а комбінація ГХН у концентрації 20 мг/л та гістаміну обох доз спричиняє більш виражений негативний ефект. Салах Атамнах встановив, що гістамін через H1-рецептори активує утворення білірубину в печінці [348]. Припускаємо, що за надмірного утворення білірубину, яке відбувається за дії гістаміну, ГХН вступає з ним у

біохімічну реакцію (це можливе за даними наукової літератури), при цьому утворюються більш реакційноздатні метаболіти, які порушують прооксидантно-антиоксидантну рівновагу. Ступінь ушкодження залежить від концентрації ГХН. Відомо, що білірубін має антиоксидантні ефекти. Коли білірубін реагує з реактивними видами кисню, утворюються окиснені метаболіти білірубину, такі як білівердин і пропентпітопенти [74, 126].

Отже, гістамін у дозі 1 мкг/кг сповільнює процеси ліпопероксидації. Біогенний амін у дозі 8 мкг/кг зумовлює незначне накопичення ГП ліпідів. Гістамін у обох дозах пригнічує СОД активність і активує КАТ і ГПО. Випоювання тваринам ГХН у концентрації 5 мг/л спричиняє зниження вмісту продуктів ПОЛ, зниження СОД і ГПО активності, а також зростання КАТ активності. ГХН у концентрації 20 мг/л веде до зниження вмісту первинних продуктів ПОЛ і до накопичення вторинних, активує СОД, КАТ та пригнічує ГПО. Одночасна дія ГХН і гістаміну порушує прооксидантно-антиоксидантний баланс. ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні впливу гістаміну зумовлює інтенсифікацію процесів ПОЛ навіть після реабілітаційного періоду.

Нами встановлено, що гістамін у дозі 1 мкг/кг зумовлює появу вакуолей у цитоплазмі гепатоцитів щурів упродовж усього часу підшкірного його введення (14 діб), тоді як гістамін у вищій досліджуваній дозі (8 мкг/кг) веде до вакуолізації клітин на 1-шу та 7-му доби експерименту (табл. 3.3; рис. 3.14, б). Варто зазначити, що ступінь вакуолізації клітин зростає після реабілітаційного періоду (на 21-шу добу) за дії гістаміну як нижчої дози, так і вищої. Збільшення кількості клітин з вакуолізованою цитоплазмою свідчить про порушення водно-сольового обміну внаслідок посилення гістаміном проникності судин і накопичення продуктів розпаду. Структурні ушкодження клітин печінки за впливу гістаміну пов'язані також з тим, що ця сполука згущує кров, а це призводить до зниження оксигенації печінки. У відповідь на підвищений рівень гістаміну в печінці має зростати активність гістамінази (ензиму, який інактивує гістамін) і, як наслідок, ймовірно, утворюватися значна кількість NH_3 , який має знешкоджуватися мітохондріями цього органа, до сечовини [191]. За різних патологічних станів аміак може не включатися в цикл сечовини та з'єднуватися з α -кетоглутаровою кислотою і виключити її з циклу Кребса [191]. Цим самим гальмується продукція АТФ і зменшується вихід енергії. Функція клітин знижується. На фоні гідропічної дистрофії, про що свідчить вакуолізація гепатоцитів, відбувається зростання клітин, ядра яких мають два і більшу кількість ядерць (див. табл. 3.3; див. рис. 3.14, б). Це відбувається, ймовірно, внаслідок активації компенсаторно-приспосувальних реакцій у печінці у відповідь на дію гістаміну обох досліджуваних доз. Ступінь підвищення вмісту багатоядерцевих ядер клітин корелює зі ступенем зростання вакуолізованих гепатоцитів.

Таблиця 3.3

Коефіцієнт елонгації профілю клітин (КЕ), коефіцієнт форми профілю клітин (F), клітини з вакуолізацією цитоплазми, клітини, ядра яких містять два і більшу кількість ядерців у печінці щурів за дії гістаміну та гіпохлориту натрію

Доба	№ групи	КЕ, M±m	P	Fкл, M±m	P	Вакуолі- зовані клітини, M±m	P	Багато- ядерцеві клітини, M±m	P
1-ша доба	Контроль	1,3±0,1		0,845±0,02		0±0		0,8±0,37	
	Гістамін, 1 мкг/кг	1,2±0,03	*	0,775±0,02	*	1,8±0,49	*	10,8±1,15	***
	Гістамін, 8 мкг/кг	1,2±0,04	0,83	0,842±0,04	0,05	3±0,44	**	25,4±0,6	***
	ГХН, 5 мг/л	1,2±0,03	0,78	0,851±0,01	0,22	2,8±0,37	**	40±1,3	***
	ГХН, 20 мг/л	1,4±0,08	0,32	0,832±0,007	0,56	1,8±0,8	0,91	1,6±0,24	0,88
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,3±0,01	0,52	0,829±0,02	0,38	0,8±0,37	0,9	18,4±0,74	***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,223±0,01	*	0,858±0,01	0,39	35,6±0,81	***	0,2±0	0,9
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,365±0,07	0,16	0,853±0,02	0,24	2,4±0,4	**	15,2±0,68	***
Гістамін, 8 мкг/л + ГХН, 20 мг/л	1,306±0,07	0,34	0,822±0,02	0,56	3±0,47	**	16,2±0,58	***	
7-ма доба	Контроль	1,445±0,09		0,774±0,02		0,4±0,24		3,6±0,4	
	Гістамін, 1 мкг/кг	1,298±0,08	0,72	0,875±0,02	***	13,2±0,73	***	18±0,95	***
	Гістамін, 8 мкг/кг	1,203±0,05	0,94	0,912±0,003	***	6±0,54	***	33,4±0,74	***
	ГХН, 5 мг/л	1,327±0,05	0,68	0,864±0,01	***	18,2±0,86	***	4,4±0,67	0,65
	ГХН, 20 мг/л	1,375±0,041	0,46	0,876±0,02	***	36,8±0,73	***	1,2±0,2	**
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,253±0,02	0,89	0,781±0,04	0,21	5,8±0,58	***	19,8±0,58	***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,321±0,1	0,59	0,865±0,008	***	48,2±0,8	***	2±0,47	*
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,405±0,06	0,27	0,869±0,025	**	2,8±0,73	*	20,2±0,86	***
Гістамін, 8 мг/л + ГХН, 20 мг/л	1,304±0,07	0,72	0,832±0,009	*	6,4±0,67	***	16,6±0,51	***	
14-та доба	Контроль	1,493±0,06		0,772±0,01		0,2±0,2		1,6±0,4	
	Гістамін, 1 мкг/кг	1,407±0,03	0,77	0,794±0,02	0,65	2,4±0,51	*	5,8±0,8	**
	Гістамін, 8 мкг/кг	1,384±0,05	0,8	0,765±0,03	0,17	0,4±0,24	0,45	4,2±0,2	**
	ГХН, 5 мг/л	1,262±0,03	*	0,879±0,01	***	8,6±0,74	***	38,4±0,67	***
	ГХН, 20 мг/л	1,194±0,02	**	0,896±0,005	***	3,2±0,37	***	3,2±0,58	0,94
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,275±0,02	*	0,749±0,02	0,68	13,2±0,97	***	21±1,37	***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,225±0,015	**	0,845±0,01	**	22,2±2,47	***	0,6±0,24	0,93
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,239±0,023	**	0,853±0,02	**	13,2±0,73	***	33±0,7	***
Гістамін, 8 мкг/л + ГХН, 20 мг/л	1,275±0,02	*	0,889±0,007	***	4,4±0,51	***	24,8±0,86	***	

Закінчення табл. 3.3

21-ша доба	Контроль	1,334±0,85		0,859±0,02		4,6±0,6		1,8±0,94	
	Гістамін, 1 мкг/кг	1,263±0,05	0,5	0,835±0,02	0,6	10,8±0,58	***	19±1,45	***
	Гістамін, 8 мкг/кг	1,425±0,051	0,61	0,777±0,02	*	14,4±1,24	***	44,4±1,56	***
	ГХН, 5 мг/л	1,449±0,05	0,72	0,842±0,01	0,57	6±0,55	0,88	29,2±0,73	***
	ГХН, 20 мг/л	1,263±0,054	0,5	0,852±0,02	0,24	11,2±0,58	***	9,8±0,66	***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,223±0,045	0,71	0,872±0,02	0,36	9,4±0,74	**	17±0,94	***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,392±0,092	0,35	0,847±0,004	0,53	15±1	***	0,4±0,24	*
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,265±0,044	0,5	0,886±0,009	0,79	5,8±0,66	0,78	32,6±0,6	***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,155±0,018	0,89	0,908±0,005	*	18,8±0,96	***	0,6±0,24	*

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

Гістамін у обох досліджуваних дозах зумовлює незначне зменшення периметра профілю гепатоцитів приблизно на 30 %, починаючи з 7-ї доби його дії (табл. 3.4). Периметр профілю ядер знижується вже з 1-ї доби дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг. Поряд зі зниженням периметра профілю клітин, відбувається спадання показника площі профілю гепатоцитів. Варто зазначити, що найбільш виражене зменшення площі профілю гепатоцитів і площі профілю їхніх ядер (на 61 та 58 % відповідно) відбувається після реабілітаційного періоду, після дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг (див. табл. 3.4). У гепатоцитах за дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг з'являється тенденція до збільшення показника *Ся:Скл*, тоді як гістамін у дозі 8 мкг/кг веде до зниження цього співвідношення, що свідчить про структурно-функціональні зміни клітин (див. табл. 3.4).

Гістамін у обох дозах (1 мкг/кг та 8 мкг/кг) на 7-му добу досліду викликає підвищення показника коефіцієнта форми профілю гепатоцитів на 13 і 18 %, відповідно, що свідчить про збільшення округлості клітин печінки (див. табл. 3.3). У цей час відбувається більш виражене зростання кількості клітин із вакуолізацією цитоплазми та клітин, ядра яких містять два і більше ядерця. Це вказує на те, що гістамін на 7-му добу досліду порушує обмінні процеси у гепатоцитах, викликає гідропічну дистрофію за рахунок змін водно-електролітного та білкового обміну, які призводять до змін колоїдно-осмотичного тиску в клітині [399]. За рахунок цього змінюється округлість гепатоцитів.

За допомогою електронної мікроскопії встановлено, що досліджуваний біогенний амін призводить до ушкодження мітохондрій, ендоплазматичної сітки. Так, на 7-му добу дії гістаміну виявлено набрякання мітохондрій, які набувають кулястої форми. Матрикс окремих мітохондрій має низьку електронну щільність, що свідчить про зміну його хімічного складу та про порушення мембранної проникності (рис. 3.15, б, в). Мітохондріальні зміни є, більшою мірою, типовими для

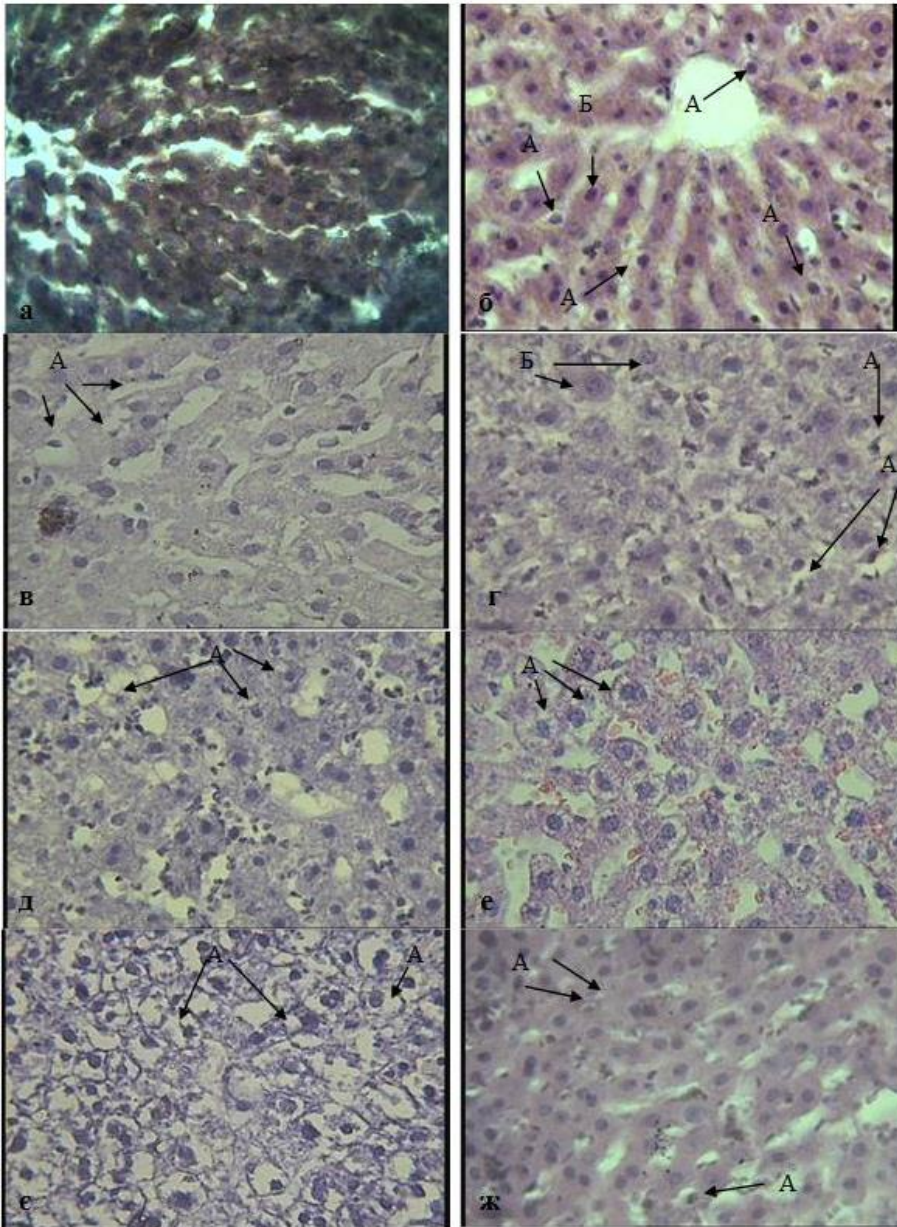


Рис. 3.14. Печінкова часточка щурів. Гематоксилін-еозин. Ок. 10, об. 40: а – контроль, 7-ма доба; б – гістамін, 8 мкг/кг, 7-ма доба; в – ГХН, 5 мг/л, 7-ма доба; г – ГХН, 20 мг/л, 21-ша доба; д – ГХН, 5 мг/л та гістамін, 1 мкг/кг, 14-та доба; е – ГХН, 5 мг/л та гістамін, 8 мкг/кг, 14-та доба; з – ГХН, 20 мг/л та гістамін, 1 мкг/кг, 7-ма доба; ж – ГХН, 20 мг/л та гістамін, 8 мкг/кг, 14-та доба; А – вакуолізація цитоплазми; Б – багатоядерцеві ядра

Таблиця 3.4

Площа, периметр профілю клітин і ядер, відношення площі профілю ядра до площі профілю клітини у печінці щурів за дії гістаміну та гіпохлориту натрію

Доба	№ групи	$S_{кл}, \text{мкм}^2$ $M \pm m$	p	$S_{я}, \text{мкм}^2$ $M \pm m$	p	Відно-шення $S_{я}:S_{кл}$	$P_{кл}, \text{мкм}$ $M \pm m$	p	$P_{я}, \text{мкм}$ $M \pm m$	p
1-ша доба	Контроль	522,7±18,9		85,6±4,4		0,164	88,1±0,5		34,1±0,9	
	Гістамін, 1 мкг/кг	421,8±22,8	**	80,2±6,2	0,52	0,190	82,5±2,6	0,89	34,3±1,9	0,06
	Гістамін, 8 мкг/кг	428,8±39,8	0,92	59,5±3,7	***	0,139	79,6±3,4	0,93	26,2±0,9	***
	ГХН, 5 мг/л	407,8±8,3	**	55,4±1,9	***	0,135	77,2±0,7	***	26,6±0,7	***
	ГХН, 20 мг/л	424,1±23,2	*	67,6±2,2	**	0,159	77,03±2,2	**	31,5±0,5	*
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	408,3±14,7	**	69,9±2,1	**	0,171	78,1±1,9	**	29,4±0,5	**
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	511,1±15	0,35	71,4±3,4	*	0,139	86,7±1,5	0,57	28,8±0,8	**
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	475,1±37,8	0,7	127,1±10,5	*	0,267	82,9±2,9	0,84	42,2±1,7	**
Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	399,3±5,9	**	57,6±1,5	***	0,144	78,1±0,8	***	28,4±0,6	**	
7-ма доба	Контроль	494,3±11,2		68,7±11,2		0,139	90,4±1,5		32,8±2,5	
	Гістамін, 1 мкг/кг	396,4±17,8	**	52,3±2,8	0,78	0,131	77,1±1,5	***	27,4±0,5	0,9
	Гістамін, 8 мкг/кг	341,3±7,9	***	44,2±2,4	0,9	0,129	69,1±0,9	***	25,4±0,7	*
	ГХН, 5 мг/л	312,4±15,7	***	69,2±1,3	0,3	0,221	67,2±1,4	***	31,9±0,6	0,23
	ГХН, 20 мг/л	431,6±17,6	*	95,8±6,8	0,92	0,222	77,6±1,5	***	36,7±1,3	0,78
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	427,1±13	**	64,2±4,7	0,28	0,150	80,9±1,3	**	27,2±0,9	0,91
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	397,9±12,4	***	68,4±1,9	0,2	0,171	75,9±0,9	***	29,8±0,5	0,69
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	437,9±16,8	*	80,9±4,7	0,64	0,184	79,5±2,2	**	33,8±0,9	0,28
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	353,3±12,4	***	78,5±1,9	0,57	0,222	71±0,9	***	31,5±0,5	0,38
14-та доба	Контроль	507,6±31		77,3±2,2		0,152	90,5±3,1		31,9±0,8	
	Гістамін, 1 мкг/кг	336,6±19,8	**	56,5±2,9	***	0,168	73,8±2,2	**	28,3±1,3	0,94
	Гістамін, 8 мкг/кг	311,1±9,4	**	44,7±3,4	***	0,144	74,3±2,5	**	27±1,4	*
	ГХН, 5 мг/л	413,6±16,5	*	63,9±2,2	**	0,154	76,7±1,3	**	27,2±0,4	**
	ГХН, 20 мг/л	424,6±8,2	*	92,7±0,9	***	0,218	78,2±0,8	*	35,9±0,3	**
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	303,8±21,7	**	42,1±3,2	***	0,138	70,4±2,7	**	22,5±1	***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	511,7±12,7	0,09	84,7±1,9	*	0,165	87,7±1,8	0,52	34,3±0,4	*
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	583,6±29,6	0,89	88,8±2,1	**	0,152	90,3±2,3	0,05	35,6±0,6	**
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	327,9±4,4	**	52,9±1,6	***	0,161	68,1±0,3	**	26,9±0,6	**

Закінчення табл. 3.4

21-ша доба	Контроль	562,8±23,2		113,3± 1,7		0,201	90,3±1,7		40±0,3	
	Гістамін, 1 мкг/кг	220,02±3	***	47,5±1	***	0,216	56,2±0,7	***	25,5±0,5	***
	Гістамін, 8 мкг/кг	350,5±4,1	***	63,3±2,7	***	0,180	73±1,2	***	28,5±0,9	***
	ГХН, 5 мг/л	346,9±23,5	***	41,3±1,3	***	0,119	71,1±2,4	***	24,6±0,5	***
	ГХН, 20 мг/л	232,2±4,4	***	48,9±0,7	***	0,210	59,5±0,5	***	24,4±0,3	***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	422,9±4,5	**	98,7±3,2	**	0,233	78,5±0,4	**	39,6±0,5	0,46
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	474,9±16,4	*	82,6±3,9	***	0,174	83,7±1,5	*	34,5±0,4	***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	337,1±14,9	***	71,8±5,5	***	0,213	69±1,7	***	31,4±1	***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	368,5±14,8	***	59,8±2	***	0,162	77±1,4	***	29,9±0,5	***

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

гепатоцитів за впливу гістаміну в дозі 8 мкг/кг на 14-ту добу досліду (див. рис. 3.15, в). У клітинах печінки за дії гістаміну на 7-му добу переважає агранулярна ендоплазматична сітка, яка втрачає свою структурованість (відбувається фрагментація з утворенням дрібних пухирців), що свідчить про зниження біосинтетичних процесів і про накопичення рідини, з'являється значна кількість вторинних лізосом, піноцитозних пухирців. У цей час в окремих гепатоцитах відбувається початковий некроз [309], який проявляється через збільшення електронної щільності гіалоплазми за рахунок коагуляції протеїнів, контракції колоїдів, які виходять за межі фізіологічної норми, та руйнування мембранних структур, в основному агранулярної ендоплазматичної сітки (див. рис. 3.15, б, в). У цитоплазмі часто трапляються жирові гранули. Нами встановлено наявність у гепатоцитах великого розміру лізосом (телолізосом), які містять ліпопигменти, тобто продукти, які ензими лізосом важко розщеплюють або взагалі не розщеплюють (див. рис. 3.15, в). Після розчинення лізосомальної мембрани вони довгий час перебувають у цитоплазмі та лише в поодиноких випадках залишають клітину. Ліпопигментами прийнято називати групу цитоплазматичних гранул і включень від жовтого до темно-коричневого кольору, які містять протеїни і важкорозчинні ліпіди; їхній колір зумовлений продуктами окиснення і полімеризації ненасичених жирних кислот. Лізосомне походження ліпопигментів науково підтверджено біохімічно, гістохімічно і електронно-мікроскопічно. Ліпопигменти поділяють на ліпофусцин, що трапляється в паренхіматозних і нервових клітинах, і цероїд, який утворюється в макрофагах. Отже, в досліджуваних гепатоцитах, а саме в телолізосомах, наявний ліпофусцин. Підшкірне введення щурам гістаміну зумовлює підвищення вмісту гетерохроматину в ядрах, тоді як у контрольних зразках переважає еухроматин. На 7-му добу досліду в ядрах окремих гепатоцитів гістамін у дозі 8 мкг/кг веде до тотальної конденсації

хроматину по всій площі (див. рис. 3.15, в). Вважаємо, що такі зміни є початковим пікнозом ядер, одним із типів необоротних морфологічних змін. За дії гістаміну як на 7-му, так і на 14-ту доби відбувається втрата типових для гепатоцитів ансамблів мітохондрій з ендоплазматичною сіткою.

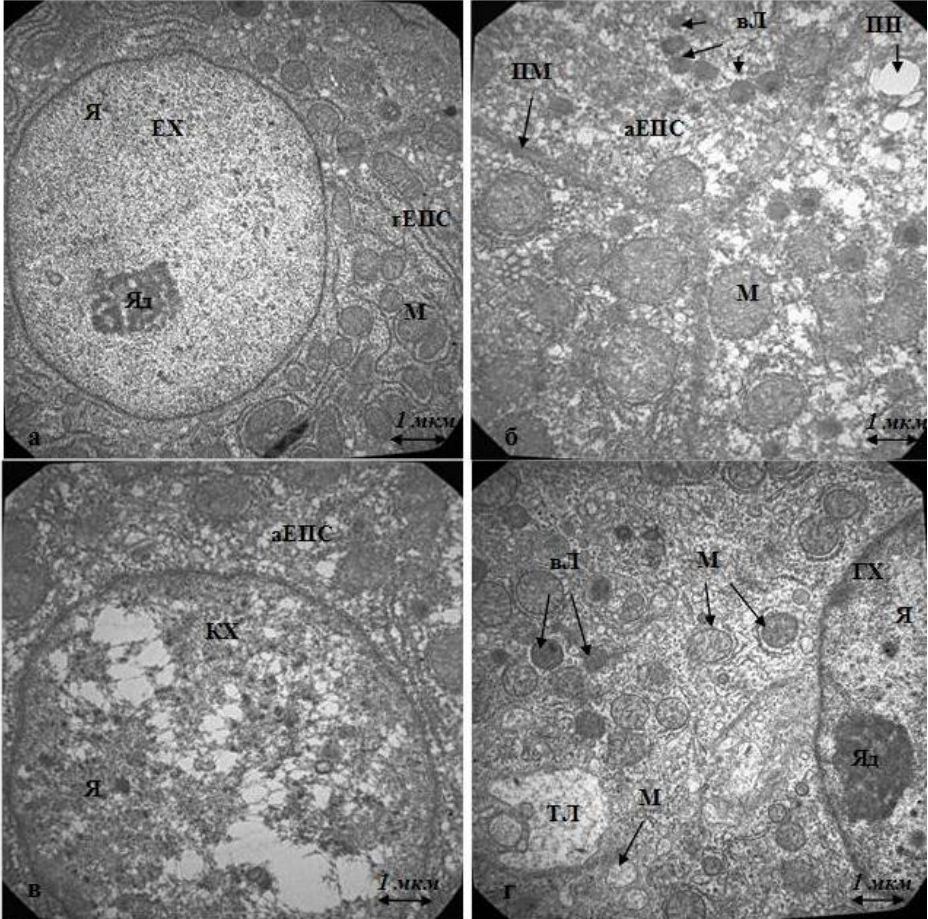


Рис. 3.15. Електронна мікрофотографія клітин печінки щурів: а – контроль, 7-ма доба, $\times 20\,000$; б – гістамін, 8 мкг/кг, 7-ма доба, $\times 22\,000$; в – гістамін, 8 мкг/кг, 7-ма доба, $\times 22\,000$; г – гістамін, 8 мкг/кг, 14-та доба, $\times 20\,000$; Я – ядро; Яд – ядерце; М – мітохондрія; гЕПС – гранулярна ендоплазматична сітка; аЕПС – агранулярна ендоплазматична сітка; вЛ – вторинна лізосома; ПП – піноцитозний пухирець; ПМ – плазматична мембрана; ТЛ – телолізосома; КХ – конденсація хроматину; ЕХ – еухроматин; ГХ – гетерохроматин

Отже, гістамін у гепатоцитах щурів зумовлює гідропічну дистрофію, яка пов'язана з порушенням структури мітохондрій та ендоплазматичної

сітки внаслідок, імовірно, зміни водно-сольового і білкового обміну. Відомо, що протеїни становлять близько 4,5 % від маси жовчних міцел. У жовчі є кілька десятків протеїнів з молекулярною масою від 6 до 220 kDa. Основна маса протеїнів є глобулінами, а менша – альбумінами крові, які за допомогою ендцитозу захоплюються на синусоїдальній мембрані гепатоцита і після трансцитозу викидаються екзоцитозом у жовчні капіляри. Невелика частина протеїнів жовчі синтезується в гепатоциті й також надходить у жовч [319]. Більш виражений негативний вплив гістаміну на печінку щурів, виявлений на 7-му добу.

Провівши морфометричний аналіз, ми встановили, що випоювання інтактним тваринам ГХН у концентрації 5 мг/л веде до появи клітин із вакуолізацією цитоплазми впродовж усього терміну дії даного чинника (див. рис. 3.14, в). ГХН у концентрації 20 мг/л справляє такий самий ефект, починаючи з 7-ї доби (див. табл. 3.3). Важливо зазначити, що найбільший ступінь вакуолізації гепатоцитів зафіксовано на 7-му добу досліду за дії ГХН обох досліджуваних концентрацій. Після реабілітаційного періоду вакуолізація цитоплазми гепатоцитів зберігається лише після впливу ГХН у концентрації 20 мг/л. Цікаво зазначити, що ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює значне підвищення вмісту багатоядерцевих ядер гепатоцитів (крім 7-ї доби) упродовж досліду (див. табл. 3.3). У клітинах печінки щурів за дії ГХН у концентрації 20 мг/л на 7-му добу досліду виявлено зниження кількості багатоядерцевих ядер на 67 %, що свідчить про зниження функціональної активності. На 21-шу добу (реабілітація) у гепатоцитах вміст багатоядерцевих клітин зростає, порівняно з контролем (див. рис. 3.14, г). Таким чином, можна твердити, що ГХН у нижчій досліджуваній концентрації зумовлює активацію пластичних функцій гепатоцитів, тоді як ГХН у вищій концентрації, – навпаки. На 1-шу добу досліду за дії ГХН відбувається зменшення площі профілю клітин і ядер та периметра профілю клітин і ядер, проте вже на 7-му добу відбувається зменшення тільки площі й периметра профілю клітин. У цей час показники площі та периметра профілю ядер гепатоцитів повертаються до меж контролю. За дії ГХН обох досліджуваних концентрацій як на 14-ту, так і на 21-шу доби досліду зберігається зниження показників площі та периметра профілю клітин приблизно на 30 %, порівняно з контролем (див. табл. 3.4). Варто зазначити, що ГХН у концентрації 20 мг/л зумовлює зростання площі й периметра профілю ядер у гепатоцитах на 14-ту добу досліду на 19 і 13 %, відповідно, що є ознакою набрякання ядра. На 7-му добу досліду показник $S_{я \cdot S_{кл}}$ зростає на 59 % за впливу ГХН обох досліджуваних концентрацій (див. табл. 3.4). Оскільки в цей час площа і периметр ядер є в межах контролю, а площа і периметр гепатоцитів зменшені, то вказаний показник ($S_{я \cdot S_{кл}}$) свідчить про зміни, які відбуваються саме у цитоплазмі клітин. Коефіцієнт форми профілю гепатоцитів на 7-му і 14-ту доби зростає

приблизно на 14 %, а також зменшується коефіцієнт елонгації за дії ГХН (5 і 20 мг/л), що свідчить про зростання округлості клітин (див. табл. 3.3).

Варто зазначити, що у печінкових часточках за дії ГХН у концентрації 20 мг/г на 1-шу добу досліду зростає просвіт синусоїдів між трабекулами, проте вже на 21-шу добу простежується протилежний ефект, що веде до порушення прохідності крові та жовчі у печінці (див. рис. 3.14, г).

Негативна дія ГХН вищої досліджуваної концентрації пов'язана з тим, що ця речовина має потужні окисні властивості, а ступінь впливу залежить від її концентрації [102]. ГХН вступає в реакцію з органічними речовинами, викликаючи декарбоксилювання органічних кислот тканин, наприклад, амінокислот, ненасичених жирних кислот [154].

Наші результати узгоджуються з даними літератури, де показано (у дослідах *in vitro*), що 0,025–0,0025 %-ний розчин ГХН викликає цитоплазматичну вакуолізацію, набрякання мітохондрій і розширення ендоплазматичної сітки у фібробластах та ендотеліальних клітинах, а також викликає 90 %-не інгібування нейтрофілів, міграцію, проте не загибель клітин [53].

Одночасне впоювання ГХН у концентрації 5 мг/л і підшкірне введення щурам гістаміну в дозі 1 і 8 мкг/кг зумовлює зростання вакуолізованих гепатоцитів, порівняно з контролем (див. рис. 3.14, д, е). Ступінь вакуолізації підвищується до 21-ї доби досліду. Проте, порівняно з групами тварин, яким лише підшкірно вводили гістамін, кількість гепатоцитів з ознаками вакуолізації цитоплазми є нижчою (див. табл. 3.3). Комбінація речовин ГХН (5 мг/л) та гістаміну (8 мкг/кг) у печінці щурів зумовлює підвищення кількості еритроцитів у синусоїдах, що пов'язано зі зростанням проникності судин. Відомо, що гістамін веде до підвищення проникності стінок судин, а ГХН розріджує кров (див. рис. 3.14, е). ГХН у концентрації 5 мг/л та паралельна дія гістаміну (1 і 8 мкг/кг) спричиняє зростання багатоядерцевих ядер гепатоцитів, особливо на 14-ту добу, що є позитивною динамікою (див. табл. 3.3). За одночасної дії цих речовин у печінці є тенденція до зниження площі профілю клітин. На 1-шу, 7-му та 21-шу доби досліду зростає відношення $S_{я}:S_{кл}$ (див. табл. 3.4). На 7-му та 14-ту доби дії ГХН у концентрації 5 мг/л та поєднаного впливу гістаміну в дозі 8 мкг/кг відбувається зростання коефіцієнта форми профілю клітин, що свідчить про динамічні зміни цитоскелету, руху цитоплазми та в'язкості цитоплазми клітин. Провівши електронно-мікроскопічне дослідження гепатоцитів, встановили, що за одночасної дії гістаміну (8 мкг/кг) і ГХН у концентрації 5 мг/л відбувається розширення та фрагментація цистерн агранулярної ендоплазматичної сітки. На 7-му добу досліду переважає агранулярна ендоплазматична сітка, значне набрякання мітохондрій, матрикс яких набуває низької електронної щільності, внаслідок чого добре проглядаються кристи (рис. 3.16, а). У гіалоплазмі

наявні жирові гранули, піноцитозні пухирці. Підвищується вміст вторинних лізосом. Електронна щільність плазматичних мембран по всій довжині не є однаковою, з наявними електронно-щільними ділянками. На окремих проміжках плазматичної мембрани спостерігається «розпушення», що свідчить про зміну в ній процесів ліпопероксидації (див. рис. 3.16, а). Такаим чином, у клітинах печінки розвивається гідропічна дистрофія. На 14-ту добу дослідження наявні типові для гепатоцитів комплекси мітохондрій із гранулярною ендоплазматичною сіткою, проте просвіт цистерн ендоплазматичної сітки гіпертрофований, що свідчить про порушення нею синтезу білків, а саме альбумінів сироватки крові, та мембранних ліпідів (див. рис. 3.16, б). У цей час хроматин в ядрі дифузний, проте з підвищеною електронною щільністю (див. рис. 3.16, б). Мітохондрії збільшених розмірів з електронно-щільним матриксом, як у контролі.

Отже, поєднаний вплив ГХН у концентрації 5 мг/л та гістаміну в обох досліджуваних дозах зумовлює гідропічну дистрофію. Більш виражені структурні зміни притаманні гепатоцитам за дії ГХН (5 мг/л) та гістаміну в дозі 8 мкг/кг. Порівнюючи з впливом на печінку лише гістаміну, структурні зміни клітин за дії ГХН у концентрації 5 мг/л і гістаміну є менш виражені, про що свідчать показники світлової й електронної мікроскопії та морфометричного аналізу.

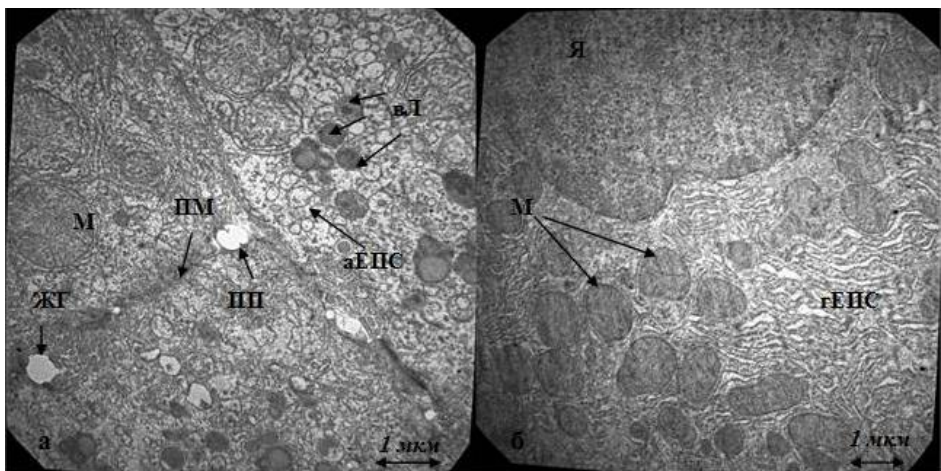
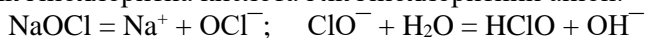


Рис. 3.16. Електронна мікрофотографія клітин печінки щурів за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг та гіпохлориту натрію в концентрації 5 мг/л: а – 7-ма доба дослідження, $\times 20\ 000$; б – 14-та доба дослідження, $\times 20\ 000$; ЖГ – жирова гранула; Я – ядро; М – мітохондрія; гЕПС – гранулярна ендоплазматична сітка; аЕПС – агранулярна ендоплазматична сітка; вЛ – вторинна лізосома; ПП – піноцитозний пухирець; ПМ – плазматична мембрана

Випоювання щурам ГХН у концентрації 20 мг/л на тлі дії гістаміну веде до зростання вакуолізації цитоплазми гепатоцитів упродовж досліду (див. табл. 3.3; див. рис. 3.14, є, ж). Виражений негативний вплив чинить введення в організм щурів ГХН (20 мг/л) і гістаміну в дозі 1 мкг/кг на всіх етапах дослідження. Так, на 7-му добу кількість вакуолізованих клітин становить $48,2 \pm 0,8$, тоді як у контролі $0,4 \pm 0,24$ (див. рис. 3.14, є). На фоні значної вакуолізації знижується вміст клітин, ядра яких мали би по два і більше ядерець, що свідчить про зниження функціональної активності гепатоцитів. На першу добу дії ГХН (20 мг/л) та гістаміну (1 мкг/кг) знижується показник площі профілю ядра, який зростає вже на 14-ту добу досліду. Натомість площа профілю клітини знижується на 7-му добу на 20 %, а також спадає показник периметра профілю гепатоцитів на 16 % (див. табл. 3.4). Після реабілітаційного періоду показники площі та периметра профілю клітин і ядер є нижчими від контролю. На 7-му та 14-ту доби дії ГХН (20 мг/л) і гістаміну (1 мкг/кг) зростає коефіцієнт форми профілю клітин (див. табл. 3.3), що свідчить про набуття гепатоцитами більш вираженої округлої форми. Відношення більшого діаметра клітини до меншого (коефіцієнт елонгації) достовірно спадає на 1-шу та 14-ту доби досліду, і це підтверджує округлість клітин (див. табл. 3.3).

У науковій літературі є повідомлення [76], що у водних розчинах ГХН існує як гіпохлоритна кислота і як гіпохлоритний аніон.



Ці компоненти реагують з органічними речовинами шляхом доповнення, заміщення чи окиснення [76]. HOCl швидко вступає в реакцію з первинними амінами й іншими N-вмісними сполуками з утворенням хлорамінів і азотно-хлоропохідних [53]. Отже, значну негативну дію ГХН у концентрації 20 мг/л та гістаміну в дозі 1 мкг/кг ми пов'язуємо з утворенням великої кількості шкідливих сполук у печінці щурів (наприклад, карбонільних сполук, хлорамінів). Відомо, що хлораміни можуть зумовлювати денатурацію протеїнів. Можливо, гістамін у нижчій дозі стимулює ендогенний викид гістаміну тканинними базофілами та базофілами крові, з якими реагує ГХН. Із даних літератури відомо, що в низьких концентраціях гістамін зумовлює викид у кров'яне русло активних форм кисню нейтрофілами, тоді як високі його концентрації інгібують цей процес [56]. Імовірно, гістамін у дозі 1 мкг/кг веде до підвищення утворення активних форм кисню. Також відомо, що ГХН вступає в реакцію з біогенними амінами, утворюючи карбонільні сполуки. Такі сполуки утворюються і під час ферментативного руйнування гістаміну аміноксидазами в організмі. Сукупність цих факторів, імовірно, і зумовлює такий негативний ефект на структурні особливості гепатоцитів за поєднаної дії ГХН (20 мг/л) та гістаміну в дозі 1 мкг/кг.

Функціональна активність клітин за впливу ГХН у концентрації 20 мг/л і гістаміну в дозі 8 мкг/кг зростає, про що свідчить підвищення кількості багатоядерцевих ядер (див. табл. 3.3). На фоні зростання вакуолізації цитоплазми відбувається зменшення площі та периметра профілю гепатоцитів і ядер (див. табл. 3.3, 3.4). Варто зазначити, що вакуолі, які утворюються в цитоплазмі, є менших розмірів на 14-ту добу дії досліджуваних чинників (див. рис. 3.14, ж). До 21-ї доби незначно зростає коефіцієнт форми профілю гепатоцитів (на 5 %).

За впливу ГХН у концентрації 20 мг/л і гістаміну в дозі 8 мкг/кг відбуваються зміни у будові клітин на 7-му добу. Так, нами виявлено зростання електронної щільності гіалоплазми, в якій в окремих ділянках зруйновані цистерни ендоплазматичної сітки. Вигляд такої гіалоплазми є дифузним. Відомо, що некротичні зміни відбуваються з коагуляцією протеїнів і руйнацією мембранних структур. З'являється велика кількість вторинних лізосом. Мітохондрії у стані набряку, подекуди зі світлим матриксом (рис. 3.17, а). У ядрі переважає гетерохроматин. Такі зміни притаманні і на 14-ту добу досліді, проте в цей час наявні гепатоцити, у ядрах яких переважає еухроматин, і розміри мітохондрій повертаються до меж норми (див. рис. 3.17, б).

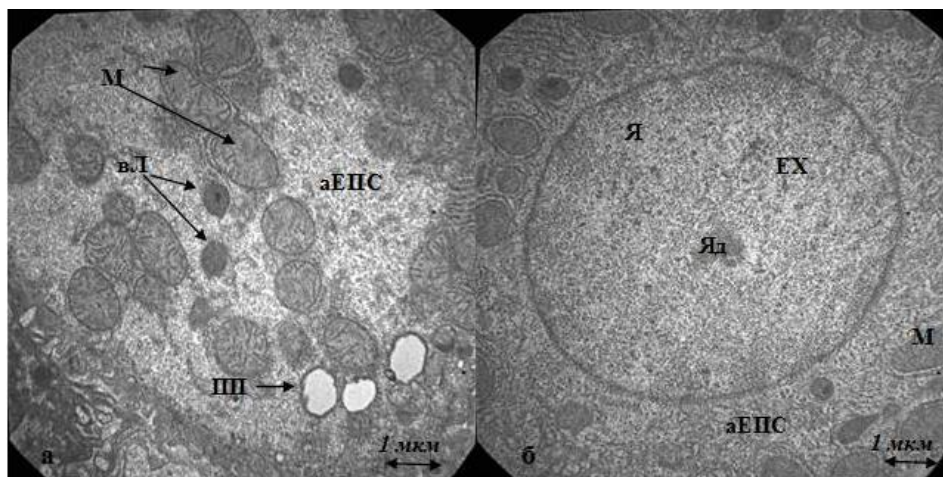


Рис. 3.17. Електронна мікрофотографія клітин печінки щурів за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг та гіпохлориту натрію в концентрації 20 мг/л: а – 7-ма доба досліді, $\times 22\ 000$; б – 14-та доба досліді, $\times 20\ 000$; Я – ядро; Яд – ядерце; М – мітохондрія; аЕПС – агранулярна ендоплазматична сітка; вЛ – вторинна лізосома; ПП – піноцитозний пухирець; ЕХ – еухроматин

Отже, за впливу гістаміну в гепатоцитах щурів відбувається гідропічна дистрофія, порушується звична будова мітохондрій та

ендоплазматичної сітки. ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює активацію пластичних функцій гепатоцитів унаслідок зростання кількості багатоядерцевих ядер, тоді як ГХН у вищій концентрації веде до спадання цих процесів. ГХН як у нижчій, так і у вищій концентрації зумовлює вакуолізацію цитоплазми гепатоцитів. Одночасне вipoювання ГХН у концентрації 5 мг/л і підшкірне введення щурам гістаміну в дозі 1 та 8 мкг/кг веде до зростання кількості вакуолізованих гепатоцитів, порівняно з контролем, проте, порівняно з групами тварин, яким вводили гістамін, кількість гепатоцитів із гідропічною дистрофією є нижчою. Виражений негативний вплив чинить вipoювання щурам ГХН (20 мг/л) та підшкірні ін'єкції гістаміну в дозі 1 мкг/кг на всіх етапах дослідження, де на фоні значної вакуолізації знижується вміст клітин, ядра яких мали по два і більше ядерцець.

Встановлено, що гістамін у **нирці** щурів інтенсифікує накопичення ГП ліпідів упродовж усього часу його дії, а також і після реабілітації. Варто зазначити, що біогенний амін у дозі 1 мкг/кг також зумовлює підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів на 1-шу (на 15 %), 7-му (на 22 %) і 14-ту (на 38 %) доби. Нижча доза гістаміну активує роботу СОД лише на 14-ту добу та після реабілітації на 36 і 42 %, відповідно, а також знижує КАТ і ГПО активність упродовж досліду. За дії гістаміну у вищій дозі відбувається активація роботи СОД і пригнічення ГПО з першої доби досліду (табл. А.7). Отже, біогенний амін зумовлює інтенсифікацію процесів ПОЛ, а також активує роботу СОД і знижує роботу ГПО та КАТ. Гістамін у дозі 1 мкг/кг зумовлює накопичення первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації, що свідчить про більш виражений негативний ефект, порівняно з дозою 8 мкг/кг. Відомо, що гістамін є регулятором багатьох фізіологічних процесів в організмі, таких як регуляція добового ритму, тонуусу судин, активності секреторних клітин слизових оболонок тощо [311]. Його дія залежить від концентрації, що зв'язується з різними гістаміновими рецепторами. Надлишкове накопичення гістаміну призводить до розвитку симптоматики, що виникає за рахунок зв'язування з гістамінорецепторами [276]. За нашими дослідженнями, нижча доза гістаміну, ймовірно, не активує систему його знешкодження, і негативний ефект є більш виражений, порівняно з дозою 8 мкг/кг. У літературі є відомості, що застосування інгібіторів протонної помпи призводить до зростання ризику розвитку хронічної хвороби нирок, тоді як вживання блокаторів H₂-рецепторів до гістаміну не чинять такого ефекту [152]. Враховуючи ці дані, а також результати наших досліджень, можна зробити висновок, що гістамін чинить ушкоджувальний вплив на нирку, тоді як антигістамінні засоби мають протекторний вплив на цей орган. У науковій літературі є відомості, що причинами збільшення об'єму клубочкового фільтрату є збільшення проникності фільтраційного бар'єра (наприклад, унаслідок розпушення базальної мембрани) під впливом медіаторів

запалення або алергії (гістаміну, кінінів, гідролітичних ензимів) [327]. Ці зміни можуть спричиняти підвищення процесів ПОЛ у нирках щурів за систематичної дії гістаміну. Зниження ГПО активності за дії гістаміну є негативним явищем, оскільки відомо, що за таких умов знижується стійкість організму до окиснювального ураження, а це призводить до розвитку вільнорадикальної патології [302]. Активізація процесів ПОЛ у нирках посилює запалення та дисфункцію клітинних мембран, порушуючи збалансованість функціонування прооксидантної й антиоксидантної систем [179].

Випоювання щурам ГХН зумовлює зростання вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації впродовж усього дослідження. Рівень первинних продуктів ПОЛ у нирках тварин підвищується за дії цього дезінтоксиканта у концентрації 20 мг/л на усіх етапах дослідження, тоді як за впливу нижчої концентрації їхня кількість зростає тільки на 14-ту добу (див. табл. А.7). Такі зміни свідчать, що ГХН у нирці щурів активує вільнорадикальні процеси, а це зумовлює ушкодження клітин. ГХН є джерелом іонів натрію, хлору, кисню. Дослідниця А. Я. Велика встановила, що за дії 3 % сольового навантаження у нирках щурів зазнають змін процеси вільнорадикального окиснення [143, 202]. Відомо також, що всі токсичні речовини й ензими, які не були затримані печінкою, виділяються зі сечею, ушкоджуючи нирки [410]. Можна припустити, що за ушкодження печінки (в якій у нашому випадку порушується також прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз) відбувається недостатня детоксикація шкідливих сполук, у результаті чого ці речовини додатково уражають нирку. За дії ГХН у концентрації 5 і 20 мг/л у нирці щурів СОД активність зростає впродовж дослідження, проте найбільш інтенсивне підвищення відбувається на 14-ту і 21-шу доби (14-та – на 382 і 168 %, відповідно, 21-ша – на 380 і 133 %, відповідно; див. табл. А.7). За таких умов значно знижується ГПО активність на 1-шу, 7-му, 14-ту та 21-шу (реабілітація) доби. КАТ активність також пригнічується. За інтенсивної роботи СОД має утворюватися значна кількість пероксиду водню, який знешкоджується КАТ чи ГПО. Зниження КАТ і ГПО може свідчити про непряме ураження ензимів ГХН. Науковці виявили, що 3 % сольове навантаження призводить до незначної зміни ГПО активності в різних шарах нирок. За 0,75 % завантаження розчином NaCl відбувається зниження ГПО активності в усіх відділах нирок, порівняно з контролем. Це дає підставу стверджувати, що будь-який стресовий чинник для організму тварин призводить до змін показників активності ензимів АОЗ нирок щурів [203]. Показано, що у нирках за антифосфоліпідного синдрому (автоімунне захворювання, що характеризується наявністю у крові антитіл до негативно заряджених фосфоліпідів мембран і зв'язаних з ними глікопротеїнів (бета-2-глікопротеїну-1, анексину V, протромбіну) відбувається інтенсифікація процесів ПОЛ, підвищення СОД активності,

зниження КАТ активності, виснаження пулу GSH у нирках [409]. Отже, за дії ГХН відбуваються характерні для нирок щурів зміни ПОЛ–АОС. Зниження ГПО активності виявляється внаслідок зменшення кількості відновленого глутатіону в органі.

Одночасне введення в організм гістаміну та ГХН зумовлює накопичення ТБК-позитивних продуктів, тоді як підшкірне введення тільки гістаміну призводить до підвищення вмісту ГП ліпідів (див. табл. А.7). Тому можна твердити, що ГХН посилює негативну дію гістаміну в нирці щурів. Відомо, що ТБК-позитивні продукти є маркерами малонового діальдегіду, який може утворювати ДНК-аддукти і, тим самим, пошкоджувати ДНК. Під час утворення ДНК-аддуктів формується ковалентний зв'язок, у двох атомів виникає спільна пара електронів. Ковалентні зв'язки є міцними, тому в процесі репарації відбувається вирізання таких ділянок ДНК з геному і виведення їх зі сечею. Концентрацію ДНК-аддуктів у сечі розглядають як фактор ризику розвитку певних типів раку.

За поєднаної дії гістаміну і ГХН реагування АОС є таким самим, як і за дії гістаміну та ГХН поодиночі (див. табл. А.7).

Отже, гістамін веде до накопичення продуктів ПОЛ, а також активує роботу СОД і знижує – ГПО та КАТ. Гістамін у дозі 1 мкг/кг зумовлює більш виражений негативний ефект на нирку щурів. ГХН спричиняє зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів ліпопероксидації впродовж досліду та підвищення СОД активності, а також значне зниження ГПО активності. Поєднаний вплив речовин на нирку тварин зумовлює підвищення ТБК-позитивних продуктів, порівняно з контролем, а також і з групою щурів, яким тільки робили ін'єкції біогенного аміну, що свідчить про посилення негативної дії гістаміну гіпохлоритом натрію. За одночасної дії гістаміну й ГХН активується СОД і пригнічується КАТ та ГПО.

Встановлено, що гістамін у дозі 1 мкг/кг зумовлює зниження площі ниркових тілець на 27 %, площі та більшої осі судинних клубочків на 22 та 13 %, відповідно, на 7-му добу досліду (табл. 3.5). На 14-ту добу та після реабілітаційного періоду показники морфометричного аналізу повертаються до меж контролю за дії досліджуваного чинника (див. табл. 3.5). Гістамін у вищій дозі (8 мкг/кг) зумовлює зниження площі судинного клубочка, більшої та меншої осі судинних клубочків на 46, 26, 30 %, відповідно, на 1-шу добу (див. табл. 3.5). У цей час зростає площа капсули Шумлянського-Боумена на 61 % за рахунок зменшення площі судинного клубочка. На 7-му добу, поряд зі зменшенням площі капсули Шумлянського-Боумена, відбувається спадання площі ниркових тілець. На 21-шу добу (реабіліційний період) площа ниркових тілець зростає на 31 % (див. табл. 3.5). Отже, гістамін у нижчій дозі зумовлює зміни структури ниркових тілець після 7-денного його впливу, тоді як біогенний амін у

Таблиця 3.5

Показники структур ниркового тільця щурів за дії гістаміну та гіпохлориту натрію

Доба	№ групи	Площа ниркового тільця, мкм ² , M±m, p	Площа капсули Шумлянського-Боумена, мкм ² , M±m, p	Площа судинного клубочка, мкм ² , M±m, p	Більша вісь поперечного перерізу судинного клубочка, мкм, M±m, p	Менша вісь поперечного перерізу судинного клубочка, мкм, M±m, p
1-ша доба	Контроль	7373,65±616,72	2278,90±462,94	5323,21±384,29	94,01±4,28	76,85±4,59
	Гістамін, 1 мкг/кг	6949,09±624,61	1449,21±372,17	5341,28±471,89	100,87±7,30	67,68±4,20
	Гістамін, 8 мкг/кг	6944,03±62,72	3660,10±128,39 *	2893,72±31,96 **	69,22±1,20 **	53,54±1,42 **
	ГХН, 5 мг/л	7908,85±419,83	3305,05±324,75	4673,61±125,46	92,08±3,32	64,73±0,94
	ГХН, 20 мг/л	7891,21±800,53	4167,25±616,98 *	3486,87±218,61 **	80,17±1,11 *	55,59±4,16 **
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	8137,83±684,16	3415,75±430,42	4621,06±380,21	82,72±3,89	70,58±2,39
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	7335,97±605,78	2421,98±196,67	4606,29±390,69	89,27±4,23	65,32±3,83
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	7447,74±382,36	3454,19±558,67	4467,66±311,94	82,16±2,593 *	68,96±2,88
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	8606,76±267,82	1531,17±278,86	6937,84±389,11 *	110,26±4,77 *	81,40±2,17
7-ма доба	Контроль	9790,46±554,45	4425,23±126,99	4585,36±169,78	82,90±1,66	70,06±1,25
	Гістамін, 1 мкг/кг	7116,44±727,98 *	3379,52±564,29	3593,34±227,05 *	72,23±1,59 **	63,19±2,97
	Гістамін, 8 мкг/кг	7515,99±290,09 *	2113,63±414,05 **	4765,16±352,59	84,39±3,70	71,50±2,48
	ГХН, 5 мг/л	8614,65±51,41	1289,47±157,13 ***	7177,19±125,72 ***	111,69±1,60 ***	82,15±0,75 ***
	ГХН, 20 мг/л	8410,41±427,27	3566±336,09	4579,22±235,25	89,81±4,18	65,15±1,50 *
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	8365,73±582,48	3966,14±187,91	4569,58±165,52	87,87±5,71	59,02±3,94 *
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	8579,19±442,01	2626,53±455,52 *	5795,19±583,59	95,28±5,79	76,74±4,27
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	8961,35±597,00	2388,17±501,35 *	6260,99±356,97 **	100,28±3,29 **	79,16±2,12 *
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	7372,33±739,61 *	3673,72±455,95	3730,79±349,98	76,87±2,85	61,41±4,48
14-та доба	Контроль	8640,04±1396,26	1898,33±348,63	5723,36±603,89	97,19±10,47	80,69±5,55
	Гістамін, 1 мкг/кг	7862,57±465,84	3343,93±440,21	4372,33±77,03	81,41±0,58	68,14±1,16
	Гістамін, 8 мкг/кг	8339,97±113,39	2505,39±286,62	5714,18±363,64	89,65±2,23	80,58±3,25
	ГХН, 5 мг/л	8278,54±212,19	2691,34±308,17	5388,21±255,53	94,76±3,19	71,36±2,20
	ГХН, 20 мг/л	8282,16±166,07	2059,67±300,98	6075,30±283,77	99,23±0,68	77,82±3,20
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	7892,16±639,19	2505,96±549,11	5152,78±250,93	93,38±2,91	70,44±3,71
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	6583,81±605,07	1427,91±199,04	4806,29±606,86	84,02±4,08	72,02±5,65
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	6413,69±615,07	2083,50±145,10	3914,58±330,76 *	76,95±3,33	64,36±3,34 *
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	6998,06±991,62	2564,56±320,43	4302,68±519,39	89,44±7,74	61,15±4,37 *

Закінчення табл. 3.5

21-ша доба	Контроль	6697,83±224,78	2303,18±290,65	4322,89±360,38	81,71±4,17	67,16±3,43
	Гістамін, 1 мкг/кг	8956,19±1030,58	1821,24±276,50	5772,79±731,79	99,07±6,34	72,71±4,88
	Гістамін, 8 мкг/кг	8766,34±526,99 *	3579,84±509,89	4549,32±143,21	94,32±3,58	62,30±1,17
	ГХН, 5 мг/л	7188,62±492,66	1611,23±356,47	5410,69±436,88	88,87±4,13	77,08±2,97
	ГХН, 20 мг/л	8221,25±196,45 ***	1760,39±429,80	6050,73±569,84 *	92,21±4,35	82,83±4,07 *
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	9576,74±744,16 *	4428,46±215,82 ***	5153,74±623,87	91,10±5,68	70,89±3,88
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	6042,72±993,78	2898,61±392,79	2976,92±612,80	68,58±7,48	52,67±6,05
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	6960,33±769,30	2759,89±382,22	4034,46±427,65	80,21±4,03	63,32±4,49
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	9694,89±402,23 ***	2346,33±354,05	7106,47±480,58 **	104,38±4,84 **	86,38±2,76 **

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

вищій дозі веде до порушень показників як на 1-шу, так і на 7-му доби досліду. Ймовірно, у нирці тварин за систематичного введення гістаміну знижується чутливість організму до нього на 14-ту добу, що узгоджується з даними літератури [78]. Зниження показників структури ниркового тільця свідчить про розвиток атрофії за дії гістаміну.

Нами встановлено, що під час фарбування гістозрізів тканини нирки погано сприймають барвник за дії гістаміну обох доз, тоді як у контролі клітини яскраво зафарбовані й оптично прозорі, на фоні цитоплазми добре проглядаються ядра. На 1-шу та 7-му доби відбувається зменшення просвіту проксимальних і дистальних звивистих каналців, які містяться навколо ниркових тілець у корковій частині нирки щурів (рис. 3.18, а, б, в, г). Вазоконстрикційні зміни у нирках за дії гістаміну були засвідчені й іншими дослідниками [15]. Gurgen показав, що за голодування, важливого фактора метаболічного стресу, гістамін спричиняє значні порушення роботи нирок, особливо у клубочкових капілярах, проксимальних і дистальних каналцях [44].

Випоювання щурам ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює зміни у структурі ниркових тілець лише на 7-му добу досліду. За цих умов знижується показник площі капсули Шумлянського-Боумена на 71 %, зростає площа, а також більша і менша осі судинного клубочка на 57, 35, 17 %, відповідно (див. табл. 3.5). За дії ГХН у концентрації 20 мг/л вже на 1-шу добу спостерігаємо протилежний ефект, порівняно з нижчою концентрацією. Так, зростає площа капсули Шумлянського-Боумена, зменшується площа, більша і менша осі судинного клубочка. Проте ці зміни нівелюються на 7-му та 14-ту доби, крім показника меншої осі (зменшення на 7 % на 7-му добу). Варто відзначити, що після припинення випоювання щурам ГХН у цій концентрації показники морфометричного аналізу змінюються, порівняно з контролем. Виявлено зростання площі ниркового тільця, судинного клубочка на 23 та 40 %, відповідно, а також

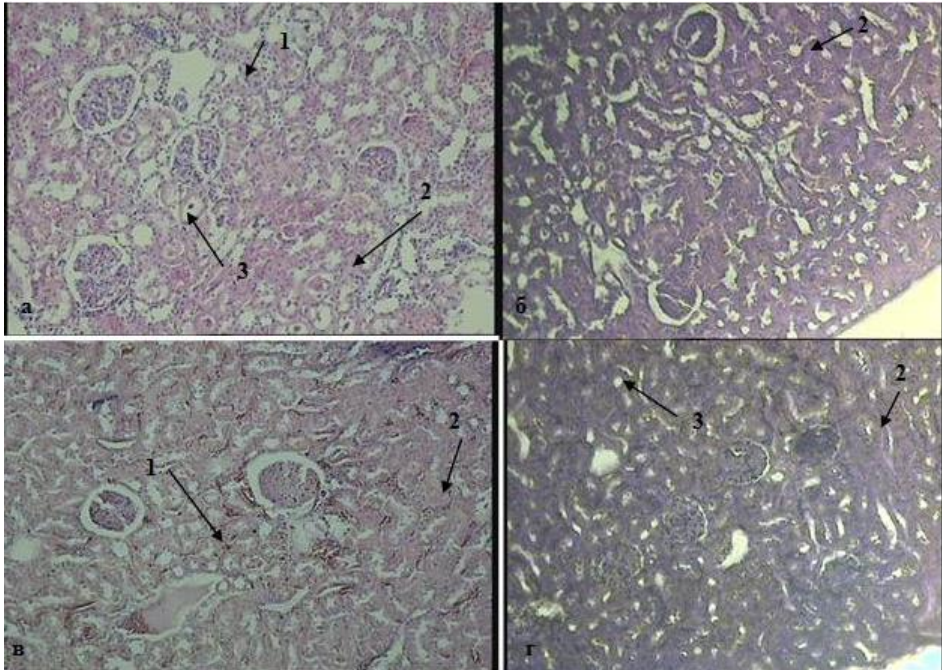


Рис. 3.18. Кортика речовина нирки щурів. Гематоксилін-еозин: а – контроль, 1-ша доба, ок. 10, об. 10; б – гістамін, 1 мкг/кг, 7-ма доба, ок. 10, об. 10; в – гістамін, 8 мкг/кг, 1-ша доба, ок. 10, об. 10; г – гістамін, 8 мкг/кг, 7-ма доба, ок. 10, об. 10; 1 – ядро; 2 – цитоплазма; 3 – каналець

меншої осі поперечного перерізу судинного клубочка на 23 % (див. табл. 3.5). Аналізуючи гістозрізи нирки групи тварин, яким впоювали ГХН у концентрації 5 мг/л, встановлено, що на 1-шу добу досліду клітини оптично прозорі, проте в судинних клубочках і у просвітах між канальцями коркової речовини є значна кількість еритроцитів, що свідчить про підвищення проникності судин і капілярів, проте вже на наступні доби клітини перефарбовуються, що свідчить про зміни їхнього звичного метаболізму (рис. 3.19, а). З 7-ї доби цитоплазма клітин нирки мутна, на її фоні погано проглядаються ядра (див. рис. 3.19, б, в). Поряд зі змінами морфометричних показників на 1-шу добу, ГХН у концентрації 20 мг/л спричиняє якісні відмінності клітин, порівняно з контролем. Так, виявлена мутність цитоплазми, гідропічна дистрофія, межі клітин нечіткі, що свідчить про ушкодження органічних сполук, зокрема, ліпідів. Ядра займають крайне периферичне положення і набувають кутастої та більш видовженої форми (у нормі є круглими чи овальними) (див. рис. 3.19, г, д). На 7-му добу відбувається відновлення структури та функцій клітин нирки, проте після реабілітаційного періоду виявлено погіршене сприймання барвника

клітинами коркового відділу, втрата чіткої розмежованості структурних одиниць унаслідок порушення вільнорадикальних процесів у мембранах клітин, що підтверджено нашими попередніми дослідженнями [188] (див. рис. 3.19, е, є). Отже, ГХН у нижчій концентрації зумовлює зміни структури клітин нирки (збільшення площі, а також більшої та меншої осі

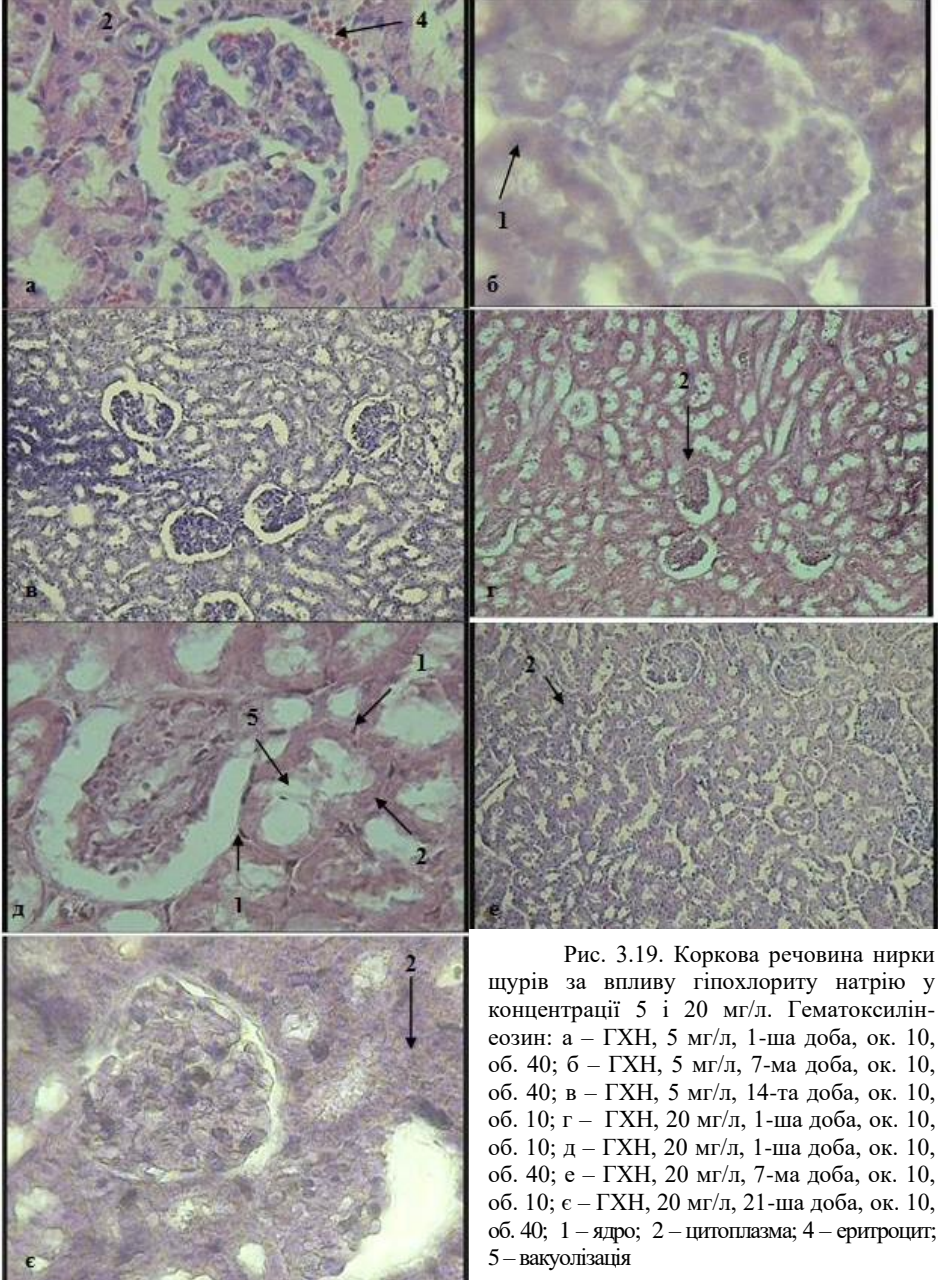


Рис. 3.19. Коркова речовина нирки щурів за впливу гіпохлориту натрію у концентрації 5 і 20 мг/л. Гематоксилін-еозин: а – ГХН, 5 мг/л, 1-ша доба, ок. 10, об. 40; б – ГХН, 5 мг/л, 7-ма доба, ок. 10, об. 40; в – ГХН, 5 мг/л, 14-та доба, ок. 10, об. 10; г – ГХН, 20 мг/л, 1-ша доба, ок. 10, об. 10; д – ГХН, 20 мг/л, 1-ша доба, ок. 10, об. 40; е – ГХН, 20 мг/л, 7-ма доба, ок. 10, об. 10; є – ГХН, 20 мг/л, 21-ша доба, ок. 10, об. 40; 1 – ядро; 2 – цитоплазма; 4 – сфероциг; 5 – вакуолізація

судинного клубочка) на 7-му добу досліду, тоді як ця речовина у вищій концентрації веде до значних порушень клітин вже на 1-шу добу досліду, включно із гідропічною дистрофією, зміною структури мембран, підвищенням проникності судин і капілярів.

Відомо, що процес фільтрації у клубочках відбувається за рахунок проштовхування води і дрібних молекул плазми з капілярів у просвіт каналців під дією артеріального тиску. Цій виштовхувальній силі протидіють два фактори: осмотичний тиск компонентів плазми, які не фільтруються, і внутрішньонирковий тиск. Швидкість клубочкової фільтрації залежить від стану базальної мембрани, яка складається з колагену та глікопротеїду. Цей суцільний шар завтовшки 80–120 нм відділяє капілярний ендотелій від подоцитів. Пропускна здатність базальної мембрани визначається діаметром пор і значенням негативного заряду глікопротеїду. Фільтрація у клубочках зменшується за рахунок зменшення маси функціонуючих клубочків. Тому виявлене нами зменшення розмірів судинних клубочків за дії ГХН у концентрації 20 мг/л на 1-шу добу досліду порушує процес фільтрації у нирці. За вживання щуром ГХН до нирки додатково надходять іони натрію, хлору й кисню. Перші два іони, ймовірно, в надлишкових кількостях, порушують роботу Na^+ , K^+ -АТФази у нефронах, тоді як кисень зумовлює ініціацію вільнорадикальних процесів. Це веде до інтенсифікації процесів ліпопероксидації у мембранах клітин. У науковій статті Реск зазначено, що ГХН може зумовлювати гостре ураження нирок, викликане реактивними сполуками хлору, які спричинили окиснювальне пошкодження. Подібно до механізму дії мієлопероксидазної реакції в нейтрофілах, ця сполука гідролізує і нейтралізує амінокислоти й окиснює мембрани епітеліальних клітин, що призводить до загибелі клітин [13].

Встановлено, що ГХН у концентрації 5 мг/л на фоні дії гістаміну вищої досліджуваної дози зумовлює зменшення площі капсули Шумлянського-Боумена на 46 %, а також збільшення площі судинного клубочка на 37 % на 7-му добу досліду. Підвищуються також показники більшої та меншої осей поперечного перерізу судинного клубочка (див. табл. 3.5). Проте на 14-ту добу такої поєднаної дії речовин у нирці відбувається вже зменшення площі судинного клубочка на 32 % та скорочення його меншої осі поперечного перерізу (див. табл. 3.5). Ці зміни нівелюються після реабілітаційного періоду. Варто зазначити, що одночасне введення ГХН (5 мг/л) та гістаміну в дозі 1 мкг/кг спричиняє порушення показників структури нирки саме після припинення їхнього введення в організм (на 21-шу добу). Так, виявлено збільшення площі ниркових тілець, капсули Шумлянського-Боумена на 43 та 92 %, відповідно.

За впливу ГХН (5 мг/л) і гістаміну обох доз на гістозрізах нирки не виявлено якісних відмінностей стосовно контрольних гістопрепаратів на 1-шу добу досліду. Проте за одночасної дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг і ГХН (5 мг/л) з 7-ї доби досліду відбувається інтенсивне сприймання барвника клітинами нирки та втрата чіткої оконтурованості структур, що характерне і для 14-ї доби досліду (рис. 3.20, а). Після реабілітаційного періоду цитоплазма клітин стає оптично прозорою з добре помітними ядрами, проте розвивається периваскулярний набряк навколо судин, а також з'являються еритроцити навколо ниркових тілець, що свідчить про зростання проникності приносних і виносних артеріол (рис. 3.20, б, в). Ймовірно, фільтраційна функція нирки в цей час є збереженою, оскільки відомо, що крізь нирковий фільтр не проходять формені елементи крові, протеїни (можлива фільтрація лише невеликої кількості низькомолекулярних протеїнів – альбумінів), тому ультрафільтрат (первинна сеча) в капсулі Шумлянського-Боумена за складом подібний до плазми крові [337], а у нашому випадку в капсулі Шумлянського-Боумена не було виявлено еритроцитів. Поєднане введення в організм щурів гістаміну в дозі 8 мкг/кг та ГХН (5 мг/л) на 7-му добу зумовлює такі ж зміни, які притаманні за впливу ГХН (5 мг/л) і гістаміну у нижчій дозі, проте вони є більш вираженими (див. рис. 3.20, г). На 14-ту добу клітини набувають оптичної прозорості, хоча просвіт проксимальних і дистальних каналців нефрона звужений (див. рис. 3.20, д). Після реабілітаційного періоду у клітинах розвивається гідропічна дистрофія, що свідчить про порушення водно-солевого обміну (див. рис. 3.20, е).

Нами виявлено, що за поєднаної дії ГХН у концентрації 20 мг/л та гістаміну в дозі 1 мкг/кг змінюється тільки показник площі капсули Шумлянського-Боумена на 7-му добу (зменшення на 41 %). Одночасний вплив ГХН у зазначеній концентрації та гістаміну у вищій дозі на 1-шу добу зумовлює зростання площі та більшої осі поперечного перерізу судинного клубочка, на 7-му – зменшення площі ниркових тілець (на 25 %), на 14-ту – скорочення меншої осі поперечного перерізу судинного клубочка. Після 7-добової реабілітації збільшується площа ниркових тілець, судинних клубочків і їхніх осей (див. табл. 3.5). Хоча за впливу ГХН (20 мг/л) та гістаміну в дозі 1 мкг/кг показники морфометричного аналізу перебувають у межах контролю, проте клітини погано профарбовуються, без чітких меж (див. рис. 3.20, є). У цей час відбувається значне накопичення продуктів ліпопероксидації, яке було попередньо нами встановлено [188]. На подальших етапах досліду клітини коркової речовини нирки трохи перефарбовані та набувають виразних контурів. За одночасного впливу гістаміну та ГХН вищих досліджуваних концентрацій встановлено дезорганізацію структур нирки, а саме дистальних і проксимальних каналців, наявність еритроцитів навколо ниркового тільца (див. рис. 3.20, ж). Отже, поєднаний вплив ГХН

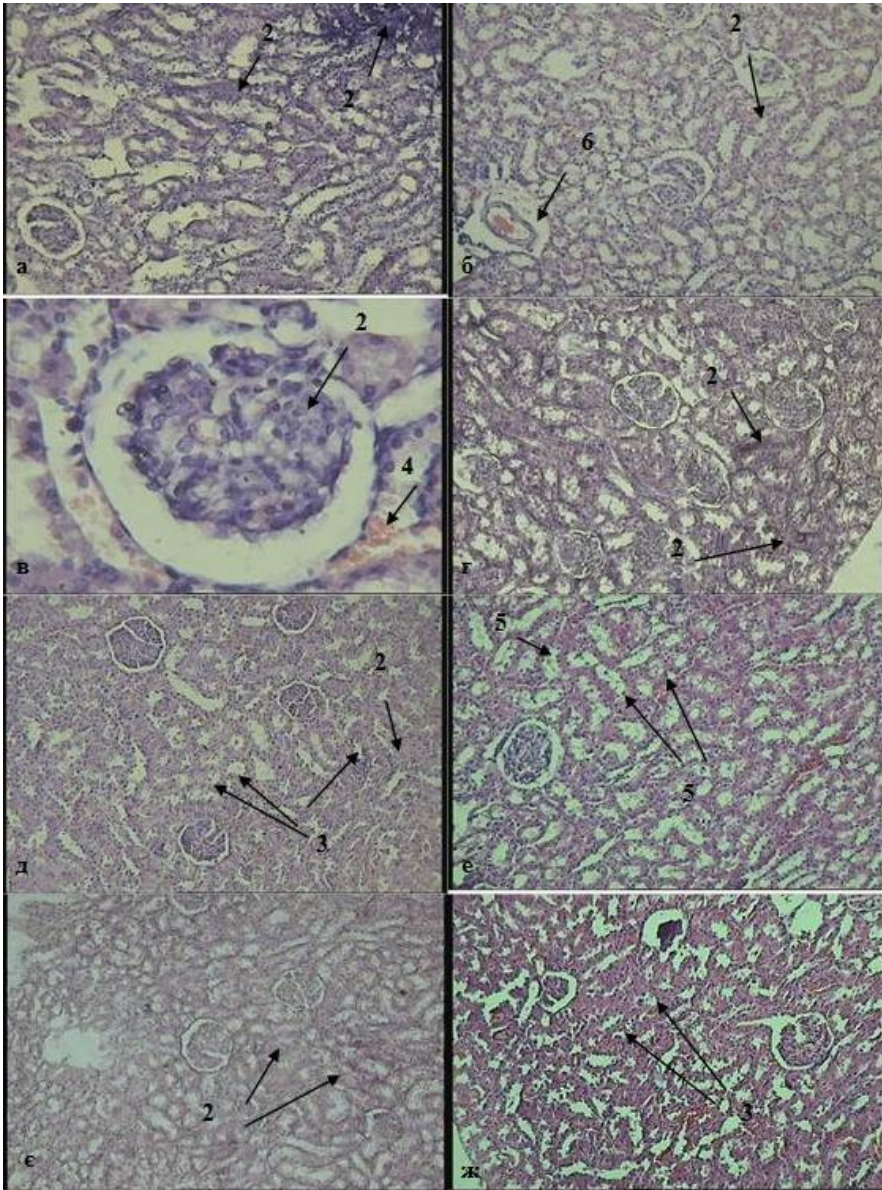


Рис. 3.20. Коркова речовина нирки щурів за одночасного впливу ГХН та гістаміну. Гематоксилін-еозин: а – ГХН, 5 мг/л + гістамін, 1 мкг/кг, 7-ма доба, ок. 10, об. 10; б – ГХН, 5 мг/л + гістамін, 1 мкг/кг, 21-ша доба, ок. 10, об. 10; в – ГХН, 5 мг/л + гістамін, 1 мкг/кг, 21-ша доба, ок. 10, об. 40; г – ГХН, 5 мг/л + гістамін, 8 мкг/кг, 7-ма доба, ок. 10, об. 10; д – ГХН, 5 мг/л + гістамін, 8 мкг/кг, 14-та доба, ок. 10, об. 10; е – ГХН, 5 мг/л + гістамін, 8 мкг/кг, 21 доба, ок. 10, об. 10; ж – ГХН, 20 мг/л + гістамін, 1 мкг/кг, 1-ша доба, ок. 10, об. 10; ж – ГХН, 20 мг/л + гістамін, 8 мкг/кг, 7-ма доба, ок. 10, об. 10; 2 – цитоплазма; 3 – каналець; 4 – еритроцит; 5 – вакуолізація; 6 – периваскулярний набряк

і гістаміну зумовлює зменшення площі ниркових тілець, зростання площі судинних клубочків, порушення мембран клітин, зростання проникності судин для еритроцитів, гідропічну дистрофію, ушкодження дистальних і проксимальних каналців. Ймовірно, зменшення площі ниркових тілець відбувається за рахунок ушкодження клітин проксимальних і дистальних каналців, збільшення розмірів яких веде до стиснення капсули Шумлянського-Боумена. За дії гістамінази утворюється пероксид водню, аміак, який призводить до токсичного ураження нирки. За одночасного введення в організм щурів гістаміну і ГХН ймовірно утворення також і галогенопохідних, які можуть уражати клітини нирок. Ці зміни є менш виражені за одночасної дії ГХН і гістаміну в дозі 1 мкг/кг.

Таким чином, гістамін у дозі 1 мкг/кг зумовлює зменшення площі ниркових тілець, судинних клубочків на 7-му добу, тоді як біогенний амін у вищій дозі веде до порушень показників як на 1-шу, так і на 7-му доби досліду. Гістамін зменшує просвіт проксимальних і дистальних звивистих каналців у корковому відділі нирки. ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює збільшення площі, а також більшої та меншої осі судинних клубочків на 7-му добу досліду, тоді як ця речовина у вищій концентрації призводить до значних порушень клітин уже на 1-шу добу досліду. ГХН спричиняє розвиток гідропічної дистрофії, порушення структури мембран, підвищення проникності судин і капілярів. За поєданого впливу ГХН і гістаміну відбувається зменшення площі ниркових тілець, зростання площі судинних клубочків, ушкоджуються мембрани клітин, дистальні та проксимальні каналці, зростає проникність судин, розвивається гідропічна дистрофія. Ці зміни є менш виражені за одночасної дії ГХН і гістаміну в дозі 1 мкг/кг.

Нами встановлено, що гістамін у дозах 1 та 8 мкг/кг у **селезінці** щурів зумовлює зниження вмісту первинних продуктів ліпопероксидації – ГП ліпідів – упродовж 14-ти діб їхнього підшкірного введення. Максимальне зниження вмісту цих продуктів виявлено на 14-ту добу досліду. Так, гістамін у дозі 1 мкг/кг знижує вміст ГП ліпідів на 55 %, тоді як гістамін у дозі 8 мкг/кг – на 68 %, порівняно з контролем (табл. А.8). Поряд зі зниженням вмісту ГП ліпідів, гістамін у дозі 1 мкг/кг веде до спадання кількості ТБК-позитивних продуктів (вторинних продуктів ПОЛ) у селезінці упродовж усього терміну підшкірного його введення щурам (див. табл. А.8), що свідчить про сповільнення процесів ліпопероксидації. Це підтверджує робота АОС. За впливу гістаміну в дозі 1 мкг/кг СОД, КАТ і ГПО активності впродовж 14-ти діб залишаються на рівні контролю або навіть спадають (див. табл. А.8), крім СОД активності на 14-ту добу (робота ензиму зростає у 5 разів). Зростання СОД активності, на фоні зниження КАТ і ГПО, свідчить про розбалансування узгодженої роботи АОС у цей час, оскільки відомо, що СОД знищує супероксид-аніон

радикал з утворенням пероксиду водню, який, у свою чергу, знешкоджується або каталазою, або глутатіонпероксидазою.

Спадання інтенсивності процесів ПОЛ у селезінці щурів за дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг варто розглядати як негативне явище, оскільки відомо, що в таких умовах відбувається накопичення ненасичених жирних кислот (понад норму) в мембранах клітин, а це зумовлює підвищення їхньої щільності. Нормальне ПОЛ потрібне для формування структури клітини та мембран. Відомо, що пероксиди ліпідів краще розчиняються в рідині, ніж поліненасичені жирні кислоти. Тому вони легше вимиваються з мембран, що сприяє самооновленню мембранних структур. Це створює необхідні умови для функціонування ензиматичних структур у мембрані. Пероксид водню необхідний для синтезу ейкозаноїдів (простагландинів, простациклінів, тромбоксанів, лейкотрієнів), прогестерону. Він бере участь у гідроксилуванні холестерину [287, 299]. Інтенсивність процесів ліпопероксидації у селезінці спадає, ймовірно, внаслідок зниження постачання кисню до органів (зокрема, селезінки), оскільки відомо, що гістамін порушує реологічні властивості крові. Кров стає густою внаслідок підвищення проникності стінок судин.

Нами встановлено, що гістамін у вищій досліджуваній дозі (8 мкг/кг) зумовлює початкове зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів (1-ша доба) з подальшим незначним його підвищенням на 7-му добу, на 20 % порівняно з контролем (див. табл. А.8). У подальші доби (14-та; 21-ша – реабілітаційний період) досліді вміст вторинних продуктів ліпопероксидації повертається до меж контролю. Зростання ТБК-позитивних продуктів на тлі зниження вмісту ГП ліпідів у селезінці щурів на 7-му добу досліді можна пояснити тим фактом, що пероксиди жирних кислот нестабільні. У результаті розриву вуглець-вуглецевого зв'язку вони розпадаються з утворенням високотоксичних альдегідів 4-гідрокси-2-алкеналів, 4,5-епокси-2-алкеналів, які пошкоджують біомолекули клітини. Альдегіди є стабільними сполуками, здатними дифундувати на великі відстані [287]. На цю добу дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг відбувається значне зростання супероксиддисмутазної (на 108 %) і каталазної (на 19 %) активності, що свідчить про утворення супероксид-аніон радикала, який знешкоджує супероксиддисмутазу, та пероксиду водню, який знешкоджує каталазу (див. табл. А.8). Отже, гістамін у вищій досліджуваній дозі зумовлює зростання вільнорадикальних реакцій у селезінці щурів на 7-му добу досліді.

Сповільнення інтенсивності процесів ПОЛ, спадання активності ензимів АОС зберігається і після реабілітаційного періоду в селезінці щурів за дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг (див. табл. А.8). Варто зазначити, що тенденція до зниження вільнорадикальних процесів у селезінці на 21-шу добу (реабілітація) є і за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг. Так, вміст ГП ліпідів знижується на 95 %, КАТ активність спадає на 65 %, ГПО активність – на

89 % (див. табл. А.8). Це свідчить про те, що гістамін зумовлює стійкі порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в селезінці щурів, які не нівелюються після припинення екзогенного введення цього біогенного аміну в організм. У науковій літературі є відомості, що в селезінці наявні H4-рецептори до гістаміну. Відомо, що важливою є роль H4-рецепторів у регулюванні імунної функції через дію на ліганди рецептора гістаміну в алергічному та запальному процесах. Активація гістаміном H4-рецепторів веде до збільшення протеїнкінази А [184].

Досліджуючи дію ГХН на інтактних тварин, ми встановили зниження вмісту ГП ліпідів і ТБК-позитивних продуктів під час випоювання цієї речовини, а також і після реабілітаційного періоду, причому нижча концентрація справляє більш виражений ефект на вільнорадикальні реакції у селезінці щурів (див. табл. А.8). За дії ГХН у концентрації 5 мг/л відбувається спадання СОД активності на 1-шу та 7-му доби, проте в подальшому робота ензиму повертається до меж контролю. На 7-му, 14-ту та 21-шу доби досліджується спадання КАТ активності на 15, 37 і 40 %, відповідно. ГПО активність різко зростає на 1-шу добу досліджується (в 11 разів) з подальшим зниженням (68 %) на 7-му добу дії ГХН у концентрації 5 мг/л (див. табл. А.8). Випоювання ГХН у концентрації 20 мг/л веде до спадання СОД активності на 1-шу добу досліджується з подальшим зростанням вище контрольних значень. КАТ активність до 7-ї доби включно зростає, робота ГПО підвищується на 7-му добу досліджується. Отже, можна зробити висновок, що ГХН у концентрації 5 мг/л знищує продукти ліпопероксидації, не зумовлюючи утворення вільних радикалів, про що свідчать результати активності ензимів АОС селезінки щурів. ГХН у концентрації 20 мг/л знищує продукти процесів ПОЛ поряд із утворенням активних форм кисню.

За поєданого впливу гістаміну та ГХН на організм щурів відбувається зниження вмісту ГП ліпідів у селезінці упродовж 14-ти діб. Зниження вмісту цих первинних продуктів ПОЛ зафіксоване і після реабілітаційного періоду на 21-шу добу досліджується (див. табл. А.8).

Гістамін у дозі 1 мкг/кг і одночасне випоювання ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлюють повернення ТБК-позитивних продуктів до норми на 1-шу та 14-ту доби досліджується. Необхідно зазначити, що на 7-му добу дії біогенного аміну та ГХН вміст ТБК-позитивних продуктів є нижчим від контрольних значень, проте вищим, порівняно з групою тварин, яким вводили лише гістамін у дозі 1 мкг/кг. Після реабілітаційного періоду вміст цих продуктів ліпопероксидації незначно зростає (на 24 %) порівняно з контролем. Важливо відзначити, що за поєданого впливу гістаміну (1 мкг/кг) та гіпохлориту натрію (5 мг/л) ГПО активність є або на рівні контролю (7-ма та 21-ша доби), або вище (1-ша та 14-та доби; див. табл. А.8). В організмі ГПО виконує важливу функцію. Вона знешкоджує як пероксид водню, так і гідропероксиди. Відомо, що

зниження активності внутрішньоклітинної ГПО на 21 % у культурі фібробластів людини є причиною смерті клітин у нормальних умовах. Для отримання такого ж результату необхідно інгібувати 55 % каталази, тоді як повне інгібування СОД не є летальним [239].

Одночасна дія ГХН у вищій концентрації (20 мг/л) та гістаміну в дозі 1 мкг/кг упродовж усього досліду спричиняє більш виражене спадання вмісту ТБК-позитивних продуктів, порівняно з групою щурів, яким підшкірно вводили гістамін (1 мкг/кг), а також із групою тварин, яким робили ін'єкції гістаміну в дозі 1 мкг/кг та випоювали ГХН у концентрації 5 мг/л (див. табл. В.8). Упродовж 14-ти діб одночасної дії гістаміну (1 мкг/кг) та ГХН (20 мг/л) СОД і ГПО активності залишаються в межах контрольних значень, що свідчить про наявність у нормі супероксид-аніон радикала та пероксиду водню (див. табл. А.8). Є відомості, що ГХН може знешкоджувати продукти ліпопероксидації у клітинах організмів [297]. Імовірно, ГХН у вищій досліджуваній концентрації на фоні впливу гістаміну (1 мкг/кг) руйнує первинні та вторинні продукти ліпопероксидації в селезінці щурів (див. табл. А.8).

Нами встановлено, що одночасна дія гістаміну в дозі 8 мкг/кг і ГХН у концентрації 5 мг/л забезпечує повернення вмісту ТБК-позитивних продуктів до контрольних позначок на 1-шу добу дії. Проте вже на 7-му та 14-ту доби за поєданого впливу гістаміну (8 мкг/кг) і ГХН (5 мг/л) відбувається спадання вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації як нижче контролю, так і нижче групи щурів, які отримували ін'єкції гістаміну (8 мкг/кг). За одночасної дії гістаміну (8 мкг/кг) та ГХН у концентрації 20 мг/л вміст ТБК-позитивних продуктів зберігається на такому ж рівні, як і за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг на 7-му, 14-ту і 21-шу доби досліду. На 7-му добу експерименту за поєданого впливу гістаміну (8 мкг/кг) та ГХН у концентрації 20 мг/л ми встановили таку ж динаміку змін досліджуваних показників, як і за впливу тільки гістаміну у дозі 8 мкг/кг (див. табл. А.8).

Отже, за вмісту в організмі низьких доз гістаміну (1 мкг/кг) гіпохлорит натрію в низькій концентрації (5 мг/л) справляє корегуючий вплив на прооксидантно-антиоксидантний стан селезінки. Тенденцію до повернення показників до норми спостерігають за наявністю вищих доз гістаміну (8 мкг/кг) та ГХН у концентрації 5 мг/л. ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг не чинить позитивного впливу на вільнорадикальні процеси в селезінці щурів. Ймовірно, ГХН у низьких концентраціях вступає в реакцію з гістаміном і знижує його негативний вплив на селезінку, оскільки відомо, що аміни піддаються легкому окисненню, ГХН виступає окисником і швидко знешкоджує гістамін [53].

Проведений двофакторний дисперсійний аналіз дав змогу встановити ступінь впливу гістаміну, ГХН і поєднаної їхньої дії на досліджувані показники в селезінці щурів. Нами виявлено, що на вміст ГП

ліпідів і ТБК-позитивних продуктів потужний вплив чинить одночасне введення в організм щурів гістаміну та ГХН. Так, на 1-шу добу частка їхнього впливу на ГП ліпідів становить 21 %, на 7-му – 42 %, на 14-ту – 46 %, на 21-шу (реабілітація) – 70 %; на ТБК-позитивні продукти становить на 1-шу добу 70 %, на 7-му – 37 %, на 14-ту – 70 %, на 21-шу (реабілітація) – 77 %, що свідчить про прямий вплив гістаміну і ГХН за поєднаної дії. Ймовірно, під час взаємодії цих двох речовин утворюються метаболіти, які проявляють такий ефект. Важливо, що на інтенсивність процесів ліпопероксидації у селезінці достовірний вплив чинять і гістамін, і ГХН окремо, проте переважає їхня спільна дія (рис. 3.21).

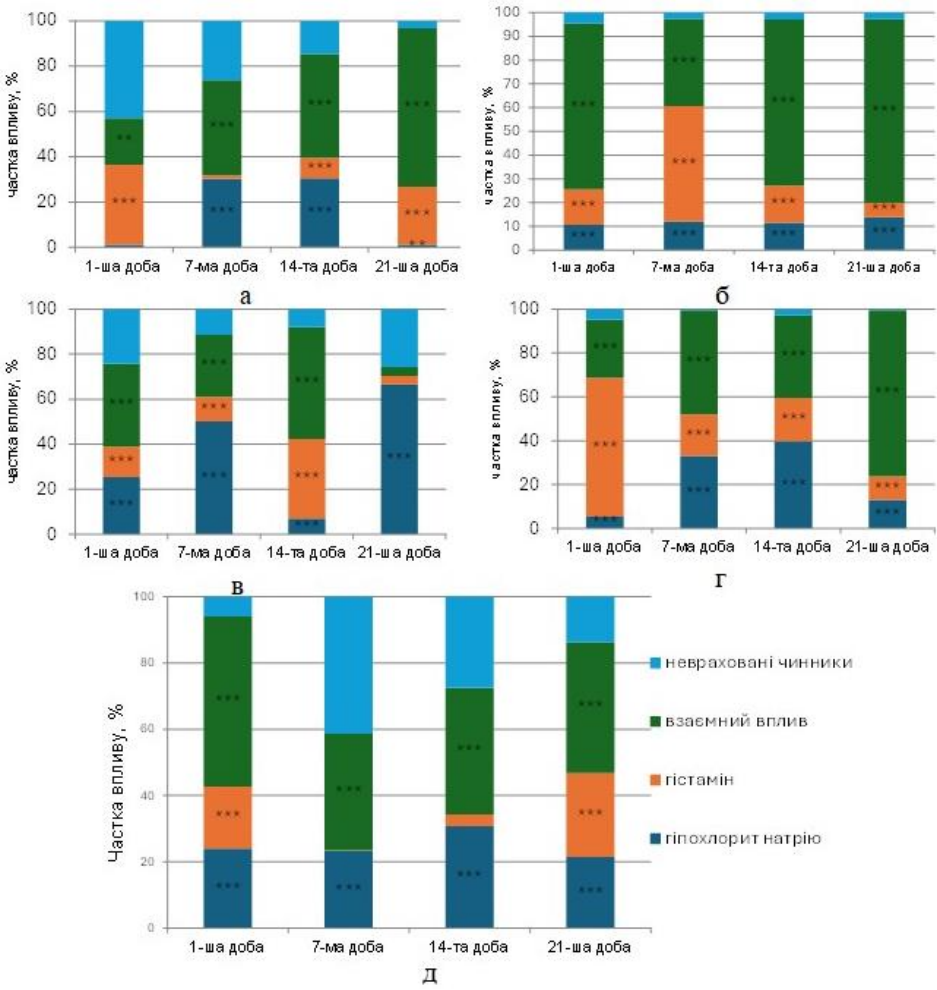


Рис. 3.21. Результати двофакторного дисперсійного аналізу показників прооксидантно-антиоксидантного стану (а – гідропероксидази; б – ТБК-позитивні продукти; в – супероксиддисмутаза; г – каталаза; д – глутатіонпероксидаза) в селезінці щурів за впливу гістаміну і гіпохлориту натрію; ** – $p \geq 0,99$, *** – $p \geq 0,999$

На активність СОД приблизно однаковий вплив здійснюють як ГХН, так і одночасне введення гістаміну і ГХН (1-ша доба – 25 і 37 %; 7-ма – 50 і 28 %; 14-та – 7 і 50 %; 21-ша – 67 і 4 %, відповідно). Приблизно однаковий вплив на КАТ чинять і гістамін, і ГХН, і одночасна дія гістаміну з ГХН (див. рис. 3.21), тоді як на роботу ГПО справляє більший ефект ГХН і одночасний вплив обох досліджуваних речовин.

Частки впливу гістаміну на показники вільнорадикальних реакцій у селезінці щурів є низькими, проте високодостовірними, що свідчить про опосередкований вплив на структуру мембран клітин і на роботу ензимів антиоксидантної системи.

ГХН виступає прямим окисником в організмі, оскільки він модулює роботу цитохрому Р-450. Тому ступінь впливу на первинні та вторинні продукти ліпопероксидації, а також і на активність досліджуваних ензимів, є високим.

Отже, гістамін у дозі 1 мкг/кг веде до спадання вмісту ГП ліпідів і ТБК-позитивних продуктів у селезінці впродовж усього терміну підшкірного його введення щурам. Гістамін у вищій досліджуваній дозі (8 мкг/кг) зумовлює зниження вмісту ГП ліпідів, а також початкове зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів (1-ша доба) з подальшим незначним його підвищенням на 7-му добу, порівняно з контролем. На цю добу дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг відбувається значне зростання СОД і КАТ активності. Тенденція до зниження вільнорадикальних процесів залишається і після реабілітаційного періоду в селезінці щурів за дії гістаміну в дозах 1 і 8 мкг/кг.

За дії ГХН на інтактних тварин встановлено зниження вмісту ГП ліпідів і ТБК-позитивних продуктів, а також і після реабілітаційного періоду, причому нижча концентрація справляє більш виражений ефект дії на вільнорадикальні реакції у селезінці щурів.

За вмісту в організмі низьких доз гістаміну (1 мкг/кг), ГХН у низькій концентрації (5 мг/л) справляє корегуючий вплив на прооксидантно-антиоксидантний стан селезінки. Тенденція до повернення показників до норми спостерігається за наявності вищих доз гістаміну (8 мкг/кг) та ГХН у концентрації 5 мг/л. ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну в дозах 1 і 8 мкг/кг не чинить позитивного впливу на вільнорадикальні процеси в селезінці щурів.

За допомогою двофакторного дисперсійного аналізу встановили, що на показники вільнорадикальних реакцій у селезінці щурів значний вплив чинить одночасне введення в організм гістаміну і ГХН. На безпосередню дію гістаміну і ГХН припадає менша частка впливу.

Застосовуючи метод світлової мікроскопії, встановили, що впродовж дослідів за дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг у червоній пульпі виявляється значна кількість макрофагів (рис. 3.22, в, є). На 7-му добу за впливу гістаміну в дозі 1 мкг/кг клітини селезінки в окремих ділянках

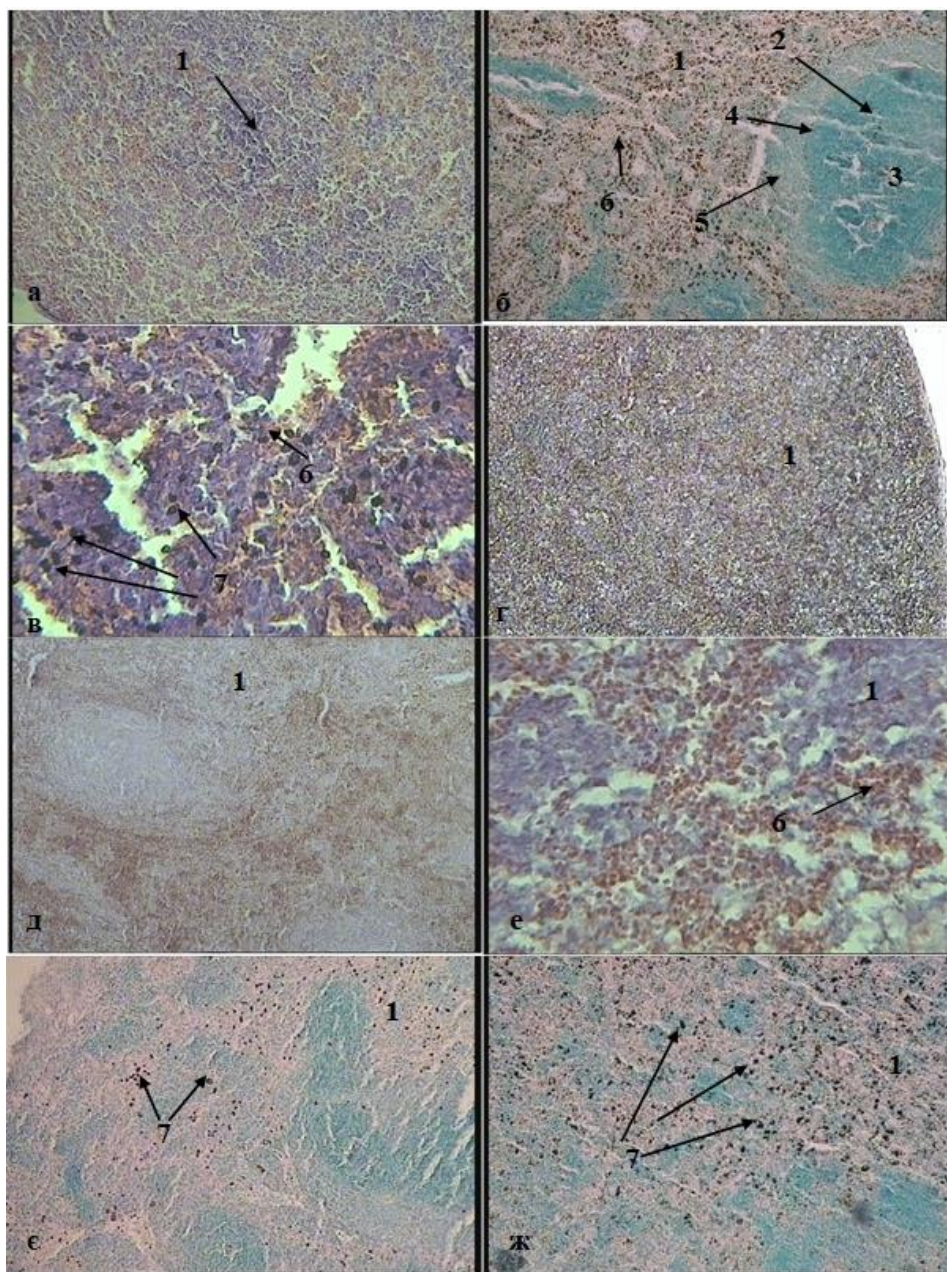


Рис. 3.22. Селезінка щурів. Гематоксилін-еозин (а, в-е); Браше (б, с, ж): а – контроль, 1-ша доба, ок. 10, об. 10; б – гістамін, 1 мкг/кг, 1-ша доба, ок. 10, об. 40; г – гістамін, 1 мкг/кг, 7-ма доба, ок. 10, об. 10; д – гістамін, 8 мкг/кг, 1-ша доба, ок. 10, об. 10; е – гістамін, 8 мкг/кг, 7-ма доба, ок. 10, об. 40; є – гістамін, 1 мкг/кг, 14-та доба, ок. 10, об. 10; ж – гістамін, 8 мкг/кг, 1-ша доба, ок. 10, об. 10; 1 – червона пульпа; 2 – біла пульпа; 3 – реактивний центр; 4 – мантійна зона; 5 – маргінальна зона; 6 – еритроцити; 7 – макрофаги

погано сприймають барвник, що свідчить про зниження проникності клітинних мембран (див. рис. 3.22, г). У червоній пульпі за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг клітини недофарбовані, виявлено значну кількість макрофагів у червоній пульпі, проте, починаючи з 7-ї доби, ці зміни нівелюються, і у гістозрізах з'являється велика кількість еритроцитів, як і у контролі (див. рис. 3.22, а, б, д, е, ж). Збільшення числа макрофагів свідчить про підвищену руйнацію еритроцитів у селезінці. Аналізуючи гістопрепарати, зафарбовані за методом Браше, ми не знайшли порушень в інтенсивності забарвлення зразків за дії гістаміну та в контролі, що свідчить про проходження біосинтетичних процесів без видимих змін (див. рис. 3.22, б, є, ж). Отже, гістамін у дозі 1 мкг/кг справляє більш виражений негативний ефект на селезінку щурів, порівняно з дозою 8 мкг/кг, що узгоджується з результатами щодо вмісту вторинних продуктів ПОЛ. Виявлені зміни у структурі селезінки можуть призвести до послаблення клітинного імунітету і функціонування імунної системи, пригнічення лімфопоетичної функції органа [294], адже відомо, що цей орган безпосередньо бере участь у формуванні реакції організму на патологічні впливи [256].

За впливу ГХН у концентрації 5 і 20 мг/л клітини червоної пульпи добре профарбовані, оптично прозорі, завдяки чому в ядрах виявляється по два і більше ядерець, що свідчить про їхню функціональну активність (рис. 3.23, а). У фолікулах білої пульпи зберігається структурованість, тобто є реактивний центр, мантійна і маргінальна зони (див. рис. 3.23, б). Під час вивчення процесів ПОЛ ГХН знижував вміст ГП ліпідів і ТБК-позитивних продуктів.

Нами встановлено, що за одночасного підшкірного введення гістаміну в дозі 1 мкг/кг та вipoювання ГХН у концентрації 5 мг/л на 14-ту добу досліду розвивається вакуолізація клітин селезінки, збільшується кількість макрофагів (див. рис. 3.23, в, г). Ці зміни відбуваються на фоні зниження вмісту продуктів ліпопероксидації. Проте після реабілітаційного періоду ці зміни зникають. Клітини інтенсивно сприймають барвник, що свідчить про надмірне проникнення фарби. Поєднаний вплив гістаміну в дозі 8 мкг/кг і ГХН (5 мг/л) не зумовлює видимих структурних змін білої та червоної пульпи, проте також зростає кількість макрофагів (див. рис. 3.23, д, е). Варто зазначити, що функціональна активність за одночасної дії гістаміну (1 і 8 мкг/кг) та ГХН у концентрації 5 мг/л не змінюється, порівняно з контролем (див. рис. 3.23, г, е).

Зростання вмісту макрофагів у селезінці щурів, встановлене за дії гістаміну і поєднаного впливу гістаміну з ГХН, може відбуватися внаслідок збільшення кількості дефектних еритроцитів. Зменшення пластичності еритроцитів, їхньої здатності до деформації, набряк призводять до того, що вони не можуть вільно проходити крізь

міжєндотеліальні щілини венозних синусів селезінки («селезінковий фільтр») і надовго затримуються в червоній пульпі, контактуючи з макрофагами. Остання обставина і викликає поглинання дефектних еритроцитів макрофагами. Поява на поверхні еритроцитів хімічних груп, здатних специфічно взаємодіяти з рецепторами макрофагів, також зумовлює активацію останніх. Такі групи виявляють, наприклад, під час

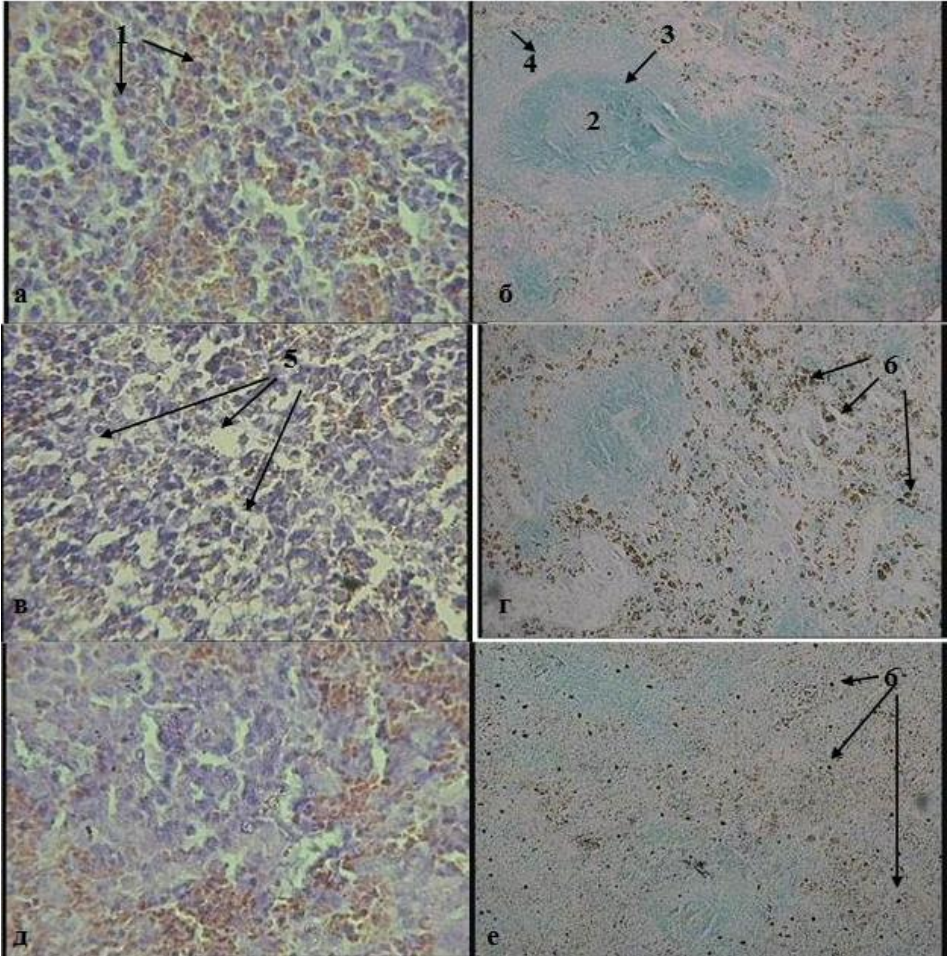


Рис. 3.23. Селезінка щурів. Гематоксилін-єозин (а, в, д); Браше (б, г, е): а – ГХН, 5 мг/л, 1-ша доба, ок. 10, об. 40; б – ГХН, 20 мг/л, 14-та доба, ок. 10, об. 10; в – гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 14-та доба, ок. 10, об. 40; г – гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 1-ша доба, ок. 10, об. 10; д – гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 14-та доба, ок. 10, об. 40; е – гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 21-ша доба, ок. 10, об. 10; 1 – ядра з двома і більше ядерцями; 2 – реактивний центр; 3 – мантійна зона; 4 – маргінальна зона; 5 – вакуолізація цитоплазми; 6 – макрофаги

старіння еритроцитів (оголюються структури сіалових кислот еритроцитарної мембрани), а також під час фіксації на їхній поверхні антитіл (з'являються F_c-фрагменти імуноглобулінів), і внаслідок чого активується антитілозалежний фагоцитоз еритроцитів [171]. Тому підвищення пулу макрофагів слід трактувати як стан організму, за якого (внаслідок дії гістаміну й одночасного його впливу з ГХН) відбувається ушкодження еритроцитів. Відомо, що у селезінці наявні різні пігменти. Гемосидерин і феритин – найбільш поширені пігменти в макрофагах червоної пульпи [162]. Тому зі зростанням кількості макрофагів відповідно підвищується вміст цих пігментів у селезінці.

За дії гістаміну в дозах 1 і 8 мкг/кг та ГХН вищої досліджуваної концентрації (20 мг/л) упродовж 14-ти діб клітини селезінки сильно перефарбовуються, стають оптично непрозорими (рис. 3.24, а).

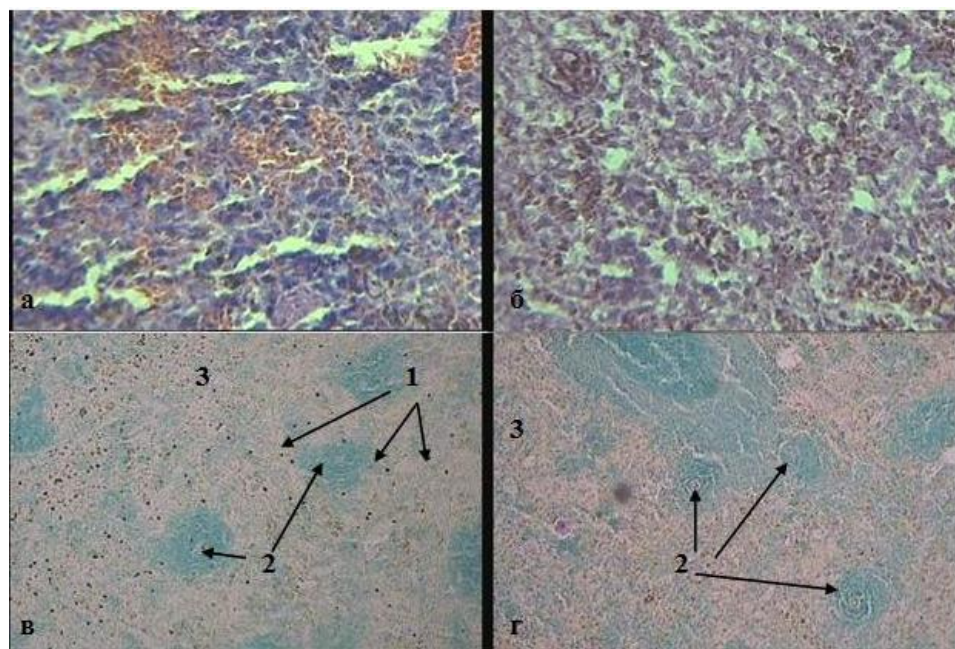


Рис. 3.24. Селезінка щурів. Гематоксилін-еозин (а, б); Браше (в, г): а – гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 7-ма доба, ок. 10, об. 40; б – гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 21-ша доба, ок. 10, об. 40; в – гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 1-ша доба, ок. 10, об. 10; г – гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 21-ша доба, ок. 10, об. 10; 1 – макрофаги; 2 – фолікули; 3 – червона пульпа

Ці зміни незначно нівелюються після реабілітаційного періоду (див. рис. 3.24, б). Встановлено, що комбінація гістаміну в дозі 8 мкг/кг та

ГХН у концентрації 20 мг/л призводить як на 1-шу, 7-му, так і на 14-ту доби досліду до значного підвищення вмісту макрофагів у червоній пульпі селезінки (див. рис. 3.24, в).

Поєднаний вплив гістаміну в нижчій дозі (1 мкг/кг) і ГХН зазначеної концентрації зумовлює незначне зростання кількості макрофагів лише на 14-ту добу. Важливо відзначити, що після реабілітаційного періоду вміст макрофагів повертається до норми (див. рис. 3.24, г).

Отже, гістамін зумовлює підвищення вмісту макрофагів у червоній пульпі, тоді як ГХН спричиняє позитивні зміни: зростає кількість клітин, ядра яких містять два і більше ядерця, а це підвищує функціональну активність селезінки. Поєднане введення в організм щурів гістаміну в дозі 1 мкг/кг та ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює дистрофічні зміни. За ін'єкцій біогенного аміну та вживання дезінтоксиканта в обох досліджуваних концентраціях зростає вміст клітин-макрофагів.

Щоб виявити подібну дію гістаміну та ГХН на прооксидантно-антиоксидантний стан у різних органах, ми провели кластерний аналіз. Нами виявлено, що на 1-шу добу досліду в один кластер об'єднуються групи щурів, яким вводили гістамін у дозах 1 і 8 мкг/кг, а також тим, яким вводили одночасно гістамін у дозі 1 мкг/кг і ГХН у концентрації 20 мг/л; гістамін у дозі 8 мкг/кг і ГХН у концентрації 5 мг/л (28-й кластер; табл. Б.1), де у селезінці відбувається зниження вмісту ГП ліпідів і ТБК-позитивних продуктів, зростання СОД та спадання КАТ і ГПО активності (табл. Б.2). У кластер також об'єднуються групи тварин, яким робили ін'єкції гістаміну в дозах 1 і 8 мкг/кг, де виявлено однаковий вплив біогенного аміну в легені (3-й кластер), зокрема, зниження продуктів ліпопероксидації та зростання СОД, КАТ і ГПО активності; плазмі (22-й кластер), а саме підвищення вмісту ГП ліпідів, зниження – ТБК-позитивних продуктів, зростання СОД і ГПО активності, а також спадання КАТ активності. Отже, гістамін у різних дозах спричиняє однаковий ефект на легеню і плазму крові тварин. Програма об'єднала показники ПОЛ–АОС нирок (9-й кластер) щурів за дії ГХН у концентрації 20 мг/л та одночасного впливу гістаміну в дозі 1 мкг/кг і ГХН у концентрації 20 мг/л, де відбувається підвищення вмісту первинних продуктів ПОЛ, значне зростання кількості ТБК-позитивних продуктів, підвищення СОД активності та зниження – КАТ і ГПО. На прооксидантно-антиоксидантний стан у печінці (15-й кластер) щурів однаковий вплив чинять ГХН у концентрації 5 мг/л, а також поєднане введення ГХН у зазначеній концентрації та гістамін у дозах 1 і 8 мкг/кг. За цих умов виявлено зниження вмісту ГП ліпідів, підвищення кількості ТБК-позитивних продуктів, спадання СОД і ГПО активності, а також зростання КАТ активності. На 1-шу добу досліду поєднана дія гістаміну (1 і 8 мкг/кг) та ГХН (5 мг/л) спричиняє однаковий ефект на динаміку

досліджуваних показників у плазмі крові (23-й кластер). У цей час відбувається підвищення вмісту ГП ліпідів, ТБК-позитивних продуктів, СОД активності, а також спадання КАТ і ГПО активності. У серцевому м'язі дія ГХН у концентрації 20 мг/л та одночасний вплив гістаміну в дозі 8 мкг/кг і ГХН у концентрації 20 мг/л зумовлюють незначне зниження продуктів ПОЛ, проте сильно активують СОД і КАТ, спричиняють значне спадання ГПО активності (див. табл. Б.1, 2). Отже, з цих результатів кластерного аналізу можна зробити висновок, що на 1-шу добу досліду гістамін у дозах 1 і 8 мкг/кг однаково діє на показники ПОЛ–АОС у легені та плазмі крові щурів, а також що ГХН домінує над впливом гістаміну в нирці, печінці, серцевому м'язі, тоді як у селезінці щурів, навпаки, вплив гістаміну переважає над дією ГХН. Під висловом «домінування» чи «переважання» мається на увазі те, що за одночасного введення в організм щурів і гістаміну, і ГХН, відбуваються зміни, аналогічні тим, які було виявлено за введення тільки гістаміну чи тільки ГХН. Також можна стверджувати, що динаміка змін показників в органах є відмінною за дії гістаміну, ГХН і поєднаного впливу, що пов'язано з особливостями їхнього метаболізму.

На 7-му добу досліду в один кластер об'єднуються показники прооксидантно-антиоксидантного стану печінки (20-й кластер) за одночасної дії гістаміну (1 і 8 мкг/кг) та ГХН у концентрації 5 мг/л, де відбувається зниження вмісту ГП ліпідів, СОД, ГПО активності та зростання КАТ активності; селезінки (33-й кластер) за дії тих самих чинників, де виявлено зниження вмісту продуктів ліпопероксидації, СОД, КАТ активності й незначне зростання ГПО активності. В одну групу подібності об'єднуються показники серцевого м'яза (37-й кластер) за впливу ГХН у концентрації 5 мг/л та одночасної дії дезінтоксиканта в цій же концентрації та гістаміну в дозі 1 мкг/кг. За цих умов відбувається підвищення вмісту ГП ліпідів, ТБК-позитивних продуктів, значна активація ензиму СОД, зростання КАТ і спадання ГПО активності. Особливий вплив чинить на серцевий м'яз (42-й кластер) одночасна дія гістаміну в дозі 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 5 і 20 мг/л (оскільки ці досліджувані групи об'єдналися в один кластер). За такого впливу виявлено зниження вмісту продуктів ПОЛ, значне зростання СОД активності, менш інтенсивне зростання КАТ і спадання ГПО активності (табл. Б.3, 4). Отже, на 7-му добу досліду гістамін, ГХН і поєднане їхнє введення в організм щурів виявляє різноспрямовану дію на показники вільнорадикальних процесів у різних органах щурів, за винятком серцевого м'яза, де домінуючий вплив має ГХН у концентрації 5 мг/л на фоні дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг.

Довготривале введення тваринам гістаміну і ГХН порушує прооксидантно-антиоксидантну рівновагу, порівняно з 7-ю добою досліду. В цей час об'єднуються в кластери показники у селезінці та серцевому

м'язі. Так, у селезінці (33-й кластер) однаковий вплив чинить ГХН у концентрації 5 мг/л і поєднане введення гістаміну в дозі 1 мкг/кг та ГХН у концентрації 20 мг/л. Цей вплив полягає у зниженні показників ГП ліпідів, ТБК-позитивних продуктів, СОД, КАТ і підвищенні ГПО. У серцевому м'язі (42-й кластер) однакову дію мають гістамін у дозі 1 мкг/кг і одночасне введення гістаміну цієї ж дози та ГХН у концентрації 5 мг/л, що виявляється у зниженні вмісту продуктів ПОЛ, ГПО активності та зростанні СОД і КАТ активності. Отже, на 14-ту добу гістамін і ГХН значно порушує прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз, а також тільки в серцевому м'язі домінуючий вплив має гістамін за дози 1 мкг/кг над ГХН за концентрації 5 мг/л (табл. Б.5, 6).

Після реабілітаційного періоду на 21-шу добу об'єднуються показники у нирках щурів за дії гістаміну в дозах 1 і 8 мкг/кг (2-й кластер); за впливу ГХН у концентрації 5 мг/л, а також за одночасної дії дезінтоксиканта цієї ж концентрації та гістаміну в дозах 1 і 8 мкг/кг (9-й кластер); за поєданого впливу гістаміну в дозах 1 і 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 20 мг/л (11-й кластер). В одну групу подібності у печінці об'єднуються показники ПОЛ–АОС за дії ГХН у концентрації 5 мг/л та поєданого впливу цього чинника і гістаміну обох досліджуваних доз (12-й кластер). Подібний вплив чинить після реабілітаційного періоду гістамін у дозах 1 і 8 мкг/кг (20-й кластер), а також поєднане введення гістаміну в обох досліджуваних дозах та ГХН у концентрації 5 мг/л (21-й кластер) у плазмі щурів. Алгоритм кластеризації об'єднує в одну групу подібності показники у селезінці (27-й кластер) щурів за одночасної дії гістаміну в обох досліджуваних дозах і ГХН у концентрації 20 мг/л, а також за поєданого впливу гістаміну в дозі 8 мкг/кг і ГХН у концентрації 20 мг/л. У серцевому м'язі поєднуються вплив гіпохлориту натрію (5 мг/л) і одночасна дія цього чинника та гістаміну (1 і 8 мкг/кг; 29-й кластер); об'єднується в один кластер вплив гістаміну у дозах 1 і 8 мкг/кг (21-й кластер); до одного кластеру належать одночасна дія гістаміну в обох дозах та ГХН у концентрації 20 мг/л (31-й кластер). Отже, після припинення введення в організм щурів досліджуваних речовин на 21-шу добу досліду динаміка змін показників вільнорадикальних процесів є більш прогнозованою та залежить від домінування того чи іншого фактора на органи. Провідний вплив на показники ПОЛ–АОС після реабілітації має ГХН. Це свідчить, що дезінтоксикант, оскільки він є потужним окисником, змінює перебіг вільнорадикальних процесів, які після припинення його введення в організм не повертаються до звичного стану.

Щоб виявити домінування прооксидантної чи антиоксидантної ланки вільнорадикальних процесів за дії гістаміну і ГХН, провели факторний аналіз. Критерій адекватності вибірки Кайзера-Майєра-Олкіна на 1-шу добу досліду становить 0,55, що свідчить про придатність цього аналізу для досліджуваних показників. На 7-му, 14-ту і 21-шу доби досліду

критерій адекватності вибірки Кайзера-Майера-Олкіна виявився нижчим, ніж 0,45, що свідчить про неможливість застосувати факторний аналіз у цей час. Тому ми провели факторний аналіз показників прооксидантно-антиоксидантного стану тільки на 1-шу добу досліду.

Алгоритм факторного аналізу до першого фактора відніс показники СОД, КАТ і ГПО; до другого фактора – ГП ліпідів, ТБК-позитивні продукти, ГПО (як чинника, що знешкоджує гідропероксиди ліпідів). Отже, перший фактор відображає антиоксидантний стан, другий – прооксидантний. Нами встановлено, що факторне число, яке відповідає за антиоксидантну ланку (фактор I) є високим (більше 1 і зі знаком «+») у легені щурів за дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг, у серцевому м'язі за впливу ГХН у концентрації 5 і 20 мг/л, а також у цьому органі за одночасної дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг і ГХН у обох досліджуваних концентраціях і гістаміну (1 мкг/кг) та ГХН (5 мг/л). Фактор II домінує у легені за дії ГХН у концентрації 20 мг/л, за одночасного впливу гістаміну в дозі 1 мкг/кг і ГХН у концентрації 20 мг/л, за поєднаної дії гістаміну (8 мкг/кг) і ГХН (5 мг/л); у нирці за впливу ГХН у концентрації 20 мг/л, за поєднаного впливу біогенного аміну в дозі 1 мкг/кг та ГХН у концентрації 20 мг/л; у печінці за поєднаної дії гістаміну (1 мкг/кг) та ГХН у концентрації 20 мг/л; у плазмі за дії ГХН (20 мг/л). Тобто за цих впливів переважає прооксидантна ланка. Потужний одночасний вплив фактора I і фактора II відбувається у легені за одночасної дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг і ГХН у концентрації 20 мг/л (табл. Б.9).

Отже, факторний аналіз засвідчив, що у серцевому м'язі домінує антиоксидантна ланка над прооксидантною за впливу гістаміну і ГХН, тоді як у легені – прооксидантна. У легені, плазмі крові, печінці та нирці ГХН у концентрації 20 мг/л активує прооксидантну ланку системи ПОЛ–АОС [49, 50, 51, 185–188, 190, 229, 217–223].

Гістамін у дозі 1 мкг/кг у плазмі, серцевому м'язі та селезінці призводить до пригнічення ПОЛ. Біогенний амін у дозі 8 мкг/кг знижує вміст ГП ліпідів, підвищує кількість ТБК-позитивних продуктів у плазмі крові. У печінці виявлено подібний ефект: гістамін у дозі 1 мкг/кг сповільнює процеси ліпопероксидації, у дозі 8 мкг/кг незначно активує накопичення ГП ліпідів. Гістамін у легені та нирці підвищує вміст первинних і вторинних продуктів ПОЛ, тоді як в еритроцитах щурів підвищує вміст ГП ліпідів, знижує вміст СК, змінює інтенсивність ОМП. Є відомості, що механізм збільшення скорочувальної активності гладеньких м'язів бронхіальної стінки опосередковується активацією трансмембранного аденозинового рецептора у тканинних базофілах, що призводить до їхньої часткової дегрануляції з вивільненням гістаміну, який діє на H1 рецептори і запускає рефлекторні шляхи через інтрамуральні гангліонні нейрони [75]. Підшкірне введення щурам

гістаміну в дозах 1 і 8 мкг/кг у плазмі крові й нирці, селезінці та легені зумовлює зростання СОД активності, тоді як у печінці воно викликає пригнічення. В еритроцитах щурів біогенний амін призводить до переважаючого зниження активності ензимів АОС та вмісту ВГ упродовж досліду. Досліджуваний чинник у печінці, селезінці та легені щурів активує КАТ і ГПО, проте у нирці знижує їхню активність. Гістамін у дозі 1 мкг/кг більш виражено негативно діє на прооксидантно-антиоксидантний стан легені та нирки щурів, порівняно з біогенним аміном у дозі 8 мкг/кг.

Випоювання ГХН у концентраціях 5 і 20 мг/л у плазмі, легені, серці спричиняє інтенсифікацію процесів ПОЛ, тоді як в еритроцитах швидкість ОМП, накопичення СК, ГП ліпідів переважно сповільнює. Сповільнення накопичення ГП ліпідів і ТБК-позитивних продуктів за дії ГХН відбувається також у селезінці. Випоювання тваринам ГХН у концентрації 5 мг/л у печінці спричиняє зниження вмісту продуктів ПОЛ; ГХН у концентрації 20 мг/л веде до зниження вмісту первинних і накопичення вторинних продуктів ПОЛ. ГХН у нирці зумовлює зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів ліпопероксидації упродовж досліду. ГХН у плазмі крові, легені, серці, печінці, нирці знижує ГПО активність. ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює активацію роботи СОД у плазмі щурів. В еритроцитах дезінтоксикант знижує ГПО активність і зумовлює зростання КАТ активності, проте вміст ВГ знижується упродовж досліду. Випоювання інтактним тваринам ГХН у легені, серці зумовлює зростання СОД і КАТ активності. Такий самий ефект спричиняє ГХН у концентрації 20 мг/л у печінці щурів, тоді як ГХН у концентрації 5 мг/л веде до зниження СОД активності, а також до зростання КАТ активності. ГХН у нирці спричиняє підвищення СОД активності. Випоювання інтактним тваринам ГХН вищої концентрації у легені та серці справляє більш виражений негативний вплив на прооксидантно-антиоксидантний стан. У селезінці за дії ГХН нижчої концентрації виявлено більш виражений вплив на вільнорадикальні реакції. Найменш чутливою до впливу ГХН в еритроцитах щурів є ГТ.

У плазмі й легені одночасна дія гістаміну та ГХН зумовлює зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів, активує роботу СОД і пригнічує роботу ГПО. У серці ГХН на фоні впливу гістаміну переважно уповільнює процеси ПОЛ. Посьдане введення в організм цих сполук активує СОД і КАТ та пригнічує ГПО. За такого впливу в еритроцитах значно зростає вміст первинних продуктів ліпопероксидації на 1-шу добу досліду, проте вже до 14-ї їхній вміст знижується; інтенсивність ОМП і накопичення СК переважно уповільнюється. ГХН у концентрації 5 мг/л на фоні дії гістаміну порушує роботу ензимів АОС із переважаючим пригніченням ензимів глутатіонової ланки. ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну зумовлює більш виражений негативний вплив на

систему АОЗ, про що свідчить зростання КАТ активності та зниження ГПО і ГТ активності в еритроцитах. Одночасна дія ГХН і гістаміну порушує ПОЛ–АОС баланс у печінці. ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні впливу гістаміну зумовлює інтенсифікацію процесів ПОЛ у гепатоцитах. Поєднаний вплив речовин на нирку тварин зумовлює підвищення ТБК-позитивних продуктів, порівняно з контролем, а також і з групою щурів, яким тільки робили ін'єкції біогенного аміну, що свідчить про посилення негативної дії гістаміну гіпохлоритом натрію. За одночасного впливу гістаміну і ГХН активується СОД і пригнічується КАТ та ГПО. У селезінці щурів одночасне введення гістаміну (1 мкг/кг) і ГХН (5 мг/л) справляє корегуючий вплив на ПОЛ–АОС. Тенденція до повернення показників до норми спостерігається за наявності гістаміну (8 мкг/кг) та ГХН у концентрації 5 мг/л. ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну в дозах 1 і 8 мкг/кг не чинить позитивного впливу на вільнорадикальні процеси в селезінці щурів.

За допомогою двофакторного дисперсійного аналізу встановлено, що на показники вільнорадикальних реакцій суттєвий вплив виявляє впоювання ГХН, а на вміст СК – одночасне введення гістаміну та ГХН в еритроцитах. На 1-шу добу досліду на ГПО, КАТ активність і на вміст ВГ чинить домінуючий вплив гістамін, тоді як на ГТ активність переважає введення гістаміну і ГХН. Поєднане введення гістаміну і ГХН спричиняє провідну дію на ГПО активність, а на роботу КАТ і вміст ВГ – ГХН. У селезінці щурів значний вплив на вільнорадикальні процеси справляє одночасне введення в організм гістаміну і ГХН.

Гістамін у легені дозозалежно зумовлює зменшення просвіту альвеол, збільшення товщини міжальвеолярних перегородок, спазмування бронхіол і периваскулярний набряк навколо судин. Гістамін спочатку зменшує площу та периметр ядер кардіоміоцитів, гідропічну дистрофію в гепатоцитах. Проте до 14-ї доби морфометричні показники зростають, порівняно з контролем. Гістамін у вищій досліджуваній концентрації зумовлює розволокнення міофібрил, зміни сполучної тканини кардіоміоцитів. Біогенний амін зумовлює зменшення площі ниркових тілець, судинних клубочків, звужує просвіт проксимальних і дистальних звивистих каналців у корковому відділі нирки; у селезінці, зокрема, у червоній пульпі, він підвищує вміст макрофагів. У клітинах легені та гепатоцитах відбувається набрякання мітохондрій, вакуолізація ендоплазматичної сітки, збільшення кількості пероксисом і лізосом.

ГХН у легені, нирці, печінці та серці веде до дистрофічних змін, розростання сполучної тканини, збільшення розмірів ядер. Дезінтоксикант у концентрації 5 мг/л зумовлює активацію пластичних функцій гепатоцитів унаслідок зростання кількості багатоядерцевих ядер, тоді як ГХН у концентрації 20 мг/л веде до гальмування цих процесів. ГХН зумовлює збільшення площі, а також більшої та меншої осі судинних

клубочків нирки, порушення структури мембран, підвищення проникності судин і капілярів. ГХН у селезінці спричиняє збільшення кількості клітин, ядра яких містять два і більше ядерець, а отже, і підвищує функціональну активність.

Одночасна дія гістаміну і ГХН у легені, печінці, нирці, селезінці та міокарді веде до гідропічної дистрофії внаслідок ушкодження структур ендоплазматичної сітки та мітохондрій, спазмування бронхіол, підвищення утворення сурфактанту, розростання сполучної тканини. Відбувається зменшення просвіту між кардіоміоцитами, руйнація міофібрил. Поєднаний вплив ГХН і гістаміну зумовлюють перичелюлярний та периваскулярний набряк кардіоміоцитів. Знижується вміст клітин-гепатоцитів, ядра яких мали по два і більше ядерець. За поєданого впливу ГХН і гістаміну відбувається зменшення площі ниркових тілець, збільшення площі судинних клубочків, ушкоджуються мембрани клітин, дистальні та проксимальні каналці, зростає проникність судин; підвищується вміст клітин-макрофагів у селезінці.

За результатами кластерного аналізу встановлено, що на 1-шу добу досліду гістамін різних концентрацій однаково діє на показники ПОЛ–АОС у легені та плазмі крові щурів, а також ГХН домінує над впливом гістаміну в нирці, печінці, серцевому м'язі, тоді як у селезінці щурів вплив гістаміну переважає над дією ГХН. На 7-му добу досліду гістамін, ГХН і поєдане їхнє введення в організм щурів виявляє різноспрямовану дію на показники вільнорадикальних процесів у різних органах щурів, за винятком серцевого м'яза. На 14-ту добу гістамін і ГХН значно порушують прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз, проте після реабілітаційного періоду провідний вплив на показники ПОЛ–АОС чинить ГХН. За допомогою факторного аналізу виявлено, що у серцевому м'язі домінує антиоксидантна ланка над прооксидантною за впливу гістаміну і ГХН, тоді як у легені переважає прооксидантна. У легені, плазмі крові, печінці та нирці ГХН у концентрації 20 мг/л виражений вплив чинить на прооксидантну ланку прооксидантно-антиоксидантної системи.

Розділ 4.

ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У КЛІТИНАХ РІЗНИХ ОРГАНІВ ПТАХІВ ЗА ВПЛИВУ ГПОХЛОРИТУ НАТРІЮ

Було проведено дослід на курях породи Леггорн віком 140–145 діб. Кури домашні (*Gallus gallus domesticus*) належить до класу Птахів, ряду Куриних. Тварин розділили на 3 групи по 15 особин у кожній. Першій групі (контрольній) згодовували доброякісний повноцінний корм і випоювали воду. Тваринам другої та третьої груп випоювання води замінювали на розчин ГХН у дозі 5 і 10 мг/л (розчинник – водопровідна вода) відповідно впродовж 14-ти діб і вигодовували доброякісний корм. Після 14-го дня досліду по 5 тварин з кожної групи залишали на реабілітацію, яка тривала 6 діб.

На 7-му, 14-ту і 20-ту доби досліду по 5 тварин з першої, другої та третьої груп декапітували, швидко видаляли легеню, печінку, селезінку, нирку і серце, які відмивали у фізіологічному розчині й заморожували у рідкому азоті, де зберігали до проведення досліджень. Для вивчення дії ГХН на сім'яники до експерименту були залучені також півники, яким випоювали ГХН у концентрації 5 і 10 мг/л упродовж 14-ти днів. Сім'яники відбирали на 7-му і 14-ту доби досліду. Сім'яники птахів бобоподібної форми. Лівий сім'яник більший від правого [306]. Наважки тканин (~ 1 г) гомогенізували за низької температури на гомогенізаторі за наявності буферного розчину А (0,32 М сахароза, 1 мМ ЕДТА, 50 мМ трис-НСІ, рН 7,4) [323].

У кожній пробі тканин визначали вміст ТБК-позитивних продуктів [259], СОД, КАТ [259, 291], ГПО [346] активності. Вміст протеїну оцінювали за методом Лоурі.

Проводили порівняльний, кореляційний, однофакторний дисперсійний (використовуючи засоби Excel), дискримінантний і кластерний аналізи (застосували статистичну програму Statistics17 (SPSS)).

У цій серії досліджень птахів упродовж 14-ти днів замінювали випоювання води високоочищеним розчином ГХН у концентрації 5 і 10 мг/л відповідно. Дані концентрації є трохи нижчими від тих, які застосовують у ветеринарній практиці під час лікування токсикозів курей (20–30 мг/л), що обумовлено пошуком оптимальних доз для використання з профілактичною метою [292, 296]. ГХН концентрацією 5 мг/л – це мінімальна концентрація, яка ще може здійснити оксидативний ефект в організмі.

Відомо, що у здоровому організмі завжди відбуваються вільнорадикальні реакції, серед яких є процеси ПОЛ. Це зумовлено

вмістом у молекулах ліпідів великої кількості залишків поліненасичених жирних кислот, які за певних умов ініціюють виникнення вільнорадикальних процесів. Інтенсивність вільнорадикального окиснення, котра є у клітині в нормі, зумовлює постійний рівень продуктів ліпопероксидації, які слугують інгібіторами метаболізму, клітинного поділу та росту. Окиснені форми жирів і жирних кислот перешкоджають необмеженому росту тканин, підтримуючи його у нормі. Як посилення, так і послаблення вільнорадикального окиснення в результаті дії пошкоджувальних чинників може спричинити порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу [330].

Окрім того, що легені є резистентними до високих концентрацій кисню, вони беруть участь у процесах газообміну організму. Нами встановлено, що дія розчину ГХН у концентрації 5 мг/л у легені птахів призводить до спаду інтенсивності процесів ліпопероксидації на 7-му та 14-ту доби досліду на 22 та 46 %, відповідно. Проте після припинення задавання птахам розчину ГХН у концентрації 5 мг/л відбувається значне посилення інтенсивності вільнорадикальних реакцій, і вміст вторинних продуктів ПОЛ зростає на 122 % (табл. 4.1). Відомо, що розчин ГХН має здатність знешкоджувати утворені продукти ПОЛ [297], тому можна припустити, що вміст вторинних продуктів ліпопероксидації знижується на 7-му та 14-ту доби за рахунок цих процесів. Інтенсифікація процесів ПОЛ на 20-ту добу реабілітаційного періоду після дії ГХН концентрацією 5 мг/л, ймовірно, відбувається в результаті припинення штучного знешкодження утворених і накопичених продуктів ліпопероксидації. Відомо, що під час окиснення поліненасичених жирних кислот утворюються також інші радикали кисню, які продовжують ланцюг вільнорадикальних реакцій.

За випоювання ГХН вищої концентрації (10 мг/л) упродовж 7-ми діб встановлено спадання інтенсивності процесів ПОЛ на 38 %. Проте за подальшого випоювання ГХН даної концентрації на 14-ту добу досліду нами зафіксовано недостовірне зростання процесів ліпопероксидації на 14 % у легені (див. табл. 4.1). Інтенсивність вільнорадикальних реакцій залишається в межах 14-ї доби і після реабілітації (зміни достовірні), а не значно зростає, як за дії ГХН у концентрації 5 мг/л.

З огляду на вищезазначені результати, можна твердити, що дія ГХН у концентрації 10 мг/л впливає на тканину легені менш негативно, порівняно з концентрацією 5 мг/л.

АОС спрямована на регуляцію інтенсивності процесів ПОЛ і захист від руйнівної дії продуктів ліпопероксидації. Система ПОЛ–АОС добре збалансована і працює за принципом від'ємного зворотного зв'язку: збільшення рівня антиоксидантів призводить до гальмування вільнорадикального окиснення, а це, у свою чергу, змінює властивості самих ліпідів, у яких з'являються легкоокисні фракції, що прискорює

процеси ПОЛ. При цьому витрачається багато ендогенних антиоксидантів і система повертається до вихідного рівня. Динамічна рівновага ПОЛ–АОС є показником нормального гомеостазу клітин [359].

Таблиця 4.1

Показники прооксидантно-антиоксидантного стану легені птахів у контролі та за дії гіпохлориту натрію в концентрації 5 і 10 мг/л на 7-му, 14-ту і 20-ту доби досліді (n=5)

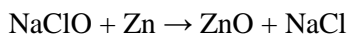
ТБК-позитивні продукти, мкмоль/мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	0,194±0,013	0,152±0,011*	0,121±0,004***
14-та доба	0,192±0,027	0,104±0,020*	0,218±0,010
20-та доба (реабілітація)	0,216±0,015	0,480±0,046***	0,264±0,012*
Супероксиддисмутаза, од. активності/мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	3701,279±177,896	3000,000±116,934*	2600,360±181,119**
14-та доба	3600,263±171,085	709,987±92,959***	1019,925±171,466***
20-та доба (реабілітація)	3692,598±199,937	3072,757±171,953*	4882,959±404,414*
Каталаза, мкмоль H₂O₂/ хв мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	0,079±0,009	0,129±0,016*	0,049±0,005*
14-та доба	0,072±0,005	0,104±0,003***	0,082±0,004
20-та доба (реабілітація)	0,083±0,005	0,188±0,004***	0,118±0,008**
Глутатіонпероксидаза, мкмоль G-SH/хв мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	95,275±19,242	170,410±26,196*	67,586±24,793
14-та доба	82,350±8,360	67,308±8,323	302,025±35,560***
20-та доба (реабілітація)	78,264±23,268	63,630±9,690	205,359±32,189*

Примітки: * – p ≥ 0,95; ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

За щоденного введення птахам розчину ГХН у концентрації 5 мг/л на 7-му добу досліді відбувається спадання СОД активності на 19 % щодо контролю та водночас зниження інтенсифікації процесів ПОЛ у легені. На 14-ту добу інтенсивність вільнорадикальних реакцій, СОД активність і надалі знижуються, порівняно з контролем. Після припинення введення в організм курей ГХН спостерігають значну інтенсифікацію процесів ліпопероксидації. Варто зазначити, що в цей час СОД активність зростає

щодо 14-ї доби, проте показники не досягають рівня контролю (див. табл. 4.1).

Зниження СОД активності упродовж усього досліду за дії ГХН у концентрації 5 мг/л свідчить про недостатню деактивацію супероксид-аніон радикала, під час збільшення концентрації якого відбувається ініціація вільнорадикальних реакцій після реабілітаційного періоду. ГХН може вступати в реакцію з хімічними елементами, наприклад, з Zn за схемою:



Відомо, що іони Zn^{2+} входять до складу активного центру ензиму Cu, Zn-СОД, яка міститься у цитозолі клітини. Можливо, даний розчин ГХН інактивує ензим, вступивши в реакцію з іоном металу активного центру ензиму.

Значне зростання інтенсивності процесів ПОЛ після реабілітаційного періоду ми пояснюємо зниженням вмісту активного кисню (який постачався ГХН), до якого клітина адаптувалася, можливо, інтенсифікацією дихання у мітохондріях. Таким чином у клітинах легені розвивається гіпоксія, яка призводить до підвищення процесів ПОЛ і до пригнічення СОД активності. Із даних літератури відомо, що в легенях у разі вираженої гіпоксії відбувається зниження активності мітохондріальної СОД [359]. Гіпоксія у тканинах легень призводить до зниження процесів трансметилування й ацетилювання та порушення синтезу фосфоліпідів. Отже, гіпоксичні стани призводять до ушкодження мембран і до порушення функцій клітин.

Трохи інші результати в легені птахів нами зафіксовано за дії ГХН концентрацією 10 мг/л. Як на 7-му, так і на 14-ту доби досліду СОД активність спадає, тоді як інтенсивність процесів ліпопероксидації знижується на початку досліду (див. табл. 4.1). На 14-ту добу дії ГХН концентрацією 10 мг/л вміст ТБК-позитивних продуктів недостовірно підвищується, порівняно з контролем. За час 6-денного реабілітаційного періоду, після припинення введення птахам ГХН СОД активність зростає щодо контролю на 32 %, а інтенсивність процесів ПОЛ залишається у межах 14-ї доби (результати достовірні).

Легені мають ефективний потенціал захисту від екзогенного кисню і активних форм кисню. Муцин, як і цистеїн, багатий на глікопротеїни в епітеліальній рідині, забезпечує значний захист від окиснювачів (рівні цих глікопротеїнів збільшуються). У сурфактанті є високий вміст глутатіону (GSH), молекули, що також розглядається як один із основних антиоксидантів у легенях. Крім того, легенева тканина містить кілька протеїнів, здатних зв'язувати молекули вільного заліза й інших металів (альбумін, трансферин, феритин, церулоплазмін, лактоферин). Ці протеїни можуть відігравати фундаментальну роль у захисті тканин легень від окисників, у тому числі й від ГХН.

Ще одним ензимом другого рівня захисту, який нейтралізує вільні радикали та ліпідні пероксиди, є КАТ. КАТ може розкласти 44 000 молекул H_2O_2 за секунду (належить до ензимів із найвищим числом обертів). Для розщеплювання великої кількості пероксиду водню потрібна мала кількість ензиму. Як і у разі СОД, швидкість реакції визначається дифузією і не потребує енергії для активації.

Щоденне введення птахам розчину ГХН у концентрації 5 мг/л на 7-му, 14-ту і 20-ту доби досліду в легені зумовлює зростання КАТ активності на 64, 44 та 126 %, відповідно, щодо контролю (див. табл. 4.1). Отже, за надходження в організм птахів ГХН на фоні зниження СОД активності в результаті дії якого утворюється H_2O_2 , КАТ активність зростає. Це свідчить про те, що ГХН не призводить до пошкодження ензиму КАТ. Ймовірно, ГХН взаємодіє з супероксид-аніон радикалом і, таким чином, знешкоджує субстрат для ензиму СОД. Пероксид водню в такому разі не утворюється в результаті дії СОД. Проте H_2O_2 виробляється в організмі й іншими способами (наприклад, під час роботи ксантинооксидази), і саме так синтезований пероксид водню знешкоджує каталаза.

Під час вивчення впливу ГХН у концентрації 10 мг/л на 7-му добу досліду виявлено, що інтенсивність процесів ПОЛ знижується, тоді як КАТ активність упродовж цього часу залишається нижче контрольних позначок. На 14-ту добу дослідження активність ензиму перебуває в межах контрольних значень. Після припинення введення розчину ГХН на 20-ту добу досліду нами зафіксовано достовірне ($p \geq 0,999$) зростання КАТ активності (на 41 %).

ГПО містить селен і специфічно окиснює відновлений глутатіон. Каталаза і пероксидаза можуть утилізувати органічні гідропероксиди. ГПО може відновлювати гідропероксиди вільних жирних кислот, гідропероксиди фосfolіпідів, естерифікованих жирних кислот шляхом окиснення глутатіону, який відновлюється НАДФН-залежним ензимом глутатіонредуктазою. Антиоксидантні ензими відіграють важливу захисну роль і в позаклітинному середовищі, де вони містяться в незначних концентраціях. У всіх тваринних тканинах міститься глутатіон – найпоширеніша сульфгідрильна сполука в клітинах. За допомогою відновленого глутатіону здійснюється детоксикація H_2O_2 і гідропероксидів, які утворюються під час реакції активних радикалів кисню з ненасиченими жирними кислотами мембран [35]. ГПО знешкоджує більшою мірою гідропероксиди. Даний ензим може перехоплювати пероксид водню, але якщо його утворилася незначна кількість.

Нами встановлено, що за дії ГХН концентрацією 5 мг/л ГПО активність спочатку зростає (на 79 %, $p \geq 0,95$) на 7-му добу досліду, проте на подальших часових етапах дослідження вона повертається до меж

контролю (див. табл. 4.1). Ймовірно, дія ГХН даної концентрації призводить до незначного утворення гідропероксидів, які відразу знешкоджуються ГПО. На 14-ту добу вміст ТБК-позитивних продуктів знижується, а отже, ймовірно, і знижується вміст гідропероксидів (первинних продуктів ПОЛ, із яких утворюються вторинні продукти ліпопероксидації), тому ГПО активність не зростає, а, навпаки, трохи (недостовірно) знижується.

Дія ГХН у концентрації 10 мг/л на 7-му добу приводить до значного зменшення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації у тканинах легені (див. табл. 4.1). Відповідно, ГПО активність на цьому етапі досліду теж не зростає (див. табл. 4.1). Подальше накопичення продуктів ліпопероксидації на 14-ту і 20-ту доби досліду корелюють зі зростанням ГПО активності щодо контрольних даних (див. табл. 4.1). Ензим ГПО, таким чином, реагує на підвищення кількості гідропероксидів у тканинах легені птахів. Відомо, що глутатіонпероксидаза перетворює ліпопероксиди на менш токсичні оксикислоти і цим запобігає пошкодженню біоструктур.

Отже, у легені курей дія ГХН призводить до переважаючого зниження процесів ліпопероксидації упродовж 14-ти діб. ГХН пригнічує СОД активність як на 7-му, так і на 14-ту доби досліду в обидвох досліджуваних концентраціях. Після реабілітаційного періоду активність даного ензиму зростає лише після дії на організм птахів ГХН у концентрації 10 мг/л. ГХН концентрацією 5 мг/л зумовлює зростання КАТ активності. Найменш чутливим до дії ГХН є ензим ГПО.

Таким чином, ГХН у легені птахів зумовлює порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу шляхом його взаємодії з вільними радикалами, продуктами процесів ПОЛ і з металами змінної валентності, які входять до складу активних центрів ензимів АОЗ. Припинення впоювання птахам ГХН чинить прооксидантний ефект у тканинах легені. Враховуючи це, можна твердити, що використання ГХН із профілактичною метою та для дезінфекції водопровідної води є недоцільним і навіть небезпечним для організму.

Щоб виявити вплив ГХН на функціональні параметри серцево-судинної системи здорового організму, вивчали прооксидантно-антиоксидантний стан у серцевому м'язі курей. Нами встановлено, що за дії ГХН концентрацією 5 мг/л упродовж 7-ми діб вміст ТБК-позитивних продуктів зростає на 54 %, а за концентрації ГХН 10 мг/л інтенсивність процесів ліпопероксидації зростає на 83 % (табл. 4.2). Отже, за впоювання птахам ГХН у досліджуваних концентраціях упродовж зазначеного періоду в серцевому м'язі розвивається оксидативний стрес, про що свідчить інтенсифікація процесів ліпопероксидації. Відомо, що збільшення вмісту продуктів ПОЛ вище базального "нормофізіологічного" рівня загрожує окиснювальною деструкцією мембранних компонентів клітин і суттєво видозмінює реактивність організму на

зовнішні подразники [328]. Так, зростання інтенсивності процесів ПОЛ під час гострого інфаркту міокарда зумовлює збільшення активності тромбоцитів, що призводить до внутрішньосудинного тромбозу [183].

Таблиця 4.2

Показники прооксидантно-антиоксидантного стану серця птахів у контролі та за дії гіпохлориту натрію в концентрації 5 і 10 мг/л на 7-му, 14-ту і 20-ту доби досліді (n=5)

ТБК-позитивні продукти, мкмоль/мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	0,061±0,003	0,094±0,010*	0,112±0,010***
14-та доба	0,072±0,006	0,069±0,005	0,059±0,006
20-та доба (реабілітація)	0,063±0,003	0,064±0,003	0,071±0,002*
Супероксиддисмутаза, од. активності/мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	14600,241±999,000	18730,580±1286,902 ***	15225,000±1000,000
14-та доба	14000,320±1000,000	15803,420±1144,229	21082,970±3060,967*
20-та доба (реабілітація)	14257,283±2142,134	9686,972±794,056	4650,761±206,797***
Каталаза, мкмоль H₂O₂/ хв мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	0,231±0,020	0,706±0,099***	0,390±0,058*
14-та доба	0,200±0,005	0,303±0,032*	0,672±0,095***
20-та доба (реабілітація)	0,228±0,025	0,296±0,009*	0,211±0,015

Примітки: * – p ≥ 0,95; *** – p ≥ 0,999

Потрапляючи в організм, розчин ГХН розкладається на ClO⁻ і Na⁺ або на O⁻ і NaCl. Гіпохлорит-аніон і атомарний кисень є сильними окиснювачами, які значно прискорюють трансформацію токсинів, їхніх метаболітів і гідрофобних компонентів супутньої ендотоксемії у гідрофільні. Гіпохлорит функціонує в макрофагах під час фагоцитозу, він має здатність поліпшувати гематологічні показники. Проте за відсутності у внутрішньому середовищі мішені (токсинів), ймовірно, ГХН окиснює на своєму шляху ліпідні компоненти клітинних мембран, у результаті чого і відбувається ініціація процесів ПОЛ та зростає вміст вторинних продуктів ПОЛ – ТБК-позитивних продуктів [239]. Отже, ГХН запускає ланцюг вільнорадикальних реакцій у мембранах клітин серцевого м'язу.

У відповідь на підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів за дії ГХН концентрацією 5 мг/л на 7-му добу дослідів відбувається зростання СОД активності (на 28 %) і значне зростання КАТ (на 206 %), що свідчить про утворення великих кількостей пероксиду водню супероксиддисмутазою у результаті реакції дисмутації (див. табл. 4.2). Відомо, що супероксид-аніон радикал (субстрат для СОД) утворюється внаслідок роботи НАДФН-оксидази, ксантиноксидоредуктази, мітохондріальної цитохром-с-оксидази, мікросомальних монооксигеназ. Очевидно, дія ГХН у клітині призводить до опосередкованого утворення більшої кількості даного радикала цими системами.

Слід зазначити, що на 14-ту добу дослідів за дії ГХН у нижчій концентрації (5 мг/л) інтенсивність накопичення продуктів ліпопероксидації повертається до контрольних позначок і залишається такою під час реабілітаційного періоду (див. табл. 4.2). Проте СОД і КАТ активності на 14-ту добу є підвищеними, порівняно з контрольними значеннями, на 13 % (зростання недостовірне) та 51 % (зростання достовірне), відповідно (див. табл. 4.2). Отже, дія ГХН веде до стимулювання роботи ензимів АОС клітин серцевого м'яза та розвитку адаптаційних процесів до ГХН цієї концентрації.

Відомо, що фізіологічний стрес не є сильним пошкоджувальним фактором, а тільки оптимально активуючим, ініціюючим адекватне збудження адренергічної регуляції, відповідні енергетичні затрати, ефективно посилення споживання кисню з розвитком фізіологічної гіпоксії – все це лише помірно активує вільнорадикальні та пероксидні процеси в мембранних структурах, коли потужність є достатньою (відповідною) для сприйняття даного стимулу і його засвоєння зі суперкомпенсаторними елементами. Така помірна активація пероксидних процесів веде до незначного порушення цілісності мембран через пошкодження ліпідного шару з утворенням вільних радикалів і з модифікацією мембранних протеїнів, наслідком чого є зміни проникності мембран, бар'єрної функції для багатьох молекул, посилене звільнення медіаторів, насамперед катехоламінів. У зв'язку з активацією ліпаз катехоламінами, подальшою мобілізацією жирних кислот і активацією енергетичного аеробного обміну модифікація стану фізіологічного стресу різними стимулювальними засобами є надзвичайно важливою для реалізації цього механізму. Згідно з низкою досліджень, різноманітні за природою та дозуванням фактори впливу, які активують вільнорадикальні реакції в біомембранах із подальшою мобілізацією метаболітів пероксидації або безпосередньо впливають на енергетичні аеробні процеси в мітохондріях, мобілізуючи ендogenousні субстрати, можуть формувати такий метаболічний стан мітохондрій, який забезпечує утилізацію цих субстратів у енергетичному та пластичному обміні [257]. Відомо, що серце має значні енергетичні затрати, які потребують

постійного забезпечення необхідною кількістю хімічної енергії у вигляді АТФ. Серце поглинає з крові коронарних судин близько 70 % кисню. Синтез великої кількості АТФ забезпечує добре розвинена структура мітохондрій. Так, у лівому шлуночку мітохондрії займають близько 30–35 % об'єму кардіоміоцитів. З огляду на це, ймовірно, вже на 14-ту добу кардіоміоцити пристосовуються до збільшеного вмісту активного кисню, і гомеостаз тканин серцевого м'яза поновлюється.

Слід зазначити, що під час реабілітаційного періоду на 20-ту добу досліді після дії ГХН у концентрації 5 мг/л простежується недостовірне (внаслідок значного відхилення вибірки даних від середнього арифметичного) зниження СОД активності на 32 %, а КАТ активність залишається достовірно підвищеною на 30 %, тоді як вміст вторинного продукту ПОЛ залишається в межах контрольних значень (див. табл. 4.2). Ймовірно, за відновлення природних умов функціонування серцевого м'яза, тобто за припинення введення в організм окиснювальної сполуки, відбувається накопичення H_2O_2 , який елімінується каталазою.

Під час введення в організм птахів розчину ГХН концентрацією 10 мг/л на 7-му добу досліді, на фоні підвищення вмісту вторинного продукту ліпопероксидації (на 83 % щодо контролю), активність ключового ензиму антиоксидантної системи – СОД – залишалася на рівні контрольних значень, проте КАТ активність зростала на 69 %. Але вже на 14-ту добу відбулося зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів до рівня контролю і різке зростання СОД (на 51 %) і КАТ активності (на 235 %). На 20-ту добу досліді нами встановлено підвищення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації (на 13 %) і різкий спад СОД (на 67 %) і КАТ активності (недостовірно на 7 % щодо контролю), що свідчить про розбалансування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу та виснаження клітин серцевого м'яза протягом 20-ти днів досліді за дії ГХН у концентрації 10 мг/л (див. табл. 4.2). Підтвердженням цього є дані літератури, що у фазах тривоги та виснаження під час стресу відбувається зростання процесів ПОЛ [233] і зниження СОД активності, що пов'язано з ушкодженням мітохондрій – основного джерела O_2^- [249].

Отже, впоювання розчину ГХН концентрацією 10 мг/л спричиняє порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, є шкідливим для організму і безпосередньо для серцевого м'яза, тоді як концентрація 5 мг/л справляє менш негативний вплив на тканини серця, що узгоджується з попередніми нашими дослідженнями [236].

Оскільки ми не провели визначення ГПО активності у серцевому м'язі, то застосували математичний апарат, зокрема, дискримінантний аналіз, який дає змогу на основі усіх результатів цієї серії експерименту прогнозувати динаміку змін того чи іншого показника (рис. 4.1). Отже, нами встановлено, що ГХН у серці птахів потенційно буде спричиняти

зниження ГПО активності упродовж усього часу експерименту на фоні зростання КАТ активності. Відомо, що ГПО каталізує реакцію відновлення гідропероксиду за допомогою відновленого глутатіону. Тому можна припустити, що зниження активності цього ензиму відбувається за рахунок зменшення у клітині вмісту відновленого глутатіону [402] під впливом ГХН. Після реабілітаційного періоду ГПО активність, як і активність інших досліджуваних ензимів АОС, не повертається до меж контролю, що свідчить про розвиток стійкого оксидативного стресу за рахунок штучного внесення у серцевий м'яз потужного екзогенного окисника. Ймовірно, клітини серця під час систематичного надходження ГХН намагаються унормувати окисно-відновний потенціал і, таким чином, адаптуватися до нових умов існування, проте після припинення штучного введення в організм цієї речовини знову відбувається порушення Red/Ox системи, що відображається на роботі АОС.

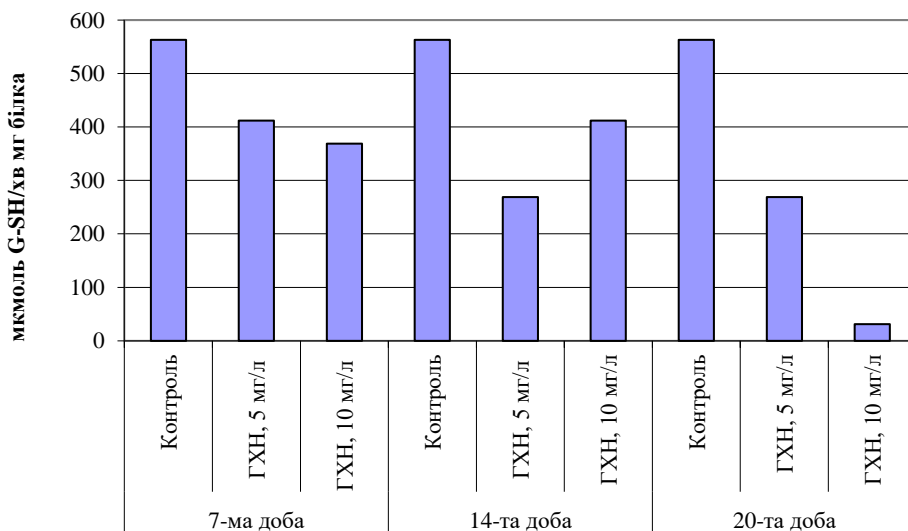


Рис. 4.1. Результати дискримінантного аналізу впливу гіпохлориту натрію на глутатіонпероксидазну активність у тканинах серця птахів на 7-му, 14-ту і 20-ту (реабілітація) доби дослідження

Гальмування оксидативних процесів у серці призводить до зниження рівня клітинної АТФ, а також до накопичення у цитозолі деяких потенційно шкідливих метаболітів (H^+ , Ca^{2+} , вільні жирні кислоти, лактат, ацетил-кофермент-А, ацетил-карнітин, вільні радикали тощо), які порушують клітинний гомеостаз і руйнують внутрішньоклітинні структури. Наслідки метаболічних і електролітних порушень виявляються нейроно- і електрофізіологічними змінами та порушенням скоротливості серця. Раптова реперфузія ішемізованого серця призводить до досить

тяжких наслідків, таких як швидке набрякання клітин, вихід ферментів, значне зростання у цитозолі клітин вмісту кальцію, підвищення утворення пероксидно-радикальних сполук (наприклад, у реакції за участю ксантинооксидази), що спричиняє розрив сарколеми. Зважаючи на такі дані, ймовірно, не слід застосовувати розчини ГХН, які є джерелом додаткового кисню, для профілактики різноманітних патологічних станів серця, що пов'язано з утрудненням кровообігу, хоча відомо, що ГХН є потужним антикоагулянтом.

Отже, ГХН концентрацією 5 мг/л викликає помірне зростання процесів ПОЛ у тканинах серця, причому на 14-ту і 20-ту доби дослідів інтенсивність процесів ліпопероксидації знижується до рівня контролю. ГХН у концентрації 10 мг/л зумовлює значне підвищення інтенсивності вільнорадикальних реакцій у серці на 7-му добу його дії з подальшим незначним посиленням інтенсивності на 20-ту добу реабілітації. Дія ГХН веде до зростання КАТ активності упродовж усього дослідів. Супероксиддисмутазна активність у серцевому м'язі за впливу ГХН вибірково зростає на окремих етапах дослідів. Проте після реабілітаційного періоду СОД активність спадає. За дії ГХН утворюється велика кількість H_2O_2 , про що опосередковано свідчить зростання КАТ активності навіть після реабілітаційного періоду. ГПО активність потенційно буде знижуватися.

Нами встановлено, що у печінці курей на 7-му добу дослідів за дії ГХН у концентрації 5 мг/л відбувається зростання інтенсивності процесів ліпопероксидації на 24 %, порівняно з контрольними значеннями, а за впливу ГХН у концентрації 10 мг/л – на 53 %. На 14-ту добу дія розчину ГХН у концентрації 10 мг/л призводить до зростання інтенсивності процесів ПОЛ на 34 % (табл. 4.3). Отже, досліджуваний розчин зумовлює посилення інтенсивності процесів ліпопероксидації як на 7-му, так і на 14-ту доби дослідів [238]. Відомо, що ГХН в організмі виявляє сильну оксидативну дію, у високих концентраціях руйнуючи різноманітні тканини, тому, ймовірно, ГХН у концентрації 5 мг/л впливає на тканину печінки менш негативно, порівняно з концентрацією 10 мг/л. Дія ГХН у вищій досліджуваній концентрації призводить до значного посилення процесів ліпопероксидації на 7-му та 14-ту доби дослідів. Згідно з даними літератури, продукти ліпопероксидації слугують інгібіторами метаболізму, клітинного поділу та росту. Зважаючи на це, можна твердити, що дія розчину ГХН пригнічує поновлення клітин печінки, а також негативно впливає на клітинні мембрани.

Після припинення введення в організм курей розчину ГХН у концентрації 5 мг/л на 6-ту добу реабілітації (20-та доба дослідів) відбувається підвищення кількості продуктів ліпопероксидації на 27 %, тоді як після введення розчину ГХН у концентрації 10 мг/л кількість продуктів ліпопероксидації зростає на 95 % (див. табл. 4.3). Ймовірно, за

Таблиця 4.3

**Показники прооксидантно-антиоксидантного стану печінки птахів
у контролі та за дії гіпохлориту натрію в концентрації 5 і 10 мг/л
на 7-му, 14-ту і 20-ту доби досліді (n=5)**

ТБК-позитивні продукти, мкмоль/мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	0,093±0,006	0,115±0,009	0,142±0,010**
14-та доба	0,093±0,007	0,089±0,006	0,124±0,015
20-та доба (реабілітація)	0,093±0,006	0,119±0,004**	0,182±0,020**
Супероксиддисмутаза, од. активності/мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	3656,640±291,620	3133,195±661,744	2901,365±223,560
14-та доба	3728,750±759,059	3913,529±501,159	2818,305±321,760
20-та доба (реабілітація)	3603,546±1008,244	10031,060±1263,227**	7170,761±982,530*
Каталаза, мкмоль H₂O₂/ хв мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	0,260±0,004	0,162±0,002***	0,151±0,001***
14-та доба	0,240±0,004	0,285±0,005***	0,184±0,009***
20-та доба (реабілітація)	0,271±0,003	0,153±0,002***	0,144±0,002***
Глутатіонпероксидаза, мкмоль G-SH/хв мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	15,2400±2,365	12,138±1,966	12,521±2,965
14-та доба	15,02±2,81	15,104±3,961	23,468±2,666*
20-та доба (реабілітація)	15,8750±3,116	14,659±2,528	25,917±2,659*

Примітки: * – p ≥ 0,95; ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

період дії розчину ГХН в організмі курей, зокрема, в печінці, розвивається стрес, який можна пояснити сумою біологічних реакцій організму на дію певних екстремальних чинників (фізичних, хімічних, психічних чи емоційних), що спрямовані на порушення гомеостазу в організмі [367]. Відомо, що у фазах тривоги та виснаження під час стресу відбувається активація реакцій процесів ПОЛ і тому навіть за час реабілітації процеси ліпопероксидації не повертаються до контрольного рівня, а, навпаки, ще інтенсивніше посилюються [233]. Це дає змогу припускати, що система прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу виходить з рівноваги. Відомо, що неконтрольовані процеси ПОЛ спричиняють активацію ліпаз, появу у клітині великих крапель жиру, деформацію, набрякання, злипання, а в деяких випадках і повне руйнування мітохондрій, активацію

автолітичних процесів і, як наслідок, загальний дисбаланс метаболізму клітини [359, 371]. У печінці мітохондрії працюють на високому рівні, використовуючи велику кількість кисню загального споживання організму (близько 10 %), і тому додаткове внесення активного кисню у великих концентраціях негативно впливає на тканини печінки.

Відомо, що печінка в організмі виконує бар'єрну функцію, завдяки якій відбувається нейтралізація отруйних продуктів білкового обміну; фагоцитарну функцію, завдяки якій відбувається знешкодження непотрібних для організму речовин, що всмоктуються в кишківнику. Цю функцію виконує ензим цитохром Р-450, який міститься в мітохондріях клітин печінки. Отже, в печінку закладений природою механізм знешкодження токсинів [169]. Дія ГХН модулює цитохром Р-450, тому, ймовірно, відбувається неконтрольована реакція окиснення компонентів клітин здорового організму.

Відомо також, що екстремальні чинники є своєрідними тригерами ("пусковий фактор") утворення ендogenousного кисню і його значної генерації під час активації вільнорадикального окиснення і процесів ПОЛ мембранних структур, які розгортаються у відповідь на будь-який пошкоджувальний чи стимулювальний вплив. У свою чергу, саме процеси генерації ендogenousного O_2 формують активні кисневі режими в клітинах організму, що необхідні для збереження прооксидантної і антиоксидантної рівноваги, для підтримання оптимальної напруженості O_2 в окисно-відновних мітохондріальних процесах і забезпечення умов функціонування на вищих рівнях.

Гепатоцити становлять 60 % усіх клітинних елементів печінки. Кров у класичній часточці тече від периферії до центру, а жовч – у зворотному напрямку, тобто від центру до периферії. Жовчні капіляри не мають власної стінки. Їхня стінка утворена плазмолемою білярної поверхні двох сусідніх гепатоцитів. Просвіт жовчного капіляра відокремлений від міжклітинного простору, і жовч у нормальних умовах не потрапляє у цей простір і далі у кров. При захворюваннях, пов'язаних із пошкодженням і загибеллю частини печінкових клітин, жовч надходить у кровеносні капіляри, розноситься кров'ю по всьому організму і забарвлює його тканини у жовтий колір – виникає жовтяниця [383]. Постає питання, як діє ГХН на утворення і вивільнення жовчі. Чи у разі підвищення процесів ПОЛ у кров викидається потрібна кількість жовчі, чи ГХН окиснює її?

Крім визначення вмісту вторинного продукту ліпопероксидації, нами вивчено активність ензимів антиоксидантного захисту організму – СОД і КАТ у досліджуваних зразках. Показано, що щоденне введення курам розчину ГХН у концентрації 5 мг/л на 7-му добу досліду в печінці призводить до інтенсифікації процесів ПОЛ, тоді як СОД активність спадає на 14 %, а КАТ – на 38 % щодо контролю. Проте вже на 14-ту добу інтенсивність вільнорадикальних реакцій і СОД активність

повертаються до контрольних позначок, а КАТ активність навіть зростає на 19 %. Під час реабілітаційного періоду вміст ТБК-позитивних продуктів зріс на 27 %, СОД активність – на 178 %, а КАТ активність спала на 43 %. Відомо, що ГХН окиснює сульфгідрильні групи ензимів за допомогою іонів хлору, що призводить до інактивації СОД і КАТ на 7-му та 14-ту доби досліду. Крім того, є відомості, що НОСІ має пошкоджувальну дію на амінокислотні залишки протеїнів плазми і тканин за патологічних станів. Після припинення введення ГХН в організм курей, імовірно, відбувається повторне порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги. Відомо, що висока активність ензиму СОД призводить до ініціації вільнорадикальних реакцій, а це, в свою чергу, інактивує ензим КАТ.

За вивчення птахам ГХН у концентрації 10 мг/л інтенсивність процесів ПОЛ зростає як на 7-му, так і на 14-ту доби досліду, тоді як ензиматична активність упродовж цього часу була нижче контрольних позначок. Після припинення введення розчину ГХН на 20-ту добу досліду інтенсивність процесів ліпопероксидації різко зросла на 95 %. Така ж тенденція нами зафіксована і під час дослідження СОД активності (зростання на 99 %). Проте КАТ активність спала на 47 %. Різке зростання СОД активності та значне підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів під час реабілітаційного періоду, ймовірно, пов'язано з тим, що за 14-денного введення птахам розчину ГХН відбулося значне пригнічення природного ензиму печінки – цитохрому Р-450, – який відповідає за детоксикацію, а, відповідно, і за пригнічення надмірного процесу ПОЛ у даному органі.

Відомо, що розчин ГХН є електрохімічною моделлю цитохрому Р-450 [204], яка дає можливість трансформувати гідрофобні токсичні сполуки шляхом окиснення в гідрофільні, що легко виводяться з організму органами виділення. За даними літератури відомо, що ГХН пригнічує активність ензимів АОС, взаємодіючи зі сульфгідрильними та дисульфідними групами амінокислот. У літературі можна знайти дані про інгібування основних ензимів антиоксидантного захисту клітини печінки гіпохлорною кислотою. У випадку КАТ було запропоновано схему процесу, яка включала аксіальне лігандування одного або двох іонів OSl^- іоном заліза гему з подальшим розривом $O-Sl$ зв'язку. ГХН є природною сполукою, яка постійно наявна в організмі людини, оскільки є продуктом активних фагоцитів. Це один із основних компонентів природних факторів дезінтеграції інфекційного агента в лейкоциті. У процесі фагоцитозу відбувається вивільнення в міжклітинне середовище активних форм кисню, а також ензиму мієлопероксидази. Основний продукт каталітичної дії мієлопероксидази – гіпохлорит-аніон – має виражену бактерицидну дію та є основним компонентом лейкоцитарного захисту людини від бактерій і вірусів [204]. Під його впливом відбувається хлорування мікробних

мембран, які при цьому пошкоджуються, і мікроби гинуть. У дослідах з пероксидазою та каталазою було показано, що ГХН може окиснювати і, тим самим, пригнічувати активність пероксидази, а за взаємодії з каталазою викликати зниження каталазної активності й проявляти пероксидазну активність. Посилення пероксидазної активності гемових ензимів лежить в основі одного з механізмів детоксикаційного впливу ГХН. ГХН може реагувати з багатьма хімічними сполуками. Зокрема, він взаємодіє з аміногрупами, органічними амідами, амінами, пуриновими і піримідиновими основами, фенолами, карбоновими кислотами, бензохіноном, сульфгідрильними та дисульфідними групами. Під дією ГХН змінюються не тільки білкові, але й ліпідні компоненти мембрани. Їхня модифікація лежить в основі порушень мембранної проникності, пригнічення чи активації різних ферментних систем. Висока реактивна здатність ГХН визначає його роль у виникненні низки патологічних станів, пов'язаних із розвитком вільнорадикальних процесів [53]. Проте все залежить від локальної концентрації препарату. Тому і масштаби впливу сягають від модифікації та трансформації до деградації субстрату взаємодії. Нашими дослідженнями підтверджено, що нижча концентрація ГХН зумовлює менш негативний вплив на інтенсивність процесів ліпопероксидації печінки, порівняно з вищою концентрацією.

ГХН є донором активного кисню і стимулює в організмі процес окиснення екзо- й ендогенних токсичних речовин – таких як продукти розпаду тканин, токсини мікроорганізмів, лікарські препарати, молекули середньої маси, продукти ПОЛ, білірубін, сечовина крові.

Коли ми припиняли введення розчину ГХН в організм курей, то фіксували різке збільшення кількості вторинних продуктів ПОЛ – ТБК-позитивних продуктів. Це ми пояснюємо тим, що ГХН сам виступає потужним окисником, який призводить до підвищення процесів ПОЛ. Під час введення ГХН поряд із інтенсифікацією процесів ліпопероксидації відбувається руйнування продуктів ПОЛ. Після припинення подачі в організм птахів ГХН припиняється штучне знешкодження ТБК-позитивних продуктів, тоді як процеси вільнорадикальних реакцій тривають.

Отже, нами встановлено, що дія ГХН в концентрації 10 мг/л у печінці курей призводить до значного зростання інтенсивності процесів ПОЛ і зниження СОД, КАТ активності як на 7-му, так і на 14-ту доби досліду. Концентрація розчину ГХН 5 мг/л веде до підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів і зниження СОД активності на 7-му добу досліду з подальшим поверненням до рівня контролю на 14-ту добу. За час реабілітаційного періоду в печінці курей відбувається підвищення вмісту продуктів ліпопероксидації зі значним зростанням СОД і спаданням КАТ активності. Таким чином, введення у здоровий організм розчину ГХН

негативно впливає на процеси ПОЛ у печінці курей, а також пригнічує активність ензимів системи АОС.

Нирки відіграють важливу роль у підтриманні гомеостазу, який у нормі характеризується сталістю об'єму рідин (ізволемією), їхньої осмотичної концентрації (ізотонією), іонного складу (ізоіонією), концентрації іонів водню (ізогідрією). Тому ті чи інші порушення діяльності нирок можуть викликати вторинні зміни зазначених показників. Не менш важливою є роль нирок у виведенні з організму продуктів азотистого обміну, токсичних речовин. Тому порушення екскреції речовин є одним із основних проявів недостатності нирок у разі їхнього безпосереднього ушкодження, а також унаслідок дії позаниркових факторів. Нирки є найважливішим не тільки екскреторним, а й інкреторним органом, який бере участь у регуляції тону судин (ренін-ангіотензинова система, простагландини) та еритропоезу (еритропоетин, інгібітор еритропоезу). З цим пов'язана висока частота розвитку і важкий перебіг гіпертензивного й анемічного синдромів в умовах патології нирок. З огляду на вищезазначене, дослідження впливу різних чинників на функціональні параметри тканин нирок є важливим завданням біофізики, біохімії, молекулярної біології.

Встановлено, що дія ГХН призводить до посилення процесів ліпопероксидації у нирці. Застосування досліджуваного розчину в концентрації 5 мг/л незначно посилює інтенсивність процесів ПОЛ на 7-му добу досліду (на 32 %), проте на 14-ту добу відбувається значна інтенсифікація вільнорадикальних реакцій, про що свідчить підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів на 191 % щодо контролю ($p \geq 0,999$). Така значна кількість ТБК-позитивних продуктів зберігається у тканинах нирки і після реабілітаційного періоду (табл. 4.4).

Ймовірно, у нирці на 7-му добу досліду за низьких концентрацій ГХН (5 мг/л) не активувалися адаптаційні процеси під дією стрес-фактора. Відомо, що ГХН також здійснює окиснення продуктів ПОЛ, тому можна припустити, що низькі концентрації ГХН призводять до активації процесів ліпопероксидації без вторинного окиснення продуктів ПОЛ.

Під час вивчення дії розчину ГХН у концентрації 10 мг/л ми спостерігали достовірне зростання інтенсивності процесів ПОЛ на 7-му добу досліду (на 73 %), тоді як на 14-ту і 20-ту (реабілітація) доби інтенсивність вільнорадикальних реакцій знижувалася, порівняно з інтенсивністю процесів ліпопероксидації на 7-му добу, проте вміст ТБК-позитивних продуктів не досягав контрольних значень. Ймовірно, таку динаміку інтенсивності процесів ліпопероксидації можна пояснити реагуванням АОС на окисну дію високих концентрацій ГХН, оскільки вже з 7-ї доби відбувається адаптація тканини нирки, спрямована на відновлення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу. ГХН у вищій концентрації (10 мг/л), ймовірно, здійснює окиснення не тільки

ліпідів мембран, а й продуктів ПОЛ. Тому інтенсивність процесів вільнорадикальних реакцій є нижчою, ніж у разі дії ГХН концентрацією 5 мг/л (див. табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Показники прооксидантно-антиоксидантного стану нирки птахів у контролі та за дії гіпохлориту натрію в концентрації 5 і 10 мг/л на 7-му, 14-ту і 20-ту доби досліді (n=5)

ТБК-позитивні продукти, мкмоль/мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	0,026±0,002	0,034±0,001*	0,045±0,003***
14-та доба	0,029±0,003	0,084±0,002***	0,035±0,001
20-та доба (реабілітація)	0,024±0,001	0,070±0,003***	0,029±0,001**
Супероксиддисмутаза, од. активності/мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	2209,013±236,140	3071,329±814,183	2851,213±367,320
14-та доба	2007,427±532,332	466,733±100,060*	5118,082±886,027*
20-та доба (реабілітація)	2197,503±216,529	2985,612±666,764	3483,338±516,828*
Каталаза, мкмоль H₂O₂/ хв мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	0,198±0,002	0,187±0,004*	0,221±0,002***
14-та доба	0,206±0,002	0,223±0,002***	0,254±0,002***
20-та доба (реабілітація)	0,189±0,002	0,209±0,003***	0,235±0,001***
Глутатіонпероксидаза, мкмоль G-SH/хв мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	23,500±2,910	21,819±3,951	25,560±2,650
14-та доба	24,155±3,941	64,293±7,159*	22,018±6,765
20-та доба (реабілітація)	22,128±2,543	14,411±2,172*	31,957±3,236*

Примітки: * – p ≥ 0,95; ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

В основі розвитку вільнорадикальних реакцій лежить порушення рівноваги між антиоксидантними та прооксидантними системами організму, що може призвести до руйнування мембран клітин. АОС захисту організму контролює і гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій, починаючи від їхньої ініціації та закінчуючи утворенням гідропероксидів і ТБК-позитивних продуктів [200, 374]. На підвищення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації на 7-му добу дії розчину

ГХН у концентрації 5 мг/л реагує АОС захисту, і СОД активність зростає на 39 % (див. табл. 4.4). Проте вже на 14-ту добу дослідів відбувається інтенсифікація процесів ПОЛ (вміст ТБК-позитивних продуктів зростає на 191 %), тоді як СОД активність спадає на 77 % нижче контролю, а КАТ активність зростає на 8 % із рівнем достовірності $p \geq 0,999$. Хоча КАТ активність незначно зростає, проте ГПО активність (конкуруючий фермент за H_2O_2) зростає на 166 % (див. табл. 4.4). З огляду на те, що ГПО нейтралізує не тільки H_2O_2 , а й первинні продукти ліпопероксидації, ймовірно, відбувається знешкодження гідропероксидів ферментом ГПО, тому КАТ активність знижується, а ГПО активність зростає. Після реабілітаційного періоду, на 20-ту добу дослідів, інтенсивність процесів ліпопероксидації залишається на рівні 14-ї доби, СОД активність зростає на 36 %, КАТ – на 11 % ($p \geq 0,999$), порівняно з контрольними значеннями, проте ГПО активність достовірно знижується на 35 %, що свідчить про порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу тканини нирки навіть під час припинення введення в організм розчину ГХН (див. табл. 4.4). Відомо, що окиснення ненасичених жирних кислот мембран клітин супроводжується утворенням поперечних зшивок «ліпід-протеїн». Це веде до порушення будови плазматичної мембрани, а також і до руйнування органел клітин, тому різні чинники, дія яких супроводжується окисненням мембран, є вкрай небажаними для організму. Крім того, вже доведено, що ГХН окиснює ароматичні амінокислоти, пептиди, поліненасичені жирні кислоти, нуклеїнові кислоти.

Під час застосування розчину ГХН у концентрації 10 мг/л на 7-му добу дослідів нами встановлено, що на фоні підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів відбувається активація СОД, КАТ і ГПО (див. табл. 4.4). На 14-ту добу засвідчено уповільнення інтенсивності процесів ПОЛ, тоді як СОД активність зростає аж на 155 %. У відповідь на таке зростання активності досліджуваного ферменту відбувається також і достовірне зростання КАТ активності на 24 % ($p \geq 0,999$), яка знешкоджує утворений у процесі реакції дисмутації H_2O_2 . Згідно з літературними даними, ГХН позитивно впливає на АОС через посилення відновлювальної модифікації дисульфідних груп [297]. За час реабілітації інтенсивність процесів ПОЛ залишається на позначці 14-ї доби, СОД активність знижується щодо показників 14-ї доби дії ГХН (зростає на 59 % щодо контролю), а КАТ активність залишається на рівні 14-ї доби, проте ГПО активність зростає на 44 %. Ймовірно, вища концентрація ГХН інтенсивною ініціацією процесів ПОЛ (на 7-му добу дослідів) зумовлює менш слабку (порівняно з 5 мг/л) активацію ключового ферменту антиоксидантної системи – СОД, завдяки чому не призводить до виснаження ферментативної ланки захисту організму. ГХН у концентрації 5 мг/л, навпаки, на початкових етапах виснажує АОС нирки, та на 14-ту

добу нами встановлено різке підвищення інтенсивності процесів ПОЛ і спадання СОД активності. Є відомості, що ГХН здатний окиснювати ліпиди ліпопротеїдів, причому цей процес відбувається з пригніченням утворення вільних радикалів [297]. Найбільше піддаються гіпохлорит-індукованому пероксидному окисненню ліпопротеїни дуже низької густини, найменше – ліпопротеїни високої густини [356]. Тому можна припустити, що вища концентрація ГХН призупиняє у нирці значне зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів через пригнічення утворення вільних радикалів і знешкодження саме вторинних продуктів ПОЛ.

ГХН – це джерело іона Na^+ , який є основним катіоном позаклітинної рідини (135–155 ммоль/л у плазмі крові). Він практично не надходить у клітини, отже, визначає осмотичний тиск плазми й інтерстиціальної рідини. Під час втрати іонів Na^+ з'являється “осмотично вільна” вода, частина якої може надходити у клітини внаслідок різниці осмотичного тиску (осмотичний градієнт), що призводить до набряку клітин. У кінцевому результаті зменшується об'єм позаклітинного водного сегмента, в тому числі й об'єм крові. Надлишок Na^+ зумовлює затримання додаткової кількості води, що збільшує позаклітинний простір, спричиняє формування набряків.

Відомо, що нирки беруть участь у підтриманні кислотно-основної рівноваги крові шляхом реабсорбції основних еквівалентів і виведення кислих іонів, що сприяє підтриманню рН крові у стабільних межах. Ці процеси здійснюються переважно через реабсорбцію гідрокарбонатів, секрецію іонів гідрогену (ацидогенез) і утворення аміаку (аміногенез). Як діє ГХН на підтримання кислотно-основної рівноваги крові, на сьогодні не відомо. Ми можемо припустити, що такий вплив є, адже ГХН – це джерело іонів Na^+ , які впливають на цю систему.

Отже, дія ГХН призводить до оксидативного стресу в нирці. За впливу ГХН відбувається порушення узгодженої діяльності ензимів АОС нирки. ГХН концентрацією 5 мг/л спричиняє більш значну інтенсифікацію процесів ПОЛ упродовж 20-ти діб, ніж у концентрації 10 мг/л.

Відомо, що селезінка є органом лімфоїдного кровотворення й імунного захисту. Основними функціями селезінки є елімінація еритроцитів і тромбоцитів, які завершили свій життєвий цикл; депонування крові та заліза; розмноження й антигензалежна диференціація лімфоцитів і утворення антитіл; синтез біологічно активних речовин, які пригнічують еритропоез у червоному кістковому мозку; в ембріональному періоді селезінка є універсальним кровотворним органом, у якому утворюються всі формені елементи крові [295]. Проте залишається невідомою дія ГХН на тканини цього органа, не ушкоджені токсинами.

Встановлено, що на 7-му добу дослідження за дії ГХН у концентрації 5 мг/л відбувається значне підвищення вмісту вторинних продуктів

ліпопероксидації (на 72 %) у селезінці курей (табл. 4.5). На 14-ту добу впливу ГХН зазначеної концентрації інтенсивність вільнорадикальних реакцій також зростає на 48 %, проте є трохи нижчою, порівняно з 7-ю добою дії розчину. Варто зазначити, що після припинення введення в організм птахів ГХН на 20-ту добу реабілітації інтенсивність процесів ПОЛ не знижується, а, навпаки, достовірно зростає на 135 % (див. табл. 4.5). Дані результати свідчать, що за дії ГХН у концентрації 5 мг/л відбувається ініціація вільнорадикальних механізмів ушкодження ліпідів, які є компонентами плазматичних мембран. Відомо, що ТБК-позитивні продукти віддзеркалюють вміст вторинних продуктів ліпопероксидації (малоновий діальдегід – МДА, $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$). МДА виникає в організмі у разі деградації поліненасичених жирних кислот реактивними формами кисню. Він слугує маркером пероксидації жирів і оксидативного стресу. МДА здатний реагувати з ДНК (зокрема, гуанозином), утворюючи ДНК-аддукти [91], в першу чергу мутагенний M1G (рис. 4.2).

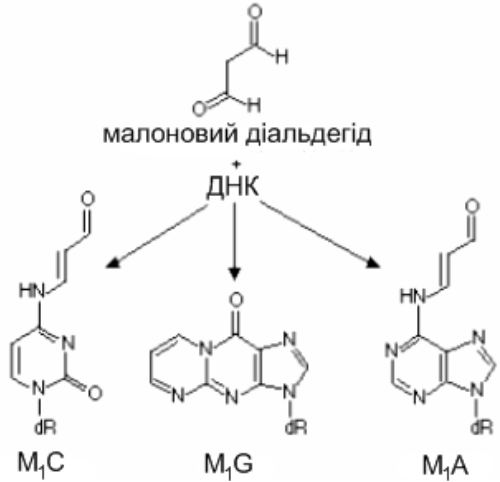


Рис. 4.2. Взаємодія малонового діальдегіду з нуклеотидами ДНК

ГХН притаманні сильні окисні властивості. Він вступає в реакцію зі сполуками таким чином: $\text{NaClO} + \text{RH} \rightarrow \text{NaCl} + \text{ROH}$. Під час окиснення ненасичених жирних кислот ГХН у селезінці птахів може підвищуватися вміст МДА, маркером якого є ТБК-позитивні продукти.

У разі застосування розчину ГХН у концентрації 10 мг/л на 7-му добу дослідження вміст ТБК-позитивних продуктів залишається в межах контролю (див. табл. 4.5). Такий вміст вторинних продуктів ліпопероксидації зберігається і на 14-ту добу дії ГХН. Проте під час реабілітаційного періоду процеси вільнорадикальних реакцій починають зростати, і на 20-ту добу дослідження вміст ТБК-позитивних продуктів

підвищується на 64 %. На нашу думку, це свідчить про те, що до 14-ї доби ГХН у концентрації 10 мг/л у клітинах селезінки знешкоджує утворені продукти процесів ліпопероксидації. У літературі є відомості, що вплив ГХН, крім окиснення поліненасичених жирних кислот, спрямований також і на елімінацію вже утворених продуктів процесів ПОЛ.

Таблиця 4.5

Показники прооксидантно-антиоксидантного стану селезінки птахів у контролі та за дії гіпохлориту натрію в концентрації 5 і 10 мг/л на 7-му, 14-ту і 20-ту доби досліді (n=5)

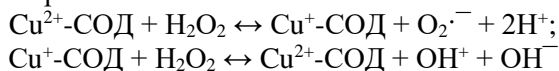
ТБК-позитивні продукти, мкмоль/мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	0,032±0,008	0,055±0,005*	0,029±0,002
14-та доба	0,033±0,001	0,047±0,003**	0,029±0,002
20-та доба (реабілітація)	0,032±0,002	0,075±0,008***	0,052±0,003***
Супероксиддисмутаза, од. активності/мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	662,746±89,195	713,164±79,533	1267,520±117,543**
14-та доба	658,367±46,332	1315,537±41,635***	988,169±158,234*
20-та доба (реабілітація)	763,732±75,900	369,981±82,218*	591,339±97,784
Каталаза, мкмоль H₂O₂/ хв мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	0,123±0,002	0,098±0,002***	0,113±0,001***
14-та доба	0,135±0,006	0,128±0,004	0,125±0,004
20-та доба (реабілітація)	0,119±0,002	0,145±0,004***	0,147±0,003***
Глутатіонпероксидаза, мкмоль G-SH/хв мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	86,358±18,997	62,337±11,830	65,725±8,700
14-та доба	106,516±3,017	101,906±18,319	70,779±14,781*
20-та доба (реабілітація)	109,482±14,350	165,895±19,813*	70,458±6,079*

Примітки: * – p ≥ 0,95; ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

Під час реабілітаційного періоду введення розчину ГХН (концентрацією 10 мг/л) в організм припиняється, а отже, переривається і штучне знешкодження продуктів ліпопероксидації, які, у свою чергу, призводять до продовження ланцюгів процесу ПОЛ.

З огляду на вищесказане, зміни, які відбуваються у клітинах селезінки за дії ГХН, будуть відображатися на роботі всього організму і, в першу чергу, імунної системи.

Щоденне введення птахам розчину ГХН у концентрації 5 мг/л на 7-му добу досліду призводить до інтенсифікації процесів ПОЛ у селезінці (на 72 %), проте СОД активність у цей час залишається на рівні контролю (див. табл. 4.5). На 14-ту добу інтенсивність вільнорадикальних реакцій за цієї концентрації досліджуваного розчину знижується, порівняно із 7-ю добою, але не досягає рівня контролю. Таке зниження інтенсивності процесів ліпопероксидації пояснюють достовірним зростанням СОД активності на 100 % порівняно з контролем. Слід зауважити, що під час реабілітаційного періоду вміст ТБК-позитивних продуктів значно підвищується, а СОД активність спадає на 52 % щодо контролю (див. табл. 4.5). Ймовірно, зростання СОД активності на 14-ту добу досліду виявило прооксидантну дію на клітини селезінки курей і тому після реабілітаційного періоду активність досліджуваного ензиму спадає нижче контролю:



За нашими результатами дослідження можна твердити, що дія ГХН концентрацією 5 мг/л порушує прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у клітинах селезінки курей, який не повертається до норми навіть після реабілітаційного періоду.

У разі випоювання птахам ГХН концентрацією 10 мг/л інтенсивність процесів ПОЛ у селезінці курей залишається в межах контролю як на 7-му, так і на 14-ту доби досліду, тоді як СОД активність протягом цього часу зростає (на 89 та 50 %, відповідно) щодо контрольних позначок. Після припинення введення в організм розчину ГХН на 20-ту добу досліду інтенсивність процесів ліпопероксидації достовірно зростає щодо контролю. Під час дослідження СОД на даному етапі досліду встановлено, що її активність недостовірно спадає на 23 % щодо контролю. Отже, дія вищої концентрації ГХН приводить до активації СОД і, відповідно, до елімінації супероксид-аніон радикала, котрий ініціює процеси вільнорадикальних реакцій у клітинах селезінки, в результаті чого інтенсивність процесів ПОЛ у даному органі не зростає до 14-ї доби досліду. Після припинення введення в організм курей ГХН (10 мг/л) СОД активність повертається до меж контролю до 20-ї доби реабілітаційного періоду, а інтенсивність процесів ліпопероксидації зростає внаслідок порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги.

Випоювання курям досліджуваних розчинів ГХН на 7-му добу досліду призводить до незначного достовірного спадання КАТ активності у селезінці щодо контролю (див. табл. 4.5). Варто зазначити, що під час реабілітаційного періоду КАТ активність трохи підвищується, що свідчить

про утворення в цей час надмірної кількості H_2O_2 , який елімінує даний ензим.

Відомо, що дія ензиму ГПО спрямована на знешкодження в організмі незначних кількостей H_2O_2 , пероксинітритів, а також на видалення первинних продуктів ліпопероксидації – гідропероксидів.

У разі випоювання ГХН концентрацією 10 мг/л на 14-ту добу досліду встановлено достовірне ($p \geq 0,95$) зниження ГПО активності на 34 % щодо контролю (див. табл. 4.5). На 20-ту добу досліду після припинення введення розчину ГХН у концентрації 5 мг/л ГПО активність зростає на 52 % (див. табл. 4.5). Випоювання розчину ГХН концентрацією 10 мг/л на 20-ту добу реабілітаційного періоду призводить до достовірного ($p \geq 0,95$) спадання ГПО активності на 35 % (див. табл. 4.5).

Отже, на 7-му добу досліду за дії ГХН концентрацією 5 мг/л СОД активність перебуває у межах контролю, тому, ймовірно, H_2O_2 є у невеликих кількостях і знешкоджується ГПО. У цей час КАТ активність суттєво знижується.

На прикладі селезінки досліджено тісноту взаємозв'язку між показниками процесів ПОЛ і активності ензимів АОС. Кореляційний аналіз підтвердив тісний зв'язок між ГПО і КАТ ($r=-0,7239$), що свідчить про злагоджену роботу цих двох ензимів (табл. 4.6). На 14-ту добу дії ГХН СОД активність значно зростає, що свідчить про утворення великої кількості H_2O_2 , проте КАТ і ГПО активність не зростає, що може свідчити про взаємодію пероксиду водню зі самим ГХН: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{OCl}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{Cl}^- + {}^1\text{O}_2$.

У даній реакції утворюється ${}^1\text{O}_2$, який може спричиняти вільнорадикальне окиснення ліпідів, що підтверджується нашими дослідженнями [216].

На 14-ту добу досліду в кореляційній залежності перебувають ТБК-позитивні продукти і КАТ та ГПО, що підтверджує підвищення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації, тоді як КАТ і ГПО активності не зростають (див. табл. 4.6).

Після припинення випоювання ГХН птахам СОД активність суттєво знижується, тоді як КАТ і ГПО активності достовірно зростають. Ймовірно, вміст H_2O_2 зростає внаслідок підвищення роботи ксантинооксидази і флавінових оксидаз, яким притаманне двохелектронне відновлення O_2 , а також у реакції дисмутації $\text{O}_2^{\cdot-}$ без участі СОД.

За дії ГХН у концентрації 10 мг/л відбувається активація ензиму СОД до 14-ї доби досліду й утворення великої кількості H_2O_2 , який, ймовірно, вступає в реакцію з ГХН. Після припинення введення ГХН H_2O_2 , що утворюється під час дії СОД, елімінується каталазою, в той час як ГПО активність знижується, хоча інтенсивність вільнорадикального окиснення ліпідів зростає. Кореляційний аналіз підтвердив негативний кореляційний зв'язок між КАТ і ГПО ($r=-0,5716$).

Таблиця 4.6

Кореляційний аналіз залежності досліджуваних показників за дії гіпохлориту натрію в селезінці птахів

Контроль												
7-ма доба					14-та доба				20-та доба			
	ТБК	СОД	КАТ	ГПО	ТБК	СОД	КАТ	ГПО	ТБК	СОД	КАТ	ГПО
ТБК	1				1				1			
СОД	-0,688	1			0,417	1			0,106	1		
КАТ	-0,412	-0,211	1		0,837	-0,061	1		0,561	-0,720	1	
ГПО	-0,621	0,021	0,374	1	-0,023	-0,474	0,297	1	-0,101	0,241	-0,282	1
ГХН, 5 мг/л												
7-ма доба					14-та доба				20-та доба			
	ТБК	СОД	КАТ	ГПО	ТБК	СОД	КАТ	ГПО	ТБК	СОД	КАТ	ГПО
ТБК	1				1				1			
СОД	0,017	1			-0,412	1			0,527	1		
КАТ	0,264	0,060	1		-0,647	0,532	1		0,373	0,707*	1	
ГПО	-0,073	-0,105	-0,723	1	-0,803	0,295	0,434	1	-0,396	-0,4868	0,060	1
ГХН, 10 мг/л												
7-ма доба					14-та доба				20-та доба			
	ТБК	СОД	КАТ	ГПО	ТБК	СОД	КАТ	ГПО	ТБК	СОД	КАТ	ГПО
ТБК	1				1				1			
СОД	-0,204	1			-0,217	1			4,8 · 10 ⁻¹²	1		
КАТ	-0,460	-0,116	1		0,802	-0,353	1		-0,465	-0,193	1	
ГПО	0,523	0,260	-0,244	1	-0,909	-0,039	-0,579	1	-0,047	0,572	-0,571	1

Отже, дія ГХН призводить до порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в клітинах селезінки курей. Так, введення в організм ГХН у концентрації 5 мг/л призводить до значного підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів у клітинах селезінки. Дія ГХН концентрацією 10 мг/л протягом 14-ти днів не впливає на зміну інтенсивності процесів ПОЛ. ГХН призводить до порушення роботи ензимів антиоксидантної системи шляхом взаємодії з вільними радикалами, які є субстратами для даних ферментних систем.

Репродуктивна система є однією із найвразливіших до дії різноманітних впливів, оскільки в її органах постійно відбуваються процеси проліферації (мейотичний і мітотичний поділ), ріст і формування клітин. Тому вона може бути тест-системою для дії екзогенних чинників на проліферуючі клітини [385].

Нами встановлено, що ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів на 7-му добу на 41 %, проте

вже на 14-ту відбувається більш виражене зростання інтенсивності процесів ПОЛ, і вміст досліджуваних продуктів підвищується на 115 %. ГХН у вищій концентрації чинить значну прооксидантну дію як на 7-му, так і на 14-ту доби досліді (підвищення ТБК-позитивних продуктів на 108 і 99 %, відповідно; табл. 4.7). У розвитку дисфункції репродуктивної системи самців доведено важливу роль окисного стресу [403]. Ушкодження сім'яників в умовах генералізованого оксидативного

Таблиця 4.7

Показники прооксидантно-антиоксидантного стану сім'яників півнів у контролі та за дії гіпохлориту натрію в концентрації 5 і 10 мг/л на 7-му й 14-ту доби досліді (n=5)

ТБК-позитивні продукти, мкмоль/мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	0,072±0,008	0,102±0,008*	0,151±0,010***
14-та доба	0,071±0,009	0,155±0,008***	0,144±0,020*
Супероксиддисмутаза, од. активності/мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	13144,220±311,721	14056,320±256,000*	12881,390±243,437
14-та доба	13256,230±351,000	15235,240±412,300**	15838,100±567,873**
Каталаза, мкмоль H₂O₂/ хв мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	0,327±0,014	0,399±0,020*	0,455±0,065*
14-та доба	0,338±0,012	0,155±0,033***	0,047±0,005***
Глутатіонпероксидаза, мкмоль G-SH/хв мг протеїну			
Доба	Контроль; M±m, p	ГХН, 5 мг/л; M±m, p	ГХН, 10 мг/л; M±m, p
7-ма доба	269,000±10,220	369,300±11,200***	412,246±22,683***
14-та доба	283,360±16,200	563,266±32,064***	178,157±15,220***

Примітки: * – p ≥ 0,95; ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

та нітрозативного стресу за патологій (зокрема, цукрового діабету 1-го типу), спричиняють розвиток тестикулярної дисфункції, що зумовлює зменшення запліднювальної здатності [241]. У нормі основними джерелами активних форм кисню у спермі є лейкоцити і сперматозоїди. Утворення у сперматозоїдах невеликої кількості активних форм кисню відіграє позитивну роль у заплідненні (забезпечення енергією). Проте надмірна їхня кількість є потенційно токсичною для якості й функції сперми. Індуковане активними формами кисню пошкодження біомембран сперматозоїдів призводить до порушення їхньої функціональної активності (зниження рухливості, здатності зливатися з яйцеклітинами), пошкодження ДНК сперматозоїдів ставить під загрозу внесок батька в геном ембріона [403]. Тому ГХН, який вносить у сім'яники активний

кисень, чинить ушкоджувальну дію, що буде відобразитися на репродуктивній функції півнів. Науковець G. A. Tawadrous у своїх дослідях встановив, що у безплідних чоловіків у сім'яниках підвищується вміст малонового діальдегіду (тобто ТБК-позитивних продуктів) і знижується активність СОД, КАТ, ГПО й аскорбінової кислоти [134]. У науковій літературі зазначено, що мембранна цілісність є важливою у підтриманні життєздатності сперматозоїдів, сигналізації та рухливості, які є важливими для запліднення. Сперма дуже чутлива до оксидативного стресу, оскільки вона багата на поліненасичені жирні кислоти і не здатна синтезувати й відновлювати багато основних компонентів мембран. Додавання у середовище зі сперматозоїдами H_2O_2 зменшує мітохондріальний внутрішній мембранний потенціал, контрольований за допомогою барвника MCSR Tracker JC-1 у проточній цитометрії [32]. За допомогою гістологічних досліджень показано, що впоювання півням високочистого розчину ГХН ("ВетОкс1000") у концентрації 5 мг/л не викликає достовірних змін у структурі сім'яних каналців, інтерстиції та клітинах Лейдига, а концентрації розчину 10 і 20 мг/л спричиняють розвиток дистрофічних змін у клітинах сперматогенного епітелію з подальшим їхнім відшаруванням і набряканням міжканальцевої сполучної тканини [293].

Вивчаючи стан АОС сім'яників, встановили, що СОД активність за дії ГХН вищої концентрації зростає на 19 % тільки на 14-ту добу, проте за впливу нижчої концентрації підвищення показника відбувається як на 7-му, так і на 14-ту доби досліді на 7 і 15 % відповідно (див. табл. 4.7). Таке зростання СОД активності є незначне, що свідчить про несуттєве підвищення вмісту супероксид-аніон радикала. Дані результати свідчать також, що структура самого ензиму за дії ГХН є неушкодженою.

Нами встановлено порушення роботи КАТ і ГПО за дії оксиданта. Так, КАТ активність на 7-му добу досліді зростає на 22 % – за впливу нижчої концентрації, та на 39 % – за дії вищої концентрації ГХН. Проте вже на 14-ту добу активність цього ензиму знижується на 54 і 86 %, відповідно (див. табл. 4.7). ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює зростання ГПО активності впродовж досліді, проте більш виражена інтенсифікація відбувається на 14-ту добу (на 99 %). Дезінтоксикант у концентрації 10 мг/л веде до зростання активності цього ензиму на 7-му добу (на 53 %) та до зниження на 14-ту (на 37 %). Такі зміни відбуваються на тлі зростання, хоч і незначного, СОД активності, в результаті роботи якої утворюється пероксид водню. Отже, робота АОС узгоджена за дії ГХН у концентрації 5 мг/л, зважаючи на те, що за H_2O_2 конкурує КАТ і ГПО (за низьких концентрацій пероксид водню знешкоджується ГПО, активність якої зростає упродовж досліді). За дії ГХН у концентрації 10 мг/л відбуваються більш виражені негативні зміни в системі ПОЛ–АОС сім'яників півнів. Так, на 14-ту добу досліді на тлі зростання СОД

активності, КАТ і ГПО активності знижуються, що може свідчити про ушкодження структури ензиму шляхом ініціації оксидативної модифікації протеїнів; про інактивацію (перехоплення) іонів Fe та Se, які входять до складу активного центру каталази і глутатіонпероксидази, відповідно; про порушення експресії цих ензимів; про зменшення пулу відновленого глутатіону, який потрібний для нормальної роботи ГПО.

Застосувавши кореляційний аналіз, ми встановили, що між ТБК-позитивними продуктами та СОД у сім'яниках птахів на 7-му добу досліду за дії ГХН у концентрації 10 мг/л встановлюється сильний негативний кореляційний зв'язок ($r=-0,7$), тоді як у контролі він слабкий (табл. 4.8). Слід нагадати, що в цей час вміст ТБК-позитивних продуктів значно підвищується, а СОД активність залишається на рівні контролю з тенденцією до зниження. Це свідчить про прямий вплив ТБК-позитивних продуктів на роботу СОД. На 14-ту добу досліду за дії ГХН у концентрації 10 мг/л ще посилюється кореляція між КАТ і ГПО ($r=0,85$). Коефіцієнт кореляції має знак «+», що свідчить про односпрямовані процеси. Ці результати підтверджують, що зниження КАТ і ГПО активності є взаємопов'язаними за рахунок ушкодження структури ензиму.

Таблиця 4.8

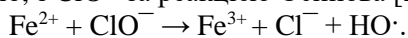
Результати кореляційного аналізу досліджуваних показників за дії гіпохлориту натрію у сім'яниках півників

Показник	7-ма доба; контроль	7-ма доба; ГХН, 5 мг/л	7-ма доба; ГХН, 10 мг/л	14-та доба; контроль	14-та доба; ГХН, 5 мг/л	14-та доба; ГХН, 10 мг/л
ТБК-позитивні продукти–Супероксиддисмутаза	-0,06	0,09	-0,70	0,65	-0,81	-0,44
ТБК-позитивні продукти–Каталаза	-0,34	0,44	-0,46	0,45	-0,05	0,02
ТБК-позитивні продукти–Глутатіонпероксидаза	-0,60	0,72	0,43	-0,79	0,07	0,10
Супероксиддисмутаза–Каталаза	-0,11	0,18	0,73	0,68	0,42	0,26
Супероксиддисмутаза–Глутатіонпероксидаза	-0,07	0,72	-0,15	-0,18	-0,15	0,03
Каталаза–Глутатіонпероксидаза	0,30	0,55	0,10	-0,40	-0,31	0,85

Зростає кореляційна залежність за дії ГХН у концентрації 5 мг/л на 7-му добу досліду. Так, між ТБК-позитивними продуктами і ГПО є сильний кореляційний зв'язок ($r=0,72$). Таку саму кореляційну залежність виявлено між СОД і ГПО активністю. Середня тіснота кореляційного зв'язку встановлюється між показниками КАТ і ГПО ($r=0,55$). Ці результати свідчать про узгоджені зміни у сім'яниках між процесами ліпопероксидації й активністю всіх досліджуваних ензимів системи АОЗ: на інтенсифікацію процесів ПОЛ реагують ензими АОС.

Отже, ГХН у концентрації 5 і 10 мг/л у сім'яниках птахів зумовлює зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів упродовж досліду й активацію ензиму СОД. ГХН у концентрації 5 мг/л веде до зростання КАТ активності на 7-му добу досліду та спадання на 14-ту добу на фоні зростання ГПО активності. За дії ГХН у концентрації 10 мг/л на 7-му добу досліду КАТ і ГПО активності підвищуються, тоді як на 14-ту – знижуються. Такі зміни будуть відображатися на якості сперми, оскільки відомо, що вона взаємопов'язана зі станом антиоксидантного захисту, а розлад механізмів регуляції процесів вільнорадикального окиснення ліпідів може бути одним із патогенетичних чинників порушення репродуктивної функції птахів [389]. Khan у своїх дослідях показав, що випоювання перепелам ГХН у концентрації 400 мг/л і вище зменшує масу й об'єм сім'яників [67].

Нами проведено однофакторний дисперсійний аналіз. Досліджуваним фактором був ГХН. Відомо, що цей аналіз дає змогу обчислити частку впливу екзогенного чинника і частку впливу неврахованих факторів. Отже, нами встановлено значну частку впливу ГХН на процеси ПОЛ у сім'яниках (81 %), селезінці (95 %), печінці (79 %) птахів (рис. 4.3). Це свідчить про пряму дію дезінтоксиканта на вміст ТБК-позитивних продуктів. Селезінка та печінка – це депо крові. У селезінці знешкоджуються еритроцити і відбувається вивільнення з них іонів Fe, які взаємодіють, ймовірно, з ClO^- за реакцією Осипова [245]:



У такій реакції утворюється гідроксильний радикал ($\text{HO}\cdot$), який є найбільш реакційноздатним і «шкідливим» активним кисневим метаболітом. Цей радикал, як і всі інші, зумовлює інтенсифікацію процесів ПОЛ. Селезінка та печінка є потенційними носіями великих кількостей іонів Fe, які є причиною ушкодження тканин цих органів гіпохлоритом натрію.

Частка впливу ГХН на вміст ТБК-позитивних продуктів у нирці та легені є нижчою і становить 44 й 42 %, що свідчить про опосередковану дію чинника на цей показник (див. рис. 4.3). Відомо, що кінцевий етап обміну речовин полягає у виділенні з організму продуктів обміну через нирки, легені, потові залози та шлунково-кишковий тракт [286]. Тому, ймовірно, шкідливу дію на прооксидантний стан нирки і легені чинять метаболіти гіпохлориту натрію, які утворюються в організмі. Проте відомо, що основне джерело хімічної енергії в нирках – це вуглеводи. У вивільненні енергії переважає аеробний шлях і пов'язане з ним окисне фосфорилування. Частина енергії нирки отримують за рахунок розпаду ліпідів, особливо жирів [286]. Це свідчить, ймовірно, що нирки є менш чутливими до оксидантів, як і легені, котрі постійно контактують з киснем.

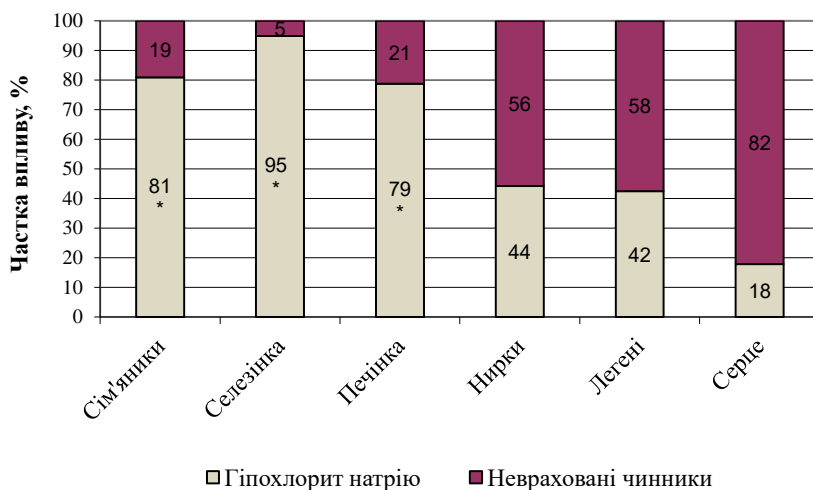


Рис. 4.3. Результати однофакторного дисперсійного аналізу впливу гіпохлориту натрію на вміст ТБК-позитивних продуктів у тканинах різних органів птахів (* – $p \geq 0,95$)

Найменш чутливим до дії ГХН є серце курей (див. рис. 4.3). Так, частка його впливу становить тільки 18%. Відомо, що найбільше мітохондрій є у постійно працюючому серцевому м'язі. Серцевий м'яз містить приблизно удвічі більше холестерину і фосфатидів, ніж скелетна мускулатура. Частину енергії у вигляді АТФ серцевий м'яз отримує внаслідок окиснення жирних кислот і гідрооксикислот, а також реакцій пентозного шляху. Переважання в серцевому м'язі аеробних процесів енергозабезпечення над анаеробними приводить до того, що під час розпаду глікогену в ньому накопичується значна кількість молочної кислоти. Крім того, в серці інтенсивно окиснюється молочна кислота, яку доставляє кров по системі коронарних судин. Під час посиленої роботи скелетних м'язів утворена в них молочна кислота частково надходить у кров. У печінці вона перетворюється на глікоген, а в серцевому м'язі – піддається аеробному окисненню. Навіть незначні зміни ритму роботи серця призводять до порушення кровообігу, що викликає істотні зміни у забезпеченні організму киснем і поживними речовинами [286]. Сукупність цих факторів зумовлює низьку чутливість серцевого м'яза до екзогенних чинників.

Потужний вплив ГХН на СОД активність встановлено у селезінці, печінці та легені, де частка дії становить 52, 71 і 53% відповідно (рис. 4.4). Проте значний вплив дезінтоксиканта виявлено і на роботу ензиму в сім'яниках (32%), нирці (49%), серці (43%). Отже, ГХН прямо впливає на СОД активність в організмі птахів.

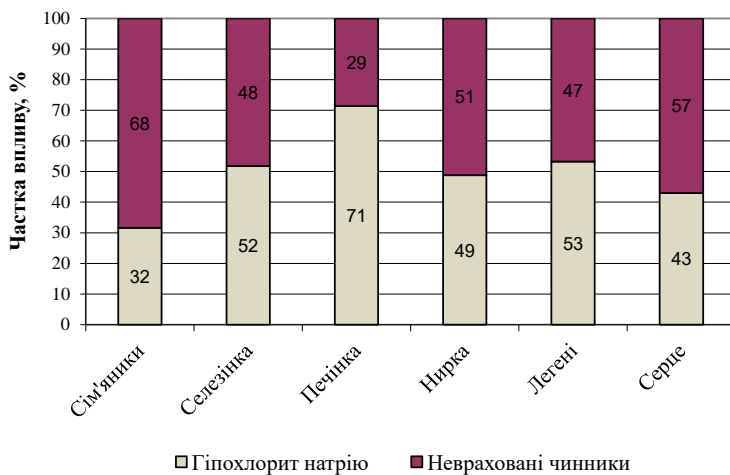


Рис. 4.4. Результати однофакторного дисперсійного аналізу впливу гіпохлориту натрію на супероксиддисмутазну активність у тканинах різних органів птахів

Нами встановлено, що у легені, серці та нирці курей на КАТ активність потужну дію чинить ГХН, частка впливу якого становить 77, 50 і 56 %, відповідно. Найменший вклад ГХН чинить на роботу КАТ у сім'яниках птахів (6 %; рис. 4.5). Ймовірно, у сім'яниках зміни роботи КАТ пов'язані з впливом метаболітів ГХН.

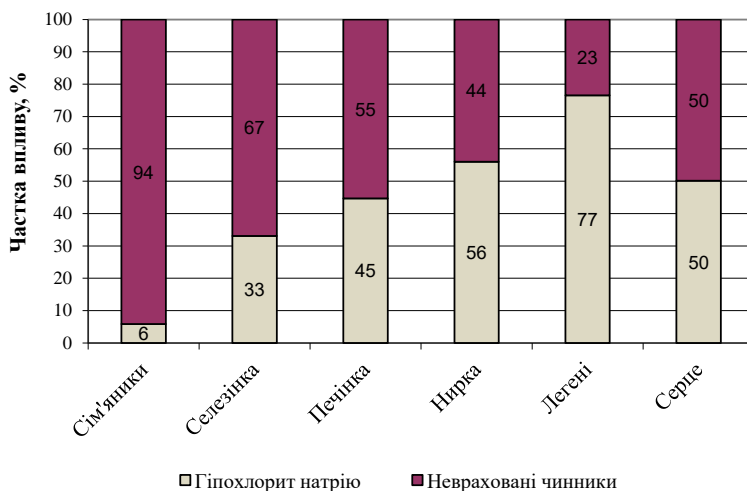


Рис. 4.5. Результати однофакторного дисперсійного аналізу впливу гіпохлориту натрію на каталазну активність у тканинах різних органів птахів

Посередню дію ГХН на ГПО активність виявлено у сім'яниках, селезінці та нирці птахів. Частка впливу становить 49, 44, 35 %, відповідно (рис. 4.6). Менша частка дії дезінтоксиканта є у печінці (23 %) та легені (23 %). Це свідчить про опосередкований вплив ГХН на ГПО. Ймовірно, структура ензиму не ушкоджується гіпохлоритом натрію. ГПО знешкоджує пероксид водню, гідропероксиди. Його робота залежить від вмісту селену та GSH. Тому порушення роботи ГПО може бути пов'язане зі зниженням вмісту цих речовин. Крім того, згадані сполуки можуть самі реагувати з ГХН.

Отже, ГХН безпосередньо впливає на процеси ПОЛ у сім'яниках, селезінці та печінці. На КАТ і СОД активність усіх органів, крім сім'яників, впливає ГХН. Менш виражену дію ця сполука має на ГПО активність.

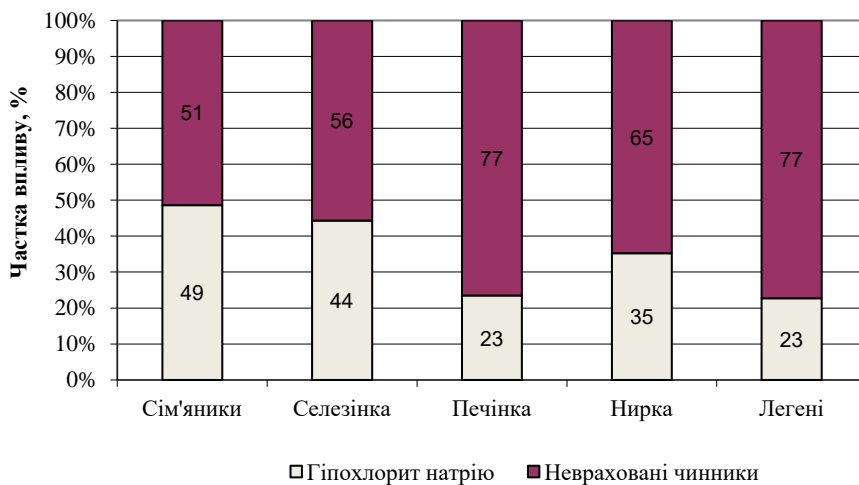


Рис. 4.6. Результати однофакторного дисперсійного аналізу впливу гіпохлориту натрію на глутатіонпероксидазну активність у тканинах різних органів птахів

Для визначення подібного впливу ГХН на різні органи птахів було проведено кластерний аналіз. Даний аналіз застосовано для дії ГХН у концентрації 5 мг/л і окремо для впливу ГХН у концентрації 10 мг/л. Для нівелювання різних рівнів ТБК-позитивних продуктів і СОД, КАТ і ГПО активності у різноманітних органах птахів ми перевели досліджувані показники у відсоткові відношення, порівняно з контролем. Встановлено, що всі експериментальні групи за дії ГХН у концентрації 5 мг/л за показниками ПОЛ–АОС об'єднуються у 12 кластерів подібності. Проте лише четвертий кластер об'єднує в собі 5 досліджуваних груп: нирка, 7-ма доба; печінка, 7-ма доба; печінка, 14-та доба; селезінка, 7-ма доба;

сім'яники, 7-ма доба (табл. 4.9). Отже, можна зробити висновок, що ГХН подібно впливає на показники у різних органах на 7-му добу досліду, де незначно зростає вміст ТБК-позитивних продуктів і СОД, трохи знижується КАТ і ГПО активність (табл. 4.10). У 11-й кластер об'єднано групи: серце, 14-та доба; серце, 20-та доба. Варто зазначити, що у серці як на 14-ту, так і на 20-ту доби (після реабілітації) інтенсивність процесів ліпопероксидації та робота ензимів АОС є подібною. Так, КАТ активність зростає, а ГПО активність знижується (див. табл. 4.9; 4.10).

Отже, у серці відбуваються найменш виражені динамічні зміни за довготривалого введення ГХН (на 14-ту добу) та після реабілітаційного періоду. Інші дослідні групи утворюють єдині кластери, в які входять лише ці групи. У цих групах зміни вмісту ТБК-позитивних продуктів і СОД, КАТ та ГПО активності є індивідуальними.

Таблиця 4.9

Розподіл експериментальних груп птахів, яким вводили ГХН у концентрації 5 мг/л у кластери за показниками, що характеризують прооксидантно-антиоксидантний стан

Група	ТБК-позитивні продукти, % щодо контролю	Супероксиддисму-таза, % щодо контролю	Каталаза, % щодо контролю	Глутатіонпероксидаза, % щодо контролю	Кластер
Легеня; ГХН, 5 мг/л; 7-ма доба	78	81	164	179	1
Легеня; ГХН, 5 мг/л; 14-та доба	54	20	144	82	2
Легеня; ГХН, 5 мг/л; 20-та доба	222	83	226	81	3
Нирка; ГХН, 5 мг/л; 7-ма доба	132	139	94	93	4
Нирка; ГХН, 5 мг/л; 14-та доба	291	23	108	266	5
Нирка; ГХН, 5 мг/л; 20-та доба	292	136	111	65	6
Печінка; ГХН, 5 мг/л; 7-ма доба	124	86	62	80	4
Печінка; ГХН, 5 мг/л; 14-та доба	97	105	119	101	4
Печінка; ГХН, 5 мг/л; 20-та доба	127	278	57	92	7
Селезінка; ГХН, 5 мг/л; 7-ма доба	172	108	80	72	4
Селезінка; ГХН, 5 мг/л; 14-та доба	148	200	94	96	8
Селезінка; ГХН, 5 мг/л; 20-та доба	235	48	122	152	9
Серце; ГХН, 5 мг/л; 7-ма доба	154	128	306	73,18	10
Серце; ГХН, 5 мг/л; 14-та доба	96	113	151	47,78	11
Серце; ГХН, 5 мг/л; 20-та доба	102	68	130	47,78	11
Сім'яники; ГХН, 5 мг/л; 7-ма доба	141	107	122	137	4
Сім'яники; ГХН, 5 мг/л; 14-та доба	215	115	46	199	12

Провівши кластеризацію експериментальних груп птахів, які вживали ГХН у концентрації 10 мг/л, встановили утворення чотирьох об'єднань за показниками ПОЛ–АОС. У 1-й кластер увійшли значення ТБК-позитивних продуктів, СОД, КАТ, ГПО у легені на 7-му добу досліду та в серці на 20-ту добу. Водночас у зазначених органах

Таблиця 4.10

Усереднення показників, що характеризують прооксидантно-антиоксидантний стан, у кластерах експериментальних груп птахів за впливу ГХН у концентрації 5 мг/л

Кластер	Кількість груп у кластері	ТБК-позитивні продукти, М±m, p	Супероксид-дисмутаза, М±m, p	Каталаза, М±m, p	Глутатіон-пероксидаза, М±m, p
1	1	78,000	81,000	164,000	179,000
2	1	54,000	20,000	144,000	82,000
3	1	222,000	83,000	226,000	81,000
4	5	133,200±12,171 ***	109,000±8,515 ***	95,400±11,444 ***	96,600±11,281 ***
5	1	291,000	23,000	108,000	266,000
6	1	292,000	136,000	111,000	65,000
7	1	127,000	278,000	57,000	92,000
8	1	148,000	200,000	94,000	96,000
9	1	235,000	48,000	122,000	152,000
10	1	154,000	128,000	306,000	73,179
11	2	99,000±3,000 ***	90,500±22,500	140,500±10,500 ***	47,800±0,001 ***
12	1	215,000	115,000	46,000	199,000

Примітка: *** – p ≥ 0,999

спостерігали тенденцію до зниження вільнорадикальних процесів. Експериментальні групи об'єднує 2-й кластер: легеня, 14-та доба та легеня, 20-та доба, де відбувається зростання вмісту ТБК-позитивних

продуктів, КАТ і ГПО активності (табл. 4.11; 4.12). Це свідчить про те, що легені мають добре розвинену систему АОЗ, яка швидко реагує на зростання інтенсивності процесів ПОЛ.

До 3-го кластеру програма залучила велику кількість досліджуваних груп птахів (а саме їхніх органів) за показниками, які характеризують прооксидантно-антиоксидантний стан. Сюди увійшли: нирки на 7-му, 14-ту, 20-ту доби; печінка на 7-му, 14-ту, 20-ту доби; селезінка на 7-му, 14-ту, 20-ту доби; серце на 7-му добу і сім'яники на 7-му та 14-ту доби. Отже, у цих органах на зазначені доби досліді у вмісті ТБК-позитивних продуктів, СОД, КАТ, ГПО активності відбуваються подібні зміни (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

Розподіл експериментальних груп птахів, яким вводили ГХН у концентрації 10 мг/л, у кластери за показниками, що характеризують прооксидантно-антиоксидантний стан

Група	ТБК-позитивні продукти, % щодо контролю	Супероксиддисмутаза, % щодо контролю	Каталаза, % щодо контролю	Глутатіонпероксидаза, % щодо контролю	Кластер
Легеня, ГХН 10 мг/л, 7-ма доба	62	70	62	71	1
Легеня, ГХН 10 мг/л, 14-та доба	114	28	114	367	2
Легеня, ГХН 10 мг/л, 20-та доба	122	132	141	262	2
Нирка, ГХН 10 мг/л, 7-ма доба	173	129	112	109	3
Нирка, ГХН 10 мг/л, 14-та доба	120	255	124	91	3
Нирка, ГХН 10 мг/л, 20-та доба	121	159	124	144	3
Печінка, ГХН 10 мг/л, 7-ма доба	153	79	58	82	3
Печінка, ГХН 10 мг/л, 14-та доба	134	76	77	156	3
Печінка, ГХН 10 мг/л, 20-та доба	195	199	53	163	3
Селезінка, ГХН 10 мг/л, 7-ма доба	93	189	92	76	3
Селезінка, ГХН 10 мг/л, 14-та доба	89	150	93	66	3
Селезінка, ГХН 10 мг/л, 20-та доба	164	77	124	65	3
Серце, ГХН 10 мг/л, 7-ма доба	183	104	169	65,54	3
Серце, ГХН 10 мг/л, 14-та доба	81	151	335	73,18	4
Серце, ГХН 10 мг/л, 20-та доба	113	33	93	5,51	1
Сім'яники, ГХН 10 мг/л, 7-ма доба	208	98	139	153	3
Сім'яники, ГХН 10 мг/л, 14-та доба	199	119	14	63	3

В окремих 4-й кластер потрапило серце на 14-ту добу досліду за досліджуваними показниками, що свідчить про особливий вплив ГХН у концентрації 10 мг/л. Водночас у серці знижується вміст ТБК-позитивних продуктів, зростає СОД, КАТ, спадає – ГПО активність (див. табл. 4.12).

Таблиця 4.12

Усереднення показників, що характеризують прооксидантно-антиоксидантний стан, у кластерах експериментальних груп птахів за впливу ГХН у концентрації 10 мг/л

Кластер	Кількість груп у кластері	ТБК-позитивні продукти, М±m, p	Супероксид-дисмутаза, М±m, p	Каталаза, М±m, p	Глутатіон-пероксидаза, М±m, p
1	2	87,500±25,500	51,500±18,500	77,500±15,500	38,253±32,747
2	2	118,000±4,000 ***	80,000±52,000	127,500±13,500 *	314,500±52,500 *
3	12	152,700±11,840 ***	136,200±16,240 ***	98,250±12,350 ***	102,800±11,597 ***
4	1	81,000	151,000	335,000	73,180

Примітки: * – p ≥ 0,95; *** – p ≥ 0,999

Отже, у серці та легені за дії ГХН у концентрації 10 мг/л є відмінна динаміка змін прооксидантно-антиоксидантного стану, порівняно з ниркою, печінкою, селезінкою і сім'яниками птахів. Відомо, що під час нападу ядухи, згідно з Уніфікованим протоколом екстреної медичної допомоги, використовують 100 %-ний кисень. З цією метою застосовують портативний балон Activox, який швидко збільшує парціальний тиск кисню в альвеолярному повітрі до 300 мм рт. ст., за рахунок чого відбувається швидше насичення киснем гемоглобіну [362]. Це підтверджує думку, що легені пристосовані до активного кисню, який можна вносити додатково в організм, зокрема, через розчин ГХН. Щодо серцевого м'яза, то в науковій літературі зазначено, що він може підвищувати свою стійкість до повторної ішемії (відбувається своєрідне тренування). Такий процес позначають науковим терміном «прекондиціонування». Прекодиціонування можуть викликати велика кількість екзогенних факторів фізичної (гіпоксія, гіпероксія, гіпертермія), хімічної (засоби для інгаляційного наркозу, активатори К_{АТФ}-каналів, інгібітори протеасоми та ін.) і біологічної природи (ліпополісахариди бактерій); а також ендогенних факторів – аденозин, оксид азоту,

брадикінін, ацетилхолін та ін. [171]. Механізм розвитку прекодиціонування і посткодиціонування (навмисне викликання станів короточасної реперфузії–ішемії, які чергуються, для підвищення стійкості серця) на клітинному рівні є дуже складним і включає такі компоненти: 1) індуктори, або тригери (це всі чинники, які можуть зумовити прекодиціонування); 2) рецептори (велика кількість індукторів, зокрема, біологічно активних речовин, фармакологічних агентів, чинять свій вплив через мембранні рецептори, хоча є й такі, які обходяться без цього); 3) посередники (серед них особливо важливу роль відіграють протеїнкінази: протеїнкіназа С, мітогенактивована протеїнкіназа та ін., у зв'язку з чим їх ще називають кіназами виживання); 4) ефектори (основні ефекти прекодиціонування пов'язані з такими структурами кардіоміоцитів як сарколема, мітохондрії та ядро; фосфорилування білків цих структур під впливом численних протеїнкіназ спричиняє зміну їхніх властивостей і функціональної активності); 5) ефекти (важливе значення для захисту серця від ішемічного та реперфузійного ушкодження мають уповільнення метаболічних реакцій і підтримання іонного гомеостазу; рис. 4.7) [171]. Тому незначні зміни у серцевому м'язі, які відбуваються за дії ГХН, пов'язані зі здатністю цього органа пристосовуватися до екстремальних станів. Власне, через це і кластерний аналіз не об'єднує у загальні кластери серцевий м'яз на різні доби дослідів за показниками ПОЛ–АОС.

За допомогою кластерного аналізу можна зробити висновок, що ГХН у різних досліджуваних концентраціях по-різному діє на прооксидантно-антиоксидантний стан органів. Більш виражене інтенсивне зростання (понад 100%) процесів ПОЛ відбувається за дії ГХН у концентрації 5 мг/л у легені (після реабілітації), нирці, селезінці, сім'яниках порівняно із дезінтоксикантом у концентрації 10 мг/л (див. табл. 4.9–4.12). Проте значне зростання процесів ліпопероксидації спостерігають у сім'яниках і за дії ГХН у вищій концентрації [215, 216, 225, 227, 234–238].

Отже, нами встановлено посилення інтенсивності процесів ПОЛ у печінці курей на 7-му добу дослідів за дії ГХН у концентрації 10 мг/л. Підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів за впливу ГХН обох концентрацій відбувається після реабілітаційного періоду. Схожий ефект дії ГХН на вміст вторинних продуктів ПОЛ є у серцевому м'язі.

Варто відзначити, що ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює інтенсифікацію процесів ліпопероксидації упродовж дослідів в селезінці та нирці птахів. Після припинення дії ГХН обох концентрацій, знову ж таки, вміст ТБК-позитивних продуктів підвищується. У нирці інтенсифікація процесів ПОЛ відбувається і за впливу ГХН вищої досліджуваної

концентрації на 7-му добу досліді, з подальшим поверненням до меж контролю.

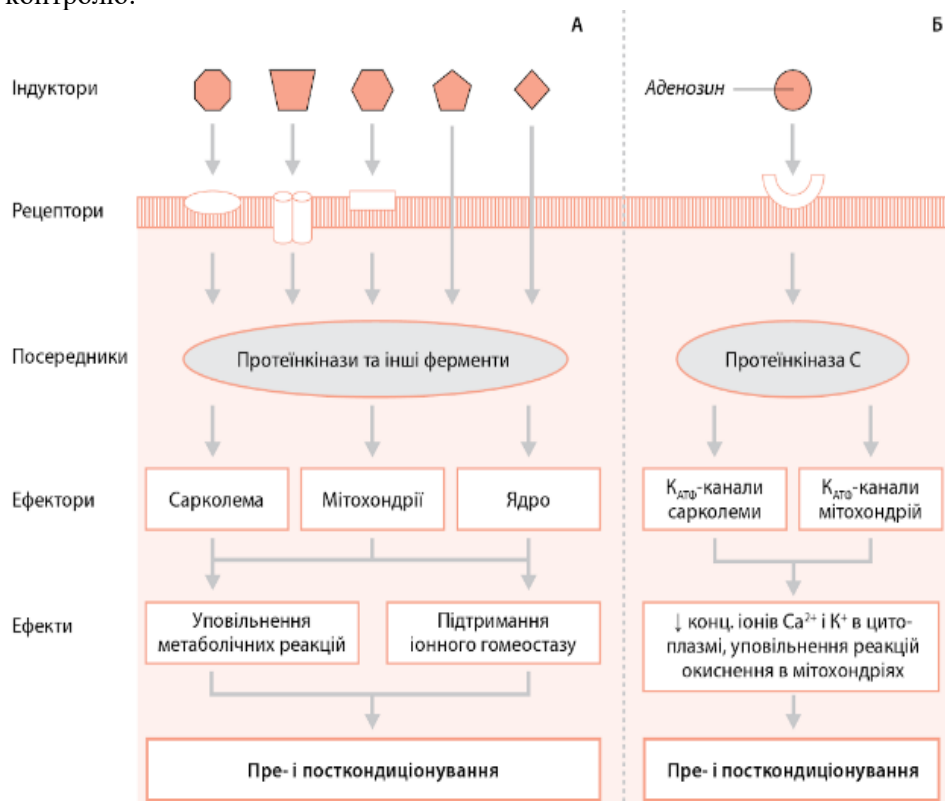


Рис. 4.7. Механізми пре- і посткондиціонування: А – загальна схема, Б – кардіопротекторна дія аденозину [171]

Значна інтенсифікація процесів ліпопероксидації упродовж 14-ти діб за дії ГХН обох концентрацій відбувається у сім'яниках півнів, що свідчить про особливу чутливість сім'яників до цієї речовини. Відомо, що сім'яники є високочутливими до різних хімічних сполук.

Зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів є негативним показником, оскільки відомо, що МДА здатний реагувати з ДНК, утворюючи ДНК-аддукти.

Введення ГХН в організм птахів зумовлює протилежний ефект у легені як на 7-му, так і на 14-ту доби досліді. Проте після реабілітаційного періоду вміст ТБК-позитивних продуктів підвищується. Відомо, що ГХН має здатність знешкоджувати утворені продукти ПОЛ, тому можна припустити, що вміст ТБК-позитивних продуктів знижується завдяки цим процесам.

Отже, ГХН зумовлює інтенсифікацію процесів ПОЛ у печінці, серцевому м'язі, селезінці, нирці, сім'яниках. Тоді як у легені – веде до спадання. ГХН у концентрації 5 мг/л більш виражено впливає на ПОЛ у селезінці, нирці, легені щурів. Ймовірно, ГХН вищої концентрації стимулює адаптаційні процеси у тканинах, тоді як ГХН у концентрації 5 мг/л цього не чинить. Інтенсивність процесів ПОЛ зростає після реабілітаційного періоду. Сім'яники є найбільш чутливими до дії ГХН.

Провівши однофакторний дисперсійний аналіз, встановили, що потужний вплив ГХН чинить на процеси ліпопероксидації у печінці, селезінці та сім'яниках. Низьку частку впливу ГХН на вміст ТБК-позитивних продуктів зафіксовано у серці курей. Відомо, що серцевому м'язу птахів притаманна висока репараційна здатність і що у печінці та селезінці є висока концентрація Fe, який взаємодіє з ClO^- , утворюючи $\text{HO}\cdot$.

На фоні незначного коливання рівня ПОЛ СОД активність залишається в межах контролю у печінці курей упродовж 14-ти діб введення ГХН. Проте після реабілітації СОД активність різко зростає.

Переважаючи інтенсифікацію роботи ензиму зафіксовано в селезінці й у серцевому м'язі на 7-му та 14-ту доби дослідю, зі спаданням СОД активності після реабілітаційного періоду.

Протилежний ефект на роботу СОД у нирці птахів зумовлює ГХН різних концентрацій. Так, ГХН у концентрації 5 мг/л веде до спадання ензиматичної активності на 14-ту добу дослідю, а ГХН у концентрації 10 мг/л – до зростання. У нирці тенденція до зростання СОД активності залишається і на 20-ту добу дослідю.

На фоні значної інтенсифікації процесів ПОЛ СОД активність незначно зростає у сім'яниках птахів, що свідчить про антиоксидантний дефіцит у цьому органі.

У легені виявлено спадання СОД активності за дії ГХН обох концентрацій на фоні зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів. Значне пригнічення роботи цього ензиму зафіксовано на 14-ту добу дії ГХН. Відомо, що легені містять ефективний потенціал захисту від екзогенного кисню й активних форм кисню (муцин, цистеїн, відновлений глутатіон та ін.), що зумовлює зниження інтенсивності процесів ПОЛ і роботи АОС.

Під час вивчення КАТ встановлено зростання її активності в нирці та серцевому м'язі, що свідчить про велику кількість H_2O_2 . У нирці ГПО активність є на рівні контролю, крім дії ГХН у концентрації 5 мг/л на 14-ту добу дослідю, де ГПО активність різко зростає на фоні підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів, що свідчить про утворення великих кількостей гідропероксидів, які цей ензим знешкоджує.

У печінці та селезінці курей КАТ активність трохи знижена на фоні роботи ГПО в межах норми, а подекуди і підвищена, що свідчить про

злагоджену роботу цих двох ензимів.

У тканинах легені КАТ активність зростає на 7-му, 14-ту, 20-ту доби досліду за дії ГХН у концентрації 5 мг/л на фоні спадання СОД активності. Пероксид водню, який знешкоджується КАТ, ймовірно, утворився під час роботи, наприклад, ксантинооксидази.

У сім'яниках, чутливих до ГХН, КАТ і ГПО, активність незначно зростає на 7-му добу дії цієї речовини, проте її 14-денне введення зумовлює спадання КАТ активності.

Отже, ГХН у тканинах організму веде до спадання СОД активності у легені та до порушення роботи ензиму в інших тканинах. За дії ГХН відбуваються зміни в КАТ і ГПО активності у досліджуваних органах.

Однофакторний дисперсійний аналіз показав, що на СОД активність приблизно однаково дію чинять ГХН і невраховані фактори, тоді як на ГПО переважає вплив неврахованих чинників. ГХН суттєво впливає на роботу КАТ у легенях, активність якої переважно зростає.

За допомогою кластерного аналізу встановлено, що ГХН у концентрації 5 мг/л веде до подібних змін у системі ПОЛ–АОС у нирці, печінці, селезінці та сім'яниках на 7-му добу досліду. Варто зазначити, що ГХН у концентрації 10 мг/л упродовж досліду чинить подібний ефект у цих органах.

Розділ 5.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ЗАРОДКОВИХ КЛІТИН В'ЮНА *MISGURNUS FOSSILIS* L. УПРОДОВЖ РАНЬОГО ЕМБРІОГЕНЕЗУ ЗА ВПЛИВУ ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ

Вивчали вплив ГХН на зародки в'юна *Misgurnus fossilis* L. через 60, 150, 210, 270, 330 хв після запліднення яйцеклітин під час стадій, які відповідають першому (2 бластомери), четвертому (16 бластомерів), шостому (64 бластомери), восьмому (256 бластомерів), десятому (1024 бластомери) дробленню зиготи. Овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам хоріогонічного гонадотропіну (500 од.). Ікру одержували через 36 год після стимуляції та запліднювали в чашках Петрі суспензією спермій за Нейфахом [105]. Сім'яники одержували після декапітації та розтину черевної порожнини самців із дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та науковою метою (Страсбург, Франція 1986) і згідно з “Загальними принципами роботи на тваринах”, затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001). Через 5–10 хв після запліднення відмиті зиготи інкубували у фізіологічному розчині Гольтфретера ($t=20-22$ °C). Після запліднення зиготи поміщали в чашки Петрі з розчином ГХН у концентраціях 0,5; 1; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5 мг/л, де залишали розвиватися. На етапах розвитку 2, 16, 64, 256 та 1024 бластомери відбирали зразки (стадії розвитку контролювали візуально під бінокулярним мікроскопом МБС-9) [388].

Зародки в'юна на різних стадіях розвитку гомогенізували за допомогою гомогенізатора Поттера-Ельвенгейма у розчині Гольтфретера. У відібраних зразках визначали вміст первинних продуктів ліпопероксидації – дієнових кон'югат (ДК) за методом Стальная [365], вторинних продуктів ПОЛ – ТБК-позитивних продуктів [259], оксидативну модифікацію протеїнів – за вмістом карбонільних груп протеїнів [316], СОД [291], КАТ [259], ГПО активність [346], ГТ [45] активності, вміст ВГ [356].

Mg^{2+} -залежні Na^+ , K^+ -АТФазу та Ca^{2+} -АТФазу активності у гетерогенній фракції плазматичних мембран (мікросомальній фракції) зародків визначали за модифікованим методом Фіске-Суббароу [33, 332, 382]. Гетерогенну фракцію отримували за методом, описаним у роботі М. Д. Луцика [304].

Кількість протеїну в кожному зразку визначали за методом Лоурі [83].

Виконували електронно-мікроскопічні дослідження зародків в'юна на етапах розвитку 2 та 1024 бластомери за дії ГХН у концентрації 0,5; 5; 12,5 мг/л.

Проводили порівняльний, кореляційний, регресійний, двофакторний дисперсійний аналіз. Визначали коефіцієнт варіації (Cv): $Cv = (\sigma/M) \cdot 100$ %,

де σ – середнє квадратичне відхилення, M – середнє значення вибірки. Чим менше значення C_v , тим стабільніший досліджуваний показник.

Для більш детального вивчення дії ГХН на клітинному рівні було обрано як тест-систему зародки в'юна упродовж раннього ембріогенезу, коли клітини діляться, але не диференціюються. У такому разі їх можна розглядати як універсальну модель еукаріотичної клітини, а зміни, які у них відбуваються за впливу екзогенних чинників, слід трактувати як такі, що характерні і для теплокровних.

Для вивчення прооксидантного впливу ГХН на зародки в'юна ми обрали для аналізу показники щодо ПОЛ, а саме ДК і ТБК-позитивні продукти, та щодо оксидативної модифікації протеїнів, зокрема, карбонільні групи протеїнів. ДК належать до первинних продуктів ПОЛ, тоді як ТБК-позитивні продукти – до вторинних.

Встановлено, що ГХН у концентрації 0,5 і 1 мг/л зумовлює підвищення вмісту ДК на 28 і 25 % у зародках в'юна на етапі розвитку 2 бластомери, тоді як у концентрації 7,5; 10 і 12,5 спричиняє зниження кількості продуктів ПОЛ на 10 % (табл. 5.1). Проте досліджуваний дезінтоксикант у низьких (0,5 і 1 мг/л) та високих (7,5; 10 мг/л) концентраціях підвищує вміст ТБК-позитивних продуктів на 48, 58, 68, 89 %, відповідно, і тільки за концентрації 12,5 мг/л – знижує на 38 % (табл. 5.2). Варто засвідчити, що ГХН у концентрації 2,5 і 5 мг/л не змінює інтенсивності процесів ліпопероксидації (за вмістом ДК і ТБК-позитивних продуктів).

Таблиця 5.1

Вміст дієнових кон'югат у зародках в'юна упродовж раннього ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію (n = 10; мкмоль/мг протеїну)

Дослідна група	Кількість бластомерів				
	2	16	64	256	1024
Контроль	0,0067± 0,0003	0,0186± 0,0003	0,0067± 0,0002	0,0060± 0,0002	0,0147± 0,0007
ГХН, 0,5 мг/л	0,0086± 0,0002***	0,0153± 0,0004***	0,0071± 0,0003	0,0076± 0,0006**	0,0050± 0,0001***
ГХН, 1 мг/л	0,0084± 0,0002***	0,0141± 0,0006***	0,0104± 0,0006***	0,0072± 0,0002***	0,0058± 0,0002***
ГХН, 2,5 мг/л	0,0069± 0,0002	0,0133± 0,0006***	0,0080± 0,0003**	0,0097± 0,0005***	0,0040± 0,0002***
ГХН, 5 мг/л	0,0069 ± 0,00006	0,0093± 0,0002***	0,0147± 0,0005***	0,0089± 0,0007**	0,0105± 0,00003***
ГХН, 7,5 мг/л	0,0061± 0,0001**	0,0078± 0,0001***	0,0119± 0,0002***	0,0077± 0,0005**	0,0086± 0,0001***
ГХН, 10 мг/л	0,0060± 0,0001**	0,0069± 0,0001***	0,0104± 0,0002***	0,0074± 0,0005**	0,0127± 0,0003**
ГХН, 12,5 мг/л	0,0053± 0,0002***	0,0057± 0,0003***	0,0092± 0,0002***	0,0085± 0,0003***	0,0113± 0,0003***

Примітки: ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

На етапі розвитку 16 бластомерів ГХН зумовлює дозозалежне зниження вмісту ДК, порівняно з контролем. Так, низькі концентрації спричиняють менш виражене пригнічення утворення ДК, а високі – більш виражене (0,5 мг/л – на 18 %; 1 мг/л – на 24 %; 2,5 мг/л – на 28 %; 5 мг/л – на 50 %; 7,5 мг/л – на 58 %; 10 мг/л – на 63 %; 12,5 мг/л – на 69 %). На цьому етапі розвитку дія дезінтоксиканта на вміст ТБК-позитивних продуктів є протилежною, порівняно з ДК. Зокрема, ми зафіксували підвищення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації за дії ГХН усіх концентрацій, крім концентрації 5 мг/л (зниження на 17 %). Найменш виражене підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів виявлено за найнижчої концентрації (на 9 %), а найбільш інтенсивне підвищення відбувається за концентрації 1 мг/л (див. табл. 5.1, 5.2). Різноспрямовані зміни вмісту первинних і вторинних продуктів ПОЛ пов'язані з трохи відмінними механізмами їхнього утворення. Згідно з пероксидною теорією Баха-Енглера та теорією ланцюгових реакцій Семенова термодинамічно нестійкі вільні радикали ($A\cdot$), намагаючись перейти у стійке положення, під час зіткнення з ненасиченими жирними кислотами (RH) насичують свою валентність і стабілізуються, перетворюючись на молекулярний продукт реакції (HA), але при цьому ненасичені жирні кислоти, втративши свої атоми, утворюють нові вільні радикали ($R\cdot$), які продовжують ланцюг реакцій [170, 361]: $A\cdot + RH \rightarrow R\cdot + HA$.

Таблиця 5.2

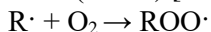
Вміст ТБК-позитивних продуктів у зародках в'юна упродовж раннього ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію (n = 10; мкмоль/мг протеїну)

Дослідна група	Кількість бластомерів				
	2	16	64	256	1024
Контроль	0,513±0,032	0,554±0,007	0,502±0,041	0,544±0,026	0,922±0,043
ГХН, 0,5 мг/л	0,759±0,028 ***	0,606±0,013 **	0,752±0,019 ***	0,579±0,008	0,607±0,017 ***
ГХН, 1 мг/л	0,812±0,026 ***	0,932±0,032 ***	0,808±0,023 ***	0,602±0,020 *	0,828±0,016 *
ГХН, 2,5 мг/л	0,557±0,032	0,709±0,012 ***	0,822±0,028 ***	0,579±0,016	0,876±0,022
ГХН, 5 мг/л	0,473±0,010	0,462±0,015 ***	0,633±0,026 **	0,788±0,024 ***	0,951±0,039
ГХН, 7,5 мг/л	0,861±0,018 ***	0,891±0,024 ***	0,954±0,026 ***	0,887±0,019 ***	0,879±0,024
ГХН, 10 мг/л	0,970±0,027 ***	0,821±0,031 ***	0,553±0,024	0,665±0,010 ***	0,609±0,010 ***
ГХН, 12,5 мг/л	0,328±0,015 ***	0,892±0,018 ***	0,951±0,035 ***	0,609±0,017 *	0,823±0,024 *

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

Відомо, що для розриву С–Н зв'язку необхідно затратити 93 ккал/моль (389 кДж/моль) енергії, а для розриву такого ж зв'язку при вуглецевому атомі з подвійним зв'язком – 89 ккал/моль (372 кДж/моль) енергії. Найменшу енергію (77 ккал/моль, або 322 кДж/моль) слід затратити, щоб відірвати Н-атом від вуглецю, який перебуває в α -положенні щодо подвійного зв'язку.

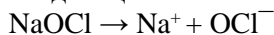
Вільний радикал жирної кислоти взаємодіє з молекулярним киснем, який постійно міститься у клітині, в результаті чого з'являється пероксидний радикал цієї кислоти ($\text{ROO}\cdot$) [170, 361].



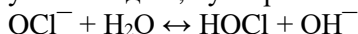
Пероксидний радикал (з вільною валентністю одного з атомів кисню, що дає їм можливість активувати неактивні молекули), у свою чергу, вступає у взаємодію з новою молекулою ненасиченої жирної кислоти, що міститься поруч. У ході цієї реакції утворюється гідропероксид (ROOH) і новий вільний радикал ($\text{ROO}\cdot + \text{RH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{R}\cdot$) [170, 361]. Проте під час відривання атома водню від вуглецю гамма-метиленової групи стосовно подвійного зв'язку може утворюватися система поєднаних (кон'югованих) подвійних зв'язків, яка виникає внаслідок розподілу вільної валентності між двома сусідніми атомами вуглецю, тобто виникають дієнові кон'югати. Дієнові кон'югати відзначаються високою активністю і, з великою швидкістю приєднуючи атоми водню, можуть перетворюватися на позиційні ізомери жирних кислот [361]. ТБК-позитивні продукти є маркерами малонового діальдегіду, які виступають вторинними продуктами ПОЛ. МДА утворюється з первинних продуктів, а саме з гідропероксидів ліпідів, які піддаються розпаду із розривами карбонового ланцюга [390]. Відомо, що гідропероксидів утворюється завжди більше, ніж ДК, що пов'язано зі стехіометричною можливістю (кількість Н-атомів біля α -вуглецевих атомів є завжди більшою, порівняно з подвійними зв'язками, між якими можуть утворитися спряжені подвійні зв'язки шляхом перерозподілу електронної густини). Оскільки енергія розриву С–Н зв'язку менша, окиснюються також поліненасичені жирні кислоти з великою кількістю подвійних зв'язків: арахідонова ($\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$), ейкозопентаєнова ($\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$), докозогексаєнова ($\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{COOH}$) кислоти з утворенням ДК. Вміст ДК характеризує ранню стадію ПОЛ [357]. У науковій літературі трапляються дані, що ДК під впливом гідроксильних радикалів можуть перетворюватися на ГП ліпідів. При цьому продукти ПОЛ викликають конформаційні зміни у фосфоліпідах і фосфоліпідному комплексі, що призводить до порушення функцій органоліпідів клітин, органів, а згодом і цілісного організму. У місцях приєднання пероксидних радикалів жирні кислоти розриваються на фрагменти, на краях яких розташовані альдегідні групи, які мають високу реакційну здатність. Якщо розрив відбувся з двох боків, утворюється МДА.

Реагуючи з SH- і CH₃-групами протеїнів, МДА пригнічує активність ензимів: цитохромоксидази, гідроксилази і т. п. Таким чином, процесам ПОЛ належить вагома роль у регуляції метаболізму мембранних ліпідів, зміні фізико-хімічних властивостей і проникності біологічних мембран у фізіологічних умовах [206, 245]. Константа швидкості взаємодії вільного радикала жирної кислоти (R·) з молекулярним киснем досить висока (10⁷–10⁸ л/моль·сек), а енергія активації практично дорівнює нулю. Тому за концентрацій кисню в системі вище 10⁻⁶ М усі радикали R· перетворюються на радикали ROO·, що зумовлює утворення продуктів ПОЛ. Відомо, що джерелом додаткового кисню у клітині виступає ГХН, який і є рушійним фактором активації процесів ПОЛ з утворенням значної кількості ТБК-позитивних продуктів у зародках в'юна. Ймовірно, зниження вмісту ДК на етапі розвитку зародків 16 бластомерів відбувається за рахунок перетворення їх у ГП ліпідів під дією гідроксильного радикала, з яких, у свою чергу, утворюються ТБК-позитивні продукти. Відомо, що енергія пероксидного зв'язку O–O у 2–3 рази менша, ніж енергія зв'язку C–C (339 кДж/моль) чи C=C (611 кДж/моль), тому ліпідні пероксиди є нестійкими сполуками, які легко піддаються подальшому перетворенню з утворенням більш стабільних вторинних продуктів окиснення.

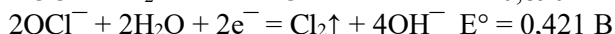
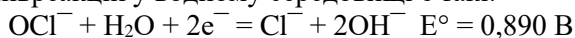
ГХН у водних розчинах дисоціює на іони:



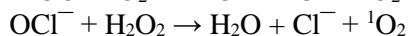
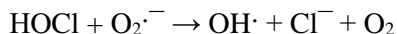
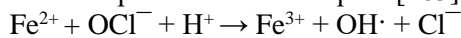
Аніони OCl⁻ реагують з водою, і утворюється гіпохлоритна кислота:



У нейтральному та лужному середовищі стандартні електродні потенціали напівреакцій у водному середовищі є такі:



Відомо, що OCl⁻ можуть вступати в реакції з іонами Fe, вільними радикалами, у результаті чого утворюється синглетний кисень, гідроксильний радикал, причому останній є високореакційноздатним. Гідроксильний радикал розриває будь які C–H чи C–C зв'язки, пошкоджує нуклеїнові кислоти і протеїни, індукує процеси ПОЛ, має сильний цитотоксичний, мутагенний і канцерогенний вплив. Він здатний проникати у товщу гідрофобного ліпідного шару і вступати в хімічну взаємодію з поліненасиченими жирними кислотами, які входять до складу біологічних мембран і ліпопротеїнів плазми крові [163]:



Отже, за постійної дії ГХН у зародках в'юна (долаючи перивітелінову оболонку, ймовірно, шляхом дифузії, враховуючи його низьку молекулярну масу – 74,44 – та відсутність заряду) утворюються за

участю наявних вільних радикалів більш реакційноздатні радикали, які й запускають процес ПОЛ. Відомо, що сам процес ПОЛ відбувається у вигляді ланцюгових реакцій у ліпідній фазі мембран і ліпопротеїнів, проте початкові (а, можливо, і проміжні) стадії відбуваються у водній фазі [163].

Поряд із цим, відомо, що ГХН вступає в реакцію з органічними речовинами, зокрема, шкідливими, за реакцією гідроксилювання [111, 297]: $RH + NaOCl \rightarrow NaCl + ROH$.

Таким чином гіпохлорит натрію може ушкоджувати і ліпопротеїди клітин.

За подальшого перебування зародків в'юна у середовищі з ГХН на етапі розвитку 64 бастомери відбувається зростання вмісту первинних і вторинних продуктів ПОЛ (див. табл. 5.1, 5.2). Підвищений вміст ДК зберігається і на наступній досліджуваній стадії розвитку (256 бластомерів). Вивчаючи в цей час вміст ТБК-позитивних продуктів, встановили його підвищення за концентрацій ГХН 1 мг/л (на 10 %), 5 мг/л (на 45 %), 7,5 мг/л (на 63 %), 10 мг/л (на 22 %) та 12,5 мг/л (на 12 %). ГХН у концентрації 0,5 і 2,5 мг/л не спричиняє змін у вмісті вторинних продуктів ліпопероксидації, порівняно з контролем (див. табл. 5.1, 5.2). Ці результати свідчать про посилення прооксидантної дії ГХН на зародки. У статті І. О. Мукалова вказано, що інтенсивність ПОЛ у ранньому ембріогенезі риб низька, а загальний вміст ліпідів у зародках не зазнає значних змін, проте частка фосфоліпідів у них зростає [320]. Збільшення кількості фосфоліпідів, до складу яких входять ненасичені жирні кислоти (піддаються процесам ПОЛ), ймовірно, є причиною значного підвищення вмісту ДК і ТБК-позитивних продуктів із максимумом на етапі розвитку 256 бластомерів за дії ГХН. У цей час відбувається формування морули, яке завершується на етапі розвитку 512 бластомерів.

Повторне зниження кількості ДК зафіксовано у зародках на етапі розвитку 1024 бластомери. При цьому за низьких концентрацій ГХН пригнічення утворення цих продуктів є більш виражене, порівняно з вищими досліджуваними дозами. Так, за концентрації 0,5 мг/л відбувається зниження вмісту первинних продуктів ПОЛ на 66 %, за концентрації 1 мг/л – на 60 %, за концентрації 2,5 мг/л – на 73 %, за концентрації 5 мг/л – на 29 %, за концентрації 7,5 мг/л – на 42 %, за концентрації 10 мг/л – на 14 %, за концентрації 12,5 мг/л – на 24 %. Поряд зі зниженням вмісту ДК, знижується кількість ТБК-позитивних продуктів за впливу ГХН у концентраціях 0,5 (на 34 %); 1 (на 10 %); 10 (на 34 %); 12,5 (на 11 %) мг/л. На цьому етапі розвитку відбуваються значні зміни в обміні речовин. Це остання стадія синхронних поділів бластомерів, після якої відразу відбувається активація геному в зародках, що розвиваються, зниження мітогичного індексу та початок асинхронних поділів [320]. Відомо, що клітинний поділ у період синхронних дроблень бластомерів супроводжують коливання біофізичних і метаболічних характеристик

розвитку зародків тварин. Періоди більшості з них є стійкими та збігаються з тривалістю мітотичних циклів. Блокування поділу різними факторами не припиняє ритмічних коливань мембранного потенціалу спокою у в'юна, цитозольного Ca^{2+} у шпорцевої жаби, морського їжака, метаболізму тіолів та інших метаболічних процесів, де визначальним фактором регуляції коливної динаміки цих процесів є підпорядкування ритмові так званого біологічного годинника [277]. Тому включно до етапу розвитку 256 бластомерів дія ГХН на вміст продуктів ліпопероксидації посилюється, а на останньому етапі розвитку знижується.

Визначивши коефіцієнт варіації (який відображає ступінь мінливості показника), встановили, що впродовж ембріогенезу за дії ГХН досліджуваних концентрацій відбувається підвищення стабільності (значення генеральної сукупності даних у вибірці є дуже подібними між собою) показника ТБК-позитивних продуктів, порівняно з контролем (табл. 5.3). Це підтверджує той факт, що дезінтоксикант посилює утворення вторинних продуктів ліпопероксидації в окремих досліджуваних особин. Зауважимо, що у контролі впродовж ембріогенезу більш стабільним показником є ДК, а більш мінливим – ТБК-позитивні продукти.

Таблиця 5.3

Коефіцієнти варіації показників процесів ліпопероксидації у зародках в'юна за дії гіпохлориту натрію, %

Етап розвитку	Дієнові кон'югати							
	Конт- роль	ГХН, 0,5 мг/л	ГХН, 1 мг/л	ГХН, 2,5 мг/л	ГХН, 5 мг/л	ГХН, 7,5 мг/л	ГХН, 10 мг/л	ГХН, 12,5 мг/л
2 бластомери	12	7	7	8	3	6	6	14
16 бластомерів	6	9	14	13	5	6	5	18
64 бластомери	9	13	18	11	11	5	7	5
256 бластомерів	8	24	7	17	24	21	21	12
1024 бластомери	16	7	11	13	1	4	7	8
ТБК-позитивні продукти								
2 бластомери	20	12	10	18	7	7	9	14
16 бластомерів	4	7	11	5	10	9	12	6
64 бластомери	26	8	9	11	13	9	14	12
256 бластомерів	15	4	11	8	10	7	5	9
1024 бластомери	15	9	6	8	13	8	5	9

Нами встановлено, що на утворення ДК і ТБК-позитивних продуктів значний вплив мають невраховані чинники (рис. 5.1; 5.2). ГХН більш виражену дію спричиняє на накопичення ТБК-позитивних продуктів (частка впливу 25 %). На утворення первинних продуктів ПОЛ у зародках в'юна більш виражену дію має час розвитку, а не ГХН.

Отже, на перерозподіл подвійних зв'язків у ненасичених жирних кислотах бластомерів більш виражено впливає часовий фактор. Цей показник більшою мірою піддається «біологічному годиннику» (часовим ритмам), які описані у праці Л. Івашків [277]. Неврахованим чинникам належить провідний вплив на процеси ПОЛ. Ймовірно, до них можна залучити метаболічні процеси, які відбуваються у клітині, систематичний вступ у процес мітозу, перебудову складу мембрани.

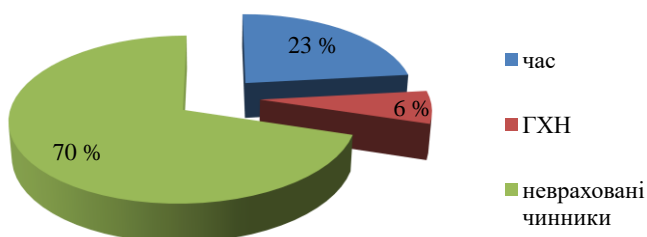


Рис. 5.1. Двофакторний дисперсійний аналіз впливу гіпохлориту натрію, часу розвитку клітин і неврахованих чинників на вміст дієнових кон'югат у зародках в'юна

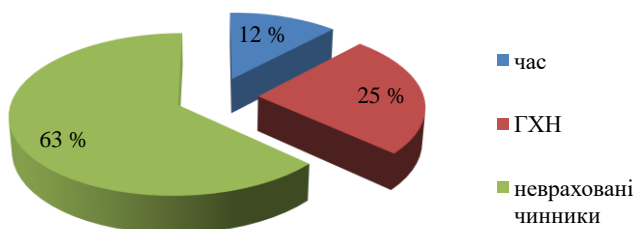


Рис. 5.2. Двофакторний дисперсійний аналіз впливу гіпохлориту натрію, часу розвитку клітин і неврахованих чинників на вміст ТБК-позитивних продуктів у зародках в'юна

Науковець С. Thome досліджував вплив ГХН на розвиток озерної риби *Coregonus clupeaformis*. Ембріони вивчали у хронічних дослідках, починаючи з запліднення протягом 96-годинної експозиції. ГХН вплинув тільки на виживання за хронічної експозиції під час запліднення, де загальний залишковий хлор у зливних водах становив $0,52 \pm 0,11$ мг/л. Результати показали, що ризик розвитку під впливом ГХН у режимі нормальних умов експлуатації ГХН у промисловості є низьким [137].

Проте в іншому дослідженні, де хлоровані текстильні стічні води були перевірені на токсичність за допомогою біологічного аналізу на дафнії (*Daphnia similis*) і тилапії (*Oreochromis mossambicus*) тестом на виживання, підтверджено токсичність стоку, зумовлену хлоруванням води з використанням NaOCl як окиснювача [19]. Наші дослідження засвідчують, що ГХН навіть у низькій концентрації (0,5 мг/л) зумовлює зміни прооксидантного стану зародків, а продукти ліпопероксидації можуть впливати на ДНК, що і знижує виживання цих клітин [246].

Вивчаючи вплив ГХН на ОМП, встановили інтенсифікацію цих процесів упродовж досліду. Вже на етапі першого поділу (2 бластомери) зародкових клітин вміст карбонільних груп протеїнів значно підвищується, порівняно з контролем, і перебуває в межах 171–351 %, щодо груп нейтрального характеру, й у діапазоні 201–767 %, щодо груп основного характеру (табл. 5.4, 5.5). На наступній досліджуваній стадії

Таблиця 5.4

Вміст карбонільних груп протеїнів нейтрального характеру в зародках в'юна упродовж раннього ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію (n = 10; мкмоль/мг протеїну)

Дослідна група	Кількість бластомерів				
	2	16	64	256	1024
Контроль	42,091± 5,884	108,879± 4,254	78,902± 5,653	48,370± 2,858	60,399± 3,740
ГХН, 0,5 мг/л	147,777± 21,985***	236,657± 8,053***	74,159± 3,777	99,879± 5,925***	78,441± 6,487**
ГХН, 1 мг/л	71,937± 2,701***	210,744± 4,647***	170,279± 6,448***	171,053± 7,380***	104,590± 5,379***
ГХН, 2,5 мг/л	128,529± 1,224***	271,509± 1,218***	139,471± 18,363**	138,235± 9,624***	193,680± 5,774***
ГХН, 5 мг/л	95,802± 2,652***	147,894± 12,367**	267,653± 8,393***	187,211± 1,541***	56,553± 2,389
ГХН, 7,5 мг/л	140,550± 1,122***	231,846± 5,030***	95,485± 6,185*	68,157± 9,769*	82,351± 0,807***
ГХН, 10 мг/л	77,086± 5,936**	278,365± 4,698***	328,655± 16,473**	140,642± 5,230***	109,848± 1,263***
ГХН, 12,5 мг/л	133,707± 0,885***	129,641± 0,229***	323,232± 1,684***	93,850± 7,846***	66,519± 4,435

Примітки: * – p ≥ 0,95; ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

розвитку (16 бластомерів) підвищений вміст карбонільних груп протеїнів зберігається. Проте інтенсивність накопичення карбонільних груп протеїнів основного характеру є повільнішою, крім досліджуваного показника за дії ГХН у концентрації 10 і 12,5 мг/л, де вміст підвищується,

порівняно з контролем (на 309 і 234 % відповідно) та з етапом розвитку 2 бластомери. ГХН на етапі розвитку зародків в'юна 64 бластомери зумовлює зростання інтенсивності процесів ОМП, крім концентрації 0,5 мг/л, де показники повертаються до меж контролю. Досліджуваний дезінтоксикант у концентрації 5; 10 і 12,5 мг/л веде до значного накопичення вмісту карбонільних груп протеїнів нейтрального й основного характеру (підвищення на 239, 317, 310 % і на 403, 477, 655 %, відповідно). Отже, ГХН у нижчих досліджуваних концентраціях на перших двох етапах розвитку значно інтенсифікує ОМП, проте вже на стадії 64 бластомери цей вплив послаблюється. Високі концентрації зумовлюють значні агресивні зміни упродовж перших трьох досліджуваних стадій з піком на етапі 64 бластомери. Із цих результатів можна зробити висновок, що, порівняно з ліпідами, ГХН зумовлює значне ушкодження білкових структур. Якщо у зародках стійке зростання вмісту первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації відбувається з етапу розвитку 64 бластомери, то значна інтенсифікація ОМП з'являється вже з першого етапу розвитку. Підвищений вміст карбонільних груп протеїнів зафіксовано і на етапі 256 бластомерів.

Таблиця 5.5

Вміст карбонільних груп протеїнів основного характеру в зародках в'юна упродовж раннього ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію (n = 10; мкмоль/мг протеїну)

Дослідна група	Кількість бластомерів				
	2	16	64	256	1024
Контроль	14,211± 3,062	50,447± 2,619	33,769± 5,213	27,316± 2,152	39,474± 4,414
ГХН, 0,5 мг/л	109,031± 19,513***	62,815± 3,262**	39,359± 2,831	52,087± 5,129***	44,074± 3,307
ГХН, 1 мг/л	36,537± 1,535***	73,356± 3,288***	75,139± 3,957***	102,871± 1,595***	52,589± 2,887*
ГХН, 2,5 мг/л	56,308± 1,632***	108,799± 1,120***	68,978± 9,659**	86,898± 4,011***	108,020± 7,033***
ГХН, 5 мг/л	54,798± 5,247***	142,533± 4,255***	170,000± 11,157***	109,206± 2,889***	26,763± 1,062*
ГХН, 7,5 мг/л	59,409± 1,676***	108,569± 5,546***	95,485± 6,185***	38,591± 4,997	46,989± 3,633
ГХН, 10 мг/л	28,621± 1,908**	206,131± 6,459***	194,805± 36,426**	66,444± 1,203***	62,027± 0,158***
ГХН, 12,5 мг/л	54,014± 0,413***	168,739± 7,773***	255,051± 10,943***	53,743± 0,802***	27,106± 0,609*

Примітки: * – p ≥ 0,95; ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

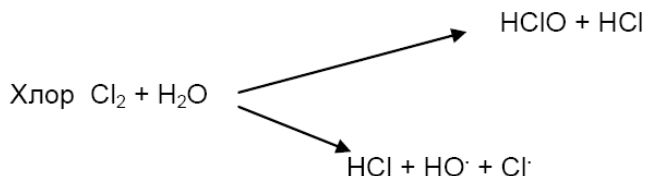
Особливу увагу варто звернути на стадію розвитку 1024 бластомери. За дії ГХН у концентрації 0,5; 1; 2,5; 7,5 та 10 мг/л вміст карбонільних груп протеїнів нейтрального характеру зростає на 30, 73, 121, 36 і 82 %

відповідно, а за концентрацій 5 і 12,5 мг/л – навіть повертається до меж контролю. Під час вивчення карбонільних груп протеїнів основного характеру встановлено, що цей показник перебуває у межах норми за впливу дезінтоксиканта у концентрації 0,5 і 7,5 мг/л, зростає за дії концентрацій 1; 2,5 і 10 мг/л (на 33, 174, 57 %, відповідно) та знижується за концентрацій 5 і 12,5 мг/л на 32 і 31 %, відповідно (див. табл. 5.4, 5.5). Такі зміни відбуваються на фоні зниження вмісту ДК і ТБК-позитивних продуктів, а в окремих випадках – навіть на фоні повернення останніх до меж контролю. Відомо, що ГХН може реагувати з аміногрупами, сульфгідрильними, дисульфідними групами. Під його впливом змінюються білкові й ліпідні компоненти мембран, а їхня модифікація зумовлює порушення мембранної проникності, пригнічення чи активацію ензимних систем. Якщо додати до свіжоприготованої плазми крові велику кількість ГХН, спочатку окиснюються SH-групи, потім тіолові, а після цього – вже аміногрупи [253]. Отже, протеїни, які входять у структуру зародків в'юна, першочергово піддаються окисненню гіпохлоритом натрію, порівняно з ліпідами. У клітинах до 80 % білків вбудовані в мембрани або зв'язані з їхньою поверхнею. Відомо, що первинними мішенями ушкоджувальних агентів є мембранні структури клітин, у яких піддаються руйнації ліпідний бішар, рецептори, білкові переносники іонів і молекул (канали), а також вбудовані в мембрани ензими, включаючи іонні помпи [163]. У мембрані переважають протеїни (близько 50 %), порівняно з ліпідами (близько 40 %) та вуглеводами (близько 10 %). Тому їхнє окиснення гіпохлоритом натрію є провідним. На етапі розвитку зародків 1024 бластомери ГХН спричиняє більш виражений негативний вплив на утворення карбонільних груп протеїнів нейтрального характеру, вміст яких у цей час переважно збільшується. Відомо, що за електрохімічними (кисотно-лужними) властивостями амінокислоти, залежно від кількості NH₂- і COOH-груп у молекулі, поділяють на три групи: кислі – з додатковими карбоксильними групами (-COOH) в боковому радикалі (моноамінодикарбонові кислоти: аспарагінова і глутамінова); лужні – діаміномонокарбонові (лізин, аргінін) і гістидин; нейтральні – решта амінокислот, у яких боковий радикал не проявляє ні кислих, ні лужних властивостей [164]. COOH-група проявляє кислотні, а NH₂- – основні властивості в молекулах амінокислот. Отже, на пізніх етапах розвитку зародків ГХН більшою мірою ушкоджує протеїни, до складу яких входять амінокислоти нейтрального характеру. Крім того, відомо, що після восьмого поділу зародок стає на шлях формування ранньої бластули, яка утворюється на етапі 2048 бластомерів. Бластомери починають ділитися по групах, у зв'язку з чим хід борозен по поверхні клітинного вузла перестає бути рівномірним. Із цим також пов'язаний характер змін ОМП і ПОЛ на етапі розвитку 1024 бластомери.

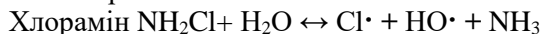
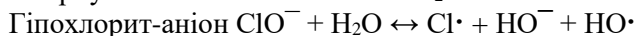
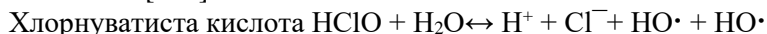
Відомо, що серед функціональних груп протеїнових молекул саме сірковмісні групи вирізняються високою реакційною здатністю та різноманітністю хімічних реакцій. До цих груп належать сульфгідрильна (тіольна) група цистеїну, дисульфідна група цистину й тіоефірна група метіоніну. Вони вступають у хімічні реакції широкого спектра, включаючи реакції алкілювання, ацилювання, окиснення, тіолдисульфідного обміну, утворення напівмеркапталів, меркаптидів, меркаптолів і комплексів з перенесенням заряду. Реакційна здатність SH-груп у нативних протеїнах варіює в широких межах. За цією ознакою розрізняють три типи тіольних груп: легкодоступні, менш доступні та «замасковані». Так, SH-групи першого типу легко вступають у реакцію з нітропрусидом і м'якими окисниками (феріціанідом, йодобензоатом). Тіольні групи другого типу не дають нітропрусидної реакції та взаємодіють із досить сильними окисниками (йодом) і меркаптоутворювальними агентами. До «замаскованих» належать тіольні групи, які вдається виявити лише після денатурації протеїну. Розрізняють два загальних типи дисульфідних зв'язків: структурні та функціональні. Лише структурними є дисульфідні зв'язки, що належать протеїнам, секретованим у кров [378]. Внутрішньомолекулярні дисульфідні «зшивки» додатково стабілізують нативну конформацію секреторних протеїнів у позаклітинному оточенні. Вважають, що структурні SS зв'язки, які утворюються під час тіолдисульфідних переходів під час ренатурації чи посттрансляційного процесингу, сприяють коректному фолдингові протеїну, зменшуючи ентропію його незгорненої форми. Деякі дисульфідні зв'язки у структурі секреторних протеїнів виконують функціональну роль. Є два типи функціональних дисульфідів – каталітичні й алостеричні. Каталітичний зв'язок є типовим для активних сайтів ензимів, які забезпечують тіолдисульфідний обмін в інших протеїнах. Ці ензими належать до класу оксидоредуктаз. Алостеричні зв'язки контролюють функціонування протеїну через ключову роль у формуванні його активної/неактивної конформації, забезпечуючи зміну структури шляхом відновлення чи окиснення. Тип зміни залежить від протеїну. Наприклад, утворені під час руйнування алостеричного зв'язку тіоли стають сайтами алкілювання для модифікуючих агентів. Дії дисульфідів з каталітичними і алостеричними функціями взаємозв'язані, оскільки редокс-стан алостеричних дисульфідів контролюється каталітичними. Під час дослідження механізму автолізу плазміногену з утворенням фрагментів ангіостатину, який відбувається лише за умови попереднього розривання зв'язків Cys462–Cys541 та Cys512–Cys536, доведено участь гідроксильних іонів у цьому процесі, показано можливість ензимативного гідроксилювання в нейтральному середовищі та спонтанного – у лужному [378]. Енергія зв'язку – S–H 360 кДж/моль. Отже, дія ГХН на протеїни, які містять SH-групи, є негативною як із

структурної точки зору, так і з функціональної, а цей детоксикант першочергово реагує з ними. Відомо, що метаболічні процеси, які відбуваються від моменту запліднення яйцеклітин, впливають на розвиток зародків і личинок, тож будь-яка їхня зміна, зокрема, у структурі протеїнів, може призвести до загибелі [407, 408].

Згідно з припущенням Н. Ф. Петренка, окиснювачі (хлор-газ, гіпохлорит натрію, хлораміни) реагують з водою за радикальним механізмом, утворюючи, крім гідроксил-радикалів, атоми хлору, які також є радикалами [335].



Для інших хлоровмісних окиснювачів можлива взаємодія з водою за такими схемами [335]:



Якщо враховувати ці дані, то у клітинах за наявності води (яка є невід'ємною у розчині ГХН) утворюються гідроксильні радикали, радикали хлору, і, таким чином, ГХН може взаємодіяти з ліпідами, протеїнами у реакції гідроксилування та за вільнорадикальним механізмом.

Відомо, що зсув рН води від нейтрального значення в той чи інший бік веде до значної зміни співвідношення OCl^- і, відповідно, до антимікробної дії, обумовленої наявністю сполук під загальною назвою «активний хлор» (табл. 5.6). Оскільки ГХН є сіллю сильної основи (NaOH) і слабкої кислоти (HOCl), то введення гіпохлориту у воду супроводжується його гідролізом по аніону і підвищенням її рН: $\text{NaOCl} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{NaOH} + \text{HOCl}$. Потім, залежно від початкового значення рН води, може відбуватися реакція дисоціації: $\text{HOCl} \leftrightarrow \text{OCl}^- + \text{H}^+$. Якщо вода знезаражується лужним гіпохлоритом, то, згідно з принципом Ле-Шательє і законом діючих мас для швидкості хімічних реакцій, сполуки активного хлору у воді будуть переважно представлені гіпохлорит-іонами. Разом з власне гіпохлоритом у воду надходить рівна чи набагато більша кількість баластних електролітів – солі та луги [243]. Проте відомо, що за ушкодження клітини розвивається ацидоз (зниження рН до 6 і нижче), за рахунок накопичення у ній певних продуктів метаболізму, таких як продукт гліколізу – молочна кислота й ін. [163]. Такі зміни (первинні, які відбулися за дії ГХН) не сприяють посиленому вивільненню гіпохлорит-іонів (згідно з табл. 5.6), які би продовжували

чинити ушкоджувальну дію на ліпіди чи білки, що добре виражене на етапі розвитку зародків в'юна 1024 блстомери.

Таблиця 5.6

Вміст ОСГ у водному розчині гіпохлориту натрію залежно від рН

рН	6	7	8	9
Гіпохлорит-іон (ОСГ), %	2,5	21	75	97

Розрахунок коефіцієнтів варіації карбонільних груп протеїнів нейтрального й основного характеру за дії ГХН різних концентрацій упродовж розвитку зародків в'юна дав змогу виявити зниження їхніх значень, що свідчить про низьку мінливість у групах дослідження (табл. 5.7).

Таблиця 5.7

Коефіцієнти варіації показників оксидативної модифікації протеїнів у зародках в'юна за дії гіпохлориту натрію, %

Етап розвитку	Карбонільні групи протеїнів нейтрального характеру							
	Конт- роль	ГХН, 0,5 мг/л	ГХН, 1 мг/л	ГХН, 2,5 мг/л	ГХН, 5 мг/л	ГХН, 7,5 мг/л	ГХН, 10 мг/л	ГХН, 12,5 мг/л
2 бластомери	44	47	12	3	9	3	24	2
16 бластомерів	12	11	7	1	26	7	5	1
64 бластомери	23	16	12	42	10	20	61	2
256 бластомерів	19	19	14	22	3	45	12	26
1024 бластомери	20	26	16	9	13	3	4	21
Етап розвитку	Карбонільні групи протеїнів основного характеру							
2 бластомери	68	57	13	9	30	9	21	2
16 бластомерів	16	16	14	3	9	16	10	15
64 бластомери	49	23	17	44	21	20	59	14
256 бластомерів	25	31	5	15	8	41	6	5
1024 бластомери	35	24	17	21	13	24	1	7

Провівши двофакторний дисперсійний аналіз, встановили, що ГХН впливає на вміст карбонільних груп протеїнів як нейтрального, так і основного характеру лише на 20 і 22 %, відповідно (рис. 5.3, 5.4), тоді як вклад часу розвитку на ці показники становить 34 і 30 % відповідно. Знову ж таки, високий відсоток припадає на вплив неврахованих чинників (46 і 48 %, відповідно).

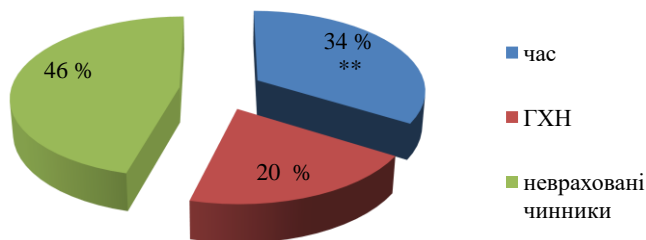


Рис. 5.3. Двофакторний дисперсійний аналіз впливу гіпохлориту натрію, часу розвитку клітин і неврахованих чинників на вміст карбонільних груп протеїнів нейтрального характеру у зародках в'юна (** – $p \geq 0,99$)

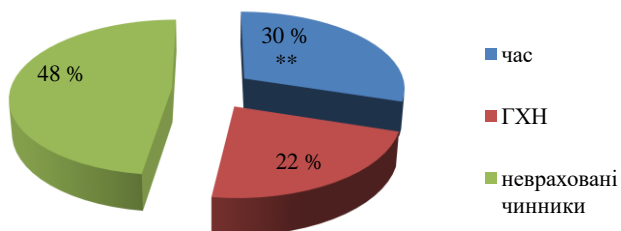


Рис. 5.4. Двофакторний дисперсійний аналіз впливу гіпохлориту натрію, часу розвитку клітин і неврахованих чинників на вміст карбонільних груп протеїнів основного характеру у зародках в'юна (** – $p \geq 0,99$)

Отже, ГХН однаково впливає на ТБК-позитивні продукти і карбонільні групи протеїнів нейтрального й основного характеру. Хоча трохи нижчим є вклад неврахованих чинників на ОМП, порівняно з процесами ПОЛ. Ці результати разом із коефіцієнтами варіації засвідчують, що досліджуваний дезінтоксикант більш спрямовано діє на утворення вторинних продуктів ліпопероксидації та карбонільних груп протеїнів. У науковій літературі засвідчено, що у період дроблення відбуваються глибокі зміни в клітинному метаболізмі, які частково пов'язані з циклічним чергуванням окисненої та відновленої конформації протеїнів, зумовленої S-S та S-N групами. Вільні сульфгідрильні групи в найбільшій кількості є у бластомерах, які діляться, і в найменшій – у той період, коли клітини не діляться [279]. Це може пояснювати значний вплив ГХН на структуру протеїнів, яким притаманні природні зміни у цей час. Відомо, що зародок у період дроблення дуже швидко ділиться. Це пов'язано з тим, що в яйцеклітинах заздалегідь запасені (в період оогенезу) безпосередні попередники ДНК (цитидин, тимітидин-3-фосфати, а також ядерні протеїни гістони) і мРНК, а в інших клітинах таких запасів немає; ДНК бластомерів, які синхронно діляться, має значно більше точок

ініціації реплікації, ніж інші клітини еукаріот. Під час дроблення зародка відбувається утворення нових клітинних мембран за допомогою двох механізмів: синтез мембран *de novo*; розтягування плазматичної мембрани ооцита [279], що відображається на інтенсивності процесів ПОЛ за впливу ГХН.

Нами також виявлено зміни СОД активності. Так, на етапі розвитку 2 бластомери відбувається пригнічення роботи ензиму за дії ГХН усіх концентрацій, проте найбільш виражено знижується активність за концентрацій 2,5 мг/л (на 65 %) і 12,5 мг/л (на 69 %). Зниження СОД активності відбувається і на етапі розвитку 16 бластомерів за дії дезінтоксиканта усіх досліджуваних концентрацій, крім концентрації 5 мг/л, за якої ферментативна активність зростає на 57 % (табл. 5.8). Концентрація 5 мг/л дає зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів, хоча за інших концентрацій їхня кількість підвищується.

Таблиця 5.8

**Супероксиддисмутазна активність зародків в'юна
упродовж раннього ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію
(n = 10; од. активності/мг протеїну)**

Дослідна група	Кількість бластомерів				
	2	16	64	256	1024
Контроль	480,897± 28,349	577,192± 20,095	363,683± 10,322	278,474± 5,735	135,317± 5,618
ГХН, 0,5 мг/л	327,722± 32,213**	482,029± 6,171***	351,452± 18,638	257,311± 2,733**	144,936± 10,167
ГХН, 1 мг/л	302,787± 1,877***	382,949± 4,162***	336,045± 34,525	262,640± 4,848**	117,632± 8,252*
ГХН, 2,5 мг/л	169,039± 2,932***	461,502± 12,182***	307,946± 6,383**	223,585± 10,483***	127,385± 6,561
ГХН, 5 мг/л	341,971± 18,643**	903,914± 12,199***	193,621± 6,761***	189,914± 26,649**	150,893± 2,476**
ГХН, 7,5 мг/л	349,095± 11,011***	278,967± 10,522***	117,597± 3,506***	271,014± 27,895	138,661± 12,159
ГХН, 10 мг/л	334,846± 11,512***	344,717± 8,805***	180,111± 6,604***	234,473± 11,108**	162,059± 7,426**
ГХН, 12,5 мг/л	149,882± 17,874***	305,259± 13,345***	113,103± 3,209***	251,982± 8,061**	98,893± 4,756***

Примітки: * – p ≥ 0,95; ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

Отже, на етапі розвитку 16 бластомерів ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює вплив іншого характеру на прооксидантний стан і на роботу СОД. Варто засвідчити, що коефіцієнт варіації показника СОД є дуже низьким, порівняно з контрольним значенням (4 %). Це підтверджує непоодинокий вплив такої концентрації на ензим (табл. 5.9). ГХН у концентрації 5 мг/л на етапі розвитку 2 бластомери не впливає на вміст ДК

і ТБК-позитивних продуктів. Тому, ймовірно, концентрація 5 мг/л є оптимальною, яка суттєво не змінює Red/Ox стан клітини.

Таблиця 5.9

Коефіцієнти варіації показників супероксиддисмутазної активності у зародках в'юна за дії гіпохлориту натрію, %

Етап розвитку	Конт- роль	ГХН, 0,5 мг/л	ГХН, 1 мг/л	ГХН, 2,5 мг/л	ГХН, 5 мг/л	ГХН, 7,5 мг/л	ГХН, 10 мг/л	ГХН, 12,5 мг/л
2 бластомери	19	31	2	5	17	10	11	38
16 бластомерів	11	4	3	8	4	12	8	14
64 бластомери	9	17	32	7	11	9	12	9
256 бластомерів	7	3	6	15	44	33	15	10
1024 бластомери	13	22	22	16	5	28	14	15

Під час подальшого розвитку зародків (64 бластомери) у середовищі з ГХН нами встановлено спадання СОД активності за таких концентрацій: 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5 мг/л (на 15, 47, 68, 50, 69 %, відповідно). Найнижчі концентрації не спричиняють змін у роботі СОД на цій стадії раннього ембріогенезу. ГХН у концентрації 0,5 мг/л навіть зумовлює повернення до норми показників ДК і карбонільних груп протеїнів як нейтрального, так і основного характеру, що свідчить про розвиток пристосувальних змін у бластомерах. Уже на етапі розвитку 256 бластомерів активність СОД хоча і знижується (крім концентрації 7,5 мг/л), проте інтенсивність є повільнішою. Так, зниження показника перебуває у діапазоні 6–32 %. На останньому досліджуваному етапі розвитку СОД активність повертається до норми за дії ГХН у концентрації 0,5; 2,5; 7,5 мг/л, проте за концентрацій 1; 12,5 мг/л – спадає на 13 і 27 %, відповідно, тоді як за впливу доз 5 і 10 мг/л – зростає на 12 і 20 %, відповідно (див. табл. 5.8). Треба відмітити, що ГХН у концентрації 12,5 мг/л знижує накопичення продуктів ПОЛ і ОМП, а також інгібує СОД активність, порівняно з контролем. Отже, ми встановили, що на стадії розвитку 256 бластомерів вплив ГХН на СОД послаблюється, а вже на етапі 1024 бластомерів спостерігали протилежний ефект його дії.

Нами встановлено значний вплив часу розвитку (51 %) на СОД активність. Незначна частка впливу припадає на роботу ГХН (15 %); 34 % належить дії неврахованих чинників (рис. 5.5). Низький відсоток впливу ГХН на СОД активність свідчить про опосередкований його вплив на ензим. Попередньо нами вже було зазначено, що ГХН може реагувати зі супероксид-аніон радикалом (який і знешкоджує ензим [393]), і в результаті цього знижується вміст субстрату СОД. Інактивація ензиму також може бути пов'язана з ушкодженням його структури, враховуючи

те, що ГХН значно посилює процеси ОМП у зародках в'юна. У структурі активного центру СОД міститься амінокислота гістидин, а відомо, що карбонільні похідні протеїнів можуть утворюватися за участю амінокислотних залишків лізину, цистеїну і гістидину з продуктами ПОЛ (вміст ТБК-позитивних продуктів підвищується за дії ГХН; рис. 5.6). Іонні або електростатичні взаємодії виникають під час контакту заряджених

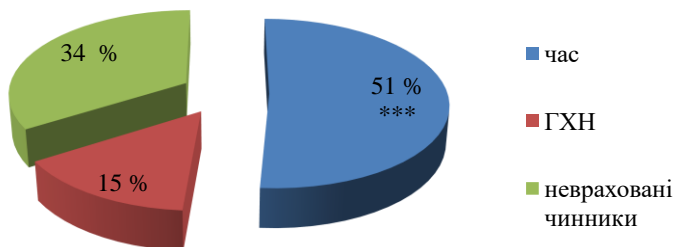


Рис. 5.5. Двофакторний дисперсійний аналіз впливу гіпохлориту натрію, часу розвитку клітин і неврахованих чинників на супероксиддисмутазну активність зародків в'юна (***) – $p \geq 0,999$)

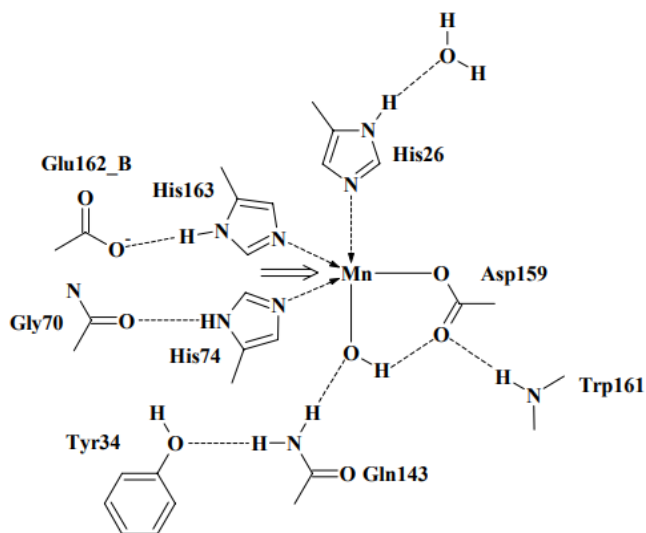


Рис. 5.6. Будова активного центру Mn-COD людини (1n0j)

груп бічних радикалів: NH_3^+ (лізин, аргінін, гістидин) і COO^- -група аспарагінової та глутамінової кислот [164]. Такі взаємодії наявні в активному центрі СОД між гістидином і глутаміновою кислотою, які руйнуються за впливу ГХН. Фактично всі амінокислотні залишки

протеїнів здатні до окиснення, проте найбільш чутливими до цього процесу є сірковмісні (метіонін, цистеїн) і ароматичні (гістидин, триптофан, тирозин і фенілаланін) [255]. Відомо, що константа швидкості реакції розпаду комплексу в активному центрі ензиму $Mn^{3+}СОД-O_2^{\cdot-}$ є дуже низькою і дорівнює $8 \cdot 10^4 \text{ c}^{-1}$. Азид-іон є інгібітором Mn -СОД. Оскільки у структурі комплексу $Mn^{3+}СОД-N_3^-$ (1mng) азид-іон проникає в координаційне оточення іона марганцю між His74 і His163, то вважають, що таким самим чином приєднується і $O_2^{\cdot-}$ (місце приєднання позначене стрілкою; див. рис. 5.6). Ймовірно, що аніони гіпохлориту також можуть таким чином потрапляти в активний центр СОД та інактивувати його. О. Гопаненко у своїй праці засвідчує, що пероксид водню може інгібувати тільки Cu , Zn -СОД, тоді як Mn -супероксиддисмутаза не чутлива до його дії [240]. Ймовірно, також не всі ізоформи супероксиддисмутази є чутливими до дії ГХН, бо в іншому разі відбувалося б повне інгібування ензиму.

Відомо, що робота КАТ тісно пов'язана з роботою ГПО. Нами встановлено, що КАТ активність практично не змінюється на етапі розвитку 2 бластомери за дії ГХН усіх досліджуваних концентрацій, за винятком 5 мг/л, де виявлено сповільнення роботи на 52 % (табл. 5.10). Таке зниження КАТ активності відбувається на фоні нормальної роботи ГПО, незначного зниження (на 29 %) СОД активності й перебування у межах норми вмісту продуктів ПОЛ. Зниження СОД активності веде до незначного зниження вмісту H_2O_2 , який за таких умов знешкоджується глутатіонпероксидазою. Відомо, що КАТ реагує на значне зростання у середовищі пероксиду водню, тому в нашому випадку активність ензиму знижується. На початковому етапі розвитку ГПО активність підвищується за впливу ГХН таких концентрацій: 0,5; 2,5; 7,5 мг/л на 111, 131, 238 % відповідно (табл. 5.11). Ці зміни відбуваються на тлі нормальної роботи КАТ і зниження СОД активності. Із цих результатів можна зробити висновок, що ГПО знешкоджує надмірне утворення гідрпероксидів [31]. КАТ і ГПО активності перебувають у межах норми за концентрацій дезінтоксиканта 1 і 10 мг/л, що є цікавим явищем, оскільки ГХН у цих концентраціях виявив прооксидантний ефект. У максимальній концентрації досліджувана речовина зумовлює суттєве зниження ГПО активності (на 75 %).

Робота ГПО, як відомо, є критично важливою у детоксикації організму. Вона бере участь у регуляції запалення, апоптозу й інших сигнальних каскадів ключових біологічних процесів. Один із найбільш очевидних з цих регуляторних механізмів пов'язаний зі субстратами ГПО. Гідрпероксиди є сигнальними молекулами, і їхні клітинні концентрації, які впливають на дію ГПО, безпосередньо керують сигнальними шляхами. До інших механізмів, які використовують ГПО для здійснення регуляторних функцій, належать співвідношення протеїнів і окиснення

Сус у специфічних протеїнах, зміни локалізації та навіть хімічне зшивання [31]. На ембріональних клітинах встановлено, що ізоформа ГПО-1 є ключовим регулятором самопоновлення ембріональних стовбурових клітин миші. Інгібування активності ГПО-1 за допомогою інгібітора призвели до диференціації клітин ембріональних стебел (Embryonic stem) [148]. Тому значне зниження ГПО активності за дії ГХН у концентрації 12,5 мг/л на етапі розвитку 2 бластомери ми розглядаємо як негативне явище.

Таблиця 5.10

Каталазна активність зародків в'юна упродовж раннього ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію (n = 10; мкмоль H₂O₂/хв мг протеїну)

Дослідна група	Кількість бластомерів				
	2	16	64	256	1024
Контроль	0,024± 0,005	0,015± 0,002	0,011± 0,002	0,024± 0,006	0,013± 0,002
ГХН, 0,5 мг/л	0,023± 0,003	0,042± 0,009**	0,015± 0,003	0,026± 0,003	0,016± 0,003
ГХН, 1 мг/л	0,028± 0,004	0,043± 0,005***	0,037± 0,002***	0,074± 0,007***	0,064± 0,003***
ГХН, 2,5 мг/л	0,028± 0,002	0,061± 0,005***	0,036± 0,001***	0,036± 0,003	0,058± 0,002***
ГХН, 5 мг/л	0,012± 0,002**	0,021± 0,002*	0,020± 0,003**	0,021± 0,004	0,014± 0,002
ГХН, 7,5 мг/л	0,037± 0,006	0,018± 0,002	0,028± 0,002***	0,032± 0,005	0,025± 0,001***
ГХН, 10 мг/л	0,030± 0,003	0,013± 0,002	0,054± 0,014**	0,032± 0,007	0,012± 0,003
ГХН, 12,5 мг/л	0,025± 0,002	0,011± 0,001*	0,019± 0,003*	0,018± 0,001	0,017± 0,003

Примітки: * – p ≥ 0,95; ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

Нами відзначено, що на етапі розвитку зародків в'юна 16 бластомерів КАТ активність зростає за дії ГХН у концентрації 0,5; 1; 2,5 та 5 мг/л на 176, 185, 301 і 41 %, відповідно, тоді як за максимальної концентрації (12,5 мг/л) спостерігаємо протилежний ефект (зниження на 21 %; див. табл. 5.10). Зростання КАТ активності засвідчує значне підвищення вмісту пероксиду водню у бластомерах. За впливу ГХН у концентрації 0,5; 1; 2,5 таке зростання відбувається поряд зі зниженням роботи СОД, яка є потенційним постачальником пероксиду водню. У клітині H₂O₂ утворюється також ксантиноксидазами, оксидазами L-амінокислот, моноаміноксидазами і т. п., робота яких, імовірно, порушується гіпохлоритом натрію. Відомо, що пероксид водню є електростатичною нейтральною молекулою (не має заряду) і тому легко проникає крізь гідрофобні мембрани та може мігрувати в інші клітини чи навіть таканини. Нейтральні аддукти H₂O₂ (наприклад, гістидин), якщо

вони є, забезпечують проникність пероксиду всередину клітин навіть за наявності каталази. Незначне зростання КАТ активності за дії ГХН у концентрації 5 мг/л відбувається водночас із незначним підвищенням СОД активності, тобто є логічна залежність між їхньою роботою, що ще раз засвідчує особливий вплив цієї концентрації на прооксидантно-антиоксидантний стан зародка на етапі розвитку 16 бластомерів. Нами виявлено зниження ГПО активності за впливу дезінтоксиканта у концентраціях 0,5 мг/л (на 46 %), 5 мг/л (на 42 %) і 7,5 мг/л (на 61 %), яке на подальших етапах розвитку зародка не відбувається (див. табл. 5.11). Ймовірно, така динаміка пов'язана зі зменшенням субстрату для його роботи за рахунок перехоплення іншими ензимами, наприклад, ГТ.

Таблиця 5.11

**Глутатіонпероксидазна активність зародків в'юна упродовж
раннього ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію
(n=10; мкмоль G-SH/хв мг протеїну)**

Дослідна група	Кількість бластомерів				
	2	16	64	256	1024
Контроль	76,309± 11,191	48,870± 7,484	60,039± 11,022	32,925± 7,174	32,815± 4,543
ГХН, 0,5 мг/л	160,687± 33,914**	26,454± 2,890**	61,341± 8,746	67,469± 10,054**	45,490± 5,964
ГХН, 1 мг/л	119,754± 24,159	45,688± 5,953	88,816± 14,779	48,686± 12,309	30,125± 5,076
ГХН, 2,5 мг/л	176,293± 9,396***	45,814± 15,452	109,772± 8,839***	30,389± 4,139	35,871± 4,738
ГХН, 5 мг/л	91,337± 8,355	28,115± 2,466**	130,803± 6,827***	58,693± 3,913**	26,088± 3,469
ГХН, 7,5 мг/л	257,889± 23,842***	19,243± 2,593**	143,805± 29,828**	55,563± 2,726**	23,795± 4,722
ГХН, 10 мг/л	91,537± 11,923	35,005± 2,298	151,835± 16,728***	93,724± 15,929**	76,916± 8,962***
ГХН, 12,5 мг/л	18,833± 2,604***	39,527± 3,537	111,046± 13,395**	135,534± 19,126***	30,754± 1,732

Примітки: ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

Встановлено, що на етапі дроблення 64 бластомери ГХН у найнижчій досліджуваній концентрації (0,5 мг/л) не змінює роботу КАТ і ГПО, а також не впливає на СОД активність і на вміст ДК, карбонільних груп протеїнів нейтрального й основного характеру (див. табл. 5.10, 5.11). Загалом на цій стадії раннього ембріогенезу КАТ і ГПО активність підвищується, що може бути пов'язано з посиленням прооксидантної дії гіпохлориту натрію в цей час і, внаслідок цього, з підвищенням вмісту шкідливих речовин для їхнього знешкодження. Подальше перебування зародків у середовищі з ГХН на етапі 256 бластомерів повертає КАТ

активність до норми, за винятком концентрації 1 мг/л (зростання активності на 208 %), проте ГПО активність є високою, крім дії концентрацій 1 і 2,5 мг/л (показник повертається до меж контролю).

Зародки в'юна по-іншому реагують на ГХН на етапі розвитку 1024 бластомери. Нами виявлено повернення ГПО активності до норми за впливу ГХН усіх концентрацій, за винятком концентрації 10 мг/л, де показник підвищується на 134 %. Таку ж тенденцію зафіксовано і щодо КАТ. Зростання її активності відбувається за концентрацій дезінтоксиканта 1; 2,5; 7,5 мг/л (на 402, 359, 100 %; див. табл. 5.10, 5.11).

Відомо, що на етапі 10-го поділу (1024 бластомери) зародок починає асинхронно ділитися, а це приводить до автономізації метаболічних процесів у диференційованих клітинах. Цим пояснюються значні зміни активності ензимів АОС [194, 351, 407, 408]. У нормальних умовах ця стадія характеризується також зменшенням рівня трансмембранного потенціалу плазматичних мембран [405]. У процесі вивчення кріопротектора диметилсульфоксиду показано, що клітини на пізніх ембріональних стадіях риб (512 або 1024 бластомери) були більш толерантними до його впливу, ніж на ранніх стадіях (128 або 256 бластомерів) [131]. Засвідчено, що початок асинхронності поділу у ембріонів *Xenopus laevis* є залежним від нуклео-цитоплазматичного співвідношення [23].

Обчисливши коефіцієнти варіації для показників КАТ і ГПО, ми встановили їхні високі значення як у контролі, так і в експерименті за дії ГХН (табл. 5.12). Це свідчить про їхню високу мінливість в окремих зародках. Важливо зазначити, що у контролі мінливість є нижчою саме на етапі 10-го поділу. Для ГПО характерна субстратна, алостерична, гуморальна регуляція (індукується стресом), регуляція експресії (це індукцибельний ензим; Se, що входить до складу ензиму, індукує транскрипцію гена ГПО). Синтез КАТ індукується субстратом [230]. Тому лише після ініціації зчитування власного генетичного матеріалу зародків в'юна з'являється тенденція до стабілізації КАТ і ГПО активності.

КАТ належить до ензимів, які найдовше зберігають свою високу активність, майже не потребують енергії активації, швидкість реакції лімітується тільки швидкістю дифузії субстрату до активного центру. КАТ може приєднувати чотири молекули НАДФН, що захищає її від інактивації та підвищує ензиматичну активність. А. Yu. Iskusnih у своїй науковій праці довів, що під час дії такого окисника як пероксид водню експресія ГПО у клітинній культурі фібробластів лінії L929 збільшується в 6,1 раза, порівняно з нормою. Рівень експресії глутатіонредуктази у фібробластах L929 за тих самих умов зростає в 1,7 раза щодо контрольних значень. Отже, ці дані ще раз засвідчують, що КАТ і ГПО є високостійкими до дії оксидантів.

Таблиця 5.12

**Коефіцієнти варіації каталази і глутатіонпероксидази
у зародках в'юна за дії гіпохлориту натрію, %**

Етап розвитку	Каталаза							
	Конт- роль	ГХН, 0,5 мг/л	ГХН, 1 мг/л	ГХН, 2,5 мг/л	ГХН, 5 мг/л	ГХН, 7,5 мг/л	ГХН, 10 мг/л	ГХН, 12,5 мг/л
2 бластомери	65	36	43	28	47	55	35	31
16 бластомерів	48	73	36	26	32	37	43	36
64 бластомери	50	66	13	12	51	26	82	45
256 бластомерів	79	35	30	30	56	53	74	22
1024 бластомери	44	54	15	9	43	19	68	49
Етап розвитку	Глутатіонпероксидаза							
2 бластомери	46	67	64	17	29	29	41	44
16 бластомерів	48	35	41	107	28	43	21	28
64 бластомери	58	45	53	25	17	66	35	38
256 бластомерів	69	47	80	43	21	16	54	45
1024 бластомери	44	41	53	42	42	63	37	18

Високі коефіцієнти варіації каталази в нормі та за дії ГХН пов'язані з тим, що H_2O_2 , яку знешкоджує цей антиоксидант, є вторинним месенджером у клітині. Тому КАТ є не тільки ензимом АОС, але і фактором впливу на передачу та підсилення сигналу у клітині. Низькі концентрації пероксиду водню спричиняють мітогенний ефект й імітують дію факторів росту. Це невелика молекула, що швидко продукується у відповідь на позаклітинну стимуляцію та швидко розкладається за допомогою численних механізмів, у тому числі каталазою. Період напіврозпаду пероксиду водню становить 10–100 с. H_2O_2 , в першу чергу, окиснює залишки цистеїну в певних протеїнах, де просторове положення цистеїну поряд із полярним аніоном кислоти робить його доступним для окиснення та забезпечує вибірковість передачі сигналу тільки до певних протеїнів [325].

Провівши двофакторний дисперсійний аналіз, ми встановили, що на КАТ активність значний вплив чинить ГХН (53 %) і невраховані фактори (44 %). Це свідчить, що досліджуваний дезінтоксикант активує ензим. Відомо, що КАТ міститься у пероксисомах і, ймовірно, ГХН спричиняє їхню штучну руйнацію з подальшим виходом ензиму в цитоплазму

(рис. 5.7). Робота КАТ у клітині залежить від багатьох факторів. Наприклад, від ГПО, ГТ активності, наявності іонів Fe^{2+} у системі. Сукупність цих чинників і належить до «неврахованих факторів» у даному біометричному аналізі. Дисперсійний аналіз ґрунтується на врахуванні даних за певним показником, у цьому випадку за КАТ, і не бере до уваги наявні результати щодо ГПО і ГТ. Результати дисперсійного аналізу засвідчують, що у зародкових клітинах накопичується велика кількість пероксиду водню за впливу ГХН.

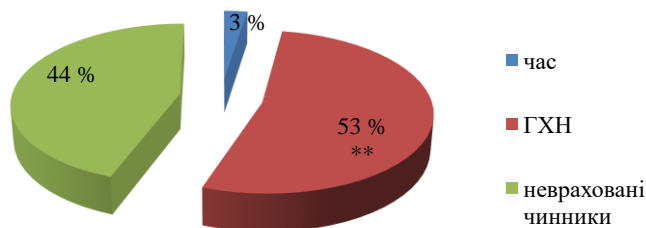


Рис. 5.7. Двофакторний дисперсійний аналіз впливу гіпохлориту натрію, часу розвитку клітин і неврахованих чинників на каталазну активність зародків в'юна (** – $p \geq 0,99$)

Трохи інші результати виявлено під час аналізу ГПО. Встановлено, що ГХН діє на роботу ГПО лише на 8 %, тоді як 92 % більш-менш рівномірно розподілені між фактором часу розвитку зародків в'юна та неврахованими чинниками (рис. 5.8). Варто пригадати, що до 6-ї години раннього ембріогенезу клітини використовують материнські іРНК, і їхній пул, а також синтез ГПО, в такому разі залежать від часу розвитку. До неврахованих чинників логічно залучити вміст відновленого глутатіону, без якого неможлива робота ГПО, наявність гідропероксидів, а також Se , H_2O_2 .

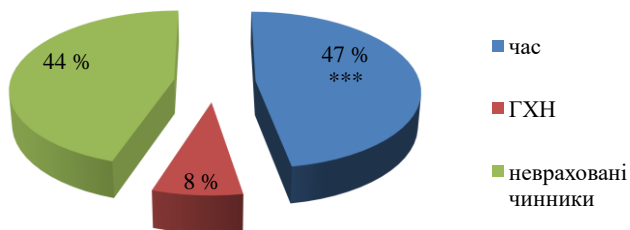


Рис. 5.8. Двофакторний дисперсійний аналіз впливу гіпохлориту натрію, часу розвитку клітин і неврахованих чинників на глутатіонпероксидазну активність зародків в'юна (*** – $p \geq 0,999$)

Встановлено, що на початковому етапі розвитку зародків в'юна (1-й поділ, 2 бластомери) ГХН зумовлює достовірне зростання ГТ активності, за винятком концентрацій 0,5 і 7,5 мг/л. Проте й за дії ГХН згаданих концентрацій зафіксовано тенденцію до зростання ГТ активності (табл. 5.13). Найбільш виражене зростання активності ензиму виявлено за інкубування зародків в'юна в середовищі з ГХН у концентраціях 1 та 2,5 мг/л (зростання активності на 101 і 107 %, відповідно).

Таблиця 5.13

**Глутатіон-S-трансферазна активність зародків в'юна
упродовж раннього ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію
(n = 10; мкмоль 1-хлор-2,4-динітробензол/хв мг протеїну)**

Дослідна група	Кількість бластомерів				
	2	16	64	256	1024
Контроль	728,000± 41,508	956,800± 94,048	704,000± 45,879	852,800± 55,467	931,048± 33,669
ГХН, 0,5 мг/л	979,911± 185,760	1713,920± 33,280***	1391,450± 74,997***	1219,310± 50,149***	995,879± 50,424
ГХН, 1 мг/л	1461,943± 79,830***	1577,930± 123,769**	1354,970± 140,857***	1735,720± 194,465***	1074,670± 26,125**
ГХН, 2,5 мг/л	1505,263± 73,550***	1274,000± 176,872	2266,480± 128,838***	1093,490± 69,305**	1277,710± 74,120**
ГХН, 5 мг/л	1189,760± 144,799**	1182,320± 33,841**	1761,880± 222,788***	746,667± 71,590	1307,430± 121,913**
ГХН, 7,5 мг/л	1067,733± 55,887	1248,000± 37,822**	1818,510± 178,330***	925,935± 38,479	1409,780± 177,603**
ГХН, 10 мг/л	1224,000± 135,345**	1450,060± 131,759**	1607,780± 97,441***	929,882± 39,542	1678,340± 156,118***
ГХН, 12,5 мг/л	1090,590± 105,119	1383,200± 97,807**	1418,670± 104,027***	919,579± 42,242	2208,000± 59,867***

Примітки: ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

Під час подальшого розвитку зародків в'юна (16 бластомерів) ми зафіксували зростання ГТ активності за дії ГХН, окрім концентрації 2,5 мг/л (тут зростання активності недостовірне; p = 0,86). На цьому етапі розвитку ензиматична активність більш виражено зростає за дії ГХН у найнижчих концентраціях – 0,5 і 1 мг/л (на 79 і 65 %, відповідно) (див. табл. 5.13).

Варто зазначити, що на етапі розвитку зародкових клітин 64 бластомери відбувається значне, достовірне зростання ГТ активності у середньому на 136 % за інкубації бластомерів у середовищі з ГХН усіх досліджуваних концентрацій (див. табл. 5.13). Найвищу ГТ активність зафіксовано за дії ГХН у концентрації 2,5 мг/л. Нами зауважено, що в контрольних зразках на цій стадії ГТ активність є найнижчою, порівняно з іншими досліджуваними етапами розвитку (704 ± 45,9 мкмоль/хв мг протеїну). Із даних літератури відомо, що в розвитку зародків в'юна є два періоди, пов'язані зі

змінами інтенсивності вільнорадикальних реакцій, до яких належить проміжок часу між другою і третьою годинами розвитку (відповідає стадія 16 і 64 бластомери) та між п'ятою і шостою (відповідає стадія 1024 бластомери) після запліднення. Протягом 2-ї–3-ї годин відбувається зростання інтенсивності процесів ліпопероксидації, тоді як під час 5-ї та 6-ї годин – зниження [271, 370]. Ймовірно, етап розвитку зародків в'юна на стадії 64 бластомери (які розташовуються у 2–3 шари й утворюють високу шапочку) є найбільш чутливим до різних зовнішніх впливів.

За вивчення дії досліджуваного чинника на розвиток зародків в'юна на етапі 10-го поділу (1024 бластомери) виявлено дозозалежне зростання ГТ активності. Так, ГХН у концентрації 1 мг/л зумовлює найменш виражене достовірне підвищення активності ензиму (на 15 %), тоді як ГХН у концентрації 12,5 мг/л – найбільш виражене (на 137 %) (див. табл. 5.13). Таке зростання, ймовірно, пов'язане зі змінами у розвитку зародків в'юна, оскільки, як уже зазначалося, до 10-го поділу відбуваються синхронні поділи бластомерів щопівгодини, а після 10-го поділу – їхня десинхронізація. 10-й поділ відповідає морулі, де бластомери розташовані в кілька шарів і утворюють шапочку з горбиками. Наприкінці синхронних поділів бластомерів (на стадії 10-го поділу) відбувається короточасне зниження рівня трансмембранного потенціалу й ензиматичної активності Na^+ , K^+ -помпи, спадає мітотичний індекс і зростає морфогенетична активність ядер, а всі біосинтетичні процеси потребують перерозподілу пулів макроергів. До цього часу розвиток зародків здійснюється за рахунок генетичної інформації, яка нагромаджена материнським організмом [231, 406]. Цим можна пояснити різну ГТ активність на початкових і кінцевій досліджуваних стадіях розвитку зародків в'юна.

Нами встановлено, що на етапі 8-го поділу зародків в'юна (256 бластомерів) ГТ активність зростає лише за дії ГХН низьких концентрацій (0,5, 1 та 2,5 мг/л на 43, 104, 28 %, відповідно), тоді як високі досліджувані концентрації не спричиняють достовірних змін активності ензиму (див. табл. 5.13).

Зростання ГТ активності свідчить, що за дії ГХН у зародкових клітинах утворюються органічні пероксиди, які й інактивуються цим ензимом. Відомо, що ГТ відіграє важливу роль у детоксикації, деградації й виведенні з організму чужорідних сполук, тому активність цього ензиму зростає більш інтенсивно, порівняно з іншими глутатіонзалежними ензимами [402].

Доведено, що у контрольних групах показник ГТ активності є більш стабільним, порівняно з показниками ГПО і КАТ, про що свідчать їхні коефіцієнти варіації (табл. 5.14). Виявлено, що зростання мінливості ГТ переважно відбувається за дії ГХН на етапах розвитку 2, 64 і

1024 бластомери. Це може бути пов'язано з механізмами відновлення окиснених форм глутатіону. Також за концентрацій дезінтоксиканта 5 і 7,5 мг/л найчастіше виявляють зростання коефіцієнта варіації.

Таблиця 5.14

Коефіцієнти варіації глутатіон-S-трансферази і відновленого глутатіону у зародках в'юна за дії гіпохлориту натрію, %

Етап розвитку	Глутатіон-S-трансфераза							
	Конт- роль	ГХН, 0,5 мг/л	ГХН, 1 мг/л	ГХН, 2,5 мг/л	ГХН, 5 мг/л	ГХН, 7,5 мг/л	ГХН, 10 мг/л	ГХН, 12,5 мг/л
2 бластомери	18	60	17	15	38	43	35	20
16 бластомерів	31	6	25	44	9	10	29	22
64 бластомери	21	17	33	18	40	31	19	23
256 бластомерів	21	13	35	20	16	13	13	15
1024 бластомери	11	16	8	18	29	40	29	9
Етап розвитку	Відновлений глутатіон							
2 бластомери	8	10	11	23	54	3	6	21
16 бластомерів	14	23	21	35	48	30	5	8
64 бластомери	20	9	35	13	12	9	27	14
256 бластомерів	39	20	18	52	19	71	22	24
1024 бластомери	8	9	18	38	20	11	15	57

Провівши двофакторний дисперсійний аналіз впливу досліджуваного чинника та часу розвитку зародків в'юна на ГТ активність, ми встановили, що на її роботу однаковий вплив має час розвитку та ГХН (частка впливу 22 та 27 %, відповідно). Це свідчить про те, що ГХН впливає опосередковано на ГТ активність, індуючи утворення пероксидів у клітинах в'юна. Нами виявлено, що на зростання ГТ активності суттєво впливають невраховані чинники (частка впливу 51 %) (рис. 5.9), до яких можна також залучити середовище й температурний режим, за якого відбувався розвиток зародкових клітин.

Зростання ГТ активності в зародкових об'єктах є позитивним фактором, оскільки відомо, що цей ензим інактивує токсичні сполуки у клітині завдяки їхній біотрансформації. Таким чином, він запобігає пошкодженню ДНК, мітохондрій та інших життєво важливих компонентів клітини шкідливими сполуками і, зрештою, суттєво збільшує її стійкість до різних шкідливих чинників [254].

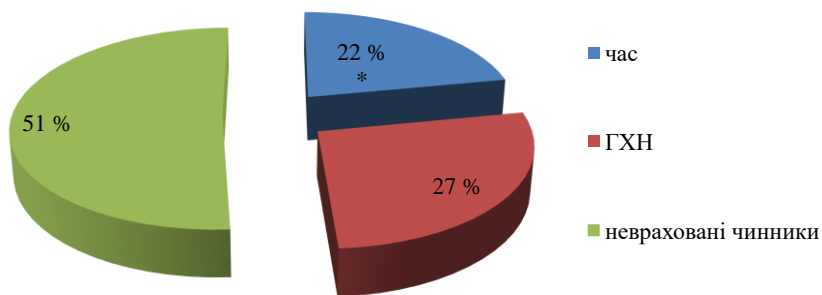


Рис. 5.9. Двофакторний дисперсійний аналіз впливу гіпохлориту натрію, часу розвитку клітин і неврахованих чинників на глутатіон-S-трансферазну активність зародків в'юна (* – $p \geq 0,95$)

Отже, дія ГХН зумовлює зростання ГТ активності в період раннього ембріогенезу зародків в'юна. Максимальне зростання активності ензиму, за впливу ГХН, зафіксоване на етапі розвитку зародків 64 бластомери. На етапі розвитку зародків в'юна 1024 бластомери за дії гіпохлориту натрію ГТ активність дозозалежно зростає. ГХН у низьких концентраціях зумовлює більш виражене зростання ГТ до 8-го поділу зародків в'юна (крім стадії 64 бластомери), тоді як високі концентрації такі зміни зумовлюють на 10-му поділі. Частка впливу часу розвитку зародків в'юна і ГХН на ГТ активність упродовж раннього ембріогенезу є незначною та становить 22 і 27 %, відповідно, тоді як на частку впливу неврахованих факторів припадає 51 %.

Вивчаючи ВГ на етапі першого поділу бластомерів, встановили зростання його вмісту за дії ГХН у концентраціях 1; 2,5; 7,5; 10; 12,5 мг/л (табл. 5.15). Проте за концентрації 5 мг/л відбувається несуттєве зниження (на 30 %) кількості GSH. Зниження кількості відновленого глутатіону не вплинуло на роботу ГПО і ГТ. На етапі дроблення 16 бластомерів ГХН у низьких концентраціях (0,5; 1; 2,5; 5 мг/л) зумовлює зниження вмісту досліджуваного показника (на 44, 57, 57, 61 %, відповідно), тоді як високі (7,5; 10; 12,5 мг/л) ведуть до підвищення на 50, 30, 50 %, відповідно. На цій досліджуваній стадії зміни вмісту ВГ відбуваються на фоні або нормальної роботи ГПО, або несуттєво зниженої, а також на тлі зростання ГТ активності. Це свідчить, що зниження ВГ не порушило роботи глутатіон-залежних ензимів.

Етап розвитку зародків в'юна 64 бластомери характеризується різноспрямованими змінами вмісту ВГ (див. табл. 5.15). Так, ГХН у концентрації 0,5 мг/л веде до підвищення вмісту GSH на 29 % поряд із незначним підвищенням кількості ТБК-позитивних продуктів і ГТ активності (інші показники є у межах норми). Отже, ГХН у цій

концентрації не чинить пошкоджувальної дії на клітини зародка на етапі розвитку 64 бластомери. Зниження вмісту ВГ відбувається за дії ГХН у концентраціях 1; 2,5; 7,5 та 12,5 мг/л, а підвищення – за концентрацій 5; 10 мг/л. Ці зміни відбуваються тоді, коли зростає ГТ, КАТ, ГПО та знижується СОД активність, активуються процеси ПОЛ і ОМП. Це свідчить, що ГХН на етапі розвитку 64 бластомери значно розбалансовує прооксидантно-атиоксидантну рівновагу. На подальшому етапі розвитку (256 бластомерів) спостерігається тенденція до зростання вмісту ВГ за дії дезінтоксиканта. Такі зміни відбуваються і на стадії 1024 бластомери. Так, ГХН у концентрації 0,5; 1; 2,5; 5; 7,5; 10 мг/л зумовлює підвищення показника на 251, 196, 106, 59, 12, 197 % (див. табл. 5.15). Відомо, що за оксидативного стресу відбувається посилений синтез білків шаперонів, які сприяють підвищенню внутрішньоклітинної концентрації відновленого глутатіону, необхідного для функціонування глутатіонзалежної АОС. Є повідомлення, що концентрація ВГ збільшується під час поділу клітин і в пухлинах [372]. Отже, зростання вмісту GSH під час поділу бластомерів є закономірним явищем.

Таблиця 5.15

Вміст відновленого глутатіону у зародках в'юна упродовж раннього ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію (n=5; мкмоль/мг протеїну)

Дослідна група	Кількість бластомерів				
	2	16	64	256	1024
Контроль	0,064± 0,002	0,070± 0,003	0,086± 0,005	0,038± 0,005	0,042± 0,001
ГХН, 0,5 мг/л	0,060± 0,002	0,039± 0,003***	0,110± 0,003**	0,099± 0,00***	0,147± 0,004***
ГХН, 1 мг/л	0,095± 0,003***	0,030± 0,002***	0,054± 0,006**	0,081± 0,005***	0,124± 0,007***
ГХН, 2,5 мг/л	0,101± 0,007***	0,029± 0,003***	0,064± 0,003**	0,042± 0,007	0,087± 0,010***
ГХН, 5 мг/л	0,045± 0,008**	0,027± 0,004***	0,143± 0,006***	0,034± 0,002	0,067± 0,004***
ГХН, 7,5 мг/л	0,160± 0,002***	0,105± 0,010***	0,067± 0,002**	0,034± 0,008	0,047± 0,002**
ГХН, 10 мг/л	0,149± 0,003***	0,137± 0,002***	0,150± 0,013***	0,083± 0,006***	0,125± 0,006***
ГХН, 12,5 мг/л	0,079± 0,005**	0,105± 0,003***	0,072± 0,003**	0,121± 0,009***	0,050± 0,009

Примітки: ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

Розрахувавши коефіцієнти варіації для ВГ, встановили, що у контролі на початковій і останній стадії синхронного дроблення показник є високо-стабільним, проте на інших етапах поділу мінливість

підвищується (див. табл. 5.14). Варто засвідчити, що коефіцієнти варіації загалом підвищуються, порівняно з контролем, за дії ГХН.

Застосувавши дисперсійний аналіз, виявили вплив ГХН на вміст ВГ у зародках в'юна, частка якого становить 29 % (рис. 5.10). ВГ є важливою ланкою системи АОЗ, особливо за дії ГХН, коли відбувається зниження роботи СОД. ВГ здатний перехоплювати $O_2^{\cdot-}$ та OH^{\cdot} – потужних окиснювачів. На сьогодні встановлено участь GSH в утворенні цитокінів, імунній відповіді, мітохондріальному метаболізмі, депонуванні цистеїну, підтриманні гомеостазу мікроелементів, здійсненні редокс-сигналювання та регуляції клітинної проліферації, диференціації й апоптозу. Редокс-статус систем GSH, тіоредоксину і нікотинамідних коензимів є важливим для контролю фундаментальних клітинних процесів, включаючи експресію генів. Значення редокс-потенціалу, відповідно до рівняння Нернста, для пари 2GSH/GSSG коливається в межах від -260 мВ до -150 мВ [197, 307]. Отже, у тих випадках, коли ВГ за дії ГХН знижується, у зародках відбувається зміщення редокс-потенціалу щодо глутатіону в бік закислення (тобто збільшення окисно-відновного потенціалу). Під час підвищення вмісту ВГ, ймовірно, наявне зниження редокс-потенціалу 2GSH/GSSG.

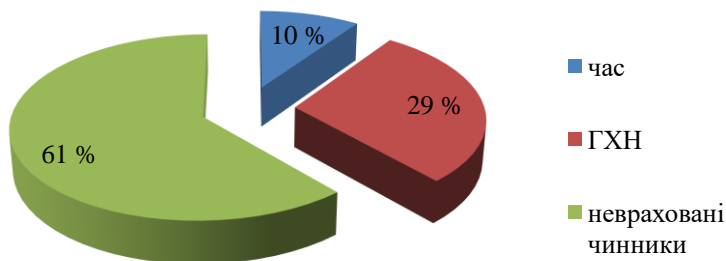


Рис. 5.10. Двофакторний дисперсійний аналіз впливу гіпохлориту натрію, часу розвитку клітин і неврахованих чинників на вміст відновленого глутатіону в зародках в'юна

На вміст ВГ значний вплив чинять невраховані фактори (див. рис. 5.10). Відомо, що з відновленим глутатіоном пов'язана робота ензимів ГПО і ГТ, а також глутатіонредуктази (яка відновлює окиснену форму глутатіону). Також ВГ використовують тіолтрансферази, тіолпротеїндисульфідоксидоредуктази, дегідроаскорбатредуктази, глутаредоксин [372]. Тому такий високий відсоток припадає на «невраховані чинники», які впливають на вміст ВГ у зародках.

Одним із чутливих показників впливу екзогенних і ендогенних чинників на плазматичну мембрану клітини є зміна активності мембранозв'язаних ензимів, таких як Mg^{2+} -залежна Na^+ , K^+ -АТФаза та

Ca²⁺-АТФаза, що регулюють іонний гомеостаз у клітині. Порушення їхньої роботи призводить до змін внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca²⁺, Na⁺ і K⁺, що може спричинити низку метаболічних змін у клітині [379].

Нами встановлено, що на першому етапі поділу бластомерів ГХН у найнижчій концентрації не порушує роботи Na⁺, K⁺-АТФази, проте за вищих концентрацій відбувається пригнічення ензиматичної активності (1 мг/л – на 16 %; 2,5 мг/л – на 33 %; 5 мг/л – на 35 %; 7,5 мг/л – на 39 %; 10 мг/л – на 47 %; 12,5 мг/л – на 79 %). Отже, дезінтоксикант зумовлює дозозалежне інгібування роботи Na⁺, K⁺-АТФази (табл. 5.16). Дозозалежне значне зниження (на 17–98 %) ензиматичної активності продовжується і на етапах поділу 16 і 64 бластомери. Пригнічення роботи Na⁺, K⁺-АТФази відбувається до кінця досліду (256 і 1024 бластомери).

Таблиця 5.16

**Na⁺, K⁺-АТФазна активність у зародках в'юна впродовж
раннього ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію
(n = 10; мкмоль Рі/год мг протеїну)**

Дослідна група	Кількість бластомерів				
	2	16	64	256	1024
Контроль	11,609± 0,822	12,926± 0,669	15,273± 0,845	17,918± 0,674	15,835± 1,315
ГХН, 0,5 мг/л	10,492± 0,314	8,216± 0,303***	12,604± 0,222**	13,133± 0,304***	10,937± 0,193**
ГХН, 1 мг/л	9,845± 0,387*	10,143± 0,261**	9,299± 0,156***	10,671± 0,257***	9,494± 0,300***
ГХН, 2,5 мг/л	7,748± 0,191***	7,226± 0,418***	5,649± 0,296***	7,077± 0,149***	5,605± 0,237***
ГХН, 5 мг/л	7,556± 0,347***	3,913± 0,327***	2,868± 0,118***	6,494± 0,118***	3,323± 0,169***
ГХН, 7,5 мг/л	7,179± 0,489***	3,015± 0,290***	2,513± 0,145***	7,266± 0,259***	4,882± 0,259***
ГХН, 10 мг/л	6,065± 0,345***	2,536± 0,220***	1,986± 0,249***	7,451± 0,226***	4,311± 0,201***
ГХН, 12,5 мг/л	2,413± 0,237***	0,225± 0,051***	1,929± 0,121***	3,288± 1,343***	3,258± 0,332***

Примітки: * – p ≥ 0,95; ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

Досліджуючи Mg²⁺-залежну Ca²⁺-АТФазу, виявили, що за дії ГХН у концентрації 0,5 мг/л ензиматична активність перебуває у межах контролю на всіх досліджуваних етапах розвитку, крім стадії 16 бластомерів, під час якої відбувається спадання активності на 45 % (табл. 5.17). Робота Mg²⁺-залежної Ca²⁺-АТФази не порушується також на етапах розвитку 2 і 64 бластомери за дії ГХН у концентрації 1 мг/л. В усіх інших випадках Mg²⁺-залежна Ca²⁺-АТФазна активність спадає. Найбільш інтенсивне зниження відбувається на першому етапі дроблення

(2 бластомери) за концентрацій дезінтоксиканта 5; 7,5; 10 і 12,5 мг/л (на 71, 80, 89, 90 %, відповідно).

Таблиця 5.17

**Mg²⁺-залежна Ca²⁺-АТФазна активність у зародках в'юна
упродовж раннього ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію
(n = 10; мкмоль Рі/год мг протеїну)**

Дослідна група	Кількість бластомерів				
	2	16	64	256	1024
Контроль	7,970±1,591	7,765±0,718	7,421±0,946	7,720±0,444	8,813±0,595
ГХН, 0,5 мг/л	5,977±0,213	4,264±0,138 ***	6,737±0,153	6,863±0,347	8,605±0,347
ГХН, 1 мг/л	6,982±0,219	3,299±0,078 ***	6,153±0,130	4,656±0,140 ***	6,253±0,367 **
ГХН, 2,5 мг/л	3,776±0,133 **	3,444±0,127 ***	5,587±0,247 *	3,531±0,139 ***	4,309±0,168 ***
ГХН, 5 мг/л	2,291±0,103 **	2,403±0,083 ***	4,871±0,122 **	2,858±0,285 ***	4,382±0,168 ***
ГХН, 7,5 мг/л	1,607±0,049 **	2,538±0,089 ***	4,431±0,093 **	3,037±0,215 ***	3,584±0,148 ***
ГХН, 10 мг/л	0,909±0,105 ***	1,256±0,072 ***	4,345±0,184 **	2,762±0,450 ***	3,229±0,232 ***
ГХН, 12,5 мг/л	0,801±0,240 ***	1,343±0,065 ***	4,371±0,725 **	2,011±0,105 ***	3,483±0,112 ***

Примітки: * – p ≥ 0,95; ** – p ≥ 0,99; *** – p ≥ 0,999

У межах комплексного біометричного аналізу нами було обчислено коефіцієнт варіації, за допомогою якого виявлено, що у контрольних зразках на всіх етапах розвитку зародків Na⁺, K⁺-АТФазна активність є стабільною (табл. 5.18). ГХН у концентраціях 0,5 і 1 мг/л зумовлює зниження варіації даного показника на всіх досліджуваних етапах розвитку, тобто зміни характеризуються високою відтворюваністю. Протилежний ефект зафіксовано за концентрації 12,5 мг/л, де коефіцієнти варіації Na⁺, K⁺-АТФази значно зростають, що свідчить про більш мінливе зниження ензиматичної активності у зародках в'юна упродовж раннього ембріогенезу.

Як і КАТ та ГПО, Mg²⁺-залежна Ca²⁺-АТФазна активність характеризується високою мінливістю у контролі. Це можна пояснити тим, що робота її пов'язана з регуляцією вмісту Ca²⁺ як регуляторних іонів. Слід відзначити, що ГХН у концентраціях 0,5; 1 і 2,5 мг/л знижує коефіцієнти варіації Mg²⁺-залежної Ca²⁺-АТФазної активності на всіх етапах розвитку раннього ембріогенезу (див. табл. 5.18). Отже, низькі концентрації ГХН зумовлюють стабільні зміни у клітинах.

Таблиця 5.18

**Коефіцієнти варіації Mg^{2+} -залежної Na^+ , K^+ -АТФази
та Ca^{2+} -АТФази активності у зародках в'юна
за дії гіпохлориту натрію, %**

Етап розвитку	Na^+ , K^+ -АТФаза							
	Конт- роль	ГХН, 0,5 мг/л	ГХН, 1 мг/л	ГХН, 2,5 мг/л	ГХН, 5 мг/л	ГХН, 7,5 мг/л	ГХН, 10 мг/л	ГХН, 12,5 мг/л
2 бластомери	22	9	13	8	15	22	18	31
16 бластомерів	16	12	8	18	26	30	27	72
64 бластомери	17	6	5	17	13	18	40	20
256 бластомерів	12	7	8	7	6	11	10	129
1024 бластомери	26	6	10	13	16	17	15	32
Етап розвитку	Mg^{2+} -залежна Ca^{2+} -АТФаза							
2 бластомери	63	11	10	11	14	10	37	95
16 бластомерів	29	10	7	12	11	11	18	15
64 бластомери	40	7	7	14	8	7	13	52
256 бластомерів	18	16	10	12	31	22	52	16
1024 бластомери	21	13	19	12	12	13	23	10

Нами виявлено, що ГХН більш виражено негативно впливає на роботу Na^+ , K^+ -АТФази, порівняно із Mg^{2+} -залежною Ca^{2+} -АТФазою. Це пов'язано зі штучним систематичним надмірним внесенням у клітину іонів Na^+ (наприклад, через іонні канали), що змінює іонний гомеостаз зародків (рис. 5.11). Це підтверджується дозозалежним зниженням активності ензиму. Надмірне надходження іонів Na^+ у складі ГХН відбувається за рахунок порушення бар'єрних функцій плазматичної мембрани, оскільки нами встановлено зростання інтенсивності ПОЛ і ОМП. Відомо, що в нормі у клітинах набагато більше K^+ і менше Na^+ , ніж у міжклітинному середовищі; Ca^{2+} всередині клітини міститься приблизно в 10 000 разів менше, ніж в оточуючому середовищі. Завдяки різниці концентрацій іонів у клітині та в оточуючому середовищі на цитоплазматичній мембрані є різниця потенціалів зі знаком «-» усередині клітини (приблизно -70 мВ для нервових і м'язових клітин). Зменшення мембранного потенціалу відбувається як за неспецифічного збільшення іонної проникності мембран, так і за вирівнювання концентрацій іонів унаслідок виключення роботи клітинних pomp; останнє відбувається як під час прямого пошкодження Na^+ , K^+ -АТФази, так і під час зниження рівня

АТФ унаслідок порушення біоенергетичних процесів у мітохондріях. Ушкодження мембран зумовлює вихід K^+ з клітини [163]. Враховуючи вищезазначене й те, що за дії ГХН зростають процеси ліпопероксидації (пошкодження мембран) і значно підвищується вміст продуктів окисдавної модифікації протеїнів (ушкоджуються протеїни), можна зробити висновок, що досліджуваний дезінтоксикант змінює структуру Na^+, K^+ -АТФази, порушує іонний гомеостаз клітин, змінює вміст АТФ (шляхом ушкодження мембран мітохондрій, на яких розташовані АТФ-синтази), що в кінцевому результаті призводить до зниження трансмембранної різниці потенціалів. Відомо, що разом з Na^+ , який видається Na^+, K^+ -АТФазою, відбувається вихід іонів Cl^- за рахунок електричного поля, що створюється дифузією іонів K^+ і переносом Na^+ , оскільки мембрана клітин добре проникна для іонів Cl^- [163]. Оскільки ГХН у реакції (з органічними речовинами) гідроксилювання утворює $NaCl$, який дисоціює на іони Na^+ і Cl^- , зниження Na^+, K^+ -АТФазної активності буде призводити до затримання іонів Cl^- у клітині в значних кількостях.

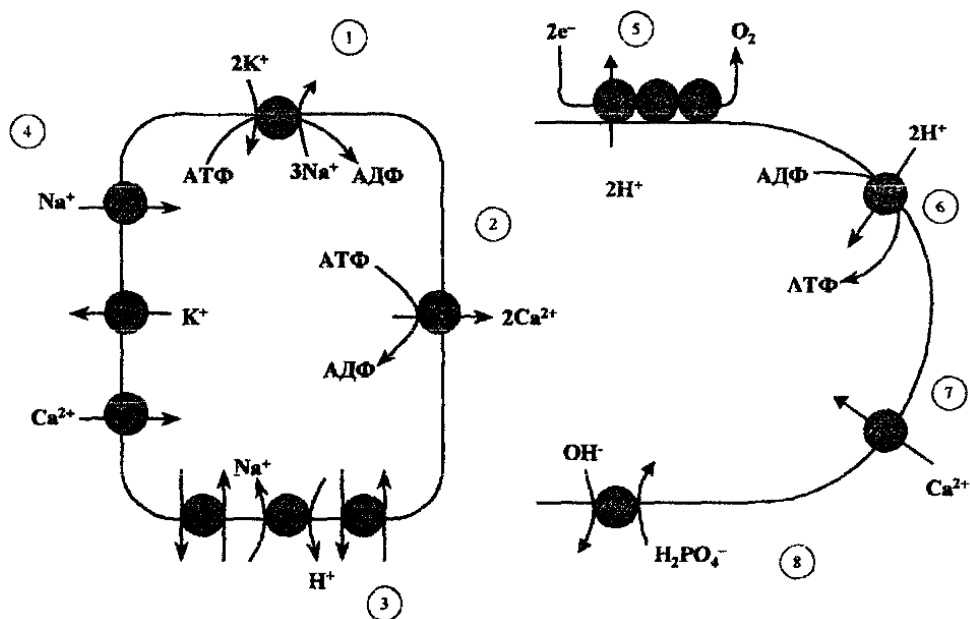


Рис. 5.11. Іонні помпи і канали у клітинній (зліва) та мітохондріальній (справа) мембранах: 1 – Na^+-K^+ -транспортна АТФаза; 2 – Ca^{2+} -транспортна АТФаза; 3 – Na^+-H^+ -іонообмінник; 4 – іонні канали для Na^+ , K^+ і Ca^{2+} ; 5 – протонна помпа, спряжена з переносом електронів по дихальному ланцюзі мітохондрій; 6 – АТФ-синтаза, спряжена з переносом протонів усередину мітохондрій; 7 – канал для Ca^{2+} ; 8 – переносник фосфату [163]

Зміна мембранного потенціалу, яка відбувається внаслідок дії ушкоджувальних чинників, є негативною, оскільки веде до відкриття потенціалзалежних Ca^{2+} -каналів [163]. Крім цього, нами встановлено зниження роботи Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФази за дії ГХН. Отже, у разі, коли Ca^{2+} неконтрольовано входить у клітину, а активність Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФази пригнічена, цей іон буде накопичуватися в цитоплазмі зародків. Відомо, що Ca^{2+} є сигнальною молекулою, яка активує роботу фосфоліпаз. Фосфоліпази погано гідролізують фосфоліпіди, які входять до складу неушкодженого біліпідного шару [163]. Враховуючи те, що фосфоліпаза (відщеплює від фосфоліпідів окиснену жирну кислоту, що містить гідропероксидну групу) і ГПО (відновлює гідропероксидну групу до спиртової з одночасним окисненням GSH до GSSG) працюють у парі, ймовірно, зниження роботи Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФази за дії ГХН можна розглядати як регуляторний механізм активації репараційних процесів у бластомерах. Поряд із тим, відомо, що підвищення концентрації Ca^{2+} у цитоплазмі активує також процеси запрограмованої смерті клітини.

За критичної різниці потенціалів на мембрані, яка отримала назву «потенціал пробоя», відбувається різке зростання струму. За постійного мембранного потенціалу, якщо він перевищує критичне значення, струм самовільно наростає в часі до повної руйнації мембрани. Це явище називається електричним пробоем мембрани. Показано, що продукти ПОЛ, продукти гідролізу фосфоліпідів фосфоліпазами (лізолецитини), а також багато протеїнів знижують поверхневий натяг на границі розділення фаз. У результаті цього знижується потенціал пробоя мембран, тобто зменшується їхня електрична міцність і порушується бар'єрна функція мембран [163]. Враховуючи те, що ГХН зумовлює зростання ПОЛ і, ймовірно, підвищення фосфоліпаз, у зародках в'юна наявний електричний пробій мембрани, особливо за дії високих концентрацій дезінтоксиканта.

Проведений двофакторний дисперсійний аналіз підтвердив високоспрямовану дію ГХН на Mg^{2+} -залежну Na^+ , K^+ -АТФазу та Ca^{2+} -АТФазу активність (рис. 5.12, 5.13).

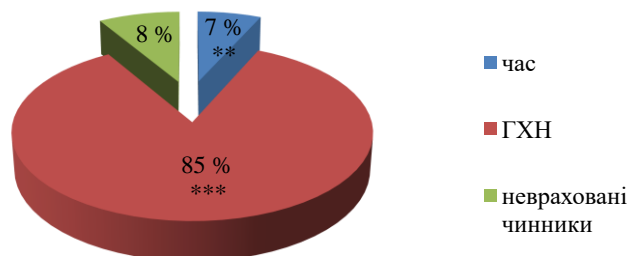


Рис. 5.12. Двофакторний дисперсійний аналіз впливу гіпохлориту натрію, часу розвитку клітин і неврахованих чинників на Na^+ , K^+ -АТФазу активність у зародках в'юна (** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

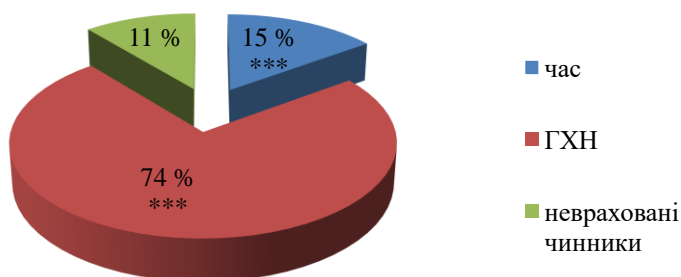


Рис. 5.13. Двофакторний дисперсійний аналіз впливу гіпохлориту натрію, часу розвитку клітин і неврахованих чинників на Mg^{2+} -залежну Ca^{2+} -АТФазну активність у зародках в'юна (***) – $p \geq 0,999$)

Так, частка впливу ГХН на роботу Na^+ , K^+ -АТФази становить 85 % ($p \geq 0,999$), а на Mg^{2+} -залежну Ca^{2+} -АТФазну активність – 74 %. Відомо, що Ca^{2+} -АТФаза, як і багато інших векторних ензимів біомембран (наприклад, аденілатциклаза, Na^+ , K^+ -АТФаза), є типовим ліпідзалежним ензимом, гідрофобний домен якого безпосередньо контактує з «прикордонними» ліпідами бішару. Причиною пригнічення Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФазної активності вважають інтенсифікацію процесів вільнорадикального окиснення, оскільки ензим є дуже чутливим до ліпопероксидації, під час якої відбувається окиснення SH-груп його активного центру [332]. Оскільки ГХН є потужним оксидантом, то він окиснює SH-групи протеїнів активного центру ензиму. Відомо, що активація глутаматергічних нейронів мозочку специфічними лігандами супроводжується ростом внутрішньоклітинного рівня активних форм кисню за рахунок активації метаболічних реакцій. Припускають, що убаїнрезистентна Na^+ , K^+ -АТФаза в клітинах нейронів контролює утворення АФК, які, у свою чергу, виступають як інгібітори убаїн-чутливих ізоформ Na^+ , K^+ -АТФази [167]. Цей ензим також є ліпідзалежним, а його активність значною мірою визначається мікрооточенням і залежить від фазового стану ліпідного матриксу. М. М. Яремчук зазначає, що інтенсифікація процесів ПОЛ викликає пригнічення активності ензиму Na^+ , K^+ -АТФази [408]. Отже, наші дослідження узгоджуються з даними літератури.

Відомо, що фактори, які регулюють клітинний цикл, локалізовані в цитоплазмі. Це фактор, який стимулює дозрівання (maturation promoting factor, MPF), цитостатичний фактор (cytostatic factor, CSF) та іони кальцію. Показано, що у клітинах, які діляться, рівень активності MPF зазнає циклічних змін. Активність MPF у бластомерах жаби на ранніх стадіях дроблення найвища в М-фазі та не виявляється в S-фазі. Дія MPF здійснюється шляхом зміни структури ядерної оболонки. Цитостатичний фактор стабілізує фактор дозрівання, затримуючи клітини у стані мітозу, а

кальцій інактивує цитостатичний фактор, стимулюючи перехід до S-фази за рахунок інактивації MPF. За додавання CSF припиняються також циклічні скорочення кортикального шару цитоплазми, а подальша ін'єкція іонів кальцію їх стимулює [281]. Отже, зміни Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФазної активності за дії ГХН неодмінно позначаються на регуляції поділу бластомерів.

Для виявлення залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану і мембранопов'язаних процесів у зародках в'юна проведено кореляційний аналіз. Нами встановлено, що у контролі переважають слабкі кореляційні зв'язки. На етапі розвитку 2 бластомери середню тісноту зв'язку виявлено між показниками: ДК і ГПО, ДК і ГТ, ТБК-позитивні продукти і карбонільні групи основного характеру, СОД і КАТ, СОД і ВГ (табл. В.1). Сильна залежність є між ГПО і ГТ ($r=0,851$), карбонільні групи нейтрального характеру і карбонільні групи основного характеру ($r=0,842$), Na^+ , K^+ -АТФаза і Ca^{2+} -АТФаза ($r=0,752$); зі знаком «+», що свідчить про односпрямовані процеси (тобто зі зростанням одного показника інший теж зростає або зі зниженням одного показника інший теж знижується). На етапі 2 бластомери сильні зв'язки виникають між логічно пов'язаними показниками.

На етапі розвитку 16 бластомерів зв'язки середньої сили з'являються між показниками: ДК і карбонільними групами основного характеру, СОД і карбонільними групами нейтрального характеру, СОД і карбонільними групами основного характеру, СОД і Ca^{2+} -АТФазою, КАТ і Na^+ , K^+ -АТФазою, ГПО і карбонільними групами основного характеру, ВГ і карбонільними групами нейтрального характеру (табл. В.2). Проте сильні кореляційні зв'язки формуються між СОД і ГПО ($r=0,85$), ГТ і ВГ ($r=-0,83$), ГТ і карбонільними групами нейтрального характеру ($r=0,902$), ГТ і карбонільними групами основного характеру ($r=0,813$), ВГ і карбонільними групами основного характеру ($r=-0,732$), карбонільними групами нейтрального характеру і карбонільними групами основного характеру ($r=0,959$).

За подальшого розвитку інтактних зародків на стадії 64 бластомери кореляційні зв'язки середньої сили виявлено між такими показниками: ДК і ВГ, ТБК-позитивні продукти і СОД, КАТ і карбонільні групи основного характеру, ГПО і ГТ (табл. В.3). Сильна залежність є між ДК і СОД ($r=0,793$), СОД і ВГ ($r=0,782$), карбонільними групами нейтрального характеру і карбонільними групами основного характеру ($r=0,915$). Слабкий взаємозв'язок на етапі розвитку зародків в'юна 256 бластомерів виявлено між значеннями ДК і ГТ, ДК і Na^+ , K^+ -АТФаза, ТБК-позитивні продукти і ГТ, СОД і карбонільні групи нейтрального характеру, СОД і карбонільні групи основного характеру, СОД і Na^+ , K^+ -АТФаза, КАТ і Na^+ , K^+ -АТФаза, КАТ і Ca^{2+} -АТФаза, ГПО і карбонільні групи нейтрального характеру (табл. В.4). А тісні взаємозв'язки встановлюються

між показниками: ТБК-позитивні продукти і КАТ ($r=-0,711$), ГПО і ГТ ($r=0,765$), ГПО і карбонільні групи основного характеру ($r=-0,794$), карбонільні групи нейтрального характеру і карбонільні групи основного характеру ($r=0,896$). На останньому етапі розвитку (1024 бластомери) слабкі зв'язки утворюються між ТБК-позитивними продуктами і ДК, карбонільними групами нейтрального характеру і ДК, ТБК-позитивними продуктами і КАТ, ТБК-позитивними продуктами і Ca^{2+} -АТФазою, карбонільними групами основного характеру і Ca^{2+} -АТФазою, Na^+ , K^+ -АТФазою і Ca^{2+} -АТФазою (табл. В.5). Сильна кореляція на цьому етапі розвитку простежується між ДК і КАТ ($r=0,800$), ГТ і ВГ ($r=-0,881$), карбонільними групами нейтрального характеру і карбонільними групами основного характеру ($r=0,922$).

Отже, в інтактних зародках на всіх досліджуваних етапах розвитку виявлено тісний кореляційний зв'язок між карбонільними групами нейтрального й основного характеру, який завжди є односпрямованим. Тому можна зробити висновок, що вільні радикали, наявні у нормальних клітинах, однаково ушкоджують амінокислоти різних (за електрохімічними властивостями) груп. Часто виявляють сильний взаємозв'язок між ГПО і ГТ (на етапі розвитку 2 і 256 бластомерів), який також є зі знаком «+», тобто зі зростанням одного показника інший теж зростає, чи зі зниженням одного показника інший також знижується. Залежність є закономірною, оскільки і ГПО, і ГТ можуть знешкоджувати гідропероксиди ліпідів. Якщо їхня кількість підвищується у клітині, то на це реагує і ГПО, і ГТ. Наші результати щодо останніх двох показників також засвідчують, що у інтактних зразках зародків відсутні шкідливі речовини (ксенобіотики), на які би зреагувала ГТ, і, в такому разі, залежність ГПО і ГТ могла би бути не односпрямованою, а різноспрямованою. Тісні кореляційні зв'язки непоодинокі виявляють між ГТ і ВГ (16 і 1024 бластомери), які супроводжуються знаком «-». Це є неочікуваним, адже відомо, що ГТ залежить від ВГ. Якщо знижується пул ВГ, то мала би спадати ГТ активність. Це можна трактувати таким чином: у контролі ГТ активність є незначною, і деяке підвищення її супроводжується незначним зниженням вмісту ВГ. Цей процес буде тривати до тих пір, поки вміст ВГ не знизиться до критичного рівня, за якого ГТ активність почне спадати.

За дії ГХН активується утворення сильних взаємозв'язків на всіх етапах розвитку зародків, порівняно з контролем. Так, на стадії 2 бластомери з'являються тісні зв'язки між ГХН і ДК ($r=-0,943$), ГХН і Na^+ , K^+ -АТФазою ($r=-0,937$), ГХН і Ca^{2+} -АТФазою ($r=-0,912$; табл. В.6). Це свідчить, що зі зростанням концентрації гіпохлориту натрію знижується вміст ДК, спадає Na^+ , K^+ -АТФазна і Ca^{2+} -АТФазна активність. Таким чином, кореляційний аналіз ще раз засвідчив, що саме ГХН зумовлює зміни у зазначених показниках. Виявлено, що на етапі розвитку зародків 2

бластомери (які розвиваються у середовищі з ГХН) встановлюється тісний взаємозв'язок між ДК і Na^+ , K^+ -АТФазою ($r=0,924$), а також між ДК і Ca^{2+} -АТФазою ($r=0,960$), що свідчить про кореляцію між перерозподілом подвійних зв'язків, які відбуваються під час вільнорадикальних реакцій і АТФазною активністю. У цей час формуються тісні кореляційні зв'язки між КАТ і ВГ ($r=0,899$). Як і у контролі, висока тіснота взаємозв'язку зберігається між карбонільними групами нейтрального й основного характеру ($r=0,766$), а також між Na^+ , K^+ -АТФазою і Ca^{2+} -АТФазою ($r=0,844$).

Тісний кореляційний зв'язок на етапі розвитку зародків 16 бластомерів встановлюється між концентрацією ГХН і ДК, КАТ, ВГ, карбонільними групами основного характеру, Na^+ , K^+ -АТФазою, Ca^{2+} -АТФазою, що свідчить про прямий вплив дезінтоксиканта на ці показники (табл. В.7). Висока тіснота взаємозв'язку є між ДК і КАТ, ВГ, карбонільними групами основного характеру, Na^+ , K^+ -АТФазою, Ca^{2+} -АТФазою. Виявлено тісний негативний зв'язок між ТБК-позитивними продуктами та СОД ($r=-0,897$); це свідчить про те, що накопичення супероксид-аніон радикала (за зниження роботи ензиму) зумовлює утворення продуктів ліпопероксидації. Висока тіснота взаємозв'язку також виявлена між КАТ і ВГ, карбонільними групами основного характеру, Na^+ , K^+ -АТФазою, Ca^{2+} -АТФазою, а також між ВГ і карбонільними групами основного характеру, Na^+ , K^+ -АТФазою, Ca^{2+} -АТФазою. Карбонільні групи протеїнів основного характеру високо корелюють з Na^+ , K^+ -АТФазою, Ca^{2+} -АТФазою. Mg^{2+} -залежна Na^+ , K^+ -АТФаза корелює з Ca^{2+} -АТФазою. З цих результатів випливає, що мембранопов'язані ензими залежать від КАТ активності та вмісту ВГ, ДК, карбонільних груп основного характеру.

За подальшого дроблення (64 бластомери) кількість зв'язків високої тісноти незначно зменшується порівняно з 2 бластомерами, проте є вищою, ніж у контролі (табл. В.8). У цей час з'являються сильні кореляційні зв'язки між СОД і ГПО ($r=-0,769$), карбонільними групами основного характеру ($r=-0,766$), Na^+ , K^+ -АТФазою ($r=0,898$), Ca^{2+} -АТФазою ($r=0,948$); між ГПО і Na^+ , K^+ -АТФазою ($r=-0,910$), Ca^{2+} -АТФазою ($r=-0,902$). Проте послаблюється взаємозв'язок між КАТ, ВГ та іншими показниками, що було характерно для етапу розвитку 16 бластомерів. Отже, можна стверджувати, що на етапі дроблення 64 бластомери встановлюється стаціонарний стан, за якого інгібування СОД зумовлює ОМП та інактивацію мембранопов'язаних ензимів, а за значної активації ГПО (яка свідчить про наявність великих кількостей гідропероксидів ліпідів) ініціюється пригнічення роботи Na^+ , K^+ -АТФази та Ca^{2+} -АТФази.

Вже на етапі розвитку 256 бластомерів високих кореляційних залежностей між показниками прооксидантно-антиоксидантного стану

стає незначна кількість (табл. В.9). Тісний кореляційний зв'язок виявлено між концентрацією ГХН і ГПО ($r=0,801$), Na^+ , K^+ -АТФазою ($r=-0,814$) та Ca^{2+} -АТФазою ($r=-0,813$). З'являється тісний взаємозв'язок між КАТ і ГТ ($r=0,898$), ГПО і ВГ ($r=0,751$). Кореляційна залежність наявна також між карбонільними групами основного та нейтрального характеру, а також між Mg^{2+} -залежною Na^+ , K^+ -АТФазою і Ca^{2+} -АТФазою.

На останній досліджуваній стадії (1024 бластомери) кількість зв'язків із високою кореляцією підвищується, що пов'язано з часом розвитку зародків в'юна (табл. В.10). Поряд із високою кореляцією ГХН із ензимами, тісний взаємозв'язок наявний між ТБК-позитивними продуктами і ГПО ($r=-0,826$), ВГ ($r=-0,764$). Отже, зниження вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації відбувається за рахунок роботи ГПО і ВГ. Тісна залежність між ДК і КАТ ($r=-0,702$), ГТ ($r=0,730$), Na^+ , K^+ -АТФазою ($r=-0,729$) засвідчує, що на етапі розвитку 1024 бластомери відбувається зниження утворення первинних продуктів ПОЛ унаслідок активації каталази і глутатіон-S-трансферази.

Отже, в інтактних зародках переважають слабкі й середньої сили взаємозв'язки між показниками прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів. За дії ГХН тіснота зв'язків посилюється з піком на етапі розвитку 16 бластомерів. До етапу розвитку 256 бластомерів тіснота взаємозв'язку послаблюється, порівняно з етапом розвитку 16 бластомерів, проте вже на стадії 1024 бластомерів – посилюється.

Для встановлення характеру взаємозалежності показників вільнорадикальних процесів, Mg^{2+} -залежної Na^+ , K^+ -АТФазної та Ca^{2+} -АТФазної активності, концентрації ГХН проведено регресійний аналіз. На основі кореляційного аналізу встановлено пари показників, між якими наявна висока тіснота взаємозв'язку. Власне для таких залежностей виконано регресійний аналіз. Нами встановлено лінійну залежність для усіх досліджуваних груп за показниками F і F -significance (рис. Г.1–28). Проте є такі пари, у яких коефіцієнти a і b (лінійного рівняння $y = a + bx$) є достовірними, а також наявні такі пари, у яких один або обидва цих коефіцієнти недостовірні.

Нами виявлено, що у контрольних зразках зародків в'юна на всіх етапах розвитку коефіцієнти a і b є достовірними (див. рис. Г.1–6). Вірогідність коефіцієнтів наявна і за дії ГХН на етапі розвитку 2 бластомери (див. рис. Г.7–9). Проте на наступному досліджуваному етапі дроблення між парами ГХН–ВГ, Ca^{2+} -АТФаза–ДК, карбонільні групи основного характеру–КАТ, Na^+ , K^+ -АТФаза–КАТ, Ca^{2+} -АТФаза–КАТ, карбонільні групи основного характеру–ВГ один із коефіцієнтів є недостовірним, хоча залежність зберігається лінійною (див. рис. Г.10–16). На етапі розвитку 64 бластомери такі лінійні зв'язки, проте з недостовірними коефіцієнтами, виявлено між парами: карбонільні групи нейтрального характеру–ГХН, карбонільні групи основного

характеру–ГХН, карбонільні групи нейтрального характеру–карбонільні групи основного характеру (рис. Г.21). Нами виявлено недостовірність коефіцієнтів і на етапі розвитку 256 бластомерів між показниками ГПО–ВГ, карбонільні групи нейтрального характеру–карбонільні групи основного характеру, Na^+ , K^+ -АТФаза– Ca^{2+} -АТФаза (див. рис. Г.23). Провівши регресійний аналіз, найбільше недостовірних коефіцієнтів виявлено на стадії 1024 бластомери між показниками ДК і КАТ, ГТ і ДК, Na^+ , K^+ -АТФазою і ДК, Na^+ , K^+ -АТФазою і ГТ, Ca^{2+} -АТФазою і ГТ, Na^+ , K^+ -АТФазою і ВГ, Ca^{2+} -АТФазою і ВГ, карбонільними групами нейтрального характеру і карбонільними групами основного характеру, Ca^{2+} -АТФазою і Na^+ , K^+ -АТФазою (див. рис. Г.26–28). Тому для коректності залежності з недостовірними коефіцієнтами під час інтерпретації результатів регресійного аналізу не будемо брати до уваги.

Отже, відкинувши зв'язки між показниками, у яких коефіцієнти a і b є недостовірними, встановили, що залежність між концентрацією ГХН і вмістом ДК, КАТ, ГПО, СОД, ГТ, Na^+ , K^+ -АТФазою, Ca^{2+} -АТФазою активністю, вмістом карбонільних груп протеїнів основного характеру є лінійною. Крім того, важливо відзначити, що на етапі розвитку 64 бластомери у правдивій лінійній залежності також перебувають показники СОД із ГПО, карбонільними групами протеїнів основного характеру, Na^+ , K^+ -АТФазою, Ca^{2+} -АТФазою; ГПО із Na^+ , K^+ -АТФазою, Ca^{2+} -АТФазою. Отже, регресійний аналіз разом з порівняльним, кореляційним засвідчує прямий зв'язок роботи СОД і ГПО з Na^+ , K^+ -АТФазою і Ca^{2+} -АТФазою.

Провівши електронно-мікроскопічні дослідження, встановили, що ГХН у мінімальній досліджуваній концентрації (0,5 мг/л) зумовлює гіпертрофію цистерн ендоплазматичної сітки, яка набуває вигляду дрібних вакуолей, тоді як у контролі в цей час зазначені органели чітко оконтуровані, а на їхній поверхні можна простежити наявність полірибосом (рис. 5.14, а–в). У контролі гіалоплазма оптично прозора зі середньою електронною щільністю, тоді як за впливу дезінтоксиканта зазначеної концентрації електронна щільність зростає. За дії екзогенного чинника зменшується кількість мітохондрій, які стають набряклими з електронно-світлим матриксом, порівняно з контролем. Також виявляються первинні та вторинні лізосоми, мультивезикулярні тільця. У контролі наявна незначна кількість первинних лізосом. Зміни відбуваються і з жовтковими гранулами. Так, цитоплазма, яка їх оточує, стає рихлою, втрачає чітку оконтурованість. Відомо, що обов'язковим компонентом жовткової гранули має бути мембрана, що відокремлює її внутрішній вміст від навколишньої цитоплазми [386]. За дії ГХН у концентрації 0,5 мг/л у цитоплазмі наявна велика кількість жовткових гранул. Відомо, що чим більше в цитоплазмі жовткових включень, тим повільніше ділиться ця частина цитоплазми; а за певного ступеня перевантаження

цитоплазми жовтком поділ стає взагалі неможливим [336]. У нормі жовтковий цитоплазматичний шар позбавлений ядер, у його товщі мають бути мітохондрії, комплекс Гольджі, обмежені мембраною пухирці та різні гранули й краплі. Під зовнішньою мембраною є шар електронно-щільного матеріалу, який сформований мікрофіламентами [386]. Тому, враховуючи це, вважаємо, що досліджуваний дезінтоксикант навіть за найнижчої досліджуваної концентрації зумовлює значні структурно-функціональні

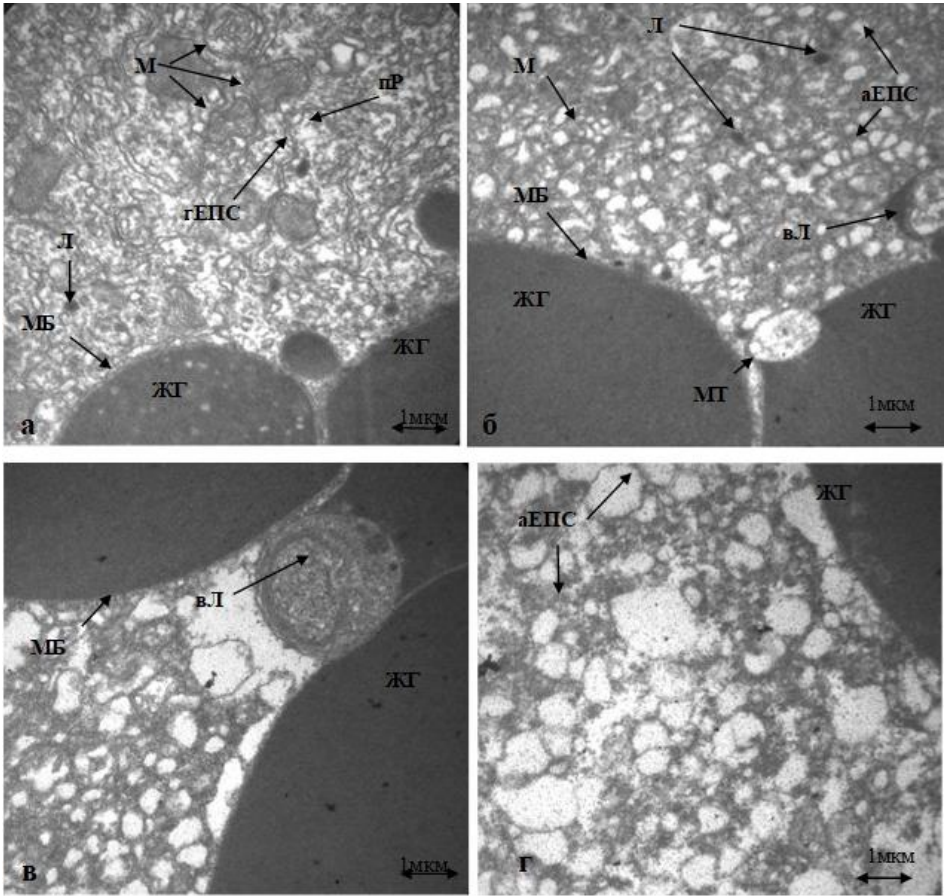


Рис. 5.14. Ультраструктура зародків в'юна на етапі розвитку 2 бластомери: а – контроль; б, в – за впливу гіпохлориту натрію в концентрації 0,5 мг/л; г – за впливу гіпохлориту натрію в концентрації 5 мг/л; М – мітохондрія, гЕПС – гранулярна ендоплазматична сітка, пР – полірибосоми, МБ – мембрана, ЖГ – жовткова гранула, аЕПС – агранулярна ендоплазматична сітка, Л – лізосома, вЛ – вторинна лізосома, МТ – мультивезикулярне тільце. ×: а, б – 1:4000; в, г – 1:10 000

зміни бластомерів. За розвитку зародків у середовищі з ГХН із концентрацією 5 мг/л домінує значна вакуолізація цитоплазми, а отже, відбувається сильне ушкодження ендоплазматичної сітки (див. рис. 5.14, г). Гіалоплазма стає електронно-щільною, дифузною, що відбувається за рахунок коагуляції протеїнів і руйнування мембранних структур [309]. Ці зміни узгоджуються із дослідженнями інтенсивності накопичення продуктів ОМП, де вміст карбонільних груп білків підвищується.

Нами встановлено, що ГХН у концентрації 12,5 мг/л веде до підвищення вмісту жовткових гранул у цитоплазмі клітин на етапі розвитку зародків 2 бластомери, на окремих ділянках зумовлює тотальне руйнування клітинного вмісту з ушкодженням ендоплазматичної сітки. За цієї концентрації суттєво набрякають мітохондрії, проте не відбувається втрата їхньої цілісності. Наявний матрикс мітохондрій зі зниженою електронною щільністю (рис. 5.15, а–б). Відомо, що під час пошкодження мітохондрій знижується мембранний потенціал і припиняється окисне фосфорилування, знижується накопичення Ca^{2+} (позитивно заряджені іони кальцію утримуються в матриксі електричним полем) [163]. За цих умов виключення роботи Mg^{2+} -залежної Ca^{2+} -АТФази (що і виявлено за дії ГХН) зумовлює накопичення Ca^{2+} у цитоплазмі. А якщо накопичується і Na^+ у цитоплазмі за рахунок ушкодження систем, які його виводять із клітини, то сукупність цих усіх процесів призводить до порушення цитоскелету [163]. Нами доведено, що ГХН також інгібує роботу Na^+, K^+ -АТФази. Тому доцільно вважати, що дезінтоксикант у максимальній концентрації ушкоджує цитоскелет клітин на етапі розвитку 2 бластомери. Набрякання мітохондрій може зумовити вихід цитохрому с (який є одним із переносників електрона в дихальному ланцюзі) у цитоплазму [163]. У нормі внутрішні мітохондріальні мембрани непроникні для заряджених частинок (іонів), за винятком Ca^{2+} і, можливо, іонів заліза. Механізм набрякання мітохондрій за їхнього ушкодження полягає в одночасному дифундуванні усередину іонів K^+ і Cl^- , що зумовлює підвищення внутрішньоосмотичного тиску, надходження води і набрякання органели. Окиснення тіолових груп мембранних протеїнів веде до появи дефектів у ліпідному шарі мембран клітин і мітохондрій [163]. Потрібно зазначити, що ОМП наявна у зародках в'юна за дії ГХН, тому ушкодження мітохондрій, високоймовірно, відбувається за цим принципом.

За інкубації зародків у середовищі з ГХН концентрацією 0,5 мг/л збільшується кількість мітохондрій у клітинах на етапі розвитку 1024 бластомери. Проте в окремих мітохондріях виявлено матрикс із низькою електронною щільністю, що свідчить про їхнє ушкодження. Гіалоплазма зародкових клітин гомогенна, хоча зі зниженою електронною щільністю.

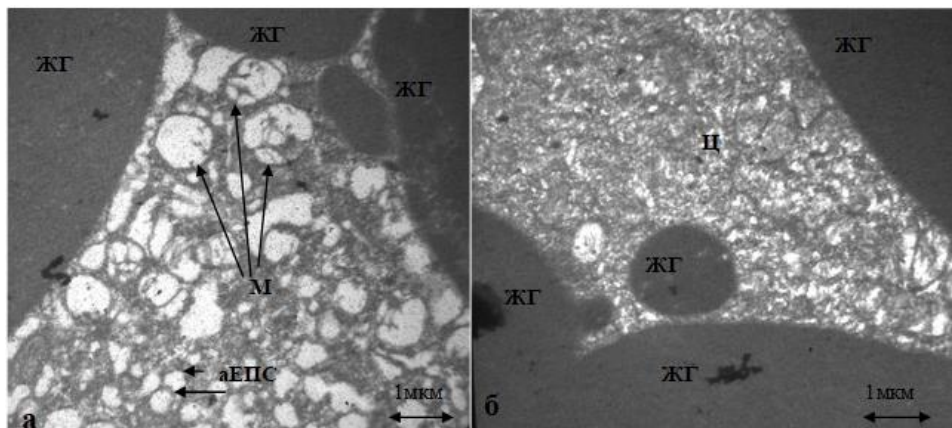


Рис. 5.15. Ультраструктура зародків в'юна на етапі розвитку 2 бластомери: а, б – за впливу гіпохлориту натрію в концентрації 12,5 мг/л; М – мітохондрія, аЕПС – агранулярна ендоплазматична сітка, Ц – цитоплазма, ЖГ – жовткова гранула. $\times 1:10\ 000$

Гіалоплазма – це гель, який змінює ступінь своєї в'язкості, залежно від температурних умов і функціонального навантаження на клітину. Протеїн актин, який у великій кількості наявний у всіх клітинах, впливає на стабілізацію гелю гіалоплазми. Зміна агрегатного стану гіалоплазми є неодмінною умовою для процесу розкладання та складання мікротрубочок і функціонування опорно-рухової системи клітини. Тому зміни, виявлені у гіалоплазмі за дії ГХН, свідчать про незначне зниження її в'язкості. Наявна гіпертрофія цистерн ендоплазматичної сітки, що свідчить про дистрофічні зміни. Загалом плазматична мембрана бластомерів має чіткі межі, хоча трапляються ділянки зі значними випинаннями, що свідчить про порушення цитоскелету (рис. 5.16, а–б). Міжмембранний простір зернистий, з високою електронною щільністю (рис. 5.16, б).

Це може відбуватися за рахунок секреції рідини у нормальних умовах, оскільки відомо, що під час утворення морули бластомери секретують або всмоктують із навколишнього середовища рідину, яка накопичується між ними, і морула перетворюється на зародок з порожниною – бластулу [336]. Такі зміни узгоджуються з дослідженнями ПОЛ–АОС стану. Так, за дії ГХН у концентрації 0,5 мг/л знижується вміст ДК і ТБК-позитивних продуктів, але зростає кількість карбонільних груп нейтрального характеру, а також активність переважної більшості досліджуваних ензимів повертаються до норми. На етапі розвитку 1024 бластомери значні зміни відбуваються за дії ГХН у концентрації 5 і 10 мг/л. Так, нами виявлено зростання електронної щільності гіалоплазми, підвищення кількості жовткових гранул із переважно збереженою мембраною. Зростає вміст лізосом, що свідчить про посилення травних

функцій бластомерів. Ендоплазматична сітка втрачає структурованість. Наявні мітохондрії з підвищеною електронною щільністю. У жовткових гранулах виявляються вторинні лізосоми, що в контролі не спостерігається (див. рис. 5.16, в-г). Тотальна конденсація цитоплазми, яка виявляється в окремих випадках, може призвести до незворотних змін у клітині і врешті-решт до загибелі зародків (див. рис. 5.16, г).

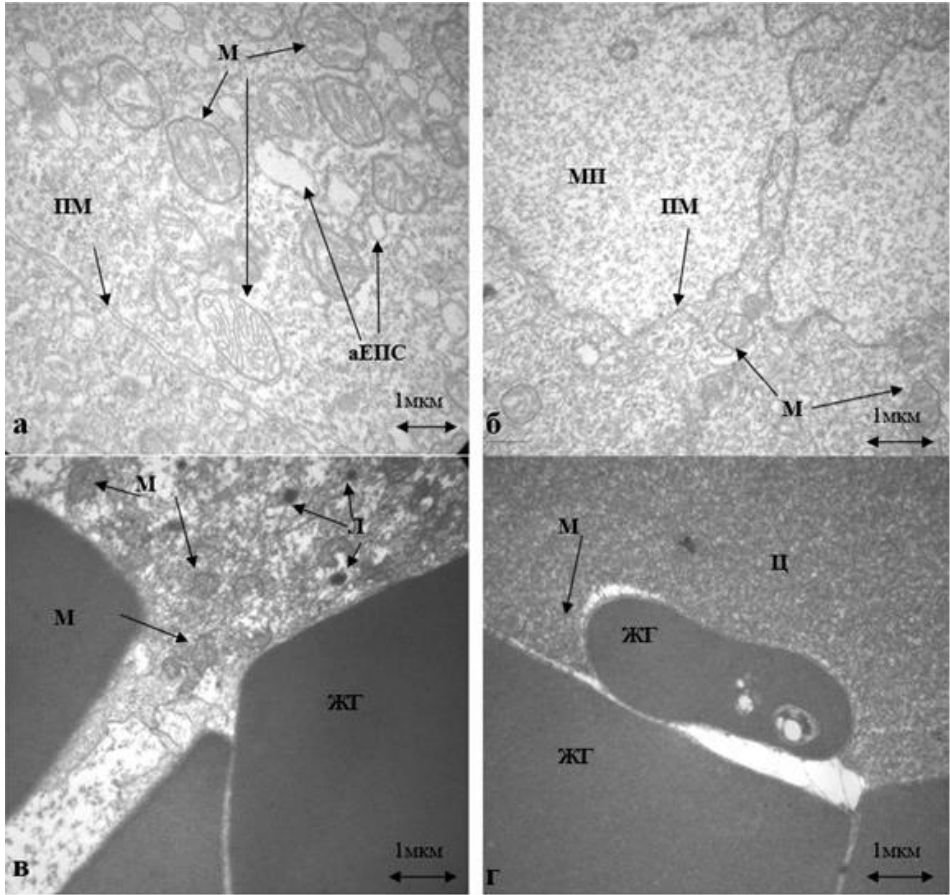


Рис. 5.16. Ультраструктура зародків в'юна на етапі розвитку 1024 бластомери: а, б – за впливу гіпохлориту натрію в концентрації 0,5 мг/л; в – за впливу гіпохлориту натрію в концентрації 5 мг/л; г – за впливу гіпохлориту натрію в концентрації 12,5 мг/л; М – мітохондрія, ПМ – плазматична мембрана, аЕПС – агранулярна ендоплазматична сітка, Л – лізома, Ц – цитоплазма, ЖГ – жовткова гранула, МП – міжмембранний простір. ×: а – 1:10 000; б-г – 1:4000

Отже, ГХН у зародках в'юна пошкоджує ендоплазматичну сітку і мітохондрії на початковому етапі розвитку. Ці зміни характерні і на стадії дроблення зародків 1024 бластомери із домінуванням ушкодження ендоплазматичної сітки [226, 267–273].

Провівши комплексне дослідження, можемо стверджувати, що ГХН у бластомерах в'юна, які нами розглядаються як модель клітини, зумовлює оксидативний стрес. Про стрес свідчать підвищення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації, значною мірою оксидативна модифікація протеїнів, інгібування СОД і мембранопов'язаних ензимів (Na^+ , K^+ -АТФаза, Ca^{2+} -АТФаза). Досліджуваний дезінтоксикант активує роботу КАТ, ГПО й ГТ і порушує вміст ВГ. Упродовж ембріогенезу за дії ГХН відбувається підвищення стабільності показника ТБК-позитивних продуктів і карбонільних груп протеїнів, порівняно з контролем. Ca^{2+} -АТФаза активність характеризується високою мінливістю в контролі. Це пов'язано з тим, що від її роботи залежить вміст Ca^{2+} як регуляторних іонів. ГХН знижує коефіцієнти варіації Ca^{2+} -АТФазної активності. Тому ТБК-позитивні продукти, карбонільні групи протеїнів, Ca^{2+} -АТФаза активність можуть бути використані як діагностичні маркери для виявлення ушкоджень, які розвиваються за дії ГХН. Застосувавши дисперсійний аналіз, ми виявили, що ГХН зумовлює значний безпосередній вплив на КАТ, Na^+ , K^+ -АТФазу та Ca^{2+} -АТФазу активність. Нижчий відсоток впливу гіпохлориту натрію припадає на вміст ТБК-позитивних продуктів, карбонільних груп протеїнів, ВГ, ГТ активність. Час розвитку зародків в'юна суттєво впливає на СОД і ГПО активність. На ультраструктурному рівні ГХН ушкоджує мітохондрії та ендоплазматичну сітку. Проте плазматичні мембрани зародків і мембрани жовткових гранул не піддаються значним змінам (на етапі розвитку 2 і 1024 бластомери). ГХН у мінімальній концентрації зумовлює менш виражені патологічні прояви упродовж розвитку зародків в'юна. У контрольних зародках переважають слабкі й середньої сили взаємозв'язки між показниками ПОЛ–АОС та Na^+ , K^+ -АТФазою, Ca^{2+} -АТФазою. За дії ГХН кореляційна залежність посилюється з піком на етапі розвитку 16 бластомерів, проте вже до етапу розвитку 256 бластомерів залежність послаблюється, порівняно з етапом розвитку 16 бластомерів, хоча вже на стадії 1024 бластомери – повторно посилюється. Кореляційний аналіз засвідчив наявність метаболічних змін упродовж розвитку зародків в'юна за дії ГХН. За допомогою регресійного аналізу встановлено, що показники, які перебувають між собою у високій тісноті взаємозв'язку, мають також і лінійну залежність. Залежність між концентрацією ГХН і вмістом ДК, КАТ, ГПО, СОД, ГТ, Na^+ , K^+ -АТФазою, Ca^{2+} -АТФазою активністю, вмістом карбонільних груп протеїнів основного характеру є лінійною.

УЗАГАЛЬНЕННЯ

На клітинному рівні гістамін призводить до дистрофічних змін за рахунок ушкодження ендоплазматичної сітки (розширення цистерн, фрагментації) та мітохондрій (зокрема, набрякання) (рис. 5.17). Дистрофічні прояви відбуваються внаслідок порушення водно-сольового та білкового обміну. Зростає вміст пероксисом і лізосом, ушкоджується глікокалікс (знижується кількість сіалових кислот), що зумовлює зниження рецепторної функції клітин та порушує їхній поверхневий заряд, а це змінює ступінь спорідненості іонів до мембрани [247]. На нашу думку, ці зміни вторинні та є наслідком порушення гемостазу, проникності судин, зниження оксигенації клітин. На рівні органів гістамін у нижчій дозі (1 мкг/кг) спричиняє зниження інтенсивності процесів ПОЛ у плазмі крові, серцевому м'язі, селезінці та печінці. Біогенний амін у вищій дозі (8 мкг/кг) веде до інтенсифікації вільнорадикальних процесів у цих органах, окрім селезінки. Такий ефект відбувається за рахунок рецепції відповідних H-рецепторів, які пов'язані з G-протеїнами. Відомо, що H1 і H2-рецептори є «активуєчими», а H3 і H4 – «гальмуєчими». Відомо, що під час активації гістаміном H1 і H2 рецепторів активується фосфоліпаза C, протеїнкіназа C, зростає кількість іонів Ca^{2+} , які активують фосфоліпази, а це порушує бар'єрну функцію мембран. Гістамін активує також кінази ERK, p38 і JNK, дві останні сприяють індукції апоптозу. Крім того, p38 контролює експресію прозапальних цитокінів. У плазмі крові зміни процесів ПОЛ пов'язані з активацією нейтрофілів крові, які або вивільняють, або знижують вивільнення вільних радикалів унаслідок дії гістаміну на H1, H2 і H4 рецептори (концентрація відіграє важливу роль). Дослідник С. Атамнах засвідчив, що гістамін у дозі 8 мкг/кг впливає на метаболічні перетворення і транспорт ліпідів у клітинах печінки, викликаючи зростання концентрації фосфоліпідів, холестеролу та його ефірів у жовчі, а також зниження у ній вмісту вільних жирних кислот і тригліцеридів [172]. У селезінці не відбувається інтенсифікація процесів ПОЛ за дії гістаміну обох доз унаслідок того, що в цьому органі ідентифіковані лише H4-рецептори, активація яких зумовлює регулювання експресії гемопоетичних клітин та імунної системи. Нами справді виявлено підвищення вмісту макрофагів за впливу гістаміну у тканинах селезінки. У цьому органі немає, ймовірно, значної кількості H1 і H2 рецепторів, через які реалізується негативна дія гістаміну. Гістамін у обох дозах спричиняє інтенсифікацію накопичення продуктів ПОЛ у нирці, легені, еритроцитах. В останніх підвищується ОМП і знижується вміст СК. Гістамін може опосередковано діяти на еритроцити, оскільки немає відомостей про наявність на поверхні цих клітин рецепторів до біогенного аміну. Проте результати наукових досліджень засвідчують, що підвищення активності аденілатциклазної системи та протеїнкінази C в еритроцитах веде до посилення деформабельності, а також до зниження

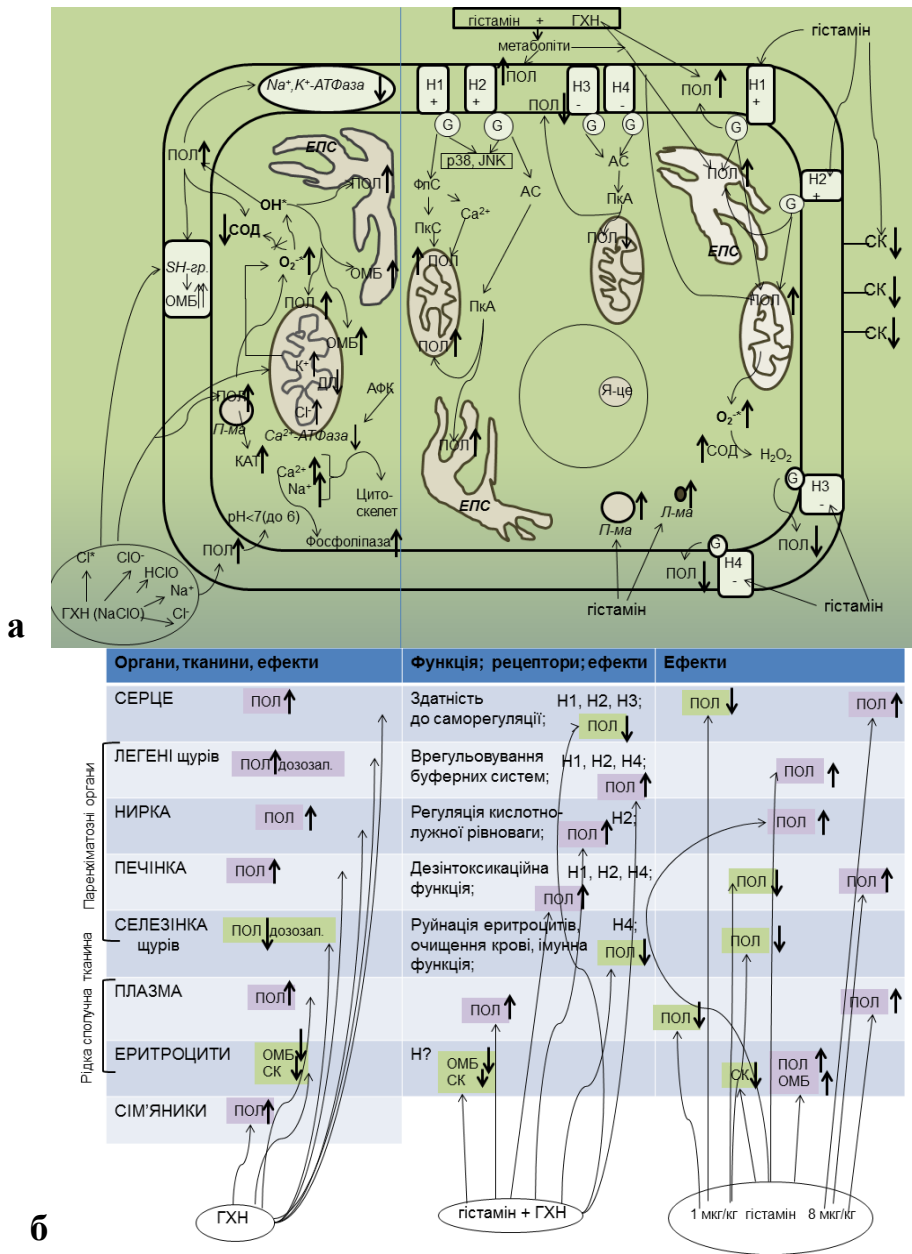


Рис. 5.17. Схема впливу гістаміну та ГХН на клітинному (а) й організменому (б) рівні: ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів; SH-гр. – SH-групи; ОМБ – оксидативна модифікація білків; ГХН – гіпохлорит натрію; СОД – супероксиддисмутаза; ЕПС – ендоплазматична сітка; ДЛ – дихальний ланцюг; П-ма – пероксисома; КАТ – каталаза; АФК – активні форми кисню; Н1, Н2, Н3, Н4 – гістамінові рецептори; G – G-білок; ФлС – фосфоліпаза-С; АС – аденілатциклаза; ПкС – протеїнкіназа-С; ПкА – протеїнкіназа-А; Я-це – ядро; СК – сіалові кислоти; Л-ма – лізосома; ↑, ↓ – підвищення/зниження вмісту чи активності показника; +, - – стимулюючий чи гальмівний вплив, відповідно

агрегації цих клітин [89]. Відомо, що робота гістамінорецепторів пов'язана саме з цими ензимами. Тому можна припустити, що плазматична мембрана все ж містить H-рецептори до гістаміну. Гістамін може діяти на вільнорадикальні процеси в еритроцитах також іншим шляхом. Зокрема, відомо, що сполуки, які містять у своїй структурі імідазольне кільце, є інгібіторами монооксигеназ. У структурній формулі гістаміну міститься імідазольне кільце, а в цитозолі еритроцитів є розчинна форма цитохрому b5, який бере участь у реакціях гідроксилування під час знешкодження ксенобіотиків [366]. За uszkodження цитохрому b5 гістаміном відбувається вивільнення активних форм кисню, які й ініціюють вільнорадикальні процеси в еритроцитах. Підвищення ОМП відбувається також за рахунок вільнорадикального пошкодження гемоглобіну. Під час окиснення Fe^{2+} гемоглобіну переходить у Fe^{3+} , тобто утворюється метгемоглобін [42, 60]. Це негативне явище, оскільки є мембранопов'язаний гемоглобін (зв'язування відбувається за допомогою протеїну смуги 3), і зміни в ньому (а саме конформації порфірину та глобіну) опосередковано будуть призводити до порушення (зокрема, збільшення її мікрров'язкості) функціонування самої плазматичної мембрани еритроцитів. Також інтенсифікація ОМП змінюватиме стан буферної системи крові, оскільки в ній наявна гемоглобінова буферна система. Легені та нирки відповідають, як уже зазначалося, за підтримання кислотно-лужної рівноваги. Легені дуже чутливі до гістаміну, оскільки містять рецептори до нього (H1, H2, H4), тут наявна велика кількість тканинних базофілів. Бронхообструкція (розвивається за активації H1 рецепторів), яка відбувається за дії гістаміну, посилює uszkodження клітин легень. Нирки є основним органом виділення, на який припадає найбільше навантаження під час виведення продуктів метаболізму (зокрема, гістаміну). Крім того, у них наявні H2 рецептори, які є «активуючими». Опосередковане підвищення інтенсивності ПОЛ за активації гістаміном H1 і H2 рецепторів спричиняє ураження мембран мітохондрій, що сприяє вивільненню супероксид-аніон радикала, на який реагує СОД зростанням її активності. Відомо, що окисно-відновні реакції є ефективними генераторами внутрішньоклітинного кисню, і від їхньої інтенсивності залежить також частота флуктуацій ендogenousного кисню. Кисень метаболічного ендogenousного походження може використовуватись як для окиснення й активації реакцій за участю АФК, так і для компенсації гіпоксичних станів, підтримання pO_2 , активації функцій мітохондрій і поєднаних з ними відновних процесів. Тому тільки висока інтенсивність редокс-реакцій ефективно забезпечує баланс у системі ПОЛ–АОС і запобігає його порушенню навіть під час надмірного продукування активних форм кисню, що спостерігається за дії різних стресогенних чинників. Навіть незначне зниження інтенсивності редокс-реакцій призводить до

неспроможності метаболічної системи компенсувати порушення балансу ПОЛ–АОС, що за умови пролонгованої ситуації формує механізми окисного стресу, а це є основою для різних патологій. Надмірна продукція активних форм кисню та знижена здатність АОЗ є важливим патогенетичним чинником ураження [258]. Отже, гістамін вносить зміни у механізми окиснення та відновлення у клітинах і змінює баланс ПОЛ–АОС, а його дія залежить від переважання активуючих чи інгібуючих Н-рецепторів.

Відомо, що гістамін активує Н1–Н4 рецептори на мембранах клітин. Це веде до ініціації роботи G-білка за рахунок приєднання до нього гуанозинтрифосфату. Далі активується (за стимуляції Н1 і Н2 рецепторів) чи пригнічується (за ініціації Н3 і Н4 рецепторів) протеїнкіназа А або протеїнкіназа С.

За надмірної активації протеїнкінази С відбувається також попереднє вивільнення іонів Ca^{2+} з ендоплазматичного ретикулу. Протеїнкіназу С (зростання її активності) пов'язують із посиленням вільнорадикальних реакцій [86]. У наукових працях також є повідомлення, що зниження активності протеїнкінази С знижує вміст вільних радикалів, інтенсивність процесів ПОЛ у тканинах [101]. На сьогодні цей механізм не є вивченим. Довготривале підвищення вмісту іонів Ca^{2+} у цитоплазмі зумовлює перехоплення його кальмодуліном. Проте цілком імовірно, що Ca^{2+} захоплюють мітохондрії, які здатні накопичувати їх. Проте таке Ca^{2+} -перевантаження мітохондрій є тригером відкриття пори перехідної проникності, а це, у свою чергу, веде до апоптозу [288]. Під час акумуляції іонів кальцію мітохондріями (коли клітина ними перевантажена) відбувається накопичення цими органелами АТФ. Надмірне надходження Ca^{2+} у мітохондрії стимулює утворення вільних радикалів, оскільки ці іони посилюють роботу дихального ланцюга. А це, у свою чергу, зумовлює посилення інтенсивності процесів ПОЛ.

Відомо, що підвищення вмісту цАМФ, який утворюється в межах сигнального шляху «аденілатциклаза-протеїнкіназа А», посилює окисне фосфорилування в мітохондріях (через вплив на IV комплекс дихального ланцюга) [153]. Це спричиняє вивільнення активних форм кисню. Протеїнкіназа А інгібує різні типи калієвих каналів. Мішенями цАМФ є Ca^{2+} -канали плазматичної мембрани й ендоплазматичного ретикулу, активація яких приводить до підвищення концентрації Ca^{2+} у клітині. Зниження вмісту цАМФ, яке відбувається в разі активації Н3 і Н4 гістамінових (гальмівних) рецепторів веде до протилежного ефекту у клітині.

Так чи інакше, у процесах ПОЛ за дії гістаміну беруть участь іони Ca^{2+} , які регулюють роботу дихального ланцюга мітохондрій.

ГХН може бути потенційним джерелом таких реакційноздатних сполук як Cl^- , ClO^- , HSO , а також іонів Cl^- , Na^+ (див. рис. 5.17).

Реакційноздатні речовини ушкоджують ліпіди, білки плазматичної мембрани клітин. За рахунок цього, а також того, що ГХН має низьку молекулярну масу, він легко проникає крізь клітинну мембрану у внутрішнє середовище, де ушкоджує мембрани мітохондрій, ендоплазматичної сітки. У мітохондріях знижується Mg^{2+} -залежна Ca^{2+} -АТФаза активність (унаслідок вільнорадикального ушкодження), ймовірно, підвищується вміст іонів K^+ , Cl^- , порушується (знижується) робота дихального ланцюга, що зумовлює надмірне вивільнення супероксид-аніон радикала як побічного продукту. ГХН реагує з цим радикалом, і утворюється «агресивний» гідроксильний радикал, який посилює процеси ПОЛ у плазматичній мембрані та мембранах мітохондрій, ендоплазматичної сітки. Продукти ПОЛ ушкоджують протеїни і порушують функціонування Na^+ , K^+ -АТФази. Ушкодження клітини зумовлює зниження рН у цитоплазмі. ГХН інгібує роботу Mg^{2+} -залежної Na^+ , K^+ -АТФази і Ca^{2+} -АТФази, що веде до накопичення Ca^{2+} і Na^+ . Це, ймовірно, активує фосфоліпазу. Ймовірно, що у цитоплазмі ГХН і утворені активні метаболіти уражують пероксисоми, що зумовлює вивільнення каталази, активність якої зростає.

У серці, нирці, печінці, плазмі крові, сім'янику ГХН призводить до інтенсифікації процесів ПОЛ. У легені зростання накопичення продуктів ліпопероксидації залежить від класу тварин і концентрації (вища концентрація спричиняє утворення продуктів вільнорадикальних реакцій). ГХН зумовлює зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів у легені курей, що може бути пов'язано з наявністю у них високої концентрації кальпротектину, який знешкоджує різні екзогенні фактори і може вступати в реакцію з $NaClO$ і, тим самим, зменшувати його шкідливий вплив на тканини. Еритроцити і селезінка реагують на дію ГХН уповільненням процесів ПОЛ. В еритроцитах також знижується ОМП і вміст сіалових кислот у глікокаліксі. Відомо, що сіалованість глікопротеїдів відіграє важливу роль у міжклітинних взаємодіях, а також у рецепторній функції. Зниження вмісту сіалових кислот відбувається за активації ензимів сіалідаз, які відщеплюють їх від глікопротеїдів [66, 110, 128, 144, 312]. Ймовірно, ГХН зумовлює активацію сіалідаз Neu2 (цитозольна форма) і Neu3 (зв'язана з плазматичною мембраною), що призводить до деградації еритроцитів. Селезінка у курей за впливу вищих концентрацій ГХН не реагує зміною продуктів ПОЛ, проте за впливу нижчих концентрацій вміст вторинних продуктів ліпопероксидації зростає. Відомо, що селезінка є найбільшим лімфоїдним органом в організмі людини та свавців, який підтримує клітинну й гуморальну імунні відповіді, вродженого і набутого імунітету, кількісний та якісний склад імуноцитів крові, лімфи й інших лімфоїдних органів [198]. У селезінці відбувається очищення крові, тому додаткове джерело дезінтоксикації тільки штучно посилює такі процеси без шкоди для цього

органа. У селезінці є високий вміст макрофагів, які за допомогою фагоцитарної реакції знешкоджують еритроцити і тромбоцити. Під час фагоцитозу утворюється НСЮ (у мієлопероксидазній реакції), тому цей орган не є чутливим до ГХН. Селезінка тварин нижчого рівня організації є теж малочутливою до дії NaClO. ГХН, загалом, в органах активує роботу СОД, КАТ і пригнічує ГПО, зумовлює розвиток дистрофії. Найбільш чутливими до дії ГХН є сім'яники.

За одночасного введення в організм щурів речовин ГХН, імовірно, вступає в реакцію з гістаміном, у результаті чого можуть утворюватися метаболіти, зокрема, й шкідливі (імідазолотова кислота, аміак, можливо, нітрили). Таким чином, кількість гістаміну знижується, а дія ГХН посилюється. Відомо, що шкідливі сполуки в клітинах детоксуються на цитохромі р450, велика кількість якого є на мембранах ендоплазматичного релікулуму гепатоцитів. За значного навантаження цитохромів р450 ксенобіотиками (зокрема, метаболітами взаємодії гістаміну з ГХН) відбувається вивільнення активних форм кисню, які ініціюють процеси ПОЛ. За умов дії гістаміну, ГХН і метаболітів ушкоджуються ендоплазматична сітка і мітохондрії, гальмуються біосинтетичні процеси (зменшення кількості ядерця у ядрах), наявний перичелюлярний набряк. В органах інтенсифікуються процеси ПОЛ, окрім еритроцитів, серцевого м'яза і селезінки. У двох останніх органах інтенсивність процесів ліпопероксидації знижується. Відомо, що серце швидко пристосовується до нових умов існування формуванням адаптивних змін, оскільки його функція є провідною в організмі, а у птахів репарація серцевого м'яза відбувається без утворення рубця [180]. Для серцевого м'яза характерний рН-парадокс. За зниження рН до 6,6 у цитоплазмі клітин серця автоматично послаблюються процеси ПОЛ у цьому органі. В еритроцитах знижується ОМП і вміст СК, що свідчить про ураження рецепторного апарату еритроцитів. Еритроцити – це високоспеціалізовані клітини, основною функцією яких є транспорт кисню. Слід пам'ятати, що вони не мають ядра і мітохондрій, проте зберігають елементи молекулярних сигнальних шляхів [41, 341]. Відомо, що саме мітохондрії є джерелом супероксид-аніон радикала, який у надлишку продукується за їхнього ушкодження [248]. Відсутність мітохондрій, імовірно, робить ці клітини менш чутливими до ушкоджувальних чинників, за яких синтезується значна кількість супероксид-аніон радикала і посилюються, відповідно, процеси ПОЛ. У тканинах легень містяться альвеолоцити 2-го типу, у яких наявні пластинчасті (ламелярні) тільця із фосфоліпідів, які піддаються шкідливій дії вільних радикалів. Ці ламелярні тільця потрібні для формування сурфактанта. Тому в легені щурів інтенсивність процесів ПОЛ зростає і за впливу ГХН, і за дії гістаміну. Варто зауважити, що легені та нирки виявилися дуже чутливими до дії як гістаміну, так і ГХН, що обумовлено їхніми функціональними особливостями.

Отже, гістамін і ГХН зумовлюють значний оксидативний стрес у тканинах легень, нирок і сім'яників. Гістамін вносить зміни у механізми окиснення і відновлення у клітинах, а його дія залежить від переважання активуючих чи інгібуючих Н-рецепторів. ГХН інтенсифікує вільнорадикальні процеси на різних рівнях організації (зародки, птахи, щури), проте легені та селезінка щурів і курей по-різному реагують на його дію. Зокрема, за впливу ГХН у легені птаха знижується інтенсивність процесів ПОЛ, тоді як у легені щура посилюється інтенсивність процесів ліпопероксидації; селезінка курки реагує підвищенням вмісту продуктів ПОЛ за концентрації речовини 5 мг/л (ГХН у концентрації 10 мг/л не змінює вмісту цих продуктів), а селезінка щура – зниженням вмісту продуктів вільнорадикальних реакцій. Гістамін і ГХН зумовлюють значний оксидативний стрес у тканинах легень, нирок, а також сім'яників.

На зародках в'юна нами досліджено незалежний вплив ГХН на клітини, у яких відбувається підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів, показників ОМП, зростання КАТ, ГПО, глутатіонтрансферазної активності та зниження СОД, Na^+ , K^+ -АТФазної, Ca^{2+} -АТФазної активності. Зародки в'юна упродовж раннього ембріогенезу було використано як модель ізольованих недиференційованих еукаріотичних клітин, які мають великі розміри і за розвитком яких можна спостерігати, використовуючи бінокуляр. Звичайно, такі клітини мають особливості метаболізму, що відображається на функціональних станах. Наприклад, із ДНК зародків до 10-го поділу не зчитується інформація на іРНК, тобто не відбуваються біосинтетичні процеси, у яких брала би участь ДНК клітини. Проте все ж біосинтез відбувається на основі іРНК, яка була ще утворена в материнській клітині. До цього часу клітини діляться, і їхня диференціація не відбувається. Оскільки ми маємо справу з недиференційованими клітинами, які швидко діляться, треба враховувати сповільнення процесу поділу клітин (за різних екстремальних чинників), який може бути пов'язаний зі зміною розташування мікротрубочок і зміною формування веретена поділу під час мітозу [127]. Нами справді виявлено певну відмінність між останнім етапом (1024 бластомери) та попередніми етапами (2, 16, 64 і 256 бластомерів) синхронних дроблень зародків в'юна за впливу ГХН. У щурів, птахів зафіксовано подібні зміни, зокрема, підвищення інтенсивності процесів ПОЛ в органах, за винятком селезінки, легень і клітин еритроцитів. У теплокровних ми досліджували, фактично, високодиференційовані клітини та навіть набір різних клітин в одному органі, що внесло свої корективи у прооксидантно-антиоксидантні процеси. Зокрема, у селезінці є значний вміст макрофагів, лімфоцитів, нейтрофілів, еритроцитів, тромбоцитів і навіть клітин гладкої мускулатури, які своєрідно реагують на дію ГХН. На сьогодні у біологічному експерименті активно використовують птахів для вивчення впливу біологічно активних сполук і патологічних станів на біохімічні

показники тварин [6, 26, 96, 100, 129]. Кури належать до сільськогосподарських лабораторних тварин. Результати експериментів, проведених на цих об'єктах, набувають практичного значення для сільського господарства, зокрема, розширюють уявлення про можливість застосування ГХН для дезінтоксикації тварин на птахофермах і дають змогу прогнозувати зміни біохімічних показників у різних органах птахів. Зокрема, дадуть змогу враховувати ураження репродуктивної системи півнів за впливу ГХН для відтворення тварин. Переважну більшість досліджень було виконано на щурах, оскільки ці тварини займають провідне місце у клінічних експериментах. 90 % геному щурів збігається з геномом людини, що дає можливість екстраполювати виявлені зміни біохімічних показників за впливу досліджуваних сполук на людський організм.

Використання в експериментах ізольованих клітин і різних класів тварин дало змогу встановити особливості дії ГХН на клітинному й організменому рівнях. Застосування зародків в'юна упродовж раннього ембріогенезу дало можливість нівелювати потенційні впливи різних ендогенних чинників організму, зокрема, гормонів, біологічно активних сполук на прооксидантно-антиоксидантний стан клітин за дії ГХН. Вивчення гістаміну допомогло встановити системну його дію на різні органи та кров і виявити патологічні зміни вільнорадикальних процесів та структурних параметрів органів і рідкої сполучної тканини за перехресного впливу гістаміну і ГХН.

Таким чином, вплив гістаміну на вільнорадикальні процеси залежить від органа (селезінка, печінка, нирка, легень, серцевий м'яз) і клітин (еритроцити), у яких визначають цей вплив. Серед досліджуваних біохімічних показників у теплокровних (щури, птахи) і холоднокровних (зародки в'юна упродовж раннього ембріогенезу) є суттєва відмінність у динаміці змін лише для супероксиддисмутазної активності. Гіпохлорит натрію впливає на дію гістаміну, інтенсифікуючи оксидативний стрес у щурів. Біометричний (факторний) аналіз досліджуваних біохімічних показників за дії гістаміну та гіпохлориту натрію у щурів свідчить про важливу роль прооксидантної ланки у тканинах легень й антиоксидантної ланки в серцевому м'язі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Alhazzani, W.; Alenezi, F.; Jaeschke, R. Z.; Moayyedi, P.; Cook, D. J. Proton Pump Inhibitors Versus Histamine 2 Receptor Antagonists For Stress Ulcer Prophylaxis in Critically Ill Patients: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Crit. Care. Med.* **2013**, *41* (3), pp 693–705. doi: 10.1097/CCM.0b013e3182758734.
2. Alsaleh, N. B., Brown, J. M. Methods for Assessing Mast Cell Responses to Engineered Nanomaterial Exposure. *Methods Mol. Biol.* **2019**, 1894, pp 31–45. doi: 10.1007/978-1-4939-8916-4_2.
3. Anu, Paul; Vered, Padler-Karavani Evolution of Sialic Acids: Implications in Xenotransplant Biology. *Wiley Xenotransplantation* **2018**, 12424, pp 1–11. DOI: <https://doi.org/10.1111/xen.12424>.
4. Aubut, V.; Pommel, L.; Verhille, B. Biological Properties of a Neutralized 2.5% Sodium Hypochlorite. *OOOOE* **2010**, *109* (2), pp 120–125.
5. Aurelio, A. Moya-García; Almudena, Pino-Ángeles; Francisca, Sánchez-Jiménez; José, Luis Urdiales; Miguel, Ángel Medina Histamine, Metabolic Remodelling and Angiogenesis: A Systems Level Approach. *Biomolecules* **2021**, *11* (3), pp 415. doi: 10.3390/biom11030415.
6. Avishek, Biswas; Namit, Mohan; Messam, Raza; Nasir, Akbar Mir; Asitbaran, Mandal Production Performance, Immune Response and Blood Biochemical Parameters in Broiler Chickens Fed Diet Incorporated With Prebiotics. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* **2019**, *103* (2), pp 493–500. doi: 10.1111/jpn.13042. Epub 2019 Feb 5.
7. Balaraman, Kalyanaraman Teaching the Basics of Redox Biology to Medical and Graduate Students: Oxidants, Antioxidants and Disease Mechanisms. *Redox Biology* **2013**, *1*, pp 244–257.
8. Ballarin, A.; Bazzan, E.; Zenteno, R. Mast Cell Infiltration Discriminates Between Histopathological Phenotypes of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **2012**, *186*, pp 233–239.
9. Bastian, Schirmer; Detlef, Neumann The Function of the Histamine H4 Receptor in Inflammatory and Inflammation-Associated Diseases of the Gut. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22* (11), pp 6116. doi: 10.3390/ijms22116116.
10. Berhyn, E. B. *Pharmacology of the Kidneys and its Physiological Bases*; Moscow: Medicine, 1979; 336 p.
11. Bodnarchuk, N. O.; Kulachkovsky, O. R.; Mandzynets, S. M.; Sanagurskiy, D. I. Structural Changes of Loach Embryos During Embryogenesis Under the Influence of Flurenizyd. *Annales UMCS, Sectio ee Zootechnica* **2016**, *XXXIV* (4), pp 19–30.
12. Boldyrev, A. A. Oxidative Stress and the Brain. *Soros Educational Journal* **2001**, *7* (4), pp 21–28.
13. Brandon, W. Peck; Biruh, Workeneh; Huseyin, Kadikoy; Abdul,

Abdellatif Sodium Hypochlorite-Induced Acute Kidney Injury. *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.* **2014**, *25* (2), pp 381–384.

14. Buddi, R.; Lin, B.; Atilano, S. R.; Zorapapel, N. C., Kenney, M. C.; Brown, D. J. Evidence of Oxidative Stress in Human Corneal Diseases. *J. Histochem. Cytochem.* **2002**, *50* (3), pp 341–351.

15. Campbell, W. B.; Itskovitz, H. D. Effect of Histamine and Antihistamines on Renal Hemodynamics and Functions in the Isolated Perfused Canine Kidney. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1976**, *198* (3), pp 661–667.

16. Celia María Curieses Andrés, José Manuel Pérez de la Lastra, Celia Andrés Juan, Francisco J. Plou, Eduardo Pérez-Lebeña Superoxide Anion Chemistry – Its Role at the Core of the Innate Immunity. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, pp 1841. <https://doi.org/10.3390/ijms24031841>.

17. Chakraborty, S.; Kar, N.; Kumari, L.; De, A.; Bera, T. Inhibitory Effect of a New Orally Active Cedrol-Loaded Nanostructured Lipid Carrier on Compound 48/80-Induced Mast Cell Degranulation and Anaphylactic Shock in Mice. *Int. J. Nanomedicine* **2017**, *7* (12), pp 4849–4868.

18. Chen, Cai; Xuan, Chen; Yang, Li; Qianzhou, Jiang. Advances in the Role of Sodium Hypochlorite Irrigant in Chemical Preparation of Root Canal Treatment. *Biomed. Res. Int.* **2023**, *13*, pp 8858283. doi: 10.1155/2023/8858283.

19. Chen, C. M.; Shih, M. L.; Lee, S. Z.; Wang, J. S. Increased Toxicity of Textile Effluents By a Chlorination Process Using Sodium Hypochlorite. *Water Sci. Technol.* **2001**, *43* (2), pp 1–8.

20. Chiaki, Kamei. Effects of Histamine and Related Compounds on the Central Nervous System. *Yakugaku Zasshi.* **2021**, *141* (1), pp 93–110. doi: 10.1248/yakushi.20-00197.

21. Chinigarzadeh, A.; Muniandy, S.; Salleh, N. Estrogen, Progesterone, And Genistein Differentially Regulate Levels of Expression of α -, β -, And γ -Epithelial Sodium Channel (ENaC) And α -Sodium Potassium Pump (Na^+/K^+ -ATPase) in The Uteri of Sex Steroid-Deficient Rats. *Theriogenology* **2015**, *84* (6), pp 911–926.

22. Clarkson, R. M.; Moule, A. J.; Podlich, H. M. The Shelf-Life of Sodium Hypochlorite Irrigating Solutions. *Australian Dental J.* **2001**, *46* (4), pp 269–276.

23. Clute, P.; Masui, Y. Regulation of The Appearance of Division Asynchrony And Microtubule-Dependent Chromosome Cycles in *Xenopus Laevis* Embryos. *Dev. Biol.* **1995**, *171* (2), pp 273–285.

24. Cristina, Grange; Maura, Gurrieri; Roberta, Verta; Roberto, Fantozzi; Alessandro, Pini; Arianna, Carolina Rosa. Histamine in the Kidneys: What is its Role in Renal Pathophysiology? *Br. J. Pharmacol.* **2020**, *177* (3), pp 503–515. doi: 10.1111/bph.14619. Epub 2019 Apr 15.

25. Cynthia, Kanagaratham; Yasmeen, S. El. Ansari; Owen, L. Lewis; Hans, C. Oettgen IgE and IgG Antibodies as Regulators of Mast Cell

and Basophil Functions in Food Allergy. *Front Immunol.* **2020**, *11*, pp 603050. doi: 10.3389/fimmu.2020.603050. eCollection 2020.

26. Daneshyar, M.; Kermanshahi, H.; Golian, A. Changes of Biochemical Parameters and Enzyme Activities in Broiler Chickens With Cold-induced Ascites. *Poult Sci.* **2009**, *88* (1), pp 106–110. doi: 10.3382/ps.2008-00170.

27. Demkovych, A.; Bondarenko, Y.; Hasiuk, P. Effects of Quercetin on Antioxidant Potential in the Experimental Periodontitis Development. *Interventional Medicine and Applied Science* **2019**, *11* (1), pp 60–64.

28. Dong, Hoon Kang; Sang, Won Kang Targeting Cellular Antioxidant Enzymes For Treating Atherosclerotic Vascular Disease. *Biomolecules And Therapeutics* **2013**, *21* (2), pp 89–96.

29. Estelle, F.; Simons, R. H1-Histamine Blockers: Increasing Value in Treatment Allergic Diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2003**, *112* (4), pp 42–52.

30. Evens, Emmanuel; Gerard, Keck; Jean-Marie, Blanchardb. Toxicological Effects of Disinfections Using Sodium Hypochlorite on Aquatic Organisms And its Contribution to AOX Formation in Hospital Wastewater. *Environment International* **2004**, *30*, pp 891–900.

31. Fei, Li.; Jun, Liu; Sharon, Rozovsky. Glutathione Peroxidase's Reaction Intermediate Selenenic Acid is Stabilized by the Protein Microenvironment. *Free Radic. Biol. Med.* **2014**, pp 127–135. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.07.041

32. Ferreira, G.; Costa, C.; Bassaiztegy, V.; Santos, M.; Cardozo, R.; Montes, J.; Settineri, R.; Nicolson, G. L. Incubation of Human Sperm With Micelles Made From Glycerophospholipid Mixtures Increases Sperm Motility And Resistance to Oxidative Stress. *PLoS One.* **2018**, *13* (6), e0197897. doi: 10.1371/journal.pone.0197897. eCollection 2018.

33. Fiske, C. H.; Subbarow, Y. J. The Colorimetric Determination of Phosphorus. *Biol. Chem.* **1925**, *66*, pp 375–400.

34. Francesca, Boscia; Gulnaz, Begum; Giuseppe, Pignataro; Rossana, Sirabella; Ornella, Cuomo; Antonella, Casamassa; Dandan, Sun; Lucio, Annunziato. Glial Na⁺-Dependent Ion Transporters in Pathophysiological Conditions. *Glia* **2016**, *64* (10), pp 1677–1697. doi:10.1002/glia.23030.

35. Frei, B.; Stocker, R.; Ames, B. N. Antioxidant Defenses And Lipid Peroxidation in Human Blood Plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1988**, *85*, pp 9748–9752.

36. Fumihiro, Koderu; Minoru, Umeda; Akifumi, Yamada. Effect of Platinum Oxide on Electro-Oxidation of Trace Amounts of Sodium Hypochlorite in Aqueous Medium. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2009**, *625*, pp 92–96.

37. Gábor, Wágner; Tamara, A. M. Mocking; Albert, J. Kooistra; Inna, Slynko; Péter, Ábrányi-Balogh; György, M. Keserű; Maikel, Wijtmans; Henry, F. Vischer; Iwan, J. P. de Esch; Rob, Leurs. Covalent Inhibition of the Histamine H3 Receptor. *Molecules* **2019**, *24*, p 4541.

38. Ganesh, B. P.; Hall, A.; Ayyaswamy, S.; Nelson, J. W.; Fultz, R.; Major, A.; Haag, A.; Esparza, M.; Lugo, M.; Venable, S.; Whary, M.; Fox, J. G.; Versalovic, J. Diacylglycerol Kinase Synthesized By Commensal *Lactobacillus Reuteri* Diminishes Protein Kinase C Phosphorylation And Histamine-Mediated Signaling in The Mammalian Intestinal Epithelium. *Mucosal Immunol.* **2017**, *26*, pp 726–732.
39. Genaro, I. S.; Almeida, F. M.; Hizume-Kunzler, D. C.; Moriya, H. T.; Silva, R. A.; Cruz, J. C. G.; Lopes, R. B.; Righetti R. F.; Paula, Vieira R.; Saiki, M.; Martins, M. A.; Tibério, I. F. LC.; Arantes-Costa, F. M.; Saraiva-Romanholo, B. M. Low Dose of Chlorine Exposure Exacerbates Nasal And Pulmonary Allergic Inflammation in Mice. *Sci. Rep.* **2018**, *8* (1), pp 12636. doi: 10.1038/s41598-018-30851-6.
40. Genovese, A.; Spadaro, G. Highlights in Cardiovascular Effects of Histamine And H1-Receptor Antagonists. *Allergy* **1997**, *52*, pp 67–78.
41. Gheng-Chen, Huang; Chin-Wei, Huang; Yih-Shyun, E Cheng; John, Yu. Histamine Metabolism Influences Blood Vessel Branching in Zebrafish Reg6 Mutants. *BMC Developmental Biology* **2008**, *8* (31), pp 1–12.
42. Gregory, J. Kato; Martin, H. Steinberg; Mark, T. Gladwin Intravascular Hemolysis and the Pathophysiology of Sickle Cell Disease. *J. Clin. Invest.* **2017**, *127* (3), pp 750–760. doi: 10.1172/JCI89741. Epub 2017 Mar 1.
43. Grosicki, M.; Kieć-Kononowicz, K. Human Eosinophils – Potential Pharmacological Model Applied in Human Histamine H4 Receptor Research. *Curr. Med. Chem.* **2015**, *22* (17), pp 2087–2099.
44. Gurgen, S. G.; Erdogan, D.; Take-Kaplanoglu, G. The Effect of Histamine on Kidney by Fasting in Rats. *Bratisl. Lek. Listy.* **2013**, *114* (5), pp 251–257.
45. Habig, W. H.; Parst, M. J.; Jakobv, W. B. Glutathione-S-Transferases. The First Enzymatic Step in Mercapturie Acid Formation. *Journal of Biological Chemistry* **1974**, *249* (22), pp 7130–7139.
46. Hadzi-Petrushev, N.; Bogdanov, J.; Krajoska, J.; Ilievska, J.; Bogdanova-Popov, B.; Gjorgievska, E.; Mitrokhin, V.; Sopi, R.; Gagov, H.; Kamkin, A.; Mladenov, M. Comparative study of The Antioxidant Properties of Monocarbonyl Curcumin Analogues C66 And B2BrBC in Isoproteranol Induced Cardiac Damage. *Life Sci.* **2018**, *197*, pp 10–18. doi: 10.1016/j.lfs.2018.01.028. Epub 2018 Jan 31.
47. Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. Lipid Peroxidation, Oxygen Radicals, Cell Damage, And Antioxidant Therapy. *Lancet.* **1984**. pp 1396–1398.
48. Halverson, G. R.; Reid, M. E.; Sutherland, J.; Rhodes, M. Evaluation And Comparison of Three Human Monoclonal Anti-S, Two Human Polyclonal Anti-S, And One Murine Anti-GPB. *Immunohematology* **1999**, *15* (4), pp 163–166.

49. Harasym, N.; Mandzynets, S.; Sanahursky, D. Effects of Histamine and Sodium Hypochlorite on Prooxidant State in the Rats Erythrocytes. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences* **2020**, *33* (3), pp 125–131.
50. Harasym, N. P.; Bishko, O. I.; Mandzynets, S. M.; Heneha, A. B.; Halan, M. B.; Otchych, V. P.; Sanahursky, D. I. Activity of Key Enzymes of Antioxidant System in Rat Blood Plasma Under The Effect of Histamine And Sodium Hypochlorite. *Studia Biologica* **2017**, *11* (1), pp 33–40.
51. Harasym, N. P.; Bishko-Moskalyuk, O. I.; Wozniak, M. V.; Mandzynets, S. M.; Sanahursky, D. I. State of The Antioxidant Protection System in Rats Erythrocytes Under The Influence of Histamine And Sodium Hypochlorite. *Український Журнал Медицини, Біології та Спорту* **2018**, *3*, 6 (15), с 279–287.
52. Hattori, Y. Role of Histamine in Sepsis-Induced Organ Dysfunction: Study Using Knockout Mice of Histamine-Related Genes. *Nihon Yakurigaku Zasshi*. **2018**, *152* (1), pp 10–15. doi: 10.1254/fpj.152.10.
53. Hidalgo, E.; Bartolome, R.; Dominguez, C. Cytotoxicity Mechanisms of Sodium Hypochlorite in Cultured Human Dermal Fibroblasts And its Bactericidal Effectiveness. *Chemico-Biological Interactions* **2002**, *139*, pp 265–282.
54. Hong, Qian; Chang, Shu; Ling, Xiao; Gaohua, Wang. Histamine and Histamine Receptors: Roles in Major Depressive Disorder. *Frontiers in psychiatry* **2022**, *13*, pp 1–10. doi: 10.3389/fpsy.2022.825591.
55. Ilona, Obara; Vsevolod, Telezhkin; Ibrahim, Alrashdi; Paul, L. Chazot. Histamine, Histamine Receptors, and Neuropathic Pain Relief. *Br. J. Pharmacol.* **2020**, *177*, pp 580–599.
56. Iskusnih, A. Yu.; Basharina, O. V.; Artyukhov, V. G.; Alabovsky, A. A. Effect of Histamine on the Functional Properties of Neutrophils and the Intensity of the Process of Lipid Peroxidation in the Blood of Donors. *Visnyk VGU, Series: Chemistry, Biology, Pharmacy* **2008**, *1*, pp 93–96.
57. Jada, Suber; Onyinye, I. Iweala Strategies for Mast Cell Inhibition in Food Allergy. *Yale. J. Biol. Med.* **2020**, *93* (5), pp 719–731.
58. Jean-Marie, Laplace; Magalie, Thuault; Axel, Hartke. Sodium Hypochlorite Stress in Enterococcus Faecalis: Influence of Antecedent Growth Conditions and Induced Proteins. *Current Microbiol.* **1997**, *34*, pp 284–289.
59. Jens, Bielenberg. Die Allergie-Hypothese. *Jahrgang.* **2005**, *15*, pp 723–726.
60. John, T. Ludlow; Richard, G. Wilkerson; Thomas, M. Nappe Methemoglobinemia. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan. 2020 Sep 4. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30726002/>.
61. Jonny, Karunia. Fajar H1 Antihistamines in Allergic Rhinitis: The Molecular Pathways of Interleukin And Toll-Like Receptor Systems. *Journal of Health Sciences* **2016**, *6* (1), pp 1–11.

62. Kang, Y. H.; Wei, H. M.; Fisher, H.; Merrill, G. F. Histamine-Induced Changes in Coronary Circulation And Myocardial Oxygen Consumption: Influences of Histamine Receptor Antagonists. *The FASEB Journal* **1987**, *1*, pp 483–489.
63. Kasidid, Ruksakiet; Lilla, Hanák; Nelli, Farkas; Péter, Hegyi; Wuttapon, Sadaeng; László, Márk Czumbel; Thanyaporn, Sang-Ngoen; András, Garami; Alexandra, Mikó; Gábor, Varga; Zsolt, Lohinai Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Root Canal Disinfection: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *J. Endod.* **2020**, *46* (8), pp 1032–1041. doi: 10.1016/j.joen.2020.05.002.
64. Katie, Williams; Andrew, G. Hughson; Bruce, Chesebro; Brent, Race. Inactivation of chronic wasting disease prions using sodium hypochlorite. *PLOS ONE* **2019**, *14* (10). e0223659.
65. Kay, L. J.; Suvarna, S. K.; Peachell, P. T. Histamine H₄ Receptor Mediates Chemotaxis of Human Lung Mast Cells. *Eur. J. Pharmacol.* **2018**, *18*, pp 30491–30496. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.08.028.
66. Ken, H.; Noriko, S.; Shunji, N. Structures and Developmental Alterations of N-glycans of Zebrafish Embryos. *Glycobiology* **2017**, *4*, 27 (3), pp 228–245. doi: 10.1093/glycob/cww124.
67. Khan, A.; Ullah, M.; Khan, M. Pathological Effects of Sodium Hypochlorite Administration Through Drinking Water in Male Japanese Quails (*Coturnix Japonica*). *Hum. Exp. Toxicol.* **2008**, *27* (10), pp 773–780. doi: 10.1177/0960327108097435.
68. Kiffin, R.; Grauers, Wiktorin H.; Nilsson, M. S.; Aurelius, J.; Aydin, E.; Lenox, B.; Nilsson, J. A.; Ståhlberg, A.; Thorén, F. B.; Hellstrand, K.; Martner, A. Anti-Leukemic Properties of Histamine in Monocytic Leukemia: The Role of NOX2. *Front Oncol.* **2018**, *8*, pp 218. doi: 10.3389/fonc.2018.00218. eCollection 2018.
69. Kondru, S. K.; Potnuri, A. G.; Allakonda, L.; Konduri, P. Histamine 2 Receptor Antagonism Elicits Protection Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in Rodent Model. *Mol. Cell Biochem.* **2018**, *441* (1–2), pp 77–88. doi: 10.1007/s11010-017-3175-x. Epub 2017 Sep 8.
70. Konstantinos, Katsoulis-Dimitriou; Johanna, Kotrba; Martin, Voss; Jan, Dudeck; Anne, Dudeck Mast Cell Functions Linking Innate Sensing to Adaptive Immunity. *Cells* **2020**, *9* (12), pp 2538. doi: 10.3390/cells9122538.
71. Konyukhov, A. L. Guide to Using the ImageJ Software Package for Image Processing: A Tutorial Guide; Department of TU, TUSUR: Tomsk, 2012; 105 p.
72. Kota, V. Ramana; Sanjay, Srivastava; Sharad, S. Singhal. Lipid Peroxidation Products in Human Health and Disease 2019. *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2019**, Article ID 7147235.

73. Kovacova-Hanuszkova, E.; Buday, T.; Gavliakova, S.; Plevkova, J. Histamine, Histamine Intoxication And Intolerance. *Allergol Immunopathol (Madr)*. **2015**, *43* (5), pp 498–506.
74. Kunikata, T.; Itoh, S.; Ozaki, T.; Kondo, M.; Isobe, K.; Onishi, S. Formation of Propentdyopents And Biliverdin, Oxidized Metabolites of Bilirubin, in Infants Receiving Oxygen Therapy. *Pediatr. Int.* **2000**, *42* (4), pp 331–336.
75. Kuzubova, N. A.; Fedin, A. N.; Lebedeva, E. S.; Titova, O. N. Role of Mast Cells in Bronchial Contraction in Nonallergic Obstructive Lung Pathology. *Fiziol. Zh.* **2017**, *103* (2), pp 193–200.
76. Lebedev, A. T.; Shaydullina, G. M.; Sinikova, N. A.; Harchevnikova, N. V. GC–MS Comparison of The Behavior of Chlorine And Sodium Hypochlorite Towards Organic Compounds Dissolved in Water. *Water Research* **2004**, *38*, pp 3713–3718.
77. Lian-Jiu, Su; Jia-Hao, Zhang; Hernando, Gomez; Raghavan, Murugan; Xing, Hong; Dongxue, Xu; Fan, Jiang; Zhi-Yong, Peng. Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis. *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2019**, pp 1–13. Article ID 5080843.
78. Likhachev, A. G. Multivolume Guide to Otolaryngology. Volume 4; Book on Demand, 1963; 552 p.
79. Lin, Y. W. Structure And Function of Heme Proteins Regulated by Diverse Post-Translational Modifications. *Arch. Biochem. Biophys.* **2018**, *641*, pp 1–30. doi: 10.1016/j.abb.2018.01.009. Epub 2018 Feb 2.
80. Long, Deng; Tao, Hong; Jinyi, Lin. Histamine Deficiency Exacerbates Myocardial Injury in Acute Myocardial Infarction Through Impaired Macrophage Infiltration And Increased Cardiomyocyte Apoptosis. *Scientific Reports* **2015**, *5*, pp 1–12.
81. López-Galindo, C.; Vargas-Chacoff, L.; Nebot, E.; Casanueva, J. F.; Rubio, D.; Solé, M.; Mancera, J. M. Biomarker Responses in Solea Senegalensis Exposed to Sodium Hypochlorite Used as Antifouling. *J. Chemosphere* **2010**, *78* (7), pp 885–893.
82. López-Galindo, C.; Vargas-Chacoff, L.; Nebot, E.; Casanueva, J. F.; Rubio, D.; Mancera, J. M.; Solé, M. Sublethal Responses of The Common Mussel (*Mytilus Galloprovincialis*) Exposed to Sodium Hypochlorite And Mexel432 Used as Antifoulants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2010**, *73* (5), pp 825–834.
83. Lowry, O. H. Protein Measurement With The Folin Phenol Reagent. *Journal of Boiological Chemistry* **1951**, *193* (1), pp 404–415.
84. Lozan, T.; Maria, T.; Luciano, S.; Irena, K. *In Vitro* Interaction of 5-Aminoortotic Acid and Its Gallium(III) Complex with Superoxide Radical, Generated by Two Model Systems. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21* (22), pp 8862.

85. Lucas, Kettner; Ines, Seitz; Lutz, Fischer. Recent Advances in the Application of Microbial Diamine Oxidases and Other Histamine - Oxidizing Enzymes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **2022**, 38, pp 232. doi: 10.1007/s11274-022-03421-2.
86. Luis Miguel, Roman-Pintos; Geannyne, Villegas-Rivera; Adolfo Daniel, Rodríguez-Carrizalez; Alejandra Guillermina, Miranda-Díaz; Ernesto Germán, Cardona-Muñoz Diabetic Polyneuropathy in Type 2 Diabetes Mellitus: Inflammation, Oxidative Stress, and Mitochondrial Function. *Journal of Diabetes Research* **2016**, 2016, pp 1–16. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3425617>.
87. Luo, T.; Chen, B.; Zhao, Z.; He, N.; Zeng, Z.; Wu, B.; Fukushima, Y.; Dai, M.; Huang, Q.; Xu, D.; Bin, J.; Kitakaze, M.; Liao, Y. Histamine H2 Receptor Activation Exacerbates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury by Disturbing Mitochondrial And Endothelial Function. *Basic. Res. Cardiol.* **2013**, 108 (3), pp 342. doi: 10.1007/s00395-013-0342-4. Epub 2013 Mar 7.
88. Magon, N. J.; Turner, R.; Geary, R. B. Oxidation of Calprotectin by Hypochlorous Acid Prevents Chelation of Essential Metal Ions And Allows Bacterial Growth: Relevance to Infections in Cystic Fibrosis. *Free Radic. Biol. Med.* **2015**, 86, pp 133–144.
89. Maimistova, A. A.; Koshelev, V. B.; Bulaeva, S. V.; Muraviev, A. V. Changes in Erythrocyte Aggregation and Deformability Upon Activation of Intracellular Signaling Pathways. *Pedagogical Bulletin* **2010**, 3, pp 71–74.
90. Maintz, L.; Novak, N. Histamine And Histamine Intolerance. *Am. J. Clin. Nutr.* **2007**, 85 (5), pp 1185–1196.
91. Marnett, L. J. Lipid Peroxidation-DNA Damage by Malondialdehyde. *Mutat. Res.* **2007**, 424 (1–2), pp 83–95.
92. Martinez-Alvarez, R. M.; Morales, A. E.; Sanz, A. Antioxidant Defenses in Fish: Biotic And Abiotic Factors. *Reviews in Fish Biology And Fisheries* **2005**, 15 (1), pp 75–88.
93. Mary, Taub. Gene Level Regulation of Na, K-ATPase in The Renal Proximal Tubules Controlled by Two Independent But Interacting Regulatory Mechanisms Involving Salt Inducible Kinase 1 And CREB-Regulated Transcriptional Coactivators. *International Journal of Molecular Sciences* **2018**, 19 (2086), pp 1–20. doi:10.3390/ijms19072086.
94. Melissa, Lee; Hugo, Van Bever. The Role of Antiseptic Agents in Atopic Dermatitis. *Asia Pac. Allergy* **2014**, 4, pp 230–240.
95. Michael, M. Gaschlera; Brent, R. Stockwell. Lipid Peroxidation in Cell Death. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2017**, 15, 482 (3), pp 419–425. doi:10.1016/j.bbrc.2016.10.086.
96. Michalina, Adaszynska-Skwirzynska; Danuta, Szczerbinska The Effect of Lavender (*Lavandula Angustifolia*) Essential Oil as a Drinking Water Supplement on the Production Performance, Blood Biochemical Parameters,

and Ileal Microflora in Broiler Chickens. *Poult Sci.* **2019**, *98* (1), pp 358–365. doi: 10.3382/ps/pey385.

97. Mitsunobu, F.; Mifune, T.; Hosaki, Y. Different Roles of Histamine And Leukotriene C4 in The Airways Between Patients With Atopic And Nonatopic Asthma. *J. Asthma* **1998**, *35* (4), pp 367–372.

98. Miyamoto, S.; Di Mascio, P. Lipid Hydroperoxides as a Source of Singlet Molecular oxygen. *Subcell Biochem.* **2014**, *77*, pp 3–20. doi: 10.1007/978-94-007-7920-4_1.

99. Mohammad, Shahid; Trivendra, Tripathi; Farrukh, Sobia. Histamine, Histamine Receptors, And Their Role in Immunomodulation: An Updated Systematic Review. *The Open Immunology Journal* **2009**, *2*, pp 9–41.

100. Mohammadebrahim, Tasirnafas; Kazem, Karimi; Ghobad, Asgari Jafarabadi; Alireza, Seidavi; Fatemeh, Noorbakhsh Extraction and Purification of β -glucanase From Bovine Rumen Fungus *Trichoderma Reesei* and Its Effect on Performance, Carcass Characteristics, Microbial Flora, Plasma Biochemical Parameters, and Immunity in a Local Broiler Hybrid Golpayegan-Ross. *Trop. Anim. Health Prod.* **2020**, *52* (4), pp 1833–1843. doi: 10.1007/s11250-019-02186-5. Epub 2020 Jan 14.

101. Muzaffer, Dukel; Zehra, Tavsan; Duygu, Erdogan; Deniz Erkan, Gök; Hulya Ayar, Kayali Protein kinase C Inhibitors Selectively Modulate Dynamics of Cell Adhesion Molecules and Cell Death in Human Colon Cancer Cells. *Cell Adhesion & Migration* **2019**, *13* (1), pp 83–97. <https://doi.org/10.1080/19336918.2018.1530933>.

102. Myung, Woo Byun; Jang, Ho Kim; Dong, Ho Kim; Hyun, Ju Kim; Cheorun, Jo. Effects of Irradiation And Sodium Hypochlorite on The Micro-Organisms Attached to a Commercial Food Container. *Food Microbiology* **2007**, *24*, pp 544–548.

103. Nanrong, Yu; Haiying, Liu; Jianchang, Li; Shicai, Chen. Using Low Concentration Sodium Hypochlorite to Improve Colorectal Surgical Specimen Lymph Node Harvest. *Mol. Clin. Oncol.* **2020**, *12* (6), pp 519–524. doi: 10.3892/mco.2020.2018. Epub 2020 Mar 19.

104. Naroa, Kajarabille; Gladys, O. Latunde-Dada. Programmed Cell-Death by Ferroptosis: Antioxidants as Mitigators. *International Journal of Molecular Sciences* **2019**, *20*, pp 49–68.

105. Neifakh, A. A.; Timofeeva, M. Ya. Problems of Regulation in Molecular Biology of Development; Nauka, 1978; 336 p.

106. Neumyvakin, I. P. Hydrogen Peroxide on the Guard of Health; "DILYA", 2006; 189 p.

107. Novik, G. A. Mechanisms of Allergic Reactions and Methods of Allergic Examination in Clinical Practice. Educational-Methodological Manual; Edition GPMA, 2004; 76 p.

108. Oriol, Comas-Basté; Sònia, Sánchez-Pérez; Maria, Teresa Veciana-Nogués; Mariluz, Latorre-Moratalla; María, del Carmen Vidal-Carou Histamine

Intolerance: The Current State of the Art. *Biomolecules* **2020**, *10* (8), pp 1181. doi: 10.3390/biom10081181.

109. Pakhuri, Mehta; Przemysław, Miszta; Sławomir, Filipek Molecular Modeling of Histamine Receptors—Recent Advances in Drug Discovery. *Molecules* **2021**, *26* (6), pp 1778. doi: 10.3390/molecules26061778.

110. Paul, R Wratil; Rüdiger, Horstkorte Metabolic Glycoengineering of Sialic Acid Using N-acyl-modified Mannosamines. *J. Vis. Exp.* **2017**, *25* (129), pp 55746. doi: 10.3791/55746.

111. Petrov, S. I. Application of Sodium Hypochlorite in Clinical Toxicology. Thesis for the Degree of Doctor of Medical Sciences, 2005, 205 p.

112. Polliana, Mihaela Leru; Vlad, Florin Anton; Corina, Ureche; Sabina, Zurac; Ovidiu, Bratu; Carmen, Daniela Neagoe Mast Cell Activation Syndromes – Evaluation of Current Diagnostic Criteria and Laboratory Tools in Clinical Practice (Review). *Exp. Ther. Med.* **2020**, *20* (3), pp 2348–2351. doi: 10.3892/etm.2020.8947.

113. Quirce, S.; Barranco, P. Cleaning Agents And Asthma. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **2010**, *20* (7), pp 542–550.

114. Radi, R. Oxygen Radicals, Nitric Oxide, And Peroxynitrite: Redox Pathways in Molecular Medicine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **2018**, *115* (23), pp 5839–5848. doi: 10.1073/pnas.1804932115.

115. Ram, Surath Kumar; Anil, V. Ankola; Roopali, M. Sankeshwari; Mamata, Hebbal; Vinuta, Hampiholi; Lokesh, Kumar S.; Apurva, Prashant Deshpande; Abhra, Roy Choudhury; Atrey; J. Pai Khot. Effectiveness of Various Irrigant Activation Techniques on the Penetration of Sodium Hypochlorite Into Lateral Canals of Mature Permanent Teeth: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Saudi Dent J.* **2023**, *35* (1), pp 1–23. doi: 10.1016/j.sdentj.2022.12.004. Epub 2022 Dec 16.

116. Rao, G. J. Histamine Induced Decrease of Lecithin Levels in Broncho-Alveolar Lavage Fluid of Rats is Mediated by H2 Receptor. *Asian Pac. J Allergy. Immunol.* **2000**, *18* (3), pp 169–171.

117. Reher, T. M.; Brunskole, I.; Neumann, D.; Seifert, R. Evidence For Ligand-Specific Conformations of The Histamine H(2)-Receptor in Human Eosinophils and Neutrophils. *Biochem. Pharmacol.* **2012**, *84* (9), pp 1174–1185. doi: 10.1016/j.bcp.2012.08.014. Epub 2012 Aug 24.

118. Reynolds, E. S. The Use of Lead Citrate at High pH as an Electronopaque Stain in Electron Microscopy. *J. Cell Biol.* **1963**, *17*, pp 208–212.

119. Ribas, D.; Fernández-Carranco, M. C.; Hajji, N.; Bobadilla, P.; Monteseirín, J. Eosinophil Cationic Protein And Histamine Production by Neutrophils From Patients With Periodontitis. *J. Periodontol.* **2018**, *89* (2), pp 228–234.

120. Rojas, D.; Rodríguez, F.; Barráez, J.; Piñero, S.; Chiarello, D. I.; Abad, C.; Marín, R.; Proverbio, F. Osmotic Fragility of Red Blood Cells, Lipid

Peroxidation and Ca²⁺-ATPase Activity of Placental Homogenates And Red Blood Cell Ghosts in Salt-Loaded Pregnant Rats. *J. Matern. Fetal. Neonatal Med.* **2016**, 29 (2), pp 229–233.

121. Salmanov, S. A. Sodium Hypochlorite in The Treatment And Prevention of Kidney Insufficiency of Ischemic And Infectious Genesis. **2005**, p 174. Available at: <http://www.dissercat.com/content/gipokhlorit-natriya-v-lechenii-i-profilaktike-pochechnoi-nedostatochnosti-ishemicheskogo-i-i#ixzz58IvPIeSO>.

122. Sam, J.; Gosse, J.; Max, Tgm. Derks; Thomas, J.; Christian, Büll Sialic Acid Glycoengineering Using N-acetylmannosamine and Sialic Acid Analogs. *Glycobiology* **2019**, 29 (6), pp 433–445.

123. Sara, E. Espinoza; Hongfei, Guo; Neal, Fedarko; Amy, DeZern; Linda, P. Fried; Qian-Li, Xue; Sean, Leng; Brock, Beamer; Jeremy, D. Walston, Johns, Hopkins. Glutathione Peroxidase Enzyme Activity in aging. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* **2008**, 63 (5), pp 505–509.

124. Satoshi, Yamaga; Yuhki, Yanase; Kaori, Ishii; Shinichiro, Ohshimo; Nobuaki, Shime; Michihiro, Hide. Decreased Intracellular Histamine Concentration and Basophil Activation in Anaphylaxis. *Allergology International* **2020**, 69, pp 78–83.

125. Shaji, Varghese. The Histamine H4 Receptor: Drug Discovery in The Post-Genomic Era. *Nature Reviews Drug Discover* **2008**, 7, pp 41–53.

126. Shibama, S.; Ugajin, T.; Yamaguchi, T.; Yokozeki, H. Bilirubin Oxidation Derived From Oxidative Stress is Associated With Disease Severity of Atopic Dermatitis in Adults. *Clin. Exp. Dermatol.* **2018**, doi: 10.1111/ced.13674.

127. Shuchao, Ge.; Jingchen, Li.; Dengfeng, Huang; Yuan, Cai; Jun, Fang; Hongyuan, Jiang; Bing, Hu Strong Static Magnetic Field Delayed the Early Development of Zebrafish. *Open Biol.* **2019**, 9 (10), pp 1–13. doi: 10.1098/rsob.190137. Epub 2019 Oct 30.

128. Silvestri, I.; Testa, F.; Zappasodi, R.; Cairo, C. W.; Zhang, Y.; Lupo, B.; Galli, R.; Nicola, M. Di.; Venerando, B.; Tringali C. Sialidase NEU4 is Involved in Glioblastoma Stem Celsurvivall. *Cell Death and Disease* **2014**, 5, pp 1–11. doi:10.1038/cddis.2014.349.

129. Song, D.; Wang, Y. W.; Hou, Y. J.; Dong, Z. L.; Wang, W. W.; Li, A. K. The Effects of Dietary Supplementation of Microencapsulated and the Extract of Seed on Growth Performance, Immune Functions, and Serum Biochemical Parameters in Broiler Chickens. *J. Anim. Sci.* **2016**, 94 (8), pp 3271–3277. doi: 10.2527/jas.2016-0286

130. Sousa, L.; Pessoa, M. T. C.; Costa, T. G. F.; Cortes, V. F.; Santos, H. L.; Barbosa, L. A. Iron Overload Impact on P-ATPases. *Ann Hematol.* **2018**, 97 (3), pp 377–385.

131. Strussmann, C. A.; Nakatsugawa, H.; Takashima, F.; Hasobe, M.; Suzuki, T.; Takai, R. Cryopreservation of Isolated Fish Blastomeres: Effects of

- Cell Stage, Cryoprotectant Concentration, And Cooling Rate on Postthawing Survival. *Cryobiology* **1999**, 39 (3), pp 252–261. DOI: 10.1006/cryo.1999.2208.
132. Sylwia, Smolinska; Ewa, Winiarska; Anna, Globinska; Marek, Jutel. Histamine: A Mediator of Intestinal Disorders – A Review. *Metabolites* **2022**, 12, pp 895. <https://doi.org/10.3390/metabo12100895>.
133. Tatsuro, Shimamura; Mitsunori, Shiroishi; Simone, Weyand; Hirokazu, Tsujimoto; Graeme, Winter; Vsevolod, Katritch; Ruben, Abagyan; Vadim, Cherezov; Wei, Liu; Gye, Won Han; Takuya, Kobayashi; Raymond, C.; Stevens, So Iwata. Structure of The Human Histamine H1 Receptor Complex With Doxepin. *Nature* **2012**, 475 (7354), pp 65–70. doi:10.1038/nature10236.
134. Tawadrous, G. A.; Aziz, A. A.; Mostafa, T. Seminal Soluble Fas Relationship With Oxidative Stress in Infertile Men With Varicocele. *Urology* **2013**, 82 (4), pp 820–823. doi: 10.1016/j.urology.2013.06.018. Epub 2013 Aug 1.
135. Taylor, Francis; Allyson, Graf; Kyle, Hodges; Lindsey, Kennedy; Laura, Hargrove; Mattie, Price; Kate, Kearney; Heather, Francis. Histamine Regulation of Pancreatitis And Pancreatic Cancer: a Review of Recent Findings. *Hepatobiliary Surg. Nutr.* **2013**, 2 (4), pp 216–226.
136. Taysi, S.; Ucuncu, H.; Elmastas, M.; Aktan, B.; Emin Buyukokuroglu, M. Effect of Melatonin on Lipid Peroxidation, Glutathione And Glutathione-Dependent Enzyme Activities in Experimental Otitis Media With Effusion in Guinea Pigs. *J. Pineal Res.* **2005**, 39 (3), pp 283–286.
137. Thome, C.; Mitz, C.; Sreetharan, S.; Mitz, C.; Somers, C. M.; Manzon, R. G.; Boreham, D. R.; Wilson, J. Y. Developmental Effects of The Industrial Cooling Water Additives Morpholine And Sodium Hypochlorite on Lake Whitefish (*Coregonus Clupeaformis*). *Environ. Toxicol. Chem.* **2017**, 36 (7), pp 1955–1965. doi: 10.1002/etc.3727. Epub 2017 Jan 31.
138. Turan, N. N.; Demiryürek, A. T.; Kanzik, I. Hypochlorous Acid-Induced Responses in Sheep Isolated Pulmonary Artery Rings. *Pharmacol. Res.* **2000**, 41 (5), pp 589–596.
139. Ucuncu, H.; Taysi, S.; Aktan, B.; Buyukokuroglu, M. E.; Elmastas, M. Effect of Dantrolene on Lipid Peroxidation, Lutathione And Glutathione-Dependent Enzyme Activities in Experimental Otitis Media With Effusion in Guinea Pigs. *Hum. Exp. Toxicol.* **2005**, 24 (11), pp 567–571.
140. Van Den Broucke, S.; Pollaris, L.; Vande Velde, G. Irritant-Induced Asthma to Hypochlorite in Mice Due to Impairment of The Airway Barrier. *Arch. Toxicol.* **2018**, 24, pp 2161–2168.
141. Vander, A. *Physiology of the kidneys*. St. Petersburg: Pyter, 2000; 252 p.
142. Vasicek, O.; Lojek, A.; Jancinova, V.; Nosal, R.; Ciz, M. Role of Histamine Receptors in The Effects of Histamine on The Production of Reactive Oxygen Species by Whole Blood Phagocytes. *Life Sci.* **2014**, 100 (1), pp 67–72. doi: 10.1016/j.lfs.2014.01.082. Epub 2014 Feb 12.

143. Velyka, A. Ya.; Bratenko, M. K. Correlation of Lipid Peroxidation' Products And Antioxidant System Enzymes of Rats' Kidney Tissues in Conditions of Salt Loading And Experimental Nephropathy. *Клінічна та експериментальна патологія* **2015**, *14*, 2 (52), с 63–68.
144. Victor, Yu. Glanz; Veronika, A. Myasoedova; Andrey, V. Grechko; Alexander, N. Orekhov. Inhibition of Sialidase Activity as a Therapeutic Approach. *Drug Design, Development and Therapy* **2018**, *12*, pp 3431–3437.
145. Vidhi, Walia; Mousumi, Goswami; Shivesh, Mishra; Nidhi, Walia; Divya, Sahay. Comparative Evaluation of the Efficacy of Chlorhexidine, Sodium Hypochlorite, the Diode Laser and Saline in Reducing the Microbial Count in Primary Teeth Root Canals – An In Vivo Study. *Journal of Lasers in Medical Sciences* **2019**, *10* (4), pp 268–274.
146. Wagner, M. C.; Eckman, J. R.; Wick, T. M. Histamine Increases Sickle Erythrocyte Adherence to Endothelium. *Br. J. Haematol.* **2006**, *132* (4), pp 512–522.
147. Wan-chun, Zhu; Jacqueline, Gyamfi; Li-na, Niu; G., John Schoeffel; Siying, Liu; Filippo, Santarcangelo; Sara, Khan; Kelvin C-Y., Tay; David H., Pashley; Franklin R., Tay. Anatomy of Sodium Hypochlorite Accidents Involving Facial Ecchymosis – a Review. *J. Dent.* **2013**, *41* (11), p 24. doi:10.1016/j.jdent.2013.08.012.
148. Wang, Q. Y.; Liu, Z. S.; Wang, J.; Wang, H. X.; Li, A.; Yang, Y.; Wang, X. Z.; Zhao, Y. Q.; Han, Q. Y.; Cai, H.; Liang, B.; Song, N.; Li, W. H.; Li, T. Glutathione peroxidase-1 is Required For Self-Renewal of Murine Embryonic Stem Cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2014**, *448* (4), pp 454–460. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.04.139.
149. Wojciech, Nazar; Katarzyna, Plata-Nazar; Katarzyna, Sznurkowska; Agnieszka, Szlagatys-Sidorkiewicz. Histamine Intolerance in Children: A Narrative Review. *Nutrients* **2021**, *13* (5), pp 1486. doi: 10.3390/nu13051486.
150. Xiaoyang, Zhou; Hanyuan, Fang; Jianfei, Xu; Peifu, Chen; Xujun, Hu; Bixin, Chen; Hua, Wang; Caibao, Hu; Zhaojun, Xu. Stress Ulcer Prophylaxis With Proton Pump Inhibitors or Histamine 2 Receptor Antagonists in Critically ill Adults – a Metaanalysis of Randomized Controlled Trials With Trial Sequential Analysis. *BMC Gastroenterology* **2019**, *19*, pp 193.
151. Xingjuan, Chen; Christian, Egly; Ashley, M. Riley; Wennan, Li; Paul, Tewson; Thomas, E. Hughes; Anne, Marie Quinn; Alexander, G. Obukhov. PKC-Dependent Phosphorylation of The H1 Histamine Receptor Modulates TRPC6 Activity. *Cells* **2014**, *3* (2), pp 247–257.
152. Yan, Xie; Benjamin, Bowe; Tingting, Li; Hong, Xian; Yan, Yan; Ziyad, Al-Aly. Long-Term Kidney Outcomes Among Users of Proton Pump Inhibitors Without Intervening Acute Kidney Injury. *Kidney International* **2017**, *91*, pp 1482–1494.

153. Yasmine Ould, Amer; Etienne, Hebert-Ghatelain Mitochjndriae cAMP-PKA Signaling: What Do We Really Know? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics* **2018**, 1859 (9), pp 868–877.
154. Yasuko, Kaneko; Yukio, Morohashi. The Effect of Sodium Hypochlorite Treatment on The Development of α -Amylase Activity in Mung Bean Cotyledons. *Plant Science* **2003**, 164, pp 287–292.
155. Ying, Zhao; Xiaoyan, Zhang; Hengxi, Jin; Lu, Chen; Jiang, Ji; Zhongwei, Zhang. Histamine Intolerance – A Kind of Pseudoallergic Reaction. *Biomolecules* **2022**, 12, pp 454.
156. Yoshichika, Kawai; Erika, Nuka. Abundance of DNA Adducts of 4-Oxo-2-Alkenals, Lipid Peroxidation-Derived Highly Reactivgenotoxins. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **2018**, 62 (1), pp 3–10.
157. Yousef, M. Abdulrazzaq; Salim, M.A. Bastaki; Ernest, Adeghate. Histamine H3 Receptor Antagonists – Roles in Neurological and Endocrine Diseases and Diabetes Mellitus. *Biomed Pharmacother.* **2022**, 150, pp 112947. doi: 10.1016/j.biopha.2022.112947.
158. Yu, Kawakami; Kazumi, Kasakura; Toshiaki, Kawakami. Histamine-Releasing Factor, a New Therapeutic Target in Allergic Diseases. *Cells* **2019**, 8, p 1515. doi:10.3390/cells8121515.
159. Yu, X.; Sun, X.; Zhao, M.; Hou, Y.; Li, J.; Yu, J.; Hou, Y. Propofol Attenuates Myocardial Ischemia Reperfusion Injury Partly Through Inhibition of Resident Cardiac Mast Cell Activation. *Int. Immunopharmacol.* **2018**, 54, pp 267–274. doi: 10.1016/j.intimp.2017.11.015. Epub 2017 Nov 21.
160. Zampeli, E.; Tiligada, E. The Role of Histamine H4 Receptor in Immune And Inflammatory Disorders. *British Journal of Pharmacology* **2009**, 157, pp 24–33. doi:10.1111/j.1476-5381.2009.00151.x.
161. Zhiqiang, Luo; Lingyu, Sun; Feika, Bian; Yu, Wang; Yunru, Yu; Zhuxiao, Gu; Yuanjin, Zhao. Erythrocyte-Inspired Functional Materials for Biomedical Applications. *Adv. Sci.* **2023**, 10, pp 2206150. DOI: 10.1002/advs.202206150.
162. Авілова, О. В.; Приходько, О. О.; Трач, О. О.; Ярмоленко, О. С.; Бумейстер, Л. В. Морфо-Функціональна Організація Селезінки Лабораторних Тварин (Огляд Літератури). *Світ Медицини та Біології* **2017**. 1 (59), с 175–179.
163. Адо, А. Д. *Патологічна Фізіологія*; Тріада-Х, 2000; 574 с.
164. Александрова, К. В.; Шкода, О. С.; Крісанова, Н. В.; Левіч, С. В.; Юрченко, Д. М. *Прості та Складні Білки*; ЗДМУ: Запоріжжя, 2015; 115 с.
165. Амосова, Е. Н. *Кардіоміопатії*; Книга Плюс: Київ, 1999; 213 с.
166. Андрійчук, А. В.; Ткаченко, Г. М.; Кургалюк, Н. М.; Ткачова, І. В. Динаміка Гематологічних Показників та Маркерів Оксидативного Стресу у Коней Української Верхової Породи Під Впливом Фізичних Навантажень. *Вісник Харківського Національного Університету Імені В.Н.Каразіна. Серія: Біологія* **2013**, 17 (1056), с 148–160.

167. Анісімов, В. Ю. Енергетичні Механізми Взаємодії Вітамінів Групи «В» як Фактора Реалізації їх Функцій. Дисертація на Здобуття Наукового Ступеня Кандидата Біологічних Наук за Спеціальністю 03.00.04 – Біохімія. **2010**. Одеса. 130 с.
168. Апихтіна, О. Л. Дослідження Мембрано Токсичної Дії Важких Металів на Моделі Еритроцитів Крові *in vitro*. *Сучасні Проблеми Токсикології* **2011**, 1–2, с 65–69.
169. Апихтіна, О. Л.; Коцюруб, А. В.; Андрусишина, І. М.; Лампека, О. Г.; Коркач, Ю. П. Продукція Оксиду Азоту в Печінці за Умов Впливу Ацетату Свинцю в Експерименті. *Сучасні Проблеми Токсикології* **2007**, 2, с 22–26.
170. Атаман, О. В. *Патологічна Фізіологія в Запитаннях і Відповідях*; Нова Книга: Вінниця, 2010; 512 с.
171. Атаман, О. В. *Патофізіологія у Двох Томах. Том 2: Патофізіологія Органів і Систем*; Нова Книга: Вінниця, 2015; 528 с.
172. Атамнах, С.; Барановський, В.; Решетник, Є.; Весельський, С.; Янчук, П. Вплив Гістаміну на Ліпідний Склад Жовчі Щурів. *Вісник Київського Національного Університету Імені Тараса Шевченка Біологія* **2014**, 3 (68), с 93–95.
173. Атамнах, С.; Янчук, П. І.; Решетник, Є. М.; Весельський, С. П.; Комаренко, В. І.; Левадяньська, Ю. А.; Бондзик, О. В.; Терехов, А. А. Участь Гістаміну в Регуляції Жовчосекреторної Функції, Кровообігу і Тканинного Дихання Печінки. *Вісник Черкаського Університету. Серія «Біологічні Науки»*. **2015**, 2 (335), с 3–11.
174. Ачох, З. З.; Авакімян, В. А. Вплив Натрію Гіпохлориту на Антиоксидантну Систему За Лікування Розповсюдженого Гнійного Перитоніту. *Сучасні Високотехнологічні Технології* **2004**, 4, с 28.
175. Бабський, А. М. *Функціональний Стан Клітин і Вміст Na^+ за Гіпоксії та Канцерогенезу*. Монографія: Львів, 2014; 150 с.
176. Баглай, О. М.; Мурска, С. Д.; Гути, В. В. Система Антиоксидантного Захисту та Перекисне Окиснення Ліпідів Організму Тварин. *Науковий Вісник Львівського Національного Університету Ветеринарної Медицини та Біотехнологій ім. Гжицького* **2011**, 13, 4 (2), с 3–11.
177. Байляк, М. М. *Біологічні мембрани*. 2012; 83 с.
178. Барабой, В. А. Окисно-Антиоксидантний Гомеостаз в Нормі і Патології / В.А.Барабой, Д.А.Сутковой; Під ред. Зозулі Ю. А.; Наук. Думка: Київ, 1997; 420 с.
179. Басараб, Я. О.; Нетюхайло, Л. Г. Стан Вільно-Радикальних Процесів та Антиоксидантної Системи в Нирках Щурів в Різні Стадії Експериментальної Опікової Хвороби. *Таврійський Медико-Біологічний Вісник* **2012**, 15, 3, 1 (59), с 31–33.

180. Бевз, О. В. Реакція Серцево-Судинної Системи Здорових Осіб із Обтяженою Спадковістю Щодо Ішемічної Хвороби Серця При Нетривалому Фізичному Навантаженні. *Експериментальна і Клінічна Фізіологія і Біохімія* **2013**, 2, с 50–56.
181. Березовский, В. Я.; Янко, Р. В.; Чака, О. Г.; Левашов, М. І. Вплив Екзогенного Мелатоніну на Структуру та Стан Сполучнотканинних Елементів Респіраторного Відділу Легень. *Укр. Пульмонолог. Журнал* **2015**, 3, с 61–64.
182. Білан, Д. С.; Шохіна, А. Г.; Лук'янов, С. А.; Белоусов, В. В. Основні Редокс-Пари Клітини. *Біоорганічна Хімія* **2015**, 41 (4), с 385–402.
183. Білецький, С. С.; Білецький, С. В. Стан Вільнорадикального Окиснення Ліпідів та Окиснювальної Модифікації Білків Крові у Хворих на Нестабільну Стенокардію і Інфаркт Міокарда. *Буковинський Мед. Вісн.* **2006**, 10 (2), с 11–14.
184. Бішко, О. І. Гістамін і Блокатори Гістамінових Рецепторів. Структурні та Функціональні Аспекти. *Вісник Львівського Університету. Серія Біологічна* **2012**, 60, с 40–57.
185. Бішко, О. І.; Гарасим, Н. П.; Санагурський, Д. І. Вміст Первинних і Вторинних Продуктів Ліпопероксидації у Тканинах Щура за Дії Гістаміну та Гіпохлориту Натрію. *Біологічні Студії / Studia Biologica* **2014**, 8 (2), с 75–90. DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.0802.348>.
186. Бішко, О. І.; Гарасим, Н. П.; Санагурський, Д. І. Система Антиоксидантного Захисту у Печінці та Нирках Щура за Впливу Гістаміну та Гіпохлориту Натрію. *Експериментальна та Клінічна Фізіологія і Біохімія* **2014**, 3, с 33–43.
187. Бішко, О. І.; Гарасим, Н. П.; Санагурський, Д. І. Стан Системи Антиоксидантного Захисту в Плазмі Крові та Серцевому М'язі Щура за Дії Гістаміну та Гіпохлориту натрію. *Укр. Biochem. J.* **2014**, 86 (6), с 56–65.
188. Бішко, О. І.; Головчак, Н. П.; Бойко, М. Я.; Санагурський, Д. І. Вільнорадикальні Процеси в Тканинах Щура за Дії Гіпохлориту Натрію та Гістаміну. *Біофізичний Вісник* **2014**, 31 (1), с 14–26.
189. Бішко, О. І.; Головчак, Н. П.; Санагурський Д. І. Вплив Гістаміну та Гіпохлориту Натрію на Вільнорадикальні Процеси у Легеневій Тканині Щура. *Біологічні Студії / Studia Biologica* **2013**, 7 (3), с 97–106. DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.0703.318>.
190. Бішко, О. І.; Головчак, Н. П.; Санагурський, Д. І. Процеси Перекисного Окислення Ліпідів в Крові При Дії Гістаміну. *Окисний Стрес і Вільнорадикальні Патології: Програма і Тези Доповідей Восьмої Міжнародної Кримської Конференції, Судак, Крим, Україна, Вересень 22–28, 2012; Судак, 2012; 13 с.*
191. Боднар Я. Я.; Файфура, В. В. *Патологічна Анатомія і Патологічна Фізіологія Людини: Підручник*; Укрмедкнига: Тернопіль, 2000; 494с.

192. Боднар, Я. Я.; Ваврух, П. О.; Ваврух, Г. П. Ультраструктурні Зміни Кардіоміоцитів При Кардіоміопатії Індукованої Введенням Цитостатиків. *Фундаментальні Дослідження* **2013**, *9*, с 810–815.
193. Боднарчук, Н. О.; Бура, М. В.; Санагурський Д. І. Транспортні Властивості Мембран за Дії Флурензиду та Його Похідних. *Біологія Тварин* **2011**, *13* (1–2), с 48–59.
194. Боднарчук, Н. О.; Мандзинець, С. М.; Петрух, Л. І.; Санагурський, Д. І. Стан Системи Антиоксидантного Захисту Зародків В'юна за Впливу Флурензиду. *Біологія Тварин* **2016**, *18* (2), с 9–17. <http://dx.doi.org/10.15407/animbio18.02.009>.
195. Бойко, А. І.; Шмуліченко, О. В.; Кравченко, М. І.; Горзов, А. А. Малоновий Діальдегід як Маркер Пошкодження Сечового Міхура у Пацієнтів із Інфравезикальною Обструкцією, Зумовленою Доброякісною Гіперплазією Передміхурової Залози. *Український Медичний Часопис* **2017**, *1* (117). <https://www.umj.com.ua/article/104675/malonovij-dialdegid-yak-marker-poshkozhdzhennya-sechovogo-mihura-u-patsiyentiv-iz-infravezikalnoyu-obstruktivnoyu-zumovlenoyu-dobroyakisnoyu-giperplaziyeyu-peredmihurovoyo-zalozhi>.
196. Брезвин, О. М. Фізико-Хімічні Методи Підтвердження Руйнування Т-2 Токсину Розчином Високочистого Натрію Гіпохлориту. *Наук.-Техн. Бюл. Ін-ту Біології Тварин та Держ. н.-д. Контрол. Ін-ту Ветпрепаратів та Корм. Додатків* **2012**, *13* (3/4), с 352–355.
197. Буко, І. В.; Полонецький, Л. З.; Мрочек, А. Г.; Мойсейонок, А. Г. Антиоксидантний Статус і Редокс-Потенціал Глутатіону Еритроцитів у Пацієнтів з Гострим Коронарним Синдромом. *Ukr. Biochem. J.* **2014**, *86* (3), с 114–124.
198. Булько, І. В. Структурні Зміни в Селезінці Щурів у Пізніх Стадіях Опікової Травми Після Корекції Інфузійним Розчином НАЕС-LX-5%. *Вісник Проблем Біології і Медицини* **2016**, *2*, *1* (128), с 360–363.
199. Бура, М. В. Вплив рН Середовища на Активність Na^+ , K^+ -АТФази В'юна *Misgurnus Fossilis* L. Впродовж Раннього Ембріогенезу. *Фізика Живого* **2009**, *17* (2), с 44–48.
200. Василенко, С. О.; Раєцька, Я. Б.; Степанов, Ю. В. Вплив Кверцетину на Стан Антиоксидантної Системи і Процесів ПОЛ При Експериментальній Моделі Геморагічного Інсульту у Щурів. *Фізика Живого* **2008**, *16* (1), с 116–119.
201. Васіна, Л. М.; Бевзо, В. В.; Ніколюк, І. Д. Вміст Продуктів Ліпопероксидації та Іонів Заліза (II) в Гомогенаті Селезінки Щурів у Процесі Росту Карциноми Герена й Дії Комплексного Фітопрепарату. *Клінічна та Експериментальна Патологія* **2006**, *1* (4), с 104–106.
202. Велика, А. Я. Залежність Показників Про- та Антиоксидантної Системи Нирок Щурів При Сулемовій Нефропатії за Умов Сольового

- Навантаження. *Вісник Проблем Біології і Медицини* **2014**, 3, 3 (112), с 81–83.
203. Велика, А. Я.; Пішак, В. П.; Мацьопа, І. В. Вплив Сольового Навантаження на Фоні Сулемової Нефропатії на Глутатіонпероксидазну Активність у Нирках Щурів. *Світ Медицини і Біології* **2012**, 3 (34), с 16–18.
204. Величенко, А. Б.; Гіренко, Д. В.; Лук'яненко, Т. В. Розчини Гіпохлориту Натрію для Медицини і Ветеринарії. *Питання Хімії і Хім. Технології* **2006**, 6, с 160–164.
205. Величенко, А. Б.; Лук'яненко, Т. В.; Плаксієнко, І. Л. Хімічний Склад і Стабільність Розчинів Гіпохлориту Натрію Медичного Призначення. *Питання Хімії і Хім. Технології* **2006**, 6, с 156–160.
206. Веремейчик, А. П. Особливості Процесів Перекисного Окислення Ліпідів і Антиоксидантної Системи у Хворих на Екзему на Фоні Лазеротерапії. *Медичний Журнал* **2006**, 2, с 29–31.
207. Вишницька, І. А.; Комаревцева, І. О.; Жерновая, М. Є.; Ткаченко, А. С.; Ярмиш, Н. В. Вплив "Полюлів" на Антиокислювальні Процеси При Тривалій Субтоксичній Дії в Підгострому Експерименті. *Український Журнал Екстремальної Медицини Імені Г. О.Можаєва* **2017**, 17, 1 (1/7), с 9–15.
208. Вікуліна, Г. В.; Тимошенко, О. П. Гістологічні Зміни Паренхіми Легень Поросят, Хворих на Неспецифічну Бронхопневмонію. *ВІСНИК Полтавської Державної Аграрної Академії* **2009**, 1, с 104–108.
209. Вітушинська, М.; Матійців, Н.; Черник, Я. Чутливість до Умов Оксидативного Стресу, Тривалість Життя та Нейродегенеративні Зміни в Структурі Мозку у Мутантів *Drosophila Melanogaster* за Генами Супероксиддисмутази. *Вісник Львівського Університету. Серія Біологічна* **2013**, 62, с 109–116.
210. Владика, А. С.; Суслов, В. В.; Тарабрін, О. А. Інфузійна Терапія При Критичних Станах; Логос: Київ, 2010; 274 с.
211. Водяницький, О.; Потрохов, О.; Зіньковський, О.; Причепка, М. Зміна Активності Na^+/K^+ -АТФ-ази в Ембріонах Коропових Риб за Дії Різного Температурного та Кисневого Режиму Водойм. *Вісник Львівського Університету. Серія Біологічна* **2017**, 75, с 14–22.
212. Володимирів, Ю. А.; Проскурніна, Є. В. Вільні Радикали і Клітинна Хемілюмінесценція. *Успіхи Біологічної Хімії* **2009**, 49, с 341–388.
213. Гайда, Л. М.; Дробінська, О. В.; Тимошенко, М. О.; Остапченко, Л. І. Активність Глутатіонзалежних Ферментів Парієтальних Клітин та Гепатоцитів за Умов Розвитку Експериментального Атрофічного Гастриту. *Фізика Живого* **2008**, 16 (1), с 144–148.
214. Галан, М. Б.; Целевич, М. В.; Тарновська, А. В.; Дика, М. В.; Санагурський, Д. І. Методичні Вказівки до Виконання Великого

Практикуму з Курсу «Біофізика». Частина 3; Видавничий Центр ЛНУ Імені Івана Франка: Львів, 2007; 57 с.

215. Гарасим, Н. П. Вільнорадикальні Процеси в Легені Птиці за Дії Гіпохлориту Натрію. *Біологічні Студії / Studia Biologica* **2015**, 9 (3–4), с 69–78. DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.0903.421>.

216. Гарасим, Н. П. Зміна Інтенсивності Вільнорадикальних Реакцій та Активності Ферментів Антиоксидантної Системи Клітин Селезінки Курей за Дії Гіпохлориту Натрію. *Вісник Львівського Університету. Серія Біологічна* **2014**, 68, с 244–254.

217. Гарасим, Н. П.; Бішко, О. І.; Зинь, А. Р.; Генега, А. Б.; Санагурський, Д. І. (Львівський Національний Університет Імені Івана Франка). Спосіб Моделювання Оксидативного Стресу у Щурів. Патент на Корисну Модель № 111832 Україна, МПК G09B23/28 (2006.01). Заявл. 26.04.2016. Опубл. 25.11.2016.

218. Гарасим, Н. П.; Бішко, О. І.; Мандзинець, С. М.; Санагурський, Д. І. Ультроструктурні Зміни Серцевого М'язу Щурів за Дії Гістаміну та Гіпохлориту Натрію. Матеріали VI З'їзду Українського Біофізичного товариства, Луцьк, травень 28–30, 2015; Луцьк: СНУ імені Лесі Українки, 2015; с 88–89.

219. Гарасим, Н. П.; Бішко, О. І.; Чижевська, О. М.; Санагурський, Д. І. Супероксиддисмутазна Активність в Селезінці Щурів за Дії Гістаміну та Гіпохлориту Натрію. *Актуальні Питання Біології та Медицини: Збірник Наукових Праць за Матеріалами XIV Міжрегіональної наукової Конференції, Старобільськ, грудень 22–23, 2016; Вид-во ДЗ «ЛНУ Імені Тараса Шевченка»: Старобільськ, 2017; с 64–65.*

220. Гарасим, Н. П.; Бішко-Москалюк, О. І.; Кулачковський, О. Р.; Луцик, М. В.; Санагурський, Д. І. Структурні Зміни Печінки Щурів за Дії Гістаміну та Гіпохлориту Натрію. *Вісник Проблем Біології і Медицини* **2017**, 4, 3 (141), с 292–304.

221. Гарасим, Н. П.; Бішко-Москалюк, О. І.; Кулачковський, О. Р.; Шумська, А. М.; Тарновська, А. В.; Галан, М. Б.; Санагурський, Д. І. Структурні Зміни Міокарда Щурів за Дії гістаміну та Гіпохлориту Натрію. *Вісник Львівського Університету. Серія Біологічна* **2018**, 79, с 162–175.

222. Гарасим, Н. П.; Бішко-Москалюк, О. І.; Мандзинець, С. М.; Отчич, В. П.; Берещак, О. О.; Чижевська, О. М.; Санагурський, Д. І. Вплив Гістаміну та Гіпохлориту Натрію на Вільнорадикальні Процеси в Селезінці Щурів. *Фізіологічний Журнал* **2018**, 64 (2), с 80–89. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz64.02.080>.

223. Гарасим, Н. П.; Бішко-Москалюк, О. І.; Санагурський, Д. І. Структурні Зміни Селезінки Щурів За Дії Гістаміну і Гіпохлориту Натрію. *Теорія Та Практика Сучасної Морфології*, Збірник Наукових Робіт Другої Всеукраїнської Науково-Практичної Конференції з Міжнародною Учасстю, Дніпро, Жовтень 10–12, 2018; Дніпро, 2018; с 34–40.

224. Гарасим, Н. П.; Бішко-Москалюк, О. І.; Шумська, А. М.; Санагурський, Д. І. Структурні Зміни у Нирках Щурів за Дії Гістаміну та Гіпохлориту Натрію. *Біологія Тварин* **2018**, 20 (2), с 30–42. DOI: <https://doi.org/10.15407/animbiol20.02.030>
225. Гарасим, Н. П.; Боднарчук, Н. О.; Санагурський, Д. І. Диспресійний Аналіз Впливу Гіпохлориту Натрію На Показники Прооксидантно-Антиоксидантного Стану Різних Органів Птиці. Матеріали Тематичного VII З'їзду Українського Біофізичного Товариства Приуроченого До Ювілейних Дат Всесвітньо Відомих Українських Вчених-Біофізиків: 100-річчю з Дня Народження Академіка П. Г. Богача, 90-річчю з Дня Народження Академіка М. Ф. Шуби, Київ, Жовтень 29–31, 2018; Київ, 2018; с 67.
226. Гарасим, Н. П.; Зинь, А. Р.; Безкоровайний, А. О.; Санагурський, Д. І. Глутатіон-S-Трансферзна Активність Зародків В'юна Впродовж Ембріогенезу за Дії Гіпохлориту Натрію. *Біологічні Студії / Studia Biologica* **2016**, 10 (2), с 23–32.
227. Гарасим, Н. П.; Коцюмбас, Г. І.; Санагурський, Д. І. Прооксидантно-Антиоксидантний Стан Сім'яників Півнів За Дії Гіпохлориту Натрію. *Сьогодення Біологічної Науки*, Матеріали II Міжнародної Наукової Конференції, Суми, Листопад 09–10, 2018; Суми, 2018; с 47–49.
228. Гарасим, Н. П.; Луцик, М. В.; Бішко, О. І.; Санагурський, Д. І. Морфометричний Аналіз Печінки Щурів за Дії Гістаміну та Гіпохлориту Натрію. *Теорія та Практика Сучасної Морфології*: Матеріали Науково-Практичної Конференції з Міжнародною Учасстю Присвяченої 100-річчю Дніпропетровської (Катеринославської) школи морфологів, Дніпро, жовтень 5–7, 2016; Дніпро, 2016; с 35–36.
229. Гарасим, Н.; Бішко-Москалюк, О.; Кулачковський, О.; Луцик, М.; Санагурський, Д. Структурні Зміни Легень Щурів за Дії Гістаміну та Гіпохлориту Натрію. *Вісник Львівського Університету. Серія Біологічна* **2018**, 77, с 16–30.
230. Гащшин, В. Р.; Пацула, О. І.; Терек, О. І. Вплив Іонів Цинку й Міді та Трептолему на Вміст Пероксиду Водню й Активність Каталази та Пероксидази Рослин *Brassica napus* L. *Укр. Ботан. Журн.* **2012**, 69 (5), с 743–750.
231. Генега, А. Б.; Мандзинець, С. М.; Бура, М. В.; Яремкевич, О. С.; Новіков, В. П.; Марінцова, Н. Г.; Санагурський, Д. І. Особливості Впливу Нових Амінокислотних Похідних 1,4-нафтохінону на Na^+ , K^+ -АТФ-азну Активність Зародків В'юна in vitro. *Біологічні Студії* **2010**, 4 (3), с 31–44.
232. Гиріна, О. М.; Карлова, О. О.; Брюзгіна, Т. С. Оцінка Ліпідних Показників Еритроцитів у Хворих з Метаболічним Синдромом. *Медична Хімія* **2007**, 9 (1), с 72–75.

233. Говта, Л. Загальний Механізм Патології. *Донецький Вісн. Наук. Тов-ва ім.Т. Шевченка* **2008**, *20*, с 6–24.
234. Головчак, Н. П. Вільнорадикальні Процеси в Серцевому М'язі Птиці за Дії Гіпохлориту Натрію. *Вісник Львівського Університету. Серія Біологічна* **2013**, *62*, с 29–37.
235. Головчак, Н. П.; Коцюмбас, Г. І.; Галан, М. Б.; Бойко, М. Я.; Санагурський, Д. І. Зміна Інтенсивності Ліпопероксидації й Активності Ферментів Системи Антиоксидантного Захисту у Тканині Нирок Птиці за Дії Гіпохлориту Натрію Різних Концентрацій. *Біологічні Студії / Studia Biologica* **2011**, *5* (1), с 77–84. DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.0501.124>
236. Головчак, Н. П.; Коцюмбас, Г. І.; Бішко, О. І.; Санагурський, Д. І. Прооксидантно-Антиоксидантний Гомеостаз Печінки Птиці за Дії Гіпохлориту Натрію Різних Концентрацій. *Фізика Живого* **2010**, *18* (2), с 146–152.
237. Головчак, Н. П.; Коцюмбас, Г. І.; Санагурський, Д. І. Зміна Активності Ключових Ферментів Системи Антиоксидантного Захисту Клітин Нирок за Впливу Гіпохлориту Натрію. Тези Доповідей V З'їзду Українського Біофізичного Товариства, Луцьк, червень 22–25, 2011; Луцьк, 2011; с 41.
238. Головчак, Н. П.; Тарновська, А. В.; Коцюмбас, Г. І.; Бішко, О. І.; Санагурський, Д.І. Зміна Активності Глутатіонпероксидази у Клітинах Печінки Курей за Дії Гіпохлориту Натрію. *Сучасні Проблеми і Шляхи їхнього Вирішення в Науці, Транспорті, Виробництві і Освіті '2010: Збірник Наукових Праць за Матеріалами Міжнародної Науково-Практичної Конференції, Том 33, Біологія, Геологія, Чорномор'я: Одеса, 2010; с 3–4.*
239. Головчак, Н. П.; Тарновська, А. В.; Коцюмбас, Г. І.; Санагурський, Д. І. *Процеси Перекисного Окиснення Ліпідів у Живих Організмах : Монографія; ЛНУ Імені Івана Франка: Львів, 2012; 250 с.*
240. Гопаненко, О. О. *Пероксидні Процеси та Ліпідний Склад Плазми Крові, Печінки й Скелетних М'язів Кролів за Гострого L-Аргінін-Індукованого Панкреатиту та Його Корекції. Дисертація на Здобуття Наукового Ступеня Кандидата Біологічних Наук за Спеціальністю 03.00.04 – Біохімія. Львів, 2016; 181 с.*
241. Горідько, Т. М.; Косякова, Г. В.; Бердишев, А. Г.; Базилянська, В. Р.; Маргітич, В. М.; Гула, Н. М. Вплив N-Стеароїлетаноламіну на Активність Ензимів Антиоксидантного Захисту та Вміст Стабільних Метаболітів по в Гонадах та Плазмі Крові Щурів із Початковими Стадіями Стрептозотоциніндукованого Цукрового Діабету. *Укр. Біохім. Журн.* **2012**, *84* (3), с 37–43.
242. Грабовецька, Є. Р.; Давидов, В. В. Активність Ензимів Утилізації Альдегідів в Серці Щурів Різного Віку При Імобілізаційному Стресі. *Укр. Біохім. Журн.* **2009**, *81* (1), с 99–104.

243. Гришков, І. А.; Козлов, І. В.; Харламова, Т. А. Гіпохлорит, Хлор, Розчин Суміші Оксидантів: Узагальнений Порівняльний Аналіз. *Інститут Електрохімічних Систем і Технологій* **1999**, 18 с.
244. Губський, Ю. І. *Біологічна Хімія*; Укрмедкнига: Київ-Тернопіль, 2000; 508 с.
245. Губський, Ю. І. *Смерть Клітини: Вільні Радикали, Некроз, Апоптоз : Монографія*; Нова Книга: Вінниця, 2015; 360 с.
246. Гулага, О. І.; Ташук, В. К.; Полянська, О. С. Процеси Ліпопероксидації у Хворих на Серцеву Недостатність. *Буковинський Медичний Вісник* **2010**, 14, 2 (54), с 122–124.
247. Данилович, Ю. В.; Карахім, С. О. Дія Нітрит-Аніонів і Пероксиду Водню на Поверхневі Властивості Плазматичної Мембрани Гладеньком'язових Клітин. *Укр. Біохім. Журн.* **2008**, 80 (5), с 52–61.
248. Дворщенко, К. О.; Савко, У. В.; Вакал, С. Є.; Годор, І. М.; Остапченко, Л. І. Структурно-Функціональний Стан Мітохондрій Печінки Щурів за Умов Виразкових Уражень Шлунка. *Фізика Живого* **2008**, 16 (2), с 112–115.
249. Дворщенко, К.; Савко, У.; Степанов, Ю. Активність Супероксиддисмутази та Каталази у Мітохондріях Загальної Фракції Клітин Слизової Оболонки Шлунка Щурів за Умов Експериментальної Виразки. *Вісн. Київ. Ун-ту. Сер. Біол.* **2010**, 56, с 24–25.
250. Денисенко, О. І. Окисна Модифікація Білків як Чинник Патогенезу Алергодерматозів. *Український Журнал Дерматології, Венерології, Косметології* **2004**, 1, с 23–26.
251. Деркач, М. П.; Гумецький, Р. Я.; Чабан, М. Є. *Курс Варіаційної Статистики*, Вища школа: К., 1977; 208 с.
252. Дрижак, В. І.; Бабанли, Ш. Р.; Домбрович, М. І.; Загурська, Н. О. Ефективність Детоксикаційної Терапії Хворих Онкологічного Профілю При Застосуванні Лазерного, Ультрафіолетового Опромінення, Непрямого Електрохімічного Окиснення Крові. *Онкологія* **2002**, 4 (4), с 281–284.
253. Дрижак, В. І.; Домбрович, М. І.; Загурська, Н. О.; Корицький, Г. І. *Ендотоксикоз в Клінічній Онкології*; Укрмедкнига: Тернопіль, 1999; 128 с.
254. Дробінська, О. В.; Гайда, Л. М.; Карпюк, О. С.; Остапченко, Л. І. Активність Глутатіон-S-Трансферази в Гепатоцитах та Парієтальних Клітинах Шлунка Щурів за Умов Розвитку Експериментального Атрофічного Гастриту. *Вчені Записки Таврійського Національного Університету Ім. В.І. Вернадського. Серія «Біологія, Хімія»* **2007**, 20 (59), 1, с 141–145.
255. Дубініна, Є. Є.; Пустигіна, А. В. Окисна Модифікація Протеїнів, її Роль При Патологічних Станах. *Укр. Біохім. Журн.* **2008**, 80 (6), с 5–18.
256. Дунаєвська, О. Ф. Морфологічні Зміни Селезінки Під Впливом Різноманітних Чинників. *Вісник Харківського Національного Університету Імені В.Н. Каразіна. Серія «Біологія»* **2016**, 27, с 1026–124.

257. Єлісеєва, О. П. *Вплив Низькомолекулярних Жирних Кислот C7-C9 на Енергетичні і Синтетичні Процеси в Організмі Тварин*. Автореф. Дис. Канд. Біол. Наук. Львів, 1996; 24 с.
258. Єлісеєва, О. П.; Семен, Х. О.; Черкас, А. П.; Камінський, Д. В. Сучасний Погляд на Механізми Виникнення Окисного Стресу у Патогенезі *Helicobacter pylori*-Асоційованих Хвороб Гастроудоденальної Зони. *Сучасна Гастроентерологія* **2008**, 1 (39), с 38–44.
259. Єфіменко, Н. В. NO-залежна Регуляція Морфофункціонального Стану Тромбоцитів та Еритроцитів Крові за Умов Алкогольної Інтоксикації // Дисертація на Здобуття Наукового Ступеня Доктора Філософії (Кандидата Біологічних Наук), 03.00.04 – Біохімія. Львів. 2017. 193 с.
260. Жаріков, М. Ю. Тканинні Базофіли Серця Людини в Нормі (Огляд Літератури). *Український Морфологічний Альманах* **2013**, 11 (3), с 96–99.
261. Загоруйко, Г. Е.; Загоруйко, Ю. В. Вікові Зміни Розмірів і Числа Кардіоміоцитів, їх Ядер в Процесі Пренатального і Раннього Постнатального Розвитку Серця Щурів. *Вісник Проблем Біології і Медицини* **2017**, 4, 3 (141), с 304–311.
262. Зайковський, В. В.; Лужніков, Є. А.; Суходолова, Г. Н.; Петров, С. І.; Кличникова, Є. В.; Александрівський, В. Н.; Федорова, Н. В.; Саркісов, С. А.; Єлькова, А. Н. Застосування Гіпохлориту Натрію в Терапії Алкогольного Абстинентного Синдрому При Гострих Отруєннях Етанолом. *Токсикологічний Вісник* **2010**, 2, с 10–16.
263. Заславський, Д. В.; Абдусалям, А. А.; Сидиків, А. А. Профілактика і Комплексне Лікування Атопічного Дерматиту у Дітей. *Лікуючий Лікар* **2015**, 6, с 48–56.
264. Зацерковний, В. І.; Бурачек, В. Г.; Железняк, О. О.; Терещенко, А. О. *Геоінформаційні Системи і Бази Даних : Монографія*, Кн. 2; НДУ Ім. М. Гоголя: Ніжин, 2017; 237 с.
265. Землянський, Н. Г.; Бабійчук, Л. А.; Нікольченко, А. Ю.; Тягилова, В. П. Кінетичні Характеристика Ca²⁺-АТФази Еритроцитів в Присутності ПЕО-1500. *Проблеми Кріобіології* **2003**, 4, с 28–34.
266. Зинь, А. Прооксидантно-Антиоксидантний Гомеостаз і Мембранний Транспорт у Живих Організмах. *Вісник Львівського ун-ту. Серія Біологічна* **2012**, 60, с 21–39.
267. Зинь, А. Р.; Безкоровайний, А. О.; Гарасим, Н. П.; Кулачковський, О. Р.; Санагурський Д. І. Морфологічні й Ультраструктурні Зміни у Зародках В'юна Впродовж Ембріогенезу та за Дії Гіпохлориту Натрію. *Вісник Львівського Університету. Серія Біологічна* **2014**, 67, с 18–28.
268. Зинь, А. Р.; Головачук, Н. П.; Мандзинець, С. М.; Бура, М. В.; Санагурський, Д. І. Вивчення Механізмів Впливу Гіпохлориту Натрію на Розвиток Холоднокровних Протягом Раннього Ембріогенезу. Тези

Доповідей V З'їзду Українського Біофізичного Товариства, Луцьк, червень 22–25, 2011; Луцьк, 2011; с 62.

269. Зинь, А. Р.; Головчак, Н. П.; Мандзинець, С. М.; Бура, М. В.; Санагурський, Д. І. Сумарна Активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази Мембран Зародків В'юна Упродовж Раннього Ембріогенезу за Дії Гіпохлориту Натрію. *Експериментальна та Клінічна Фізіологія і Біохімія* **2012**, 2, с 39–44.

270. Зинь, А. Р.; Головчак, Н. П. (Гарасим Н. П.); Санагурський, Д. І. Окисна Модифікація Білків у Зародках В'юна *Misgurnus Fossilis*. L. Упродовж Ембріогенезу за Дії Гіпохлориту Натрію. *Вісник Львівського Ун-ту. Серія Біологічна*. **2013**, 61, с 11–19.

271. Зинь, А. Р.; Головчак, Н. П.; Санагурський, Д. І. Активність Глутатіон-S-Трансферази Зародків В'юна *Misgurnus Fossilis* L. На Протязі Раннього Ембріогенезу Під Дією Гіпохлориту Натрію. *Окисний Стрес і Вільнорадикальні Патології* : Тези Доповідей Восьмої Міжнародної Кримської Конференції, Судак, Крим, Україна, вересень 22–28, 2012; Судак, 2012; с. 28.

272. Зинь, А. Р.; Головчак, Н. П.; Тарновська, А. В.; Галан, М. Б.; Санагурський, Д. І. Вплив Гіпохлориту Натрію на Прооксидантно-Антиоксидантний Гомеостаз Зародків В'юна Протягом Раннього Ембріогенезу. *Біологічні Студії / Studia Biologica* **2012**, 6 (1), с 67–76. DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.0601.196>.

273. Зинь, А. Р.; Мандзинець, С. М.; Головчак, Н. П.; Бура, М. В.; Санагурський, Д. І. Активність Na^+ , K^+ -АТФази Мембран Зародків В'юна Впродовж Раннього Ембріогенезу за Дії Гіпохлориту Натрію. *Біологічні Студії / Studia Biologica* **2011**, 5 (3), с 59–66. DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.0503.163>.

274. Знак, З. О. Дослідження Процесу Очищення Стоків ВАТ “КАРПАТНАФТОХІМ” Розчинами Натрію Гіпохлориту Потенціометричним Методом. *Вісник Національного Університету Львівська Політехніка. Хімія, Технологія Речовин та їх Застосування* **2012**, 726, с 20–25.

275. Знак, З. О.; Гнатишин, Н. М. Дослідження Взаємодії Натрію Гіпохлориту з Олефінами у Кавітаційних Полях. *Східно-Європейський Журнал Передових Технологій* **2015**, 2/6 (74), с 49–54.

276. Зубченко, С.; Мазур, М.; Юр'єв, С.; Маруняк, С. Синдром Низької Толерантності до Гістаміну: Значення Для Практичної Медицини. *Праці НТШ. Медичні Науки* **2017**, XLVII, с 34–40.

277. Івашків, Л.; Гумецький, Р.; Санагурський, Д. Часові Співвідношення Динаміки Метаболічних і Біоелектричних Характеристик Раннього Ембріогенезу В'юна та Шпорцевої Жаби. *Вісник Львівського Університету. Серія Біологічна* **2002**, 29, с 15–24.

278. Іващенко, В. В.; Данилків, А. П.; Голованов, С. А.; Кірпатовський, В. І.; Кучерявий, Ю. В.; Дріжджева, В. В. Гіпохлорит Натрію в Концентруючій Функції Канальців. *Експериментальна і Клінічна Урологія* **2010**, 3, с 12–20.
279. Ігнатенко, І. А. *Біологія Індивідуального Розвитку: Навч. Посіб. Для Студентів Денної та Заочної Форми Навчання Спеціальності 6.070402 – Біологія*; ПП. «Дар-Гранд»: Черкаси, 2011; 123 с.
280. Ілларіонов, М. Ю. Біохімічні Процеси, що Лежать в Основі Вільнорадикального Окислення, Механізми Антирадикального Захисту, Оцінка їх Ефективності у Онкологічних Хворих. *I-medic*. <http://i-medic.com.ua/>.
281. Калінін, І.; Цудзевич, Б. Активність Глутатіонзалежних Ферментів Крові Щурів за Умов Інтоксикації Важкими Металами. *Вісник Київського Національного Університету Імені Тараса Шевченка* **2011**, 14, с 23–24.
282. Канюка, О. П.; Філяк, Є. З.; Сибірна, Н. О. Особливості Структурно-Функціональної Організації Мембран Еритроцитів Мишей Дикого Типу та Мишей із Нокаутом Гена РТТГ. *Біологічні Студії / Studia Biologica* **2011**, 5 (1), с 97–104.
283. Клименко, О. Ю.; Гассо, В. Я. Інтенсивність Процесів Перекісного Окислення Ліпідів у Прудкої Ящірки з Екосистем Різного Рівня Трансформації. *Біорізноманіття та Роль Тварин в Екосистемах: Матеріали VI Міжнародної Наукової Конференції, Дніпропетровськ, 2011; Вид-во ДНУ: Дніпропетровськ, 2011; с 292–294.*
284. Климчук, В. О. Факторний Аналіз: Використання у Психологічних Дослідженнях. *Практична Психологія та Соціальна Робота* **2006**, 8, с 43–48.
285. Ковалишин, М. В. *Активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази Різних Ультраструктур Клітин Нейрона в Умовах Генералізованого Тромбіногенезу*. Дисертація на Здобуття Вченого Ступеня Кандидата Біологічних Наук за Спеціальністю 14.00.17 – Нормальна Фізіологія. 1984, Львів; 199 с. <http://www.dissercat.com/content/aktivnost-na-k-atf-azy-razlichnykh-ultrastruktur-kletok-nefrona-v-usloviyakh-generalizovanno>.
286. Коваль, Т. В.; Овчарук, О. В. Біохімія Тварин : Навчальний Посібник [Навч. Посіб. Для Студентів за Напрямами «Технологія Виробництва і Переробки Продукції Тваринництва» і «Ветеринарна Медицина»]; Видавець ПП Зволейко Д.Г.: Кам'янець-Подільський, 2016; 440 с.
287. Колісник, М. І.; Колісник, Г. В.; Нідзюлка, Є.; Влізло, В. В. Активні Форми Кисню та їх Роль у Метаболізмі Клітин. *Біологія Тварин* **2009**, 11 (1/2), с 59–70.
288. Коломієць, О. В.; Данилович, Ю. В.; Данилович, Г. В.; Костерін, С. О. Шляхи та Механізми Трансмембранного Обміну Ca^{2+} в Мітохондріях. *Фізіологічний Журнал* **2017**, 63 (4), с. 87–104.

289. Комаренко, А.; Терехов, А.; Воробйова, А. Дослідження Ролі Н1-Рецепторів у Реакціях Ворітних Судин Печінки Щурів на Гістамін. *Черк. Нац. Ун-т ім. Б. Омеляницького. Сер. Біол.* **2008**, 128, с 54–58.
290. Король, Т. В. Мембранні Системи Транспорту Катіонів Ca^{2+} у Секреторних Клітинах Слинної Залози Личинки *Chironomus plumosus* L. *Науковий Вісник ЛНУВМБТ Імені С. З. Гжицького* **2010**, 12, 2 (44), 2, с 134–137.
291. Костюк, В. А.; Потапович, А. И.; Ковалова, Ж. М. Простий і Чутливий Метод Визначення СОД, Заснований на Реакції Окислення Кверцитину. *Питання Медичної Хімії* **1990**, 36 (2), с 88–91.
292. Коцюмбас, Г. І. *Морфофункціональні Зміни у Головному Мозку Щурів, Поросят і Курей за Експериментального Т-2 Токсикозу та Впливу Розчинів Натрію Гіпохлориту*. Дисертація на Здобуття Наукового Ступеня Доктора Ветеринарних Наук. Біла Церква 2008, 46 с.
293. Коцюмбас, Г. І.; Прицак, В. В.; Щебенцовська, О. М. Гістологічна та Ультроструктурна Характеристика Тестикулів Півнів При Випоюванні Різних Концентрацій Високочистого Розчину Натрію Гіпохлориту. *Наукові Праці Полтавської Державної Аграрної Академії. Серія: Ветеринарна Медицина* **2011**, 2, с 48–56.
294. Коцюмбас, Г. І.; Тесарівська, У. І.; Гуменецька, М. І.; Шумська, М. І. Гематологічні Показники та Морфологічна Характеристика Селезінки Самок Щурів F1 за Дії Наногерманію Цитрату, Застосованого у Різних Дозах. *Науковий Вісник ЛНУВМБТ Імені С. З. Гжицького* **2017**, 19 (77), с 45–50.
295. Коцюмбас, Г. І.; Щебенцовська, Г. І. Вплив Гіпохлориту Натрію на Структурно-Функціональний Стан Селезінки Щурів на Фоні Експериментального Т-2 Токсикозу. *Вісник Дніпропетр. Держ. Аграр. Ун-ту* **2005**, 2, с 255–258.
296. Коцюмбас, І. Я. Т-2 Токсикоз Птиці: Метод. Рекомендації; Тріада плюс: К., 2004; 13 с.
297. Коцюмбас, І. Я.; Веліченко, О. Б.; Коцюмбас, Г. І.; Ніколенко, М. В.; Головач, Н. П. Перспективи Застосування Гіпохлоритів у Ветеринарній Медицині: Монографія / Державний Комітет Ветеринарної Медицини України; Державний Науково-Дослідний Контрольний Інститут Ветпрепаратів та Корм. Добавок; ТзОВ ВФ «Афіша»: Л., 2009; 312 с.
298. Крамаренко, Л. В. Конспект Лекцій з Дисципліни «Спецкурс з Очистки Природних Вод». Хар. Нац. Акад. Міськ. Госп-ва; ХНАМГ: Х., 2010; 122 с.
299. Курик, Л. М. Фізико-Хімічні Аспекти Синглетно-Кисневої Терапії у Лікуванні Патологічних Процесів. *Український Пульмонологічний Журнал* **2006**, 1, с 66–68.

300. Кушнір, Г. В. Активність Ферментів Сироватки Крові за Умови Застосування Септоксу При Хронічному Т-2 Токсикозі Щурів. *Ветеринарна Біотехнологія* **2008**, 13 (2), с 111–117.
301. Кушнір, Г. В. Фармакологічна Дія Високочистого Натрію Гіпохлориту на Організм Тварин за Хронічного Т-2 Токсикозу. Автореферат Дисертації на Здобуття Наукового Ступеня Кандидата Ветеринарних Наук за Спеціальністю 16.00.04 – Ветеринарна Фармакологія та Токсикологія, 2009, Львів; 21 с.
302. Лавришин, Ю. Ю.; Вархоляк, І. С.; Мартишук, Т. В.; Гута, З. А.; Іванків, Л. Б.; Паладійчук, О. Р.; Мурська, С. Д.; Гутий, Б. В.; Гуфрій, Д. Ф. Біологічне Значення Системи Антиоксидантного Захисту Організму Тварин. *Науковий Вісник ЛНУВМБТ Імені С. З. Гжицького* **2016**, 18, 2 (66), с 100–111.
303. Лупан, І. В.; Авраменко, О. В. Комп'ютерні Статистичні Пакети: Навчально-Методичний Посібник; Кіровоград, 2010; 218 с.
304. Луцик, М. Д.; Кусень, С. І.; Лук'яненко, А. В. Очистка і Часткова Характеристика Плазматичних Мембран Клітин Зародків В'юна. *Онтогенез* **1986**, 17 (3), с 314–321.
305. Мазур, В.; Здвіжков, Ю.; Мандзинець, С.; Бура, М.; Заїченко, О. Процеси Перекисного Окиснення Ліпідів у Зародках В'юна за Дії Похідного Поліетиленгліколю. *Вісник Львівського Університету. Серія Біологічна* **2017**, 76, с 15–22.
306. Мазуркевич, А. Й.; Карповський, В. І.; Камбур, М. Д. Фізіологія Тварин: Підручник, Видання Друге; Нова Книга: Вінниця, 2012; 424 с.
307. Макачук, В. А.; Ушакова, Г. О.; Крилова, О. О. Системи Глутатіону Крові Щурів та Морфологічні Зміни Підшлункової Залози в Умовах Експериментального Гострого та Хронічного Панкреатиту. *Укр. Біохім. Журн.* **2013**, 85 (1), с 71–78.
308. Мальцева, Л. А.; Усенко, Л. В.; Мосенцев, Н. Ф. Вплив Непрямого Електрохімічного Окислення Крові на Кінетику Медіаторів Запалення у Септичних Хворих з Поліорганною Недостатністю. *Вісн. Інтенсивної Терапії* **2000**, 1, с 25–28.
309. Мандзинець, С. М.; Кулачковський, О. Р.; Бура, М. В. Зміни Ультраструктурної Організації Клітин Зародків В'юна за Умов Впливу Авермектину. *Цитологія і Генетика* **2011**, 5, с 58–64.
310. Мартишук, Т. В. Вплив Оксидатійного Стресу на Систему Антиоксидантного Захисту Організму Щурів. *Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Med.* **2016**, 7 (1), с 8–12.
311. Марушко, Ю. В.; Московенко, О. Д. Синдром Непереносимості Гістаміну у Дітей. *Сучасна Педіатрія* **2016**, 7 (79), с 60–64.
312. Масляк, Г. С.; Костюк, О. В.; Мінченко, Д. О.; Бразалук, О. З.; Шевцова, А. І.; Мінченко, О. Г. Сіальованість Глікопротеїнів і Рівень

- Експресії Нейрамінідази NEU1 та Сіалілтрансферази ST6GAL1 у Лімфоцитах Хворих на Еритремію. *Фізіол. журн.* **2014**, 60 (5), с 14–22.
313. Мацьопа, І. В.; Григорєва, Н. П.; Мещишен, І. Ф. Адаптація Антиоксидантної Системи Нирок Щурів до Різних Світлових Режимів за Інтотоксикації Тетрахлорметаном та Дії Мелатоніну. *Український Біохімічний Журнал* **2010**, 82 (2), с 75–84.
314. Мельник, Н. А. Характеристика Процесів Перекисного Окиснення Ліпідів та Антиоксидантного Захисту в Організмі Щурів При Впливі Мікро- і Наночастинок Неорганічних Сполук Свинцю на Непошкоджену Шкіру. *Український Журнал з Проблем Медицини Праці* **2016**, 4 (49), с 58–65.
315. Мельник, О. В.; Личковська, Н. Є.; Корнійчук, О. П.; Воробець, З. Д. АТФ-Гідролазні Активності Лімфоцитів Периферичної Крові у Хворих на Реактивний Артрит. *Буковинський Медичний Вісник* **2012**, 16, 3 (63), 1, с 50–53.
316. Мещишен, І. Ф.; Польовий, В. П. Механізм Окиснювальної Модифікації Білків. *Бук. Мед. Вісник* **1999**, 3 (1), с 196–205.
317. Мороз, В. В.; Голубів, А. М.; Афанасів, А. В.; Кузов, А. Н.; Сергун, В. А. Будова і Функція Еритроциту в Нормі і За Критичних Станів. *Загальна Реаніматологія* **2012**, 8 (1), С 52–60.
318. Морозенко, Д. В.; Леонтєва, Ф. С. Методи Дослідження Маркерів Метаболізму Сполучної Тканини у Сучасній Клінічній та Експериментальній Медицині. *Молодий Вчений* **2016**, 2 (29), с 168–172.
319. Морозов, І. А. Патогенетичні Аспекти Холестерозу Жовчного Міхура. *Доказова Гастроентерологія* **2014**, 3 (1), с 3–14.
320. Мукалов, І. О.; Гойда, О. А.; Кусень, С. І. Перекисне Окислення Ліпідів на Ранніх Етапах Розвитку В'юна. *Український Біохімічний Журнал* **1980**, 52 (4), с 473–477.
321. Наумова, О. А. Синдром Низької Толерантності до Гістаміну. *Дитячий Лікар* **2013**, 3 (24), с 44–50.
322. Некрасов, Е. В. Методи Аналізу Перекисного Окислення Ліпідів в Медико-Біологічних Дослідженнях. *Бюлетень* **2012**, 46, с 98–108.
323. Нестерова, Л. А.; Смурова, Е. А.; Манухін, Б. Н. Характеристика Зв'язування Специфічного Блокатора [³H]-Хінуклідинілбензилату М-Холінорецепторами Мембран Кори Мозку Щурів. *Доповіді Академії Наук* **1995**, 343 (2), с 268–271.
324. Нетроніна, О. В. Вільні та Зв'язані Форми Сіалових Кислот у Плазмі Крові Хворих на Хронічний Лімфолейкоз. *Вісник Дніпропетровського Університету. Біологія, Медицина* **2015**, 6 (2), с 108–112.
325. Нетюхайло, Л. Г.; Харченко, С. В. Активні Форми Кисню (Огляд Літератури). *Young Scientist* **2014**, 9 (12), с 131–135.

326. Нікітченко, Ю. В.; Падалко, В. І.; Ткаченко, В. М.; Шеремет, Г. О.; Товстяк, В. В. Активність Глутатіонзалежної Антиоксидантної Системи Печінки і Крові Щурів Залежно Від γ -Опромінення та Раціону Харчування. *Укр. Біохім. Журн.* **2008**, 80 (6), с 66–73.
327. Ніколаєва, О. В.; Шевченко, О. М.; Павлова, О. О. Патофізіологія Нирок : Метод. Вказ. з Дисципліни "Патологічна Фізіологія" Для Студентів-Бакалаврів (Спеціальність "Сестринська Справа"); ХНМУ: Харків, 2016; 16 с.
328. Огоновський, Р. З. Функціональний Стан Прооксидантної та Антиоксидантної Систем Дермальних Тканин Експериментальних Тварин в Динаміці Розвитку Гострої Адреналінової Міокардіодистрофії. *Експериментальна та Клінічна Фізіологія і Біохімія* **2010**, 2, с 17–24.
329. Олексюк, Н. П.; Янович, В. Г. Активність Про- і Антиоксидантних Систем у Печінці Прісноводних Риб у Різні Пори Року. *Укр. біохім. журн.* **2010**, 82 (3), с 41–48.
330. Олійник, С. А.; Козеренко, О. Л. Окисний Стрес за Гіпоксичних Станів: Огляд Наукової Літератури. *Вісник Проблем Біології і Медицини* **2010**, 1, с 15–21.
331. Особа, І. А. Біологічна Роль Перекисного Окиснення Ліпідів у Забезпеченні Функціонування Організму Риб. *Рибогосподарська Наука України* **2013**, 1, с 87–96.
332. Остапченко, Л. І.; Михайлик, І. В. *Біологічні Мембрани: Методи Дослідження Структури та Функцій: Навчальний Посібник*; Видавничо-Поліграфічний Центр "Київський Університет": К., 2006; 215 с.
333. Отчич, О. О.; Мажак, К. Д.; Санагурський, Д. І. Дія Комплексної Озоно- і Лазеротерапії на Прооксидантно-Антиоксидантну Рівновагу у Крові Хворих на Туберкульоз Легень в Інтенсивній Фазі Хіміотерапії. *Біологічні Студії / Studia Biologica* **2014**, 8 (2), с 91–100.
334. Пасієшвілі, Н. М. Оптимізація Лікування Сечових Інфекцій у Вагітних. *Медицина Невідкладних Станів* **2013**, 5 (52). <http://www.mif-ua.com/archive/article/36782>.
335. Петренко, Н. Ф. Побічні Продукти Знезараження Питної Води Хімічними Окислювачами (Огляд Літератури та Власних Досліджень). *Вода: Гігієна і Екологія* **2013**, 1 (1), с 158–177.
336. Пикалюк, В. С.; Османов, А. Ю. *Онто-, Філогенез Органів і Систем*; Сімферополь, 2011; 312 с.
337. Погорецька, Я. О. *Фізіологія Видільної Системи. Методичні Вказівки для Студентів Мед. Ф-ту.*; Львівський Національний Медичний Університет Імені Данила Галицького: Львів, 2017; 40 с.
338. Покотило, П. Б.; Логаш, М. В.; Покотило, В. П.; Кривко, Ю. Я. Особливості Будови Міокарду та Його Судинного Руслу у Білих Щурів на Ранніх Термінах (7–14 Доби) Перебігу Експериментальної Опіюїдної Інтотоксикації. *Галицький Лікарський Вісник* **2015**, 22 (3), 2, с 50–53.

339. Поліщук, С. А. Окиснювальна Модифікація Білків Сперми Кнурів-Плідників. *Збірник Наукових Праць ВНАУ. Сучасні Проблеми Селекції, Розведення та Гігієни Тварин* **2011**, 10 (50), с 97–103.
340. Попова, Е. М.; Кошій, І. В. Ліпіди як Компонент Адаптації Риб до Екологічного Стресу. *Рибогосподарська Наука України* **2007**, 1, с 49–56.
341. Приступок, О. М. Пластичність Еритроцитів і Чинники Серцево-Судинного Ризику у Хворих на Цукровий Діабет 2-го Типу. *Клінічна Ендокринологія та Ендокринна Хірургія* **2013**, 3 (44), с 47–50.
342. Рахметов, А. Д.; Кот, Л. І.; Богданова, О. В.; Остапченко, Л. І.; Цудзевич, Б. О. Функціонування Ферментів Антиоксидантного Захисту в Клітинах Тимусу та Селезінки Щурів за Умов Стрес-Індукованих Уражень Шлунка При Введенні Інгібітора Протонної Помпи. *Фізика Живого* **2009**, 17 (2), с 130–135.
343. Регеда, М. С.; Регеда, М. М.; Фурдичко, Л. О.; Колішецька, М. А.; Мироненко, С. І. *Бронхіальна Астма. Монографія*. Вид. П'яте, Доп. та Перер.; Львів, 2012; 147 с.
344. Ромакін, В. В. Комп'ютерний Аналіз Даних: Навчальний Посібник з Дисципліни “Інформатика-2”; Видавництво МДГУ ім. Петра Могили: Миколаїв, 2006; 200 с.
345. Русінчук, Я. І.; Коржов, В. І.; Ліскіна, І. В.; Мельник, О. О. Біохімічні та Фізіологічні Зміни в Крові При Експериментальній Емфіземі. *Здобутки Клінічної і Експериментальної Медицини* **2016**, 3, с 65–67.
346. Сабадашка, М. В. Дія Концентрату Поліфенольного Комплексу з Виноградного Вина за Радіоіндукованого Оксидативнонітративного Стресу // Дисертація на Здобуття Наукового Ступеня Кандидата Біологічних Наук, 03.00.04 – Біохімія. Львів, 2014. 160 с.
347. Савінайнен, Л. П.; Дробінська, О. В.; Остапченко, Л. І.; Булавка, А. В. Вплив Комплексів «Green Mix, Green Pro – Grinization» на Процеси Перекисного Окиснення Ліпідів та Стан Антиоксидантної Системи в Гепатоцитах Щурів за Умов Експериментального Токсичного Гепатиту. *Фізика живого* **2007**, 15 (2), с 54–60.
348. Салах, Атамнах; Бондзик, О. В.; Слободяник, Л. О.; Весельський, С. П.; Решетнік, Є. М.; Янчук, П. І. Вплив Гістаміну на Екскрецію Білірубіну Печінкою Щурів. *Вісник Черкаського Університету. Серія «Біологічні Науки»* **2013**, 2 (255), с 99–103.
349. Салига, Н.; Салига, Ю. Вплив L-Глутамінової Кислоти на Активність Ензимів Метаболізму Глутатіону та Інтенсивність Пероксидних Процесів у Щурів. *Вісник Львівського Університет. Серія Біологічна* **2013**, 62, с 61–67.
350. Самосюк, І. З.; Фисенко, Л. І. *Синглетно-Киснева Терапія*; Медінтех: Київ, 2007; 228 с.
351. Санагурський, Д. І. Об'єкти Біофізики: Монографія; Видавничий Центр ЛНУ Імені Івана Франка: Львів, 2008; 522 с.

352. Світлична-Кулак, Ю. С. Профілактика Оксидативного Стресу і Корекція Антиоксидантного Захисту Птиці за Отруєння Невермом. *Біологія Тварин* **2016**, 18 (1), с 126–130.
353. Семенюк, Г. Д.; Мельничук, Г. М.; Ерстенюк, Г. М. Стан Інтенсивності Окиснювальної Модифікації Білків та Активності Антиоксидантних Ферментів у Ротовій Рідині Хворих на Генералізований Пародонтит. *Архів Клінічної Медицини* **2013**, 2 (19), с 68–71.
354. Сергієнко, В. І.; Мартинів, А. К.; Василів, Ю. Б. Непряме Електрохімічне Окислення з Використанням Переносників Активного Кисню в Моделюванні Детоксифікуючої Функції Печінки. *Питання Медичної Хімії* **1990**, 3, с 28–32.
355. Сердюк, А. М. *Актуальні Питання Захисту Довкілля та Здоров'я Населення України. Випуск 3 (Результати Наукових Розробок 2016 р.)*; «Рекламне Агентство TR Studio»: Київ, 2017; 316 с.
356. Сибірна, Н. О.; Маєвська, О. М.; Барська, М. Л. *Дослідження Окремих Біохімічних Показників за Умов Оксидативного Стресу: Навчально-Методичний Посібник*. Видавничий Центр ЛНУ Імені Франка: Львів, 2006; 60 с.
357. Симон, М. Ю. Вплив Пекарських Дріжджів на Інтенсивність Окисних Процесів в Печінці у Молоді Осетра (*Acipenser Guldenstaedtii*). *Таврійський Науковий Вісник* **2017**, 97, с 265–271.
358. Склярів, О. Гістамін у Шлунку: Минуле, Сьогодні і Майбутнє. *Праці НТШ. Медичні Науки* **2017**, XLVII, с 28–33.
359. Склярів, О. Я. *Клінічна Біохімія: Підручник*; Медицина: К., 2006; 432 с.
360. Слончак, А. М.; Оболенська, М. Ю. Структура і Функції Глутатіон-S-Трансферази P1-1. *Укр. Біохім. Журн.* **2009**, 81 (1), с 5–13.
361. Смоляр, В. І. Токсичні Ефекти Окислених Жирів. *Сучасні Проблеми Токсикології* **2001**, 4. http://medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2001/01_4_9.htm.
362. Снігир, Н. В.; Сірик, В. О.; Одинець, М. О. Фізіологія Дихання: Практичне Значення. *Мистецтво Лікування* **2017**, 8 (144), с 21–24.
363. Сокрут, В. М.; Поважна, О. С.; Глущенко, А. Л.; Бахтєєва, Т. Д.; Черний, В. І.; Климовицький, В. Г.; Швиренко, І. Р.; Попов, В. М.; Смирнова, Н. М.; Сокрут, М. В.; Бешуля, О. О. *Спортивна Медицина: Підручник Для Студентів і Лікарів*; «Каштан»: Донецьк, 2013; 472 с.
364. Солопова, Х. Я. Стан Антиоксидантної й Імунної Систем у Коропів, Уражених Аеромонозом і Сапролегніозом, та їх Лікування // Дисертація на Здобуття Наукового Ступеня Кандидата Ветеринарних Наук, 03.00.04 – Біохімія Ветеринарні Науки. Львів, 2021. 200 с.
365. Степанський, Д. А.; Кременчуцький, Г. М.; Кошова, І. П.; Торопін, Н. В.; Торопін, В. Н. Дослідження Антимікробних Властивостей Розчину

Натрію Гіпохлориту і Таурину. *BIOMEDICAL AND BIOSOCIAL ANTHROPOLOGY* **2014**, 22, с 79–82.

366. Стеценко, С. О.; Бондарева, А. Сучасні Біохімічні Аспекти Системи Знешкодження Ксенобіотиків (Огляд Літератури). *Український Журнал Медицини, Біології та Спорту* **2018**, 3 (3, 12), с 214–220.

367. Стойка, Р. С. Нові Механізми у Дії Екстремальних Чинників: Роль Трансформуючого Фактора Росту Бета-Типу. *Біологічні Студії / Studia Biologica* **2008**, 2 (1), с 3–20.

368. Струс, Х. І.; Ященко, А. М.; Смолькова, О. В. Глікокон'югати Тканинних Базофілів та їх Кількісне Співвідношення у Шкірі Потомства Щурів в Нормі та за Умов Експериментального Гіпотиреозу у Віковому Аспекті. *Світ Медицини та Біології* **2013**, 2, с 87–91.

369. Струтинська, Н. А.; Коцюрuba, А. В.; Будько, А. Ю.; Мись, Л. А.; Сагач, В. Ф. Порушення Функціонування Мітохондрій у Серці При Старінні Супроводжується Неспряженням Конститутивних NO-Синтаз на Тлі Оксидативного та Нітрозативного Стресу. *Фізіол. Журн.* **2016**, 62 (2), с 3–11.

370. Тарновська, А.; Смалюх, Г.; Санагурський, Д. Інтенсивність Процесів Ліпопероксидації у Зародках В'юна (*Misgurnus Fossilis* L.) Під Впливом Катіонів Кальцію, Магнію та Антибіотиків Класу Фторхінолонів. *Вісник Львівського Ун-ту. Серія Біологічна* **2003**, 34, с 19–25.

371. Тимочко, М. Ф.; Єлісеєва, О. П.; Кобилінська, Л. І.; Тимочко, І. Ф. *Метаболічні Аспекти Формування Кисневого Гомеостазу в Екстремальних Умовах*; Львів, 1998; 140 с.

372. Тимошенко, М.; Гайда, Л.; Кравченко, О.; Остапченко, Л. Вміст Різних Форм Глутатіону та Активність Глутатіонредуктази в Клітинах Слизової Оболонки Шлунка за Умов Експериментального Гастроканцерогенезу. *Вісник Київського Національного Університету Імені Тараса Шевченка. Біологія* **2012**, 61, с 34–36.

373. Томчук, В. А.; Грищенко, В. А. Метод Головних Компонентів у Проведенні Порівняльної Оцінки Ефективності Застосування Фосфоліпидовмісних Препаратів При Експериментальному Гепатиті. *Біологія Тварин* **2012**, 14 (1–2), с 682–686. http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2012_14_1-2_115.

374. Торгалo, Є. О.; Раєцька, Я. Б.; Богданова, О. В. Особливості Процесів Вільнорадикального Окиснення Ліпідів за Умов Експериментального Геморагічного Інсульту, а Також Вивчення Дії Антиоксидантних Препаратів. *Фізика Живого* **2009**, 17 (1), с 155–158.

375. Трохимович, А. А.; Кишко, М. М.; Сливка, Я. І.; Ганич, О. Т. Вільнорадикальне Окиснення і Антиоксидантна Система в Серцево-Судинній Патології. *Науковий Вісник Ужгородського Університету, Серія «Медицина»* **2011**, 2 (41), с 361–364.

376. Тяжка, О. В.; Загородня, Я. М. Стан Перекисного Окислення Ліпідів та Антиоксидантної Системи у Дітей Різного Віку. *Перинатологія і Педіатрія* **2016**, 2 (66), с 101–105.
377. Улько, Л. Г. Перспективи Застосування Детоксикаційної Терапії за Внутрішньої Патології Тварин. *Науковий Вісник Ветеринарної Медицини* **2010**, 5 (78), с 192–195.
378. Урвант, Л. П.; Паталах, І. І. Дисульфідні Зв'язки у Структурно-Функціональній Організації Протеїнів. *Біотехнологія* **2009**, 2 (1), с 24–34.
379. Філінська, О. М.; Лозовий, В. П.; Яблонська, С. В.; Островська, Г. В.; Рибальченко, Т. В.; Зеленюк, В. О.; Рибальченко, В. К. Вплив Піридину на Активність Мембранозв'язаних Ферментів Клітин Печінки. *Доповіди Національної Академії Наук України* **2008**, 6, с 173–177.
380. Фафула, Р. В.; Мескало, О. І.; Личковський, Е. І.; Воробець, З. Д. Ефекти Гідроген Пероксида на Основні Кінетичні Параметри Гідролізу АТР Уабайнчутливою Na^+ , K^+ -АТР-Азою Сперматозоїдів Інфертильних Чоловіків. *Біофізичний Вісник* **2017**, 38 (2), с 45–53.
381. Федєць, О. М. Структура та Функції Глутатіонтрансфераз. *Ukr. Biochem. J.* **2014**, 86 (3), с 23–32.
382. Федірко, Н.; Вац, Ю.; Кругліков, І.; Войтенко, Н. Роль Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФаз в Діабетіндукованих Змінах Кальцієвого Гомеостазу у Вхідних Нейронах Ноцицептивної Системи. *Neurophysiology* **2004**, 36 (3), с 187–192.
383. Федонюк, Я. І.; Білик, Л. С.; Микула, Н. Х. Анатомія та Фізіологія з Патологією; Укрмедкнига: Тернопіль, 2002; 680 с.
384. Харченко, В. В. Природні Біоантиоксиданти та Печінка. *Сучасна Гастроентерологія* **2007**, 6 (38), с 79–85.
385. Харчук, І. В.; Карпезо, Н. О.; Островська, Г. В.; Рибальченко, Т. В.; Личак, О. В.; Цивінська, С. М.; Ленчук, О. П.; Рибальченко, В. К. Морфо-Функціональні Зміни в Сім'яниках Щурів Під Впливом Нового Антинеопластичного Препарату, Похідного Малєї. *Сучасні Проблеми Токсикології* **2008**, (1). http://www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/1_2008.htm.
386. Хохлов, С. М.; Найдіч, О. В. Деякі Структурні Особливості Розвитку Зародків Костистих Риб. *Таврійський Науковий Вісник* **2011**, 76, с 280–288.
387. Целевич, М. В.; Мандзинець, С. М.; Санагурський, Д. І. Na^+ , K^+ -АТФазна Активність Мембран Зародків В'юна *Misgurnus Fossilis* L. При Дії Антибіотиків. *Фізіологічний Журнал* **2004**, 50 (5), с 64–68.
388. Целевич, М. В.; Тарновська, А. В.; Санагурський, Д. І. Морфофункціональні та Біофізичні Параметри Зародків В'юна за Умов Впливу Флюміквілу. *Експериментальна та Клінічна Фізіологія і Біохімія* **2007**, 1, с 25–34.
389. Цехмістренко, С. І.; Коберська, В. А. Вплив Умісту Малонового Діальдегіду та Рівня Активності Ферментів Антиоксидантного Захисту в

Еякулятах Бугаїв на Якість Сперми. *Технологія Виробництва і Переробки Продукції Тваринництва* **2013**, 10 (105), с 5–8.

390. Цехмістренко, С. І.; Пономаренко, Н. В. Склад Ліпідів та їх Пероксидне Окислення у Підшлунковій Залозі Перепелів за Дії Нітратів і у Разі Згодовування Насіння Амаранту. *Укр. Біохім. Журн.* **2013**, 85 (2), с 84–92.

391. Чекман, І. С. Клінічна Фармакологія Протигістамінних Препаратів. *Медицина Залізничного Транспорту України* **2002**, 2, с 58–61.

392. Чекман, І. С.; Бобирьов, В. М.; Кресюн, В. Й. *Фармакологія*; Нова Книга: Вінниця, 2014; 432 с.

393. Чекман, І. С.; Дацюк, Н. О.; Лук'янова, О. М.; Загородній, М. І. Роль Перекисного Окислення Ліпідів у Патогенезі Артеріальної Гіпертензії. *In FARMACIA* **2008**, 6 (122), с 76–81.

394. Чепур, С. С. *Біометрія: Методичний Посібник*; Видавництво УжНУ «Говерла»: Ужгород, 2015; 40 с.

395. Шамелашвілі, К. Л.; Леус, І. В.; Сергієнко, Т. І.; Горіла, М. В.; Штеменко, Н. І. Супероксиддисмутаза та Каталала Крові: Активність Ферментів в Умовах Оксидативного Стресу. *Scientific Journal «ScienceRise»* **2015**, 5/1 (10), с 11–15.

396. Швець, В. Н.; Давидів, В. В. Вікові Особливості Зміни в Системі Глутатіону в Серці Щурів За Імобілізаційного Стресу. *Укр. Біохім. Журн.* **2008**, 80 (6), с 74–77.

397. Шевчук, В. Г.; Мороз, В. М.; Белан, С. М.; Гжегоцький, М. Р.; Йолтухівський, М. В. *Фізіологія*; Нова Книга: Вінниця, 2015; 448 с.

398. Шелюк, О. В.; Мороз, М. М.; Гостєва, Ю. В.; Собко, В. М.; Нурищенко, Н. Є.; Цейслер, Ю. В.; Співак, М. Я.; Жолобак, Н. М.; Мартинюк, В. С. Вплив Наноструктурованого Діоксиду Церію на Окисну Модифікацію Білків Крові в Умовах її Зберігання. *Фізика Живого* **2014**, 21 (1–2), с 61–66.

399. Шлопов, В. Г. *Патологічна Анатомія*; Нова Книга: Вінниця, 2004; 768 с.

400. Шутова, Н. А. Роль Еозинофілів та їх Взаємодія із Тучними Клітинами у Патогенезі Запалення. Автореферат Дисертації на Здобуття Наукового Ступеня Кандидата Медичних Наук за Спеціальністю 14.03.04 – Патологічна Фізіологія; **2008**, СПД Бровін О.В.: Харків, 26 с.

401. Шутова, Н. А.; Ковальцова, М. В.; Шутова А. І. Еозинофільна Пероксидаза, Як Показник Ефекторної Активності Еозинофілів в Патогенезі Гострого Запалення. *«Теоретичні і Практичні Аспекти Сучасної Медицини»*: Матеріали 84-ї Міжнародної Науково-Практичної Конференції Студентів і Молодих Вчених, Сімферополь, Березень 22, 2012; Кримський Державний Медичний Університет, Сімферополь, 2012; с 263–264.

402. Яблонська, С. В.; Філінська, О. М.; Островська, Г. В.; Рибальченко, В. К. Оцінка Гепатотоксичності Нового Похідного Малеміду з Цитостатичною Активністю і Його Вплив на Пероксидне Окислення та Антиоксидантну Систему Печінки. *Український Біохімічний Журнал* **2009**, 81 (5), с 83–92.
403. Яковєва, Л. В.; Єгорова, О. О.; Кошова, О. Ю. Вплив Елгацину на Вікові Зміни Стану Red/Ox Процесів у Передміхуровій Залозі та Сім'яниках Щурів за Умови Фізіологічного Старіння. *Український Біофармацевтичний Журнал* **2015**, 3 (38), с 58–62.
404. Якубцова, І. В.; Хілько, Т. Д.; Преображенська, Т. Д.; Остапченко, Л. І. Порівняння Активності Мембанозв'язаних Ферментів Клітин Слизових Шлунка та Дванадцятипалої Кишки за Умов Моделювання Виразки. *Вісник Проблем Біології і Медицини* **2011**, 4 (90), с 170–172.
405. Яремкевич, О. С.; Бура, М. В.; Мандзинець, С. М.; Кулачковський, О. Р.; Лубенець, В. І.; Санагурський, Д. І.; Новіков, В. П. Вплив 4-Толуентіосульфонату Калію на Мембранний Потенціал та АТР-Азну Активність Плазматичної Мембрани Зародків В'юна. *Укр. Біохім. Журн.* **2010**, 82 (6), с 42–51.
406. Яремкевич, О.; Перун, М.; Целевич, М.; Заїченко, О.; Новіков, В.; Санагурський, Д. Na^+ , K^+ -АТФ-Азна Активність Зародків В'юна *in vitro* За Впливу Поверхнево-Активного Полімеру. *Вісник Львівського Ун-ту. Серія Біологічна* **2008**, 47, 32–41.
407. Яремчук, М. М.; Дика, М. В.; Санагурський, Д. І. Активність Прооксидантно-Антиоксидантної Системи в Зародків В'юна за Впливу Мікрохвильового Випромінювання. *Ukr. Biochem. J.* **2014**, 86 (5), с 142–150.
408. Яремчук, М.; Мандзинець, С.; Бура, М.; Гарасим, Н.; Санагурський, Д. Особливості Гідролізу АТФ Na^+ , K^+ -АТФ-Азою Мембран Зародків В'юна за Дії Випромінювання Частоти Мобільного Зв'язку. *Вісник Львівського Університету. Серія Біологічна* **2014**, 68, с 233–243.
409. Яремчук, О. З. Патобіохімічні Механізми Ураження Нирок При Експериментальному Антифосфоліпідному Синдромі. *Вісник Проблем Біології і Медицини* **2015**, 4, 1 (124), с 167–170.
410. Яремчук, О. З.; Посохова, К. А. Зміни Біохімічних Показників Печінки та Нирок При Експериментальному Панкреатиті та за Дії Модуляторів Синтезу Оксиду Азоту і Рекombінантної Супероксиддисмутази. *Укр. Біохім. Журн.* **2011**, 83 (4), с 57–66.

ДОДАТОК А

Таблиця 1

Показники вільнорадикального окиснення у плазмі крові щурів за дії гістаміну і гіпохлориту натрію

Доба	Група	ГП, умод/мг протеїну, M±m, p	ТБК-ПЦ, мкмоль/мг протеїну, M±m, p	СОД, олактивності/мг протеїну, M±m, p	КАТ, мкмоль Н ₂ O ₂ /хв/мг протеїну M±m, p	ГПО, мкмоль G-SH/хв/мг протеїну, M±m, p
1-ша доба	Контроль	0,969±0,004	0,219±0,003	4185,6±120,5	0,029±0,007	136,1±14,3
	Гістамін, 1 мкг/кг	1,125±0,005 ***	0,116±0,019 **	4266,5±192,4 *	0,023±0,004	218,1±20,5 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	1,142±0,005 ***	0,086±0,001 ***	5450,1±164,6 ***	0,013±0,002	230,3±5,4 ***
	ГХН, 5 мг/л	1,913±0,034 ***	0,220±0,002	13894,4±178,7 ***	0,004±0,001 *	55,5±3,6 **
	ГХН, 20 мг/л	0,955±0,004 *	0,778±0,003 ***	3982,9±130,9	0,021±0,001	75,0±3,9 **
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,496±0,038 ***	0,261±0,001 ***	10471,6±157,4 ***	0,014±0,001	58,3±2,7 **
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,772±0,004 ***	0,624±0,006 ***	7572,4±419,7 **	0,019±0,003 ***	62,3±3,9 **
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,759±0,028 ***	0,264±0,004 ***	10749,68±151,4 ***	0,009±0,001	32,2±1,3 **
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,579±0,008 ***	0,502±0,007 ***	10505,6±201,6 ***	0,021±0,001	36,7±2,9 **
7-ма доба	Контроль	0,975±0,004	0,218±0,002	4185,7±122,5	0,028±0,007	134,0±10,8
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,708±0,048 **	0,221±0,004	6248,5±276,8 **	0,054±0,003 *	250,7±2,9 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,571±0,011 ***	0,886±0,045 ***	5081,9±256,1 *	0,017±0,005	113,4±5,9
	ГХН, 5 мг/л	1,529±0,023 ***	0,222±0,005	7802,9±191,3 ***	0,011±0,002	119,3±3,5
	ГХН, 20 мг/л	1,186±0,005 ***	0,521±0,002 ***	3421,7±88,9 **	0,012±0,001 *	65,5±5,7 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	2,250±0,025 ***	0,215±0,002	12850,72±335,1 ***	0,005±0,001 *	68,4±3,9 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,913±0,009 **	0,337±0,001 ***	23700,1±617,9 ***	0,013±0,001	27,9±1,8 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	2,149±0,104 ***	0,238±0,002 ***	5318,2±190,9 **	0,010±0,002	125,6±6,8
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,467±0,012 ***	0,504±0,002 ***	18237,2±166,1 ***	0,032±0,001	19,7±4,5 ***
14-та доба	Контроль	0,971±0,005	0,222±0,006	4014,7±176,4	0,029±0,006	134,1±11,5
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,548±0,032 ***	0,186±0,008 *	4887,5±192,4 *	0,041±0,004	110,9±3,8
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,589±0,003 ***	0,327±0,014 ***	5730,1±164,6 ***	0,036±0,006	87,8±3,2 *
	ГХН, 5 мг/л	1,577±0,039 ***	0,248±0,004 **	10359,4±317,2 ***	0,014±0,001 *	55,3±3,1 ***
	ГХН, 20 мг/л	1,035±0,005 ***	0,286±0,008 ***	11183,6±184,9 ***	0,01±0,001 *	73,8±5,2 **
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	2,672±0,057 ***	0,247±0,004 **	6808,2±412,7 **	0,009±0,001	58,8±4,8 **
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,681±0,004 ***	0,188±0,004 **	8142,5±154,3 ***	0,022±0,001	91,1±7,2 *
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,805±0,043 ***	0,192±0,003 **	10607,4±328,5 ***	0,016±0,001	50,7±4,4 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,792±0,023 **	0,209±0,004	7184,8±239,5 ***	0,072±0,001 **	40,5±5,7 ***

Закінчення табл. 1

21-ня доба	Контроль	0,972±0,006	0,219±0,003	3998,4±189,2	0,027±0,008	132,5±10,8
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,963±0,003	0,271±0,005 ***	2769,3±391,7 *	0,005±0,001 *	103,9±6,4 *
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,954±0,003 **	0,290±0,007 ***	4485,4±99,8	0,020±0,005	133,5±6,6
	ГХН, 5 мг/л	3,182±0,135 ***	0,210±0,001 *	16479,5±382,6 ***	0,011±0,001	56,3±4,6 ***
	ГХН, 20 мг/л	1,997±0,019 ***	0,547±0,016 ***	4385,0±67,1	0,015±0,002	67,2±1,6 **
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,278±0,035 ***	0,224±0,001	7333,2±190,8 ***	0,021±0,004	50,2±7,5 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,003±0,005 **	0,837±0,006 ***	14994,9±378,5 ***	0,012±0,001	99,5±3,6 *
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,943±0,026	0,232±0,002 ***	9643,4±293,4 ***	0,016±0,001	63,7±4,9 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,784±0,008 ***	0,779±0,012 ***	6629,6±115,9 ***	0,011±0,001	35,8±4,3 ***

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

Таблиця 2

**Показники вільнорадикального окиснення еритроцитів щурів
за дії гістаміну і гіпохлориту натрію**

Доба	Група	ГП, ум.од./мг протеїну, M±m, p	ТБК-ПП, мкмоль/мг протеїну, M±m, p	КБ нейтр. хар., мкмоль/мг протеїну, M±m, p	КБ осн. хар., мкмоль/мг протеїну, M±m, p
1-ша доба	Контроль	0,421±0,018	0,012±0,0003	265,2±16,6	270,7±14,9
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,755±0,091 *	0,008±0,0007 **	105,3±7,9 ***	133,3±9,3 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,869±0,086 **	0,011±0,0009	128,2±9,2 ***	124,4±14,1 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,705±0,020 ***	0,013±0,001	110,4±7,5 ***	88,4±8,4 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,825±0,037 ***	0,011±0,001	181,2±4,5 **	171,3±8,7 **
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,114±0,060 ***	0,009±0,0008	92,3±5,5 ***	109,4±4,7 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,899±0,052 ***	0,011±0,0003	127,3±2,2 **	136,1±2,2 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,290±0,086 ***	0,011±0,0007	115,7±4,9 ***	138,7±3,0 ***
Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,270±0,035 ***	0,015±0,001 *	125,7±0,3 **	146,0±1,5 **	
7-ма доба	Контроль	0,317±0,030	0,011±0,0007	276,5±21,6	294,3±24,8
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,346±0,006	0,010±0,0003	364,3±21,7 *	393,3±24,6 *
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,332±0,016	0,013±0,001	442,5±15,9 ***	513,5±15,9 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,311±0,021	0,017±0,0004 ***	153,8±10,3 **	133,8±12,1 **
	ГХН, 20 мг/л	0,293±0,036	0,015±0,002	106,2±2,5 **	97,4±5,6 **
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,339±0,008	0,012±0,0003	102,9±4,4 **	87,9±3,6 **
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,167±0,009 **	0,013±0,0007	334,2±22,5	441,1±42,6 *
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,369±0,024	0,013±0,0004 *	65,3±1,2 ***	54,9±3,1 ***
Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,073±0,019 ***	0,011±0,0005	426,1±8,9 **	468,2±35,5 **	
14-та доба	Контроль	0,502±0,016	0,012±0,0002	259,7±10,4	194,8±6,8
	Гістамін, 1 мкг/кг	1,142±0,044 ***	0,011±0,001	272,8±5,5	238,9±9,1 **
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,409±0,004 **	0,016±0,002	338,2±4,4 ***	375,7±9,2 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,174±0,009 ***	0,002±0,000003 ***	252,5±6,9	206,6±1,7
	ГХН, 20 мг/л	0,444±0,029	0,002±0,00008 ***	195,7±5,8 **	181,3±7,2
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,797±0,060 **	0,009±0,001	295,4±20,9	265,6±31,7
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,293±0,015 ***	0,009±0,0003 ***	188,4±10,5 **	185,3±6,6
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,419±0,018 **	0,011±0,002	299,5±30,9	207,9±15,7
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,206±0,010 ***	0,011±0,0006	165,5±12,6 ***	130,3±9,8 ***

Закінчення табл. 2

21-ша доба	Контроль	0,430±0,015	0,009±0,001	237,2±0,3	237,1±0,3
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,431±0,017	0,095±0,006 ***	64,8±6,7 ***	77,2±7,9 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,538±0,021 **	0,125±0,009 ***	78,8±8,8 ***	82,6±13,6 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,325±0,004 **	0,011±0,0007	111,0±9,8 ***	104,0±10,7 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,326±0,004 **	0,009±0,0003	117,4±0,3 ***	94,6±2,6 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,394±0,029	0,005±0,0005 **	54,4±1,5 ***	54,2±2,4 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,191±0,018 ***	0,009±0,0009	63,7±1,9 ***	67,3±0,8 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,212±0,018 ***	0,008±0,0008	97,2±1,9 ***	102,7±2,9 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,262±0,015 ***	0,0073±0,001	61,7±2,5 ***	57,4±1,5 ***

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

**Окремі показники еритроцитів щурів
за дії гістаміну і гіпохлориту натрію**

Доба	Група	СК, ммоль/лг протеїну, M±m,p	КАТ, ммоль Н ₂ O ₂ /хв мг протеїну, M±m,p	ГПО, ммоль G- SH/хвмг протеїну, M±m,p	ГТ, ммоль 1-хлор- 2,4-диніпробензол/хв мг протеїну, M±m,p	ВГ, ммоль/лг протеїну, M±m,p
1-ша доба	Контроль	1,173±0,045	0,134±0,002	45,4±5,3	76,5±5,2	0,072±0,0002
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,373±0,039 ***	0,086±0,002 ***	4,9±0,9 **	76,0±5,9	0,019±0,0002 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,874±0,164	0,115±0,001 ***	24,5±4,5 *	63,9±4,4	0,033±0,0003 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,625±0,012 ***	0,117±0,002 ***	61,4±7,2	87,5±12,1	0,029±0,0001 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,468±0,041 ***	0,146±0,001 **	81,8±3,0 ***	78,1±18,6	0,036±0,0001 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,417±0,017 ***	0,099±0,001 ***	39,0±6,7	86,8±7,1	0,028±0,0001 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,529±0,022 ***	0,093±0,001 ***	19,7±0,9 **	86,7±4,8	0,025±0,0001 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,603±0,021 ***	0,094±0,001 ***	63,3±6,4 *	55,0±5,2 *	0,027±0,0001 ***
Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,798±0,01 **	0,071±0,003 ***	25,0±4,9 **	179,9±15,0 **	0,018±0,0001 ***	
7-ма доба	Контроль	1,398±0,015	0,136±0,002	43,3±12,6	76,5±8,9	0,037±0,0001
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,806±0,041 ***	0,155±0,001 ***	33,6±6,5	35,4±7,9 **	0,045±0,0002 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,585±0,029 *	0,183±0,007 **	71,5±16,4	32,7±8,4 **	0,042±0,0001 ***
	ГХН, 5 мг/л	1,213±0,042 **	0,127±0,002 *	142,4±17,3 **	49,4±6,6 *	0,033±0,0001 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,976±0,121 *	0,136±0,001	13,7±2,7 *	66,4±4,2	0,039±0,0001 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,504±0,023 **	0,125±0,002 **	73,3±13,4	37,3±2,7 **	0,036±0,0001 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,38±0,029	0,236±0,003 ***	28,3±3,9	63,5±11,1	0,060±0,0001 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,363±0,009	0,097±0,001 ***	12,1±0,5 **	43,7±3,9 **	0,028±0,0001 ***
Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	2,713±0,032 ***	0,206±0,002 *	19,5±1,2	41,9±4,3 **	0,047±0,0002 ***	
14-та доба	Контроль	1,114±0,097	0,137±0,001	51,9±8,2	81,6±10,5	0,084±0,0003
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,521±0,009 *	0,129±0,002 **	24,3±5,9 *	44,0±9,2 *	0,038±0,0003 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,322±0,082 ***	0,151±0,005 *	19,4±0,9 *	107,8±14,9	0,045±0,0002 ***
	ГХН, 5 мг/л	1,316±0,048	0,248±0,009 ***	25,3±4,5 *	71,9±10,8	0,076±0,0005 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,689±0,065 **	0,237±0,001 ***	15,5±1,5 *	79,5±8,8	0,072±0,0001 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,419±0,099	0,219±0,001 ***	21,9±3,7 *	46,3±8,1 *	0,067±0,0001 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,995±0,036	0,214±0,002 ***	23,9±5,1 **	55,9±3,5	0,059±0,0001 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,209±0,034	0,321±0,005 ***	13,3±0,5 **	48,1±6,8 *	0,102±0,0001 ***
Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,325±0,012	0,168±0,002 ***	24,3±5,3 *	52,3±5,5 *	0,051±0,0001 ***	

Закінчення табл. 3

21-ша доба	Контроль	0,859±0,008	0,134±0,001	35,8±3,3	89,2±10,4	0,046±0,00004
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,884±0,026	0,072±0,004 ***	10,3±1,5 ***	79,2±10,3	0,023±0,00003 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	1,249±0,156	0,074±0,002 ***	19,9±1,9 **	37,4±3,8 **	0,024±0,00002 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,942±0,018 **	0,088±0,001 *	57,1±9,1 *	63,2±8,5	0,026±0,00004 ***
	ГХН, 20мг/л	1,155±0,049 **	0,107±0,003 ***	47,3±1,4 *	59,9±4,1 *	0,035±0,0001 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,487±0,007 ***	0,184±0,002 ***	58,1±3,8 **	39,6±5,4 **	0,057±0,0001 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,068±0,02 ***	0,089±0,001 ***	34,9±4,7	45,5±4,6 **	0,026±0,0001 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,797±0,027	0,169±0,001 ***	39,7±1,8	44,3±4,0 **	0,059±0,0001 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,602±0,03 **	0,108±0,001 ***	21,9±5,3 *	58,4±6,8 *	0,033±0,0001 ***

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

Таблиця 4

**Показники оксидативного стресу в легені щурів
за дії гістаміну і гіпохлориту натрію**

Доба	Група	ГП, ум.од./мг протеїну, M±m, p	ТБК-ПП, мкмоль/мг протеїну, M±m, p	СОД, од.активності/мг протеїну, M±m, p	КАТ, мкмоль H ₂ O ₂ /хв мг протеїну, M±m, p	ГПО, мкмоль G-SH/ хв·мг протеїну, M±m, p
1-ша доба	Контроль	0,602±0,016	0,093±0,001	7032,4±137,3	0,262±0,002	330,4±4,4
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,407±0,005 ***	0,078±0,0008 ***	42508,1±755,2 ***	0,344±0,002 ***	521,4±0,4 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,495±0,015 ***	0,069±0,001 ***	38808,5±1067,9 ***	0,372±0,003 ***	621,5±0,4 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,779±0,023 ***	0,198±0,003 ***	14689,8±659,5 ***	0,438±0,002 ***	81,3±4,4 ***
	ГХН, 20 мг/л	1,623±0,008 ***	0,319±0,0001 ***	7539,1±1014,7	0,273±0,003 *	439,4±10,4 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,059±0,014 ***	0,203±0,001 ***	25518,8±1196,7 ***	0,382±0,002 ***	256,4±8,1 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,647±0,048 ***	0,217±0,002 ***	9444,2±750,4 *	0,379±0,009 ***	350,1±16,3
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,163±0,034 ***	0,231±0,004 ***	24500,8±1572,8 ***	0,386±0,002 ***	140,5±10,5 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,572±0,008 ***	0,141±0,002 ***	45503,95±562,5 ***	0,403±0,005 ***	464,7±10,5 ***
7-ма доба	Контроль	0,599±0,009	0,094±0,002	7030,6±136,9	0,258±0,002	331,2±5,3
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,754±0,007 ***	0,155±0,007 ***	10513,2±136,9 ***	0,757±0,009 ***	793,6±10,5 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,319±0,007 ***	0,129±0,007 **	5031,9±145,9 ***	0,337±0,004 ***	1281,9±52,9 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,035±0,010 ***	0,149±0,0006 ***	40001,3±803,6 ***	0,349±0,002 ***	126,8±23,2 **
	ГХН, 20 мг/л	1,322±0,015 ***	0,191±0,005 ***	4588,1±313,9 ***	0,229±0,002 ***	403,4±6,4 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,031±0,007 ***	0,154±0,001 ***	53630,7±984,9 ***	0,408±0,003 ***	108,8±17,4 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,381±0,010 ***	0,098±0,001 *	31926,4±1021,3 ***	0,346±0,005 ***	356,9±16,9
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,716±0,014 ***	0,146±0,002** *	25505,6±116,5 ***	0,311±0,004 ***	117,0±4,0 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,213±0,019 ***	0,093±0,001	3337,5±648,8 **	0,441±0,010 ***	464,9±20,2 ***
14-та доба	Контроль	0,603±0,016	0,092±0,001	7092,8±143,9	0,253±0,003	330,1±4,9
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,646±0,004 ***	0,138±0,002 ***	9994,8±241,8 ***	0,720±0,008 ***	318,1±14,2
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,589±0,009	0,179±0,009 ***	8840,5±59,4***	0,642±0,006 ***	521,6±5,6 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,241±0,001 ***	0,187±0,0004 ***	44666,5±314,1 ***	0,588±0,003 ***	82,6±4,3 ***
	ГХН, 20 мг/л	1,173±0,015 ***	0,145±0,001 ***	22558,8±305,3 ***	0,203±0,0006 ***	113,7±8,1 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,576±0,039	0,207±0,002 ***	51186,5±1039,5 ***	0,429±0,007 ***	235,1±7,1 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,351±0,021 ***	0,153±0,0005 ***	6170,4±585,8	0,203±0,0006 ***	185,9±12,5 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,047±0,002 ***	0,119±0,0003 ***	61166,0±1056,1 ***	0,599±0,0008 ***	99,7±8,1 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,949±0,004 ***	0,158±0,0005 ***	5573,4±551,7 *	0,528±0,004 ***	318,5±15,1

Закінчення табл. 4

21-ця доба	Контроль	0,599±0,014	0,093±0,0006	7049,4±134,5	0,259±0,005	329,9±4,9
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,813±0,012 ***	0,142±0,002 ***	11273,0±133,4 ***	0,333±0,007 ***	645,8±27,7 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	1,162±0,006 ***	0,197±0,001 ***	6338,7±299,4*	0,317±0,007 ***	645,8±16,2 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,687±0,030 *	0,249±0,003 ***	43360,4±519,6** *	0,497±0,002 ***	158,7±9,5 ***
	ГХН, 20 мг/л	1,098±0,007 ***	0,136±0,002 ***	14655,5±138,9** *	0,291±0,001 **	204,2±10,2 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,249±0,014 ***	0,173±0,001 ***	60829,1±805,5** *	0,379±0,002 ***	113,4±17,8 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,402±0,019 ***	0,185±0,0007 ***	30616,5±303,7** *	0,336±0,001 ***	80,3±9,8 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,088±0,009 ***	0,131±0,0008 ***	47822,2±598,9** *	0,474±0,003 ***	222,6±16,3 **
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,474±0,029 ***	0,204±0,003 ***	17469,0±343,2** *	0,341±0,002 ***	140,5±11,3 ***

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

Таблиця 5

**Показники оксидативного стресу в серцевому м'язі щурів
за дії гістаміну і гіпохлориту натрію**

Доба	Група	ГП, ум.од./мг протеїну, M±m, p	ТБК-ПП, мкмоль/мг протеїну, M±m, p	СОД, од.активності/мг протеїну, M±m, p	КАТ, мкмоль H ₂ O ₂ /хв мг протеїну, M±m, p	ГПО, мкмоль G-SH/хв-мг протеїну, M±m, p
1-ша доба	Контроль	0,894±0,006	0,371±0,009	1669,7±145,5	0,156±0,001	1107,2±9,7
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,508±0,011 ***	0,350±0,002	3661,9±125,0 ***	0,248±0,001 ***	597,9±50,3 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,517±0,007 ***	0,281±0,003 ***	5419,9±135,6 ***	0,329±0,0007 ***	696,3±66,4 **
	ГХН, 5 мг/л	0,338±0,011 ***	0,262±0,007 ***	8741,2±128,3 ***	0,907±0,005 ***	481,1±12,8 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,949±0,019 *	0,303±0,003 ***	4672,9±227,9 ***	0,459±0,003 ***	149,5±11,4 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,458±0,012 ***	0,229±0,003 ***	9487,2±223,9 ***	0,703±0,005 ***	640,4±44,8 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,824±0,006 ***	0,369±0,002	2257,1±211,1	0,233±0,003 ***	109,4±11,4 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,585±0,007 ***	0,266±0,003 ***	9010,4±233,5 ***	0,553±0,004 ***	506,5±8,5 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,771±0,010 ***	0,312±0,001 **	3673,6±749,9	0,551±0,003 ***	197,2±13,9 ***
7-ма доба	Контроль	0,896±0,007	0,370±0,006	1598,7±116,2	0,157±0,002	1110,2±9,9
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,831±0,014 **	0,235±0,005 ***	1087,6±424,2 ***	0,198±0,0008 ***	691,9±16,4 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	1,228±0,004 ***	0,346±0,004 *	4332,9±103,8 ***	0,246±0,001 ***	926,4±27,8 **
	ГХН, 5 мг/л	1,117±0,016 ***	0,397±0,005 *	7770,4±225,4 ***	0,287±0,001 ***	143,2±4,7 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,815±0,009 ***	0,442±0,004 ***	5976,522±59,3** *	0,327±0,002 ***	125,2±9,8 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	1,046±0,010 ***	0,423±0,005 **	7972,6±304,1 ***	0,295±0,003 ***	92,7±3,6 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,812±0,018 **	0,411±0,002 **	6355,5±9,3 ***	0,261±0,002 ***	137,5±5,3 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,667±0,009 ***	0,346±0,004 *	8509,2±406,9 ***	0,276±0,002 ***	201,8±5,7 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,812±0,012 ***	0,332±0,002 *	7812,1±31,7 ***	0,259±0,001 ***	142,3±11,5 ***
14-та доба	Контроль	0,898±0,006	0,368±0,009	1668,8±143,3	0,158±0,003	1110,0±12,1
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,715±0,003 ***	0,261±0,007 ***	5341,1±246,4 ***	0,227±0,002 ***	343,4±17,3 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,994±0,015 **	0,295±0,005 ***	705,2±65,6 ***	0,241±0,003 ***	693,9±29,2 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,553±0,013 ***	0,257±0,002 ***	9661,6±206,4 ***	0,353±0,002 ***	444,7±8,1 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,977±0,003 ***	0,245±0,001 ***	8198,2±56,2 ***	0,302±0,002 ***	27,7±5,7 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,561±0,007 ***	0,236±0,003 ***	6243,2±259,8 ***	0,263±0,002 ***	367,7±16,4 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,751±0,019 ***	0,328±0,001 **	6952,3±341,9 ***	0,295±0,005 ***	54,3±6,5 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,558±0,009 ***	0,312±0,003 ***	9432,9±191,6 ***	0,512±0,004 ***	400,8±17,6 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,547±0,008 ***	0,457±0,002 ***	5497,8±438,0 ***	0,421±0,004 ***	94,9±11,5 ***

Закінчення табл. 5

21-на доба	Контроль	0,902±0,007	0,374±0,013	1452,1±74,6	0,157±0,003	1111,4±11,6
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,931±0,012	0,299±0,002 **	3037,2±51,3 ***	0,176±0,002 **	816,6±24,3 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	1,020±0,009 ***	0,269±0,006 ***	1620,8±244,4	0,147±0,002 *	416,7±20,4 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,831±0,022 *	0,323±0,004 **	8346,6±254,8 ***	0,541±0,005 ***	254,1±4,5 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,657±0,026 ***	0,298±0,002 ***	3071,2±89,5 ***	0,379±0,004 ***	111,5±22,4 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,521±0,009 ***	0,423±0,002 **	9016,2±215,3 ***	0,536±0,005 ***	689,2±13,7 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,559±0,008 ***	0,341±0,002 *	1636,2±69,7	0,515±0,007 ***	236,4±15,3 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,413±0,011 ***	0,347±0,002 *	7298,9±218,3 ***	0,475±0,004 ***	661,2±4,6 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,639±0,008 ***	0,278±0,001 ***	2948,7±69,4 ***	0,581±0,006 ***	189,7±8,1 ***

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

**Показники оксидативного стресу в печінці щурів
за дії гістаміну і гіпохлориту натрію**

Доба	Група	ГП, ум.од./мг протеїну, M±m, p	ТБК-ПП, мкмоль/мг протеїну, M±m, p	СОД, од.активності/мг протеїну, M±m, p	КАТ, мкмоль Н ₂ О ₂ /хв мг протеїну, M±m, p	ГПО, мкмоль G-SH/хв·мг протеїну, M±m, p
1-ша доба	Контроль	0,811±0,005	0,432±0,002	16488,4±693,4	0,132±0,002	64,8±3,8
	Гістамін, 1 мг/кг	0,784±0,007 *	0,429±0,001	14307,7±255,6 ***	0,152±0,003 ***	92,7±10,2
	Гістамін, 8 мг/кг	1,356±0,002 ***	0,315±0,0006 ***	13300,8±406,1 ***	0,136±0,001	87,9±1,4
	ГХН, 5 мг/л	0,489±0,006 ***	0,901±0,030 ***	9630,4±112,7 ***	0,193±0,001 ***	22,9±3,5 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,988±0,006 ***	0,476±0,002 ***	19918,1±327,6 **	0,174±0,002 ***	25,4±1,5 ***
	Гістамін, 1 мг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,638±0,019 ***	0,860±0,028 ***	6342,2±168,1 ***	0,220±0,001 ***	25,8±2,9 ***
	Гістамін, 1 мг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,501±0,010 ***	1,060±0,004 ***	29596,3±2885,4 **	0,195±0,001 ***	17,6±2,1 ***
	Гістамін, 8 мг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,672±0,005 ***	0,843±0,029 ***	6988,8±119,3 ***	0,247±0,002 ***	33,1±3,6 ***
	Гістамін, 8 мг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,637±0,007 ***	0,718±0,013 ***	9067,1±201,5 ***	0,220±0,001 ***	58,1±3,9
7-ма доба	Контроль	0,812±0,004	0,415±0,009	16620,6±450,8	0,135±0,001	63,5±4,4
	Гістамін, 1 мг/кг	0,449±0,003 ***	0,324±0,017 **	6061,5±250,3 ***	0,142±0,002 *	180,6±5,6***
	Гістамін, 8 мг/кг	1,149±0,009 ***	0,222±0,005 ***	4136,9±466,9 ***	0,175±0,002 ***	154,6±0,5***
	ГХН, 5 мг/л	0,469±0,01 ***	0,437±0,003	9523,9±794,4 ***	0,227±0,002 ***	96,8±4,4 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,673±0,009	0,393±0,007	24984,3±753,9 ***	0,199±0,001 ***	57,6±2,4
	Гістамін, 1 мг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,656±0,005 ***	0,376±0,004 **	6320,7±144,2 ***	0,175±0,002 ***	24,4±2,2 ***
	Гістамін, 1 мг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,829±0,008	0,540±0,006 ***	17763,6±380,6	0,148±0,0007 ***	41,1±2,6 **
	Гістамін, 8 мг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,745±0,007 ***	0,453±0,006 **	8914,4±499,8 ***	0,195±0,003 ***	33,1±2,3 ***
	Гістамін, 8 мг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,981±0,005 ***	0,339±0,002 **	9569,4±286,4 ***	0,250±0,007 ***	76,4±2,4 *
14-та доба	Контроль	0,808±0,004	0,427±0,012	16487,6±682,4	0,132±0,003	62,9±3,8
	Гістамін, 1 мг/кг	0,466±0,004 ***	0,398±0,004 *	6555,9±155,1 ***	0,116±0,004 *	223,7±3,9 ***
	Гістамін, 8 мг/кг	0,777±0,003 *	0,301±0,010 ***	1514,9±265,1 ***	0,215±0,003 ***	173,3±8,5***
	ГХН, 5 мг/л	0,509±0,006 ***	0,154±0,002 ***	10250,4±514,0 ***	0,333±0,001 ***	16,8±2,4 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,754±0,007 ***	0,499±0,002 **	25278,3±738,1 ***	0,345±0,002 ***	53,1±1,7
	Гістамін, 1 мг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,627±0,017 ***	0,459±0,002	6384,3±354,7 ***	0,201±0,001 ***	54,2±8,5
	Гістамін, 1 мг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,726±0,024 *	0,369±0,003 *	15751,3±733,8	0,325±0,001 ***	63,5±2,7
	Гістамін, 8 мг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,719±0,005 ***	0,201±0,0008 ***	5628,8±405,7 ***	0,200±0,001 ***	46,3±1,9 **
	Гістамін, 8 мг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,745±0,014 **	0,655±0,005 ***	14880,4±412,4	0,329±0,003 ***	43,4±2,9 **

Закінчення табл. 6

21-на доба	Контроль	0,810±0,005	0,414±0,007	15893,4±264,4	0,133±0,004	62,8±4,7
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,358±0,006 ***	0,383±0,004 **	3132,8±248,9 ***	0,132±0,003	181,8±10,5 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,724±0,003 ***	0,325±0,006 ***	1253,5±187,5 ***	0,135±0,001	97,5±4,5 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,483±0,012 ***	0,241±0,002 ***	2258,5±822,6 ***	0,172±0,002 ***	22,7±1,3 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,816±0,009	1,093±0,017 ***	24871,6±444,7 ***	0,165±0,001 **	53,6±1,7
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,619±0,005 ***	0,207±0,001 ***	9949,1±570,4 ***	0,174±0,001 ***	38,4±7,9 *
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,939±0,010 ***	0,732±0,004 ***	19915,3±2015,5	0,155±0,002 **	42,2±2,7 **
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,417±0,004 ***	0,275±0,002 ***	5152,7±229,5 ***	0,168±0,001 ***	45,1±0,9 *
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,480±0,004 ***	0,742±0,014 ***	13532,0±265,1 ***	0,154±0,002 **	18,4±1,6 ***

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

Таблиця 7

**Показники оксидативного стресу в нирці щурів
за дії гістаміну і гіпохлориту натрію**

Доба	Група	ГП, ум.од./мг протеїну, M±m, p	ТБК-ПП, мкмоль/мг протеїну, M±m, p	СОД, од.активності/мг протеїну, M±m, p	КАТ, мкмоль H ₂ O ₂ /хв мг протеїну, M±m, p	ГПО, мкмоль G-SH/хв·мг протеїну, M±m, p
1-ша доба	Контроль	0,552±0,007	0,180±0,004	2611,6±104,5	0,324±0,004	539,9±9,7
	Гістамін, 1 мг/кг	0,556±0,009	0,208±0,003 ***	2550,2±0,7	0,164±0,0006 ***	338,6±13,9 ***
	Гістамін, 8 мг/кг	0,602±0,010 **	0,164±0,002 *	2949,9±0,6 *	0,324±0,002	346,8±10,8 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,225±0,009 ***	0,290±0,003 ***	3596,2±194,2 **	0,263±0,002 **	58,2±6,8 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,673±0,016 ***	0,596±0,008 ***	3010,0±37,0 *	0,220±0,002 ***	45,8±7,9 ***
	Гістамін, 1 мг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,513±0,005 ***	0,254±0,003 ***	13317,7±443,2 ***	0,177±0,002 **	89,1±11,9 ***
	Гістамін, 1 мг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,731±0,021 ***	0,573±0,009 ***	4944,1±55,7 ***	0,272±0,002 ***	103,3±7,3 ***
	Гістамін, 8 мг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,208±0,015 ***	0,299±0,002 ***	11540,3±511,3 ***	0,161±0,0009 ***	76,5±6,9 ***
	Гістамін, 8 мг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,485±0,007 ***	0,278±0,009 ***	5152,5±111,4 ***	0,258±0,002 ***	59,4±10,4 ***
7-ма доба	Контроль	0,551±0,006	0,181±0,005	2621,1±103,9	0,320±0,005	539,1±9,2
	Гістамін, 1 мг/кг	0,976±0,007 ***	0,222±0,002 ***	2450,6±222,0	0,104±0,0007 ***	400,8±9,0 ***
	Гістамін, 8 мг/кг	1,585±0,016 ***	0,179±0,003 **	3361,1±182,6 *	0,252±0,004 ***	341,9±8,3 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,415±0,008 ***	0,273±0,002 ***	3526,7±155,0 ***	0,314±0,002	135,1±3,3 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,779±0,013 ***	0,302±0,002 ***	4246,7±220,7 ***	0,300±0,002 *	77,8±3,2 ***
	Гістамін, 1 мг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,699±0,016 ***	0,291±0,003 ***	10237,7±721,9 ***	0,196±0,001 ***	373,4±5,4 ***
	Гістамін, 1 мг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,516±0,035	0,191±0,004 **	3868,5±309,3 **	0,268±0,004 ***	45,9±5,7 ***
	Гістамін, 8 мг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,602±0,008 ***	0,239±0,0003* **	3964,7±166,4 ***	0,274±0,002 ***	225,8±9,5 ***
	Гістамін, 8 мг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,668±0,005 ***	0,186±0,005	6738,3±294,7 ***	0,261±0,003 ***	80,2±4,6 ***
14-та доба	Контроль	0,551±0,009	0,182±0,003	2580,0±95,5	0,329±0,003	537,6±8,1
	Гістамін, 1 мг/кг	0,847±0,012 ***	0,200±0,003 **	3520,9±153,2 **	0,119±0,003 ***	321,7±2,8 ***
	Гістамін, 8 мг/кг	0,873±0,011 ***	0,187±0,001 **	4691,8±93,2 ***	0,309±0,011	426,4±8,7 ***
	ГХН, 5 мг/л	1,201±0,008 ***	0,291±0,002 ***	12446,4±117,6 ***	0,302±0,002 **	64,8±9,01 ***
	ГХН, 20 мг/л	1,206±0,022 ***	0,215±0,003 ***	6905,7±104,5 ***	0,309±0,003 ***	63,3±6,4 ***
	Гістамін, 1 мг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,273±0,008 ***	0,252±0,004 ***	13573,6±372,1 ***	0,293±0,003 ***	59,7±10,9 ***
	Гістамін, 1 мг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,391±0,006 ***	0,315±0,003 ***	5715,2±512,8 *	0,288±0,002 **	118,6±5,0 ***
	Гістамін, 8 мг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,484±0,013 **	0,236±0,001 ***	16260,9±691,1 ***	0,254±0,001 ***	118,4±13,4 ***
	Гістамін, 8 мг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,744±0,009 ***	0,304±0,002 ***	7177,1±82,9 ***	0,279±0,003 ***	41,7±5,9 ***

Закінчення табл. 7

21-на доба	Контроль	0,557±0,007	0,181±0,004	2611,6±104,5	0,325±0,004	537,0±7,0
	Гістамін, 1 мкг/кг	1,025±0,003 ***	0,189±0,005	3713,8±290,9 *	0,267±0,003 ***	402,6±5,6 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,835±0,004 ***	0,213±0,003 ***	5879,4±48,3 ***	0,327±0,004 **	530,3±8,5 ***
	ГХН, 5 мг/л	0,281±0,010 ***	0,356±0,002 ***	12568,3±691,6 ***	0,275±0,002 **	54,6±10,4 ***
	ГХН, 20 мг/л	1,316±0,012 ***	0,235±0,002 ***	6084,8±145,3 ***	0,426±0,002 ***	39,9±5,9 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,333±0,009 ***	0,322±0,005 ***	10797,4±182,1 ***	0,258±0,001 ***	92,6±6,7 ***
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,952±0,009 ***	0,235±0,002 ***	7932,2±192,9 ***	0,306±0,002 **	90,1±2,4 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,132±0,004 ***	0,330±0,003 ***	13042,1±587,9 ***	0,313±0,003 *	137,5±7,2 ***
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,909±0,027 ***	0,235±0,002 ***	7920,9±91,6 ***	0,377±0,001 ***	100,8±7,7 ***

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

Таблиця 8

**Показники оксидативного стресу в селезінці щурів
за дії гістаміну і гіпохлориту натрію**

Доба	Група	ГП, ум.од./мг протеїну, M±m, p	ТБК-ПП, мкмоль/мг протеїну, M±m, p	СОД, од.активності/мг протеїну, M±m, p	КАТ, мкмоль Н ₂ О ₂ /хв мг протеїну, M±m, p	ГПО, мкмоль G-SH/хв·мг протеїну, M±m, p
1-ша доба	Контроль	0,659±0,032	0,061±0,003	223,2±43,9	0,239±0,002	47,7±7,3
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,339±0,043 ***	0,032±0,0007 ***	228,7±25,8	0,182±0,001 ***	51,9±9,7
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,434±0,051 **	0,038±0,001 ***	431,8±22,6	0,196±0,002 ***	22,7±7,4 *
	ГХН, 5 мг/л	0,462±0,079	0,041±0,001 **	94,9±10,7 *	0,258±0,007	509,6±51,4 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,711±0,115	0,037±0,002 ***	110,1±12,4	0,336±0,012 **	33,3±3,1
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,521±0,028 *	0,057±0,0006	106,0±34,6	0,234±0,003	80,5±10,4 *
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,365±0,041 ***	0,026±0,0006 ***	308,9±52,2	0,178±0,002 ***	34,6±0,7
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,331±0,011 ***	0,051±0,001	250,2±22,5	0,179±0,003 ***	34,9±2,8
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,369±0,042 ***	0,058±0,0005	85,4±32,4 **	0,187±0,007 **	127,1±10,4 ***
7-ма доба	Контроль	0,645±0,017	0,058±0,001	259,0±59,8	0,222±0,008	52,3±4,9
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,372±0,029 ***	0,035±0,002 ***	336,7±48,7	0,236±0,006	43,2±5,0
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,462±0,039 **	0,070±0,002 **	538,2±24,8 **	0,264±0,003 **	36,5±5,6
	ГХН, 5 мг/л	0,196±0,018 ***	0,037±0,001 ***	42,2±20,5 *	0,189±0,0007 *	16,6±2,8 ***
	ГХН, 20 мг/л	0,325±0,087 *	0,041±0,0003 ***	695,4±5,0 **	0,381±0,004 ***	85,2±14,3
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,411±0,009 ***	0,047±0,0006 ***	59,8±2,9 *	0,223±0,002	52,5±6,1
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,345±0,005 ***	0,023±0,001 ***	166,4±50,1	0,144±0,006 ***	59,1±11,4
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,336±0,009 ***	0,043±0,001 ***	97,6±20,1 **	0,174±0,002 **	64,2±4,1
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,449±0,004 ***	0,070±0,001 ***	450,4±60,2 *	0,524±0,0006 ***	60,9±6,8
14-та доба	Контроль	0,594±0,052	0,059±0,002	227,2±76,4	0,187±0,002	46,2±4,9
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,266±0,004 **	0,029±0,0006 ***	1173,6±24,4 ***	0,155±0,004 ***	30,1±5,1 *
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,189±0,015 ***	0,058±0,002	44,9±5,8	0,112±0,005 ***	32,7±6,5
	ГХН, 5 мг/л	0,112±0,033 ***	0,029±0,0003 ***	140,1±12,5	0,117±0,004 ***	54,7±8,4
	ГХН, 20 мг/л	0,189±0,032 ***	0,038±0,0008 ***	399,8±75,7	0,115±0,003 ***	53,6±4,9
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,183±0,016 ***	0,061±0,001	522,5±46,7 *	0,096±0,002 ***	69,9±7,2 *
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,155±0,011 **	0,024±0,0006 ***	207,9±6,7	0,049±0,001 ***	66,9±9,5
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,281±0,034 **	0,046±0,0006 **	256,5±41,0	0,111±0,002 ***	91,8±13,3 *
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,151±0,023 ***	0,050±0,001	267,8±57,3	0,132±0,0008 ***	3,7±0,4 ***

Закінчення табл. 8

21-ця доба	Контроль	0,729±0,042	0,060±0,003	224,6±43,4	0,222±0,002	37,9±6,3
	Гістамін, 1 мкг/кг	0,144±0,009 ***	0,032±0,0007 ***	85,6±7,9 *	0,070±0,0007 ***	38,5±3,6
	Гістамін, 8 мкг/кг	0,037±0,004 ***	0,054±0,0008	160,6±25,3	0,077±0,001 ***	4,1±0,8 **
	ГХН, 5 мг/л	0,222±0,006 ***	0,032±0,0005 ***	268,1±71,6	0,133±0,002 ***	39,5±2,2
	ГХН, 20 мг/л	0,278±0,003 ***	0,035±0,0008 ***	804,2±95,1 **	0,146±0,002 ***	1,4±0,2 **
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,291±0,003 ***	0,075±0,0009 **	163,1±74,0	0,186±0,0003 ***	52,2±1,1
	Гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,335±0,016 ***	0,031±0,0005 ***	708,5±113,3 *	0,154±0,001 ***	25,7±0,0001
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,259±0,014 ***	0,049±0,0005	474,8±66,6 *	0,160±0,002 ***	21,4±4,8
	Гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,279±0,007 ***	0,052±0,0006	725,4±123,9 *	0,165±0,001 ***	28,3±2,7

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

ДОДАТОК Б

Таблиця 1

Розподіл експериментальних груп щурів у кластери за дії гістаміну і ГХН за показниками ПОЛ–АОС на 1-шу добу досліджу

Група	ТБК-ПП	ГП	СОД	КАТ	ГПО	Кластер
Легеня; ГХН, 5 мг/л	212	129	209	167	25	1
Легеня; ГХН, 20 мг/л	342	269	107	105	133	2
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг	83	68	604	132	158	3
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	218	10	363	146	78	4
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	233	274	134	145	106	5
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг	74	82	552	142	188	3
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	248	193	348	147	43	6
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	151	261	647	154	141	7
Нирка; ГХН, 5 мг/л	160	41	138	81	11	8
Нирка; ГХН, 20 мг/л	330	122	115	68	8	9
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг	115	101	98	51	63	10
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	140	93	510	55	17	11
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	317	132	189	84	19	9
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг	91	109	113	101	64	12
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	166	38	442	50	14	13
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	154	88	197	79	11	14
Печінка; ГХН, 5 мг/л	209	60	58	147	35	15
Печінка; ГХН, 20 мг/л	110	122	121	132	39	12
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг	99	97	87	116	143	16
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	199	79	38	167	40	15
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	246	185	179	149	27	17
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг	73	167	81	104	136	18
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	195	83	42	187	51	15
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	166	202	55	167	90	19
Плазма; ГХН, 5 мг/л	102	197	327	15	41	20
Плазма; ГХН, 20 мг/л	354	98	95	74	55	21
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг	53	116	102	78	160	22
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	119	154	263	49	43	23
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	284	80	181	66	46	24
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг	39	118	130	46	169	22
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	120	181	253	33	24	23
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	228	60	251	71	27	25

Закінчення табл. 1

Селезінка; ГХН, 5 мг/л	68	70	43	108	1067	26
Селезінка; ГХН, 20 мг/л	61	108	49	141	70	27
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг	53	51	103	76	109	28
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	93	79	48	98	169	16
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	42	55	138	75	73	28
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг	62	66	193	82	48	28
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	84	50	112	75	73	28
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	94	56	38	78	266	29
Серце; ГХН, 5 мг/л	71	38	524	582	44	30
Серце; ГХН, 20 мг/л	82	106	280	295	14	31
Серце; гістамін, 1 мкг/кг	94	57	219	159	54	32
Серце; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	62	51	568	451	58	33
Серце; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	99	92	135	149	10	12
Серце; гістамін, 8 мкг/кг	76	58	325	211	63	34
Серце; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	72	65	540	355	46	35
Серце; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	84	86	220	354	18	31

Таблиця 2

Усреднення показників ПОЛ–АОС у кластерах експериментальних груп щурів за впливу гістаміну і ГХН на 1-шу добу досліду

Кластер	Кількість груп у кластері	ТБК-ПП, М±m, p	ГП, М±m, p	СОД, М±m, p	КАТ, М±m, p	ГПО, М±m, p
1	1	212,423	129,440	208,887	167,263	24,599
2	1	342,219	269,462	107,205	104,523	132,973
3	2	78,681±4,591 ***	74,884±7,355 **	578,153±26,304 ***	136,899±5,393 ***	172,952±15,149 **
4	1	217,787	9,763	362,874	146,064	77,608
5	1	232,693	273,548	134,296	145,121	105,941
6	1	247,703	193,136	348,397	147,413	42,521
7	1	150,622	261,053	647,058	154,207	140,646
8	1	160,489	40,686	137,702	81,031	10,778
9	2	323,232±6,505 ***	127,138±5,193 ***	152,286±37,028	75,911±7,957 **	13,806±5,319
10	1	115,016	100,641	97,652	50,805	62,702
11	1	140,436	92,964	509,954	54,631	16,503

Закінчення табл. 2

12	3	100,185±5,655 ***	107,640±8,600 **	122,980±6,506 ***	127,266±14,482 ***	37,748±15,700
13	1	165,716	37,590	441,892	49,751	14,173
14	1	153,556	87,804	197,298	79,409	11,001
15	3	200,959±4,004 ***	73,769±7,044 ***	46,419±6,099 **	167,283±11,666 ***	42,126±4,668 ***
16	2	96,003±3,323 ***	87,846±8,766 **	67,137±19,637	106,841±8,936 **	155,793±12,877 ***
17	1	245,535	184,962	179,498	148,505	27,138
18	1	72,931	167,157	80,668	103,713	135,683
19	1	166,326	201,716	54,991	167,429	89,672
20	1	100,238	197,236	327,258	14,959	40,766
21	1	353,914	98,419	95,156	74,408	55,103
22	2	46,022±6,821 *	116,849±0,842 ***	116,069±14,139 **	62,099±16,389	164,679±4,477 ***
23	2	119,194±0,638 ***	167,783±13,540 ***	258,049±4,859 ***	40,660±7,986	33,219±9,577
24	1	283,792	79,5812	180,912	65,691	45,731
25	1	228,159	59,689	250,988	71,266	26,955
26	1	67,820	70,200	42,560	107,920	1067,479
27	1	61,350	108,000	49,330	140,590	69,850
28	4	60,215±8,894 ***	55,768±3,563 ***	136,648±20,412 ***	77,043±1,681 ***	75,530±12,597 **
29	1	94,230	56,050	38,290	78,220	266,229
30	1	70,758	37,764	523,522	582,125	43,454
31	2	82,885±1,230 ***	96,229±10,012 **	249,943±29,923 **	324,754±29,605 ***	15,657±2,151 **
32	1	94,409	56,797	219,316	159,437	54,003
33	1	61,646	51,267	568,201	451,447	57,839
34	1	75,789	57,879	324,609	211,495	62,884
35	1	71,734	65,456	539,644	354,946	45,746

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

Таблиця 3

**Розподіл експериментальних груп щурів у кластери
за дії гістаміну і ГХН за показниками ПОЛ–АОС на 7-му добу досліді**

Група	ТБК- ПП	ГП	СОД	КАТ	ГПО	Кластер
Легеня; ГХН, 5 мг/л	160	6	569	136	38	1
Легеня; ГХН, 20 мг/л	204	221	65	89	122	2
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг	166	126	149	294	240	3
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	165	5	763	159	33	4
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	105	230	454	134	108	5
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг	138	53	72	131	388	6
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	156	120	363	121	35	7
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	99	202	47	171	141	8
Нирка; ГХН, 5 мг/л	150	75	135	98	25	9
Нирка; ГХН, 20 мг/л	167	141	162	94	14	10
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг	122	177	93	32	74	11
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	160	127	391	61	69	12
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	105	94	148	84	9	13
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг	98	287	128	79	63	14
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	131	109	151	85	42	15
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	103	121	257	81	15	16
Печінка; ГХН, 5 мг/л	105	58	57	173	152	17
Печінка; ГХН, 20 мг/л	95	83	150	151	91	18
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг	78	55	36	108	285	19
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	91	81	38	133	38	20
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	130	102	107	112	65	15
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг	53	142	25	133	243	21
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	109	92	54	148	52	20
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	82	121	58	190	120	22
Плазма; ГХН, 5 мг/л	102	157	186	40	89	11
Плазма; ГХН, 20 мг/л	239	122	82	41	49	23
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг	102	73	149	190	187	24
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	98	231	307	16	51	25
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	155	94	566	47	21	26
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг	406	59	121	61	85	27
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	109	220	127	37	94	28
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	231	48	436	112	15	29
Селезінка; ГХН, 5 мг/л	64	30	16	85	32	30

Закінчення табл. 3

Селезінка; ГХН, 20 мг/л	71	50	268	172	163	31
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг	60	58	130	106	83	32
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	80	64	23	102	101	33
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	39	53	64	65	113	34
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг	120	72	208	119	70	35
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	73	52	38	79	123	33
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	121	70	174	2364	1164	36
Серце; ГХН, 5 мг/л	107	125	486	183	13	37
Серце; ГХН, 20 мг/л	119	91	374	208	11	38
Серце; гістамін, 1 мкг/кг	64	93	68	126	62	39
Серце; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	114	117	499	187	8	37
Серце; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	111	91	398	166	12	40
Серце; гістамін, 8 мкг/кг	93	137	271	156	83	41
Серце; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	94	74	532	176	18	42
Серце; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	89	91	489	165	13	42

Таблиця 4

Усереднення показників ПОЛ–АОС у кластерах експериментальних груп щурів за впливу гістаміну і ГХН на 7-му добу досліду

Кластер	Кількість груп у кластері	ТБК-ПП, М±m, p	ГП, М±m, p	СОД, М±m, p	КАТ, М±m, p	ГПО, М±m, p
1	1	159,533	5,846	568,796	135,688	38,409
2	1	203,919	220,642	65,239	88,884	122,166
3	1	165,623	125,816	149,492	294,154	240,312
4	1	164,618	5,140	762,598	158,586	32,956
5	1	104,559	230,484	453,975	134,469	108,104
6	1	138,466	53,288	71,552	130,775	388,219
7	1	156,173	119,528	362,675	120,810	35,439
8	1	98,825	202,416	47,458	171,095	140,782
9	1	150,329	75,246	134,549	97,942	25,016
10	1	166,600	141,175	162,021	93,712	14,411
11	2	112,033±10,401 **	166,839±10,087 ***	139,956±46,462	36,086±3,677 **	81,623±7,404 **
12	1	160,431	126,614	390,588	61,234	69,148
13	1	105,041	93,509	147,592	83,514	8,513
14	1	98,457	287,376	128,232	78,701	63,319
15	2	130,754±0,693 ***	105,671±3,563 ***	129,069±22,191 *	98,883±13,390 *	53,236±11,428

Закінчення табл. 4

16	1	102,588	121,101	257,079	81,339	14,8567
17	1	105,339	57,819	57,302	172,712	152,313
18	1	94,659	82,897	150,322	151,382	90,662
19	1	78,105	55,278	36,470	107,727	284,592
20	2	99,828±9,294 *	86,313±5,493 *	45,832±7,803	140,579±7,562 **	45,234±6,874 *
21	1	53,429	141,676	24,891	132,753	243,290
22	1	81,609	120,919	57,576	190,176	120,299
23	1	239,059	121,556	81,748	40,922	48,850
24	1	101,539	72,585	149,282	189,857	187,039
25	1	98,462	230,739	307,015	16,083	51,069
26	1	154,505	93,594	566,217	46,773	20,821
27	1	406,070	58,587	121,410	60,756	84,630
28	1	109,342	220,434	127,056	36,694	93,745
29	1	231,291	47,892	435,704	112,256	14,713
30	1	63,757	30,300	16,303	85,295	31,628
31	1	70,810	50,400	268,470	171,940	162,730
32	1	60,200	57,600	129,980	106,410	82,610
33	2	76,340±3,430 ***	57,935±5,805 *	30,385±7,305	89,560±10,940 *	111,550±11,200 *
34	1	39,040	53,480	64,240	65,040	112,990
35	1	120,380	71,600	207,770	118,990	69,670
36	1	120,610	69,660	173,890	236,310	116,460
37	2	110,823±3,512 ***	120,723±3,924 ***	492,360±6,324 ***	185,038±2,446 ***	10,627±2,276
38	1	119,283	90,933	373,828	207,925	11,276
39	1	63,502	92,765	68,030	125,923	62,324
40	1	110,964	90,656	397,531	165,818	12,389
41	1	93,189	137,059	271,026	156,466	83,446
42	2	91,567±2,111 ***	82,544±8,139 *	510,443±21,799 **	170,482±5,228 **	15,498±2,684 *

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

Таблиця 5

**Розподіл експериментальних груп щурів у кластери
за дії гістаміну і ГХН за показниками ПОЛ–АОС на 14-ту добу дослідю**

Група	ТБК-ПП	ГП	СОД	КАТ	ГПО	Кластер
Легеня; ГХН, 5 мг/л	202	40	630	233	25	1
Легеня; ГХН, 20 мг/л	156	195	318	80	34	2
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг	148	107	141	285	96	3
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	224	96	722	170	71	4
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	165	224	87	80	56	5
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг	194	98	125	254	158	6
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	129	8	862	237	30	7
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	170	157	79	209	96	8
Нирка; ГХН, 5 мг/л	160	218	482	92	12	9
Нирка; ГХН, 20 мг/л	118	219	268	94	12	10
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг	110	154	136	36	60	11
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	138	49	526	89	11	12
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	173	71	222	88	22	13
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг	102	158	182	94	79	14
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	129	88	630	77	22	15
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	167	135	278	85	8	16
Печінка; ГХН, 5 мг/л	36	63	62	253	27	17
Печінка; ГХН, 20 мг/л	117	93	153	262	84	18
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг	93	58	40	88	355	19
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	107	78	39	153	86	20
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	86	90	96	247	101	21
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг	70	96	9	163	275	22
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	47	89	34	152	74	23
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	153	92	90	250	69	24
Плазма; ГХН, 5 мг/л	112	162	258	50	41	25
Плазма; ГХН, 20 мг/л	129	107	279	34	55	26
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг	84	56	122	144	83	27
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	111	275	170	32	44	28
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	85	70	203	75	68	29
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг	147	61	143	126	66	30
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	86	186	264	55	38	31
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	94	82	179	250	30	32
Селезінка; ГХН, 5 мг/л	48	19	62	63	118	33

Закінчення табл. 5

Селезінка; ГХН, 20 мг/л	64	32	176	61	116	34
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг	49	45	517	83	65	35
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	104	31	230	51	152	36
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	40	26	92	27	145	33
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг	97	32	20	60	71	37
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	77	47	113	59	199	38
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	85	25	118	71	8	39
Серце; ГХН, 5 мг/л	69	62	579	223	40	40
Серце; ГХН, 20 мг/л	67	109	491	191	2	41
Серце; гістамін, 1 мкг/кг	71	80	320	143	31	42
Серце; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	64	62	374	166	33	42
Серце; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	89	84	416	187	5	43
Серце; гістамін, 8 мкг/кг	80	111	42	152	63	44
Серце; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	84	62	565	324	36	45
Серце; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	124	61	329	266	9	46

Таблиця 6

**Усереднення показників ПОЛ–АОС у кластерах
експериментальних груп щурів за впливу гістаміну
і ГХН на 14-ту добу досліді**

Кластер	Кількість груп у кластері	ТБК-ПП, М±m, p	ГП, М±m, p	СОД, М±m, p	КАТ, М±m, p	ГПО, М±m, p
1	1	202,117	40,018	629,741	232,586	25,007
2	1	155,934	194,603	318,050	80,227	34,426
3	1	148,331	107,109	140,914	284,824	96,305
4	1	223,510	95,573	721,665	169,727	7,162
5	1	164,709	224,092	86,994	80,227	56,297
6	1	193,788	97,736	124,641	253,673	157,895
7	1	128,587	7,748	862,363	237,115	30,174
8	1	170,222	157,417	78,578	208,631	96,424
9	1	159,553	217,988	482,415	91,879	12,062
10	1	118,013	218,804	267,660	93,800	11,772
11	1	109,741	153,666	136,464	36,117	59,847
12	1	138,259	49,470	526,106	89,027	11,105
13	1	172,569	70,906	221,516	87,547	22,062
14	1	102,244	158,372	181,853	94,049	79,323
15	1	129,239	87,765	630,262	77,224	22,024
16	1	166,884	134,953	278,181	84,889	7,753
17	1	36,016	62,941	62,168	252,631	26,728
18	1	116,694	93,171	153,309	261,591	84,362
19	1	92,994	57,658	39,761	87,719	355,326
20	1	107,336	77,528	38,720	152,943	86,071
21	1	86,418	89,779	95,529	247,035	100,804
22	1	70,459	96,034	9,188	163,037	275,282
23	1	47,067	88,863	34,138	151,970	73,577
24	1	153,267	92,142	90,248	249,577	68,880
25	1	111,764	162,341	258,039	49,864	41,282
26	1	128,694	106,553	278,568	33,618	55,035
27	1	83,569	56,448	121,741	143,936	82,776
28	1	111,401	275,157	169,582	32,380	43,839
29	1	84,869	70,126	202,819	75,311	67,981
30	1	147,159	60,623	142,728	126,300	65,512

Закінчення табл. 6

31	1	86,438	185,814	264,214	55,398	37,812
32	1	94,381	81,579	178,962	250,195	30,208
33	2	44,135±4,235*	22,475±3,555*	76,610±14,940	44,695±18,025	131,645±13,175**
34	1	64,290	31,960	176,010	61,330	116,020
35	1	48,810	44,810	516,600	82,910	65,150
36	1	103,510	30,900	229,980	51,210	151,530
37	1	96,800	31,840	19,790	60,200	70,880
38	1	76,820	47,340	112,930	59,400	198,700
39	1	84,810	25,370	117,900	70,810	7,880
40	1	69,236	61,578	578,646	223,172	40,061
41	1	66,551	108,812	491,003	190,935	2,49
42	2	67,276±3,500**	71,031±8,590*	346,899±27,015**	154,891±11,585**	32,028±1,096***
43	1	89,186	83,630	416,386	186,829	4,892
44	1	80,012	110,625	42,233	152,480	62,510
45	1	84,216	62,093	564,956	323,641	36,107
46	1	124,129	60,912	329,273	266,256	8,551

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

Таблиця 7

Розподіл експериментальних груп щурів у кластери за дії гістаміну і ГХН за показниками ПОЛ–АОС на 21-шу добу досліду

Група	ТБК-ПІП	ГП	СОД	КАТ	ГПО	Кластер
Легеня; ГХН, 5 мг/л	266	115	615	191	48	1
Легеня; ГХН, 20 мг/л	146	183	208	112	62	2
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг	152	136	160	128	196	3
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	185	42	863	146	34	4
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	198	234	434	129	24	5
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг	211	194	90	122	196	6
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	140	15	678	182	67	7
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	218	246	248	131	43	8
Нирка; ГХН, 5 мг/л	197	50	481	85	10	9
Нирка; ГХН, 20 мг/л	130	236	233	131	7	10
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг	105	184	142	82	75	2
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	178	60	413	79	17	9
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	130	171	304	94	17	11
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг	118	150	225	101	99	2
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	182	24	499	96	26	9

Закінчення табл. 7

Нирка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	130	163	303	116	19	11
Печінка; ГХН, 5 мг/л	58	60	14	129	36	12
Печінка; ГХН, 20 мг/л	263	101	156	124	85	13
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг	92	44	20	99	289	14
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	50	76	63	131	61	12
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	176	116	125	117	67	15
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг	78	89	8	101	155	16
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	66	51	32	126	72	12
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	179	183	85	116	29	17
Плазма; ГХН, 5 мг/л	96	327	412	39	42	18
Плазма; ГХН, 20 мг/л	249	206	110	52	51	19
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг	123	99	69	19	78	20
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	102	132	183	75	38	21
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	381	103	375	44	75	22
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг	132	98	112	71	101	20
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	105	97	241	58	48	21
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	355	81	166	41	27	23
Селезінка; ГХН, 5 мг/л	54	30	119	60	104	24
Селезінка; ГХН, 20 мг/л	58	38	358	66	4	25
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг	53	20	38	32	101	24
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	124	40	73	84	138	26
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	51	46	316	69	68	27
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг	89	5	72	35	11	28
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	81	36	211	72	57	27
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	85	38	323	75	75	27
Серце; ГХН, 5 мг/л	87	92	575	345	23	29
Серце; ГХН, 20 мг/л	80	73	212	241	10	30
Серце; гістамін, 1 мкг/кг	80	103	209	112	73	21
Серце; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	114	58	621	341	62	29
Серце; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	91	62	113	328	21	31
Серце; гістамін, 8 мкг/кг	72	113	112	94	37	21
Серце; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	93	46	503	302	59	29
Серце; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	74	71	203	370	17	31

Таблиця 8

Усереднення показників ПОЛ–АОС у кластерах експериментальних груп щурів за впливу гістаміну і ГХН на 21-шу добу досліду

Кла-стер	Кількість груп у кластері	ТБК-ПП, М±m, p	ГП, М±m, p	СОД, М±m, p	КАТ, М±m, p	ГПО, М±m, p
1	1	266,299	114,576	615,091	191,363	48,092
2	3	122,789±12,043 **	172,473±11,261 ***	191,744±25,264 **	98,205±8,676 **	78,539±10,787 **
3	1	152,082	135,684	159,914	128,302	195,757
4	1	185,113	41,602	862,894	145,816	34,363
5	1	197,843	233,999	434,311	129,406	24,343
6	1	210,969	193,963	89,918	122,056	195,757
7	1	140,328	14,644	678,383	182,473	67,477
8	1	217,892	246,059	247,808	131,328	42,600
9	3	185,738±5,659 ***	44,642±10,766	464,700±26,157 ***	86,661±4,977 ***	17,670±4,460
10	1	129,693	236,426	232,995	130,999	7,434
11	2	130,016±0,014 ***	167,198±3,875 ***	303,519±0,216 ***	105,116±10,969 **	17,769±0,999 **
12	3	58,045±4,756 ***	62,484±7,348 ***	36,410±14,110	128,857±1,301 ***	56,327±10,584 *
13	1	263,326	100,642	156,491	124,228	85,237
14	1	92,297	44,192	19,711	98,851	289,193
15	1	176,399	115,988	125,306	116,618	67,192
16	1	78,385	89,292	7,887	101,132	155,040
17	1	178,894	182,655	85,143	115,957	29,220
18	1	95,608	327,447	412,152	39,271	42,468
19	1	248,645	205,525	109,669	52,268	50,749
20	2	127,500±4,433 **	98,632±0,451 ***	90,720±21,460	45,026±26,196	89,639±11,142 *
21	4	89,835±8,175 ***	111,189±7,544 ***	186,341±27,568 ***	84,830±11,556 **	49,244±8,441 **
22	1	380,854	103,178	375,025	43,988	75,127
23	1	354,544	80,634	165,807	40,626	27,041
24	2	53,440±0,210 ***	25,110±5,320	78,765±40,625	45,895±14,305	102,855±1,385 ***
25	1	57,970	38,190	358,120	66,020	3,820
26	1	123,860	39,960	72,630	83,710	137,540
27	3	72,363±10,659 **	39,893±3,092 **	283,327±36,013 **	72,127±1,478 **	66,287±5,240 **
28	1	88,910	5,130	71,500	34,700	10,820
29	3	97,759±8,154 ***	65,204±13,875 *	566,114±34,415 ***	329,413±13,524 ***	48,123±12,651 ***

Закінчення табл. 8

30	1	79,727	72,822	211,501	241,209	10,033
31	2	82,745±8,422 *	66,444±4,471 **	157,869±45,193 ***	348,864±21,209 ***	19,170±2,104 *

Примітки: * – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$

Таблиця 9

Результати факторного аналізу експериментальних груп щурів за дії гістаміну і ГХН за показниками ПОЛ–АОС на 1-шу добу дослідю

Група	Фактор I (СОД, КАТ, ГПО)	Фактор II (ТБК-ПП, ГП, ГПО)
Легеня; ГХН, 5 мг/л	0,22164	0,75713
Легеня; ГХН, 20 мг/л	-0,81603	2,31985
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг	1,04862	-0,75634
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,58053	-0,15305
Легеня; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	-0,4529	1,69252
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг	0,8476	-0,81452
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,44816	1,42683
Легеня; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,12196	1,06835
Нирка; ГХН, 5 мг/л	-0,24971	-0,07816
Нирка; ГХН, 20 мг/л	-0,5008	1,58154
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг	-0,68062	-0,05729
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,72484	0,24238
Нирка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	-0,23322	1,53884
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг	-0,41721	-0,20739
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	0,54275	0,00991
Нирка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	-0,11553	0,22309
Печінка; ГХН, 5 мг/л	-0,29421	0,2073
Печінка; ГХН, 20 мг/л	-0,20408	0,04205
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг	-0,61573	-0,47931
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	-0,29049	0,24224
Печінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	-0,0218	1,36765
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг	-0,72845	-0,11412
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	-0,21955	0,19383
Печінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	-0,46927	0,77211
Плазма; ГХН, 5 мг/л	-0,16292	0,6726
Плазма; ГХН, 20 мг/л	-0,63611	1,42834

Закінчення табл. 9

Плазма; гістамін, 1 мкг/кг	-0,78264	-0,63924
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	-0,18147	0,43009
Плазма; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	-0,34723	0,90278
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг	-0,86161	-0,6972
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	-0,2608	0,69861
Плазма; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	-0,02287	0,46868
Селезінка; ГХН, 5 мг/л	-3,06627	-3,41405
Селезінка; ГХН, 20 мг/л	-0,43647	-0,47034
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг	-0,60168	-0,95413
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	-0,86286	-0,70345
Селезінка; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	-0,40732	-0,88367
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг	-0,15847	-0,61157
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	-0,4955	-0,66349
Селезінка; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	-1,20231	-1,10576
Серце; ГХН, 5 мг/л	3,13156	-1,23981
Серце; ГХН, 20 мг/л	1,10301	-0,32981
Серце; гістамін, 1 мкг/кг	0,25027	-0,57231
Серце; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	2,6394	-1,09006
Серце; гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	0,0213	-0,17116
Серце; гістамін, 8 мкг/кг	0,79082	-0,74582
Серце; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	2,13348	-0,79142
Серце; гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	1,1902	-0,54325

ДОДАТОК В

Таблиця 1

Кореляційна залежність показників прооксидантно-антиоксидантного стану і мембранопов'язаних процесів у інтактних зародках в'юна на етапі розвитку 2 бластомери, n=10

Показ- ник	ДК	ТВК-ПП	СОД	КАТ	ГПО	ГТ	ВГ	КБ нейтр. хар.	КБ осн. хар.	Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	Ca ²⁺ -АТФаза
ДК	1										
ДК		-0,254	0,225	0,076	0,624	0,544	-0,127	0,106	0,320	-0,155	0,191
ТВК-ПП		1	0,095	0,137	0,187	0,038	0,274	-0,175	-0,592	-0,168	0,119
СОД			1	0,626	0,208	-0,280	-0,577	-0,142	0,058	0,424	0,156
КАТ				1	0,461	0,019	0,079	-0,107	0,050	0,165	0,339
ГПО					1	0,851 **	0,205	-0,062	0,035	-0,180	0,177
ГТ						1	0,343	0,010	0,051	-0,415	0,012
ВГ							1	0,284	0,089	-0,127	0,203
КБ нейтр. хар.								1	0,842 *	-0,090	0,045
КБ осн. хар.									1	0,164	0,145
Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза										1	0,752 *
Ca ²⁺ -АТФаза											1

Таблиця 2

Кореляційна залежність показників прооксидантно-антиоксидантного стану і мембранопов'язаних процесів у інтактних зародках в'юна на етапі розвитку 16 бластомерів, n=10

Показник	ДК	ТБК-ПП	СОД	КАТ	ГПО	ГТ	ВГ	КБ нейтр. хар.	КБ осн. хар.	Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	Ca ²⁺ -АТФаза
ДК	1										
ТБК-ПП	0,059	1									
СОД	0,175	0,300	1								
КАТ	-0,025	0,464	0,094	1							
ГПО	0,384	0,379	0,853**	-0,004	1						
ГТ	-0,224	0,157	-0,325	-0,308	-0,078	1					
ВГ	0,318	-0,194	-0,125	0,226	-0,195	-0,830*	1				
КБ нейтр. хар.	-0,415	-0,004	-0,552	-0,261	-0,472	0,902**	-0,700*	1			
КБ осн. хар.	-0,516	-0,081	-0,511	-0,211	-0,521	0,813*	-0,732*	0,959**	1		
Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	0,130	0,330	0,116	0,671	0,055	0,053	-0,052	0,056	0,010	1	
Ca ²⁺ -АТФаза	0,099	-0,184	0,549	-0,069	0,470	-0,116	-0,058	-0,243	-0,282	0,469	1

Таблиця 3

Кореляційна залежність показників прооксидантно-антиоксидантного стану і мембранопов'язаних процесів у інтактних зародках в'юна на етапі розвитку 64 бластомери, n=10

Показник	ДК	ТБК-ПП	СОД	КАТ	ГПО	ГТ	ВГ	КБ нейтр. хар.	КБ оен. Хар.	Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	Са ²⁺ -АТФаза
ДК	1										
ТБК-ПП	0,385	1									
СОД	0,793 *	0,541	1								
КАТ	0,200	0,383	0,178	1							
ГПО	-0,233	-0,217	-0,448	0,093	1						
ГТ	0,053	-0,012	0,243	-0,411	-0,623	1					
ВГ	-0,653	-0,480	-0,782 *	0,046	-0,075	-0,084	1				
КБ нейтр. хар.	-0,053	-0,044	0,201	0,447	0,057	-0,385	-0,023	1			
КБ оен. Хар.	0,081	-0,016	0,314	0,582	-0,078	-0,167	-0,040	0,915 **	1		
Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	0,225	-0,490	0,287	0,026	-0,256	0,393	-0,133	0,230	0,429	1	
Са ²⁺ -АТФаза	0,375	-0,067	0,297	-0,170	-0,351	0,398	-0,141	0,168	0,343	0,344	1

Таблиця 4

Кореляційна залежність показників прооксидантно-антиоксидантного стану і мембранопов'язаних процесів у інтактних зародках в'юна на етапі розвитку 256 бластомерів, n=10

Показник	ДК	ТВК-ПП	СОД	КАТ	ГПО	ГТ	ВГ	КБ нейтр. хар.	КБ осн. хар.	Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	Ca ²⁺ -АТФаза
ДК	1										
ТВК-ПП	-0,256	1									
СОД	0,028	0,260	1								
КАТ	0,275	-0,711*	0,139	1							
ГПО	0,488	-0,259	0,475	0,060	1						
ГТ	0,547	-0,538	0,233	0,335	0,765*	1					
ВГ	0,296	-0,370	-0,243	0,431	-0,123	0,311	1				
КБ нейтр. хар.	-0,152	-0,061	-0,558	0,210	-0,552	-0,405	0,258	1			
КБ осн. хар.	-0,277	-0,043	-0,618	0,196	-0,794*	-0,450	0,272	0,896***	1		
Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	0,500	-0,106	0,505	0,593	0,247	0,316	0,195	0,177	0,049	1	
Ca ²⁺ -АТФаза	0,319	0,062	-0,270	-0,550	0,397	0,330	-0,314	-0,392	-0,376	-0,427	1

Таблиця 5

Кореляційна залежність показників прооксидантно-антиоксидантного стану і мембранопов'язаних процесів у інтактних зародках в'юна на етапі розвитку 1024 бластомери, n=10

Показник	ДК	ТБК-ПП	СОД	КАТ	ГПО	ГТ	ВГ	КБ нейтр. хар.	КБ осн. хар.	Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	Ca ²⁺ -АТФаза
ДК	1										
ТБК-ПП	-0,555	1									
СОД	-0,267	0,271	1								
КАТ	0,800**	0,617	0,075	1							
ГПО	0,167	-0,198	-0,150	-0,254	1						
ГТ	-0,334	-0,030	0,331	-0,081	0,048	1					
ВГ	0,247	0,190	0,000	0,048	-0,101	-0,881**	1				
КБ нейтр. хар.	-0,531	0,296	0,363	-0,499	0,247	0,216	-0,133	1			
КБ осн. хар.	0,479	0,120	0,203	0,310	0,129	0,139	0,162	0,922**	1		
Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	-0,188	-0,375	0,416	-0,108	0,057	0,181	-0,092	-0,023	-0,042	1	
Ca ²⁺ -АТФаза	-0,247	0,550	0,245	-0,029	-0,128	0,126	-0,076	0,441	0,522	-0,521	1

Таблиця 6

Кореляційна залежність показників прооксидантно-антиоксидантного стану і мембранопов'язаних процесів у зародках в'юна на етапі розвитку 2 бластомери за дії гіпохлориту натрію, n=7

Показник	ГХН	ДК	ТБК-ПП	СОД	КАТ	ГПО	ГТ	ВГ	КБ нейтр. хар.	КБ осн. хар.	Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	Ca ²⁺ -АТФаза
ГХН	1											
ДК	-0,943 *	1										
ТБК-ПП	-0,205	0,268	1									
СОД	-0,240	0,326	0,690	1								
КАТ	0,186	-0,237	0,596	-0,009	1							
ГПО	-0,437	0,245	0,514	0,381	0,536	1						
ГТ	-0,348	0,208	0,011	-0,323	0,078	-0,008	1					
ВГ	0,375	-0,439	0,667	0,183	0,899 *	0,462	0,074	1				
КБ нейтр. хар.	0,013	-0,114	-0,314	-0,301	0,140	0,381	-0,542	-0,091	1			
КБ осн. хар.	-0,434	0,448	-0,133	0,073	-0,221	0,306	-0,576	-0,457	0,766	1		
Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	-0,937 *	0,924 *	0,493	0,541	-0,063	0,541	0,194	-0,177	-0,102	0,397	1	
Ca ²⁺ -АТФаза	-0,912 *	0,960 *	0,211	0,138	-0,096	0,229	0,333	-0,374	-0,097	0,360	0,844 *	1

Таблиця 7

Кореляційна залежність показників прооксидантно-антиоксидантного стану і мембранопов'язаних процесів у зародках в'юна на етапі розвитку 16 бластомерів за дії гіпохлориту натрію, n=7

Показник	ГХН	ДК	ТБК-ПП	СОД	КАТ	ГПО	ГТ	ВГ	КБ нейтр. хар.	КБ осн. хар.	Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	Ca ²⁺ -АТФаза
ГХН	1											
ДК	-0,970**	1										
ТБК-ПП	0,364	-0,280	1									
СОД	-0,330	0,192	-0,897*	1								
КАТ	-0,845*	0,890*	-0,185	0,103	1							
ГПО	-0,120	0,239	0,299	-0,150	0,461	1						
ГТ	-0,393	0,537	0,172	-0,323	0,247	0,146	1					
ВГ	0,852*	-0,805	0,539	-0,616	-0,756	-0,249	-0,090	1				
КБ нейтр. хар.	-0,317	0,350	0,132	-0,354	0,451	0,055	0,236	0,121	1			
КБ осн. хар.	0,858*	-0,853*	0,091	-0,043	-0,701	0,044	-0,418	0,715	-0,118	1		
Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	-0,954***	0,960***	-0,119	0,128	0,849*	0,319	0,525	-0,757	0,380	-0,818	1	
Ca ²⁺ -АТФаза	-0,941*	0,949*	-0,323	0,183	0,831	-0,011	0,429	-0,777	0,501	-0,934*	0,866*	1

Таблиця 8

Кореляційна залежність показників прооксидантно-антиоксидантного стану і мембранопов'язаних процесів у зародках в'юна на етапі розвитку 64 бластомери за дії гіпохлориту натрію, n=7

Показник	ГХН	ДК	ТБК-ПП	СОД	КАТ	ГПО	ГТ	ВГ	КБ нейтр. хар.	КБ осн. хар.	Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	Ca ²⁺ -АТФаза
ГХН	1											
ДК	0,234	1										
ТБК-ПП	0,115	-	1									
СОД	-0,911*	-0,504	-0,217	1								
КАТ	0,150	0,002	-0,438	0,007	1							
ГПО	0,672	0,629	-0,203	-0,769	0,506	1						
ГТ	-0,085	0,082	0,025	-0,042	0,217	0,396	1					
ВГ	0,193	0,355	-0,866*	-0,152	0,141	0,330	-0,094	1				
КБ нейтр. хар.	0,729	0,336	-0,377	-0,535	0,292	0,503	-0,194	0,457	1			
КБ осн. хар.	0,896*	0,346	-0,095	-0,766	0,066	0,540	-0,201	0,337	0,928*	1		
Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	-0,848*	-0,559	-0,007	0,898*	-0,269	-0,910*	-0,328	-0,210	-0,664	-0,774	1	
Ca ²⁺ -АТФаза	-0,909*	-0,519	-0,038	0,948*	-0,263	-0,902*	-0,203	-0,221	-0,652	-0,791	0,983**	1

Таблиця 9

Кореляційна залежність показників прооксидантно-антиоксидантного стану і мембранопов'язаних процесів у зародках в'юна на етапі розвитку 256 бластомерів за дії гіпохлориту натрію, n=7

Показник	ГХН	ДК	ТБК-ПП	СОД	КАТ	ГПО	ГТ	ВГ	КБ нейтр. хар.	КБ осн. хар.	Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	Ca ²⁺ -АТФаза
ГХН	1											
ДК	-0,002	1										
ТБК-ПП	0,290	-0,097	1									
СОД	0,008	-0,624	-0,076	1								
КАТ	-0,513	-0,405	-0,231	0,369	1							
ГПО	0,801	-0,204	-0,131	0,154	-0,470	1						
ГТ	-0,626	-0,428	-0,519	0,510	0,898 [*]	-0,339	1					
ВГ	0,264	-0,387	-0,647	0,426	-0,034	0,751	0,276	1				
КБ нейтр. хар.	-0,348	0,157	-0,173	-0,688	0,374	-0,334	0,208	-0,247	1			
КБ осн. хар.	-0,429	0,294	-0,175	-0,654	0,426	-0,436	0,268	-0,323	0,966 ^{***}	1		
Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза	-0,814	-0,500	-0,270	0,311	0,458	-0,499	0,637	0,060	0,086	0,048	1	
Ca ²⁺ -АТФаза	-0,813	-0,342	-0,405	0,315	0,299	-0,401	0,588	0,188	-0,033	-0,034	0,950 [*]	1

Таблиця 10

Кореляційна залежність показників прооксидантно-антиоксидантного стану і мембранопов'язаних процесів у зародках в'юна на етапі розвитку 1024 бластомери за дії гіпохлориту натрію, n=7

Показ- ник	ГХН	ДК	ТБК- ПП	СОД	КАТ	ГПО	ГТ	ВГ	КБ нейтр. хар.	КБ осн. хар.	Na ⁺ , K ⁺ - АТФаза	Ca ²⁺ - АТФаза
ГХН	1											
ДК	0,862	1										
ТБК- ПП	-0,001	0,069	1									
СОД	-0,135	0,209	-0,361	1								
КАТ	-0,559	-0,702	0,340	-0,436	1							
ГПО	0,208	0,338	-0,826	0,550	-0,320	1						
ГТ	0,948 *	0,730	0,037	-0,385	-0,419	0,125	1					
ВГ	-0,565	-0,348	-0,764	0,361	0,139	0,610	-0,553	1				
КБ нейтр. хар.	-0,312	-0,531	0,020	-0,049	0,681	0,197	-0,216	0,188	1			
КБ осн. хар.	-0,337	-0,535	-0,040	0,067	0,626	0,248	-0,277	0,228	0,990 **	1		
Na ⁺ , K ⁺ - АТФаза	-0,794	-0,729	-0,454	-0,005	0,380	0,037	-0,735	0,773	0,100	0,130	1	
Ca ²⁺ - АТФаза	-0,792	-0,663	-0,393	0,042	0,157	-0,053	-0,713	0,703	-0,099	-0,072	0,925 *	1

ДОДАТОК Г

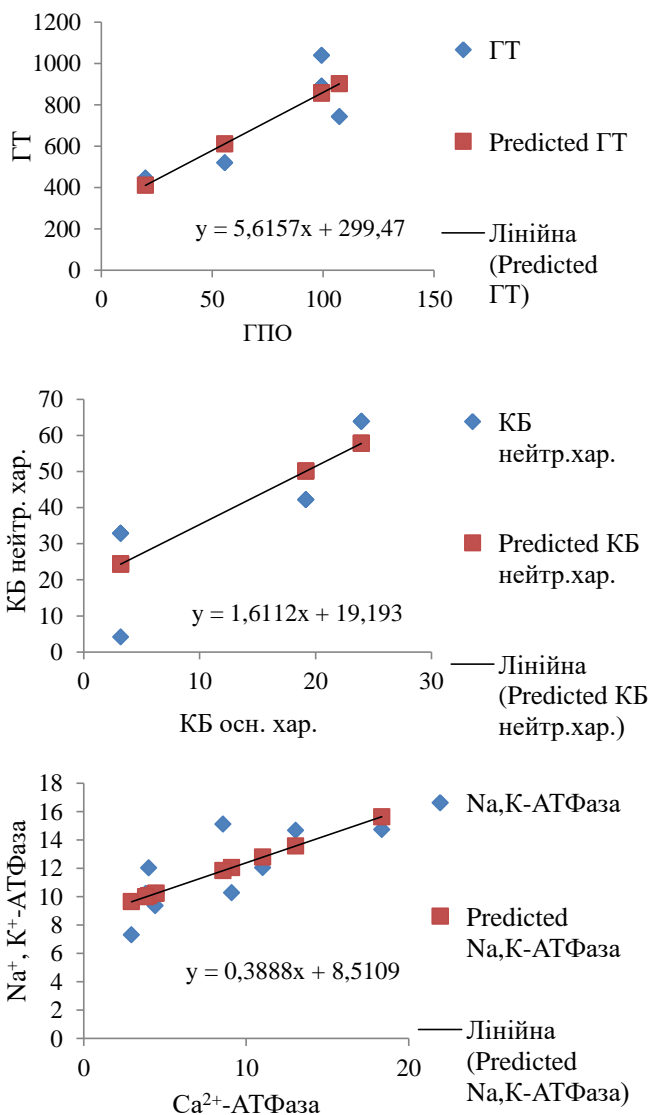


Рис. 1. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (ГТ–ГПО, КБ нейтр. хар.–КБ осн. хар., Na^+ , K^+ -АТФаза– Ca^{2+} -АТФаза) в інтактних зародків в'юна на етапі розвитку 2 бластомери (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

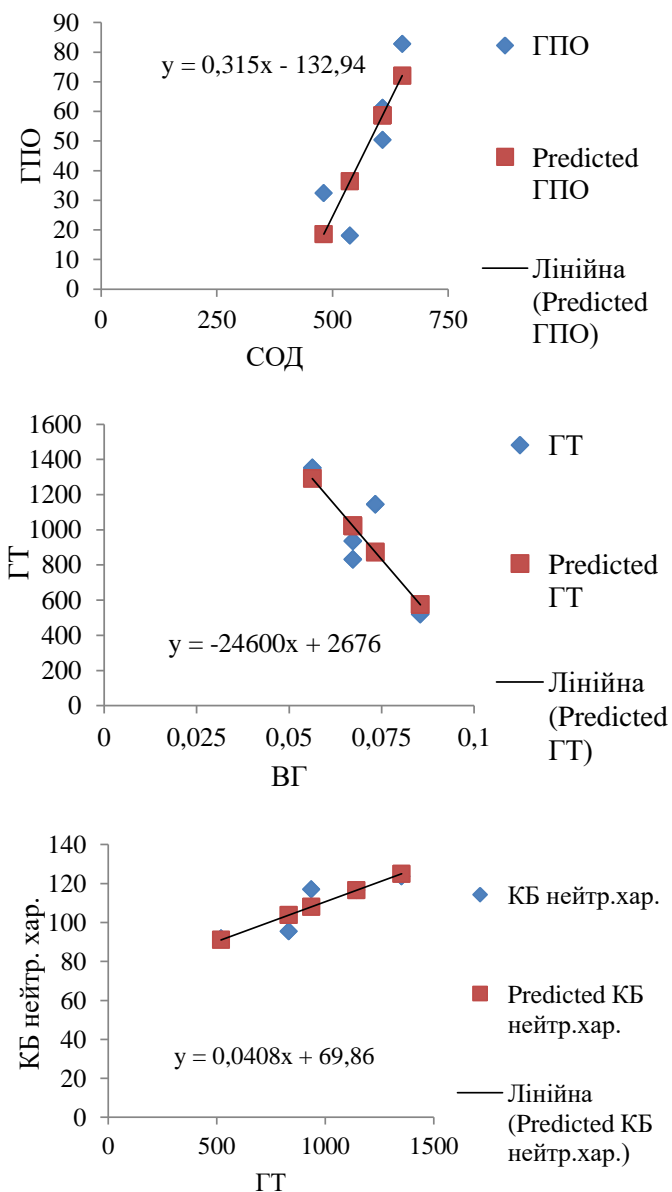


Рис. 2. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (ГПО–СОД, ГТ–ВГ, КБ нейтр. хар.–ГТ) в інтактних зародків в'юна на етапі розвитку 16 бластомерів (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

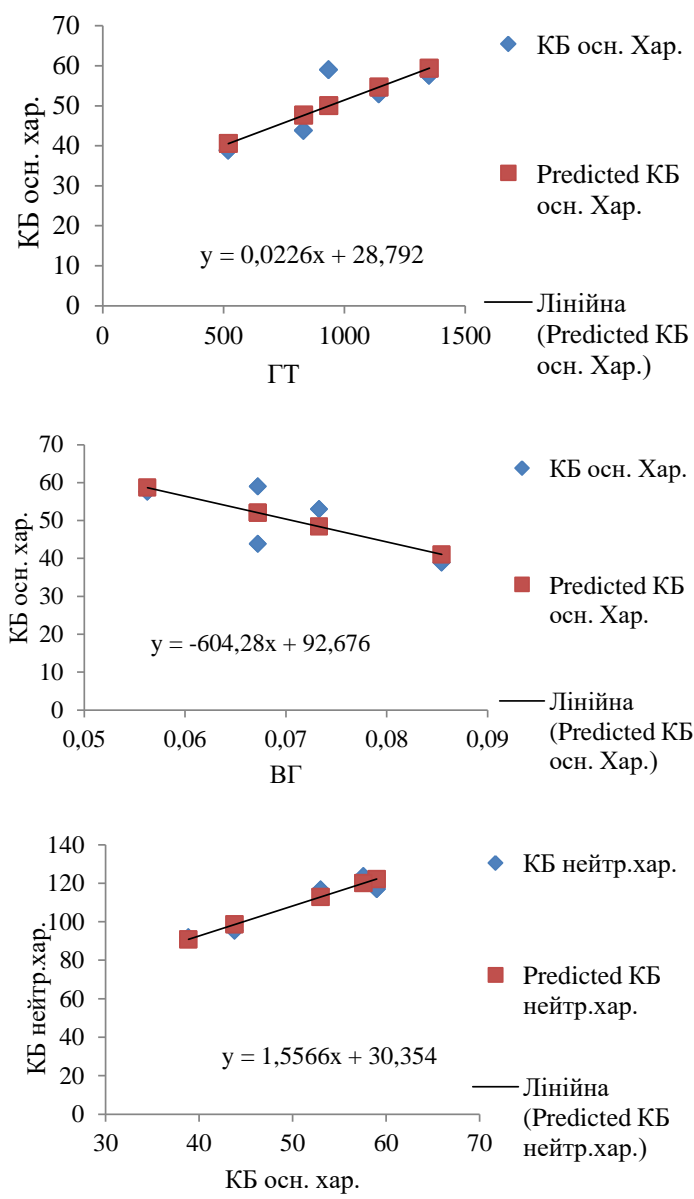


Рис. 3. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (KB осн. хар.–ГТ, KB осн. хар.–ВГ, KB нейтр. хар.– KB осн. хар.) в інтактних зародків в'юна на етапі розвитку 16 бластомерів (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

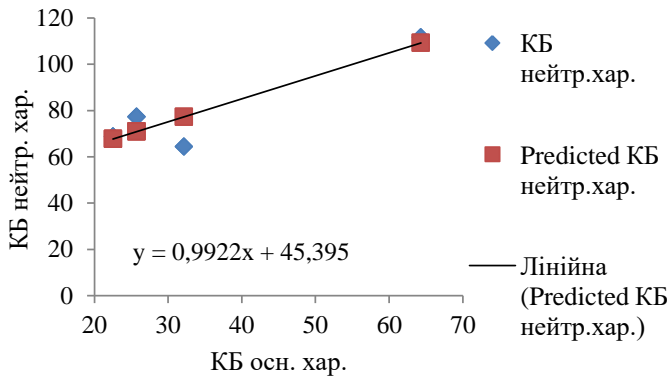
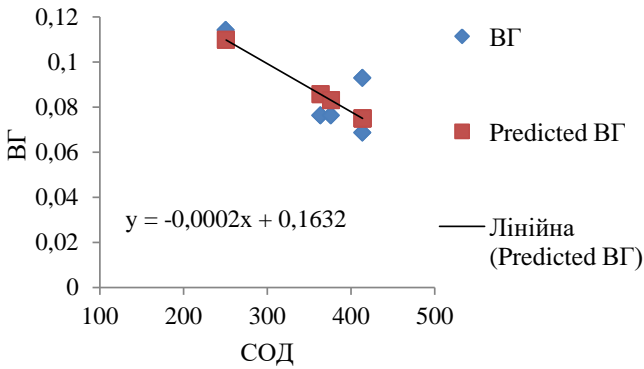
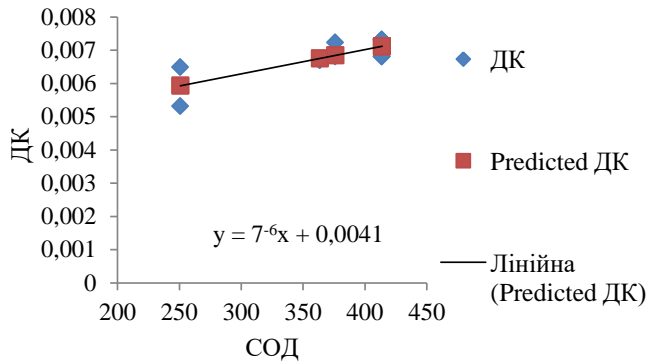


Рис. 4. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану (ДК–СОД, ВГ–СОД, КБ нейтр. хар.– КБ осн. хар.) в інтактних зародків в'юна на етапі розвитку 64 бластомери (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

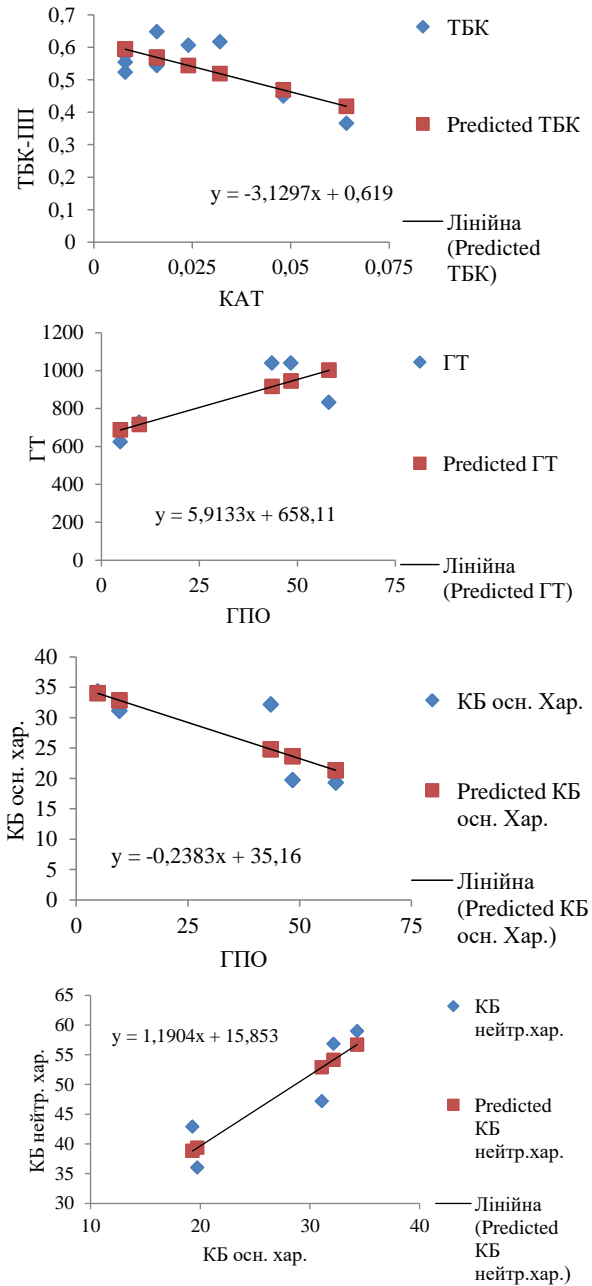


Рис. 5. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану (ТБК-ППП–КАТ, ГТ–ГПО, КБ осн. хар.–ГПО, КБ нейтр. хар.– КБ осн. хар.) в інтактних зародків в'юна на етапі розвитку 256 бластомерів (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

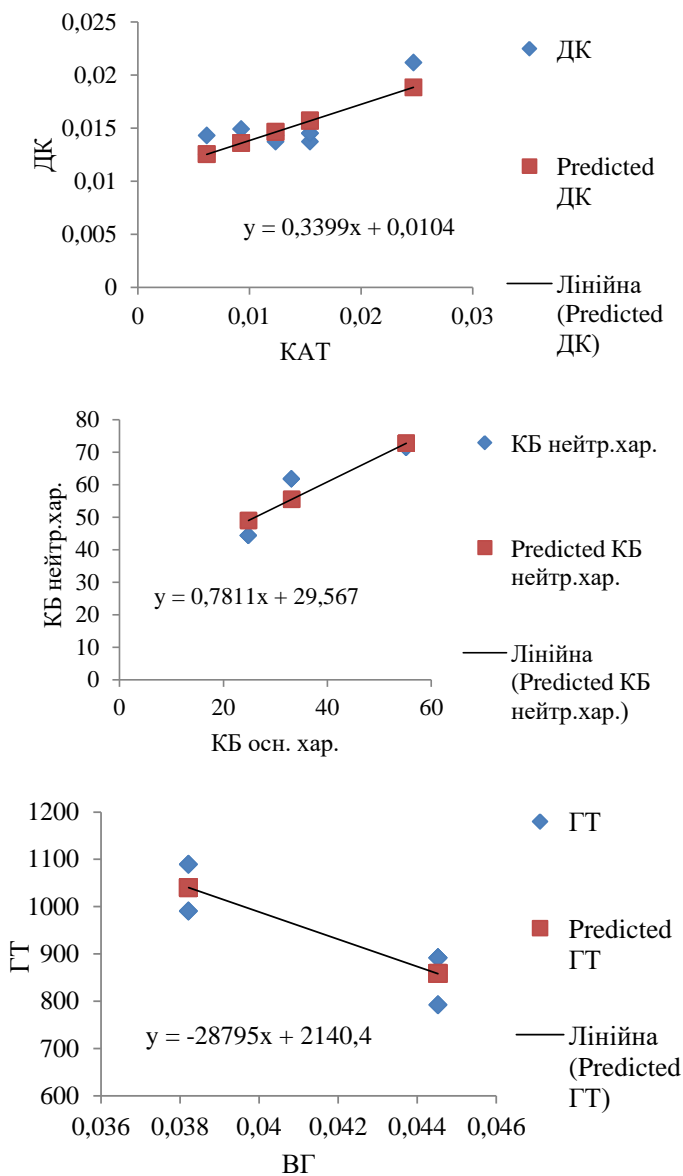


Рис. 6. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану (ДК-КАТ, КБ нейтр. хар.– КБ осн. хар., ГТ–ВГ) в інтактних зародків в'юна на етапі розвитку 1024 бластомери (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

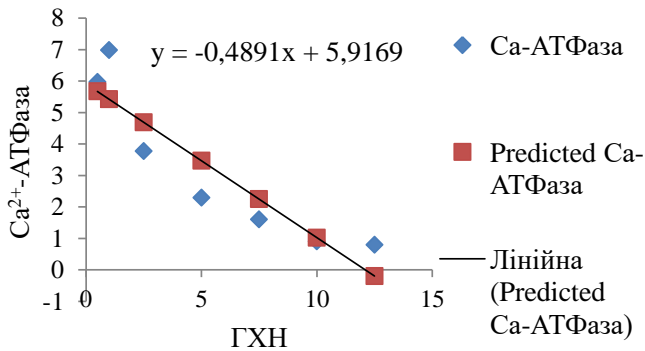
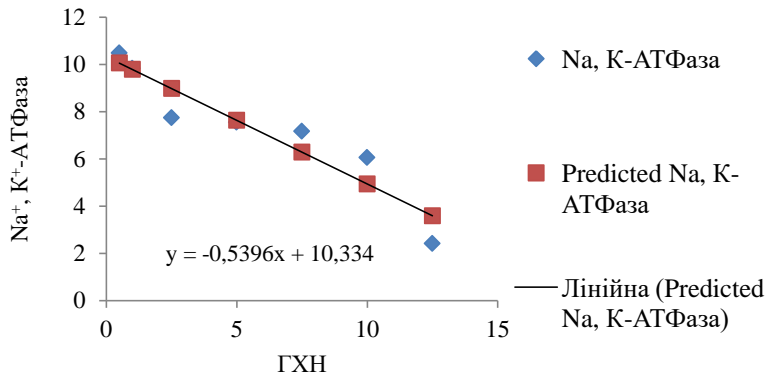
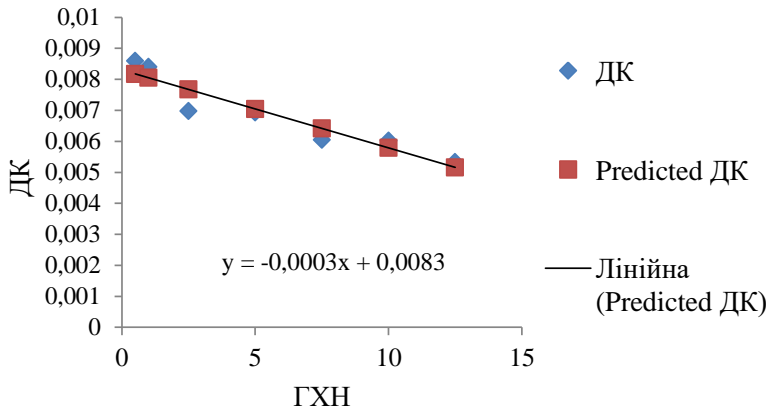


Рис. 7. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (ДК-ГХН, Na^+ , K^+ -АТФаза-ГХН, Ca^{2+} -АТФаза-ГХН) у зародках в'юна на етапі розвитку 2 бластомери за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

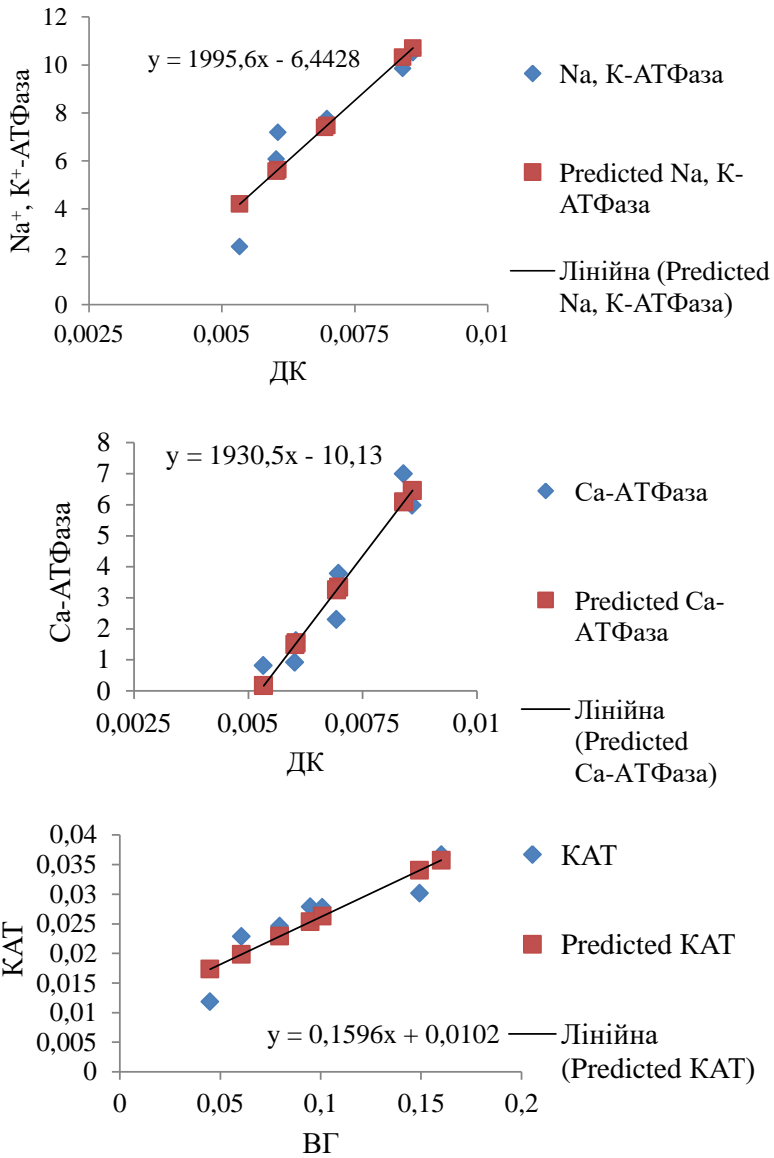


Рис. 8. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (Na⁺, K⁺-ATФазa–ДК, Ca²⁺-ATФазa–ДК, KAT–ВГ) у зародках в'юна на етапі розвитку 2 бластомери за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

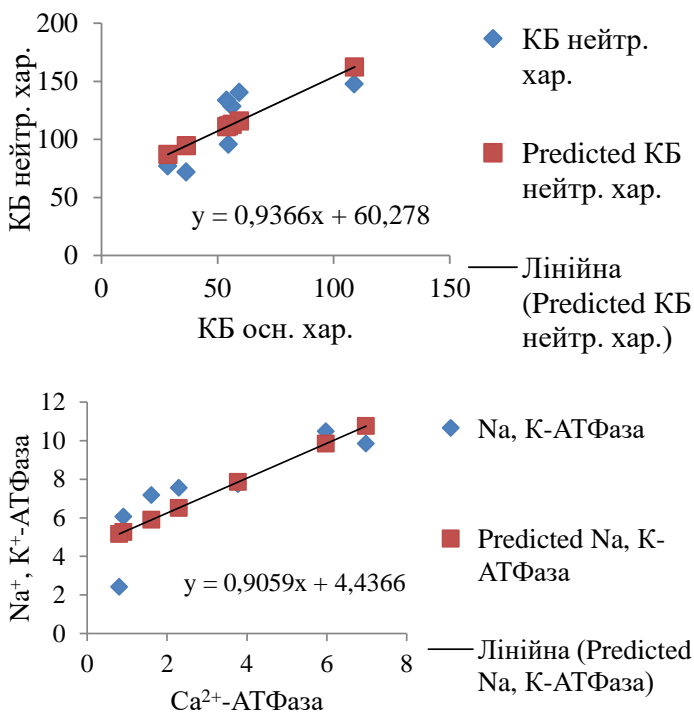


Рис. 9. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (КБ нейтр. хар.–КБ осн. хар., Na⁺, K⁺-АТФаза–Ca²⁺-АТФаза) у зародках в'юна на етапі розвитку 2 бластомери за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

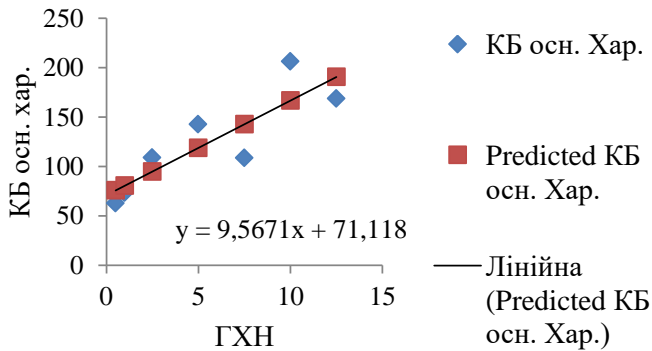
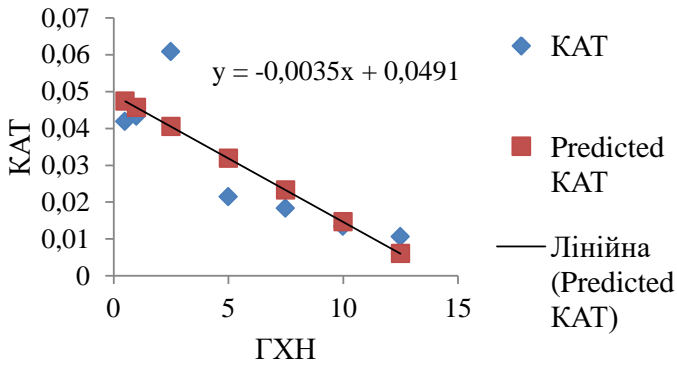
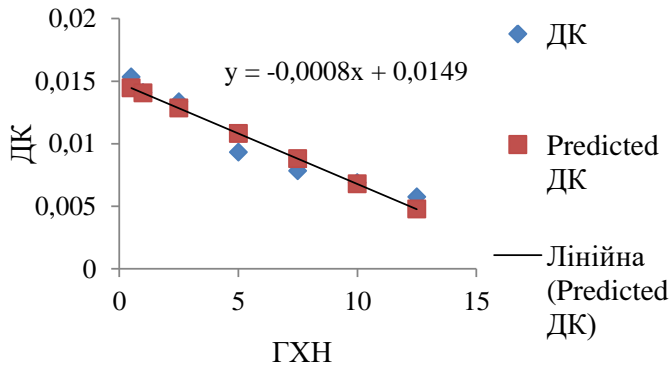


Рис. 10. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану (ДК–ГХН, КАТ–ГХН, КБ осн. хар.–ГХН) у зародках в'юна на етапі розвитку 16 бластомерів за дії гіпохлориту натрію (коєфіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

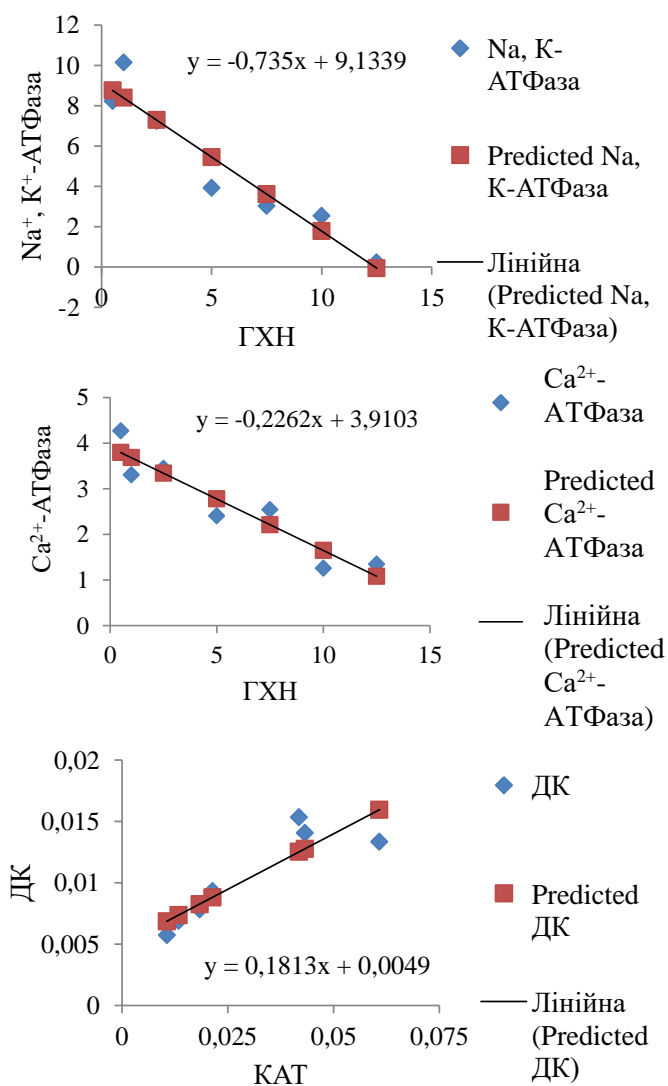


Рис. 11. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (Na⁺, K⁺-АТФаза–ГХН, Ca²⁺-АТФаза–ГХН, ДК–КАТ) у зародках в'юна на етапі розвитку 16 бластомерів за дії гіпохлориту натрію (коєфіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

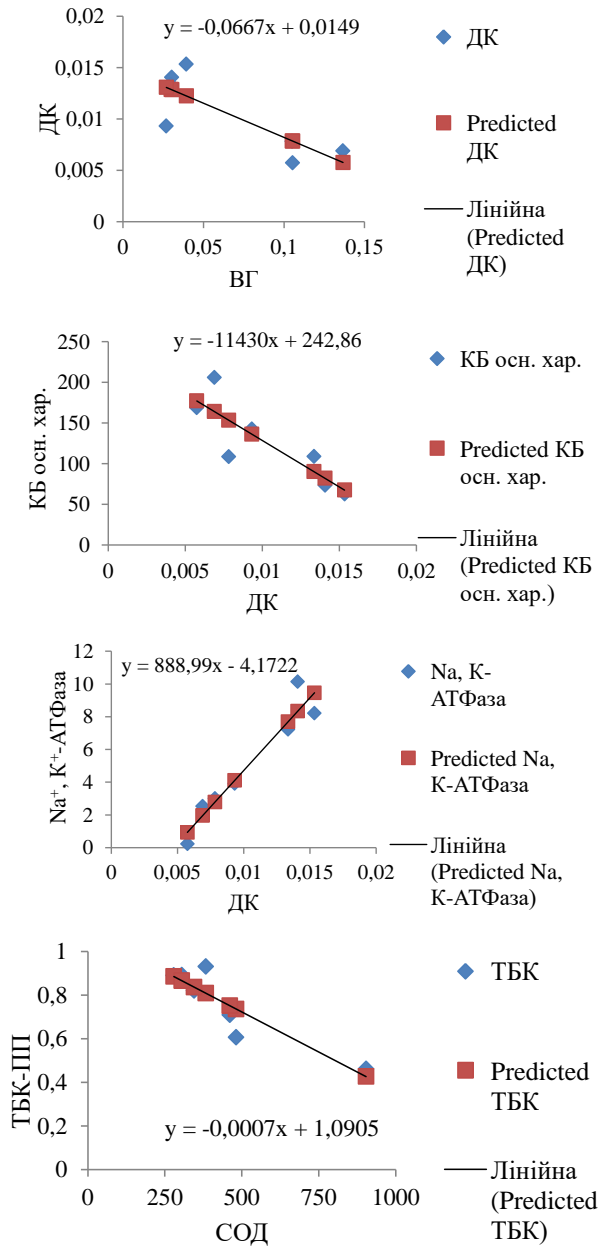


Рис. 12. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (ДК–ВГ, КБ осн. хар.–ДК, Na⁺, K⁺-АТФаза–ДК, ТБК–СОД) у зародках в'юна на етапі розвитку 16 бластомерів за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $r \geq 0,95$)

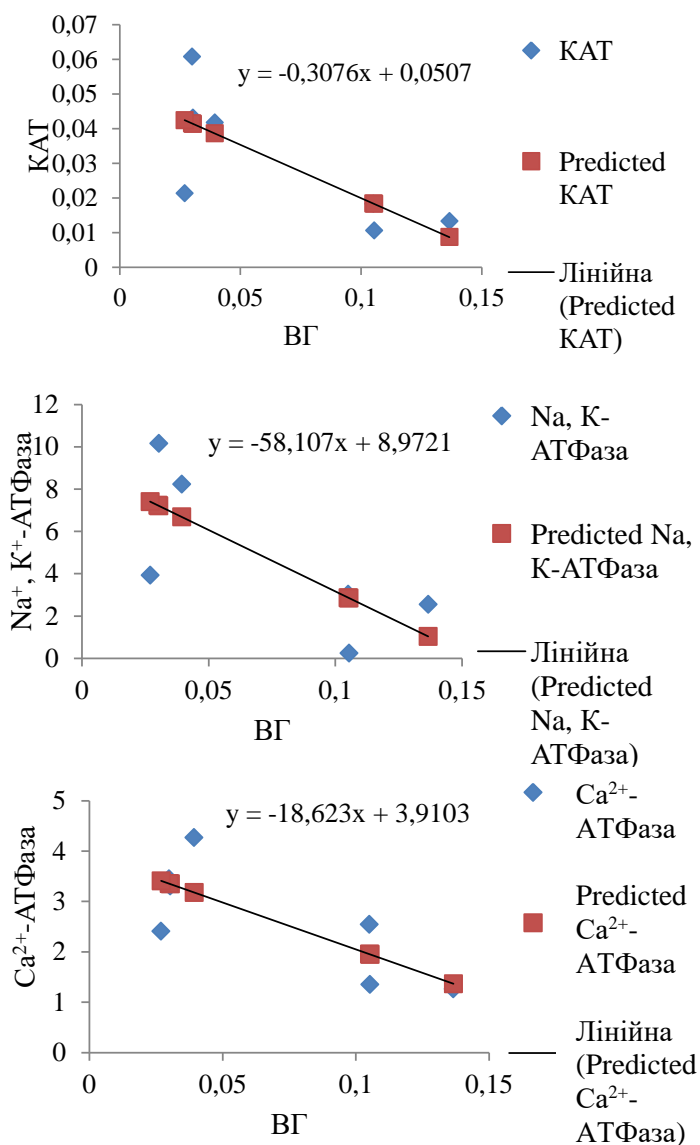


Рис. 13. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (КАТ–ВГ, Na⁺, K⁺-АТФаза–ВГ, Ca²⁺-АТФаза–ВГ) у зародках в'юна на етапі розвитку 16 бластомерів за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

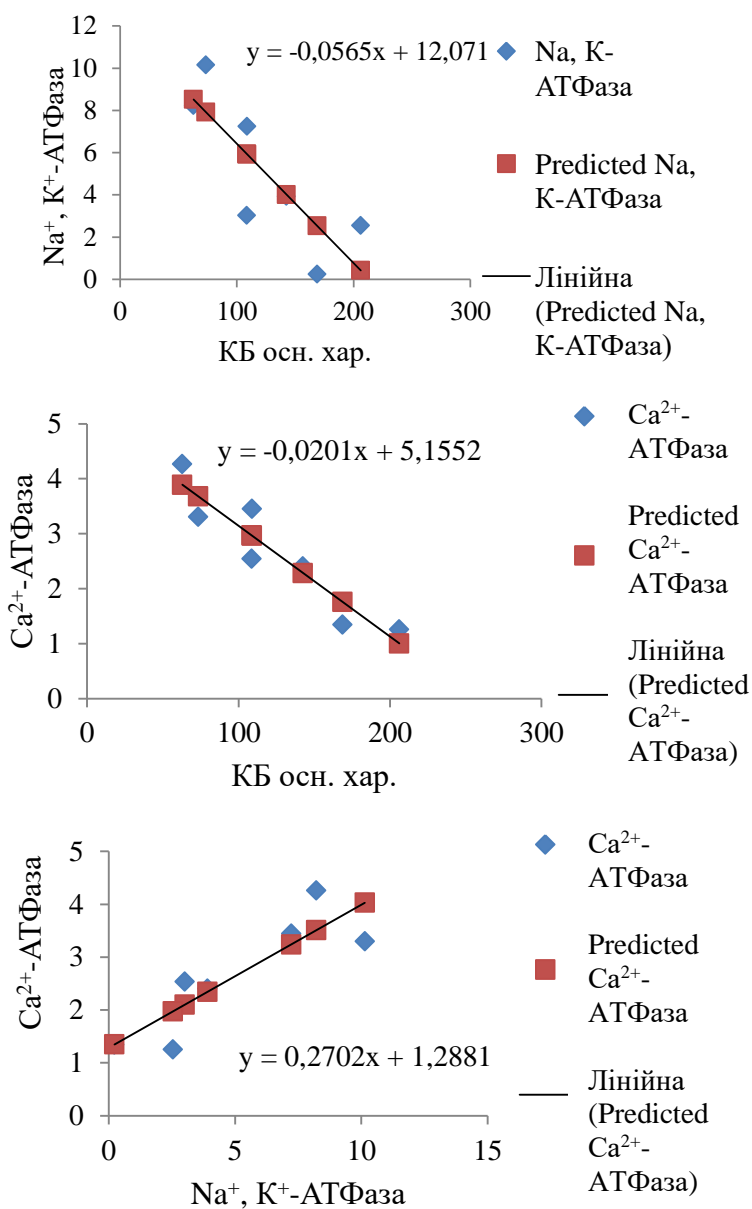
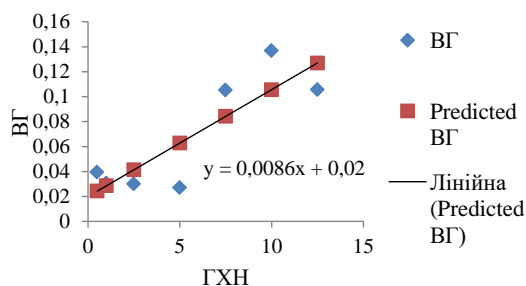
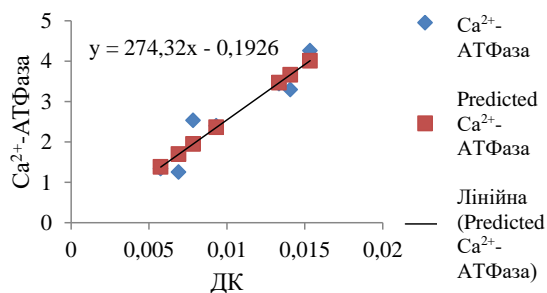


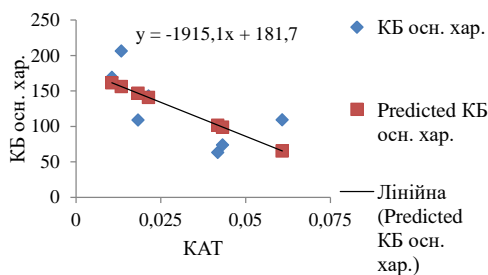
Рис. 14. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (Na⁺, K⁺-АТФаза–КБ осн. хар., Ca²⁺-АТФаза–КБ осн. хар., Ca²⁺-АТФаза–Na⁺, K⁺-АТФаза) у зародках в'юна на етапі розвитку 16 бластомерів за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,722
<i>b</i>	0,985

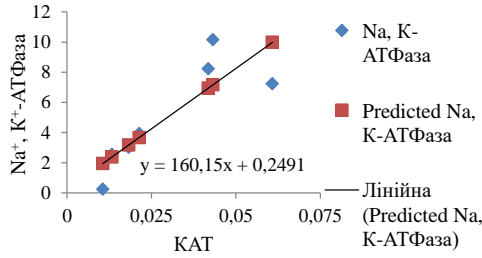


Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,315
<i>b</i>	0,999

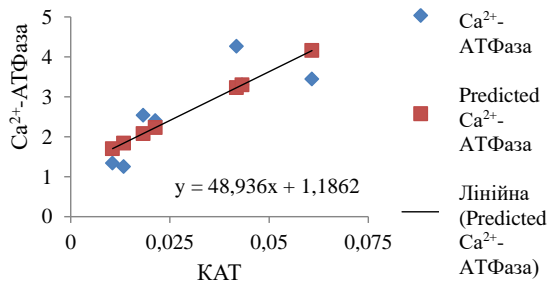


Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,998
<i>b</i>	0,921

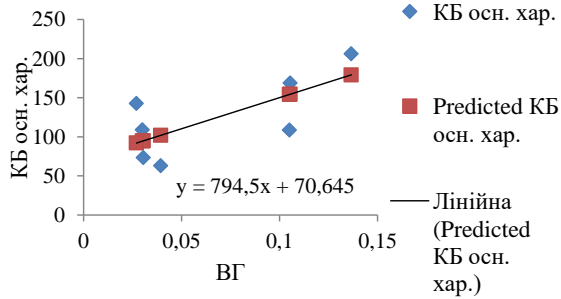
Рис. 15. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (ВГ–ГХН, Ca²⁺-АТФаза–ДК, КБ осн. хар.–КАТ) у зародках в'юна на етапі розвитку 16 бластомерів за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти *a* і *b* у рівнянні $y = a + bx$)



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,122
<i>b</i>	0,984



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,933
<i>b</i>	0,979



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,948
<i>b</i>	0,929

Рис. 16. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (Na^+ , K^+ -АТФаза–КАТ, Ca^{2+} -АТФаза–КАТ, КБ осн. хар.–ВГ) у зародках в'юна на етапі розвитку 16 бластомерів за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти *a* і *b* у рівнянні $y = a+bx$)

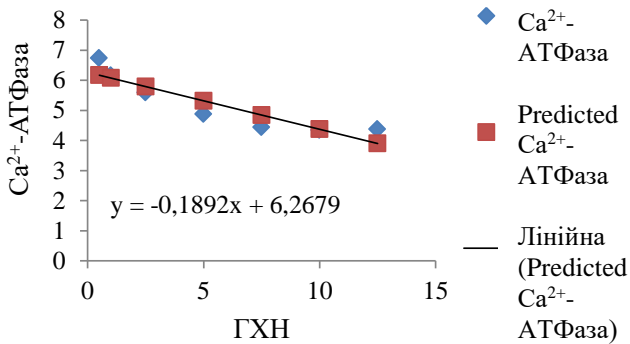
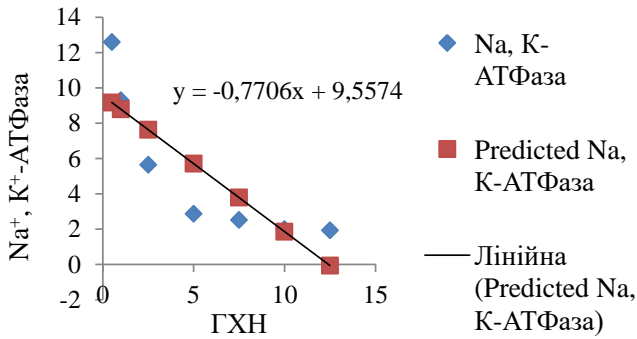
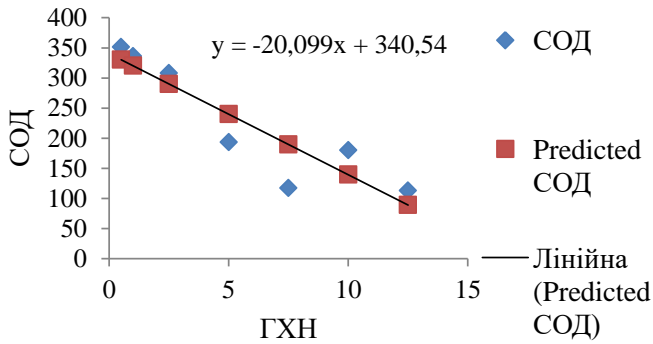


Рис. 17. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (СОД–ГХН, Na^+ , K^+ -АТФаза–ГХН, Ca^{2+} -АТФаза–ГХН) у зародках в'юна на етапі розвитку 64 бластомери за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

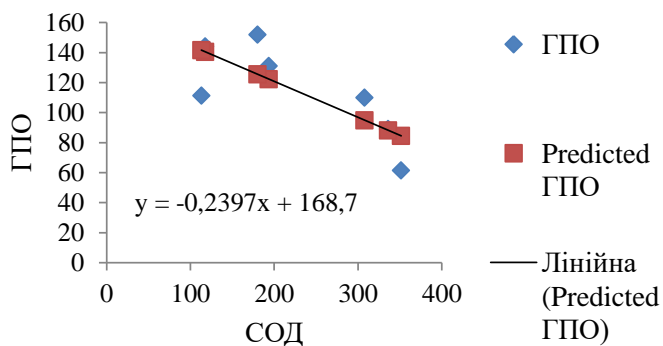
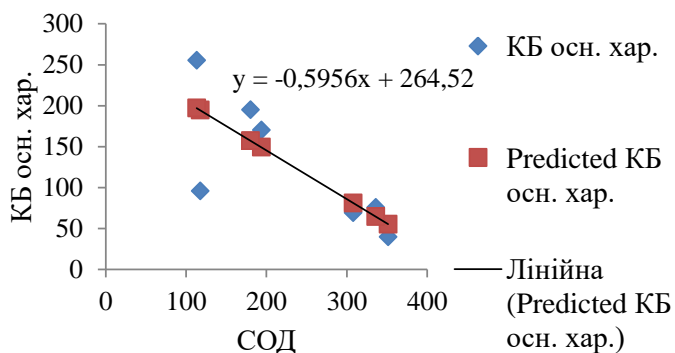
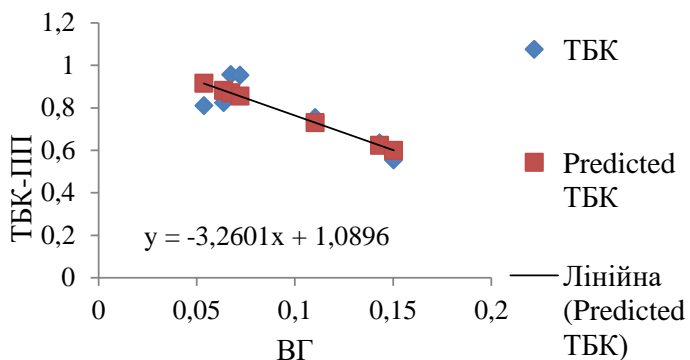


Рис. 18. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану (ТБК-ПП-ВГ, КБ осн. хар.-СОД, ГПО-СОД) у зародках в'юна на етапі розвитку 64 бластомери за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

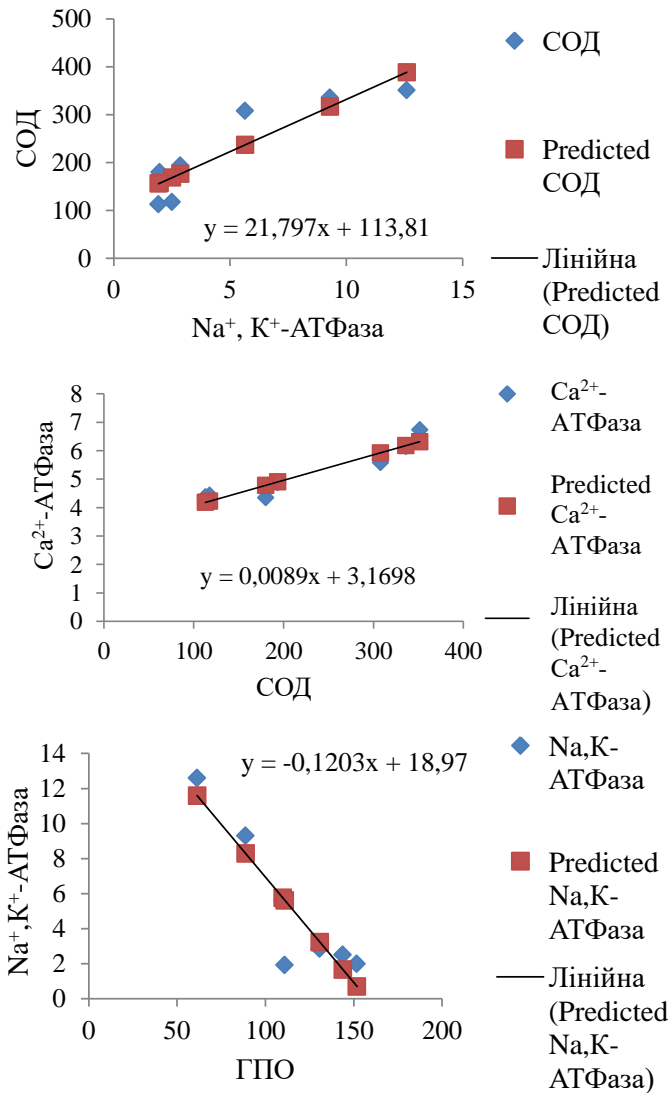


Рис. 19. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (СОД–Na⁺, K⁺-АТФаза, Ca²⁺-АТФаза–СОД, Na⁺, K⁺-АТФаза–ГПО) у зародках в'юна на етапі розвитку 64 бластомери за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

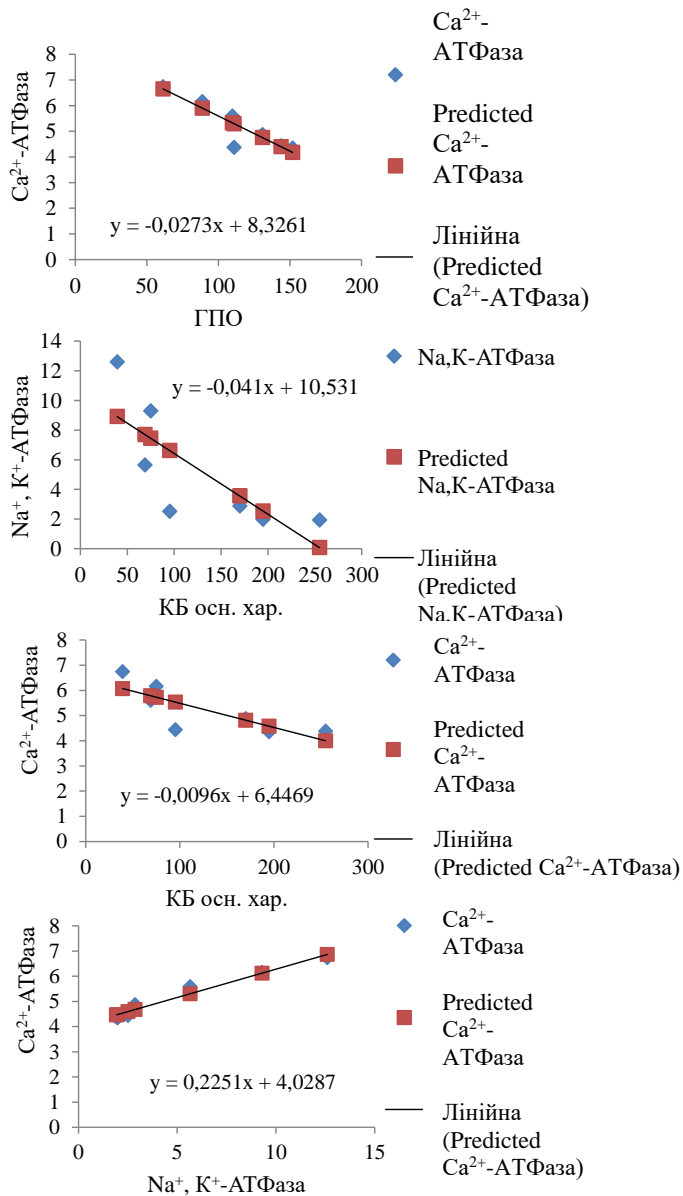
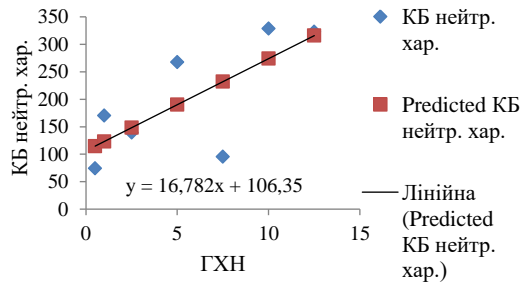
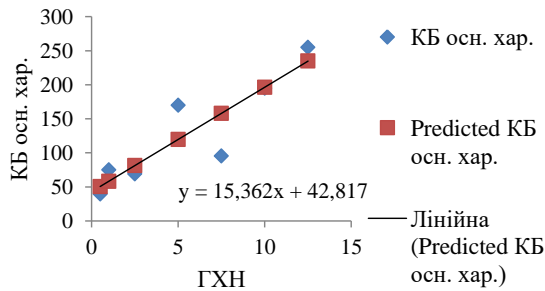


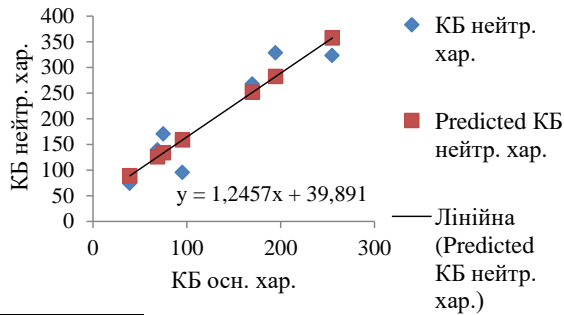
Рис. 20. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (Ca^{2+} -АТФаза–ГПО, Na^+ , K^+ -АТФаза–КБ осн. хар., Ca^{2+} -АТФаза–КБ осн. хар., Ca^{2+} -АТФаза– Na^+ , K^+ -АТФаза) у зародках в'юна на етапі розвитку 64 бластомери за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,916
<i>b</i>	0,937



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,866
<i>b</i>	0,994



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,719
<i>b</i>	0,997

Рис. 21. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану (КБ нейтр. хар.–ГХН, КБ осн. хар.–ГХН, КБ нейтр. хар.–КБ осн. хар.) у зародках в'юна на етапі розвитку 64 бластомери за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти *a* і *b* у рівнянні $y = a+bx$)

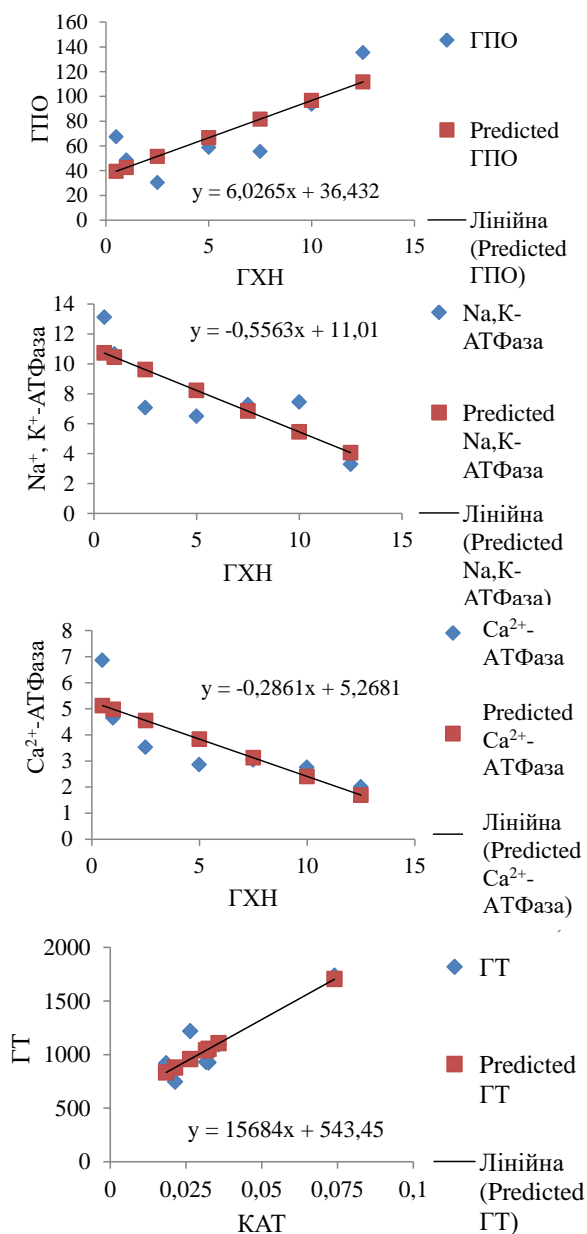
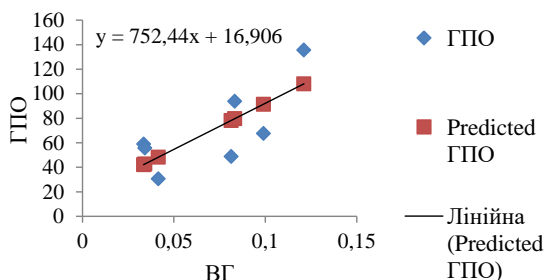
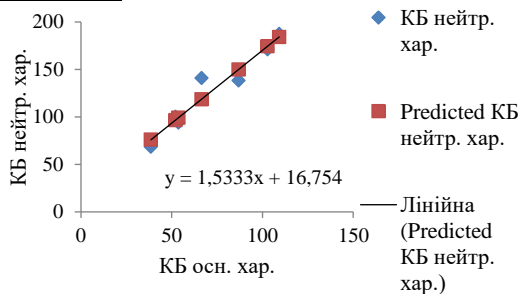


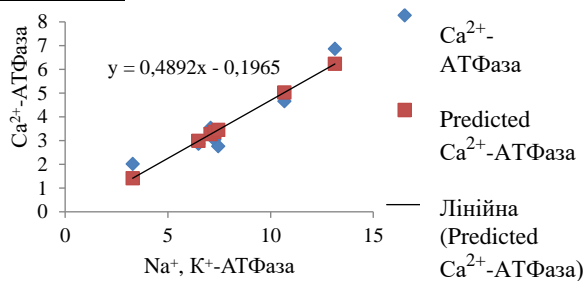
Рис. 22. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (ГПО–ГХН, Na^+ , K^+ -АТФаза–ГХН, Ca^{2+} -АТФаза–ГХН, ГТ–КАТ) у зародках в'юна на етапі розвитку 256 бластомерів за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,505
<i>b</i>	0,948



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,712
<i>b</i>	0,999



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,239
<i>b</i>	0,999

Рис. 23. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (ГПО–ВГ, КБ нейтр. хар.–КБ осн. хар., Ca²⁺-АТФаза–Na⁺, K⁺-АТФаза) у зародках в'юна на етапі розвитку 256 бластомерів за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти *a* і *b* у рівнянні $y = a+bx$)

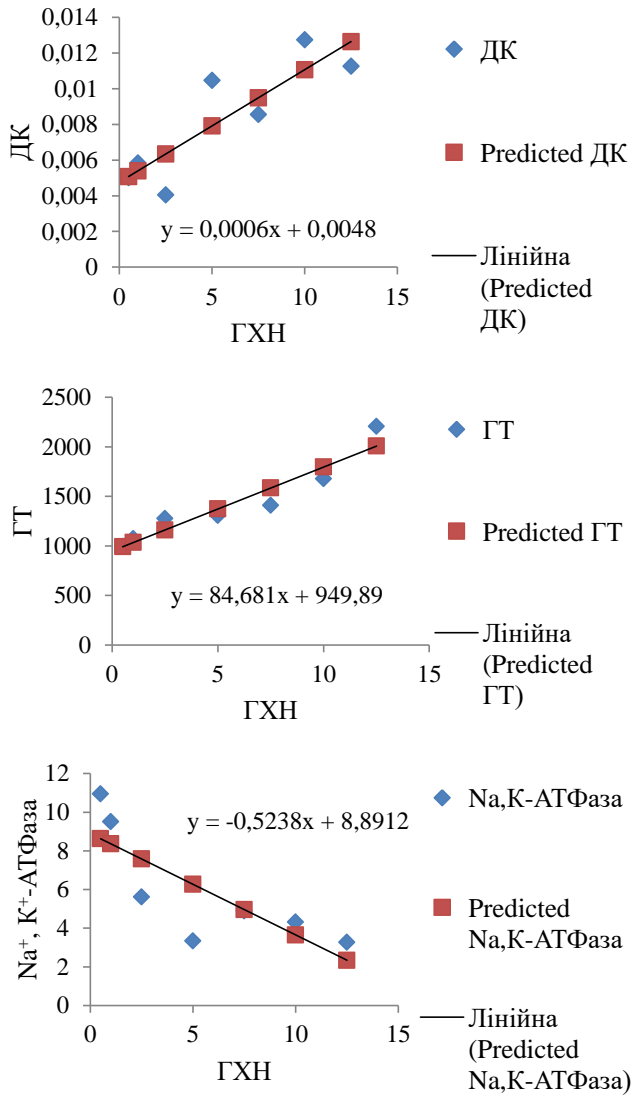


Рис. 24. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (ДК–ГХН, ГТ–ГХН, Na^+ , $\text{K}^+\text{-ATФаза}$ –ГХН) у зародках в'юна на етапі розвитку 1024 бластомери за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)

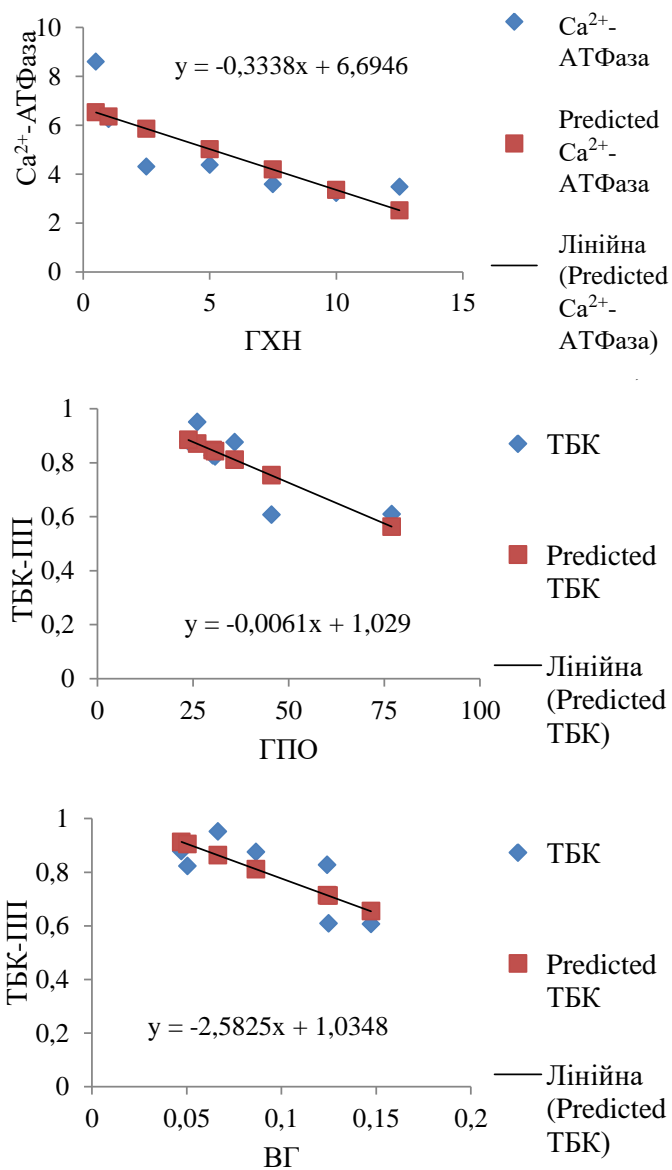
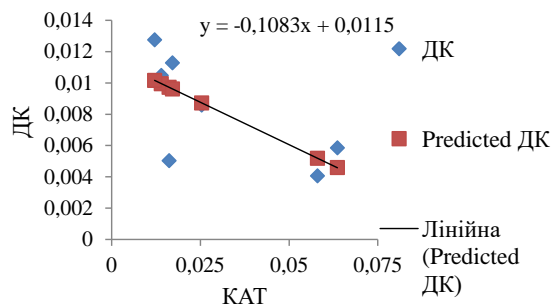
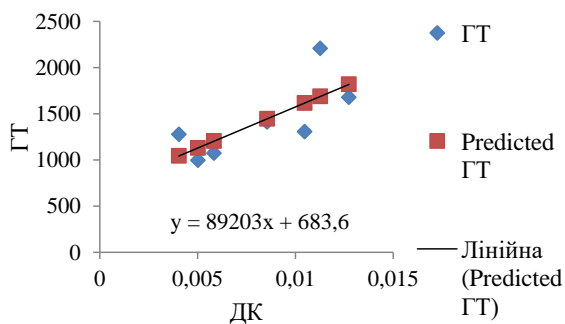


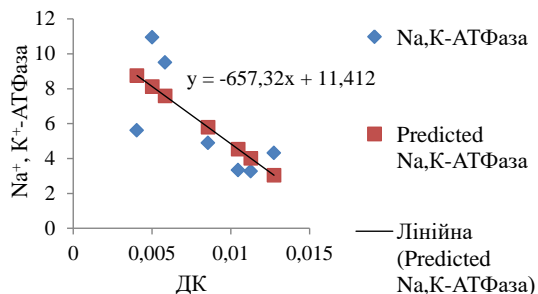
Рис. 25. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (Ca²⁺-АТФаза–ГХН, ТБК-ППП–ГПО, ТБК-ППП–ВГ) у зародках в'юна на етапі розвитку 1024 бластомери за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти a і b у рівнянні $y = a+bx$ достовірні, $p \geq 0,95$)



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,999
<i>b</i>	0,921

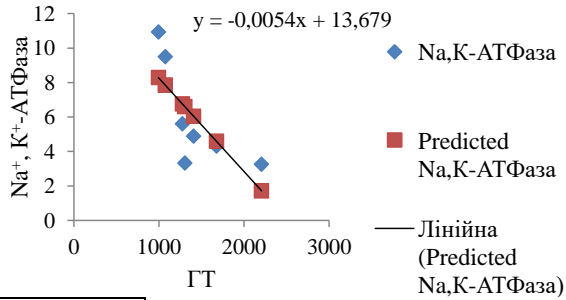


Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,907
<i>b</i>	0,937

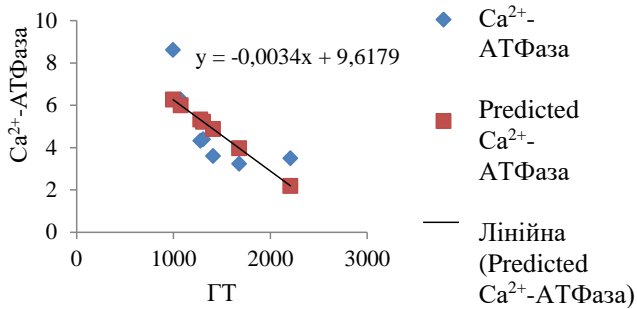


Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,995
<i>b</i>	0,937

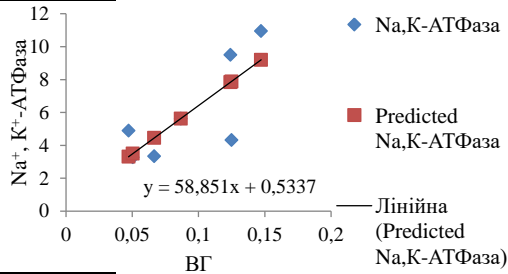
Рис. 26. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (ДК–КАТ, ГТ–ДК, Na⁺, K⁺–АТФаза–ДК) у зародках в'юна на етапі розвитку 1024 бластомери за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти *a* і *b* у рівнянні $y = a+bx$)



Коефіцієнт	р
<i>a</i>	0,991
<i>b</i>	0,939

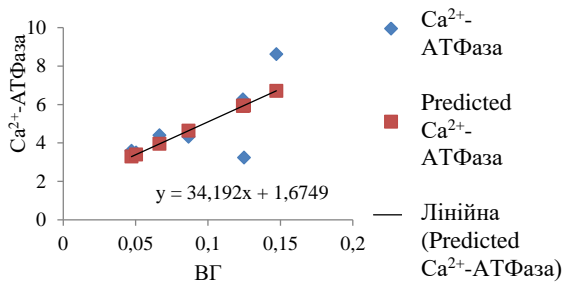


Коефіцієнт	р
<i>a</i>	0,993
<i>b</i>	0,928

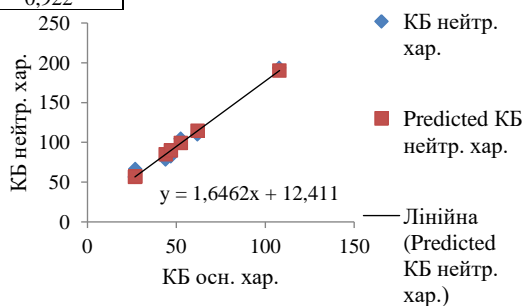


Коефіцієнт	р
<i>a</i>	0,186
<i>b</i>	0,959

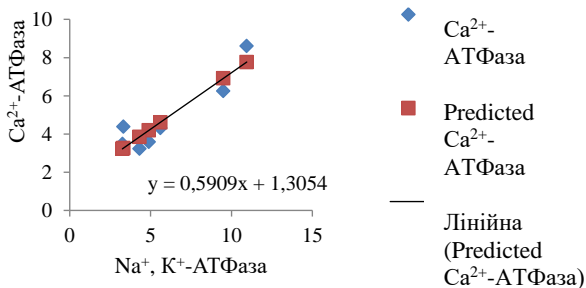
Рис. 27. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (Na^+ , K^+ -АТФаза–ГТ, Ca^{2+} -АТФаза–ГТ, Na^+ , K^+ -АТФаза–ВГ) у зародках в'юна на етапі розвитку 1024 бластомери за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти *a* і *b* у рівнянні $y = a+bx$)



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,673
<i>b</i>	0,922



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,901
<i>b</i>	0,999



Коефіцієнт	p
<i>a</i>	0,871
<i>b</i>	0,997

Рис. 28. Результати регресійного аналізу залежності показників прооксидантно-антиоксидантного стану та мембранопов'язаних процесів (Ca^{2+} -АТФаза-ВГ, КБ нейтр. хар.-КБ осн. хар., Ca^{2+} -АТФаза- Na^+ , K^+ -АТФаза) у зародках в'юна на етапі розвитку 1024 бластомери за дії гіпохлориту натрію (коефіцієнти *a* і *b* у рівнянні $y = a+bx$)

Н. П. Гарасим, Г. І. Коцюмбас, А. Р. Зинь, О. І. Бішко-Москалюк, Д. І. Санагурський

Оксидативний стрес у теплокровних і холоднокровних тварин за дії гістаміну та після його окиснення гіпохлоритом натрію : електронна монографія. – Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2024. – 357 с.

ISBN 978-617-8489-12-0.

Електронна монографія присвячена дослідженню впливу гістаміну та гіпохлориту натрію на клітинному й організменому рівнях. Перші два розділи описують проблематику вільнорадикальних процесів у живих організмах. У третьому розділі висвітлено дослідження дії гістаміну і гіпохлориту натрію на вільнорадикальні та структурні параметри клітин різних органів шурів. У четвертому розділі монографії описано дослід на курях з метою вивчення впливу гіпохлориту натрію низьких концентрацій на прооксидантно-антиоксидантний стан різних органів. Засвідчено, що гіпохлорит натрію (5 і 10 мг/л) інтенсифікує процеси ліпопероксидації у печінці, серцевому м'язі, селезінці, нирці, сім'янику птахів, проте у легені зумовлює сповільнення.

У п'ятому розділі для детальнішого вивчення дії гіпохлориту натрію (у діапазоні концентрацій 0,5–12,5 мг/л) на клітинному рівні проведено серію експериментів на зародках в'юна.

Дане наукове дослідження дає змогу оцінити ступінь впливу гістаміну на різні органи за максимальних і мінімальних концентрацій, що має важливе значення для клітинної біології, алергології. Результати експериментів свідчать на користь обрання гіпохлориту натрію для знезараження водопровідної води, а також у медицині для дезінтоксикації організму, в якому виявлено посилені гістамін-опосередковані реакції. Відзначено перспективність подальшого планування експериментів щодо пошуку зниження гіперчутливості організму за алергічних станів, де гістамін відіграє провідну роль.

Для наукових працівників, спеціалістів у галузі біології, медицини та фармакології, аспірантів, студентів.



Наукове видання

**ГАРАСИМ Наталія Петрівна,
КОЦЮМБАС Галина Іванівна,
ЗИНЬ Аліна Романівна,
БІШКО-МОСКАЛЮК Ольга Ігорівна,
САНАГУРСЬКИЙ Дмитро Іванович**

**ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС У ТЕПЛОКРОВНИХ І
ХОЛОДНОКРОВНИХ ТВАРИН ЗА ДІЇ ГІСТАМІНУ ТА ПІСЛЯ
ЙОГО ОКИСНЕННЯ ГІПОХЛОРИТОМ НАТРІЮ**

Електронна монографія

Редактор Л. Сідлович
Технічний редактор Н. Гарасим
Комп'ютерне верстання Н. Гарасим
Коректор Л. Сідлович

Формат 70x100/16. Умовн. друк. арк. 28,6.

Видавець:

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Університетська, 1, Львів 79000, Україна

Видавець «ФОП Середняк Т.К.», 49000, Дніпро, 18, а/с 1212
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного
реєстру видавців, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції
ДК № 4379 від 02.08.2012.

Ідентифікатор видавця в системі ISBN 8489
49000, Дніпро, 18, а/с 1212
тел. (096)-308-00-38, (056)-798-04-00
E-mail: 7980400@gmail.com