

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна
Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Безродна Анастасія Ігорівна

УДК: 616.36-092.9:543.395

ДИСЕРТАЦІЯ
«ВПЛИВ БЛОКСОПОЛІМЕРІВ НА ОСНОВІ ОКСИПРОПІЛЕНУ ТА
ЕТИЛЕНУ НА ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ
ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ТА КОРЕКЦІЯ ЙОГО ПОРУШЕНЬ»

Спеціальність 03.00.04 – «Біохімія»

(Біологічні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

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

_____ А. І. Безродна

Науковий керівник: Наконечна Оксана Анатоліївна, доктор медичних наук,
професор

Харків – 2019

АНОТАЦІЯ

Безродна А. І. Вплив блоксополімерів на основі оксипропілену та етилену на показники функціонального стану печінки щурів та корекція його порушень. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія (Біологічні науки). – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, 2019.

Сьогодні в Україні та світі блоксополімери широко використовуються, практично, у всіх галузях промисловості, а постійно зростаючий асортимент косметичних та миючих засобів, пральних порошків і сучасних будівельних матеріалів оздоблення квартир для населення, фармпрепаратів та багато іншого створив умови для агресивного проникнення їх до всіх сфер перебування людини та забрудненню водопроводної води пластиком, а також сприяє виникненню у населення нової екологічної патології хімічного генезу, для якої науковцями ще не визначений патогенетичний симптомокомплекс для організму людини, а також особливості розвитку клінічної картини, діагностики, лікування, корекції та профілактики.

Про зростаюче техно-антропогенне навантаження блоксополімерів в регіонах країни переконливо свідчать офіційні відомості Державної служби статистики України. Так, незважаючи на загальний спад виробництва промислової продукції в країні, щорічне використання полімерів етилену, вінілхлориду, карбамідних смол, фарб та лаків на основі полієфірів, акрилових і вінілових полімерів щороку досягає 302,6 тис. т.; мила та парфумних, косметичних і туалетних засобів – 100,1 тис. т.; гумових і пластмасових виробів – 288,4 тис. т.; пестицидів та агрохімічної продукції – 1242,2 тис. т.; будівельних виробів з пластмас – 11821,0 тис. т.; тари з пластмас – 371,3 тис. т.; продукції домашнього вжитку з пластмас – 49,3 тис. т.

У зв'язку з цим, блоксополімери, які за своєю хімічною структурою є

поверхнево-активними речовинами (ПАР), тісно контактують з організмом людини незалежно від статі, віку, професії, стану здоров'я та інш. Фахівцями визначено, що 42 % ПАР надходять у стічні каналізаційні води, 22 % в атмосферне повітря, 12 % вивозяться на смітники, 7 % забруднюють територію населених пунктів, 11 % надходять на присадибні ділянки, а 6 % залишаються в житлових приміщеннях.

Оскільки печінка – це головний орган, який знешкоджує ксенобіотики, то необхідність вивчення впливу блоксополімерів на показники функціонального стану печінки обумовлена недостатньою інформацією про механізми виникнення метаболічних порушень в ній та в організмі в цілому за умов їхньої тривалої дії. В патогенезі захворювань печінки значна роль відводиться ксенобіотикам, зокрема гострі та хронічні гепатити, цирози займають одне з найпоширеніших місць у патології людини.

У дисертаційній роботі вирішено актуальну наукову задачу встановлення ролі змін метаболізму, оксидативного стресу, апоптозу і некрозу гепатоцитів та зміни структури мембран цих клітин та еритроцитів в розвитку порушень функціонального стану печінки за тривалої дії блоксополімерів на основі оксипропілену та етилену.

Наведено теоретичне узагальнення та вирішено актуальну задачу з дослідження структурно-функціонального стану печінки щурів за визначенням активності процесів біотрансформації ксенобіотиків, активності оксидантно-антиоксидантної системи, активності репарації ДНК, визначення морфологічних особливостей печінки за умов дії блоксополімерів та обґрунтовано можливість використання препарату «Квертин» для корегування метаболічних порушень в організмі щурів.

Встановлено, що блоксополімери в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ викликають порушення структурно-функціонального стану печінки, що підтверджується підвищенням активності трансаміназ (АлАТ в середньому - в 5,23 та 4,08 рази, АсАТ - в 5,03 та 3,72 рази відповідно доз впливу), порушенням сульфатної та глюкуронової кон'югації (вміст загальних сульфатів знижувався в середньому

на 47,29 % та загальних глюкуронідів - на 32,73 % у дозі 1/10 ДЛ₅₀, навпаки вміст загальних сульфатів підвищувався на 14,86 % та загальних глюкуронідів - на 30,52 % у дозі 1/100 ДЛ₅₀ у порівнянні з контролем). При імуногістохімічному дослідженні в ядрах гепатоцитів щурів було визначено збільшення відсотку MGMT-мічених гепатоцитів у порівнянні з контрольною групою.

Доведено, що за умов впливу блоксополімерів на основі оксипропілену та етилену в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в організмі експериментальних тварин розвивається оксидативний стрес: у сироватці крові зростає вміст 8-ізопростану (в 2,59 рази за умов 1/10 ДЛ₅₀ та в 2,10 рази за умов дії 1/100 ДЛ₅₀, $p < 0,05$), вміст ТБК-АП в середньому підвищується в 2,65 рази в дозі 1/10 ДЛ₅₀ та в 1,69 рази в дозі 1/100 ДЛ₅₀, вміст ДК в середньому підвищується на 85,82 % в дозі 1/10 ДЛ₅₀ та на 37,17 % в дозі 1/100 ДЛ₅₀.

Спостерігається зниження активності антиоксидантної системи: активність каталази, СОД еритроцитів, глутатіонпероксидази крові - на 42,69 %, 41,26 %, 32,37 % відповідно та вміст церулоплазмину в крові в середньому знижується на 47,24 % за умов 1/10 ДЛ₅₀ порівняно з контролем.

Визначено, що в організмі щурів, токсифікованих блоксополімерами в дозі 1/10 ДЛ₅₀, спостерігається порушення стану цитоплазматичних мембран гепатоцитів: екстерналізація фосфатидилсерину у фосфоліпідному бішарі та зміна інтенсивності флуоресценції зондів на мембранах еритроцитів, відсутність змін в області гліцеринових та карбонільних груп фосфоліпідів, формування на поверхні мембран еритроцитів додаткової оболонки.

Встановлено, що за умов дії досліджуваної групи ксенобіотиків протягом 45 діб у дозі 1/10 ДЛ₅₀ знижується життєздатність гепатоцитів на 18,21 %, активується апоптоз гепатоцитів, що підтверджується підвищенням відсотку ранньоапоптотичних гепатоцитів (в середньому на 18,98 %) та пізноапоптотичних / некротичних клітин (в середньому на 9,75 %).

За результатами роботи визначена роль і значення оксидативного стресу, апоптозу та некрозу гепатоцитів та зміни структури їх клітинних мембран в розвитку порушень функціонального стану печінки за умов тривалої дії

блоксополімерів на основі оксипропілену та етилену.

Встановлено, що блоксополімери сприяють розвитку гіпопротеїнемії за рахунок гіпоальбумінемії, уремії (вміст сечовини зростає в середньому в 2,63 рази); креатинінемії (вміст креатиніну підвищувався на 91,59 %). Спостерігається зниження репродуктивної функції білих щурів: гіпотестостеронемія та гіпоестрогенемія. Ксенобіотики в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ викликають порушення вуглеводного обміну: зниження вмісту лактату, пірувату на тлі гіпоглікемії (вміст глюкози знижувався на 53,51 %, $p < 0,05$). Визначається гіпоінсулінемія, що може свідчити про порушення функціонування підшлункової залози. Оцінка моніторингових показників ліпідного обміну під впливом досліджуваної групи ксенобіотиків у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ виявила гіперхолестеролемію та підвищення вмісту тригліцеридів.

Доведено ефективність використання лікарського препарату «Квертин» для корекції порушень структурно-функціонального стану печінки щурів на фоні токсифікації блоксополімерами у дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. На 45 добу знижується активність АсАТ, АлАТ в середньому на 17 % та 19 %. «Квертин» сприяє активації процесів біотрансформації ксенобіотиків (підвищує вміст загальних сульфатів в середньому на 23,40 % у дозі 1/10 ДЛ₅₀), зменшує інтенсивність процесів ПОЛ та активує антиоксидантну систему, покращує моніторингові показники обміну білків, вуглеводів, ліпідів.

На основі кліко-експериментальних досліджень доведено, що лікарський препарат «Квертин» може бути рекомендовано для використання у клінічній практиці лікарів-профпатологів для корегування патологічних змін у структурно-функціональному стані печінки внаслідок шкідливого впливу ксенобіотиків.

Виявлено, що провідними ланками механізму біологічної дії блоксополімерів є гепатотоксична, мембранотропна, дисгомеостатична дія внаслідок розвитку окислювального стресу.

Проблема експериментального обґрунтування особливостей метаболізму нових ПАР в організмі теплокровних тварин надзвичайно актуальна з багатьох

чинників. Перш за все, ці дослідження дають змогу оцінити ступінь безпечного використання ПАР в тих, чи інших галузях і технологіях; дозволяють створити режими технологічних процесів; сприяють розширенню сфери випуску промислової та побутової продукції; дозволяють фахівцям різних спеціальностей використовувати ці розробки для наукового обґрунтування та створення відповідних офіційних державних нормативів; дозволяють розробляти профілактичні заходи з охорони здоров'я працюючих на виробництвах ПАР та населення і довкілля.

Ключові слова: блоксополімери, гепатотоксичність, оксидативний стрес, MGMT, мембрани, апоптоз, некроз.

ABSTRACT

Bezrodnaya A. I. Influence of block-copolymers on the basis of oxypolyene and ethylene on indicators of functional state of the liver of rats and correction of its disorders. – Qualification scientific paper, manuscript.

Thesis for a Candidate Degree in Biology: Speciality 03.00.04 – Biochemistry (Biology). – V. N. Karazin Kharkiv National University, the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2019.

Today in Ukraine and the world block-copolymers are widely used in almost all industries, and the ever-growing range of cosmetics and detergents, laundry detergents and modern building materials for apartments for the population, pharmaceuticals and much more created the conditions for aggressive penetration into all spheres of human stay and pollution tap water and also contributes to the emergence of a new ecological pathology in the population of chemical genesis, for which scientists still not defines a complex of pathological symptoms for the human body, as well as features of the development of the clinical picture, diagnosis, treatment, correction and prevention.

Official information from the State Statistics Service of Ukraine convincingly testifies to the increasing techno-anthropogenic load of block-copolymers in the country's regions.

Thus, annual production of polymers of ethylene, vinyl chloride, paints and

varnishes based on polyester, acrylic and vinyl polymers reaches 302.6 thousand tons; soaps on the basis of surfactants and perfumes, cosmetics – 100.1 thousand tons; rubber and plastic products with the use of surfactants – 288.4 thousand tons; pesticides and agrochemical products on the basis of surfactants – 1242.2 thousand tons; plastic products – 11821.0 thousand tons; plastic containers – 371.3 thousand tons; home-made plastic products – 49.3 thousand tons.

In this regard, block-copolymers, which by their chemical structure are surfactants, are in close contact with the human body, regardless of gender, age, occupation, health status, and others. The specialists have determined that 42 % of the surfactants enter into sewage water, 22 % in the air, 12 % are taken to the dumps, 7 % pollute the territory of settlements, 11 % come to private plots, and 6 % remain in residential areas.

Since the liver is the main organ that neutralizes xenobiotics, the need to study the effect of block-copolymers on indicators of the functional state of the liver is due to insufficient information on the mechanisms of the occurrence of metabolic disorders in it and in the body as a whole under conditions of their long action. In the pathogenesis of liver diseases, xenobiotics play a significant role, including acute and chronic hepatitis, cirrhosis occupy one of the most common places in human pathology.

In the dissertation the actual scientific problem of determining the role of metabolic, oxidative stress, apoptosis and necrosis of hepatocytes and changes in the structure of membranes of these cells and erythrocytes in the development of violations of the functional state of the liver during the prolonged action of block-copolymers based on oxypropylene and ethylene has been solved.

Theoretical generalization and solving the actual task of studying the structural and functional state of the liver of rats by determination of the activity of xenobiotic biotransformation processes, the activity of the oxidant antioxidant system, the activity of DNA repair, determination of morphological features of the liver under the conditions of action of block-copolymers, and the possibility of using the drug "Kvertin" for correction is substantiated for metabolic disorders in the body of rats.

It was established that block-copolymers at doses of 1/10 and 1/100 of DL_{50} cause a violation of the structural and functional state of the liver, which is confirmed by an increase in the activity of transaminases (AlAT at an average of 5.23 and 4.08 times, in AsAT - in 5.03 and 3.72 times according to dose), violation of sulfate and glucuronic conjugation (the content of total sulfates decreased by an average of 47.29 % and total glucuronides - by 32.73 % at a dose of 1/10 DL_{50} , on the contrary, the content of total sulfates increased by 14,86 % and total glucuronides - 30.52 % at a dose of 1/100 DL_{50} compared to control). In an immunohistochemical study in hepatocyte nuclei of rats, an increase in the percentage of MGMT-labeled hepatocytes was determined in comparison with the control group.

Oxidative stress develops under the influence of block-copolymers on the basis of hydroxypropylene and ethylene in doses of 1/10 and 1/100 DL_{50} in the body of experimental animals: the content of 8-isoprostane increases in blood serum (2.59 times in the case of 1/10 of DL_{50} and in 2.10 times under the conditions of 1/100 DL_{50} , $p < 0,05$), the TBK-AP content increases on average 2.65 times in a dose of 1/10 DL_{50} and 1.69 times in a dose of 1/100 DL_{50} , the content of DC increases on average by 85.82 % at a dose of 1/10 DL_{50} and 37.17 % at a dose of 1/100 DL_{50} .

There is a decrease in the activity of the antioxidant system: the activity of catalase, SOD of erythrocytes, blood glutathione peroxidase - by 42.69 %, 41.26 %, 32.37 % respectively, and the content of ceruloplasmin in the blood decreases by 47.24 % on average by 1/10 DL_{50} compared to control.

It has been determined that in the body of rats, toxicated with block-copolymers at a dose of 1/10 DL_{50} , there is a violation of the state of cytoplasmic hepatocyte membranes: the externalization of phosphatidylserine in the phospholipid bile and the change in the fluorescence intensity of the probes on the erythrocyte membranes, the lack of changes in the field of glycerol and carbonyl groups of phospholipids, formation on the surface erythrocyte membranes of the extra shell.

It has been established that under the conditions of the study group xenobiotics for 45 days at a dose of 1/10 DL_{50} the hepatocytes survive by 18.21 %, activated by apoptotic hepatocytes, which is confirmed by an increase in the percentage of early-

apoptotic hepatocytes (18.98 % on average) and late-apoptotic / necrotic cells (an average of 9.75 %).

According to the results of work, the role and importance of oxidative stress, apoptosis and necrosis of hepatocytes and changes in the structure of their cell membranes in the development of violations of the functional state of the liver under prolonged action of block-polymers based on hydroxypropylene and ethylene have been determined.

It was established that block-copolymers contribute to the development of hypoproteinemia due to hypoalbuminemia, uremia (the urea content increases by an average of 2.63 times); creatininemia (the creatinine content increased by 91.59 %). Reduced reproductive function of white rats is observed: hypotestosteronemia and hypoestrogenemia. Xenobiotics in doses of 1/10 and 1/100 DL₅₀ cause a disruption of the carbohydrate metabolism: a decrease in the content of lactate, pyruvate in the background of hypoglycemia (glucose content decreased by 53.51 %, $p < 0.05$). Hypoinsulinemia is detected, which may indicate a malformation of the functioning of the pancreas. The evaluation of lipid metabolism monitoring results under the influence of the studied group of xenobiotics at doses of 1/10 and 1/100 DL₅₀ revealed hypercholesterolemia and an increase in the content of triglycerides.

The efficiency of using the drug "Kvertin" for correction of disorders of the structural and functional state of the liver of rats on the background of toxification with block-copolymers at a dose of 1/10 and 1/100 DL₅₀ has been proved. At 45 days, the activity of AsAT, AlAT decreased by an average of 17 % and 19 %. "Kvertin" promotes the activation of biotransformation of xenobiotics (increases the content of total sulfates by an average of 23.40 % at a dose of 1/10 DL₅₀), reduces the intensity of LPO processes and activates the antioxidant system, improves the monitoring parameters of the exchange of proteins, carbohydrates, lipids.

On the basis of click-experimental studies, it has been proven that the drug «Kvertin» may be recommended for use in clinical practice by occupational physicians for correcting pathological changes in the structural and functional state of the liver due to the harmful effects of xenobiotics.

It was revealed that the leading links in the mechanism of biological action of block-copolymers are hepatotoxic, membranotropic, dysgomeostatic effects due to the development of oxidative stress.

The problem of experimental substantiation of the features of the metabolism of new surfactants in the body of warm-blooded animals is extremely relevant from many factors. First of all, these studies provide an opportunity to assess the degree of safe use of surfactants in those or other industries and technologies; allow to create regimes of technological processes; promote expansion of the sphere of production of industrial and household products; allow specialists of different specialties to use these developments for scientific substantiation and the creation of appropriate official state standards; allow the development of preventive measures for the protection of workers working on the production of block-copolymers and the population and the environment.

Key words: block-copolymers, hepatotoxicity, oxidative stress, MGMT, membranes, apoptosis, necrosis.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці у наукових фахових виданнях України:

1. Жуков В. І., Щербань М. Г., Наконечна О. А., Зайцева О. В., **Безродна А. І.**, Ващук Н. А., Резуненко Ю. К., Оветчин П. В., Телегін В. О., Стеценко С. О. Вплив «Лапролів» марок Л-3603-2-12 і Л-10002-2-80 на імунобіологічну реактивність в умовах підгострої субтоксичної дії на теплокровних тварин // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. 2016. №3. С. 31-38. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, постановка імунологічних тестів (реакція специфічного лізису лейкоцитів, реакція специфічного пошкодження базофілів, реакція специфічної агломерації лейкоцитів), обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”*.
2. Жуков В. І., Щербань М. Г., **Безродна А. І.**, Ващук Н. А., Стеценко С. О. Стан метаболічної і детоксикаційної активності печінки у щурів під впливом тривалої субтоксичної дії олігомерів Л-3603-2-12 і Л-10002-2-80 // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. 2015. № 4. С. 45-50. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту загальних, вільних, зв'язаних сульфатів, відновленого та окисленого глутатіону, малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів, креатиніну, сечовини, глюкози, холестерину, активності глутатіонпероксидази, аспаратамінотрансферази, аланін амінотрансферази, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”*.
3. **Безродна А. І.**, Жуков В. І., Щербань М. Г., Ващук Н. А. Вплив олігоєфірів марок Л-3603-2-12 і Л-10002-2-80 на мікросомальне окислення гепатоцитів і тканинне дихання мітохондрій в організмі експериментальних тварин в умовах тривалої субтоксичної дії // Аграрний вісник Причорномор'я. Серія: біологічні науки. 2014. Вип. 73. С. 3-13. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту,*

вимірювання активності о-деметилази, НАДФН-цитохром – С-редуктази, НАДН- цитохром – С-редуктази, швидкість ендogenousного дихання мітросом, швидкість окислення НАДФН, швидкість окислення НАДФН, швидкість перекисного окислення ліпідів, вміст цитохромів P₄₅₀ і в₅, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.

4. Nakonechna O. A., **Bezrodna A. I.**, Kornienko E. M., Tkacheva T. N., Efimova S. L., Posokhov E. A., Maksimova I. G. The Fluorescent Probe Method in Investigation of the State of Erythrocyte Membranes in White Rats at Exposure to Chemical Environmental Factors // Український журнал медицини, біології та спорту. 2018. Т. 3, № 6 (15). Р. 299-303. (Google Scholar). “Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, виділення еритроцитів, вимірювання інтенсивності флуоресценції мембран еритроцитів, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.
5. **Безродна А. І.** Корекція «Квертином» стану оксидантно-антиоксидантної системи у щурів за умов впливу ксенобіотиків // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія «Біологія». 2018. Вип. 31. С. 7-15. (Google Scholar).
6. Наконечна О. А., **Безродна А. І.**, Кривонос К. А. Вплив блоксополімерів на регуляцію та основні показники білкового та вуглеводного обмінів у щурів в умовах підгострого токсикологічного експерименту // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2018. № 25. С. 55-59. (Google Scholar). “Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту глюкози, лактату, сечовини, креатиніну, загального білку, гормонів інсуліну, тестостерону, естрадіолу, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.

Наукові праці у наукових фахових виданнях України, що входять до наукометричних баз

7. Nakonechna O. A., Babijchuk L. A., **Bezrodna A. I.** Disturbance of the transmembrane phosphatidylserine asymmetry in hepatocytes as an apoptosis marker under the action of xenobiotics on rats // Ukr. Biochem. J. 2018. Vol. 90, N 6. P. 82-88. (SCOPUS, CrossRef, DOAJ, Google Scholar). *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання асиметрії фосфатидилсерину в ліпідному бішарі мембран гепатоцитів, визначення стадій апоптозу/некрозу гепатоцитів щурів, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”*.
8. **Безродна А. І.**, Вишницька І. А., Мельник О. Г., Оветчин П. В., Резуненко Ю. К. Вплив олігоефірів в субтоксичній дозі на гормональний обмін при тривалій токсифікації тварин в підгострому експерименті // Вісник проблем біології і медицини. 2016. Вип. 1, Т. 1 (126). С. 120-124. (Index Copernicus, Google Scholar; Наукова електронна бібліотека "Cyberleninka"). *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту гормонів ТТГ, Т₃, Т₄, інсуліну, глюкагону, тестостерону, естрадіолу, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”*.
9. Щербань Н. Г., Жуков В. І., **Безродна А. І.**, Зайцева О. В., Вашук Н. А., Оветчин П. В., Гопкалов В. Г. Вплив субтоксичних доз олігоефірів на вуглеводний і енергетичний обмін печінки білих щурів в експерименті // Світ медицини та біології. 2016. № 1 (55). С. 176-180. (Index Copernicus, Google Scholar; Наукова електронна бібліотека "Cyberleninka"). *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання активності гексокінази, фосфофруктокінази, альдолази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, лактатдегідрогенази, креатинфосфокінази, глюкозо-6-фосфатази, лужної фосфатази, вмісту глюкози, обговоренні та інтерпретації*

результатів, участь у написанні статті”.

Патент України на винахід

10. Спосіб прогнозування рівня токсичності поверхнево-активних речовин: пат. 118223 Україна ; заявл. 28.11.2016 ; опубл. 10.12.2018, Бюл. № 23. 6 с.

Наукові праці апробаційного характеру (тези доповідей на наукових конференціях) за темою дисертації:

11. Nakonechna O. A., Babijchuk L. A., **Bezrodna A. I.** Violation of the transmembrane asymmetry of lipides of hepatocytes as the index of apoptosis in the action of xenobiotics on the organism of rats // Актуальні питання лабораторної медицини : матеріали науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів, 20-21 листопада 2018 р. Харків, 2018. С. 61-62. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання асиметрії фосфатидилсерину в ліпідному бішарі мембран гепатоцитів, визначення стадій апоптозу/некрозу гепатоцитів щурів, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”.*
12. **Безродна А. І.**, Максимова І. Г., Логвінова А. О., Толоконнікова А. А., Гарбузова Д. В. Вплив поліетиленгліколю на вміст холестеролу та статевих гормонів у крові щурів в підгострому токсикологічному експерименті // Актуальні проблеми експериментальної та клінічної біохімії : матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, 12-13 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 22-23. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту холестеролу, гормонів тестостерону, естрадіолу, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”.*
13. **Bezrodnaya A. I.**, Mbonu Favour Chinomso, Aladetoyinbo Anuoluwaro Elizabeth

Investigation of enzyme activity under the conditions of influence of surface-active substances in rats in the subacute toxicological experiment // The International Scientific Interdisciplinary Conference (ISIC) : abstracts book, 23-25 may 2018, Kharkiv, 2018. P. 18-19. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання активності лактатдегідрогенази, альфа-амілази, лужної фосфатази, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”*.

14. Наконечная О. А., **Безродная А. И.** Основные показатели углеводного обмена в результате действия поверхностно-активных веществ на основе окиси этилена и пропилена // Актуальные проблемы медицины : сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции и 27-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета, 2–3 ноября 2017 г. Гомель, 2017. С. 553–556. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту глюкози, лактату, гормонів ТТГ, T_3 , T_4 , інсуліну, активності лактатдегідрогенази, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”*.
15. Наконечна О. А., Абрамова Л. П., **Безродна А. І.**, Новікова О. О. Вміст в крові тиреотропного та тиреоїдних гормонів за умов токсифікації тварин поверхнево-активними речовинами в підгострому експерименті // Біологічні дослідження - 2017 : збірник наукових праць VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 14-16 березня 2017 р. Житомир, 2017. С. 270-271. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту гормонів ТТГ, T_3 , T_4 , обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”*.
16. **Безродная А. И.**, Наконечная О. А. Влияние ксенобиотиков на белковый обмен белых крыс в подостром эксперименте // Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии : сборник материалов III Конференции молодых ученых биохимиков и молекулярных биологов с международным

- участием, 11-12 мая 2017 г. Гродно, 2017. С. 11-12. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання рН, вмісту загального білку, сечової кислоти, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”*.
17. Наконечна О. А., **Безродна А. І.**, Абрамова Л. П. Основні показники вуглеводного обміну та його регуляції за умов впливу поліетиленгліколю // Здоров'я людини: теорія і практика : матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 25-річчю медичного інституту Сумського державного університету, 17–19 жовтня 2017 р. Суми, 2017. С. 73–75. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту глюкози, лактату, гормонів ТТГ, Т₃, Т₄, інсуліну, активності лактатдегідрогенази, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”*.
18. **Безродна А. І.**, Коцур В. Є., Стабровський С. С., Кучеренко І. О., Новікова Д. П. Вплив поверхнево-активних речовин на білковий обмін у білих щурів за умов підгострого токсикологічного експерименту // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической биохимии : материалы VI Межвузовской научно-практической конференции с международным участием, 22 мая 2017 г. Харьков, 2017. С. 21–23. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту інсуліну, активності альфа-амілази, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”*.
19. Наконечная О. А., **Безродная А. И.** Основные показатели углеводного и белкового обмена в результате действия полиэтиленгликоля // Проблемы, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук : матеріали II Міжнародної заочної науково-практичної конференції, 30 жовтня 2017 р. Миколаїв, 2017. С. 60–62. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту глюкози, лактату, альбуміну, сечової кислоти, білку, гормонів ТТГ, Т₃, Т₄, інсуліну, активності лактатдегідрогенази, обговоренні та інтерпретації результатів,*

участь у написанні тез”.

20. Жуков В. І., Щербань М. Г., Зайцева О. В., **Безродна А. І.**, Ващук Н. А., Резуненко Ю. К., Оветчин П. В., Телегін В. О. Стан антирадикального, антиперекисного захисту під впливом тривалої субтоксичної дії олігоєфіра Л-3603-2-12 // Казантип-ЭКО-2016. Инновационные пути решения актуальных проблем базовых отраслей, экологии, энерго- и ресурсосбережения : сборник трудов XXIV Международной научно-практической конференции, 6-10 июня 2016 г. Харьков, 2016. С. 122-126. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту відновленого глутатіону, малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів, церулоплазміну, гаптоглобіну, активності глутатіонпероксидази, СОД, каталази, глутатіонпероксидази, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.*
21. **Bezrodnaya A. I.**, Jukov V. I., Shcherban N. G. The influence of oligoesters on hormonal metabolism // Croatian student summit 12 : abstracts book, March 2016, Croatia, 2016. P. 12. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту гормонів тестостерону, естрадіолу, пролактину, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”.*
22. **Безродна А. І.** Вплив олігоєфірів на вуглеводний і енергетичний обмін // «Довкілля і здоров'я» присвяченої 30-річчю Чорнобильської катастрофи : матеріали науково-практичної конференції, 22-23 квітня 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 31-32.
23. **Bezrodnaya A. I.**, Krivonos K. A. Genetic aspects of environmental pathology // 9th ISABS Conference on Forensic, Anthropologic Genetics and Mayo Clinic Lectures in Individualised Medicine : abstracts book, 22-26 June 2015, Croatia, 2015 P. 199. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, дослідження мітотичної активності клітин червоного кісткового мозку, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”.*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

24. Наконечная О. А., **Безродная А. И.** Влияние олигоэфиров на репродуктивную функцию крыс в условиях эксперимента // БатысҚазақстан медицина журналы. 2016. №3 (51). С. 128-132. (Google Scholar; РИНЦ).
“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, дослідження ембріотоксичного та гонадотоксичного впливу, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.
25. Кучеренко В. П., Жуков В. І., Щербань М. Г., **Безродна А. І.**, Стеценко С. О. Обґрунтування гранично допустимих концентрацій простих олігоєфірів технічної назви «Лапроли» марок 2102 і 3603-2-12 у воді водойм господарсько-питного і культурно-побутового призначення // Вісник проблем біології і медицини. 2015. Вип. 4, Т.1(124). С. 48-53. (Index Copernicus, Google Scholar; Наукова електронна бібліотека "Cyberleninka").
“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення органолептичних досліджень (запах, присмак, забарвлення, прозорість, піноутворення) та досліджень санітарного режиму, проведення токсикологічного експерименту, дослідження ембріотоксичного та гонадотоксичного впливу, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.
26. Кучеренко В. П., Жуков В. І., Щербань М. Г., **Безродна А. І.** Якісна та кількісна оцінка ступеня гідролітичної деструкції та трансформації простих олігоєфірів призначення // Світ медицини та біології. 2015. №4 (53). С. 39-42. (Index Copernicus, Google Scholar; Наукова електронна бібліотека "Cyberleninka").
“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, формування та утримання модельних водойм, дослідження санітарного режиму модельних водойм, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ.....	22
ВСТУП.....	23
РОЗДІЛ 1. МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ В ОРГАНІЗМІ	

ТЕПЛОКРОВНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ ШКІДЛИВОГО ВПЛИВУ КСЕНОБІОТИКІВ (літературний огляд).....	30
1.1 Сучасні уявлення про токсикокінетику ксенобіотиків та біохімічні механізми розвитку метаболічних порушень в організмі теплокровних тварин за умов їхньої дії.....	31
1.2 Біотрансформація ксенобіотиків у печінці.....	42
1.3 Стан оксидантно-антиоксидантної системи та апоптоз/некроз клітин за умов впливу ксенобіотиків.....	46
1.4 Способи корекції патологічних порушень в організмі людини та теплокровних тварин за умов дії хімічних чинників.....	51
Висновки до розділу 1.....	53
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	55
2.1 Обґрунтування вибору напрямків та об'єктів досліджень.....	55
2.2 Методи дослідження, що використовувалися в роботі.....	61
Висновки до розділу 2.....	70
РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ БЛОКСОПОЛІМЕРІВ НА ОСНОВІ ОКСИПРОПІЛЕНУ ТА ЕТИЛЕНУ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ.....	71
3.1 Дослідження біохімічних маркерів порушень функціонального стану печінки організму щурів у підгострому експерименті.....	71
3.2 Дослідження видів клітинної смерті у печінці щурів за умов дії ксенобіотиків.....	81
3.3. Патоморфологічні дослідження печінки за умов впливу полімерів оксипропілену та етилену	89
Висновки до розділу 3.....	96
РОЗДІЛ 4. ПОКАЗНИКИ ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН КЛІТИННИХ МЕМБРАН ОРГАНІЗМУ ТЕПЛОКРОВНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ ДІЇ КСЕНОБІОТИКІВ.....	98

4.1 Дослідження стану оксидантно-антиоксидантної системи організму щурів.....	98
4.2. Стан ліпідного бішару мембран еритроцитів щурів за умов дії ксенобіотиків.....	106
Висновки до розділу 4.....	111
РОЗДІЛ 5. ДОСЛІДЖЕННЯ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ КСЕНОБІОТИКІВ.....	113
5.1. Біохімічні показники обміну білків в крові експериментальних тварин та їх регуляція.....	113
5.2. Моніторингові показники обміну вуглеводів та ліпідів в крові щурів та їх регуляція.....	120
Висновки до розділу 5.....	128
РОЗДІЛ 6. ЕФЕКТИВНІСТЬ КОРЕКЦІЇ БІОФЛАВОНОЇДОМ (ПРЕПАРАТОМ «КВЕРТИН») СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОРУШЕНЬ В ОРГАНІЗМІ ТЕПЛОКРОВНИХ ЗА УМОВ ВПЛИВУ БЛОКСОПОЛІМЕРІВ.....	131
6.1. Дослідження функціонального стану печінки за умов проведеної корекції в організмі щурів.....	131
6.2 Дослідження білкового, вуглеводного, ліпідного обмінів за умов проведеної корекції в організмі щурів.....	138
6.3 Дослідження стану оксидантно-антиоксидантної системи організму щурів та гістологічних змін печінки за умов проведеної корекції	147
Висновки до розділу 6.....	152
ВИСНОВКИ.....	156
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	159
ДОДАТОК 1 Список публікацій здобувача за темою дисертації.....	191
ДОДАТОК 2.....	200
ДОДАТОК 3.....	201

ДОДАТОК 4..... 202

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ

АДГ	– алкогольдегідрогеназа
АОС	– антиоксидантна система
АлАТ	– аланінамінотрансфераза
АсАТ	– аспартатамінотрансфераза
АФК	– активні форми кисню
БП	– блоксополімери
ГП	– глутатіонпероксидаза
ДК	– дієнові кон'югати
ДЛ	– доза летальна ДЛ ₅₀ – (Dosis letalis 50)
ЕГ	– етиленгліколь
КБ	– ксенобіотики
Л	– лапрол
ЛДГ	– лактатдегідрогеназа
МДА	– малоновий диальдегід
МЕОС	– мікросомальна етанол окислююча система
ПАР	– поверхнево-активні речовини
ПЕГ-400	– поліетиленгліколь-400
ППГ	– поліпропіленгліколь
ПОЛ	– перекисне окислення ліпідів
СОД	– супероксиддисмутаза
ТБК-АП	– ТБК-активні продукти
ФС	– фосфатидилсерин
ЦП	– церулоплазмін
7-ААД	– 7-аміноактиноміцин D
MGMT	– O ⁶ -метилгуанін-ДНК метилтрансфераза

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Одним з перспективних напрямів сучасної біохімії є ксенобіохімія, що вивчає вплив шкідливих хімічних факторів навколишнього середовища, молекулярні механізми ефектів та закономірності їх перетворення в організмі [4, 65, 66, 128, 149, 197, 198].

Актуальність проведення експериментальних досліджень з розкриття біохімічних механізмів розвитку дисметаболических процесів в організмі за умов впливу ксенобіотиків (КБ) обумовлено зростаючим проникненням хімічних речовин до середовища перебування людини [108, 111, 149, 168]. Визначено, що 42 % ксенобіотиків потрапляють в атмосферу повітря, 12 % - вивозяться на смітник, 11 % - надходять на присадибні ділянки, 7 % - забруднюють територію населених пунктів, а 6 % залишаються в житлових приміщеннях [214, 231, 248].

До числа найбільш поширених та широко використовуваних речовин практично в усіх галузях господарства України відносяться блоксополімери (БП) на основі оксипропілену та етилену [1, 34, 70, 163, 167]. Населення України щорічно використовує полімери етилену карбамідних смол, фарб та лаків на основі поліефірів, акрилових і вінілових полімерів, об'єм яких досягає 302,6 тис. т.; мила на основі поверхнево-активних речовин (ПАР) та парфумних, косметичних і туалетних засобів – 100,1 тис. т.; гумових та пластмасових виробів з використанням ПАР – 288,4 тис. т.; пестицидів та агрохімічної продукції на основі ПАР – 1242,2 тис. т.; будівельних виробів з пластмас – 11821,0 тис. т.; тари з пластмас – 371,3 тис. т.; продукції домашнього вжитку з пластмас – 49,3 тис. т. [34, 40, 119, 120, 123, 132, 131].

Захворювання печінки, зокрема гострі та хронічні гепатити, цирози займають одне з найпоширеніших місць у патології людини, в патогенезі яких відводиться значна роль і КБ [2, 23, 59, 137, 197, 198].

Необхідність вивчення впливу БП на показники функціонального стану печінки обумовлена недостатньою інформацією в існуючій літературі про механізми виникнення метаболічних порушень в організмі за умов їхньої тривалої дії [2, 6, 8, 28].

Однією з функцій печінки є детоксикаційна, що пов'язана з процесами біотрансформації КБ та ендогенних речовин. Порушення механізмів кон'югації КБ залишками глюкуронової, сірчаної кислот, гліцину, глутатіону та інших речовин призводить до порушення гомеостазу та розвитку патологічних станів [28, 42, 57]. Відомо, що в процесі метаболізму КБ утворюються активні форми кисню та інтермедіати, що сприяють розвитку оксидативного стресу та зв'язуються з компонентами мембран та іншими клітинними структурами [21, 22, 48, 87].

Однак, не дивлячись на розповсюдженість даної групи КБ, вплив БП на основі оксипропілену та етилену на функціональний стан печінки щурів та його корекція залишається невивченою.

В такому разі поглиблені дослідження ролі оксидантно-антиоксидантної системи, стану цитоплазматичних мембран клітин, різних видів клітинної смерті (апоптоз, некроз) гепатоцитів, порушення метаболізму білків, вуглеводів, ліпідів та їхньої регуляції, інтенсивності репарації ДНК, біотрансформації за умов субтоксичної дії КБ та їх корекція на сьогодні є актуальним завданням.

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи є встановлення ролі змін метаболізму, оксидативного стресу, апоптозу і некрозу гепатоцитів та зміни структури мембран цих клітин та еритроцитів в розвитку порушень функціонального стану печінки за тривалої дії блоксополімерів на основі оксипропілену та етилену.

Для реалізації поставленої мети були визначені такі завдання:

1. Дослідити функціональний стан печінки щурів за визначенням активності індикаторних ферментів, процесів кон'югації (сульфатної та глюкуронової) за умов дії блоксополімерів. Вивчити морфологічні особливості печінки та дослідити рівень експресії MGMT.
2. Дослідити інтенсивність ліпідної пероксидації за вмістом дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів, 8-ізопростану в крові та стан антиоксидантної системи за визначенням активності каталази, супероксиддисмутази,

глутатіонпероксидази та вмісту церулоплазміну у крові експериментальних тварин.

3. Оцінити структурний стан цитоплазматичних мембран гепатоцитів шляхом визначення розміщення фосфатидилсерину в мембрані, а також дослідити стан мембран еритроцитів за допомогою флуоресцентних зондів за умов тривалої дії ксенобіотиків.

4. Оцінити життєздатність гепатоцитів та види їх клітинної загибелі за умов дії ксенобіотиків.

5. Дослідити вміст основних показників обміну білків, вуглеводів, ліпідів та їхню регуляцію.

6. Обґрунтувати можливість використання біофлавоноїдів (препарату «Квертин») для корекції метаболічних порушень в організмі щурів.

- *об'єкт дослідження* - стан метаболічної та детоксикаційної активності печінки за умов тривалого впливу блоксополімерів.

- *предмет дослідження* - біохімічні показники ліпідної пероксидації та стану антиоксидантної системи, стан мембран гепатоцитів та еритроцитів, експресія MGMT, активність апоптозу гепатоцитів, вміст загальних сульфатів та глюкуронідів у постмітохондріальній фракції гепатоцитів, активність трансаміназ, вміст показників метаболізму білків, вуглеводів, ліпідів та гормонів, що здійснюють їхню регуляцію в крові щурів.

Методи дослідження. Клініко-лабораторні (отримання сироватки крові, гомогенату печінки, гепатоцитів, еритроцитів); спектрофотометричні (визначення вмісту метаболітів та активності ферментів), імуноферментні, метод проточної цитофлуориметрії, метод флуоресцентних зондів, морфологічні (імуногістохімічні), статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. У роботі проведено комплексне дослідження функціонального стану печінки, зокрема метаболічна та знешкоджувальна активність за умов дії БП на основі оксипропілену та етилену.

Встановлено, що біологічна дія БП у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ супроводжується розвитком оксидативного стресу: підвищується в 2,17 рази

вміст продуктів перекисного окислення ліпідів - ТБК-активних продуктів, на 61,5 % - вміст дієнових кон'югатів, в 2,35 рази – вміст 8-ізопростану в крові щурів на тлі зниження вмісту моніторингових показників стану антиоксидантної системи, а саме церулоплазміну на 47,24 % та активності каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази - на 42,69 %, 41,26 %, 32,37 % відповідно, порівняно з контролем. Встановлено порушення структурно-функціонального стану печінки за умов впливу БП на основі оксипропілену та етилену, а саме підвищення активності трансаміназ: аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази - в 4,66 та 4,38 рази відповідно, пригнічення процесів кон'югації КБ за умов зниження вмісту загальних сульфатів та глікуронідів.

Вперше за допомогою флюоресцентних зондів визначено зміну стану мембран еритроцитів, зокрема формування на поверхні мембран клітин додаткової оболонки з молекул поліетиленгліколю-400, молекули КБ можуть вбудовуватися в гідрофобні ділянки плазматичної мембрани, взаємодіяти з жирними кислотами фосфоліпідів або з інтегральними білками.

Вперше доведено, що у дозі 1/10 ДЛ₅₀ рівень експресії MGMT в ядрах гепатоцитів підвищується, особливо за умов впливу поліетиленгліколю-400.

Вперше визначено, що за умов дії БП у дозі 1/10 ДЛ₅₀ виникає асиметрія розподілу фосфоліпідів у цитоплазматичній мембрані гепатоцитів, а саме екстерналізація фосфатидилсерину.

Доведено, що тривала токсифікація БП сприяє зниженню життєздатності гепатоцитів на 18,2 %, підвищенню відсотку ранньо- та пізньоапоптичних клітин, а за умов впливу етиленгліколю виникає некроз гепатоцитів.

Біоетична експертиза. Роботу з лабораторними тваринами (щурами) проводили відповідно до вимог положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» та згідно відповідних Законів України. Доцільність використання експериментальних тварин та їх кількість була узгоджена з комісією з біоетики НДІ біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Експертиза з питань біоетики проведена на засіданні

комітету з біоетики НДІ біології (протокол № 6 від 21 червня 2018 р.).

Особистий внесок здобувача. Дисертантом проведено визначення наукової концепції роботи, мети, завдань, об'єктів дослідження. Автором проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз та систематизація наукової літератури з теми дисертації. Дисертантом особисто обрано комплекс сучасних методів дослідження, проведені експериментальні дослідження, одержані дані та їх статистична обробка. Підготовлено матеріали публікацій. Аналіз та інтерпретація одержаних результатів проведені спільно з науковим керівником д.мед.н., проф. Наконечною О. А. Наукові положення і результати, наведені в дисертаційній роботі, отримані автором особисто.

Дослідження стану мембран гепатоцитів, визначення асиметрії мембран, оцінка стадій апоптозу/некрозу та життєздатності гепатоцитів було виконано за підтримки проф. Бабійчук Л. О. (відділ кріоцитології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України), стан клітинних мембран еритроцитів визначено методом флуоресцентних зондів, що проведено в лабораторії «Інституту сцинтиляційних матеріалів» НАН України; морфологічні дослідження проведені в патоморфологічному секторі Центральної науково-дослідної лабораторії ХНМУ за консультативної допомоги професора Губіної-Вакулик Г. І. У дисертації не використовували ідеї або концепції, які належать співавторам опублікованих наукових праць.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертації були представлені та обговорені на конференціях всеукраїнського та міжнародного рівнів: 9th ISABS Conference on Forensic, Anthropologic Genetics and Mayo Clinic Lectures in Individualised Medicine (Bol, 2015); CROSS 12 - Croatian Student Summit (Zagreb, 2016); XXIV Міжнародній науково-практичній конференції «КАЗАНТИП-ЭКО-2016. Инновационные пути решения актуальных проблем базовых отраслей, экологии, энерго- и ресурсосбережения» (Харків, 2016); Науково-практичній конференції «Довкілля і здоров'я», присвяченій 30-річчю Чорнобильської катастрофи (Тернопіль, 2016); VIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Біологічні дослідження - 2017» (Житомир, 2017); III

Конференції молодих вчених біохіміків і молекулярних біологів з міжнародною участю (Гродно, 2017); Республиканской научно-практической конференции и 27-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета «Актуальные проблемы медицины» (Гомель, 2017); Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 25-річчю медичного інституту Сумського державного університету «Здоров'я людини: теорія і практика» (Суми, 2017); II Міжнародній заочній науково-практичній конференції «Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук» (Миколаїв, 2017); Науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Актуальні проблеми експериментальної та клінічної біохімії» (Харків, 2017 та 2018); Науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Актуальні питання лабораторної медицини» (Харків, 2018); ISIC 2018 (Харків, 2018).

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, 6 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг загального тексту дисертації складає 202 сторінки, з них основного тексту 139 сторінок. Робота ілюстрована 25 таблицями та 42 рисунками. Список використаних джерел містить 302 найменування.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано на базі кафедри біохімії біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна та кафедри біологічної хімії Харківського національного медичного університету в рамках Договору № 201/11-18/Н про науково-практичне співробітництво між Харківським національним університетом імені В. Н. Каразіна та Харківським національним медичним університетом згідно виконання НДР кафедри біологічної хімії ХНМУ «Біохімічні механізми розвитку дисметаболических процесів за умов впливу хімічних чинників навколишнього середовища» № державної реєстрації 0115U000240.

Практичне значення одержаних результатів. Проведене експериментальне дослідження поглиблює сучасні уявлення про порушення

метаболической та знешкоджуючої функції печінки за умов тривалої дії БП на основі оксипропілену та етилену у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

У експерименті доведено використання лікарського препарату «Квертин» як біофлавоноїда для покращення структурно-функціонального стану печінки, що може в подальшому бути використано у лікуванні екопатологій, роботі НДІ з профілактичною та терапевтичною метою.

Одержані результати можуть бути використані у профпатологічній службі для працівників хімічних підприємств, безпосередньо контактуючих з БП.

Отримані результати досліджень захищені Патентом України на винахід «Спосіб прогнозування рівня токсичності поверхнево-активних речовин» (№ 118223). Результати дослідження впроваджено у навчально-педагогічний процес кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України, кафедри медичної, біоорганічної та біологічної хімії ВДНЗУ „Українська медична стоматологічна академія” МОЗ України, кафедри біохімії Одеського національного університету імені І. І. Мечникова (впровадження підтверджені відповідними актами).

РОЗДІЛ 1

МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ В ОРГАНІЗМІ ТЕПЛОКРОВНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ ШКІДЛИВОГО ВПЛИВУ КСЕНОБІОТИКІВ (літературний огляд)

Відомо, що проблема зростаючого хімічного забруднення навколишнього середовища за висновком ВООЗ сьогодні є всесвітньою актуальною проблемою [121, 123, 124, 154]. Великі обсяги виробництва, широкий контакт населення з ПАР ставлять перед медиками та біологами задачі обґрунтування донозологічних високочутливих експрес-методів визначення біологічної активності детергентів та методів оцінки стану здоров'я населення, що контактує з ПАР. Вирішення цих питань потребує глибокого вивчення молекулярних механізмів, які лежать в основі формування структурно-метаболических порушень при дії на організм поверхнево-активних речовин [7, 48, 57, 96, 143]. Серед ксенобіотиків особливе місце займають ПАР, які внаслідок своїх унікальних фізико-хімічних властивостей, знайшли надзвичайно широке використання, практично, у всіх галузях господарства України [1, 54, 134, 164].

Потреба в детергентах в Україні велика і має тенденцію постійного зростання: 49 % припадає на технічні продукти, 34 % - побутові мийні засоби, а 17 % - на засоби особистої гігієни. Асортимент ПАР включає більше 10 000 найменувань [131, 132]. Динаміка виробництва ПАР і прогноз потреби до 2020 року свідчать про неухильний ріст обсягів використання цих речовин [34, 120].

З гідрофільно-ліпофільним балансом ПАР пов'язані такі їхні важливі властивості, як здатність до піноутворення, адсорбція на поверхнях, емульгування і солубілізація. Ці речовини здатні змінювати проникність біологічних мембран і ступінь резорбції різних речовин [7, 33, 40, 54, 59, 118].

Продукти гідролітичної деструкції і трансформації, термодеструкції і біотрансформації ксенобіотиків, які представлені комплексом вуглеводнів,

альдегідів, кетонів, спиртів тощо, індукують вільнорадикальну патологію [60, 85, 86]. Серед виявлених з'єднань виявлялися гексан, гептан, октан, оцтовий, пропіоновий, кротоновий, аліловий, масляний альдегіди та димер формальдегіду, метанол, етанол, метилаль, ізопропанол, ізопропіловий і ізоаліловий спирти, ацетон, діацетоновий спирт, окис етилена та пропілена та інші компоненти [134, 163]. В основі утворення цих продуктів лежить загальний механізм вільно-радикального окислювання ПАР. Доведено, що блоксополімери оксису етилену і пропілену з відносно низькою молекулярною масою мають більш високу токсичність, ніж з великою. Ступінь токсичності зростає, як визначено, зі збільшенням оксietiльованих груп [85, 164, 263, 268]. Встановлено, що продукти деструкції КБ значно токсичніші своїх попередників і належать до другого-третього класу небезпеки на підставі параметрів токсичності та здатні вражати всі органи, системи і функції організму в тривалих токсикологічних експериментах [196, 231, 267].

Дотепер залишаються невивченими метаболічні порушення, зокрема порушення обміну білків, вуглеводів, ліпідів, функціональний стан печінки за умов впливу блоксополімерів на основі оксису етилену та пропілену, що в свою чергу стримує розробку ефективних заходів профілактики та корекції. Все вищенаведене обумовлює необхідність подальших досліджень.

1.1 Сучасні уявлення про токсикокінетику ксенобіотиків та біохімічні механізми розвитку метаболічних порушень в організмі теплокровних тварин за умов їхньої дії

БП на основі оксису етилену та пропілену знайшли широке застосування в різних галузях народного господарства як цільові продукти, так і в якості основного компоненту для одержання інших продуктів [1, 33, 54]. Вони використовуються для одержання еластичних, напівтвердих, твердих поліуретанів, синтетичної шкіри, емалей, лаків, антиадгезивних рідин. Самостійно застосовуються як роздільники нафтових емульсій, синтетичні масла

для компресорів, гідравлічні рідини в пресах, компоненти гальмових рідин в автомобільній промисловості, допоміжні речовини при обробці тканин [54, 59, 61, 88, 98, 123, 132].

Аналіз зростання використання КБ в Україні засвідчує гостроту ситуації щодо реальної небезпеки для громадського здоров'я цієї проблеми, яка вже створила ідеальні умови для формування в регіонах країни нової небезпечної екологічної патології хімічного генезу [96, 108, 165].

Доведено, що в патогенезі і морфогенезі екологічної патології має значення не тільки безпосередній вплив КБ, але також різні перетворення в організмі, а саме: транспорт через мембрани, синергізм, біодеградація, вплив на молекулярну структуру та ультраструктуру [17, 27, 29, 246]. На думку багатьох вчених КБ в організмі людини можуть включатися в обмін речовин, викликаючи дисметаболізм та різні тяжкі наслідки, накопичуватися у субклітинних структурах організму [163, 164, 218, 224, 237].

Виходячи з теорії поверхневих явищ, які відбуваються на межі розділення фаз як у динаміці технологічного процесу, так і в живих організмах, встановлена активність взаємодії синтетичних КБ з білками і ліпідами біологічних систем, що обумовлює широкий діапазон їх дії на системи і функції організму [202, 211, 214, 238]. У цьому аспекті важливим є обґрунтування механізму їх біологічної дії у зв'язку з структурно-метаболічними порушеннями різних органів, систем, функцій.

Дослідження дії КБ на організм передбачає вивчення як специфічних, так і загальних механізмів. Розрізняють первинні та вторинні порушення гомеостазу або специфічні та неспецифічні патологічні механізми [73, 108, 111, 186, 209]. До первинних порушень гомеостазу належать молекулярні взаємодії КБ з рецепторами, гомеостатичні порушення на клітинному рівні, початкові порушення функціональних систем, які тлумачать як пусковий патогенетичний механізм [217, 218, 237]. Вторинні порушення гомеостазу охоплюють компенсаторні механізми, що характеризують картину токсичної дії того чи іншого фактора [234, 249, 251].

В організмі КБ, як і інші речовини проходять ряд подібних етапів: надходження у внутрішнє середовище, транспорт, розподілення та метаболізм, екскреція чи накопичення. Метаболічна доля КБ залежить від наявності ферментів, які здатні каталізувати їх біотрансформацію. Ферменти біотрансформації не повинні володіти високою специфічністю, оскільки дані субстрати відносяться до чужорідних. Таким чином більшість КБ підвержені ферментативним змінам в організмі (переважно в печінці), але частина їх може виводитися з організму в незмінному вигляді [25, 27, 57, 71, 108].

Токсикокінетика етиленгліколю (ЕГ) вивчена досить добре [38, 40]. Потрапляючи до шлунка, ЕГ швидко всмоктується в кров і відносно рівномірно розподіляється в органах і тканинах, але не кумулюється. Відзначено більш низький вміст ЕГ в печінці, нирках, м'язах, легенях, головному мозку і жирі порівняно з його вмістом в крові, особливо, в сечі [61, 71, 72, 108]. Так, в експерименті на щурах за допомогою ізотопного аналізу встановлено, що через годину після внутрішньошлункового ведення ЕГ в дозі 4,5 мл / кг в шлунково-кишковому тракті залишається лише 13,5 % від загальної кількості, яка надійшла. Максимальний вміст ЕГ в крові різних видів тварин (щурів, собак, мавп) і людей спостерігається через 1 - 4 години після його перорального надходження до організму. Період напіввиведення ЕГ нетривалий і становить у людей від 3 до 4,5 годин [59, 104]. ЕГ швидко елімінується з організму і вже через кілька годин після прийому його вміст в сечі стає значно вище, ніж в крові.

З даних літератури відомо, що у випадках затравки щурів ЕГ в абсолютно смертельній дозі токсикокінетика ЕГ і його метаболітів зазнає суттєвих змін. Так, після звичайного зниження вмісту ЕГ у крові (3 - 6 год інтоксикації) відзначається поступова стабілізація його вмісту (на 6 - 18 год інтоксикації) та зберігається до моменту загибелі тварин [167]. Автори пов'язують з розвитком через 12 годин інтоксикації гострої ниркової недостатності, про що свідчила олігоурія та анурія. Автори зазначають, що вміст гліколевої кислоти - основного метаболіту ЕГ, поступово підвищувався, досягаючи максимуму до моменту

загибелі тварин, причому концентрації ЕГ і гліколевої кислоти в сечі значно перевищували їх вміст у крові (Рис. 1.1) [104].

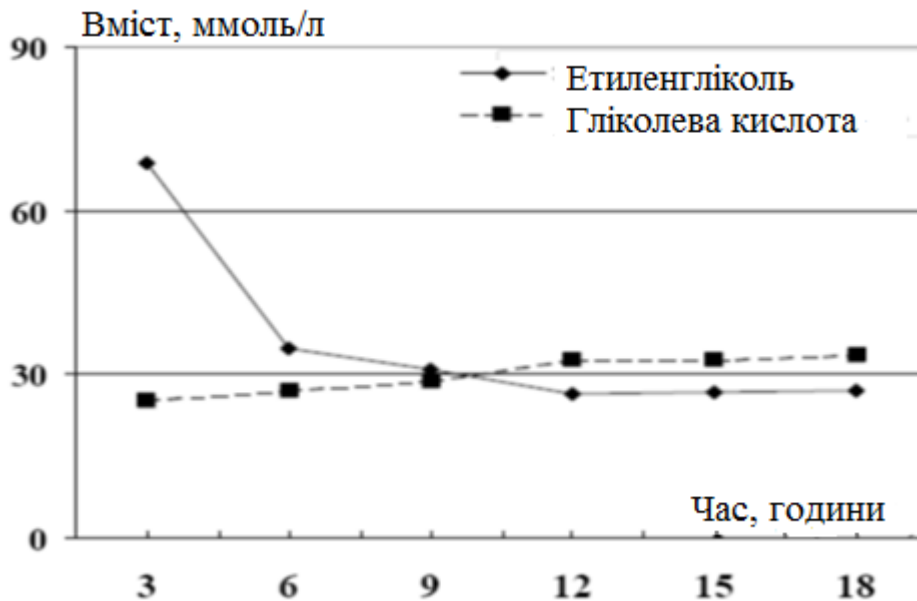


Рис. 1.1 Зміна вмісту етиленгліколю і гліколевої кислоти в крові тварин за умов впливу ЕГ в дозі 1,5 ДЛ₅₀ [104]

Автори наполягають на тому, що вплив ЕГ супроводжується швидким розвитком гострої ниркової недостатності, яка може мати суттєвий вплив на його токсикокінетику. Згідно з літературними даними ЕГ після його введення виявляється в сечі щурів протягом 48 годин [104].

Механізм токсичної дії ЕГ досить складний. У ньому прийнято виділяти ефекти, які зумовлені дією незміненої молекули ЕГ і продуктами його біотрансформації. У дії незміненої молекули ЕГ науковці виділяють два аспекти. Перший з них полягає в тому, що у ЕГ є характерні для спиртів взагалі, наркотичні властивості, які виражені в незначній мірі. Другий - полягає у високій осмотичній активності ЕГ й, мабуть, його метаболітів, що сприяє перерозподілу рідини за осмотичним градієнтом з розвитком гідропічної дегенерації клітин, яка характерна для паренхіматозних органів, і печінки зокрема, в основі якої лежить процес деструкції цитоплазматичних білків та, як наслідок, загибель клітин [72,

138, 148, 167, 169, 176, 177]. В даний час переважною є точка зору, згідно з якою токсичність ЕГ визначається, в основному, продуктами його біотрансформації [47, 57, 63, 64, 69, 88, 134].

За сучасними уявленнями окислення первинних алкоголів в організмі відбувається за схемою: спирт → альдегід → кислота. У початковій стадії процесу беруть участь чотири ферментні системи: алкогольдегідрогеназа (АДГ), мітросомальна етанол окислююча система (МЕОС), каталаза і ксантинооксидаза [41, 89].

НАД-залежна АДГ є основним ензимом, який метаболізує аліфатичні спирти. Це цитоплазматический Zn-вмісний фермент (оптимум рН ~ 11), широко представлений в різних тканинах, однак основна його активність виявляється в клітинах печінки. АДГ має низьку субстратну специфічність, окислюючи первинні і вторинні аліфатичні спирти та альдегіди, кетони, ароматичні алкоголі та альдегіди, полієнові спирти, феноли, стероїди і т.д. [85, 87].

Другою за значимістю для метаболізму спиртів ферментної системою є МЕОС, у функціонуванні якої беруть участь кисень, флавопротеїд, НАДФ і цитохром Р450. Вважається, що участь МЕОС в метаболізмі спиртів здійснюється двома шляхами. Перший – це безпосереднє внесення молекулярного кисню в молекулу алкоголю з утворенням відповідного альдегіду, другий пов'язаний з генерацією цитохромом Р450 перекису водню, що використовується каталазою для окислення спирту. Оптимальні умови рН для діяльності МЕОС - це 6,9 - 7,5 [48, 182].

Крім АДГ і МЕОС в метаболізмі спиртів бере участь каталаза (оптимум рН 5,5), що локалізована, в основному, в пероксисомах гепатоцитів і еритроцитах. Найбільш інтенсивно каталаза метаболізує метанол і етанол, перетворюючи їх у відповідні альдегіди, і, практично, не взаємодіє з вищими спиртами. Каталазний шлях біотрансформації метанолу у гризунів, на відміну від людини, є провідним. Одним з основних джерел перекису водню, що використовується каталазою для окислення спиртів, є її генерація ксантинооксидазою при трансформації

гіпоксантину в ксантин. В нормальних умовах внесок каталази і ксантиноксидази в метаболізм спиртів незначний [48, 49, 77].

Наступний етап біотрансформації аліфатичних спиртів полягає в перетворенні альдегідів. Реакції метаболізму альдегідів, як правило, не пов'язані з ендоплазматичним ретикуломом і здійснюються трьома групами ферментів: альдегіддегідрогеназою (АльдГ), альдегідоксидазою і альдегідліазою. Їх активність зосереджена в цитоплазмі, мітросомах і, особливо, в мітохондріях гепатоцитів [58, 74, 75].

Доля кислот, що утворюються в результаті метаболізму спиртів, може бути різною. Вони піддаються подальшій ферментній біотрансформації, вступають в реакції кон'югації, включаються в проміжний обмін, виводяться з організму, головним чином, з сечею [59, 61, 71, 77].

Велика частина ЕГ піддається біотрансформації в печінці та нирках. На першому етапі ЕГ метаболізується НАД-залежною АДГ в гліколевий альдегід (Рис. 1.2) [182].

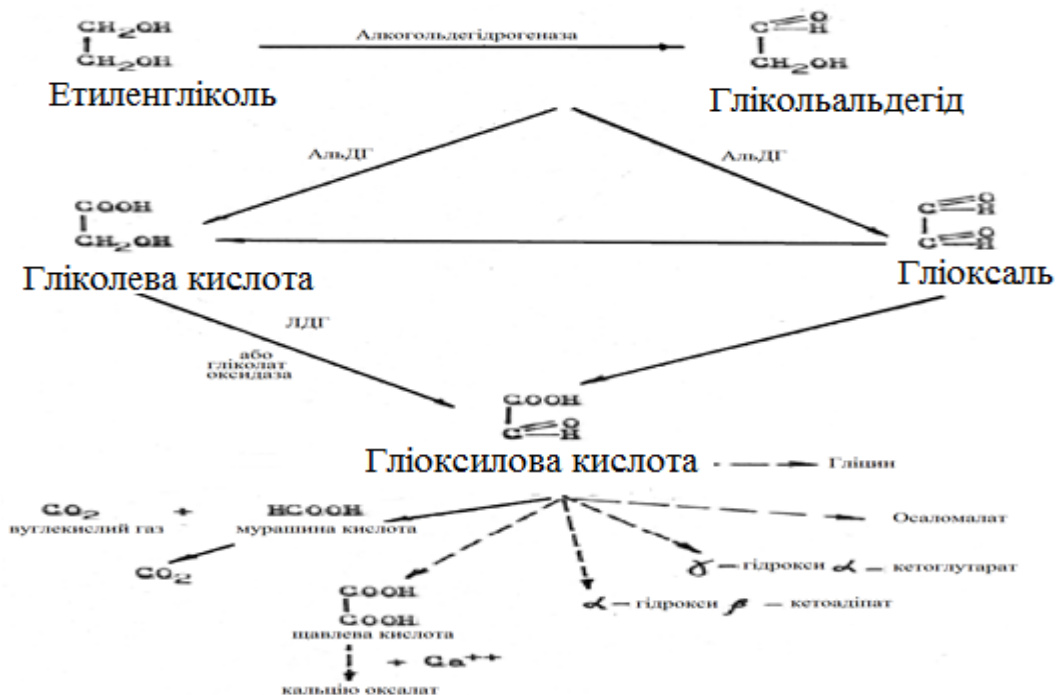


Рис. 1.2 Схема біотрансформації етиленгліколю [182]

Подальший розпад ЕГ відбувається під впливом АльДГ, яка трансформує гліколевий альдегід в гліколеву кислоту і глюксаль, гліколева кислота за участю

лактатдегідрогенази (ЛДГ) перетворюється в гліоксилову кислоту. Трансформація гліоксалу в гліоксилову кислоту відбувається як ензиматичним (за допомогою АльДГ), так і неензиматичним шляхом. Перетворення гліоксилової кислоти здійснюється декількома шляхами: утворення мурашиної кислоти з виділенням CO_2 ; трансформація в шавлеву кислоту під впливом ЛДГ або альдегідоксидази; трансформація в гліцин шляхом трансамінування за участю вітаміну B_6 і далі, при взаємодії з бензойною кислотою перетворення на гіпурову; кон'югація з утворенням оксаломалату, γ -гідрокси- α -кетоглутарату, α -гідрокси- β -кетoadипату [74, 75, 83, 182].

Токсичність основних продуктів біотрансформації ЕГ розподіляється наступним чином: гліоксилова кислота > гліколевий альдегід > оксалат > гліколева кислота. Всі зазначені речовини здатні пригнічувати тканинне дихання, окисне фосфорилування і біосинтез білку і як наслідок, основні функції білків, зокрема транспортну, структурну, ензиматичну [108, 109, 214].

Авторами доведено, що у хронічному експерименті поліоксиетилен молекулярної маси 400 у концентрації 100,0 мг/кг маси тварини викликає ураження паренхіми печінки та каналцевої частини нефрону. У крові, за умов його тривалої дії, спостерігається зниження вмісту еритроцитів, лейкоцитів, гемоглобіну, сульфгідрильних груп білків крові [57, 61]. Летальний ефект спостерігається за наявності печінкової коми та енцефалопатії внаслідок надходження у головний мозок аміаку, фенолів, меркаптанів, кетосполук, ароматичних амінокислот [29, 92, 99].

Автори підкреслюють, що порушення властивостей білків КБ різне в залежності від їх типів, концентрації, а також структурно-функціональних особливостей білку. При цьому можлива: денатурація білку, деактивація його активних центрів, а також активаторів та молекул, які стабілізують білок тощо [100, 194, 217, 219, 249, 267].

Денатурацію можуть спричинювати кислоти, луги, іони важких металів, а в її основі лежить пошкодження ковалентної дисульфідної взаємодії, а також водневого, іонного зв'язку та гідрофобних взаємодій [263, 267, 276]. Найчастіше

КБ взаємодіють із карбоксильною, гідроксильною, амінною та сульфгідрильними групами радикалів амінокислот білків [196, 201]. При взаємодії КБ з ферментами спостерігається або посилення їх каталітичної активності за рахунок посилення їх синтезу, або блоку деградації чи збільшення активності, або пригнічення каталітичної активності - за рахунок пригнічення їх синтезу, прискорення їх деградації, пригнічення специфічної активності [231, 236]. Основну роль при цьому грають конформаційні зміни молекул ферментів [176, 196].

Ряд досліджень доводить, що посилення синтезу ферментів може бути викликане надходженням до організму КБ-індукторів [218, 251]. Фізіологічними індукторами синтезу ферментів є, наприклад, стероїдні та тиреоїдні гормони. Деякі КБ належать до екологічних ендокринних руйнівників (ЕР), які нагадують природні гормони. З огляду на можливість постійного надходження КБ з водою, повітрям, продуктами харчування та акумуляції їх в клітинах і тканинах живих організмів, створюються умови для їх тривалої дії, що замінює цілеспрямоване виділення власних гормонів [141, 198, 199, 200, 248, 259, 2264]. Доведено, що в основі механізму дії КБ, як ЕР лежить їх властивість специфічно з'єднуватися як ліганди з гормональними рецепторами клітин, які відповідають на ці сигнали гормоноподібними ефектами [121], тобто КБ грають роль псевдогормонів, так як викликані ними гормональні ефекти фізіологічно не обумовлені.

При стресі надмірна продукція глюкокортикоїдів призводить до протеолізу білків сполучної тканини і синтезу з отриманих амінокислот у печінці глюкози (глюконеогенезу). Глюкокортикоїди – це індуктори синтезу фосфоенолпіруваткарбоксикінази, фруктозо-1,6-біфосфатази та глюкозо-6-фосфатази [121, 219]. Тиреоїдні гормони індукують синтез біля 100 різних білків, з ферментами включно, оскільки відповідають за ріст та диференціацію тканин організму [191, 218, 226, 228, 235, 251].

Результати експериментальних досліджень виявили, що КБ, зокрема блоксополімери окису етилену та пропілену, мали односпрямовану дію на динаміку пулу плазмових амінокислот, яка характеризувалася зниженням

гліцину, цистеїну, цистатіоніну, треоніну, серину, аланіну, метіоніну, ізолейцину, валіну, тирозину, фенілаланіну, лізину, триптофану, лейцину на тлі підвищення аспартату, аспарагіну, глутамату, глутаміну, аргініну, проліну, гістидину, оксипроліну, вираженість якого залежала від дози введеної тваринам сполуки. Значне підвищення фонду плазмових амінокислот пояснюється посиленням катаболічних процесів в тканинах і є пристосувальною реакцією при патологічних станах, спрямованої на забезпечення гомеостазу [95, 108].

Деякі автори стверджують, що тривалий вплив КБ цієї ж групи в 1/10 і 1/100 ДЛ₅₀ призводить до перемикання аеробного шляху добування енергії на анаеробний - гліколітичний, на що, можливо, вказує підвищення вмісту в плазмі крові аспартату, аспарагіну, що є субстратами синтезу глюкози, а також лактату і пірувату для глюконеогенезу [57, 211].

Відомо, що глюкоза транспортується через плазматичну мембрану за допомогою специфічних білків-переносників - монокарбоксилату 1 (МСТ1) і монокарбоксилату 4 (МСТ4). За умов впливу КБ відбувається порушення функціонування у мембрані білків-транспортів, а саме пригнічення їх діяльності, і як наслідок, спостерігається менше виробництво та транспортування лактату, що призводить до численних дегенеративних відхилень у клітинах, зокрема до змін у циклі Кребсу та активності його ферментів (малатдегідрогенази, ізоцитратдегідрогенази тощо) у мітохондріальних фракціях, зниженням аеробного окислення ацетил-КоА, низьким рівнем генерації АТФ, апоптозу [217].

Також за умов впливу КБ змінюється експресія білків, які формують інсулінові рецептори у мембрані (зокрема IRS-1 у скелетних м'язах), які є ключовими білками в регуляції гомеостазу глюкози [212, 228], чим погіршують передачу сигналу інсуліну в периферичних тканинах. На тлі цього спостерігається поява резистентності до інсуліну через сприяння експресії супресорів сигналізації цитокінів, що може бути фактором ризику розвитку діабету 2 типу [214, 219, 226].

Автори доводять, що інгібування ферментів КБ може проходити за такими

шляхами, як конкурентне, неконкурентне, безконкурентне та змішане інгібування. Конкурентне інгібування виникає тоді, коли молекула КБ дуже схожа на субстрат ферменту, що останній не розрізняє різниці. Деякі КБ можуть зв'язуватися з активним центром, не пошкоджуючи фермент, проте самі не метаболізуються. В результаті V_{\max} не змінюється, а K_m збільшується. Неконкурентне інгібування має місце тоді, коли КБ зв'язується з алостеричним центром ферменту, що призводить до зміни конформації всього ферменту, включно з активним центром. В результаті V_{\max} зменшується, а K_m не змінюється [136, 232, 279]. Деякі КБ зв'язують метали, які виконують коферментну роль, що призводить до зменшення їх ферментативної активності. Особливої уваги заслуговують КБ, що взаємодіють з залізом, міддю, кобальтом, оскільки ці елементи є складовими простетичних груп ферментів, а саме гем-вмістних, цитохромів, каталази, пероксидази тощо [78, 136].

Тривале пероральне надходження КБ призводить до порушення окислювально-відновлювальних процесів, що підтверджується зниженням активності ферментів сукцинат-, малат-, лактат- та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази [57, 74, 108]. Високу чутливість до пошкоджуючої дії промислових отрут мембранотропної дії мають ферментні системи мембран ендоплазматичного ретикулуму гепатоцитів. Блокування реакцій мікросомального окислення викликають тетрахлоретан, 1,2-дихлоретан, хлороформ, тетрахлоретилен, похідні гідразину тощо. За умов їх гострої інтоксикації різко знижується вміст цитохрому P-450 з переходом в каталітично неактивну форму P-420 і активність відповідних цитохром-P-450-залежних монооксигеназ, що окислюють КБ [48, 134].

Сучасні дані свідчать про вплив КБ на експресію генів та метилювання ДНК, що призводить до епігенетичних змін і, як наслідок, репродуктивним дисфункціям як у чоловіків, так і у жінок [177]. Доведено, що вплив КБ у період гестації спричинює порушення репродуктивної функції у нащадків у дорослому віці серед особин жіночої статі [181, 211]. В гіпоталамусі відбувається перепрограмування експресії набору генів, які контролюють репродуктивну

функцію, шляхом зміни їх метилювання. Тому вплив КБ у ранньому віці має вплив на експресію генів та метилювання ДНК на протязі всього життя [211, 214].

Науковцями доведено, що тривалий вплив БП супроводжується також порушенням анаболічних процесів, підвищенням ймовірності загибелі клітин [212]. Розриви у двоспиральній структурі ДНК і заміни азотистих основ з денатурацією спіралі ДНК, порушення пакування в нуклеосомах і суперспіралях є найбільш частими структурними змінами генетичного апарата в організмі тварин. Крім того, речовини та їх метаболіти здатні знижувати стійкість хроматину, про що свідчить поява хромосомних аберацій і зниження мітотичної активності клітин червоного кісткового мозку [202, 210]. Потенційний деструктивний вплив поліолів на генетичний апарат клітин супроводжується порушенням синтезу білка та виникненням віддалених ефектів: гонадотоксичного, ембріотоксичного, мутагенного та тератогенного. Поява помилок у транскрипції та трансляції за умов впливу сполук призводить до збільшення нестабільності клітинних систем, ймовірності загибелі клітин. Усі ці процеси мають тенденцію до зростання у залежності від дози речовин [202, 219, 240, 251].

За результатами багаторічних експериментальних досліджень на теплокровних, проведених в Харківському національному медичному університеті, встановлено, що ПАР, в залежності від дози впливу, при тривалому надходженні до організму здійснюють глибоку перебудову систем регуляції внутрішньоклітинного метаболізму, порушують обмін нейромедіаторів, кінетичні характеристики параметрів рецепторного зв'язування радіолігандів на фоні пригнічення аденілатциклазного і активації гуанілатциклазного медіаторного каскаду, що переконливо віддзеркалює мембранотропну дію ксенобіотиків, в основі якої лежать первинні зміни фізико-хімічних властивостей ліпідного бішару біомембран, та значну напругу адаптаційно-приспосувальних механізмів організму, спрямовану на забезпечення гомеостазу [58-62, 108-110].

У наукових дослідженнях [57, 60] розкриті глибокі структурно-

функціональні механізми патогенетичного впливу на організм експериментальних тварин великої групи ПАР. Визначено, що первинною ланкою механізму біологічної дії цих хімічних сполук на організм є радіотоксичний ефект, що розвивається внаслідок накопичення в організмі продуктів стимуляції ПОЛ і мікросомального окиснення КБ (перекиси, гідроперекиси, дієнові кон'югати, вільні радикали, спирти, альдегіди).

Доведено, що ПАР сьогодні потребують особливої уваги біохіміків, гігієністів, клініцистів, оскільки вони володіють радіоміметичними властивостями і викликають в організмі мембранну патологію [61, 164].

У роботах [63, 108] доведено, що вплив ПАР на організм теплокровних за механізмом розвитку вільнорадикальної патології подібен радіобіологічному ефекту від йонізуючої радіації. Властивість модулювати такі ефекти у біологічних об'єктах сьогодні потребує нових методичних підходів до розробки системи профілактичних заходів у захисті від ПАР [57].

1.2 Біотрансформація ксенобіотиків у печінці

Відомо, що гепатотоксичність – це властивість хімічних речовин викликати структурно-функціональні порушення печінки [25, 28]. Вплив КБ на печінку обумовлений тим, що при потрапленні до організму вони після всмоктування, в першу чергу, надходять та головним чином метаболізуються в ній. Реакція печінки на вплив КБ однотипна та неспецифічна – стеатоз, некроз, холестаза, цироз, канцерогенез [71, 87, 197].

З даних літератури відомо, що процес біотрансформації ґрунтується, в основному, на знешкодженні КБ, внаслідок чого його розглядають як один із захисно- пристосувальних механізмів. За сучасними уявленнями у процесі знешкодження КБ розрізняють три фази: 1) фазу активації, 2) фазу детоксикації або кон'югації, 3) фазу виведення з організму. Сполучена дія перших двох фаз звичайно призводить до підвищення гідрофільності та зниження активності й токсичності КБ [29].

На Рис. 1.3 представлені можливі комбінації взаємодії двох фаз біотрансформації.

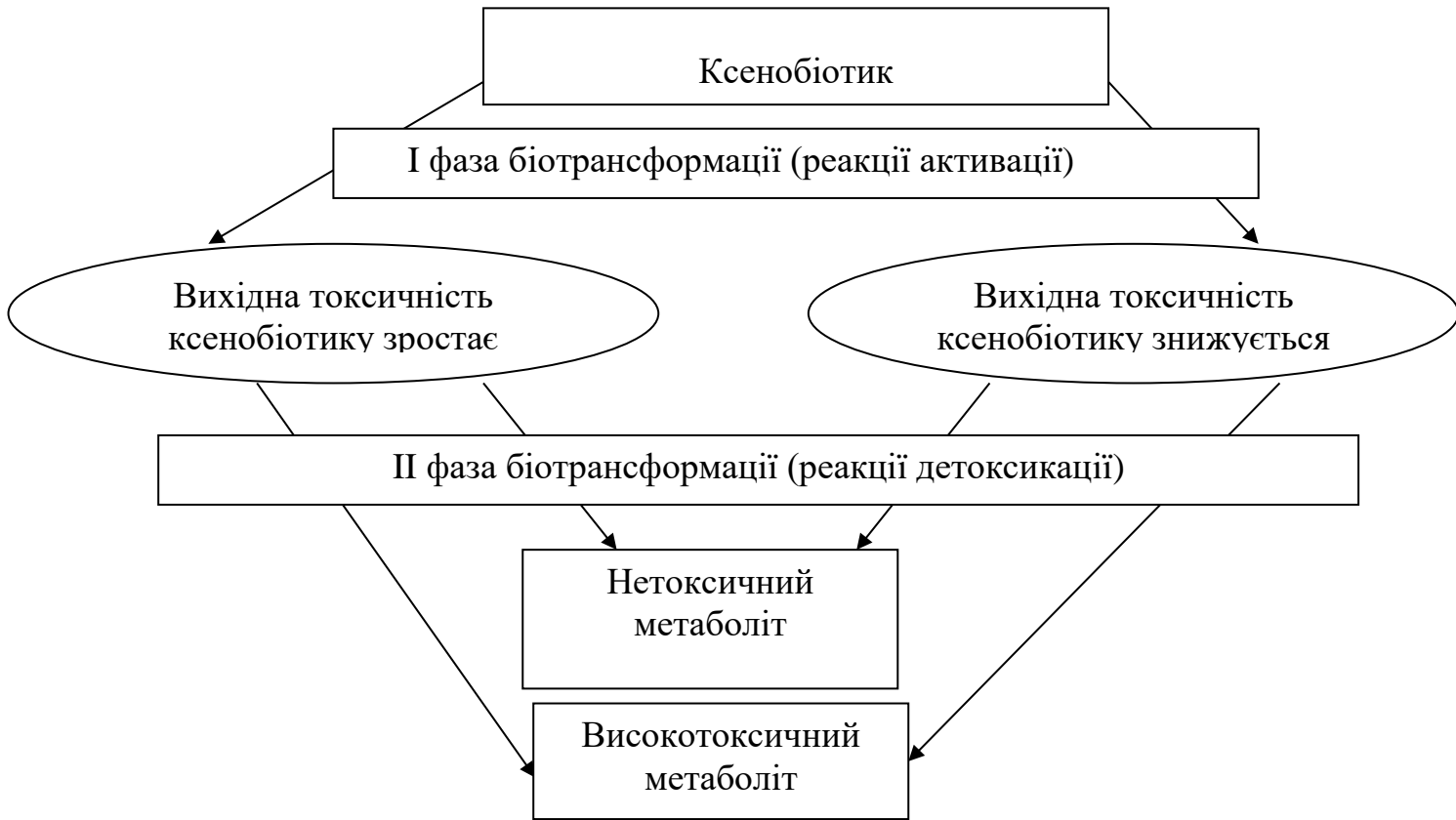


Рис.1.3 Зміна токсичних властивостей ксенобіотику в ході реакцій I-ї і II-ї фаз біотрансформації [29]

Відомо, що у ході ферментативних реакцій I-ї фази біотрансформації (фаза активації) утворюються водорозчинні сполуки. Надалі ці сполуки можуть піддаватися кон'югації з ендogenousними сполуками, відновленню або гідролізу за допомогою ферментів II-ї фази (фаза детоксикації), а потім виведенню з організму [27].

Перша фаза знешкодження КБ ґрунтується переважно на окислювальних перетвореннях за участі ферментів родин цитохрому Р-450, флавінзалежної монооксигенази, алкогольдегідрогенази, альдегіддегідрогенази, простагландинсинтетази. Також у цій фазі можуть відбуватися й реакції гідролізу за участі арилестераз, карбоксилестераз. Основні функції ферментів першої фази спрямовані на приєднання до КБ гідрофільних функціональних

груп, що робить їх, з одного боку, більш розчинними у воді, а з іншого боку, утворений проміжний метаболіт може бути більш реакційноздатним і токсичним [29]. Посилення полярності КБ зменшує їх здатність розчинюватися у ліпідах і значно підсилює можливість більш легкої екскреції з сечею.

У реакції II-ї фази метаболізму КБ можуть вступати не тільки після метаболізму в реакціях I-ї фази, та й безпосередньо, а згодом піддаватися або не піддаватися окисленню ферментами цитохрому P450, а результатом метаболізму може бути як зменшення, так і посилення токсичних властивостей субстрату, що є вагомим фактором ризику хімічного пошкодження важливих біомолекул, зокрема, білків та нуклеїнових кислот, з втратою їх функціонального призначення [51, 92].

Друга фаза знешкодження КБ, фаза кон'югації, також спрямована на підвищення гідрофільності та зниження токсичності КБ за рахунок дії в основному ферментів класу трансфераз: глутатіонтрансферази, сульфотрансферази, УДФ-глюкуронілтрансферази, ариламін-N-ацетилтрансферази, ацетилтрансферази, метилтрансферази [27].

Найбільше значення відводиться трьом типам кон'югації, а саме, з глутатіоном, глюкуроною кислотою та сульфатами. Останні становлять основу біохімічних механізмів другої фази знешкодження КБ, а утворення типу кон'югатів залежить від їх дози [29, 87].

УДФ-глюкуронілтрансфераза в 90 % локалізована в ЕПР печінки, шкіри, легень, селезінки, тимусу, нирок, а в 10 % - на ядерній мембрані, що захищає ядерний апарат клітини від реактивних ліпофільних метаболітів, які не встигли зв'язатися в інших місцях клітини, та відсутня в крові. Сульфотрансфераза локалізована в цитозолі цих клітин.

Ряд сполук одночасно є субстратами і для сульфотрансфераз і для УДФ-глюкуронілтрансферази, при цьому вибір шляху метаболізму може залежати від концентрації субстрату, дози препарату, доступності кофакторів і т.д. [58, 103]

Сульфатна кон'югація є необхідним етапом активації багатьох проканцерогенів, таких як ацетиламінофлуорен, ариламіни, естрадіол та ін.

Багато N-гідрокси-ариламінів і гідроксамові кислоти мають мутагенний ефект в присутності сульфотрансферазної активності. Для детектування мутагенних ефектів важливо, що сульфування має місце всередині клітин-мішеней, оскільки сульфатні кон'югати через свій заряд не можуть проникати крізь клітинні мембрани.

Хімічна модифікація ліпофільних КБ ферментами другої фази збільшує їх гідрофільні властивості, що сприяє швидкій екскреції через нирки та печінку. Серед особливостей дії цих ферментів відмічаються наступні: наявність практично у всіх клітинах; функціонування на тлі різних шляхів надходження КБ до організму; забезпечення або завершення, а іноді й виправлення, помилок першої фази [153, 169]. Виявлено також, що ферменти другої фази у деяких випадках можуть токсифікувати КБ, але це відбувається значно рідше, ніж при роботі системи цитохрому Р-450. Важливим є той факт, що значна частина реакцій кон'югації відбувається на мембранах ЕПР, безпосередньо у місцях утворення високореактивних метаболітів у процесі функціонування мікосомних монооксигеназ. Це дозволяє звести при певних рівнях до мінімуму токсичну дію продуктів біотрансформації [17, 42, 184].

За результатами експериментальних досліджень на теплокровних авторами доведено, що в основі специфічної дії БП на організм лежить як безпосередній вплив на інтегративні системи організму самих КБ, так і їх реакційноздатних метаболітів (вуглеводні, альдегіди, кетони, спирти), що утворюються в результаті процесів їхньої біотрансформації в печінці [164].

Цільові дослідження процесів детоксикації печінки встановили, що за умов впливу поліоксипропіленгліколю Л-502-2-10 у дозі 1/100 ДЛ₅₀ відбувається активація процесів утворення в печінці глюкуронідної, сульфатної й ацетильної кон'югації, тоді як в дозі 1/10 ДЛ₅₀ спостерігається пригнічення механізмів їх утворення [26].

1.3 Стан оксидантно-антиоксидантної системи та апоптоз/некроз клітин за умов впливу ксенобіотиків

Визначено, що в біохімічних механізмах дії КБ на поверхні клітинних мембран є активація процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), що входять до складу мембран мітохондрій, лізосом та інших органел, оскільки поліненасичені жирні кислоти особливо чутливі до атаки активних форм кисню (АФК). Тому організм реагує змінами активності ферментів антиоксидантного захисту та накопиченням продуктів розпаду біомембран [30, 35, 44].

Дослідженнями доведено, що пошкодження мембран викликає збільшення їх проникності для H^+ (або OH^-), K^+ , Na^+ , Ca^{2+} та утворення продуктів ПОЛ, а саме: модифікованих молекул ліпопротеїнів низької щільності, первинних продуктів ПОЛ - дієнових кон'югатів (ДК) та вторинних продуктів ПОЛ ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [44]. Внаслідок цього відбуваються осмотичні ефекти, що супроводжуються розривом мембран та виходом ферментів. Подальше окислення ліпідів спричиняє повне їх руйнування та загибель клітини, оскільки відбувається генерація АФК, утворення КБ з вільнорадикальною будовою, накопичення прооксидантної форми Fe^{2+} в мембранах мітохондрій та ендоплазматичному ретикулі [36-38].

Дані наукової літератури свідчать, що активація ПОЛ за умов впливу КБ зумовлює збільшення утворення його продуктів, а саме: модифікованих молекул ліпопротеїнів низької щільності, первинних продуктів ПОЛ – 8-ізопростану (виробляється кисневими радикалами при окисненні фосфоліпідів тканин), ДК та вторинних продуктів ПОЛ - ТБК-АП, які сприяють утворенню міжмолекулярних зшивків (білок-ліпід, ліпід-ліпід), обмежують рухливість мембранних білків і порушують їх функції (Рис. 1.4) [243].

До антиоксидантної системи належать вітаміни, ферменти та інші речовини. Так, одним з ключових ензимів антиоксидантної системи організму тварин є глутатіонпероксидаза (ГП), основною функцією якого є руйнування, інактивація перекису водню і гідроперекисів (пероксидних радикалів). Спорідненість ГП до H_2O_2 вища, ніж у каталази, тому перша ефективніше працює за низьких концентрацій перекису водню, в той же час у захисті клітин від окисного стресу, викликаного високими концентраціями H_2O_2 , ключова роль належить каталазі [106].

ГП є тетрамером, що складається з чотирьох ідентичних сферичних субодиниць. Кожна субодиниця містить по одному атому селену, на тетрамер є два активних GSH-зв'язувальних центрів [27, 106, 162]. За даними авторів, за зменшенням активності ГП знижується стійкість організму до окиснювального стресу, що може призводити до розвитку вільно радикальної патології. Визначено, що даний ензим є двох типів: селензалежний і селеннезалежний. Понад 70 % ГП локалізується у цитозолі та 25–30 % – у матриксі мітохондрій.

Іншим ферментом антиоксидантного захисту є каталаза – ензим класу оксидоредуктаз, що бере участь у дезінтоксикації нерадикальної активної форми кисню – H_2O_2 [52]. Хромопротеїн, складається з чотирьох ідентичних субодиниць з молекулярною масою 62 000. Велика молекулярна маса ензиму перешкоджає його проникненню через клітинну мембрану. Каталізує розщеплення H_2O_2 до води і кисню. Молекула каталази складається з 4-х субодиниць, кожна містить гем, який входить до складу активного центру і пов'язаний з молекулою NADPH. До активного центру йде вузький канал, який запобігає проникненню значно великих молекул, ніж H_2O_2 . За дисоціації субодиниць каталаза втрачає свою активність. До активного центру каталази входить тривалентне залізо, протопорфірин, який взаємодіє з перекисом водню за каталазним, або за пероксидазним механізмом, залежно від концентрації субстрату [21, 22].

Ензим, локалізований переважно в пероксисомах клітин, в мітохондріях і ендоплазматичному ретикулумі. Розкладання H_2O_2 каталазою здійснюється у два

етапи. Каталітична швидкість каталази досить висока і складає приблизно 45 тис. молекул H_2O_2 за секунду. Найбільша концентрація каталази визначається у печінці.

Наступним ферментом антиоксидантного захисту є супероксиддисмутаза (СОД) – металовмісний ензим, який каталізує реакцію інактивації, тобто дисмутації супероксидних радикалів з утворенням перекису водню і кисню, бере участь у регуляції вільно радикальних процесів у живих клітинах на початковій стадії. СОД має кілька ізоензимних форм [44, 49]. СОД в крові умовно ділиться на ізоензими і часто називається металоензимом, розрізняють 4 форми: Fe-, Zn-, Cu- та Mn-залежні СОД. Метали виконують каталітичну функцію, які послідовно відновлюються і окислюються в активному центрі ензиму. Незважаючи на високу специфічність, у певних умовах СОД може взаємодіяти з перекисом водню і виступати як прооксидант, ініціюючи утворення супероксидного аніону і гідроксильного радикалу. Важливо відзначити, що як зниження, так і підвищення активності СОД є причиною розвитку патологічних процесів [21, 22]. У першому випадку внаслідок недостатнього захисту від АФК, у другому – в результаті посилення цитотоксичної дії перекису водню, що утворюється в результаті дисмутації супероксиду. СОД в крові як первинний антиоксидант підтримує та контролює рівень вільних радикалів та створює умови нормального використання кисневого середовища організму. СОД успішно деактивує один з найнебезпечніших для клітин токсинів – АФК, після розпаду яких утворюються перекис водню, який здатний пошкодити сам ензим, з цієї причини СОД завжди функціонує разом із каталазою.

Церулоплазмін (ЦП) – це мідьвмісна феррооксидаза, яка відноситься до α_2 -глобулінової фракції плазми крові, містить та транспортує мідь і бере участь в метаболізмі заліза і у багатьох окисно-відновних реакціях, складається з 1046 амінокислотних залишків, $M_r=132$ кДа. Є головним антиоксидантним білком крові, характеризується СОД-подібною дією, оскільки взаємодіє з попередниками супероксидних радикалів, а саме з гідратованими електронами. Антиоксидантні властивості обумовлені феррооксидазною активністю [107].

Відомо, що міжклітинна взаємодія регулює загибель клітин у двох основних напрямках. На першому - клітини «вимагають» специфічних білкових гормональних сигналів, щоб залишитися дієздатними. За відсутності розвитку першого етапу настає загибель клітин – апоптоз. На другому етапі може мати інша форма загибелі клітин – це некроз, який виникає в результаті стресових факторів, зокрема дії шкідливих хімічних факторів довкілля [6, 160, 183].

За даними літератури, поява у надлишкових кількостях продуктів ПОЛ та АФК слугує факторами, які не лише призводять до апоптичних явищ та некрозу, а й додатково стимулюють розвиток запалення у печінці [189, 201]. Купферові клітини (печінкові макрофаги), самі гепатоцити стають джерелом прозапальних цитокінів, які стимулюють міграцію нейтрофілів до печінки у відповідь на появу різноманітних пошкоджень тканини. Один із цих факторів, а саме TGF- β , який продукують Купферові клітини, активує тканинні трансамінази і стелатні клітини. Останні перетворюються на колаген-продукуючі міофібробластні клітини, що запускають фіброз [161, 201].

З даних наукової літератури відомо, що виражений канцерогенний, цитотоксичний і мутагенний потенціал клітин спостерігається за умов алкілювання азотистих основ у різних положеннях, але алкілювання гуаніну в O⁶-позиції має найбільш виражений патологічний ефект. O⁶-алкілгуанін є одним із мутагенно небезпечних аддуктів, оскільки з великою частотою призводить до помилкового об'єднання азотистих основ при реплікації ДНК. Замість цитозину O⁶-алкілгуанін об'єднується з тиміном, внаслідок чого виникає транзиція типу G:C ->A:T. Іншим механізмом реалізації мутації, спричиненої алкіляторами, є утворення поперечних зшивок за рахунок хлоретильних груп [260, 285]. У процесі репарації ДНК O⁶-метилгуанін-ДНК метилтрансфераза (MGMT) переносить алкільну групу з O⁶-позиції гуаніну на власний залишок цистеїну, при цьому незворотно інактивуєчись. Таким чином MGMT захищає клітину від мутагенних і цитотоксичних пошкоджень. Рівень експресії досліджуваної алкілтрансферази різний у різних індивідуумів, а також у різних тканинах і органах одного і того ж організму, в нормальних клітинах та клітинах пухлин

одного і того ж органу [260].

1.4 Способи корекції патологічних порушень в організмі людини та теплокровних тварин за умов дії хімічних чинників

В науковій літературі наведено достатньо інформації за результатами науково-практичних досліджень щодо обґрунтування та розробки способів корекції патології в організмі як експериментальних тварин, так і людини [32, 45, 65, 87, 100, 262, 266].

В Харківському національному медичному університеті в процесі виконання в період 2015-2017р.р. НДР «Експериментальне обґрунтування прогнозу небезпеки та корекції структурно-патогенетичних порушень в організмі теплокровних з метою розробки гігієнічних нормативів поверхнево-активних речовин для води водойм» розроблено клініко-експериментальну методичну концепцію корекції патології в організмі та складання прогнозу токсичності ПАР [143].

Автори [61, 164] на основі аналізу багаторічного великого обсягу власних експериментальних досліджень запропонували апробовані методичні підходи до проведення досліджень з проблеми вивчення ефективності корекції патологічних порушень в організмі експериментальних тварин внаслідок шкідливого впливу ПАР.

Результати наукових розробок НДІ біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна переконливо свідчать, що за умов гепатотоксичного впливу КБ необхідно використовувати гепатопротектори антиоксидантної дії, зокрема природні комплекси низькомолекулярних компонентів, що представлені вільними амінокислотами, поліпептидами, низькомолекулярними білками, низькомолекулярними вуглеводами, вітамінами і мікроелементами, в тому числі компоненти молочива, грибів, дріжджів і мікрободоростей [87, 198, 200].

Нами також вивчено досвід розробки різними авторами способів корекції патології за допомогою [14, 65] препарату «Квертин», який в найбільшій мірі відповідає поставленій задачі за багатьма чинниками, оскільки діючою речовиною є кверцетин або 3,3',4,5,6-пентагідроксифлавоон згідно класифікації Міжнародного союзу теоретичної та прикладної хімії (IUPAC), який є важливим флавонолом серед шести підкласів поліфенольних флавоноїдів (Рис. 1.5). Назва кверцетину походить від quercetum (відлат. Quercus - дуб) і використовується з 1857 р. Кверцетин отримують з рослин шляхом екстракції глікозидів кверцетину [173].

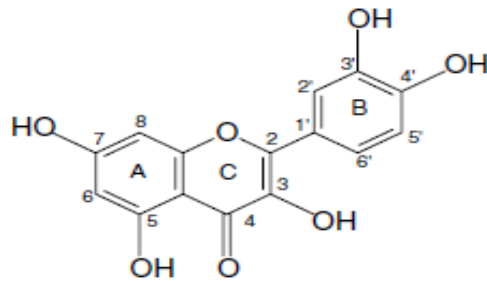


Рис. 1.5 Хімічна структура кверцетину [173]

Флавоноїди мають у складі фенол-бензо(γ)піронну структуру та складаються з двох бензольних кілець (A і B на Рис. 1.5), які поєднані гетероциклічним пірановим або піроновим кільцем. Ці кільця можна розглядати як похідні фенілпропаноїдів.

Кверцетин є найбільш розповсюдженим і широко вивченим флавоноїдом, який присутній у різних джерелах їжі, включаючи фрукти, овочі, горіхи, вино та насіння [175] та має різні біологічні властивості: антиоксидантну, протизапальну, антибактеріальну, протівірусну та імуномодельючу [170].

Відомо, що після всмоктування ентероцитами, глікозиди кверцетину підлягають гідролізу до агліконів, які метаболізуються трансферазами ентероцитів в метильовані, сульфоньовані і глюкорунідазні форми. Продукти метаболізму кверцетину спочатку транспортуються в просвіт тонкого кишківнику, а далі в печінку, де підлягають наступним хімічним реакціям з

утворенням кверцетин-3-глюкуроніду і кверцетин-3-сульфату - основних форм, які циркулюють в плазмі крові [183].

Хімічна структура молекули кверцетину обумовлює його виражені антиоксидантні властивості. Завдяки великій кількості гідроксильних груп і кон'югованих π - орбиталей, вона може бути донором електронів або водню, зв'язуючи таким чином H_2O_2 і окислюючи супероксид-аніон (аніон перекису) [178]. Відомо, що саме невеликі дози кверцетину мають антиоксидантні властивості, а великі – прооксидантні [65, 188, 195, 262, 269, 288].

Висновки до розділу 1

ПАР внаслідок своїх унікальних фізико-хімічних властивостей знайшли надзвичайно широке використання у широкому колі галузей народного господарства країни. На сьогодні ці детергенти стали основними компонентами препаратів побутової хімії, в результаті чого їх проникнення в середовище перебування людини прийняло глобальний характер. Вони тісно контактують з організмом людини незалежно від статі, віку, професії, стану здоров'я та інш. Фахівцями визначено, що 42 % ПАР надходять у стічні каналізаційні води, 22 % в атмосферне повітря, 12 % вивозяться на організовані смітники, 7 % забруднюють територію населених пунктів, 11 % надходять на присадибні ділянки, а 6 % залишаються в житлових приміщеннях.

Матеріали літературного огляду свідчать, що в Україні відсутні цільові дослідження щодо проблеми вивчення особливостей вуглеводного, білкового обмінів, їх регуляції за умов субтоксичного впливу на організм блоксополімерів на основі оксипропілену та етилену.

Аналізуючі літературні дані щодо ПАР, слід визначити важливу проблему, що гостро потребує свого рішення – це наукове обґрунтування особливостей вуглеводного, білкового і ліпідного обмінів, їх регуляції та профілактичних заходів з охорони здоров'я населення за умов субтоксичного впливу на організм теплокровних блоксополімерів на основі оксипропілену та етилену.

Рішення саме цієї проблеми покладено в основу програми, мети та завдань дисертаційного дослідження.

Основні положення цього розділу викладені у публікаціях автора [14, 16, 63, 85, 86, 166, 270].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Обґрунтування вибору напрямків та об'єктів досліджень

Біохімічні дослідження проведені на базі кафедри біологічної хімії (завідувач - д.мед.н., професор О. А. Наконечна) та Центральної науково-дослідної лабораторії (завідувач - к. хім. - фарм. н. Т. О. Іваненко) Харківського національного медичного університету. Визначення ступеню асиметрії мембран, оцінка стадій апоптозу/некрозу та життєздатності гепатоцитів щурів проведено шляхом проточної цитофлуориметрії у відділі кріоцитології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (завідувач – професор, д.б.н. Л. О. Бабійчук). Стан клітинних мембран методом флуоресцентних зондів оцінено в лабораторії «Інституту сцинтиляційних матеріалів» НАН України. Імуногістохімічні дослідження рівню експресії ферменту Об-метилгуанін-ДНК метилтрансферази проведено в Науковому центрі патоморфологічних досліджень Сумського державного університету.

У роботі використано зразки хімічно чистих речовин з регламентованими фізико-хімічними характеристиками, синтезовані та надані НВО «Синтез ПАВ» (м. Шебекіно, Росія): олігоефіри Лапрол-3603-2-12 та Лапрол-10002-2-80; поліетиленгліколь-400 (ПЕГ-400) («Барва-фарм», м. Івано-Франківськ); етиленгліколь (ЕГ) та пропіленгліколь (ППГ) (ООО «Біолар», м. Харків).

Аналіз та узагальнення закономірностей побудови структурно-функціональних формул та фізико-хімічних властивостей блоксополімерів представлено у Табл. 2.1 [1].

Експериментальна частина досліджень виконана на 280 статевозрілих (6-8 місяців) білих щурах популяції WAG обох статей (140 самців та 140 самиць) масою 200–250 г, отриманих з науково-експериментальної клініки ХНМУ. Дослідження проведено в процесі підгострого токсикологічного експерименту тривалістю 45 діб.

Таблиця 2.1

**Структурно-функціональні формули та фізико-хімічні властивості
обраної групи хімічних речовин**

Назва	Структурно-функціональна формула	Фізико-хімічні властивості
Лапрол - 3603-2-12 (поліоксипропіленоксиетилентріол)	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{-O-(CH}_2\text{-CHO)}_x\text{-(CH}_2\text{-CH}_2\text{-O)}_y\text{-(CH}_2\text{-CHO)}_z\text{H} \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \qquad \text{CH}_3 \\ \text{CH-O-(CH}_2\text{-CHO)}_x\text{-(CH}_2\text{-CH}_2\text{-O)}_y\text{-(CH}_2\text{-CHO)}_z\text{H} \\ \qquad \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \qquad \text{CH}_3 \\ \text{CH}_2\text{-O-(CH}_2\text{-CHO)}_x\text{-(CH}_2\text{-CH}_2\text{-O)}_y\text{-(CH}_2\text{-CHO)}_z\text{H} \\ \qquad \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \qquad \qquad \text{CH}_3 \end{array}$ <p>де $x=13,0$; $y=0,67$; $z=5,0$.</p>	Прозора в'язка рідина, добре розчинна у воді та органічних розчинниках, молекулярна маса – 3600, щільність – 1030 кг/м ³ , рН (метанол:вода=70:30) – 6,5-7,5; кислотне число – не більше 0,2 мгКОН/г, функціональність – 3, температура спалаху – 200 °С.
Лапрол-10002-2-80 (поліоксиетиленоксипропілендіол)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \qquad \qquad \qquad \text{CH}_3 \\ \qquad \qquad \qquad \\ \text{CH-O-(CH}_2\text{-CH}_2\text{O)}_m\text{2-(CH}_2\text{-CHO)}_n\text{2H} \\ \qquad \qquad \qquad \\ \text{CH}_2\text{-O-(CH}_2\text{-CH}_2\text{O)}_m\text{2-(CH}_2\text{-CHO)}_n\text{2H} \\ \qquad \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \end{array}$ <p>де $n=134,5-245,0$; $m=25,5-46,5$</p>	Прозора щільна рідина жовтуватого кольору, добре розчинна у воді та органічних розчинниках, молекулярна маса – 10000, щільність – 1,1 г/см ³ , гідроксильне число 8-15, масова частка гідроксильних груп – (0,35-0,45) %, кислотне число – не більше 0,1 мгКОН/г, динамічна в'язкість при 160 °С – (7000-9000) мПа•с, рН 5,5-7,5, температура спалаху – 248 °С.

Продовження таблиці 2.1

<p>Поліпропілен гліколь (поліоксипропі- ленгліколь)</p>	$\text{HO}[-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O}-]_n\text{H}$	<p>Безбарвна в'язка рідина зі слабким характерним запахом, солонуватим смаком, що володіє гігроскопічними властивостями. $T_{\text{кип}} - 187,85^\circ\text{C}$. Тиск парів при 20°C - $0,0106$ кПа, при $79,8^\circ\text{C}$ - $1,16$ кПа. Досить добре розчинний в етанолі, воді, розчинний в діетиловому ефірі, бензолі.</p>
<p>Поліетилен гліколь-400 (ПЕГ-400)</p>	$\text{HO}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-\text{H}$	<p>Безбарвна в'язка рідина з характерним запахом і гіркуватим, ледь пекучим присмаком, дуже гігроскопічна. Густина: $1,1-1,2$ г/см³; $T_{\text{спалаху}} 182-$ 287 С. Точка плавлення $4 - 8^\circ\text{C}$. Розчинний у багатьох органічних розчинниках: бензолі, чотирьохлористому вуглеці, хлороформі, диметилформаміді, ацетонітрилі.</p>
<p>Етиленгліколь (гліколь; 1,2-діоксиетан; 1,2-етандіол)</p>	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$	<p>Прозора масляниста рідина без запаху. Температура спалаху випарів становить 120°C. Температура самозаймання 380°C. Температурні межі запалення парів у повітрі: нижня — 112°C, верхня — 124°C. Межі займання парів у повітрі від нижнього до верхнього, $3,8 - 6,4\%$ (за об'ємом).</p>

Роботу з тваринами проведено згідно загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), правил гуманного відношення до експериментальних тварин та національного законодавства в цій галузі. Доцільність використання експериментальних тварин та їх кількість була узгоджена з комісією з біоетики НДІ біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Експертиза з питань біоетики проведена на засіданні комітету з біоетики НДІ біології (протокол № 6 від 21 червня 2018 р.).

Далі наведено розподіл експериментальних тварин за групами (Табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Розподіл тварин за групами

№ групи	Умови експерименту	Кількість тварин
I	Інтактні тварини	20
II	Щури, токсифіковані блоксополімером Л-3603-2-12	40
III	Щури, токсифіковані блоксополімером Л-10002-2-80	40
IV	Щури, токсифіковані ЕГ	40
V	Щури, токсифіковані ПЕГ-400	40
VI	Щури, токсифіковані ППГ	40
VII	Щури, токсифіковані ЕГ за умов корекції «Квертином»	20
VIII	Щури, токсифіковані ПЕГ-400 за умов корекції «Квертином»	20
IX	Щури, токсифіковані полімером ППГ за умов корекції «Квертином»	20
Всього тварин		280

Експериментальні тварини перебували в стандартних умовах віварію з 12-годинним режимом день/ніч. Тварини отримували воду в достатній кількості та гранульований корм *ad libitum* згідно норм [105].

Тварин піддавали пероральній затравці за допомогою металевого зонду водними розчинами ПАР (Л-3603-2-12, Л-10002-2-80, ПЕГ-400, ППГ, ЕГ) щоденно вранці натщесерце у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Тваринам контрольної групи вводили відповідні об'єми питної води.

Розрахунок необхідної дози КБ для підгострого експерименту здійснювали, виходячи з відомих даних про параметри гострої токсичності: 1/10 та 1/100 від середньолетальної дози (ДЛ₅₀) досліджуваних речовин відповідно складала для Л-3603-2-12 – 0,334 та 0,0334 г/кг маси тіла шурів; для Л-10002-2-80 – 3,84 та 0,384 г/кг [54], ПЕГ-400 – 2,89 та 0,289 г/кг, ППГ - 3,25 та 0,325 г/кг, ЕГ - 0,55 та 0,055 г/кг [54]. По закінченню експерименту на 45 добу тварин знеживлювали методом цервікальної дислокації [105]. Всі маніпуляції проводили з 8³⁰ до 10⁰⁰ в стандартних умовах. Протягом проведення експериментальної частини дослідження кожного дня, крім вихідних, контролювали загальний стан тварин, вживання води та корму.

Для досягнення мети та вирішення завдань дослідження опрацьовано програму, якою передбачено декілька етапів.

На першому етапі – вивчали структурно-функціональний стан печінки за умов дії КБ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ шляхом вивчення активності аланінамінотрансферази (АлАТ), аспаргатамінотрансферази (АсАТ) у сироватці крові, коефіцієнту де Рітиса, вмісту загальних сульфатів, вільних сульфатів, зв'язаних сульфатів, глюкуронідів у постмітохондріальній фракції гепатоцитів, життєздатності та стадій клітинної смерті гепатоцитів, патоморфологічних особливостей печінки, рівень експресії MGMT у печінці за допомогою імуногістохімії.

На другому етапі – вивчали стан оксидантно-антиоксидантної системи шляхом вивчення вмісту у сироватці крові 8-ізопростану, ДК, ТБК-АП та

активності СОД, каталази, ГП, вмісту ЦП та досліджували за допомогою методу флуоресцентних зондів стан клітинних мембран еритроцитів.

На *третьому етапі* – вивчали особливості білкового обміну та його регуляцію у щурів за умов дії КБ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ шляхом вивчення у сироватці крові загального білку, альбуміну, креатиніну, сечовини, а також гормонів тестостерону та естрадіолу.

На *четвертому етапі* – вивчали особливості протікання вуглеводного обміну та його регуляцію у щурів за умов дії КБ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ шляхом вивчення у сироватці крові глюкози, лактату, активності ЛДГ, а також гормонів: інсуліну, тироксину, трийодтироніну.

На *п'ятому етапі* – вивчали особливості ліпідного обміну у щурів за умов дії КБ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ шляхом вивчення у сироватці крові вмісту тригліцеридів і холестеролу.

На *шостому етапі* – визначали можливість та ефективність корекції «Квертином» в організмі щурів патологічних порушень структурно-функціонального стану печінки, стану оксидантно-антиоксидантної системи, білкового, вуглеводного і ліпідного обмінів, патоморфологічних особливостей, які виникли за умов шкідливого впливу досліджуваної групи БП у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

Проводили корекцію порушень основних метаболічних процесів шляхом використання препарату «Квертин» (Борщагівський ХФЗ, Україна) протягом 2-х тижнів, починаючи з 30 доби експерименту. Дозу препарату «Квертин» розраховували по Ю. Р. Риболовлеву, Р. С. Риболовлеву згідно констант біологічної активності для савців [135] з розрахунку 25 мг кверцитину на 1 кг маси тіла тварини внутрішньошлунково на 1 % розчині крохмалю 1 раз на добу. Доза, шляхи введення, тривалість введення біофлавоноїда запозичена з даних наукової літератури при проведенні експериментальних досліджень на тваринах та не викликала загибелі щурів [65, 100].

2.2 Методи дослідження, що використовувалися в роботі

У дослідженні були використані сироватка крові, суспензія еритроцитів, печінка щурів, постмітохондріальна фракція гепатоцитів.

Для одержання *сироватки* крові пробірки з кров'ю термостатували протягом 20 хвилин з наступним центрифугуванням (центрифуга UNIVERSAL 320 R) протягом 10 хвилин при 1500 об/хв. [77].

Еритроцити відділяли від плазми центрифугуванням стабілізованою гепарином крові протягом 15 хв. при 3000 g (кінцеве розведення гепарин - цільна кров становило 1: 100). Лейкоцитарну плівку та супернатант видаляли методом аспірації. Суспензію еритроцитів тричі промивали шляхом центрифугування при 1500 g 3 хв в 10-кратному об'ємі фосфатно-сольового буферу (0,15 моль/л NaCl, 0,01 моль/л фосфатний буфер, рН 7,4) [75, 77].

Гомогенат печінки отримували згідно методу А. Ю. Петренко [144]: для цього черевну порожнину тварини розкривали, вводили ін'єкційну голку в воротну вену і закріплювали лігатурою в місці відгалуження правої ниркової вени для відтоку перфузату. На першому етапі печінку відмивали від крові зі швидкістю 25-35 мл / хв розчином, що містить: 140 мМ лимоннокислого натрію, 5 мМ хлориду калію, 3 мМ бікарбонату натрію і 27 мМ цитрату натрію, який насичували газовою сумішшю 95 % O₂ і 5 % CO₂ до рН 7,4 протягом 10 хвилин при 37 °С зі швидкістю 25-35 мл / хв. На другому етапі перфузію проводили з тією ж швидкістю протягом 20-30 хвилин. На цьому етапі в середу вводили ЕДТА до кінцевої концентрації 2 Мм. Після закінчення перфузії печінку витягували з черевної порожнини, швидко охолоджували до 0 °С і подрібнювали ножицями в середовище, яке містило 250 мМ сахарози, 5мМ KCl, 1,6 мМ Na₂HPO₄, 0,4 Мм KH₂PO₄, 0,8 мМ MgCl₂, 1, 2 мМ CaCl₂, 1 % альбуміну (рН 7,4). Шматочки тканини піддавали вібрації в охолодженому сахарозно-сольовому середовищі з частотою 50 Гц протягом 60 секунд за допомогою пристрою, електродвигун якого призводить рух товкачику. Отриману після вібрації суспензію клітин фільтрували через нейлон і центрифугували при 50 g 4

хвилини. Суспензію поділяли на 2 фракції: нижню темну і верхню світлу. Фракції розділяли і суспензували в сольовому розчині, що містить 140 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 0,8 мМ MgSO₄, 1,6 мМ Na₂HPO₄, 0,4 мМ K₂HPO₄, 25 мМ NaHCO₃ і 1 мМ CaCl₂ (рН 7,4). Було використано нижню темну фракцію, мілілітр якої містить $110 \cdot 10^6$ гепатоцитів.

Життєздатність гепатоцитів оцінювали за їх фарбуванням трипановим синім, а також виходу з клітин ЛДГ в позаклітинну рідину та зниженню вмісту відновленого глутатіону.

Мікросоми гепатоцитів отримували з постмітохондріальної фракції за здатністю осаджуватись двоховалентними катіонами

Виділення *мікрсомної фракції гепатоцитів* проводилось за практичними рекомендаціями S. A. Kamath et al [250]. До супернатанту додавали осаджуючий розчин, компонентами якого були KCl, CaCl₂, MgCl₂ (у співвідношенні на 21 мл розчину – 4 мл постмітохондріальної фракції), центрифугували 15 хвилин при 1500 g з наступним промиванням осаду, який потім ресуспензували в середовищі виділення до концентрації білку 10,0 мг/мл. Чистоту мікрсомної фракції тестували за маркерними ферментами мітохондрій, лізосом, плазматичних мембран та мікрсом.

Активність *аспартатамінотрансфери* (КФ 2.6.1.1), *аланінамінотрансфери* (КФ 2.6.1.2) у сироватці крові визначали уніфікованими колориметричними методами з використанням наборів реактивів «Lachema» (Чехія).

Вміст *загальних сульфатів, вільних та зв'язаних* у трихлороцтовому фільтраті печінкової паренхіми вивчали турбідиметричним методом [152]. Сиру печінку (400 мг) гідролізували з 3 мл 2 Н розчину HCl у пробірках на кип'ячій водяній бані протягом 6 годин. Розчин фільтрували та осад промивали водою на фільтрі. Сухий осад розчиняли у 4 мл води та очищували від зафарбованих речовин за допомогою активованого вугілля (30 мг на 2 мл розчину). Далі перемішували протягом 10 хв. Розчин фільтрували крізь беззольний фільтр та

промивали водою. Промивні води приєднували до основного розчину та упарювали досуха на бані, осад розчиняли в 1,5 мл води.

Вміст *загальних глюкуронідів* визначали в трихлороцтовому фільтраті печінкової паренхіми (гомогенізували з 10 % розчином трихлороцтової кислоти у співвідношенні 1:10) методом, що дозволяє диференціювати вільну та кон'юговані форми [301].

Вміст *загального білка* у крові проводили за допомогою біуретової реакції [99]. Принцип методу: білки реагують у лужному середовищі з сіркокислою міддю з утворенням сполук фіолетового кольору. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі PV 1251 В при $\lambda = 540-560$ нм у діапазоні 0-1 од., кювета - 10 мм. Концентрацію білка визначали за допомогою калібрувальних кривих, для побудування яких як стандарт використовували ліофілізований альбумін. Достовірність результатів контролювали за допомогою контрольних сироваток «Биоконт С» (Росія).

Вміст *альбуміну* в сироватці крові визначали за допомогою експрес-наборів («Sigma», США). Принцип методу базується на вимірюванні інтенсивності поглинання комплексу альбуміну з бромкрезоловим зеленим на спектрофотометрі PV 1251 В при 628 нм [99]. Вміст альбуміну в сироватці крові визначали спектрофотометрично проти холостої проби. Розраховували за калібрувальною кривою, яку будували за допомогою стандартного розчину бичачого сироваткового альбуміну.

Вміст *креатиніну* у сироватці крові визначали спектрофотометричним методом за допомогою набору реактивів «Філісіт-Діагностика» (Дніпро, Україна). Принцип методу заснований на тому, що пікринова кислота взаємодіє у лужному середовищі з креатиніном з утворенням продукту червоного кольору. Визначали вміст креатиніну в мкмоль/л після депротеїнізування сироватки крові розчином трихлороцтової кислоти [75]. Оптичну щільність визначали спектрофотометрично на спектрофотометрі PV 1251 В при довжині хвилі 500 - 560 нм у діапазоні 0-1,0 од. Довжина оптичного шляху складала 10 мм.

Достовірність одержаних результатів контролювали за допомогою контрольних сироваток «Биоконт С» (Росія).

Вміст *сечовини* в сироватці крові визначали діацетілмонооксимним методом за допомогою набору реактивів «Філісіт-Діагностика» (Дніпро, Україна). Принцип методу заснований на тому, що сечовина утворює з діацетілмонооксимом у присутності іонів заліза (III) та тіосемікарбазиду комплекс червоного кольору, за інтенсивністю забарвлення якого визначали її концентрацію [77]. Оптичну щільність визначали спектрофотометрично на спектрофотометрі PV 1251 В при довжині хвилі 540 -560 нм у діапазоні 0-1,0 од. Довжина оптичного шляху складала 10 мм. Достовірність одержаних результатів контролювали за допомогою контрольних сироваток «Биоконт С» (Росія).

Вміст *глюкози* в сироватці крові визначали глюкозооксидазним методом з використанням наборів реактивів фірми АТ «Реагент» (Україна, Дніпро). Принцип методу: глюкоза окислюється під дією глюкозооксидази киснем повітря з утворенням гідрогену пероксиду, який в присутності фенолу з 4-аміноантипірином формує забарвлену сполуку [75]. Колориметрували на спектрофотометрі PV 1251 В при довжині хвилі 490-540 нм проти контрольної проби.

Вміст *лактату* в сироватці крові визначали ензиматичним колориметричним методом [99]. Принцип методу: молочна кислота взаємодіє з киснем за дії лактатоксидази з утворенням пірувату та пероксиду водню. Останній з 4-аміноантипірином та *n*-хлорфенолом під дією пероксидази утворює хіноніміновий забарвлений продукт. Вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 578 нм на спектрофотометрі PV 1251 В при зеленому світлофільтрі у кюветі із товщиною шару 10 мм проти води.

Загальну активність *лактатдегідрогенази (ЛДГ)* (КФ 1.1.1.27) у сироватці крові (МО/л) визначали кінетичним УФ методом, що базується на оптимізованому стандартному методі відповідно до вимог DGKS і модифікованому відповідно до рекомендацій SCE [99]. Швидкість зменшення

абсорбції при 340 нм, що пов'язано з окислюванням НАДН, прямопропорційна активності ЛДГ.

Вміст *трийодтироніну, тироксину, естрадіолу, тестостерону* в сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу за допомогою наборів реагентів фірми ООО «ХЕМА» (РФ): «Т₃-ИФА», «Т₄-ИФА», «Эстрадиол-ИФА», «Тестостерон-ИФА». Вміст *інсуліну* визначали методом імуноферментного аналізу за допомогою наборів реагентів фірми «EIA-2048 Insulin Elisa» (США). Дослідження проведене на біохімічному аналізаторі «Lab Line – 80» (Австрія). Концентрацію гормонів у пробах розраховували після вимірювання оптичної щільності розчинів на основі калібрувальних кривих [101, 102].

Вміст *холестеролу* в сироватці крові щурів проводили фотометричним методом. Для визначення використовували тест-системи фірми «СплайнЛаб» (Україна). До 300 μ л розчину **P1**, який містить: N,N-біс(2-гідроксиетил)-2-аміноетановасульфокислоту – 100 mM; HDAOS – 0,7 mM; холенестеразу \geq 800 Од/л; холестериноксидазу \geq 500 Од/л; каталазу \geq 8300 КОд/л та оксидазу аскорбінової кислоти \geq 3000 Од/л, додавали 3 μ л досліджуваної біологічної рідини, змішували та інкубували 5 хв. при 37 °С. Після цього додавали 100 μ л розчину **P2**, що містить N,N-біс(2-гідроксиетил)-2-аміноетановасульфокислоту – 100 mM; 4-аміноантипирин (4-АА) – 4 mM та пероксидазу \geq 30500 Од/л, інкубували 5 хв. при 37 °С та виміряли оптичну щільність стандартного та дослідного зразку проти холостого зразка при довжині хвилі 600–700 нм [74].

Вміст *тригліцеридів* у сироватці крові щурів проводили за допомогою ензиматичного колориметричного методу, що заснований на поступовому перетворенні тригліцеридів у хінонімін, концентрація якого пропорційна вмісту тригліцеридів та визначається колориметрично. Для визначення використовували тест-системи фірми «Ольвекс Диагностикум» (Росія). До 2 мл робочого розчину, який заздалегідь був приготований змішуванням буфера та ліофілізата, додавали 0,02 мл досліджуваної сироватки, інкубували 15 хв. при кімнатній температурі та вимірювали оптичну щільність при довжині хвилі 500

нм [77].

Вміст *8-ізопростану* в сироватці крові визначали в реакціях перекисного окислення арахідонової кислоти клітинних мембран. Його вміст у сироватці крові визначали імуноферментним методом за допомогою набору «8-isoprostane ELISA» фірми «USBiological» (США). Отримані дані виражалися в пг/мл [243]. Принцип методу: конкуренція між 8-ізопростаном та 8-ізопростан-холінестеразою за кон'югацію з лімітованим числом 8-ізопростан специфічних антисироваткових сайтів. Продукт цієї реакції має чіткий жовтий колір і абсорбується строго при довжині хвилі 412 нм. Інтенсивність жовтого забарвлення пропорційна кількості 8-ізопростану.

Вміст *ТБК-активних продуктів* у сироватці крові проводили за методом Федорової Т. Н. зі співавт. [150] по тесту з тіобарбітуровою кислотою. В ході реакції 0,5 мл сироватки крові додавали до 3 мл 0,8 % розчину ТБК в 3 % ортофосфорній кислоті. Пробу витримували 45 хв. на киплячій водяній бані, охолоджували і приливали 5 мл нормального бутилового спирту. Через 10–12 годин визначали оптичну щільність при довжинах хвиль 535 нм і 580 нм.

Вміст *дієнових кон'югатів* у сироватці крові щурів проводили за методом Косухіна А. Б., Ахметова Б. С. [79]. У ході визначення до 0,5 мл сироватки крові додавали 4,5 мл суміші гептана з ізопропиловим спиртом (1:1). Струшували впродовж 10 хвилин і додавали 0,5 мл дистильованої води. Після розшарування проби з верхньої (гептанової) фракції відбирали в окрему пробірку 0,5 мл і додавали 2,5 мл 96 % етилового спирту. Оптичну щільність проб визначали на спектрофотометрі РV 1251 В при довжині хвилі 233 нм (проти етилового спирту).

Активність *супероксиддисмутази* (КФ 1.15.1.1) еритроцитів визначали спектрофотометричним методом за ступенем інгібування відновлення нітросинього тетразолію [49].

Активність *каталази* (КФ 1.11.1.6) визначали у крові спектрофотометричним методом за зменшенням перекису водню в інкубаційному середовищі, що містить трис-НСІ-ЕДТА (рН 8,0), 10 мМ/л розчин

перекису водню. Зниження оптичної щільності вимірювали проти контрольної проби без гемолізату кожні 30 с протягом 3 хвилин при кімнатній температурі при 230 нм [52].

Активність *глутатіонпероксидази* (КФ 1.11.1.9) у сироватці крові визначали за швидкістю окиснення відновленого глутатіону у присутності пероксиду третинного бутилу [106]. Концентрацію відновленого глутатіону до і після інкубації визначали колориметрично. В основі реакції лежить взаємодія SH-груп з ДТНБК з утворенням забарвленого продукту тіонітрофенільного аніону, кількість якого пропорційна кількості тіолових груп, що прореагували з ДТНБК. Інкубаційна суміш містила сироватку крові, 0,25 М трис-НСІ буфер (рН 7,4), 25 мМ ЕДТА, 1 мМ відновлений глутатіон, 0,4 М натрію азид. Реакцію запускали додаванням 50 мМ пероксиду третинного бутилу, зупиняли – 10 % метафосфорною кислотою. Після центрифугування до супернатанту додавали 0,25 М трис НСІ буфер (рН 8,9) і 0,04 % розчин ДТНБК, колориметрували при 412 нм. У контрольні проби замість сироватки крові додавали відповідну кількість фізіологічного розчину. Концентрацію глутатіону, який не окислився пероксидом третинного бутилу, визначали порівнянням дослідної проби зі стандартною.

Вміст *церулоплазміну* в сироватці крові визначали модифікованим колориметричним методом К. А. Мошкова та співавт. [107], що ґрунтується на реакції ферментативного окислення парафенілендіаміну церулоплазміном, яка інактивується фторидом натрію. Пробі інкубували протягом години у сухоповітряному термостаті при 37 °С. Оптичну густину дослідної проби вимірювали проти холостої при довжині хвилі 530 нм з довжиною оптичного шляху 10 мм. Використовували набір реактивів «Церулоплазмін» ПрАТ «Реагент» (Дніпро, Україна).

Визначення стану *ліпідного бішару клітинних мембран еритроцитів* досліджували за допомогою флуоресценції зондів 2-(2'-ОН-феніл)-5-феніл-1,3-оксазол (зонд **010**), 2-(2'-ОН-феніл)-5-(4'-феніл-феніл)-1,3-оксазол (зонд **060**) та 2-(2'-ОН-феніл)-фенантр(10,11)-1,3-оксазол (зонд **PH7**) у фізіологічних

розчинах, що містять еритроцити щурів, токсифікованих ПЕГ-400 [220, 221, 278]. Флуоресцентні зонди розчиняли в ацетонітрилі до початкової концентрації $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л; 10 мкл кожного з відповідних розчинів зонда додавали до 2 мл суспензії еритроцитів. Кінцева концентрація кожного з зондів в суспензії досліджуваних мембран - $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л, таким чином, молярне відношення ліпід / зонд становило 1000: 1. Вимірювання спектрів флуоресценції проведене на спектрофлуориметр «Hitachi 850» (Японія) через годину після додавання зондів до суспензії клітин. Спектри флуоресценції зондів вимірювали в області 340-600 нм при ширині щілин монохроматорів збудження і флуоресценції 5 і 5 нм відповідно, і довжині хвилі збудження 330 нм.

Ступінь порушення *ліпідної асиметрії мембран, оцінку стадій апоптозу / некрозу та життєздатності* гепатоцитів щурів проводили методом проточної цитофлуориметрії на проточному цитофлуориметрі «FACS Calibur» фірми «Vector Dickinson» (BD) (США) з використанням набору реагентів «AnnexinV-FITC detection KIT» фірми «BD» відповідно до AnnexinV-FITC staining protocol і 7-AAD (BD Pharmingen). Визначення стадій апоптозу/некрозу гепатоцитів проводили за допомогою одночасного використання AnnexinV FITC і 7-AAD (7-аміноактіноміцин D) [254]. Результати вимірів на цитофлуориметрі аналізували за допомогою програмного забезпечення фірми BD – «CELLQuest Pro».

Для цього до 50 мкл гомогенату печінки додавали 5 мкл реагенту, що містить AnnexinV-FITC та 10 мкл реагенту, що містить 7-AAD, перемішували та інкубували 15 хв при кімнатній температурі в темряві. Проби аналізували на проточному цитофлуориметрі «FACS Calibur» («BD», США). Для мінімізації помилки в пробі аналізували 50000 подій. Результати вимірів на цитофлуориметрі аналізували за допомогою програмного забезпечення фірми «BD» – «CELLQuest Pro», («Becton Dickinson», США).

Даний метод дозволяє ідентифікувати чотири різні стани клітин: живі клітини (AnnexinV⁻7AAD⁻ - клітини); клітини, що знаходяться на початковій стадії апоптозу, в яких цілісна мембрана, що перешкоджає проникненню 7AAD,

але зв'язують Annexin V (AnnexinV⁺ 7AAD⁻ - клітини), мертві некротичні клітини, які фарбуються 7AAD, але не зв'язують Annexin V (AnnexinV⁻ 7AAD⁺ - клітини), мертві клітини, які знаходяться на стадії пізнього апоптозу і (або) некрозу, пофарбовані як Annexin V, так і 7AAD (AnnexinV⁺ 7AAD⁺ - клітини) [7, 8, 254].

Визначення життєздатності гепатоцитів виконували на проточному цитофлуориметрі «FACS Calibur» фірми («Becton Dickinson», США) із використанням реагентів («Becton Dickinson», США) 7-AAD (BD Pharmingen). Для оцінки життєздатності клітин використовували вітальний барвник 7AAD («Becton Dickinson», США). Результати вимірювання оцінювали за допомогою програмного забезпечення фірми «BD-CELLQuest Pro» («Becton Dickinson», США) [8].

Патоморфологічне дослідження печінки щурів проводили загально визначеними методами [90, 129]. Печінку щурів фіксували 10 % розчином нейтрального формаліну, проводили через батарею спиртів зростаючої міцності і заливали в парафінові блоки. За допомогою санного мікротома Мікромед МС-2М готували зрізи (5-7 мкм), які забарвлювали гематоксиліном-еозином та вивчали за допомогою світлової мікроскопії на мікроскопі Axiostar-plus (Zeiss, ФРГ).

Імуногістохімічні дослідження рівню експресії ферменту O⁶-метилгуанін-ДНК-метилтрансферази (MGMT) проведено з використанням мишачих моноклональних антитіл виробництва фірми «Thermo Fisher Scientific» (Великобританія). Після інкубації з первинними антитілами мікрорізи обробляли кон'югатом з анти-(мишачим IgG), що були кон'юговані з пероксидазою хрину. Візуалізацію комплексу антиген-антитіло виконували з використанням 3,3'-діамінобензидину.

Статистичне опрацювання отриманих даних здійснювали за допомогою стандартних методів із застосуванням програми «MS Excel XP» та комп'ютерного пакета для аналізу статистичної інформації Statistica 6.0. Первинне статистичне опрацювання кількісних даних починали з перевірки припущення про

відповідність розподілу вибірок закону нормального розподілу методом Шапіро-Уїлка. Кількісні ознаки з нормальним розподілом, які відповідають розподілу Гауса, описували параметричними характеристиками - середнім значенням показника (M) та середньоквадратичною помилкою (m). Для порівняння двох нормальних розподілів застосовували t -критерій Стьюдента. За критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали $p < 0,05$. При невідповідності нормальному розподілу достовірність оцінювали за непараметричним U -критерієм Манна-Уїтні.

Висновки до розділу 2

В даному розділі було охарактеризовано використані у дослідженні клініко-лабораторні (отримання сироватки крові, гомогенату печінки, гепатоцитів, еритроцитів); спектрофотометричні (визначення вмісту метаболітів та активності ферментів), імуноферментні методи, метод проточної цитофлюориметрії та флуоресцентних зондів, морфологічні (імуногістохімічні), метод статистичного аналізу отриманих результатів

Дані методи були використані у власних дослідженнях, представлених у [16, 63, 113, 166, 270, 272].

РОЗДІЛ 3

ВПЛИВ БЛОКСОПОЛІМЕРІВ НА ОСНОВІ ОКСИПРОПІЛЕНУ ТА ЕТИЛЕНУ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

3.1 Дослідження біохімічних маркерів порушень функціонального стану печінки організму щурів у підгострому експерименті

З даних наукової літератури відомо, що вплив багатьох чужорідних хімічних речовин на організм супроводжується структурно-функціональними порушеннями печінки [27, 71, 87]. Авторами доведено, що пошкоджуюча дія КБ на мембрани гепатоцитів розвивається після активації вільнорадикальних реакцій на тлі зниження антиоксидантного захисту [108]. З огляду на це, вивчення особливостей біологічної дії групи БП, зокрема ПЕГ-400, ППГ, ЕГ, Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80 було почато з оцінки функціональної активності печінки за активністю індикаторних ферментів та стану системи детоксикації при тривалій дії КБ на організм.

Для визначення цілісності цитоплазматичних мембран гепатоцитів досліджували активність трансаміназ в крові, а саме аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ), та розраховували їх співвідношення (коефіцієнт де Рітіса). Відомо, що АлАТ каталізує перенесення аміногрупи з аланіну на альфа-кетоглутарову кислоту, локалізована в максимальній кількості в печінці, та АсАТ каталізує перенесення аміногрупи з аспарагінової кислоти на альфа-кетоглутарову кислоту та має найбільшу концентрацію в серці, печінці та інших органах [89]. Активність цих ферментів підвищується в крові при порушенні цілісності цитоплазматичних мембран гепатоцитів, клітин серця та нирок, тому діагностичним показником для детекції ураженого органу є значення показнику коефіцієнту де Рітіса, який

розраховується шляхом визначення співвідношення активності АсАТ до АлАТ [74].

Для визначення порушень детоксифікаційної функції печінки було досліджено показники другої фази знешкодження речовин - біологічної кон'югації. Сульфатна кон'югація є системою з «високою спорідненістю, але малою потужністю», глюкуронідна кон'югація, навпаки - з «малою спорідненістю, але високою потужністю» [27]. Сульфатна кон'югація – це найбільш древня і проста форма детоксикації ксенобіотиків у печінці і в ряді випадків є недосконалою, але конкуруючою за субстрат. Основною реакцією кон'югації є глюкуронідна [301], тому нами було досліджено вміст загальних глюкуронідів та сульфатів у постмітохондріальній фракції гепатоцитів.

У цілому, сульфування ефективно знижує токсикологічну активність КБ. Однак в деяких випадках сульфування збільшує токсичність чужорідних сполук, оскільки окремі сульфатні кон'югати хімічно нестабільні і деградують, формуючи сильні електрофільні сполуки [153]. Джерелом неорганічного сульфату в сульфатній кон'югації є сірка з їжі та процеси окисного перетворення цистеїну [215].

Відомо, що глюкуроніди утворюються в організмі шляхом перенесення залишку глюкуронової кислоти з уридиндифосфат-альфа-D-глюкуронової кислоти (УДФ-глюкуронати) на речовину-акцептор. Залишок глюкуронової кислоти може приєднуватися також до кисню карбоксильної та гідроксильної груп (О-глюкуроніди), до атому азоту (N-глюкуроніди) або сірки (S-глюкуроніди) [215].

Вплив досліджуваної групи КБ на активність індикаторних ферментів та вміст сульфатів та глюкуронідів в печінці експериментальних тварин представлено в Табл. 3.1-3.5.

За результатами досліджень встановлено, що Л-3603-2-12 у дозі 1/10 ДЛ₅₀ призводить до збільшення активності в сироватці крові трансаміназ: АлАТ та АсАТ в 6,87 та 5,72 разів відповідно у порівнянні з контрольною групою (Табл. 3.1). Коефіцієнт де Рітиса знижувався на 16,66 % у порівнянні зі здоровими

щурами. Цей БП у дозі 1/10 ДЛ₅₀ призводив до порушень процесів біотрансформації КБ у печінці, а саме до зниження загальних сульфатів на 37,83 % за рахунок зв'язаних сульфатів на 59,50 %. Вміст вільних сульфатів у постмітохондріальній фракції печінки навпаки, збільшувався на 59,26 %. Вміст загальних глюкуронідів знижувався на 42,29 %.

У дозі 1/100 ДЛ₅₀ БП Л-3603-2-12 також впливав на активність індикаторних ферментів. Так, АсАТ у сироватці крові збільшувалася у 5,11 разів, а АЛАТ – у 4,98 разів, коефіцієнт де Рітиса не відрізнявся від показників у контрольній групі. Вміст загальних сульфатів у постмітохондріальній фракції гепатоцитів незначно збільшувався на 12,83 % за рахунок зв'язаних сульфатів (на 12,39 %), вміст вільних сульфатів не відрізнявся від контрольних значень. Вміст загальних глюкуронідів підвищувався на 24,23 % у порівнянні з контрольною групою.

Таблиця 3.1

Вплив блоксополімеру Л-3603-2-12 на активність індикаторних ферментів у сироватці крові та вміст сульфатів та глюкуронідів у постмітохондріальній фракції гепатоцитів щурів у підгострому експерименті ($M \pm m$, n=30)

Показники	Контроль (n=10)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
АсАТ (мкМ/ год мл)	0,72±0,05	4,12±0,05*	3,68±0,37*
АЛАТ(мкМ/ год мл)	0,57±0,06	3,92±0,06*	2,84±0,25*
Коефіцієнт де Рітиса	1,26±0,05	1,05±0,05*	1,29±0,15
Загальні сульфати (мкМ/г)	1,48±0,07	0,92±0,08*	1,67±0,08*
Вільні сульфати (мкМ/г)	0,27±0,02	0,43±0,02*	0,31±0,02
Зв'язані сульфати (мкМ/г)	1,21±0,04	0,49±0,04*	1,36±0,05*
Загальні глюкуроніди (мкМ/г)	90,80±6,23	52,40±4,12*	112,80±7,65*

Примітка: * - різниця вірогідності $p < 0,05$

Отримані дані свідчать про пошкодження цілісності цитоплазматичних мембран клітин, зокрема, гепатоцитів та вихід органоспецифічних індикаторних ферментів, а саме АсАТ та АлАТ у кров, що підтверджує мембранотропну дію досліджуваних КБ, як у дозі дозі 1/10 ДЛ₅₀, так і у 1/100 ДЛ₅₀.

Аналіз змін вмісту оціночних показників детоксикаційної функції печінки, а саме загальних, зв'язаних та вільних сульфатів за даними, що представлені в таблиці 3.1, свідчить про те, що тривала субтоксична дія КБ має виразну дозову залежність: так, у дозі 1/10 ДЛ₅₀ Л-3603-2-12 пригнічує знешкоджуючу функцію печінки, а саме стадію кон'югації з КБ на рівні як сульфатної, так і глюкуронідної систем, а в дозі 1/100 ДЛ₅₀ БП, навпаки, активує ці процеси, що також може бути проявом захисно-приспосувальної реакції організму на ушкоджуючу дію хімічного фактору.

При дослідженні активності органоспецифічних ферментів АлАТ та АсАТ у сироватці крові в умовах впливу Л-10002-2-80 встановлено підвищення їхньої активності в залежності від дози (Табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Вплив блоксополімеру Л-10002-2-80 на активність індикаторних ферментів у сироватці крові та вміст сульфатів та глюкуронідів у постмітохондріальній фракції гепатоцитів щурів у підгострому експерименті ($M \pm m$, n=30)

Показники	Контроль (n=10)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
АсАТ (мкМ/ год мл)	0,72±0,05	3,81±0,06*	3,16±0,27*
АлАТ (мкМ/ год мл)	0,57±0,06	3,12±0,04*	2,43±0,18*
Коефіцієнт де Рітіса	1,26±0,06	1,22±0,05	1,30±0,23
Загальні сульфати (мкМ/г)	1,48±0,04	1,06±0,11*	1,77±0,09*
Вільні сульфати (мкМ/г)	0,28±0,02	0,36±0,05	0,42±0,03*

Продовження таблиці 3.2

Зв'язані сульфати (мкМ/г)	1,20±0,04	0,70±0,08*	1,35±0,06*
Загальні глюкуроніди (мкМ/г)	90,80±6,23	70,12±5,38*	127,40±6,15*

Примітка: * - різниця вірогідності $p < 0,05$

Так, активність АЛАТ в крові підвищувалась за умов дії 1/10 ДЛ₅₀ у 5,47 разів, а за умов 1/100 ДЛ₅₀ - у 4,26 разів. За умов дії 1/10 ДЛ₅₀ досліджуваного БП активність АсАТ у сироватці крові підвищувалася в 5,29 разів, а за умов дії 1/100 ДЛ₅₀ - в 4,39 рази. Коефіцієнт де Рітиса не відрізнявся від співвідношення активності АсАТ до АЛАТ у контрольній групі щурів.

При дослідженні детоксифікаційної функції печінки було визначено, що за умов дії 1/10 ДЛ₅₀ дослідженого БП загальні сульфати знижувались на 28,37 % за рахунок зниження зв'язаних сульфатів на 41,66 %, що свідчить про зниження реакцій кон'югації в печінці з фосфоаденозин-фосфосульфатом за умов дії сульфотрансфераз. За умов дії 1/100 ДЛ₅₀ спостерігається підвищення детоксикаційної функції печінки, що знайшло відображення у підвищенні загальних сульфатів на 19,60 % за умов підвищення як вільних на 50,70 %, так і зв'язаних сульфатів на 12,50 %. Глюкуронідна кон'югація за умов впливу 1/10 ДЛ₅₀ зазнавала пригнічення на 22,78 % у порівнянні з контрольною групою тварин, та активувалась на 40,31 % за умов впливу 1/100 ДЛ₅₀.

На 45-ту добу підгострого експерименту за умов впливу ПЕГ-400 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ спостерігалось збільшення активності органоспецифічних ферментів АЛАТ і АсАТ у прямій залежності від дози впливу (Табл. 3.3). Спостерігалось статистично значуще, по відношенню до контролю, зростання активності АЛАТ в 4,84 та 3,24 рази, АсАТ - в 4,82 та 4,12 рази за умов впливу 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ відповідно. Коефіцієнт де Рітиса зростав за умов впливу 1/100 ДЛ₅₀ на 26,98 % та суттєво не відрізнявся від контролю за умов дії 1/10 ДЛ₅₀. Зниження у постмітохондріальній фракції печінки щурів вмісту загальних сульфатів за умов впливу ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀ на 49,32 % за рахунок

зв'язаних сульфатів (на 67,50 %) на тлі незмінного вмісту вільних сульфатів може свідчити про пригнічення сульфатної кон'югації даного КБ ($p < 0,05$). Результати, які отримані за умов впливу ПЕГ-400 у дозі 1/100 ДЛ₅₀, свідчать про інтенсифікацію процесів знешкодження КБ, оскільки виявлено незначне підвищення вмісту у печінці загальних та зв'язаних сульфатів на 11,48 % та 9,2 % відповідно.

Таблиця 3.3

Вплив поліетиленгліколю на активність індикаторних ферментів у сироватці крові та вміст сульфатів та глюкуронідів у постмітохондріальній фракції гепатоцитів щурів у підгострому експерименті ($M \pm m$, $n=30$)

Показники	Контроль (n=10)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
АсАТ (мкМ/ год мл)	0,72±0,05	3,47±0,07*	2,97±0,15*
АлАТ (мкМ/ год мл)	0,57±0,06	2,76±0,19*	1,85±0,16*
Коефіцієнт де Рітиса	1,26±0,06	1,25±0,13	1,60±0,15*
Загальні сульфати (мкМ/г)	1,48±0,04	0,75±0,04*	1,65±0,02*
Вільні сульфати (мкМ/г)	0,27±0,02	0,35±0,05	0,35±0,04
Зв'язані сульфати (мкМ/г)	1,20±0,04	0,39±0,05*	1,31±0,04*
Загальні глюкуроніди (мкМ/г)	90,80±6,23	63,72±3,21*	118,35±4,16*

Примітка: * - $p < 0,05$ по відношенню до контролю

Отже, ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀ пригнічує сульфатну кон'югацію, а у дозі 1/100 ДЛ₅₀ – активує її. Динаміка змін вмісту загальних глюкуронідів була аналогічною, а саме у дозі 1/10 ДЛ₅₀ спостерігалось зниження на 29,82 %, а у дозі 1/100 ДЛ₅₀ - збільшення на 30,34 %.

Вивчення впливу ППГ на активність органоспецифічних ферментів АлАТ і АсАТ у сироватці крові та вміст сульфатів та глюкуронідів в печінці показало, що досліджений КБ також має дозову залежність. Так, ППГ викликає зростання активності трансаміназ, як в дозі 1/10 ДЛ₅₀, так і в 1/100 ДЛ₅₀ на тлі зниження

вмісту загальних та зв'язаних сульфатів у дозі 1/10 ДЛ₅₀ та зростання вмісту сульфатів в дозі 1/100 ДЛ₅₀ (Табл. 3.4).

Спостерігалось статистично значуще, по відношенню до контролю, зростання активності АлАТ в 4,70 та 3,03 рази, АсАТ – в 4,57 та 3,62 рази в крові за умов впливу ППГ відповідно у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀, що підтверджує пошкодження цитоплазматичних мембран гепатоцитів та вихід в кров цих органоспецифічних ферментів.

Таблиця 3.4

Вплив поліпропіленгліколю на активність індикаторних ферментів у сироватці крові та вміст сульфатів та глюкуронідів у постмітохондріальній фракції гепатоцитів щурів у підгострому експерименті (M±m, n=30)

Показник	Контроль (n=10)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
АсАТ (мкМ/ год мл)	0,72±0,05	3,29±0,07*	2,61±0,15*
АлАТ (мкМ/ год мл)	0,57±0,06	2,68±0,19*	1,73±0,16*
Коефіцієнт де Рітиса	1,26±0,06	1,22±0,13	1,51±0,15*
Загальні сульфати (мкМ/г)	1,48±0,04	0,54±0,06*	1,60±0,03*
Вільні сульфати (мкМ/г)	0,27±0,02	0,33±0,04	0,35±0,05
Зв'язані сульфати (мкМ/г)	1,20±0,04	0,21±0,02*	1,26±0,08
Загальні глюкуроніди (мкМ/г)	90,80±6,23	68,52±3,49*	123,57±3,84*

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до контролю

Коефіцієнт де Рітиса не змінювався за умов дії 1/10 ДЛ₅₀, а за умов дії 1/100 ДЛ₅₀ підвищувався на 19,84 % у порівнянні з контролем, але знаходився в межах референтних значень.

Результати дослідження за умов впливу ППГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀ показали зниження у печінці щурів вмісту загальних сульфатів на 63,51 % за рахунок зниження вмісту зв'язаних сульфатів на 82,50 %, що вказує на пригнічення

детоксифікаційної функції печінки, зокрема реакції сульфування. Це може бути пов'язано зі зниженням активності сульфотрансфераз.

За умов впливу ППГ у дозі 1/100 ДЛ₅₀ спостерігається незначна активація сульфатної кон'югації, оскільки вміст загальних сульфатів збільшується на 8,11 % ($p > 0,05$) у порівнянні з показником у постмітохондріальній фракції печінки у контрольній групі тварин.

Показники глюкуронідної кон'югації – вміст загальних глюкуронідів знижувався на 24,53 % за умов дії досліджуваного КБ у дозі 1/10 ДЛ₅₀ та збільшувався на 36,09 % за умов дії 1/100 ДЛ₅₀ ($p < 0,05$).

Дослідження дії ЕГ на зміну активності органоспецифічних ферментів та вміст сульфатів і глюкуронідів в печінці показало, що КБ в залежності від дози також викликає різнонаправлену дію (Табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Вплив етиленгліколю на активність індикаторних ферментів у сироватці крові та вміст сульфатів та глюкуронідів у постмітохондріальній фракції гепатоцитів щурів у підгострому експерименті ($M \pm m$, $n=30$)

Показник	Контроль ($n=10$)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 ($n=10$)	1/100 ($n=10$)
АсАТ (мкМ/ год мл)	0,72±0,05	3,17±0,09*	2,40±0,11*
АлАТ (мкМ/ год мл)	0,57±0,06	2,63±0,15*	1,67±0,12*
Коефіцієнт де Рітиса	1,26±0,06	1,20±0,12	1,43±0,11
Загальні сульфати (мкМ/г)	1,48±0,04	0,63±0,03*	1,81±0,09*
Вільні сульфати (мкМ/г)	0,27±0,02	0,35±0,04	0,42±0,05*
Зв'язані сульфати (мкМ/г)	1,20±0,04	0,27±0,02*	1,39±0,05*
Загальні глюкуроніди (мкМ/г)	90,80±6,23	50,63±5,38*	110,44±6,17*

Примітка: * - $p < 0,05$ по відношенню до контролю

Результати досліджень показали статистично значуще, по відношенню до контролю, зростання активності АлАТ в 4,61 та 2,93 рази, АсАТ – в 4,40 та 3,33

рази за умов впливу ЕГ відповідно у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Коефіцієнт де Рітиса не змінювався у порівнянні з контрольною групою як за умов дії 1/10 ДЛ₅₀, так і 1/100 ДЛ₅₀.

За умов впливу ЕГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀ спостерігається виразне пригнічення сульфатної кон'югації, а саме зниження у постмітохондріальній фракції гепатоцитів вмісту загальних сульфатів на 57,43 % за рахунок зв'язаних сульфатів - на 77,5 % на тлі незмінного вмісту вільних сульфатів у порівнянні з контрольною групою тварин. За умов впливу ЕГ у дозі 1/100 ДЛ₅₀ сульфатна кон'югація зазнавала активації у порівнянні з контрольною групою тварин, зокрема вміст загальних сульфатів підвищувався на 22,3 % за рахунок підвищення як зв'язаних сульфатів на 15,83 %, так і вільних сульфатів на 55,50 %. Глюкуронідна кон'югація за умов впливу 1/10 ДЛ₅₀ пригнічувалась на 44,24 % в порівнянні з контрольною групою тварин та активувалась на 21,63 % за умов впливу 1/100 ДЛ₅₀.

Отримані дані досліджень свідчать, що за умов дії досліджуваних КБ як у дозі 1/10 ДЛ₅₀, так і 1/100 ДЛ₅₀ спостерігається підвищення активності в сироватці крові органоспецифічних ферментів – амінотрансфераз АЛАТ та АсАТ. Це свідчить про порушення цілісності цитоплазматичних мембран гепатоцитів, що підтверджує значення коефіцієнту де Рітиса, вихід цих ферментів в кров, що вказує на мембранотропну дію досліджуваних БП.

При дослідженні детоксифікаційної функції печінки показано, що за умов дії 1/10 ДЛ₅₀ спостерігається зниження протікання II фази біотрансформації КБ – сульфатної кон'югації, що свідчить про виснаження захисної функції печінки. При дії 1/100 ДЛ₅₀, навпаки, підвищується вміст загальних сульфатів за рахунок зв'язаних, що свідчить про адаптаційні реакції організму на дію цієї дози КБ.

При дослідженні глюкуронідного шляху кон'югації було встановлено її пригнічення при дії 1/10 ДЛ₅₀ досліджуваних КБ та її активація - за умов впливу 1/100 ДЛ₅₀, що підтверджується зміною вмісту загальних глюкуронідів.

Печінка займає центральне місце у метаболізмі поживних речовин, які надходять до організму. Одна з основних функцій печінки є білоксинтезуюча,

оскільки у печінці має місце синтез білків, в т.ч. білків плазми крові. З даних літератури відомо, що білки здійснюють провідні функції забезпечення життєдіяльності, що свідчить про важливу роль білкового обміну у можливих механізмах розвитку патологічних станів та захворювань [71], а приблизно половина всіх білків синтезується та трансформується у печінці. При порушенні її функції відбуваються якісні та кількісні зміни вмісту білків в крові [25]. Також у печінці відбувається розпад білків, утворення сечовини, взаємоперетворення амінокислот та інших речовин. У клітинах печінки, на відміну від інших органів, є повний набір ферментів, що беруть участь в амінокислотному обміні. Амінокислоти, що всмоктуються у кишечнику, потрапляють з кров'ю ворітної вени у печінку і використовуються в різних шляхах обміну. Для печінки характерна висока швидкість синтезу і розпаду білків, як тих, що функціонують у самій печінці, так і тих, що секретуються в кров [25, 215].

За умов дії досліджуваної групи КБ спостерігається порушення білоксинтезуючої функції печінки, що буде відобразитися на обміні білків в організмі експериментальних тварин.

Оцінювали білоксинтезуючу функцію печінки за його основним показником - вмістом загального білку в крові щурів (Рис. 3.1).

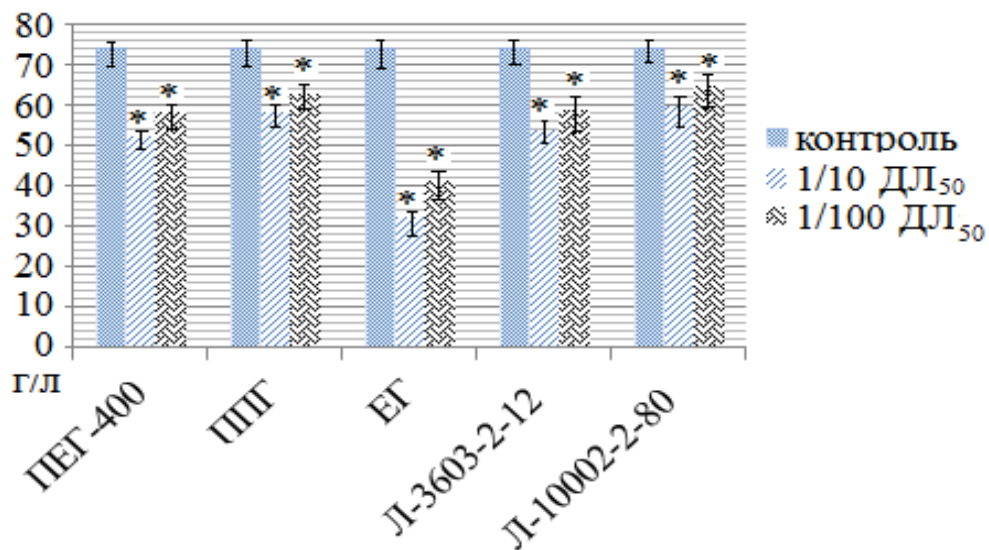


Рис. 3.1 Вміст загального білку (г/л) в крові щурів контрольної групи та за умов дії 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ блоксополімерів

За результатами підгострого експерименту встановлено, що під впливом досліджуваної групи БП у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в організмі щурів спостерігається зниження вмісту в сироватці крові загального білку. Так, Л-3603-2-12 в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ викликає зниження вмісту загального білку крові відповідно доз впливу на 27,36 % і 20,22 %, Л-10002-2-80 знижує вміст загального білку крові відповідно на 19,41 % і 12,13 %, а ПЕГ знижує вміст загального білку на 29,11 % і 21,29 %. ППГ викликає зниження вмісту загального білку крові відповідно 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на 21,02 % і 14,96 %. Слід зазначити, що найбільш виражена гіпопротеїнемія спостерігалася у груп тварин, які піддавалися токсифікації ЕГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀. Встановлено, що ЕГ в цій дозі викликає зниження вмісту в крові загального білку – на 56,06 %, а у 1/100 ДЛ₅₀ змінює даний показник на 43,94 %. Наявність встановлених змін вмісту загального білку може свідчити про превалювання катаболічних процесів над анаболічними синтезами, про пригнічення білоксинтезуючої функції печінки, а також про можливе порушення функціонального стану нирок.

3.2 Дослідження видів клітинної смерті у печінці щурів за умов дії ксенобіотиків

В попередніх дослідженнях встановлено, що блоксополімери у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ₅₀ та продукти їх деструкції призводять до структурно-метаболічних порушень в печінці щурів та сприяють розвитку синдрому печінково-клітинної недостатності [71].

За даними наукової літератури відомо, що провідними патогенетичними факторами розвитку структурно-метаболічних розладів є активація вільнорадикальних процесів, ПОЛ та білків, пригнічення системи антирадикального, антиперекисного захисту, що формується на фоні дисфункції системно-антисистемної кооперативної взаємодії інтегративних систем (нервової, ендокринної, імунної) організму [59, 108].

Таким чином, за даними наукової літератури виникнення синдрому печінково-клітинної недостатності зумовлено як безпосереднім впливом БП і продуктів їх деструкції (первинний мембранотропний ефект), так і за рахунок інтенсифікації процесів вільнорадикального окислення (вторинний мембранотропний ефект) [29, 37]. Встановлено, що в основі розвитку вторинного мембранотропного ефекту КБ лежать процеси виникнення дистрофічних і деструктивних змін, а також порушення біоенергетичних процесів в гепатоцитах, які розвиваються внаслідок активації вільнорадикальних реакцій в організмі щурів на фоні зниження антиоксидантних резервів, що призводить до змін фізико-хімічних властивостей та фосфоліпідного складу мембран [7, 28, 93, 109].

Таким чином, за даними науковців, у біохімічних механізмах порушення структурно-функціональних властивостей клітинних мембран гепатоцитів можна визначити два етапи: на першому - має місце порушення фосфоліпідного складу, трансбіслойного розподілу фосфоліпідів; на другому - порушення бар'єрної, транспортної, рецепторної, регуляторної та інших функцій [7, 29].

Відомо, що міжклітинна взаємодія регулює загибель клітин у двох основних напрямках. На першому - клітини «вимагають» специфічних білкових гормональних сигналів, щоб залишитися дієздатними. За відсутності розвитку першого етапу настає загибель клітин – апоптоз. На другому етапі розвиток може мати інша форма загибелі клітин – це некроз, який виникає в результаті стресових факторів, зокрема дії шкідливих хімічних факторів довкілля [8, 12].

За допомогою сучасного методу проточної цитофлуориметрії можна оцінити стан поодиноких клітин у суспензії за фізичними характеристиками. Цей передовий метод виявляє ступінь апоптозу. Відомо, що апоптоз спрямований на видалення клітин з порушенням структури або функціонуванням генетичного апарату. Апоптоз супроводжується фрагментацією ДНК, ущільненням хроматину, зморщуванням цитоплазматичної мембрани та фрагментацією на мембрані везикул [12, 183].

В якості маркерів апоптозу можуть бути використані специфічні зміни

структури клітин, зокрема зморщення клітин, конденсація ядра та цитоплазми. Ще одним з маркерів апоптозу є визначення зниження мітохондріального трансмембранного потенціалу за допомогою тетраметилпродаміл-метил, родамін 1,2,3 та інших сполук.

За допомогою проточної цитофлуориметрії можна виявити екстерналізацію фосфатидилсерину (ФС) в цитоплазматичній мембрані клітин. Відомо, що фосфоліпід ФС у життєздатних клітинах розташований у внутрішньому цитозольному біліпідному шарі мембрани [254]. Ознакою раннього апоптозу є екстерналізація ФС зі залученням макрофагів для фагоцитозу структурно-змінених клітин. ФС, який розташований на зовнішньому бішарі мембрани апоптотичних клітин, може зв'язуватися з флуорохром-міченим анексином V. Кількість екстерналізованого ФС відображає флуоресценція. Однією особливістю апоптозу є підвищення проникності цитоплазматичної мембрани гепатоцитів, що характеризує пізні стадії апоптозу та некрозу. Барвники, зокрема 7-аміноактиноміцин D (7-AAD) та пропідій йодид потрапляють всередину таких клітин [171].

Таким чином, за допомогою проточної цитофлуориметрії можна використати анексин V та 7-AAD для визначення життєздатних, ранньоапоптотичних, пізньоапоптотичних, вторинно некротичних клітин [2, 254].

У нашому дослідженні для оцінки стадій апоптозу / некрозу клітин було використано методику комбінації Annexin V з фарбуванням вітальним барвником 7-AAD [7, 245]. Суть методики в тому, що барвник проникає через пошкоджену плазматичну мембрану клітин, цілісність якої втрачається на пізній стадії апоптозу або некрозу, а вітальний барвник 7-AAD не проникає через інтактну цитоплазматичну мембрану життєздатних клітин.

Встановлено, що БП в дозі 1/10 ДЛ₅₀ призводять до асиметрії розподілу фосфоліпідів у цитоплазматичній мембрані гепатоцитів, а саме транслокацію ФС з внутрішнього ліпідного шару в зовнішній (Рис. 3.2).

Таким чином, за результатами дослідження встановлено, що найбільш

виражені структурні зміни фосфоліпідного бішару мембран гепатоцитів мали місце в результаті дії ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀. Наведені дані досліджень БП свідчать, що доза 1/10 ДЛ₅₀ є найбільш впливовою на структурно-функціональний стан печінки, тому у подальших дослідженнях ми використовували саме цю дозу [108].

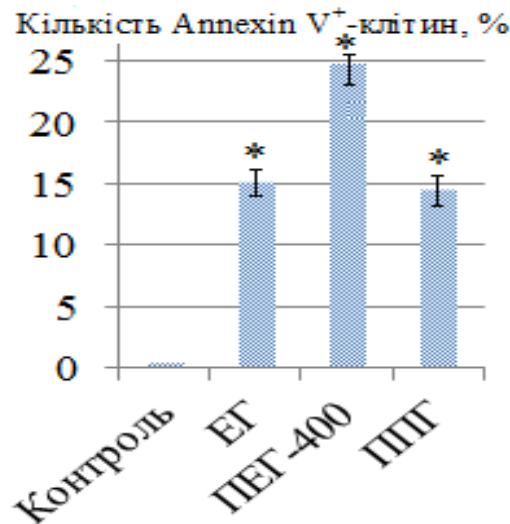


Рис. 3.2 Кількість Annexin V⁺ гепатоцитів щурів після тривалого впливу ксенобіотиків у дозі 1/10 ДЛ₅₀.

Примітка: 1-ЕГ; 2-ПЕГ-400; 3-ППГ. Дані представлені у вигляді $M \pm SE$. * - різниця достовірності $p < 0,05$ у порівнянні з контролем

Зокрема, визначено, що ФС знаходиться у зовнішньому шарі у $24,87 \pm 3,07$ % гепатоцитів ($p < 0,05$ у порівнянні з контролем) за умов впливу ПЕГ-400. Майже аналогічний відсоток гепатоцитів з екстерналізацією ФС визначено у зовнішньому бішарі мембран у щурів, які були токсифіковані ЕГ та ППГ: $15,21 \pm 2,15$ % та $14,54 \pm 2,93$ % відповідно.

Також нами було визначено, що після токсифікації білих щурів КБ у дозі 1/10 ДЛ₅₀ відсоток гепатоцитів, які знаходилися на ранній стадії апоптозу, був вищим порівняно з контрольною групою тварин. Це свідчить про активацію процесу апоптозу гепатоцитів токсифікованих тварин (Рис. 3.3 А, В).

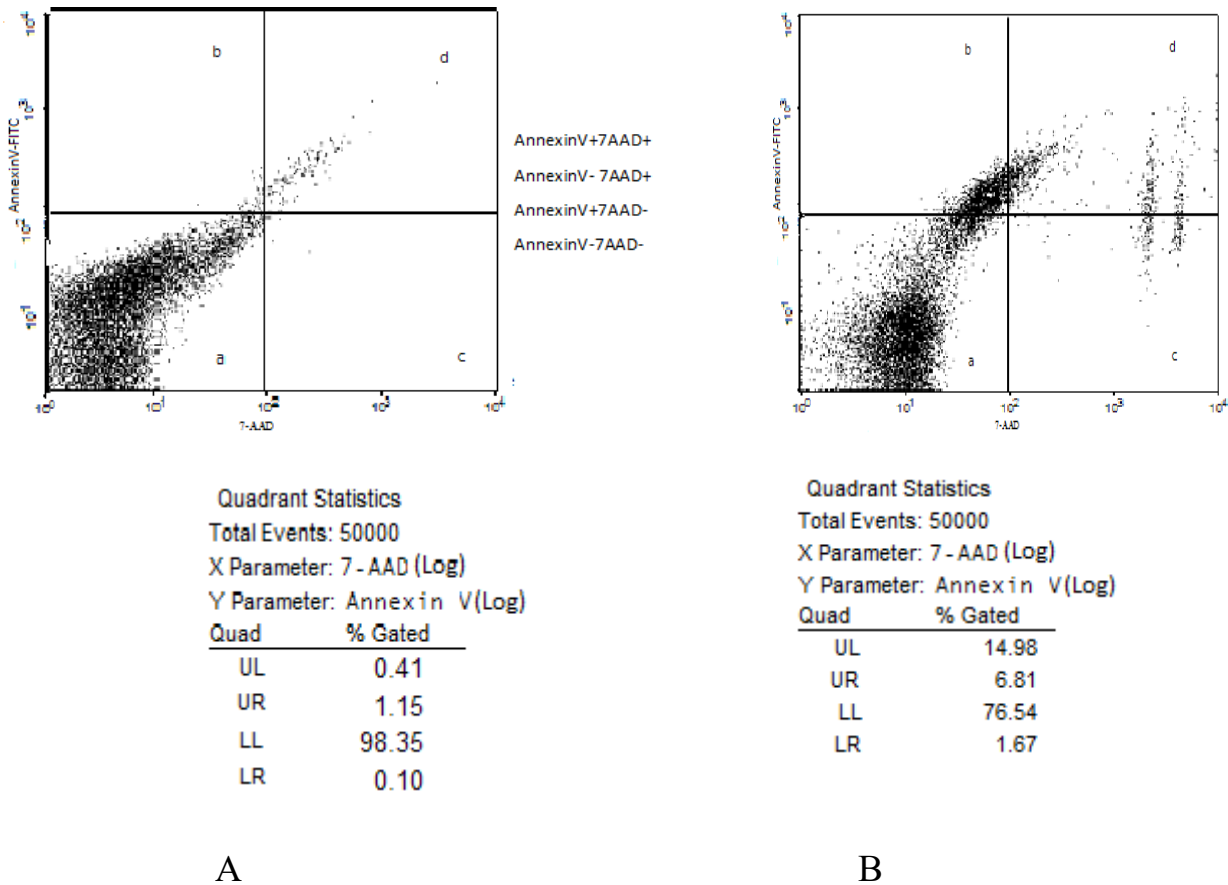


Рис. 3.3 Цитограми гепатоцитів щурів у контролі (А) та після тривалого впливу етиленгліколю в дозі 1/10 ДЛ₅₀ (В) на різних стадіях апоптозу / некрозу. Дані типового експерименту

Примітки:

а - нижній лівий квадрант - живі клітини (AnnexinV⁻7AAD⁻ - клітини);

в - верхній лівий квадрант - клітини на початковій стадії апоптозу (AnnexinV⁺ 7AAD⁻ - клітини);

с - нижній правий квадрант - мертві некротичні клітини (AnnexinV⁻7AAD⁺ - клітини);

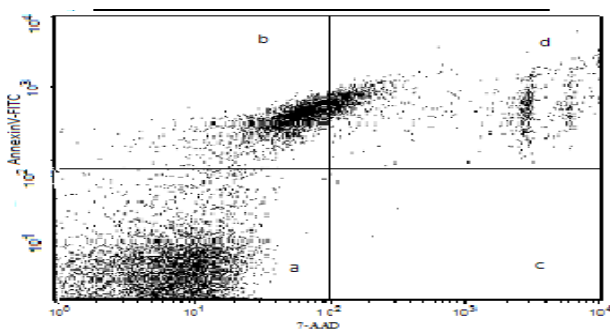
д - верхній правий квадрант - мертві клітини, які перебувають на стадії пізнього апоптозу / некрозу (AnnexinV⁺ 7AAD⁺ - клітини).

Оцінка способів загибелі клітин у контролі показала, що відсоток життєздатних AnnexinV⁻7AAD⁻-клітин становив 98,35 %. Кількість AnnexinV⁺7AAD⁻ або клітин на початковій стадії апоптозу становила 0,41 %. Відсоток AnnexinV⁻7AAD⁺ - тобто загиблих некротичних клітин, становив

0,10 %, а кількість AnnexinV⁺ 7AAD⁺ або мертвих чи вмираючих клітин, які знаходились на стадії пізнього апоптозу / некрозу, становила 1,15 % (Рис. 3.3 А).

Оцінка способів загибелі клітин після тривалого внутрішньошлункового впливу 1/10 ДЛ₅₀ ЕГ показала, що відсоток життєздатних AnnexinV⁻7AAD⁻ клітин становив 76,54 %. Кількість AnnexinV⁺7AAD⁻ або клітин на початковій стадії апоптозу, становила 14,98 %. Відсоток AnnexinV⁻7AAD⁺ - тобто загиблих некротичних клітин, становив 1,67 %, а кількість AnnexinV⁺ 7AAD⁺ або мертвих чи вмираючих клітин, які знаходились на стадії пізнього апоптозу / некрозу, становила 6,81 % (Рис. 3.3 В).

Оцінка способів загибелі клітин після тривалого внутрішньошлункового впливу 1/10 ДЛ₅₀ ПЕГ-400 показала, що відсоток життєздатних клітин AnnexinV⁻7AAD⁻ становив 60,70 %. Кількість AnnexinV⁺7AAD⁻ клітин на початковій стадії апоптозу становила 25,50 %. Відсоток AnnexinV⁻7AAD⁺- мертвих некротичних клітин, становив 0,04 %, а кількість AnnexinV⁺ 7AAD⁺ - мертвих чи вмираючих клітин, які були на стадії пізнього апоптозу / некрозу становила 13,76 % (Рис.3.4 А).



Quadrant Statistics	
Total Events: 50000	
X Parameter: 7 - AAD (Log)	
Y Parameter: Annexin V(Log)	
Quad	% Gated
UL	25.50
UR	13.76
LL	60.70
LR	0.04

А

Quadrant Statistics	
Total Events: 50000	
X Parameter: 7 - AAD (Log)	
Y Parameter: Annexin V(Log)	
Quad	% Gated
UL	14.86
UR	7.37
LL	77.63
LR	0.14

В

Рис. 3.4 Цитограми гепатоцитів щурів після тривалого впливу поліетиленгліколю-400 (А) та поліпропіленгліколю (В) у дозі 1/10 ДЛ₅₀ на різних стадіях апоптозу / некрозу. Дані типового експерименту

Оцінка стадій апоптозу гепатоцитів після тривалого

внутрішньошлункового впливу 1/10 ДЛ₅₀ ППГ показала, що відсоток життєздатних AnnexinV⁻7AAD⁻-клітин становив 77,63 %. Кількість AnnexinV⁺7AAD⁻-клітин – гепатоцитів на початковій стадії апоптозу, становила 14,86 %. Відсоток AnnexinV⁻7AAD⁺- мертвих некротичних клітин, становив 0,14 %, а кількість AnnexinV⁺7AAD⁺ мертвих чи вмираючих клітин, які знаходились на стадії пізнього апоптозу / некрозу становила 7,37 % (Рис. 3.4 В).

Динаміку змін відсотків AnnexinV⁻7AAD⁻, AnnexinV⁺7AAD⁻, AnnexinV⁻7AAD⁺ та AnnexinV⁺7AAD⁺ гепатоцитів у щурів після тривалого впливу КБ представлено на Рис. 3.5.

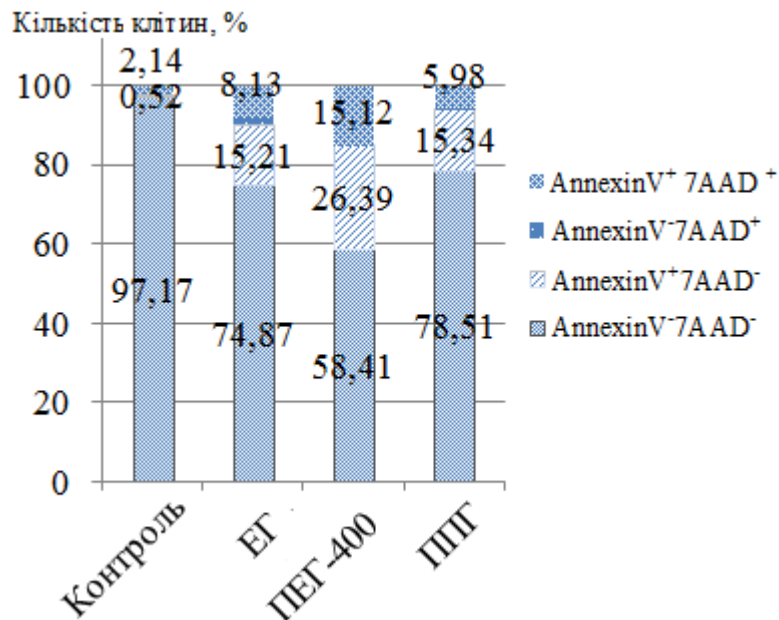


Рис. 3.5 Відсоток AnnexinV⁻7AAD⁻, AnnexinV⁺7AAD⁻, AnnexinV⁻7AAD⁺ та AnnexinV⁺7AAD⁺ гепатоцитів щурів після тривалого впливу ксенобіотиків: 1- етиленгліколю, 2-поліетиленгліколю-400, 3-поліпропіленгліколю в дозі 1/10 ДЛ₅₀. Дані представлені у формі $M \pm SE$

Проведений аналіз видів клітинної смерті показав значні відмінності між показниками контрольної групи та експериментальних груп за умов дії КБ у дозі 1/10 ДЛ₅₀.

Необхідно відзначити, що найбільші зміни спостерігаються для анексин V-позитивних- 7-AAD негативних клітин, тобто для гепатоцитів на ранній стадії

апоптозу. Дія ЕГ призводила до підвищення відсотку ранньоапоптотичних клітин на 15,21 % та появу пізньоапоптотичних – 8,13 %, некротичних клітин – 1,79 %. Найбільш вираженою була дія ПЕГ-400, що сприяло більш значному підвищенню відсотка ранньо- та пізньоапоптотичних клітин – на 26,39 % та 15,12 %, некротичних клітин – 0,08 %. За умов впливу ППГ відсоток ранньо- та пізньоапоптотичних клітин складав 15,34 % та 5,98 %, а некротичних клітин – 0,17 %.

Таким чином, тривалий вплив КБ може призводити до руйнування клітинних мембран шляхом активації перекисного окислення поліненасичених жирних кислот та деградації мембранних фосфоліпідів. Зокрема, можна стверджувати, що вплив ксенобіотиків, перш за все, може бути пов'язаний з активацією ПОЛ [270].

Визначальним фактором у визнанні дієвості та значення цього біохімічного механізму впливу є та обставина, що КБ суттєво впливають на структурний і метаболічний стан печінки, призводять до порушення функції монооксигеназної системи, активації вільнорадикальних процесів на тлі зниження рівнів вмісту антиоксидантів, змін фізико-хімічних властивостей і фосфоліпідного складу мембран гепатоцитів [9, 71].

Так само, як клітини у відповідь на травму продукують прозапальні сигнали: цитокіни, хемокіни, АФК, аналогічно й гепатоцити токсифікованих тварин продукують біологічно активні речовини, що сприяє їх загибелі шляхом апоптозу або некрозу [29].

Таким чином, тривала токсифікація КБ може спричинити масову втрату гепатоцитів через апоптоз та некроз і, отже, провокувати різні тяжкі та незворотні стани пошкодження печінки. Активація шляху клітинної смерті викликає запалення і сприяє розвитку багатьох захворювань, зокрема токсичного гепатиту та цирозу, що сприяє порушенню основних функцій печінки, зокрема білоксинтезуючої.

Доведено, що у підгострому токсикологічному експерименті на щурах досліджені КБ ЕГ, ПЕГ-400 та ППГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀ зумовили зміну плазматичної

мембрани гепатоцитів: транслокацію ФС з внутрішнього ліпідного шару в зовнішній. Така трансмембранна асиметрія ФС в гепатоцитах свідчить про прискорення процесів апоптозу під дією досліджених КБ.

Отримані дані свідчать про мембранотропну дію досліджуваних КБ. Окремий науковий інтерес мало визначення розвитку ранніх та пізніх стадій апоптозу гепатоцитів щурів наслідок впливу БП.

3.3 Патоморфологічні дослідження печінки за умов впливу полімерів оксипропілену та етилену

На закінчення підгострого експерименту було проведено патоморфологічне дослідження печінки щурів, токсифікованих ППГ, ПЕГ-400 та ЕГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀, при цьому контролем служили органи інтактної групи щурів.

Після аналізу патоморфологічних досліджень різних органів визначено, що в найбільшому ступеню заслуговує уваги стан печінки щурів дослідних груп.

За умов впливу ЕГ (Рис. 3.6) спостерігається дуже виражене венозне повнокрів'я та наявність еритроцитів у синусоїдах, перипортальний макрофагально-лімфоцитарний інфільтрат. Гіперемія судин у триаді.

Цитоплазма дещо з відтінком базофілії (рожева з синім відтінком). У вистілці синусоїд знаходиться знижена кількість макрофагів (можливо, за рахунок пригнічення стану імунної системи), а також велика кількість двуядерних гепатоцитів. Спостерігається: гемоліз – на стінках синусоїд, місцями відсутній епітелій та наявність пристіночних тромбів. Епітелій не встиг відновитися. Незначний макрофагально-лімфоцитарний інфільтрат навколо триад та навколо центральної вени, містами велика кількість вакуолей (багаточисельні, дрібні). Навколо триад присутній інфільтрат. Можливо гіперцеллюлярність. Повнокрів'я у портальній та у центральній венах.

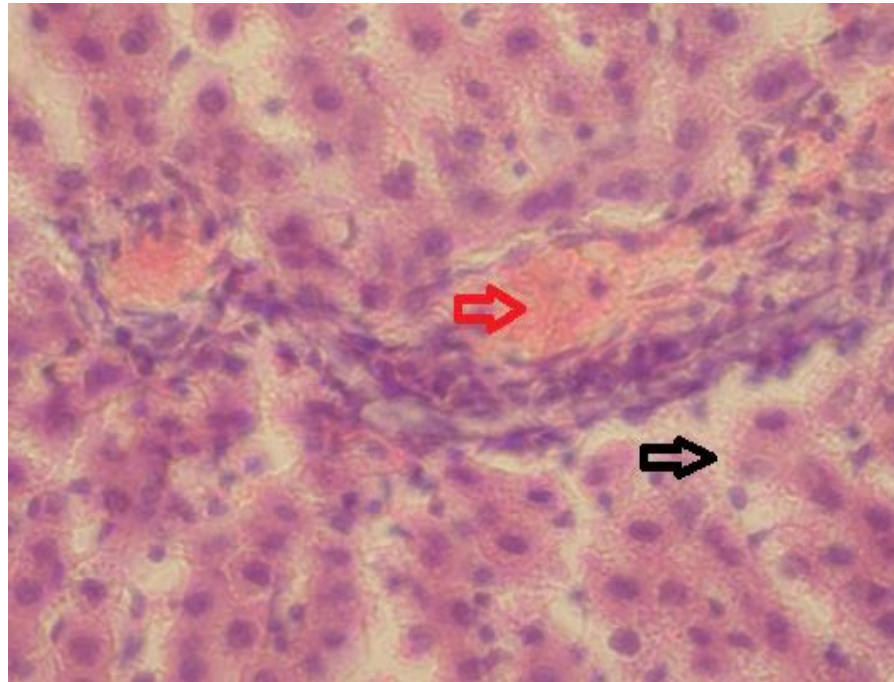


Рис. 3.6 Печінка щура за умов 45 добового впливу ЕГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀.

⇒ Перипортальний макрофагально-лімфоцитарний інфільтрат. ⇒ Гіперемія судин у триаді. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.: x 400

Встановлено, що в печінці щурів, токсифікованих ПЕГ-400 (Рис. 3.7), гепатоцити мають ядро у більшій мірі еухромне (світле), хроматин активно функціонуючий, не пригнічений. Спостерігається велика кількість макрофагів біля стінки синусоїд, проте синусоїди не такі широкі.

У порівнянні з щурами груп, які токсифіковані ЕГ, печінка щурів за умов дії ПЕГ-400 характеризується тим, що макрофаги у ній активні у меншій мірі. Локуси з жировою дистрофією гепатоцитів різко зменшені. Проте навколо триад макрофагально-лімфоцитарний інфільтрат аналогічний як у щурів, токсифікованих ЕГ. Гіперемія центральної вени. Спостерігається загибель клітин в середній частині трабекул (каріолізис і каріопікноз), саме у тій частині, де кров із *vena portae* потрапляє у кров, яку приносить *arteria hepatica*. У полі зору велика кількість двоядерних гепатоцитів, що вказує на незавершений мітоз. Різко розширені синусоїди. Ендотелій в синусоїдах місцями відсутній.

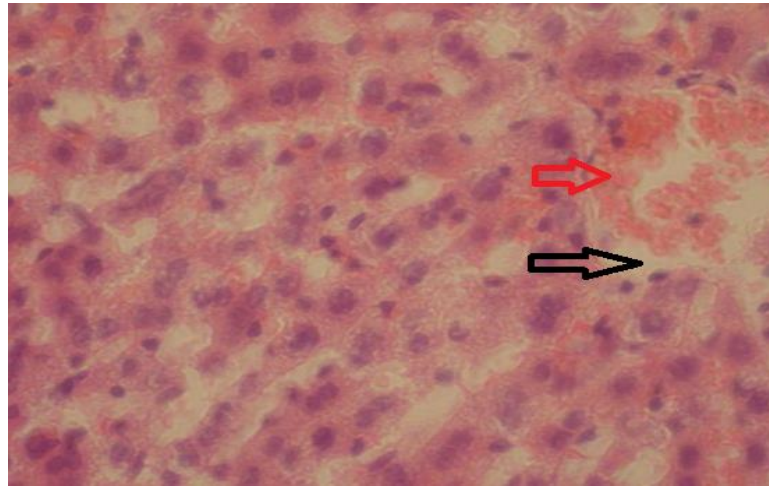


Рис. 3.7 Печінка щура за умов 45 добового впливу ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀.
 ➔ Гіперемія центральної вени. ➔ Різко розширені синусоїди. Багато гепатоцитів з каріолізисом і каріопікнозом. Ендотелій в синусоїдах місцями відсутній. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.: x 400

У печінці щурів за умов впливу ППГ спостерігається загибель окремих гепатоцитів. Можлива гіперцеллюлярність. Крупні поліплоїдні ядра в гепатоцитах (Рис. 3.8). Синусоїди розширені. Ендотелій місцями відсутній. Гепатоцити часто мають гіперхромне ядро.

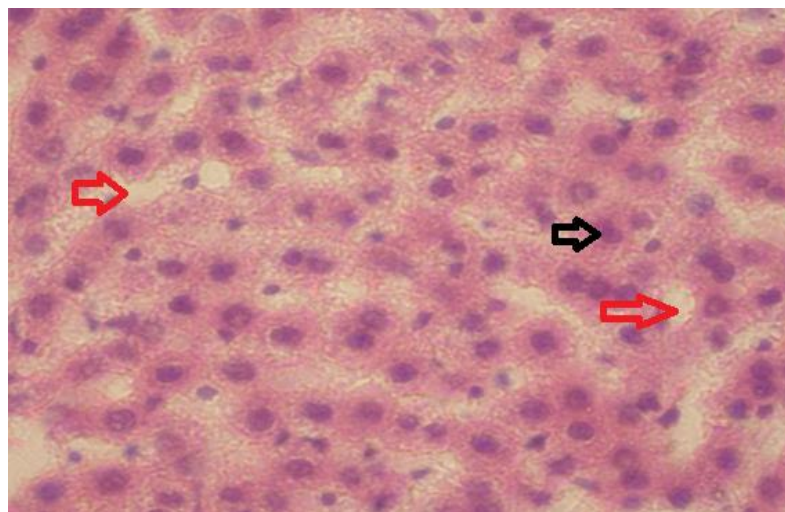


Рис. 3.8 Печінка щура за умов 45 добового впливу ППГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀. ➔
 Синусоїди розширені. Ендотелій місцями відсутній. Гепатоцити часто мають гіперхромне ядро. ➔ Патологічний мітоз – наявність двуждерних гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.: x 400

Зокрема встановлено, що у печінці щурів за умов впливу ППГ у цитоплазмі гепатоцитів знаходиться велика кількість дрібних вакуолей – жир, що визначено як наявність жирової дистрофії печінки. Крім того, встановлено, що у гепатоцитів хроматин ядер темнуватого кольору та загостреної форми, деякі ядра неправильної овальної форми, що може бути проявом початкового каріопікнозу перед загибеллю клітини (Рис. 3.8).

Крім того, визначено, що деякі гепатоцити мають дуже крупні ядра, а також є двуядерні гепатоцити, що може бути наслідком прояву компенсаторних регенераційних процесів. На тлі вищезазначеного, синусоїди широкі з великою кількістю клітин Купфера (макрофагів), а навколо тріад в деяких місцях визначається незначний макрофагально-лімфоцитарний інфільтрат, що вказує на активацію захисних процесів на місцевому рівні.

Центральна вена не має ні запального інфільтрату, ні склерозу. Встановлено, що в найбільшій мірі проявом шкідливого впливу КБ є наявність без'ядерних гепатоцитів, які розміщені в середній частині між тріадою та центральною веною (оскільки у цій ділянці кров від кишківника потрапляє до гепатоцитів). Крім того, визначено виразне венозне повнокрів'я. Спостерігається більш інтенсивна загибель гепатоцитів біля центральної вени.

Таким чином, аналітична оцінка результатів патоморфологічних досліджень печінки щурів, за умов токсифікації ППГ, ПЕГ-400 та ЕГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀, які проведені на основі порівняння стану печінки у щурів засвідчила, що картина гістоморфологічних змін в усіх випадках майже однотипна.

Як було обґрунтовано раніше, імуногістохімічна реакція на наявність антигену MGMT, який є репаративним ензимом ДНК, може бути показником репаративного потенціалу печінки в нашому дослідженні за умов впливу досліджуваної групи БП.

Оскільки КБ є мутагенними речовинами, то актуальним було дослідження рівню експресії MGMT за умов впливу ПЕГ-400, ППГ та ЕГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀.

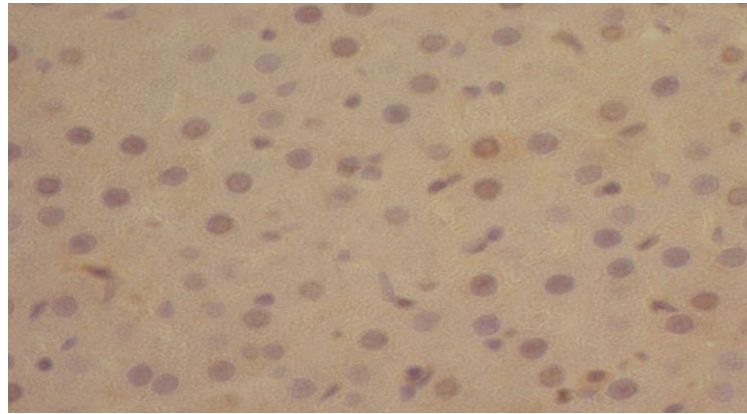


Рис. 3.9 Печінка інтактного щура. Слабко виражений рівень експресії маркера метильованої O⁶-метилгуанін-ДНК-метилтрансферази. ІГХ реакція на MGMT з 3,3'-діамінобензидин візуалізацією. Зб.: x 400

Нами було визначено, що найбільший рівень експресії MGMT спостерігався за умов впливу ПЕГ-400. На зразках тканини печінки гепатоцити з міченими ядрами розміщуються великими групами у середній частині долей печінки по 20-30 екземплярів. Тоді як між ними розміщуються широкі поля з непоміченими гепатоцитами. Дане фрагментарне розміщення вірогідно пов'язане з тим, що саме ці зони печінки найпершими контактують з кров'ю, яка надходить з vena porte, а саме з кишківнику. Місцями ендотелій синусоїд також мічений (Рис. 3.10).

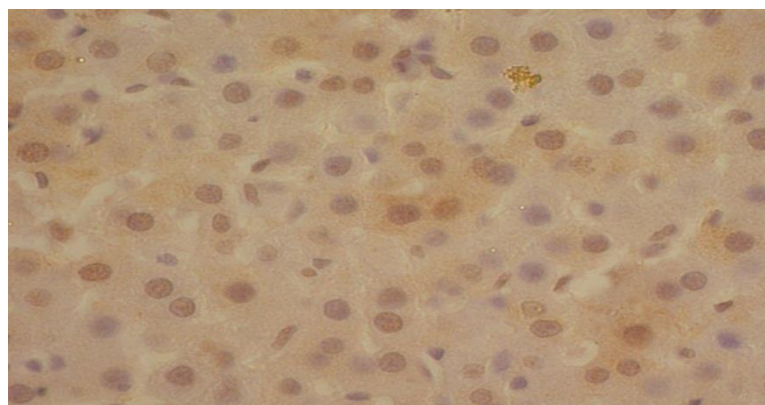


Рис. 3.10 Печінка щура за умов 45 добового впливу ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ50. Сильно виражений рівень експресії маркера метильованої O⁶-метилгуанін-ДНК-метилтрансферази. ІГХ реакція на MGMT з 3,3'-діамінобензидин візуалізацією. Зб.: x 400

Майже однаковий рівень експресії MGMT спостерігався за умов впливу ППГ та ЕГ. Однак рівень експресії MGMT за умов впливу ЕГ був нижчим, оскільки спостерігалася велика кількість лізованих гепатоцитів, що скоріше за все можна трактувати як результат впливу найбільш токсичного ксенобіотику, який спричинює клітинну загибель шляхом апоптозу або некрозу (Рис. 3.11, 3.12).

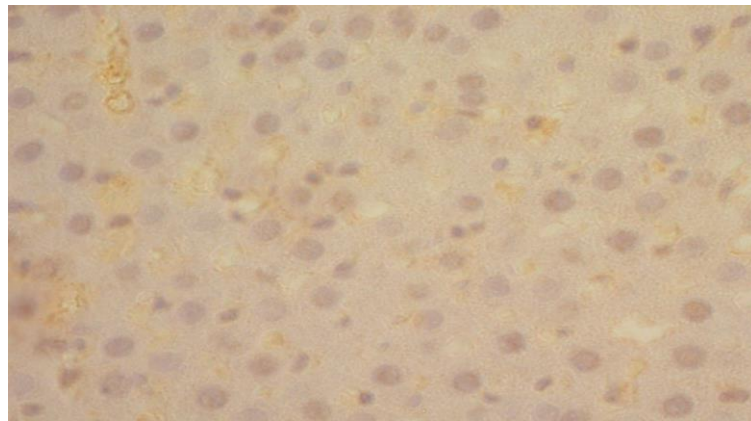


Рис. 3.11 Печінка щура за умов 45 добового впливу ЕГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀. Сильно виражений рівень експресії маркера метильованої O⁶-метилгуанін-ДНК-метилтрансферази. ІГХ реакція на MGMT з 3,3'-діамінобензидин візуалізацією. Зб.: x 400

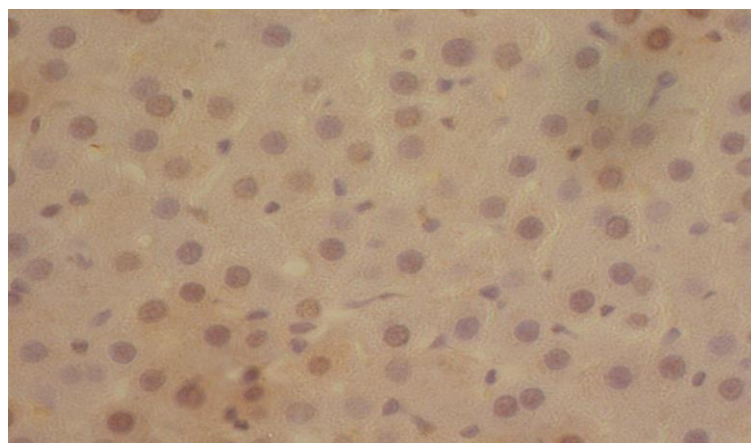


Рис. 3.12 Печінка щура за умов 45 добового впливу ППГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀. Сильно виражений рівень експресії маркера метильованої O⁶-метилгуанін-ДНК-метилтрансферази. ІГХ реакція на MGMT з 3,3'-діамінобензидин візуалізацією. Зб.: x 400

При морфометричному дослідженні особливостей експресії маркера MGMT нами було визначено, що відсоток MGMT-мічених гепатоцитів суттєво збільшується у порівнянні з інтактною групою тварин та має особливості залежності від типу досліджуваного КБ (Рис. 3.13).

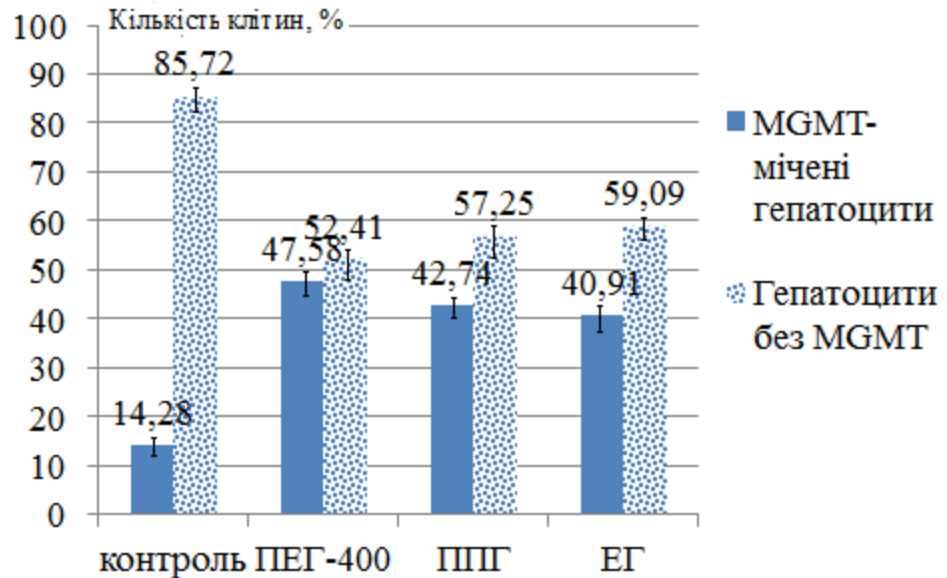


Рис. 3.13 Відсоток MGMT-мічених та MGMT-негативних гепатоцитів щурів після тривалого впливу ксенобіотиків: ЕГ, ПЕГ-400, ППГ в дозі 1/10 ДЛ₅₀. Дані представлені у формі $M \pm SE$

Встановлено, що найбільший рівень експресії MGMT, тобто відсоток MGMT-мічених гепатоцитів спостерігався за умов впливу ПЕГ-400 в дозі 1/10 ДЛ₅₀ та складав $47,58 \pm 2,39$ %, що вказує на активацію репараційного потенціалу клітин у порівнянні з контрольною групою тварин, в якій відсоток MGMT-мічених гепатоцитів складав $14,28 \pm 2,39$ %, що в 3,33 рази менше, ніж у експериментальних груп. За умов дії ЕГ та ППГ відсоток MGMT-мічених гепатоцитів складав $40,91 \pm 2,41$ % та $42,74 \pm 1,98$ % відповідно, що в 2,86 та 3,00 рази вище показників контрольної групи, що також може свідчити про суттєву активацію репараційних процесів ДНК, проте не так виразно, як за умов впливу ПЕГ-400.

Висновки до розділу 3

В умовах підгострого експерименту на білих щурах проведено дослідження особливостей біологічного впливу на організм тварин групи блоксополімерів на основні біохімічні показники функціональної активності печінки, види клітинної смерті гепатоцитів та патоморфологічні особливості тканини печінки:

1. За результатами досліджень встановлено, що за умов впливу всіх досліджених речовин збільшується активність трансаміназ, зокрема АсАТ та АлАТ. Всі досліджені ксенобіотики призводили до порушення цілісності цитоплазматичної мембрани гепатоцитів та вихід трансаміназ у кров експериментальних тварин. Значення коефіцієнту де Рітиса, який підтверджує пошкодження гепатоцитів, за умов впливу дози 1/10 ДЛ₅₀ досліджуваної групи ксенобіотиків не змінювався у порівнянні з контрольною групою та за умов впливу 1/100 ДЛ₅₀ ксенобіотиків Л-3603-2-12, Л-10002-2-80 та етиленгліколю.

2. Визначено порушення детоксифікаційної функції печінки, як сульфатного, так і глюкуронідного шляху кон'югації. Вміст загальних сульфатів у постмітохондріальній фракції печінки знижувався за умов впливу всіх досліджених речовин у дозі 1/10 ДЛ₅₀ за рахунок зв'язаних сульфатів. За умов дії 1/100 ДЛ₅₀ всі ксенобіотики призводили до збільшення загальних сульфатів за рахунок збільшення вмісту зв'язаних сульфатів у постмітохондріальній фракції печінки. Вміст вільних сульфатів не відрізнявся в порівнянні з контрольною групою тварин за умов впливу 1/10 ДЛ₅₀ всіх ксенобіотиків, крім блоксополімеру Л-3603-2-12. За умов дії 1/100 ДЛ₅₀ Л-10002-2-80 та ППГ вміст вільних сульфатів зростав. Вміст загальних глюкуронідів в середньому знижувався на 32,73 % та зростав на 30,52 % відповідно за умов дії 1/10 ДЛ₅₀ та 1/100 ДЛ₅₀ всіх досліджуваних ксенобіотиків.

3. Визначено, що всі досліджені ксенобіотики в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ призводять до гіпопротеїнемії, що може свідчити про порушення білоксинтезуючої функції печінки.

4. За допомогою методу проточної цитофлуориметрії доведено, що ЕГ, ПЕГ-400 та ППГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀ зумовлює зміну плазматичної мембрани

гепатоцитів: екстерналізацію фосфатидилсерину. Найбільш виражені структурні зміни фосфоліпідного бішару мембран гепатоцитів мали місце в результаті дії ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀.

5. Визначено, що види клітинної смерті у печінці щурів відрізняються в залежності від впливу досліджуваних ксенобіотиків, зокрема дія ЕГ призводила до підвищення відсотку ранньо- та пізньоапоптотичних клітин, а також появу некротичних клітин. Найбільш вираженою була дія ПЕГ-400, що сприяло більш значному підвищенню відсотка ранньо- та пізньоапоптотичних клітин.

6. За умов дії досліджуваних речовин картина патоморфологічних змін печінки була майже однотипна, а саме розширення синусоїд, гіперемія судин, наявність макрофагально-лімфоцитарного інфільтрату у триадах, загибель гепатоцитів в середній частині трабекул, наявність двуюдерних та неправильної форми гепатоцитів, що вказує на патологічний мітоз, який може бути наслідком прояву компенсаторних регенераційних процесів у печінці.

7. При імуногістохімічному дослідженні в ядрах гепатоцитів експериментальних тварин за умов впливу досліджуваних ксенобіотиків було визначено збільшення відсотку MGMT-мічених гепатоцитів у порівнянні з контрольною групою, що свідчить про активацію репараційних процесів ДНК.

Результати досліджень розділу 3 опубліковані в наступних роботах автора [17, 63, 270].

РОЗДІЛ 4

ПОКАЗНИКИ ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН КЛІТИННИХ МЕМБРАН ОРГАНІЗМУ ТЕПЛОКРОВНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ ДІЇ КСЕНОБІОТИКІВ

4.1 Дослідження стану оксидантно-антиоксидантної системи організму щурів

Окислювальний стрес – це стан, при якому активуються вільнорадикальні процеси на фоні пригнічення або недостатності антиоксидантної системи організму [21, 22, 25]. Вільнорадикальні процеси, які проходять в клітині, зачіпають всі її структурні компоненти і модифікують клітинний метаболізм. Активним процесом, який має місце на поверхні клітинних мембран, є ПОЛ, оскільки поліненасичені жирні кислоти особливо чутливі до атаки АФК [35]. ПОЛ у нормі відбувається на стаціонарному рівні, що підтримується системами антиоксидантного захисту. Саме таким чином руйнуються клітинні мембрани старіючих клітин і біомембрани імунокомпетентних клітин у вогнищах запалення за умов порушення рівноваги оксидантно-антиоксидантної системи в бік переважання процесів ліпопероксидації. Однак інтенсифікація процесу ПОЛ для клітини є катастрофою. Активація процесів ПОЛ за умов впливу КБ зумовлює збільшення утворення його продуктів, а саме: модифікованих молекул ліпопротеїнів низької щільності, первинних продуктів ПОЛ – 8-ізопростану (виробляється кисневими радикалами при окисненні фосфоліпідів тканин), ДК та вторинних продуктів ПОЛ - ТБК-АП, які сприяють утворенню міжмолекулярних зшивків (білок-ліпід, ліпід-ліпід), обмежують рухливість мембранних білків і порушують їх функції. За умов дії АФК та зниження антиоксидантного захисту у мембрані утворюються гідрофобні пори, що призводить до вивільнення кальцію та сприяє загибелі клітин [37, 48].

Оцінка стану процесів ПОЛ за його основними показниками - вмістом 8-ізопростану, ТБК-АП, ДК в крові проведена в умовах підгострого токсикологічного експерименту на білих щурах при токсифікації БП окису етилену та пропілену Л-3603-2-12, Л-10002-2-80, ПЕГ-400, ППГ та ЕГ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ (Рис. 4.1-4.3).

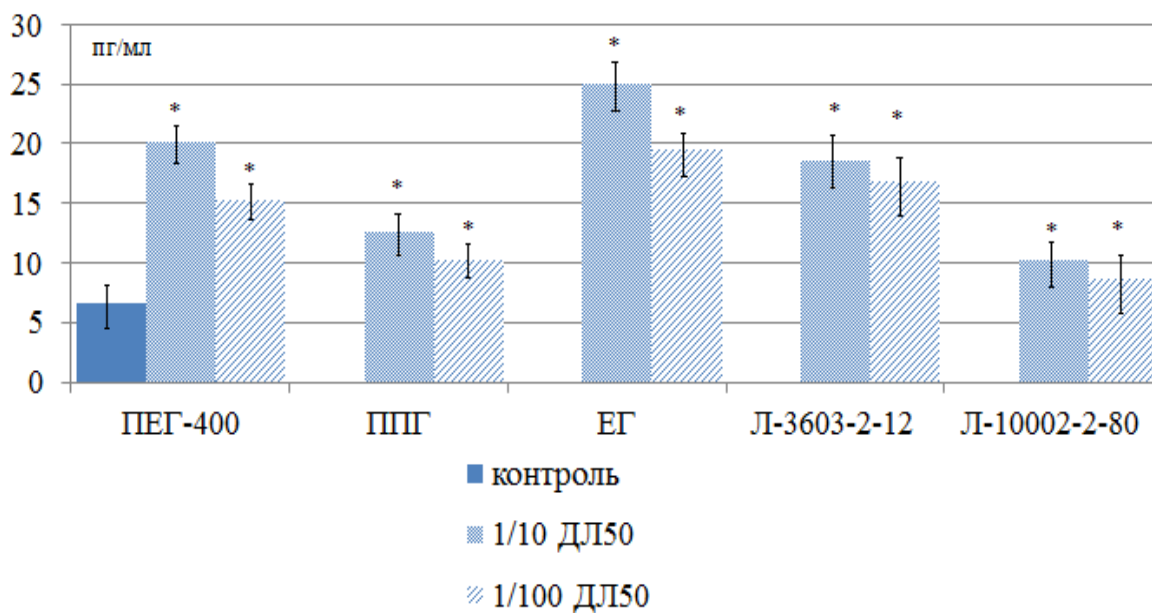


Рис. 4.1 Вміст 8-ізопростану (пг/мл) у сироватці крові щурів контрольної та експериментальних груп за умов 45 добової дії 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ блоксополімерів

За результатами експерименту встановлено, що під впливом досліджуваної групи КБ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в організмі щурів спостерігається підвищення вмісту в сироватці крові основного показника стану оксидативної системи 8-ізопростану. Так, Л-3603-2-12 в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ викликає підвищення вмісту 8-ізопростану крові відповідно в 2,77 і 2,51 рази, Л-10002-2-80 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ підвищує вміст 8-ізопростану крові відповідно в 1,53 і 1,28 рази. ПЕГ-400 підвищує вміст 8-ізопростану в 3,00 і 2,28 рази відповідно 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. ППГ викликає підвищення 8-ізопростану в крові відповідно 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в 1,88 і 1,54 рази у порівнянні з контролем. Слід зазначити, що найбільша активація ПОЛ спостерігалася у

групі тварин, які піддавалися токсифікації ЕГ в дозі 1/10 ДЛ₅₀. Встановлено, що ЕГ у цій дозі викликає підвищення вмісту в крові 8-ізопростану – в 3,75 рази, а у 1/100 ДЛ₅₀ змінює даний показник у 2,91 рази, що може свідчити про суттєву активацію процесів ПОЛ.

Аналіз динаміки вмісту другого оціночного показнику - первинних продуктів ПОЛ, а саме ТБК-АП свідчить про те, що тривала субтоксична дія ксенобіотиків має виразну дозову залежність та суттєво активує прооксидантний потенціал організму (Рис. 4.2).

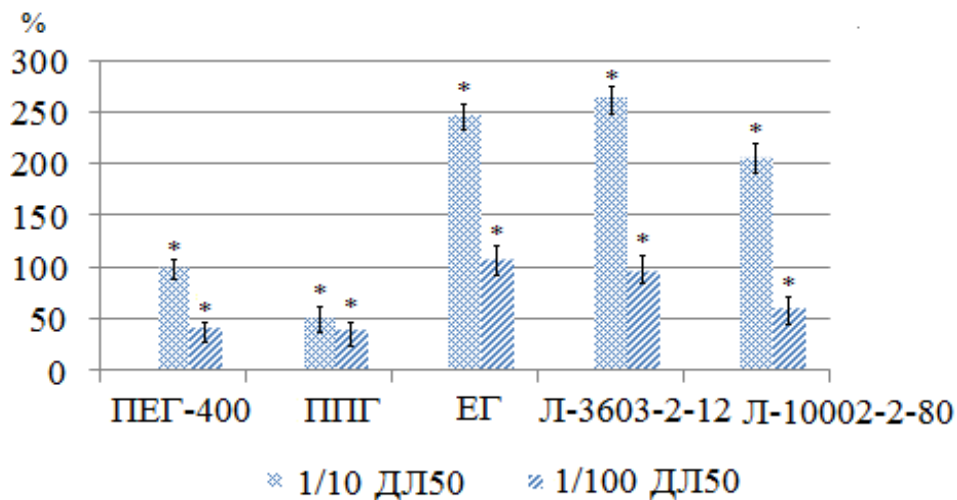


Рис. 4.2 Відсоток зростання вмісту ТБК-АП у сироватці крові щурів за умов 45 добової дії 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ блоксополімерів по відношенню до контрольної групи

Спостерігалось статистично значуще, по відношенню до контролю, зростання вмісту ТБК-АП у сироватці крові щурів за умов дії досліджуваної групи КБ. Так, ПЕГ-400 викликає підвищення ТБК-АП в крові відповідно дозам 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на 100,82 % і 42,36 %. ППГ підвищує вміст ТБК-АП на 50,37 % і 39,63 % відповідно 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. ЕГ викликає підвищення ТБК-АП в крові відповідно 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ у 3,47 і 2,07 рази. Л-3603-2-12 в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ викликає підвищення вмісту ТБК-АП крові відповідно в 3,66 і 1,95 рази, Л-10002-2-80 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ підвищує ТБК-АП крові відповідно в 3,07 і 1,60 рази.

Аналіз вмісту вторинних продуктів ПОЛ, а саме ДК вказує на те, що тривала субтоксична дія ксенобіотиків активує процеси ПОЛ та також має виражену дозову залежність (Рис. 4.3).

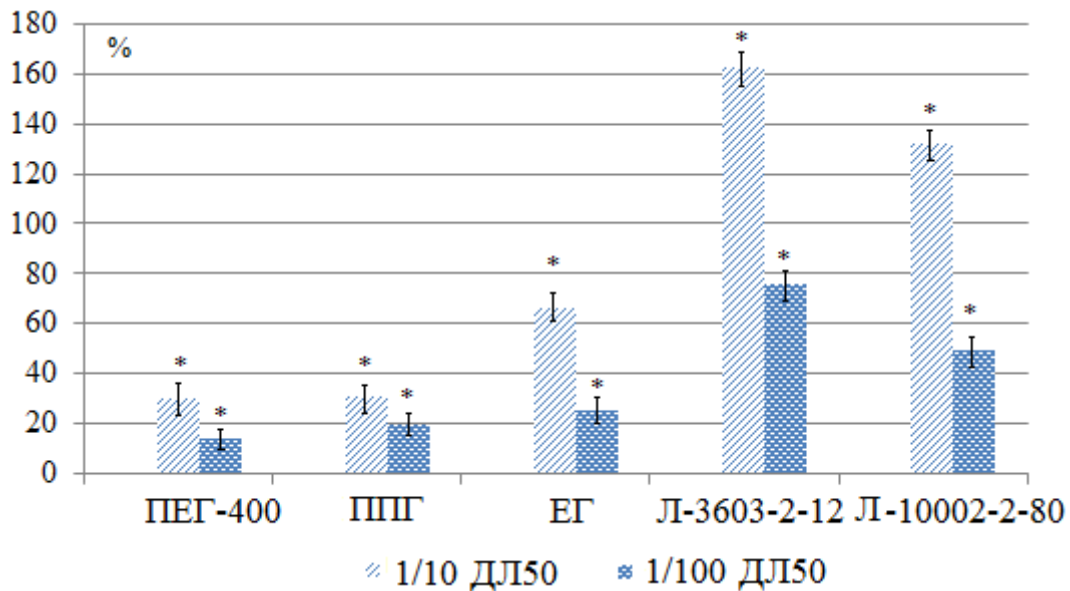


Рис. 4.3 Відсоток зростання вмісту ДК у сироватці крові щурів контрольної групи та за умов 45 добової дії 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ блоксополімерів

При дослідженні вмісту вторинних продуктів ПОЛ у крові щурів було визначено, що за умов дії 1/10 ДЛ₅₀ ПЕГ-400 вміст ДК збільшувався на 30,22 %, а за умов дії 1/100 ДЛ₅₀ – на 14,20 %. ППГ підвищує вміст ДК на 31,20 % і 19,66 % відповідно 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. ЕГ викликає підвищення ДК в крові відповідно 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на 66,43 % і 25,77 % порівняно з контролем. Найсуттєвіші зміни вмісту ДК спостерігалися за умов впливу БП з великою молекулярною масою, а саме Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80. Встановлено, що Л-3603-2-12 в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ викликає підвищення вмісту ДК крові відповідно на 162,84 % і 76,22 %, Л-10002-2-80 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ підвищує ДК крові відповідно на 132,42 % і 49,88 %.

Вивчення впливу групи блоксополімерів, зокрема ПЕГ-400, ППГ, ЕГ, Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80 на стан антиоксидантної системи захисту організму

щурів проводили за визначенням ферментативної активності показників першої лінії антирадикального та антиперекисного захисту - ГП, каталази, СОД та вмісту ЦП (Табл. 4.1-4.5).

Згідно даних Табл. 4.1 ПЕГ-400 у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ₅₀ викликає достовірно, порівняно з контрольною групою тварин, зниження активності каталази на 45,00 % і 37,31 % відповідно дії доз, що може стати однією з причин розвитку оксидативного стресу, так як даний фермент відповідає за видалення первинних активних форм кисню, зокрема перекису водню [52].

Таблиця 4.1

Вплив поліетиленгліколю на показники стану антиоксидантної системи в крові щурів у підгострому експерименті (M±m, n=30)

Показники	Контроль (n=10)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Каталаза (мкМ/хв•г Нб)	432,60±29,31	237,92±17,61*	271,20±25,62*
СОД (мМ/хв•г Нб)	16,48±1,31	7,58±0,98*	22,88±2,11*
Глутатіонпероксидаза (мкат/г•Нб)	6,28±0,53	4,11±0,49*	11,41±0,75*
Церулоплазмін, (мкМ/л)	2,46±0,15	1,12±0,20*	3,90±0,22*

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до контролю

Що стосується другого антиоксидантного ензиму - СОД, що каталізує дисмутацію супероксида в кисень і пероксид водню, то її активність за умов впливу ПЕГ-400 викликає статично значуще, при порівнянні з контролем, зниження активності на 54,02 % у дозі 1/10 ДЛ₅₀ та підвищення на 38,83 % у дозі 1/100 ДЛ₅₀.

У процесах інактивації гідроксипероксидів ліпідів значну роль відіграє ГП, оскільки вона каталізує відновлення гідроперексидів ліпідів у відповідні спирти і здійснює відновлення перексиду водню до води [21, 106]. ПЕГ-400 викликає статистично значуще, при порівнянні з контролем, зниження ГП на 34,55 % у дозі 1/10 ДЛ₅₀ та підвищення - на 81,69 % у дозі 1/100 ДЛ₅₀.

Крім того, ПЕГ-400 викликає статистично значуще, при порівнянні з контролем зниження вмісту ЦП на 54,47 % у дозі 1/10 ДЛ₅₀ та підвищення на 58,54 % у дозі 1/100 ДЛ₅₀. Зниження активності ГП і вмісту ЦП при дії ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀ ймовірно пов'язано з виснаженням компенсаторних реакцій, спрямованих на нормалізацію процесів ПОЛ за умов тривалого впливу речовин, а також за умов гепатотоксичності, а збільшення у дозі 1/100 ДЛ₅₀ - може бути наслідком посилення адаптаційних реакцій в організмі щурів. Такі зміни основних показників АОС за умов дії 1/100 ДЛ₅₀ можна розглядати як адаптивну реакцію організму щурів на несприятливий вплив ПЕГ-400 [48].

Таким чином, за умов тривалого впливу ПЕГ-400, у дозі 1/10 ДЛ₅₀, виникає пригнічення основних біохімічних показників, що характеризують системи антирадикального та антиперекисного захисту. Такий стан може бути викликаний посиленням окислювального метаболізму, активацією процесів ПОЛ, здатних подолати бар'єр антиоксидантного захисту.

За результатами дослідження стану АОС за умов впливу на організм щурів ППГ у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ₅₀ (Табл. 4.2) у сироватці крові визначено статистично значуще, по відношенню до контролю зниження активності каталази на 40,04 % і 21,17 % відповідно доз.

Таблиця 4.2

Вплив поліпропіленгліколю на показники стану антиоксидантної системи у крові щурів у підгострому експерименті (M±m, n=30)

Показники	Контроль (n=10)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Каталаза (мкМ/хв•г Hb)	432,60±29,31	259,56±24,19*	341,01±23,82*
СОД (мМ/хв•г Hb)	16,48±1,31	10,21±0,76*	27,02±2,15*
Глутатіонпероксидаза (мкат/г•Hb)	6,28±0,53	4,17±0,77*	10,15±0,67*
Церулоплазмін, (мкМ/л)	2,46±0,15	1,67±0,25*	2,90±0,14*

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до контролю

Активність СОД за умов впливу ППГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀ знижувались на 38,11 % і, навпаки, підвищувались на 64,05 % за впливом КБ у дозі 1/100 ДЛ₅₀. Як представлено в таблиці, ППГ викликає статистично значуще, при порівнянні з контролем, зниження активності ГП на 33,59 % у дозі 1/10 ДЛ₅₀ та підвищення - на 61,62 % у дозі 1/100 ДЛ₅₀ (Табл. 4.2). Вміст ЦП знижувався на 32,11 % за умов впливу ППГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀ при порівнянні з контролем та незначно підвищувався - на 17,88 % у дозі 1/100 ДЛ₅₀.

У зв'язку з надзвичайно широким вжитком у народному господарстві ЕГ, як стартової речовини для синтезу полімерів різного ступеню полімерізації і як наслідок розповсюдження його в усіх сферах перебування людини [1, 54], то актуальним було дослідити зміни у АОС в експериментальних умовах (Табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Вплив етиленгліколю на показники стану антиоксидантної системи у крові щурів у підгострому експерименті (M±m, n=30)

Показники	Контроль (n=10)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Каталаза (мкМ/хв•г Нб)	432,6±29,3	186,01±26,1*	281,19±25,3*
СОД (мМ/хв•г Нб)	16,48±1,31	8,37±0,86*	32,72±0,75*
Глутатіонпероксидаза (мкат/г•Нб)	6,28±0,53	4,71±0,42*	8,80±0,55*
Церулоплазмін, (мкМ/л)	2,46±0,15	0,91±0,28*	4,39±0,42*

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до контролю

За умов впливу ЕГ у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ₅₀ спостерігалось у сироватці крові щурів статистично значуще, по відношенню до контролю зниження активності каталази на 57,00 % і 35,00 % відповідно, на тлі зниження активності СОД на 49,18 % при дії КБ у дозі 1/10 ДЛ₅₀ та підвищення на 98,54 % - у дозі 1/100 ДЛ₅₀.

Відмічено статистично значуще, при порівнянні з контролем, зниження активності ГП на 25,00 % у дозі 1/10 ДЛ₅₀ та підвищення - на 40,12 % у дозі 1/100

ДЛ₅₀. Вміст ЦП у сироватці крові знижувався на 63,00 % за умов впливу ЕГ в дозі 1/10 ДЛ₅₀ при порівнянні з контролем та підвищувався - на 78,45 % у дозі 1/100 ДЛ₅₀.

Показники стану антиоксидантного захисту за умов впливу на організм щурів БП окису етилену та пропілену Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80 наведено в Таблицях 4.4-4.5.

Таблиця 4.4

Вплив Л-3603-2-12 на показники стану антиоксидантної системи у крові щурів у підгострому експерименті (M±m, n=30)

Показники	Контроль (n=10)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Каталаза (мкМ/хв•г Нб)	432,6±29,3	243,5±23,1*	633,11±27,7*
СОД (мМ/хв•г Нб)	16,48±1,31	10,21±0,76*	35,89±1,09*
Глутатіонпероксидаза (мкат/г•Нб)	6,28±0,53	3,76±0,55*	9,75±0,83*
Церулоплазмін, (мкМ/л)	2,46±0,15	1,23±0,17*	4,35±0,32*

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до контролю

Л-3603-2-12 у дозі 1/10 ДЛ₅₀ викликає зниження активності каталази, СОД, ГП і вміст ЦП відповідно на 43,71 %, 38,04 %, 40,12 % і 50,00 %, що свідчить про виснаження системи антиоксидантного захисту. Вплив 1/100 ДЛ₅₀ відповідного БП підвищує активність каталази, СОД, ГП і вміст ЦП відповідно на 46,34 %, 117,77 %, 55,25 % і 76,83 %, що свідчить про мобілізацію захисно-приспосувальних механізмів антирадикального і антиперекисного захисту в організмі щурів. Згідно даних Табл. 4.5 досліджуваній КБ Л-10002-2-80 у дозі 1/10 ДЛ₅₀ викликає зниження активності каталази, СОД, ГП і вміст ЦП відповідно на 27,74 %, 26,94 %, 28,02 % і 36,59 %, а за умов впливу 1/100 ДЛ₅₀ дані показники, навпаки, зростали на 29,17 %, 81,67 %, 42,51 % і 53,65 % порівняно з контролем.

Таблиця 4.5

Вплив Л-10002-2-80 на показники стану антиоксидантної системи у крові щурів у підгострому експерименті ($M \pm m$, $n=30$)

Показники	Контроль ($n=10$)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 ($n=10$)	1/100 ($n=10$)
Каталаза (мкМ/хв•г Нб)	432,6±29,3	312,6±19,4*	558,8±23,5*
СОД (мМ/хв•г Нб)	16,48±1,31	12,04±1,33*	29,94±1,15*
Глутатіонпероксидаза (мкат/г•Нб)	6,28±0,53	4,52±0,32*	8,95±0,49*
Церулоплазмін, (мкМ/л)	2,46±0,15	1,56±0,11*	3,78±0,24*

Примітка: * - $p < 0,05$ по відношенню до контролю

Отримані дані досліджень свідчать, що за умов дії досліджуваних КБ у дозі 1/10 ДЛ₅₀ спостерігається пригнічення основних показників АОС, а у дозі 1/100 ДЛ₅₀ – її активація, що також свідчить про адаптацію організму до дії КБ.

Слід зазначити, що за отриманими результатами можна зробити висновок, що досліджувана група БП у дозі 1/10 ДЛ₅₀, за специфікою напрямків впливу на організм щурів може розглядатися в якості активаторів вільнорадикальних процесів і ПОЛ, найбільш потужнішими серед яких є ЕГ.

Таким чином, за результатами підгострого експерименту встановлено, що під впливом досліджуваної групи БП у дозах 1/10 ДЛ₅₀ спостерігається пригнічення АОС, а за умов дії 1/100 ДЛ₅₀ в організмі щурів відбувається активація, що свідчить про значну напругу захисно-приспосувальних антирадикальних і антиперекисних механізмів в організмі теплокровних.

4.2 Стан ліпідного бішару мембран еритроцитів щурів за умов дії ксенобіотиків

Відомо, що дія поліетиленоксиду, як осмотично, так і поверхнево-активної речовини, розповсюджується на різні системи клітин і першочергово, на плазматичні мембрани, зокрема на її поверхневі та гідрофобні властивості [7].

Виникає багато питань щодо механізму взаємодії КБ з еритроцитами. За дослідженнями Л. А. Бабійчук [187] ПЕО є непроникаючою у клітину речовиною, його взаємодія з мембраною супроводжується адсорбуванням його молекул на поверхні мембрани, що змінює її структуру та зарядові характеристики. За даними автора даний КБ має значну ліпофільність, то його молекули можуть проникати глибше в мембрану і вбудовуватися в гідрофобні ділянки плазматичної мембрани, взаємодіючи з жирнокислотними хвостами фосфоліпідів або гідрофобними областями інтегральних білків. Поряд з цим, в структурі ПЕО є і полярні групи, що дає можливість для його взаємодії з гідрофільними ділянками молекул, зокрема з полярними головками фосфоліпідів [302].

Автор наголошує, що відомі у літературі відомості щодо взаємодії поліетиленоксидів і поліетиленгліколей різної молекулярної маси з еритроцитами, ліпідними везикулами або ліпідними слоями досить суперечливі. Тому нами було обрано ПЕГ-400, як модельний об'єкт впливу на мембрану еритроцитів *in vivo* та наведено результати впливу дози 1/10 ДЛ₅₀, як найбільш діючої.

Для дослідження стану мембран еритроцитів щурів при впливі КБ ПЕГ-400 було застосовано метод флуоресцентних зондів - орто-гідроксипохідних 2,5-диарил-1,3-оксазолу, які чутливі до змін протонодонорної здатності, полярності і в'язкості мікросередовища [278].

Відібрані об'єкти орто-гідроксипохідних оксазолу, що розрізняються за своєю ліпофільністю: очікується, що області локалізації відібраних зондів в мембрані різні і відповідають за ліпофільністю зондів (Рис. 4.4) [220-223], а очікувана локалізація і орієнтація зондів 010, 060 і РН7 основана на їх флуоресцентних властивостях в ліпідних мембранах та їх структурній подібності з флуоресцентними зондами з відомою локалізацією в ліпідних мембранах.

Зокрема, зонд 010 - локалізується в області гліцеринових залишків фосфоліпідів (ближче до центру ліпідного бішару), в області карбонільних груп фосфоліпідів і в області жирнокислотних ланцюжків фосфоліпідів, які розміщуються біля зони карбонільних груп; зонд 060 - локалізується в області карбонільних груп фосфоліпідів і в області жирнокислотних ланцюжків фосфоліпідів (поблизу полярної частини ліпідного бішару); зонд RH7 - локалізується в області жирнокислотних ланцюжків фосфоліпідів (поблизу центру ліпідного бішару) і в центрі ліпідного бішару мембран (Рис. 4.4).

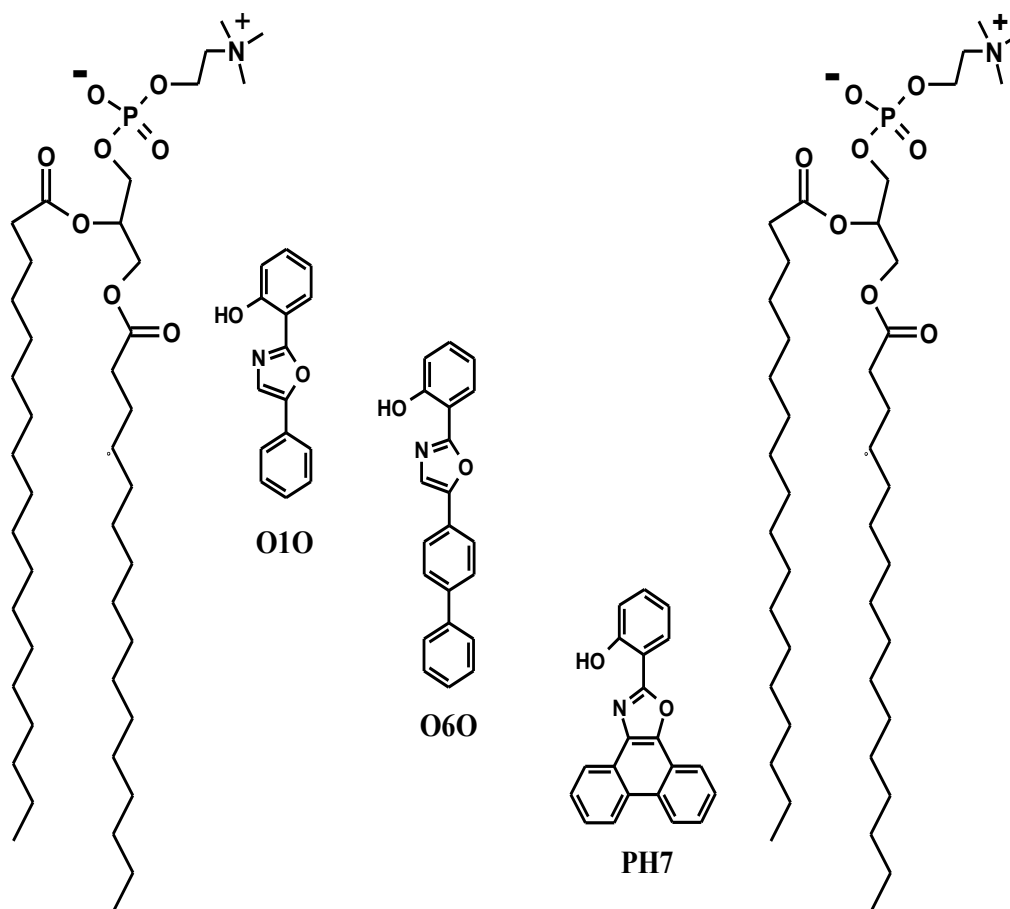


Рис. 4.4 Очікувана локалізація та орієнтація флуоресцентних зондів 010, 060 та RH7 у молекулах фосфатидилхоліну з зовнішнього моношару основана на їх флуоресцентних властивостях в ліпідних мембранах та їх структурної подібності з флуоресцентними зондами за відомою локалізацією в ліпідних мембранах

У наступній серії експериментальних досліджень проведено вивчення

стану мембран на основі визначення спектрів флуоресценції зондів 010 (А), 060 (Б) и рН7 (В) у розчинах з еритроцитами щурів, токсифікованих КБ ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀, порівняльно до спектрів розчинів з еритроцитами контрольної групи щурів (Рис. 4.5).

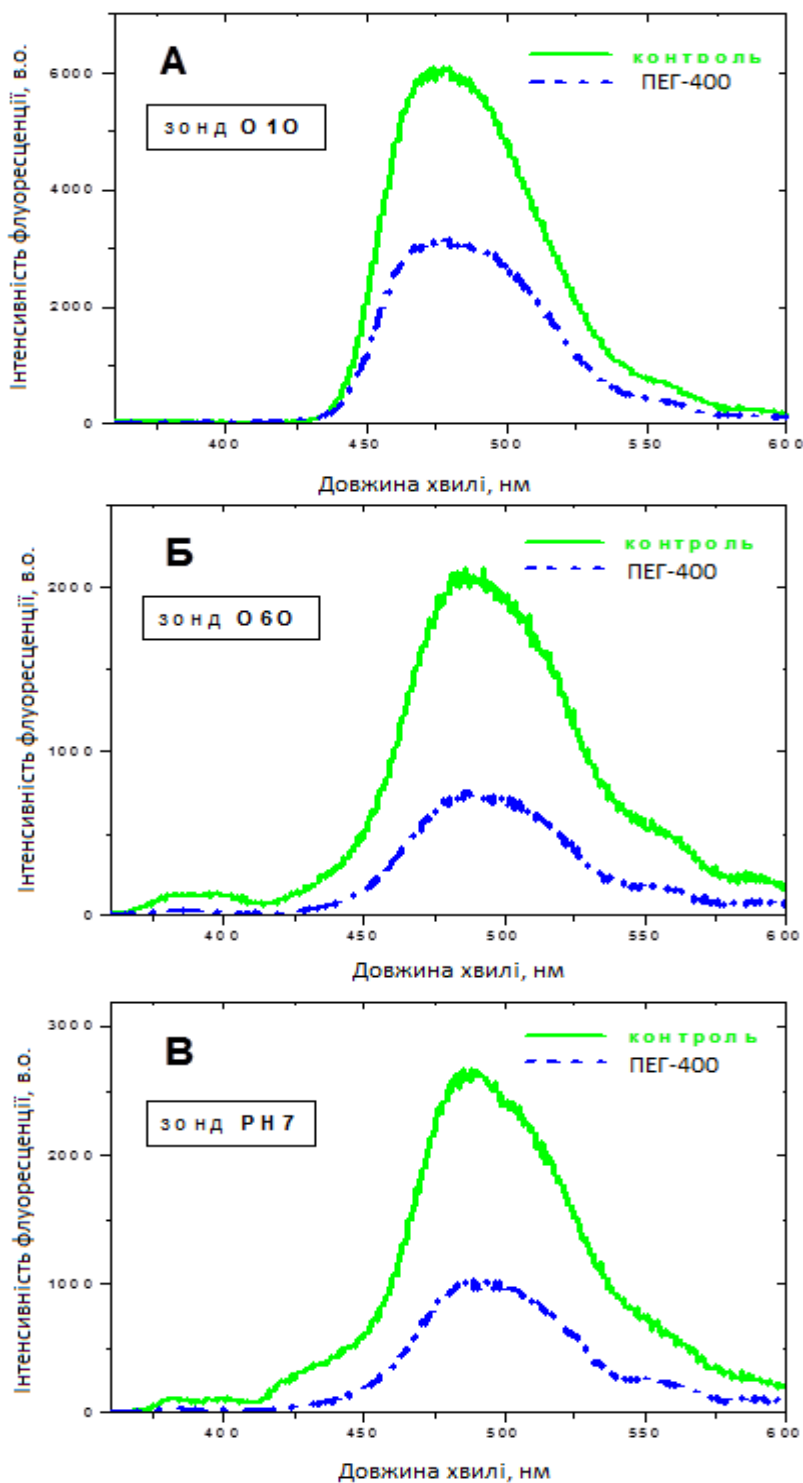


Рис. 4.5 Спектри флуоресценції зондів 010 (А), 060 (Б) и рН7 (В) у розчинах з еритроцитами щурів при впливі ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀ порівняльно до

спектрів розчинів еритроцитів контрольної групи щурів

Згідно Рис. 4.5, у випадку тварин дослідної групи співвідношення інтенсивностей довгохвильової (випускання фототаутомерної форми зонду [220]) і короткохвильового (випускання нормальної форми зонду [223]) смуг флуоресценції для кожного з використаних зондів практично не змінювалося в порівнянні з відповідним значенням для контрольної групи щурів.

Для зонду 010, співвідношення інтенсивностей флуоресценції I477 / I370 становило 110 і 108, відповідно; для зонду 060, співвідношення інтенсивностей флуоресценції I490 / I386 становило 18 і 17, відповідно, і, для зонду RH7, співвідношення інтенсивностей флуоресценції I490 / I400 становило 25 і 23, відповідно. Таким чином, в результаті впливу ПЕГ-400 не спостерігається змін в області локалізації зондів 010, 060 і RH7, тобто в області гліцеринових залишків фосфоліпідів, в області карбонільних груп фосфоліпідів і в області жирнокислотних ланцюжків фосфоліпідів.

Разом з тим, як видно з Рис. 4.5, у випадку розглядання еритроцитів щурів, токсифікованих ПЕГ-400, спостерігається помітне зниження інтенсивності флуоресценції всіх використаних нами зондів, що свідчить про зменшення кількості молекул кожного з зондів, що зв'язалися з мембранами еритроцитів за одну годину інкубації. Таке зменшення швидкості зв'язування зондів з мембранами може бути пояснено формуванням навколо кожної ліпідної мембрани додаткової захисної оболонки [273], що складається з молекул ПЕГ-400, які адсорбувалися на поверхні мембрани еритроцитів.

Зареєстрована динаміка інтенсивності флуоресценції зондів, а також відсутність змін в області гліцеринових залишків фосфоліпідів, в області карбонільних груп фосфоліпідів і в області жирнокислотних ланцюжків фосфоліпідів еритроцитів дослідної групи тварин, які отримували ПЕГ-400 в дозі 1/10 ДЛ₅₀, є свідченням формування на поверхні мембран еритроцитів *in vivo* крові щурів додаткової оболонки з молекул поліетиленгліколю, яка адсорбується не тільки на поверхні мембрани, але й занурюється у ліпідний бішар. Проте такий характер взаємодії ПЕГ-400 з ліпідним бішаром підтверджується даними

щодо дослідження плинності ліпідного бішару зі зміною фазових переходів.

Висновки до розділу 4

В умовах підгострого токсикологічного експерименту на білих щурах проведено дослідження особливостей біологічного впливу групи блоксополімерів у складі поліетиленгліколю, поліпропіленгліколю, етиленгліколю, Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80 на стан оксидантно-антиоксидантної системи в організмі щурів та стан ліпідного бішару мембран еритроцитів:

1. За результатами досліджень встановлено, що за умов введення щурам протягом 45 діб розчинів блоксополімерів у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ розвиваються структурно-функціональні порушення печінки за умов розвитку оксидативного стресу. Спостерігалось підвищення вмісту продуктів ПОЛ в крові, зокрема 8-ізопростану, ТБК-АП, ДК, що підтверджує активацію вільнорадикального окислення ліпідів. Ступінь активації ПОЛ в організмі щурів була більш значна за умов впливу етиленгліколю та Л-3603-2-12 у дозі 1/10 ДЛ₅₀. Найменше підвищення вмісту продуктів ПОЛ спостерігалось за умов дії блоксополімеру Л-10002-2-80 та поліпропіленгліколю у дозі 1/100 ДЛ₅₀.

2. При введенні блоксополімерів у дозі 1/10 ДЛ₅₀ тваринам протягом 45 діб спостерігається пригнічення антиоксидантної системи. Це проявляється зниженням активності каталази, СОД, глутатіонпероксидази та вмісту церулоплазміну в крові експериментальних тварин. За умов дії усієї досліджуваної групи блоксополімерів у дозі 1/100 ДЛ₅₀ спостерігається підвищення активності СОД, глутатіонпероксидази та вмісту церулоплазміну. Дія блоксополімерів Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80 у дозі 1/100 ДЛ₅₀ спричиняє підвищення активності каталази, а, навпаки, дія ПЕГ-400, ППГ та ЕГ у цій же дозі пригнічує активність каталази, що можливо пов'язане з різним накопиченням перекису водню за умов їх дії, оскільки спорідненість саме каталази до H_2O_2 нижче, ніж у інших ензимів, тому він захищає від окисного стресу, викликаного високим вмістом H_2O_2 .

Найбільше зниження активності СОД виявлено за умов дії поліетиленгліколю в дозі 1/10 ДЛ₅₀, однак за умов 1/100 ДЛ₅₀, найбільше підвищення СОД викликає Л-3603-2-12. Найбільше зниження активності каталази викликає ксенобіотик ЕГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀, а за умов дії 1/100 ДЛ₅₀ - Л-3603-2-12. Найбільше зниження активності глутатіонпероксидази виявлено за умов дії Л-3603-2-12 в дозі 1/10 ДЛ₅₀, за умов 1/100 ДЛ₅₀ найбільше підвищення цього ензиму викликає ПЕГ. Вміст ЦП у сироватці крові максимально знижувався за умов впливу ЕГ в дозі 1/10 ДЛ₅₀ та підвищувався у дозі 1/100 ДЛ₅₀.

3. Доведено, що у підгострому токсикологічному експерименті на щурах поліетиленгліколь-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀ зумовлює зміну плазматичної мембрани еритроцитів. Зареєстрована динаміка інтенсивності флуоресценції зондів, а також відсутність змін в області гліцеринових залишків фосфоліпідів, в області карбонільних груп фосфоліпідів і в області жирнокислотних ланцюжків фосфоліпідів еритроцитів дослідної групи тварин, які отримували ПЕГ-400 в дозі 1/10 ДЛ₅₀, є свідченням формування на поверхні мембран еритроцитів крові щурів додаткової оболонки з молекул поліетиленгліколю, що дозволяє йому не тільки адсорбуватись на поверхні мембрани, але і занурюватися у ліпідний бішар.

Результати досліджень розділу 4 опубліковані в наступних роботах автора [14, 64, 272].

РОЗДІЛ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ КСЕНОБІОТИКІВ

5.1 Біохімічні показники обміну білків в крові експериментальних тварин та їх регуляція

З даних наукової літератури відомо, що білки здійснюють провідні функції забезпечення життєдіяльності організму, що свідчить про важливу роль білкового обміну у можливих механізмах розвитку патологічних станів та захворювань [74]. У сучасній науковій літературі не отримали належного висвітлення питання щодо впливу досліджуваної групи БП на стан білкового обміну у тісному зв'язку з визначенням функціонального стану печінки [27, 71].

З даних наукової літератури відомо, що КБ як ендокринні руйнівники можуть виступати як системні нейроендокринні та імунні «забруднювачі», істотно порушувати протікання регуляторних процесів в організмі тварин і людини [121].

З попередніх досліджень відомо, що КБ викликають в організмі щурів значні структурно-метаболічні порушення в печінці (описано у розділ 3.1). У зв'язку з тим, що печінка бере участь в синтезі основних білків крові та метаболізмі ряду гормонів, які регулюють білковий обмін, то її дисфункція за умов впливу КБ може супроводжуватися порушеннями цих процесів. Зокрема, естрадіол, який впливає на біосинтез білків, в печінці перетворюється в естріол і естрон, після чого кон'югує з глюкуроновою кислотою і сульфатами [25, 113]. З тестостерону, який також має вплив на матричний синтез білків у печінці утворюються 17-кетостероїди, а саме андростерон і етіохоланолон, які кон'югують з сульфатами і виводяться в такому вигляді з сечею [101, 102].

Враховуючи вищезазначене, необхідним було вивчення впливу досліджуваних КБ на моніторингові показники обміну білків. Плазма крові

вміщує складну суміш сотень різних білків, а на долю альбумінів припадає більше половини від загального вмісту білка плазми крові. Альбуміни є важливою транспортною системою багатьох біологічно активних субстратів, зокрема гормонів [101]. Сечовина та креатинін є кінцевими продуктами обміну білків в організмі [74].

За результатами підгострого експерименту встановлено, що під впливом БП Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в організмі щурів визначено гіпопротеїнемію за рахунок гіпоальбумінемії на тлі підвищення вмісту сечовини та креатиніну (Табл. 5.1-5.2).

Таблиця 5.1

Вплив блоксополімеру Л-3603-2-12 на моніторингові показники білкового обміну в крові щурів у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в умовах тривалої субтоксичної дії (M±m, n=30)

Показники	Контроль (n=10)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Загальний білок (г/л)	74,2±3,8	53,9±2,7*	59,2±2,4*
Альбумін (г/л)	43,4±1,7	31,0±1,6*	34,8±2,0*
Сечовина (мм/л)	5,16±0,32	16,41±1,71*	12,92±1,23*
Креатинін (мкМ/л)	69,2±4,2	135,3±13,3*	115,8±4,4*

Примітка: * - різниця вірогідності p<0,05

Встановлено, що блоксополімери Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ суттєво змінюють основні показники білкового обміну та його регуляцію. Введення досліджуваних БП сприяло гіпопротеїнемії за умов зниження вмісту альбумінів.

Так, вміст загального білка за умов дії Л-3603-2-12 знижувався на 27,36 % та 20,22 % за рахунок зниження вмісту альбуміну в крові на 28,57 % та 19,81 % відповідно 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Відомо, що сироватковим альбумінам властива висока гідрофільність та здатність підтримувати онкотичний тиск крові. За умов

зменшення концентрації альбумінів у сироватці крові виникає зниження онкотичного тиску, що супроводжується розвитком набряків [25, 77].

Таблиця 5.2

Вплив блоксополімеру Л-10002-2-80 на моніторингові показники білкового обміну в крові у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в умовах тривалої субтоксичної дії (M±m, n=30)

Показники	Контроль (n=10)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Загальний білок (г/л)	74,2±3,8	59,8±1,9*	65,2±2,1*
Альбумін (г/л)	43,4±1,7	35,3±1,8*	38,1±1,6*
Сечовина (мм/л)	5,16±0,32	14,73±1,36*	10,35±0,84*
Креатинін (мкМ/л)	69,2±4,2	121,2±12,8*	103,6±5,7*

Примітка: * - різниця вірогідності $p < 0,05$

Дія БП Л-10002-2-80 на основні біохімічні показники обміну білку показали аналогічну картину: вміст загального білку знижувався на 19,41 % та 12,13 % за умов гіпоальбумінемії: вміст альбуміну знижувався на 18,66 % та 12,21 % відповідно дії КБ в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

Лапроли Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80 у досліджених дозах викликають уремію та гіперкреатинемію. Так, Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80 за умов дії 1/10 ДЛ₅₀ підвищується в крові вміст сечовини в 3,17 та 2,85 разів, а за умов дії 1/100 ДЛ₅₀ у 2,50 та 2,00 рази відповідно, вміст креатиніну – на 95,52 % і 67,34 % дії доз 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀, Л-10002-2-80 підвищує вміст креатиніну – на 75,14 % і 49,71 % відповідно дози впливу (Табл. 5.1-5.2).

Деякі інші результати визначення отримані за умов субтоксичного впливу на організм щурів ПЕГ-400, ППГ та ЕГ в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. На тлі гіпопротеїнемії (за рахунок альбумінів), визначено тенденцію до зниження вмісту сечовини на тлі підвищення креатиніну (Табл. 5.3-5.5).

ПЕГ-400 знижує вміст загального білку на 29,11 % і 21,29 % за рахунок альбуміну на 31,57 % і 19,12 %, підвищує вміст креатиніну крові на 89,02 % і 69,22 %, а також має тенденцію до недостовірного зниження вмісту сечовини на 25,96 % і 14,72 % відповідно у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ (Табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Вплив поліетиленгліколю на моніторингові показники білкового обміну в крові щурів у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в умовах тривалої субтоксичної дії (M±m, n=30)

Показники	Контроль (n=10)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Загальний білок (г/л)	74,2±3,8	52,6±2,8*	58,4±2,9*
Альбумін (г/л)	43,4±1,7	29,7±1,4*	35,1±2,3*
Сечовина (мМ/л)	5,16±0,32	3,82±0,81	4,40±0,57
Креатинін (мкМ/л)	69,2±4,2	130,8±11,9*	117,1±12,2*

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до контролю

Таблиця 5.4

Вплив поліпропіленгліколю на моніторингові показники білкового обміну в крові щурів у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в умовах тривалої субтоксичної дії (M±m, n=30)

Показники	Контроль (n=10)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Загальний білок (г/л)	74,2±3,8	58,6±1,7*	63,1±2,4*
Альбумін (г/л)	43,4±1,7	33,2±1,4*	37,6±1,5*
Сечовина (мМ/л)	5,16±0,32	4,30±0,36*	4,85±0,24
Креатинін (мкМ/л)	69,2±4,2	127,4±12,2*	113,3±4,5*

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до контролю

При впливі на організм щурів ППГ в крові має місце зниження вмісту загального білку крові - на 21,02 % і 14,96 %; альбуміну крові - на 23,50 % і 13,36 % відповідно доз 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Крім того, визначено, що ППГ викликає підвищення вмісту креатиніну відповідно доз впливу на 84,10 % і 63,73 % (Табл. 5.4).

Слід зазначити, що найбільш суттєві зміни оціночних показників білкового обміну спостерігалися у груп тварин, які піддавалися токсифікації ЕГ у дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ (Табл. 5.5). Встановлено, що ЕГ у цих дозах викликає зниження вмісту в крові наступних показників: загального білку – на 56,06 % і 43,94 %; альбуміну - на 53,23 % і 34,56 %; сечовини - на 44,96 % і 31,98 %, а також збільшення вмісту креатиніну крові на 145,38 % та 98,12 % відповідно доз 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

Таблиця 5.5

Вплив етиленгліколю на моніторингові показники білкового обміну в крові щурів у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в умовах тривалої субтоксичної дії (M±m, n=30)

Показники	Контроль (n=10)	Група спостереження, ДЛ ₅₀	
		1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Загальний білок (г/л)	74,2±3,8	32,6±4,6*	41,6±3,5*
Альбумін (г/л)	43,4±1,7	20,3±3,6*	28,4±3,7*
Сечовина (мм/л)	5,16±0,32	2,84±0,28*	3,51±0,58*
Креатинін (мкМ/л)	69,2±4,2	169,8±5,9*	137,1±6,2*

Примітка: * - $p < 0,05$ по відношенню до контролю

За результатами оцінки моніторних показників білкового обміну в організмі щурів за умов впливу групи БП визначено закономірність щодо вмісту в крові сечовини, а саме: БП з більшою молекулярною масою і розвинутою молекулярною структурою (Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80) викликали уремію - вміст сечовини підвищувався, в середньому в 3,01 рази у порівнянні з

контрольною групою. БП з меншою молекулярною масою і менш розвинутою структурою знижували вміст в крові сечовини, в середньому на 29,20 %, що може бути пояснено активацією, у першому випадку, та пригніченням – у другому, знешкоджуючої функції печінки, зокрема утворення кінцевого продукту знешкодження амоніаку – сечовини за умов впливу різних класів КБ, також уремія може свідчити про порушення функціонального стану нирок, виникнення ниркової недостатності.

У результаті проведених досліджень встановлено, що під впливом досліджених КБ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в організмі щурів визначено зниження вмісту естрадіолу у самиць та тестостерону у самців (Табл. 5.6).

Таблиця 5.6

Вплив ксенобіотиків у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на вміст статевих гормонів в крові в умовах тривалої субтоксичної дії (M±m, n=220)

Ксенобіотик	Естрадіол (мкОд/мл), самки		Тестостерон (мкОд/мл), самці	
	1/10 (n=10)	1/100 (n=10)	1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Л-3603-2-12	3,79±0,46*	4,22±0,35*	0,30±0,06*	0,39±0,05*
Л-10002-2-80	4,15±0,28*	4,65±0,42*	0,37±0,08*	0,46±0,07*
ПЕГ-400	4,45±0,34*	4,89±0,47*	0,42±0,06*	0,51±0,05*
ППГ	5,67±0,41*	6,03±0,37*	0,57±0,04*	0,65±0,07*
ЕГ	3,04±0,46*	3,58±0,54*	0,25±0,07*	0,37±0,06*
Контроль (n=20)	8,43±0,76		0,87±0,06	

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до контролю

За умов впливу Л-3603-2-12 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ вміст тестостерону в крові у самців знижувався на 65,51 % та 55,17 %, а вміст естрадіолу у самиць – на 55,04 % та 49,95 % відповідно. За умов впливу Л-10002-2-80 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ вміст тестостерону крові знижувався відповідно на 57,47 % та 47,13 %, а вміст естрадіолу – на 50,77 % та 44,84 %. Вміст тестостерону крові за умов впливу ПЕГ-400 в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ знижувався на 51,72 % та 41,38 %

відповідно, а вміст естрадіолу крові – на 47,21 % та 41,99 %. Вміст тестостерону за умов впливу ППГ в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ також знижувався на 34,48 % та 25,29 %, а естрадіолу – на 32,74 % та 28,50 % відповідно дозі впливу. Вміст в крові щурів стероїдних гормонів за умов впливу ЕГ в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ також знижувався: так вміст естрадіолу у крові тварин дослідних груп на 63,94 % і 57,53 % відповідно був нижчий порівняно з організмом щурів контрольної групи, а вмісту тестостерону в крові тварин дослідних груп знижувався на 71,27 % та 57,47 %.

За умов дії дослідженої групи КБ протягом 45 діб спостерігається порушення синтезу білків в печінці та клітинах ретикуло-ендотеліальної системи. Виникає віддалений гонадотоксичний ефект, що супроводжується гіпоестрадіолемією та гіпотестостеронемією. Відомо, що андрогени мають виражений анаболічний ефект, стимулюють синтез білка, нуклеїнових кислот, фосфоліпідів мембран [74, 103]. Біотрансформація тестостерону відбувається в печінці з утворенням метаболітів. Андрогени затримують азот, кальцій, фосфор в організмі [25, 101, 102]. З даних наукової літератури відомо, що естрогени утворюються з тестостерону, а за умов впливу БП знижується функціонування яєчників та сім'яників, виникає вторинний гіпогонадизм. Відомо, що естрогени також впливають на синтез білків в печінці, зокрема білків, що приймають участь у транспортуванні гормонів.

Таким чином, зниження вмісту тестостерону в крові може бути пов'язане з токсичною дією досліджуваної групи КБ на інтерстиціальні клітини сім'яників – клітини Лейдіга, де синтезуються андрогени з порушенням функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної вісі (синтез гонадоліберіну та гонадотропіну), порушення транспортування статевих гормонів специфічними білками, що синтезується в печінці.

Гіпоестрадіолемія може бути викликана зниженням тестостерону крові, порушенням синтезу лютеїнізуючого гормону, фолікулстимулюючого гормону, транспортних білків.

Гіпогонадізм призведе до зниження анаболічної дії статевих гормонів, порушення синтезу фосфоліпідів мембран та вторинного порушення структурно-функціонального стану печінки [25].

5.2 Моніторингові показники обміну вуглеводів та ліпідів в крові щурів та їх регуляція

У проблемі дослідження впливу БП на основі оксипропілену та етилену на показники функціонального стану печінки щурів заслуговує особливої уваги моніторинг показників вуглеводного обміну та його регуляції. Оскільки доля участі вуглеводів у загальному енергетичному балансі (глікоген, глюкоза) перевищує майже у півтора рази долю білків, тому саме вони відіграють в організмі дуже важливу роль у забезпеченні життєдіяльності [25, 29].

У печінці постійно синтезується і розщеплюється глікоген, який є джерелом глюкози в крові, відбувається глюконеогенез та пентозо-фосфатний шлях окислення глюкози. Таким чином, вільна глюкоза надходить у кров і використовується в інших органах і тканинах, а гормони підшлункової та щитоподібної залози – це основні регулятори вуглеводного та енергетичного обмінів [25, 101, 102]. Головний гормон регуляції вмісту глюкози в крові є інсулін, який також руйнується в печінці шляхом протеолізу за умов дії інсулінази [89].

Основними моніторинговими показниками обміну вуглеводів є глюкоза та її метаболіти пірвіноградна кислота (піруват), молочна кислота (лактат). Піруват є одним з центральних метаболітів вуглеводного обміну та основних субстратів глюконеогенезу. У разі розщеплення вуглеводів піруват може перетворюватися за різними шляхами. За дії піруватдегідрогенази (аеробні умови) піруват декарбоксилюється з утворенням ацетил-КоА, який далі метаболізується у циклі Кребса. При анаеробних умовах піруват за дії лактатдегідрогенази та НАДН (H^+) може перетворюватись в лактат. Утилізація пірувату залежить від ступеню оксигенації тканин й, відповідно, за гіпоксії

відбувається підвищення продукції лактату. Лактат, будучи частиною адаптивної реакції, може бути використаний для оцінки тяжкості гіпоксичного стану організму. Ресинтез глюкози з лактату є важливим механізмом видалення цього інтермедіату з кровотоку після тривалої гіпоксії [156].

Вміст лактату не збільшується, поки швидкість виробництва лактату не перевищує швидкість видалення лактату. Це регулюється рядом факторів, включаючи монокарбоксилатні транспортери мембран, вміст лактату, ізоформи ЛДГ і окислювальну здатність тканин [159].

З даних літератури відомо, що лактат, а не глюкоза, переважно метаболізується нейронами головного мозку декількох видів ссавців, включаючи мишей, щурів і людей. Гліальні клітини, використовуючи лактатний шунт, відповідають за перетворення глюкози в лактат і за забезпечення лактатом нейрони. Проте вміст лактату в плазмі є результатом тонко налаштованої взаємодії факторів, що впливають на баланс між його виробництвом і його видаленням [58, 156, 159].

Чинники, що викликають підвищення вмісту лактату в крові, як правило, призводять й до збільшення концентрації пірувату, тому вказані показники доцільно було визначати одночасно. Вважається, що співвідношення лактат / піруват досить чутливо відображає баланс анаеробних та аеробних процесів в організмі [89].

Деякі автори визначають активність ЛДГ в крові та тканинах. Цей ензим приймає участь в анаеробному гліколізі, є активним в мітохондріях та ендоплазматичному ретикулумі. Особливо цей фермент визначають при порушенні обмінних процесів і пошкодженні цілісності органів та тканин, зокрема печінки, особливо його ізоферменти ЛДГ_{4,5} [25, 29].

Оцінка моніторингових показників вуглеводного обміну та його регуляції під впливом досліджуваних БП Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80 в дозах 1/10 і 1/100 ДЛ₅₀ виявила односпрямовану дію, а саме гіпоглікемію, гіполактатемію, гіпопіруватемію, тенденцію до зниження співвідношення лактату до пірувату на фоні підвищення активності ЛДГ (Табл. 5.7-5.8).

Зокрема, за умов впливу Л-3603-2-12 на організм щурів дослідних груп у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ спостерігається зниження в крові вмісту наступних показників вуглеводного обміну порівняно з показниками в крові щурів контрольної групи, а саме: вмісту глюкози - на 57,63 % і 49,89 %; лактату – на 58,13 % і 50,21 %; пірувату – на 37,83 % і 29,73 % відповідно на фоні підвищення загальної активності ЛДГ в 4,24 і 3,95 рази відповідно.

Таблиця 5.7

Вплив блоксополімеру Л-3603-2-12 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на моніторингові показники вуглеводного обміну в крові щурів (M±m, n=30)

Показники	Група спостереження, ДЛ ₅₀		
	Контроль (n=10)	1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Глюкоза (мМ/л)	4,65±0,37	1,97±0,18*	2,33±0,24*
Лактат (мМ/л)	4,80±1,30	2,01±0,28*	2,39±0,16*
Піруват (мМ/л)	0,37±0,04	0,23±0,05*	0,26±0,08
Лактат/ Піруват	12,97±1,98	8,74±1,84	9,19±1,25
ЛДГ (U/L)	138,4±7,5	587,3±16,3*	546,7±20,4*

Примітка: * - $p < 0,05$ по відношенню до контролю

Таблиця 5.8

Вплив блоксополімеру Л-10002-2-80 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на моніторингові показники вуглеводного обміну в крові щурів (M±m, n=30)

Показники	Група спостереження, ДЛ ₅₀		
	Контроль (n=10)	1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Глюкоза (мМ/л)	4,65±0,37	2,11±0,14*	2,56±0,32*
Лактат (мМ/л)	4,80±1,30	2,94±0,21	3,45±0,17
Піруват (мМ/л)	0,37±0,04	0,29±0,08	0,32±0,06
Лактат/ Піруват	12,97±1,98	10,13±1,30	10,78±1,41
ЛДГ (U/L)	138,4±7,5	514,9±14,8*	483,6±17,5*

Примітка: * - $p < 0,05$ по відношенню до контролю

Встановлено, що за умов впливу на організм щурів БП Л-10002-2-80 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ знижується в крові щурів вміст глюкози відповідно на 54,62 % і 44,95 %, має тенденцію до зниження лактат – на 38,75 % і 28,13 %, піруват – на 21,62 % і 13,51 % відповідно та співвідношення лактату до пірувату вірогідно не змінювалось на фоні підвищення активності ЛДГ в 3,72 і 3,49 рази (Табл. 5.8).

Встановлено, що ПЕГ-400, ППГ та ЕГ у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ₅₀ також викликають зниження в крові організму дослідних груп щурів вмісту глюкози, лактату, пірувату та співвідношення лактату до пірувату на фоні підвищення ЛДГ у порівнянні з організмом щурів контрольної групи (Табл. 5.9 -5.11).

Зокрема, встановлено, що за умов впливу ПЕГ-400 в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на закінчення підгострого експерименту в крові щурів дослідних груп визначено зниження в крові вмісту глюкози на 58,49 % і 50,75 %; лактату - на 55,21 % і 49,58 %, пірувату – на 40,54 % і 32,43 % на фоні підвищення активності ЛДГ в 4,14 і 3,90 рази (Табл. 5.9).

Таблиця 5.9

Вплив поліетиленгліколю в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на моніторингові показники вуглеводного обміну в крові щурів (M±m, n=30)

Показники	Група спостереження, ДЛ ₅₀		
	Контроль (n=10)	1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Глюкоза (мМ/л)	4,65±0,37	1,93±0,14*	2,29±0,16*
Лактат (мМ/л)	4,80±1,30	2,15±0,25*	2,42±0,16*
Піруват (мМ/л)	0,37±0,04	0,22±0,04*	0,25±0,05*
Лактат/ Піруват	12,97±1,98	9,77±1,34	9,68±1,75
ЛДГ (U/L)	138,4±7,5	573,5±17,6*	539,1±17,7*

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до контролю

Дослідженням впливу на основні показники вуглеводного обміну в організмі щурів ППГ встановлено, що цей БП в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ призводить до зниження в крові вмісту глюкози на 52,04 % і 40,22 %; лактату - на 51,0 % і 45,0 %, пірувату – на 27,03 % і 16,22 % та співвідношення лактату до

пірувату - на 32,61 % та 34,62 % на тлі підвищення активності ЛДГ в 3,77 і 3,44 рази відповідно (Табл. 5.10).

Таблиця 5.10

Вплив поліпропіленгліколю в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на моніторингові показники вуглеводного обміну в крові щурів (M±m, n=30)

Показники	Група спостереження, ДЛ ₅₀		
	Контроль (n=10)	1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Глюкоза (мМ/л)	4,65±0,37	2,23±0,21*	2,78±0,25*
Лактат (мМ/л)	4,80±1,30	2,36±0,31*	2,63±0,24*
Піруват (мМ/л)	0,37±0,04	0,27±0,04*	0,31±0,05
Лактат/ Піруват	12,97±1,98	8,74±1,47	8,48±1,56
ЛДГ (U/L)	138,4±7,5	521,4±14,9*	475,9±19,3*

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до контролю

Доведено, що найбільш суттєві зміни оціночних показників вуглеводного обміну спостерігалися у тварин дослідних груп, які піддавалися токсифікації ЕГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀ (Табл. 5.11).

Таблиця 5.11

Вплив етиленгліколю в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на моніторингові показники вуглеводного обміну в крові щурів (M±m, n=30)

Показники	Група спостереження, ДЛ ₅₀		
	Контроль (n=10)	1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Глюкоза (мМ/л)	4,65±0,37	1,56±0,10*	1,97±0,15*
Лактат (мМ/л)	4,80±1,30	2,03±0,21*	2,27±0,25*
Піруват (мМ/л)	0,37±0,04	0,18±0,06*	0,23±0,05*
Лактат/ Піруват	12,97±1,98	11,27±2,04	9,87±2,11
ЛДГ (U/L)	138,4±7,5	598,9±15,4*	567,7±16,3*

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до контролю

Зокрема, визначено, що ЕГ за умов впливу в дозі 1/10 ДЛ₅₀ знижує в крові щурів вміст глюкози на 66,45 % і 57,63 %; лактату - на 57,71 % та 52,71 %,

пірувату – на 51,35 % і 37,84 % та достовірно не змінює співвідношення лактату до пірувату на фоні підвищення активності ЛДГ в 4,33 та 4,10 рази відповідно доз впливу - 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

Таким чином, пригнічення процесів гліколізу за умов впливу досліджуваної групи КБ є значною та дозозалежною. Вміст основних метаболітів вуглеводного обміну – глюкози, лактату та пірувату суттєво знижувався, що вказує на зниження обмінних процесів та проявом патологічних змін структурно-функціонального стану печінки, оскільки гіпоглікемія та порушення інших ланок обміну речовин нерозривно пов'язані з гепатопатологією [181]. Визначена гіпоглікемія може свідчити про швидке використання глюкози в енергетичному обміні та сповільнення процесів глюконеогенезу [183]. Вплив даної групи КБ призводить до виснаження енергетичних запасів організму, що також переконливо підтверджується зниженням вмісту кінцевих метаболітів гліколізу - лактату та пірувату. Оскільки зниження лактату вказує на зменшення його утворення, і як наслідок, спостерігається порушення утворення глікогену у печінці. Зниження вмісту пірувату в крові вказує на суттєву його утилізацію через ацетил-КоА у циклі Кребса для подальшого синтезу АТФ, необхідної для енергетичних потреб організму.

Збільшення активності ЛДГ в крові свідчить про деструкцію клітин, зокрема гепатоцитів та виходу ензиму з пошкоджених органів та тканин. Також зміна активності ЛДГ крові є проявом розвитку неспецифічного токсичного синдрому при дії на організм КБ. Є дані наукової літератури щодо факторів, які визначають швидкість вивільнення ферментів з пошкоджених органів. Так, вміст ЛДГ в гепатоцитах практично в 3000 разів вище, ніж поза клітинами. Таким чином працює концентраційний градієнт. Швидкість виходу ЛДГ з пошкоджених клітин також визначає розмір білка, молекулярна маса та внутрішньоклітинна локалізація [25].

Відомо, що інсулін активує ферменти анаболізму: синтезу глікогену, триацилгліцеролів, білків та гальмує ферменти катаболізму білків, ліпідів та ферменти глюконеогенезу [101, 102]. Оцінка показників регуляції вуглеводного

обміну під впливом досліджуваних БП у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ₅₀ виявила зміни в крові інсуліну, трийодтироніну та тироксину (Табл. 5.12).

Таблиця 5.12

Вплив ксенобіотиків у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на вміст інсуліну та тиреоїдних гормонів у крові щурів в умовах тривалої субтоксичної дії (M±m, n=30)

Ксенобіотик	Інсулін (мкОд/мл)			
	1/10 (n=10)	1/100 (n=10)		
Л-3603-2-12	16,37±1,58*	21,42±1,86*		
Л-10002-2-80	18,94±1,49*	23,57±1,43*		
ПЕГ-400	17,17±1,69*	23,12±1,43*		
ППГ	18,24±1,93*	26,45±2,34*		
ЕГ	15,24±1,82*	20,86±1,86*		
Контроль (n=10)	37,5±3,66			
Ксенобіотик	Т ₃ (мкОд/мл)		Т ₄ (мкОд/мл)	
	1/10 (n=10)	1/100 (n=10)	1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Л-3603-2-12	2,21±0,26*	1,98±0,17*	85,20±3,97*	77,35±4,18*
Л-10002-2-80	2,07±0,23*	1,85±0,20*	80,04±3,47*	72,46±5,10*
ПЕГ-400	2,18±0,21*	1,84±0,15*	83,41±3,80*	75,37±3,98*
ППГ	1,96±0,17*	1,70±0,14*	76,16±4,35*	68,21±3,21*
ЕГ	2,46±0,19*	2,06±0,19*	90,04±3,72*	81,77±3,54*
Контроль (n=20)	1,40±0,10		48,60±3,50	

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до контролю

Зокрема, за умов впливу Л-3603-2-12 в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на закінчення підгострого експерименту в організмі щурів дослідних груп визначено зниження в крові вмісту інсуліну – на 56,34 % і 42,88 %; за умов впливу Л-10002-2-80 – на 49,49 % і 37,15 %; ПЕГ-400 – на 54,21 % і 38,35 %; ППГ – на 51,36 % і 29,47 %; ЕГ – на 59,36 % і 44,37 %.

Як представлено в Табл. 5.12, вміст гормонів щитоподібної залози зазнавав збільшення за умов дії досліджуваної групи КБ. Зокрема вміст Т₃ збільшувався за умов впливу Л-3603-2-12 в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на 57,85 % і 41,43 %, Л-

10002-2-80 – на 47,85 % і 32,14 %; ПЕГ-400 – на 55,71 % і 31,43 %; ППГ – на 40,00 % і 21,43 %; ЕГ – на 75,71 % і 47,14%.

Вміст T_4 збільшувався за умов впливу Л-3603-2-12 в дозах 1/10 та 1/100 DL_{50} на 75,30 % і 59,17 %, Л-10002-2-80 – на 64,69 % і 49,09 %; ПЕГ-400 – на 71,63 % і 55,08 %; ППГ – на 56,70 % і 40,35 %; ЕГ – на 85,26 % і 68,25 % відповідно у порівнянні з контрольною групою (Табл. 5.12).

Гіпоінсулінемія обумовлена багатоетапним пошкоджуючим впливом КБ на підшлункову залозу, що призводить до зниження синтезу інсуліну. Науковцями доведено, що у щурів з хронічною патологією печінки токсичного генезу розвивається дисфункція ендокринного апарату підшлункової залози, що морфологічно характеризується зменшенням відносної об'ємної щільності ендокринної частини, розмірів та щільності розміщення островків Лангерганса, діаметром ендокриноцитів і числа органоїдів секреції, а також зниженням вмісту інсуліну в крові [72].

За умов пошкоджуючого впливу КБ на ентероцити порушується процес всмоктування глюкози у тонкому кишківнику, тобто глюкоза майже не потрапляє в клітини та не є субстратом для окислення в процесах гліколізу, тому і немає продукту подальшого окислення – пірувату [181, 183].

На тлі даних патологічних змін за умов впливу КБ щитоподібна залоза, гормони якої мають функцію активаторів процесів метаболізму шляхом стимуляції синтезу РНК і відповідних білків, реагує підвищенням вмісту гормонів T_3 та T_4 , що вказує на компенсаторні реакції організму експериментальної групи щурів [25, 75].

Обмін вуглеводів тісно пов'язаний з обміном ліпідів, який відіграє важливу роль у клітинному метаболізмі та регуляції фізіологічних функцій. Так, жирні кислоти є джерелом енергії для метаболічних процесів, а холестерин, тригліцериди та фосфоліпіди – важливими компонентами клітинних мембран. Холестерин, крім того, є попередником в синтезі вітаміну D, стероїдних гормонів, жовчних кислот [77].

Оцінка моніторингових показників ліпідного обміну під впливом

досліджуваної групи КБ у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ₅₀ виявила суттєве зростання основних показників обміну ліпідів, зокрема виявлена гіперхолестеринемія та гіпертригліцеролемія (Табл. 5.13). Вміст холестеролу в сироватці крові підвищувався за умов впливу Л-3603-2-12 в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на закінчення експерименту в 2,14 і 1,98 рази; за умов впливу Л-10002-2-80 – в 1,91 і 1,85 рази; ПЕГ-400 – в 1,62 і 1,50 рази; ППГ – в 1,76 і 1,50 рази; ЕГ – в 2,17 і 2,06 рази відповідно доз впливу у порівнянні з контрольною групою.

Зокрема, за умов впливу Л-3603-2-12 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на закінчення підгострого експерименту в організмі щурів дослідних груп визначено підвищення в крові вмісту тригліцеридів – в 4,48 і 3,0 рази; за умов впливу Л-10002-2-80 – в 4,09 і 2,77 рази; ПЕГ-400 – в 5,74 і 4,54 рази; ППГ – в 5,39 і 4,03 рази; ЕГ – в 5,90 і 4,42 рази.

Таблиця 5.13

Вплив ксенобіотиків у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на вміст холестеролу та тригліцеридів в крові щурів в умовах тривалої субтоксичної дії (M±m, n=50)

Ксенобіотик	Холестерол (мМ/л)		Тригліцериди (мМ/л)	
	1/10 (n=10)	1/100 (n=10)	1/10 (n=10)	1/100 (n=10)
Л-3603-2-12	3,19±0,36*	2,96±0,32*	1,39±0,36*	0,93±0,25*
Л-10002-2-80	2,85 ±0,24*	2,76±0,25*	1,27±0,28*	0,86±0,07*
ПЕГ-400	2,42± 0,61*	2,19±0,27*	1,78 ±0,38*	1,41±0,45*
ППГ	2,63±0,28*	2,24±0,31*	1,67 ± 0,43*	1,25±0,37*
ЕГ	3,24±0,41*	3,08±0,46*	1,83±0,37*	1,37±0,36*
Контроль (n=10)	1,49±0,28		0,31 ± 0,14	

Примітка: * - p<0,05 по відношенню до контролю

Висновки до розділу 5

1. Встановлено, що блоксополімери у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ суттєво змінюють основні показники білкового обміну, викликаючи гіпопротеїнемію за

рахунок гіпоальбумінемії, що свідчить про порушення білоксинтезуючої функції печінки. Найбільш гіпопротеїнемічну дію здійснював етиленгліколь, викликаючи зниження вмісту в крові загального білку в середньому на 50 %.

2. За умов впливу блоксополімерів Л-3603-2-12 та Л-10002-2-80 спостерігається уремія та гіперкреатинемія, що може свідчити про збільшення утворення кінцевого продукту знешкодження амоніаку в печінці та порушення функціонального стану нирок, зокрема сечовина збільшується в середньому в 2,63 рази, креатинін – на 91,59 %. За умов дії ПЕГ, ППГ та ЕГ спостерігається гіперкреатинемія на тлі зниженого вмісту сечовини в крові.

3. Встановлено, що під впливом усіх ксенобіотиків у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в організмі щурів вміст естрадіолу у самиць в середньому знижується на 48,4 %, а тестостерону у самців – на 43,0 %, що свідчить про токсичну дію на репродуктивну функцію експериментальних тварин та зниження анаболічної дії гормонів стероїдної природи.

4. Встановлено, що досліджувані ксенобіотики в процесі підгострого експерименту в дозах 1/10 і 1/100 ДЛ₅₀ викликають зниження в крові організму дослідних груп щурів вмісту глюкози, лактату, пірувату на фоні підвищення активності ЛДГ у порівнянні з досліджуваними показниками у щурів контрольної групи, що вказує на зниження обмінних процесів та проявом патологічних змін структурно-функціонального стану печінки, оскільки гіпоглікемія та порушення інших ланок обміну речовин нерозривно пов'язані з гепатопатологією. Найбільш суттєві зміни оціночних показників вуглеводного обміну спостерігалися у тварин дослідних груп, які піддавалися токсифікації етиленгліколем у дозі 1/10 ДЛ₅₀.

5. Доведено, що за умов впливу досліджуваних ксенобіотиків в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в організмі щурів відмічено гіпоінсулінемію, що підтверджує пошкодження підшлункової залози, а також збільшення вмісту гормонів щитоподібної залози вказує на компенсаторні реакції стимуляції вуглеводного обміну.

6. Оцінка моніторингових показників ліпідного обміну під впливом досліджуваної групи ксенобіотиків у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ₅₀ виявила суттєве зростання вмісту холестеролу та тригліцеридів.

7. Отримані результати можуть переконливо свідчити про активацію катаболічних процесів і пригнічення відновлювальних синтезів під впливом досліджуваних ксенобіотиків.

Результати досліджень розділу 5 опубліковані в наступних роботах автора [14, 16, 113, 166].

РОЗДІЛ 6

ЕФЕКТИВНІСТЬ КОРЕКЦІЇ БІОФЛАВОНОЇДОМ (ПРЕПАРАТОМ «КВЕРТИН») СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОРУШЕНЬ В ОРГАНІЗМІ ТЕПЛОКРОВНИХ ЗА УМОВ ВПЛИВУ БЛОКСОПОЛІМЕРІВ

6.1 Дослідження функціонального стану печінки за умов проведеної корекції в організмі щурів

За результатами проведеного літературного пошуку встановлено, що препарат «Квертин» в найбільшій мірі відповідає поставленій задачі оскільки діючою речовиною є кверцетин або 3,3',4,5,6-пентагідроксифлавоон згідно класифікації Міжнародного союзу теоретичної та прикладної хімії (IUPAC) [281], який є важливим флавонолом (Рис. 6.1). Кверцетин отримують з рослин шляхом екстракції глікозидів кверцетину, а назва кверцетину походить від *quercetum* (від лат. *Quercus* - дуб) і використовується з 1857 р. [173].

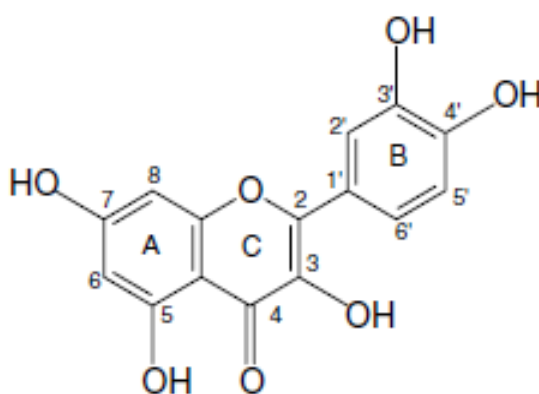


Рис. 6.1 Хімічна структура кверцетину [173]

З даних літератури відомо, що саме невеликі дози кверцетину мають антиоксидантні властивості, а великі – прооксидантні [65, 188, 195, 262, 288].

Спосіб корекції порушень основних метаболічних процесів кверцетином здійснювався водним розчином препарату «Квертин» (Борщагівський ХФЗ, Україна) протягом 2-х тижнів, починаючи з 31 до 45 доби експерименту. Дозу препарату «Квертин» розраховували по Ю. Р. Риболовлеву, Р. С. Риболовлеву згідно констант біологічної активності для савців [135] з розрахунку 25 мг кверцетину на 1 кг маси тіла тварини внутрішньошлунково на 1 % розчині крохмалю 1 раз на добу. Доза, шляхи введення, тривалість введення біофлавоноїда запозичена з даних наукової літератури при проведенні експериментальних досліджень на тваринах та не викликала загибелі щурів [100].

Експеримент проводився в два етапи: на першому визначалась ефективність корекції кверцетином порушень функціонального стану печінки та білкового, вуглеводного і ліпідного обмінів, а на другому – ефективність корекції порушень про- та антиоксидантної системи організму щурів.

Для проведення обох етапів схема підгострого експерименту включала використання 130 білих щурів, які були розділені на 13 груп: «Контроль»; «ПЕГ-400, 1/10 ДЛ₅₀, до корекції»; «ПЕГ-400, 1/100 ДЛ₅₀, до корекції»; «ПЕГ-400, 1/10 ДЛ₅₀, після корекції»; «ПЕГ-400, 1/100 ДЛ₅₀, після корекції»; «ППГ, 1/10 ДЛ₅₀, до корекції»; «ППГ, 1/100 ДЛ₅₀, до корекції»; «ППГ, 1/10 ДЛ₅₀, після корекції»; «ППГ, 1/100 ДЛ₅₀, після корекції»; «ЕГ, 1/10 ДЛ₅₀, до корекції»; «ЕГ, 1/100 ДЛ₅₀, до корекції»; «ЕГ, 1/10 ДЛ₅₀, після корекції»; «ЕГ, 1/100 ДЛ₅₀, після корекції».

З метою встановлення можливості та ефективності корекції «Квертином» функціонального стану печінки були проаналізовані всі показники, які описані у розділі 3.

У даному випадку результат впливу ПЕГ-400 в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ на функціональний стан печінки був наступний: спостерігалось збільшення активності органоспецифічних ферментів АЛАТ і АсАТ у прямій залежності від дози впливу (Рис. 6.2), а саме зростання активності АЛАТ в 4,84 та 3,24 рази, АсАТ – в 4,82 та 4,12 рази відповідно доз 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Після корекції

«Квертином» визначено зниження активності досліджуваних трансаміназ. Зокрема активність АсАТ знижувалась на 14,42 % та 28,20 % після корекції у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀, проте залишалась підвищеною відносно контролю в 4,12 та 2,96 рази відповідно. Активність АлАТ після корекції зменшувалась на 8,26 % та 32,10 % відносно дослідних груп, проте залишалась підвищеною в порівнянні з контролем у 4,43 та 2,19 рази відповідно доз 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

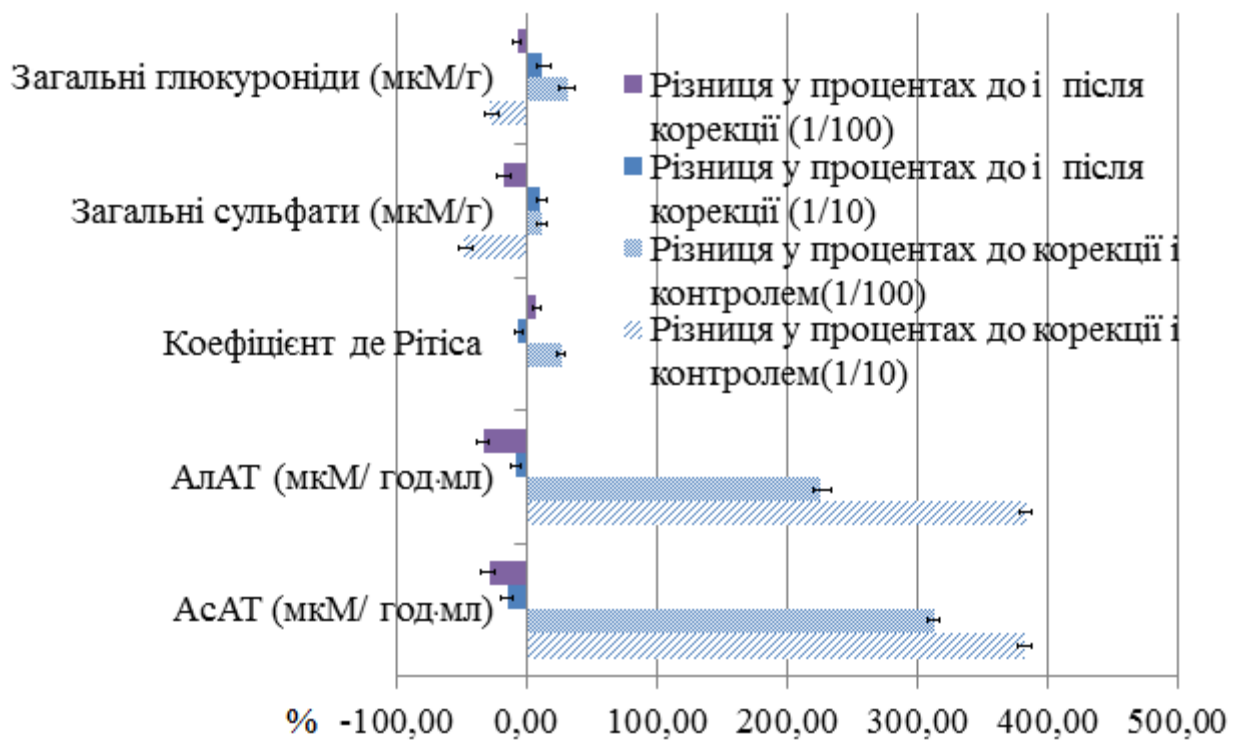


Рис. 6.2 Корекція препаратом «Квертин» структурно-функціональних порушень печінки щурів за умов впливу поліетиленгліколю в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ у підгострому експерименті ($M \pm m$, $n=50$)

Коефіцієнт де Рітса зростав за умов впливу ПЕГ-400 у дозі 1/100 ДЛ₅₀ на 26,98 % та суттєво не відрізнявся від контролю за умов дії 1/10 ДЛ₅₀. Після корекції «Квертином» коефіцієнт де Рітса мав тенденцію до зниження за умов впливу 1/10 ДЛ₅₀ ПЕГ-400 та суттєво не відрізнявся від цього показника у контролі. Проте коефіцієнт де Рітса зростав після корекції «Квертином» на 34,92 % відносно контролю та на 7,93 % відносно дослідної групи за умов впливу 1/100 ДЛ₅₀.

Виявлено зниження у постмітохондріальній фракції печінки щурів вмісту загальних сульфатів за умов впливу ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀ на 49,32 % за рахунок зв'язаних сульфатів (на 67,50 %) на тлі незмінного вмісту вільних сульфатів, у дозі 1/100 ДЛ₅₀ - виявлено незначне підвищення вмісту у печінці загальних та зв'язаних сульфатів на 11,48 % та 9,2 % відповідно. Корекція «Квертином» позитивно впливає на сульфатну кон'югацію у печінці, зокрема на показник загальних сульфатів. Показники зв'язаних та вільних сульфатів мали тенденцію до покращення, проте вірогідної різниці не виявлено. Таким чином, вміст загальних сульфатів зростав після проведеної корекції за умов впливу ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀ на 5,41 % відносно дослідної групи, проте залишався зниженим відносно контролю на 43,91 %. Вміст загальних сульфатів знижувався на 6,09 % після проведеної корекції «Квертином» у дослідній групі, яка отримувала 1/100 ДЛ₅₀ ПЕГ-400, однак залишався підвищеним відносно контролю на 5,04 %.

Вміст загальних глюкуронідів зростав після корекції «Квертином» на 8,25 % за умов впливу ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀, проте залишався зниженим відносно контролю на 21,57 %. А вміст загальних глюкуронідів в дослідній групі, яка отримувала ПЕГ-400 у дозі 1/100 ДЛ₅₀ після корекції знижувався на 9,06 %, залишаючись підвищеним на 21,28 % відносно контролю.

Таким чином, за вищенаведеними на Рис. 6.2 результатами досліджень можна зробити висновок, що за умов впливу ПЕГ-400 ступінь ефективності корекції «Квертином» структурно-функціональних порушень печінки щурів висока, оскільки чотири показники, а саме активність ферментів АЛАТ і АсАТ, показники детоксикаційної функції печінки – загальні сульфати та загальні глюкуроніди зазнавали покращення, особливо після впливу напівдіючої дози ПЕГ-400 1/100 ДЛ₅₀.

На Рисунку 6.3 представлено результати оцінки ефективності корекції «Квертином» порушень детоксикаційної функції печінки щурів за умов впливу ППГ в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

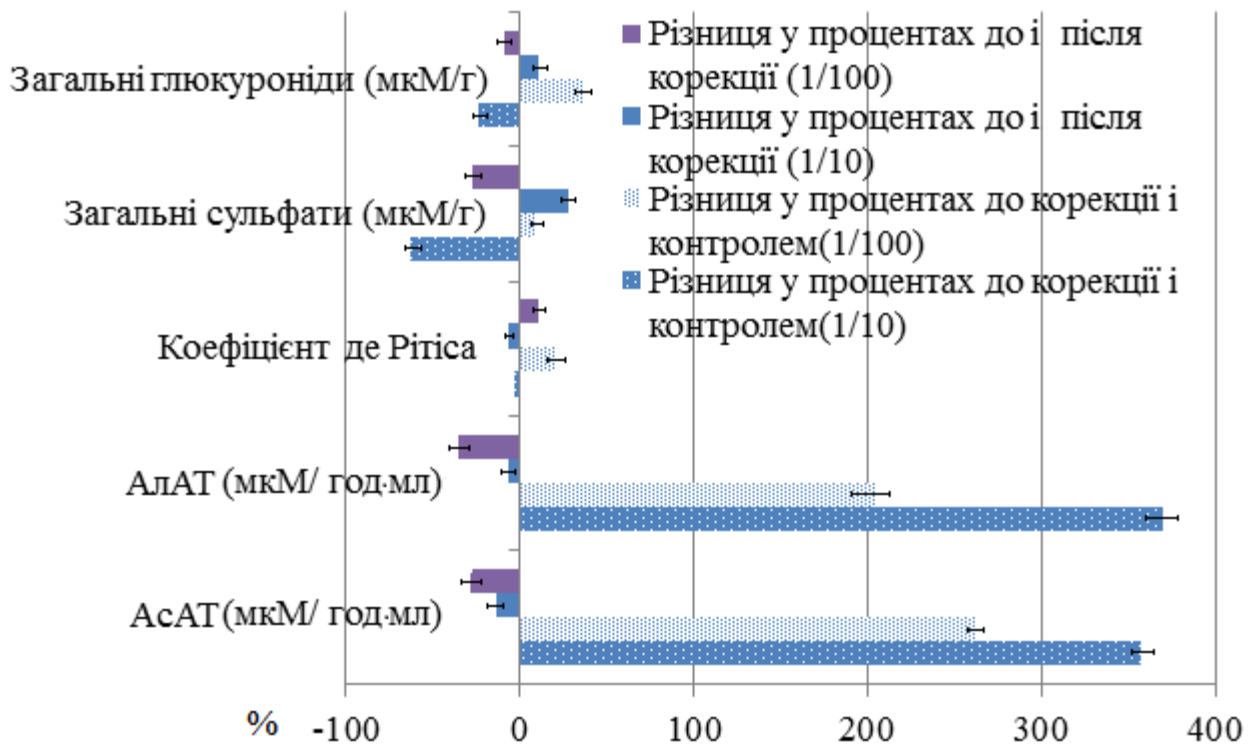


Рис. 6.3 Корекція препаратом «Квертин» структурно-функціональних порушень печінки щурів за умов впливу поліпропіленгліколю в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ у підгострому експерименті (M±m, n=50)

Вивчення впливу ППГ на активність органоспецифічних ферментів АЛАТ і АсАТ у сироватці крові та вміст сульфатів та глюкуронідів в печінці показало, що досліджений КБ також має дозову залежність і як наслідок проведена корекція також має свій ступінь ефективності в залежності від цього. Так, ППГ викликає зростання активності трансаміназ, як в дозі 1/10 ДЛ₅₀, так і в 1/100 ДЛ₅₀ на тлі зниження вмісту загальних та зв'язаних сульфатів у дозі 1/10 ДЛ₅₀ та зростання вмісту сульфатів в дозі 1/100 ДЛ₅₀ (Рис. 6.3). Після проведеної корекції препаратом «Квертин» виявлено, що активність трансаміназ знижується на тлі активації детоксикаційної функції печінки, про що свідчить зростання загальних сульфатів та загальних глюкуронідів за умов впливу ППГ в дозі 1/10 ДЛ₅₀ та зниження вмісту цих показників за умов впливу ППГ в дозі 1/100 ДЛ₅₀. Якщо конкретизувати ступінь корекції даного препарату за умов впливу ППГ, то активність АЛАТ у сироватці крові знижувалася на 9,58 % та 34,18 % відповідно доз 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀, АсАТ – знижувалася на 16,18 % та 31,94 % відповідно.

Коефіцієнт де Рітиса після корекції не змінювався за умов дії 1/10 ДЛ₅₀, а за умов дії 1/100 ДЛ₅₀ підвищувався на 21,54 % у порівнянні з контролем, але знаходився в межах референтних значень. «Квертин» викликав зростання загальних сульфатів на 7,18 % та загальних глюкуронідів – на 10,46 % за умов впливу ППГ в дозі 1/10 ДЛ₅₀, а також знижував дані показники на 8,53 % та 12,18 % за умов впливу ППГ в дозі 1/100 ДЛ₅₀. Показники зв'язаних та вільних сульфатів мали тенденцію до покращення, проте вірогідної різниці не виявлено ($p>0,05$).

На Рисунку 6.4 представлено результати оцінки корекції «Квертином» порушень структурно-функціонального стану печінки щурів за умов впливу ЕГ в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

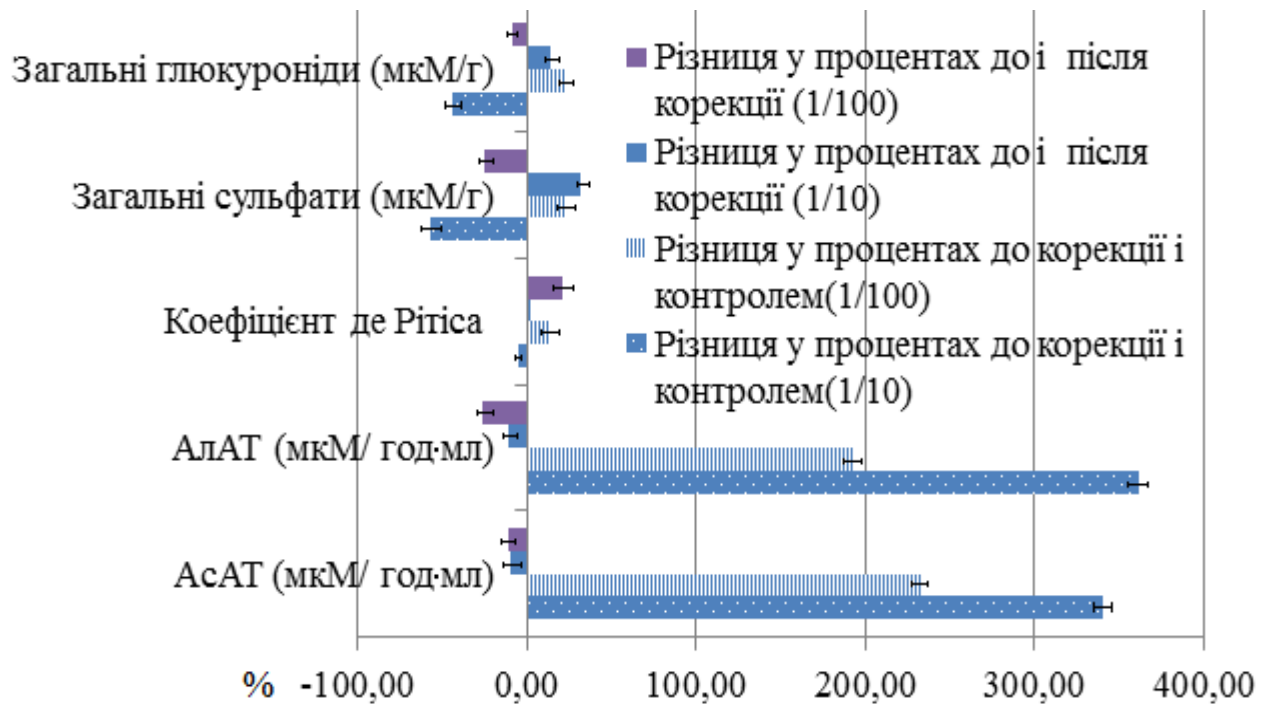


Рис. 6.4 Корекція препаратом «Квертин» структурно-функціональних порушень печінки щурів за умов впливу етиленгліколю в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ у підгострому експерименті ($M \pm m$, $n=50$)

Оскільки, даний КБ має найбільш токсичний вплив, зокрема активність АЛАТ зростала в 4,61 та 2,93 рази, АсАТ – в 4,40 та 3,33 рази за умов впливу ЕГ

у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀, то корекція «Квертином» викликала зниження активності АлАТ на 10,65 % та 26,35 % відповідно доз 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. АсАТ – знижувалася на 9,78 % та 11,67 % відповідно.

Коефіцієнт де Рітіса суттєво не змінювався після корекції за умов впливу 1/10 ДЛ₅₀ ЕГ та збільшувався на 20,28 % у дозі 1/100 ДЛ₅₀.

Показники детоксикаційної функції печінки після корекції «Квертином» покращувались наступним чином. Вміст загальних сульфатів збільшувався на 31,75% у дозі 1/10 ДЛ₅₀, а також знижувався на 24,86 % у дозі 1/100 ДЛ₅₀. Вміст загальних глюкуронідів збільшувався на 14,04 % у дозі 1/10 ДЛ₅₀ та знижувався на 9,29 % у дозі 1/100 ДЛ₅₀ ($p>0,05$).

Таким чином, корекція «Квертином» покращує функціональний стан печінки за умов впливу досліджуваних КБ. Визначене зменшення активності трансаміназ АсАТ у середньому на 12,62 % та 22,77 %, а АлАТ - у середньому на 8,67 % та 31,35 % відповідно доз впливу КБ 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Можна зробити висновок, що «Квертин» відновлює детоксикаційну функцію печінки, про що свідчить підвищення вмісту загальних сульфатів в організмі щурів у групі токсифікованих КБ в середньому на 23,40 % у дозі 1/10 ДЛ₅₀ та зниження вмісту загальних сульфатів в середньому на 23,31 % у дозі 1/100 ДЛ₅₀. Що стосується глюкуронідного шляху кон'югації, то й цей детоксикаційний механізм зазнавав покращення. Зокрема, вміст загальних глюкуронідів підвищувався після корекції в середньому на 12,16 % у дозі впливу КБ 1/10 ДЛ₅₀ та знижувався на 8,44 % - у дозі 1/100 ДЛ₅₀ ($p>0,05$).

Проте слід зазначити, що у всіх випадках дослідження ступеню корекції «Квертином» порушень функціонального стану печінки за умов впливу досліджуваної групи КБ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ не досягали рівнів цих показників у контрольної групи щурів.

6.2 Дослідження білкового, вуглеводного, ліпідного обмінів за умов проведеної корекції в організмі щурів

Дослідження ефективності корекції «Квертином» порушень білкового обміну за умов впливу БП проведено на основі змін показників в організмі щурів загального білку, альбуміну, креатиніну та сечовини сироватки крові.

Встановлено, що «Квертин» за умов впливу ПЕГ-400 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ покращує вміст моніторингових показників білкового обміну в крові щурів. Зокрема відмічена позитивна динаміка досліджуваних параметрів (Рис. 6.5).

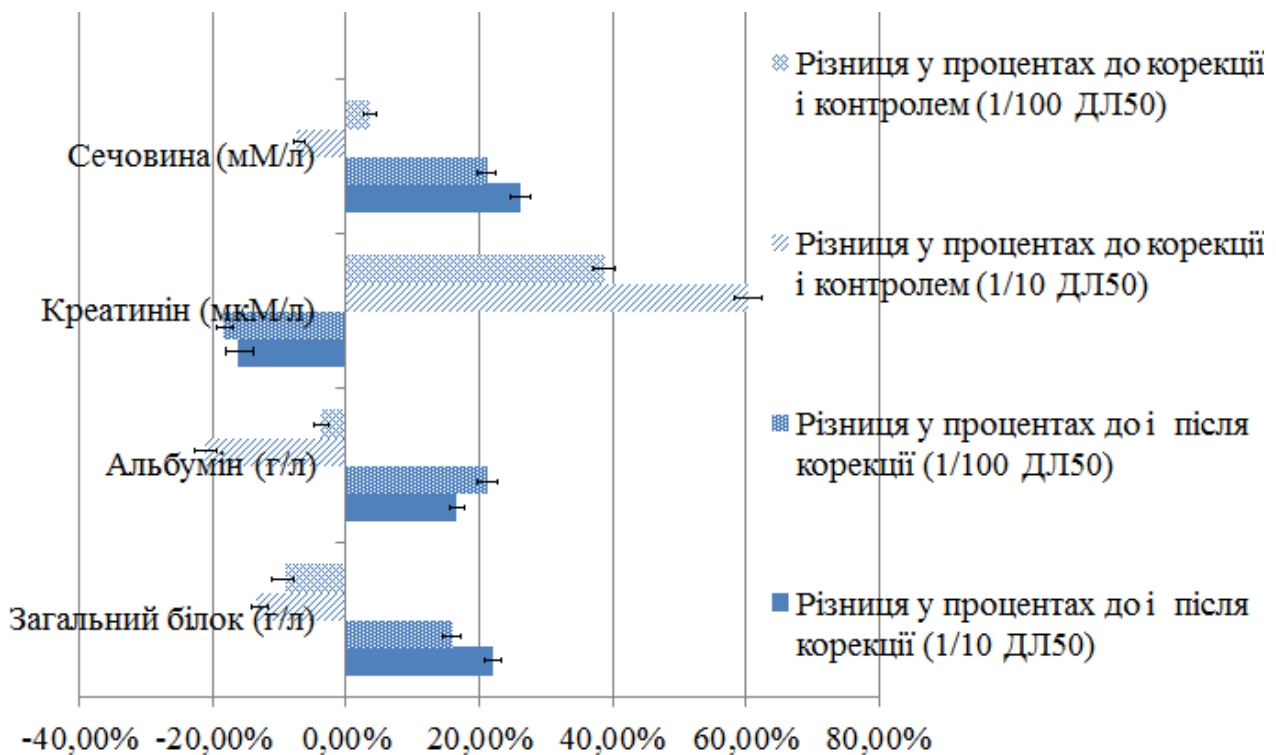


Рис. 6.5 Корекція препаратом «Квертин» моніторингових показників білкового обміну в крові щурів за умов впливу поліетиленгліколю у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в умовах тривалої субтоксичної дії ($M \pm m$, $n=50$)

Вміст загального білку після корекції «Квертином» підвищувався на 22,05 % і 15,87 % відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 13,45 % і 9,07 % ($p > 0,05$) відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Вміст альбуміну після корекції «Квертином» підвищувався на 16,54 % і

21,32 % відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 21,14 % і 3,89 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

Так, після корекції «Квертином» рівень креатиніну знижувався відносно дослідних груп на 16,39 % і 18,62 %, проте залишався підвищеним відносно контролю на 60,24 % і 38,86 %. Вміст сечовини після корекції «Квертином» підвищувався на 26,18 % і 21,29 % відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 7,45 % і підвищеним на 3,46 % відповідно у дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

Встановлено, що корекція «Квертином» за умов впливу ППГ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ також покращує моніторингові показники білкового обміну (Рис. 6.6).

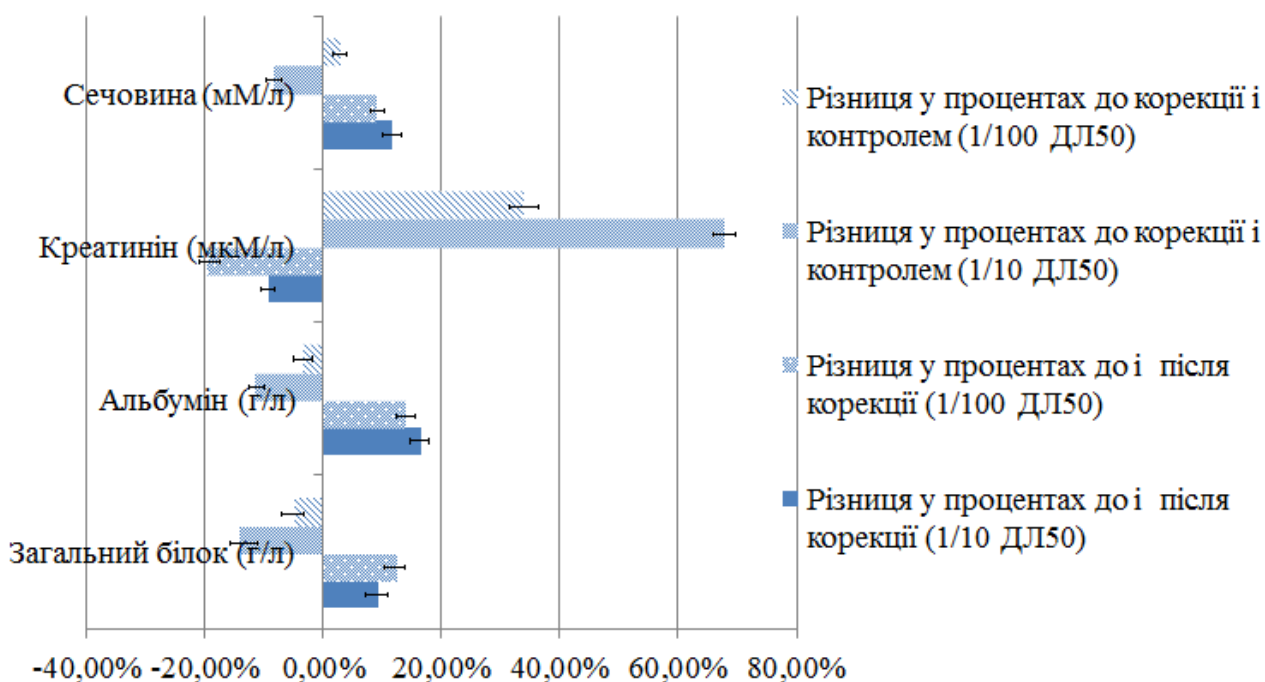


Рис. 6.6 Корекція препаратом «Квертин» моніторингових показників білкового обміну в крові щурів за умов впливу поліпропіленгліколю у дозах 1/10 (А) та 1/100 (Б) ДЛ₅₀ в умовах тривалої субтоксичної дії ($M \pm m$, $n=50$)

Після корекції «Квертином» вміст загального білку підвищувався на 9,34 % і 12,54 % ($p > 0,05$) відносно дослідних груп, проте залишався пониженим

відносно контролю на 14,21 % і 4,89 % ($p > 0,05$) відповідно в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Вміст альбуміну після корекції «Квертином» підвищувався на 16,67 % і 13,92 % відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 11,75 % і 3,63 % відповідно в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

Після корекції «Квертином» рівень креатиніну знижувався відносно дослідних груп на 9,23 % і 19,75 %, проте залишався підвищеним відносно контролю на 67,64 % і 33,72 %. Вміст сечовини після корекції підвищувався на 11,61 % і 8,94 % відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 8,53 % і збільшувався на 2,89 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ ($p > 0,05$).

Визначено, що корекція препаратом «Квертин» за умов впливу ЕГ в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ також покращує моніторингові показники білкового обміну, однак менш суттєво, оскільки саме даний КБ завдяки невеликому розміру молекули має найбільш виражені мембранотропні властивості. Тому суттєві зміни показників білкового обміну корегуються складніше, враховуючи більшу силу ураження (Рис. 6.7). Після корекції «Квертином» вміст загального білку підвищувався на 27,56 % і 21,86 % відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 44,21 % і 32,65 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Вміст альбуміну після корекції підвищувався на 47,73 % і 31,62 % відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 31,95 % і 14,46 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

Після корекції «Квертином» вміст креатиніну знижувався на 9,14 % і 10,57 % відносно дослідних груп, однак залишався підвищеним відносно контролю на 123,35 % і 78,74 %. Вміст сечовини після корекції «Квертином» підвищувався на 7,67 % і 36,52 % відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 41,43 % і 7,86 % відповідно в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

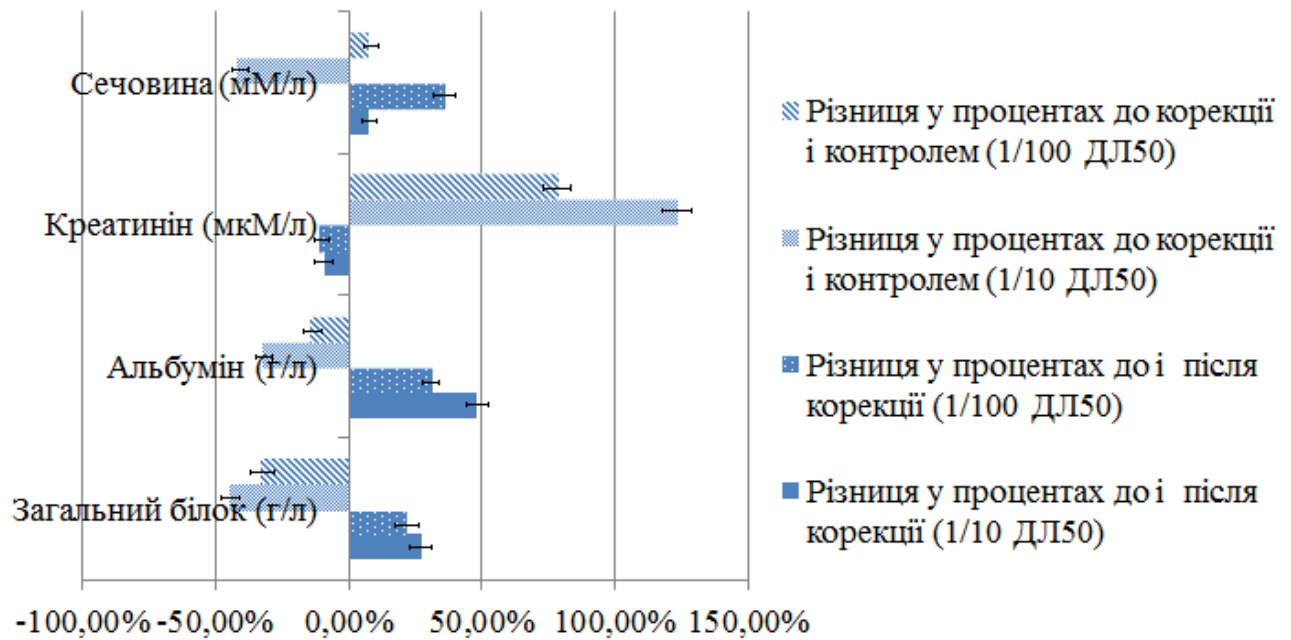


Рис.6.7 Корекція препаратом «Квертин» моніторингових показників білкового обміну в крові щурів за умов впливу етиленгліколю у дозах 1/10 (А) та 1/100 (Б) ДЛ₅₀ в умовах тривалої субтоксичної дії ($M \pm m$, $n=50$)

Дослідженням корекції препаратом «Квертин» порушень вуглеводного обміну за умов впливу ПЕГ-400 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ встановлена позитивна динаміка досліджуваних параметрів в організмі щурів дослідної групи «після корекції» (Рис. 6.8). За даними Рис. 6.8 динаміка змін в організмі щурів дослідної групи «Після корекції» вмісту показників вуглеводного обміну наступна: вміст глюкози в крові щурів підвищувався на 19,78 % і 22,54 % відносно дослідних груп токсифікованих ПЕГ-400 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀, проте залишався зниженим відносно контролю на 51,56 % і 40,92 %.

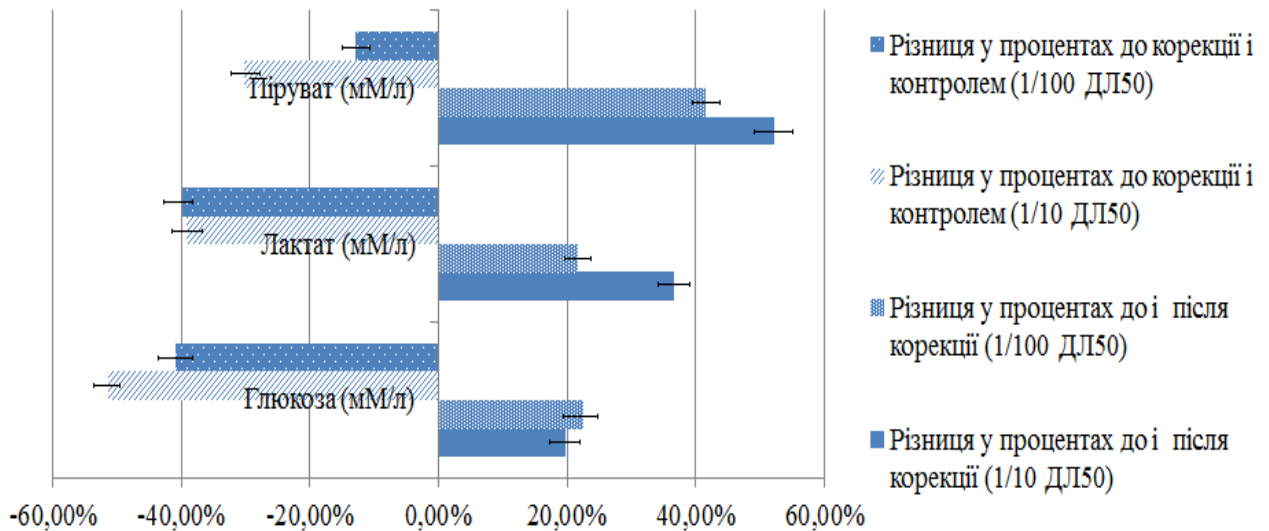


Рис. 6.8 Корекція препаратом «Квертин» моніторингових показників вуглеводного обміну в крові щурів за умов впливу поліетиленгліколю у дозах 1/10 (А) та 1/100 (Б) ДЛ₅₀ в умовах тривалої субтоксичної дії (M±m, n=50)

Вміст лактату після корекції підвищувався на 36,72 % і 21,59 % відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 39,35 % і 39,97 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Вміст пірувату після корекції «Квертином» підвищувався на 52,16 % і 41,54 % (p<0,05) відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 30,32 % і 13,01 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ (Рис. 6.8).

Дослідженням корекції препаратом «Квертин» за умов впливу ППГ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ порушень моніторингових показників вуглеводного обміну встановлена позитивна динаміка досліджуваних параметрів в крові щурів дослідної групи «після корекції» (Рис. 6.9).

Зокрема, за даними Рис. 6.9 динаміка змін в організмі щурів дослідної групи «Після корекції» за умов впливу ППГ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ вмісту показників вуглеводного обміну наступна. Після корекції «Квертином» вміст глюкози підвищувався на 25,43 % і 24,65 % відносно дослідних груп, проте залишався зниженим відносно контролю на 40,76 % і 26,11 %. Вміст лактату

після корекції «Квертином» підвищувався на 35,32 % і 22,83 % відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 34,54 % і 33,52 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

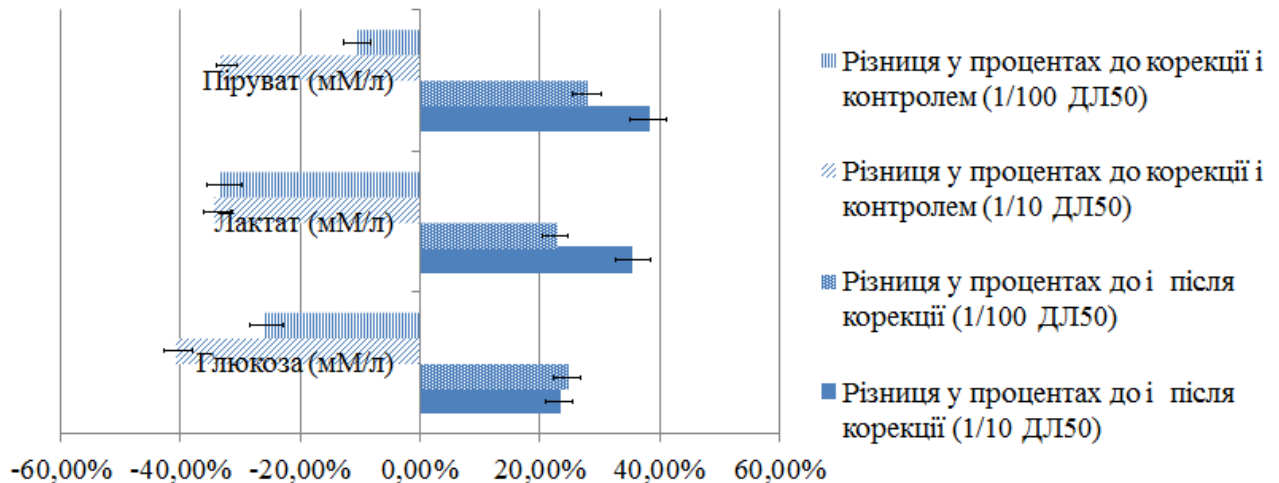


Рис. 6.9 Корекція препаратом «Квертин» моніторингових показників вуглеводного обміну в крові щурів за умов впливу поліпропіленгліколю у дозах 1/10 (А) та 1/100 (Б) ДЛ₅₀ в умовах тривалої субтоксичної дії ($M \pm m$, $n=50$)

Вміст пірувату після корекції «Квертином» підвищувався підвищувався на 38,45 % і 27,94 % ($p < 0,05$) відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 33,53 % і 10,52 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ (Рис. 6.9).

Дослідженням корекції препаратом «Квертин» за умов впливу ЕГ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ порушень моніторингових показників вуглеводного обміну також встановлена позитивна динаміка досліджуваних параметрів в крові щурів дослідної групи «після корекції» (Рис. 6.10).

Зокрема, визначено, що корекція препаратом «Квертин» за умов впливу ЕГ в у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ покращує моніторингові показники вуглеводного обміну та його регуляції, однак менш суттєво. Так, після корекції «Квертином»

вміст глюкози підвищувався відносно дослідних груп на 21,65 % і 34,83 %, але залишався зниженим відносно контролю на 59,14 % і 43,25 % ($p < 0,05$).

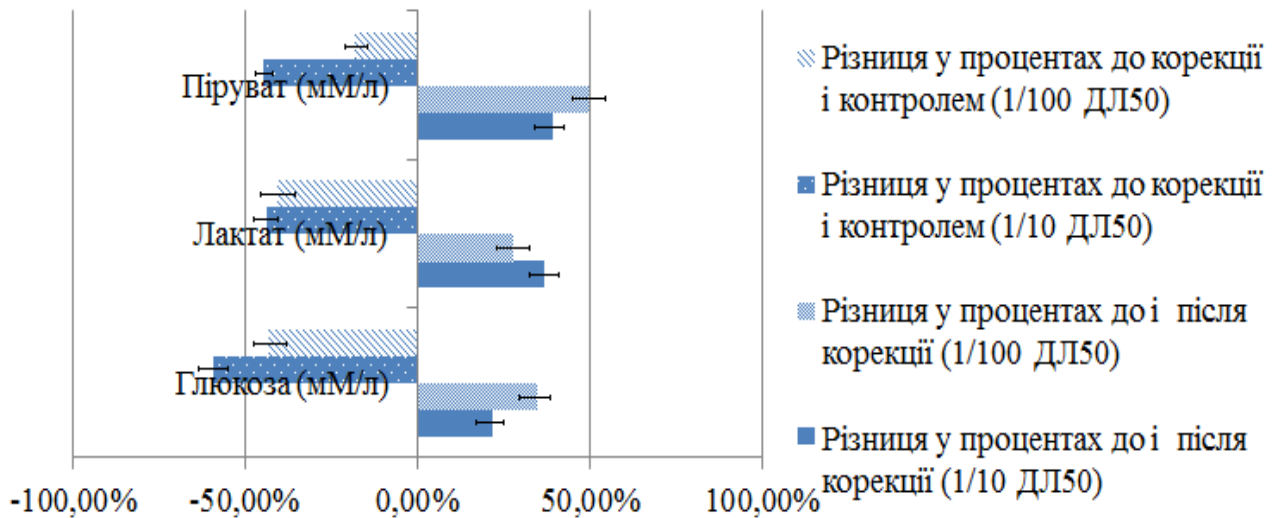


Рис. 6.10 Корекція препаратом «Квертин» моніторингових показників вуглеводного обміну в крові щурів за умов впливу етиленгліколю у дозах 1/10 (А) та 1/100 (Б) ДЛ₅₀ в умовах тривалої субтоксичної дії ($M \pm m$, $n=50$)

Вміст лактату після корекції підвищувався на 36,84 % і 27,92 % відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 43,53 % і 40,59 % ($p < 0,05$) відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Вміст пірувату після корекції «Квертином» підвищувався на 39,53 % і 49,96 % ($p < 0,05$) відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 44,32 % і 17,85 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

Також було проведено аналіз впливу препарату «Квертин» на моніторингові показники ліпідного обміну, а саме вміст холестеролу та тригліцеридів, результати якого засвідчили позитивну динаміку зменшення вищезгаданих показників за умови впливу досліджуваної групи КБ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ (Рис. 6.11).

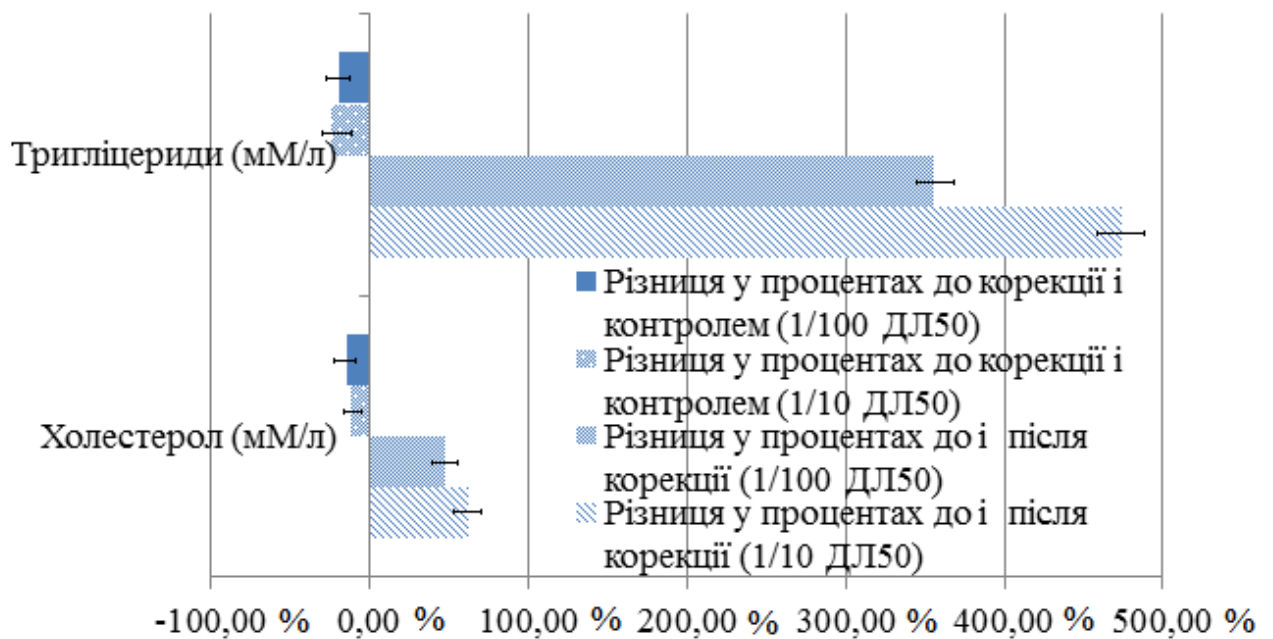


Рис. 6.11 Корекція препаратом «Квертин» вмісту холестеролу та тригліцеридів в крові щурів за умов впливу поліетиленгліколю в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ у підгострому експерименті ($M \pm m$, $n=50$)

Визначено, що після корекції препаратом «Квертин» за умов впливу ПЕГ-400 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ вміст холестеролу знижувався відносно дослідних груп на 12,81 % і 14,61 %, але залишався підвищеним відносно контролю на 62,42 % і 46,98 %. Вміст тригліцеридів після корекції знижувався на 24,72 % і 19,15 % відносно дослідних груп, проте залишався підвищеним відносно контролю на 474,19 % і 354,84 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

Дослідженням корекції препаратом «Квертин» за умов впливу ППГ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ порушень моніторингових показників ліпідного обміну встановлена позитивна динаміка досліджуваних параметрів в крові щурів дослідної групи «після корекції» (Рис. 6.12).

Після проведеної корекції препаратом «Квертин» за умов впливу ППГ у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ вміст холестеролу також знижувався відносно дослідних груп на 14,45 % і 12,50 %, але залишався підвищеним відносно контролю на 76,51

% і 50,34 %. Вміст тригліцеридів після корекції знижувався на 26,95 % і 21,60 % відносно дослідних груп, проте залишався підвищеним відносно контролю на 438,71 % і 303,23 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

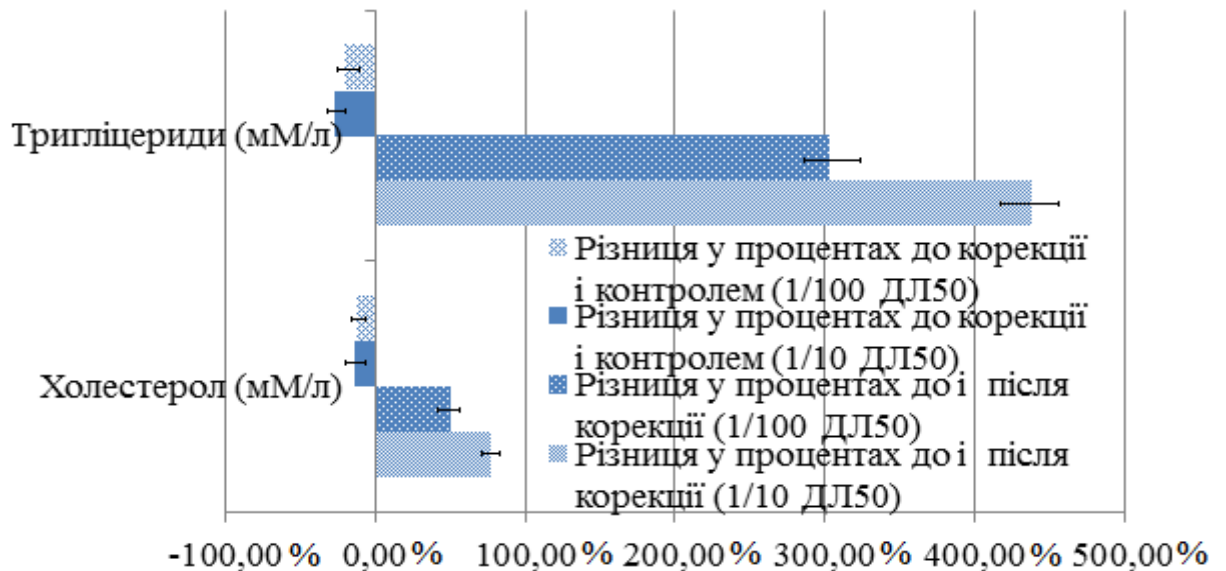


Рис. 6.12 Корекція препаратом «Квертин» вмісту холестеролу та тригліцеридів в крові щурів за умов впливу поліпропіленгліколю в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ у підгострому експерименті ($M \pm m$, $n=50$)

Визначено, що корекція препаратом «Квертин» за умов впливу ЕГ в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ також покращує моніторингові показники ліпідного обміну, однак менш суттєво, оскільки даний КБ має найбільш виражені мембранотропні властивості (Рис. 6.13). Після корекції «Квертином» за умов впливу ЕГ в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ вміст холестеролу знижувався на 15,12 % і 14,29 % відносно дослідних груп, проте залишався підвищеним відносно контролю на 117,45 % і 106,71 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Вміст тригліцеридів після корекції знижувався на 20,77 % і 2,19 % відносно дослідних груп, проте залишався пониженим відносно контролю на 490,32 % і 341,94 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀.

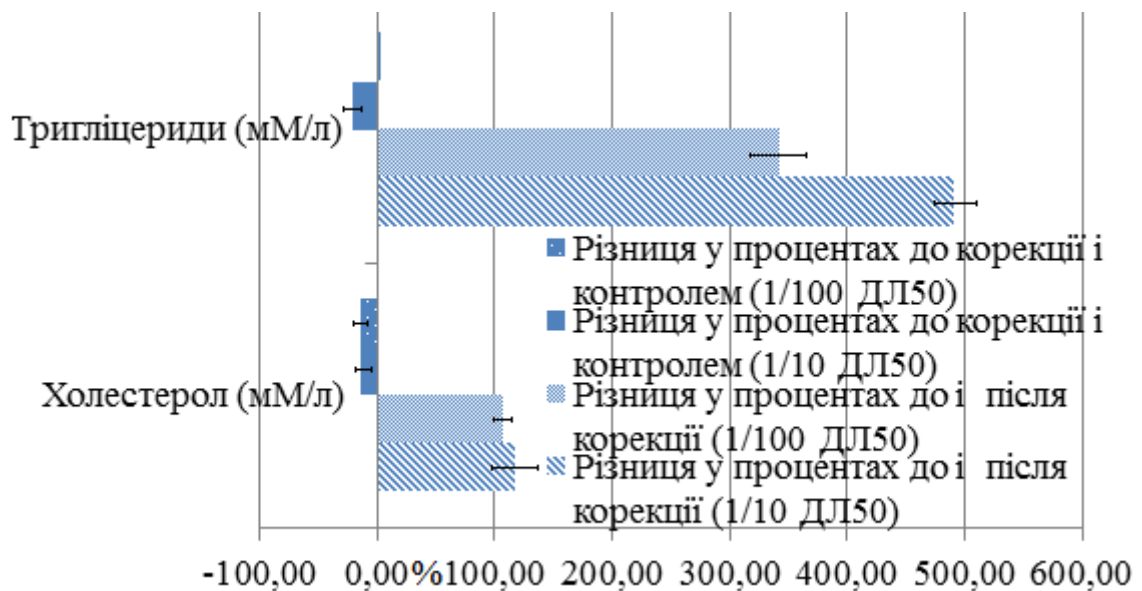


Рис. 6.13 Корекція препаратом «Квертин» вмісту холестеролу та тригліцеридів в крові щурів за умов впливу етиленгліколю в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ у підгострому експерименті ($M \pm m$, $n=50$)

6.3 Дослідження стану оксидантно-антиоксидантної системи організму щурів та гістологічних змін печінки за умов проведеної корекції

Оцінка стану процесів ПОЛ за його основним показником - вмістом 8-ізопростану показала, що корекція «Квертином» знижує інтенсивність процесу ПОЛ за умов впливу досліджуваних КБ (Рис. 6.14).

Встановлено, що «Квертин» за умов впливу ПЕГ-400 у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ знижує вміст 8-ізопростану в крові щурів на 17,02 % та 31,24 % відповідно, проте залишався підвищеним відносно контролю на 200,30 % і 128,49 % відповідно в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. (Рис. 6.14). Корекція за умови впливу ППГ також знижувала вміст 8-ізопростану на 23,81 % та 19,54 % відповідно доз 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀., але вміст даного продукту ПОЛ залишався підвищеним в порівнянні з контролем на 88,31 % та 53,52 % відповідно.

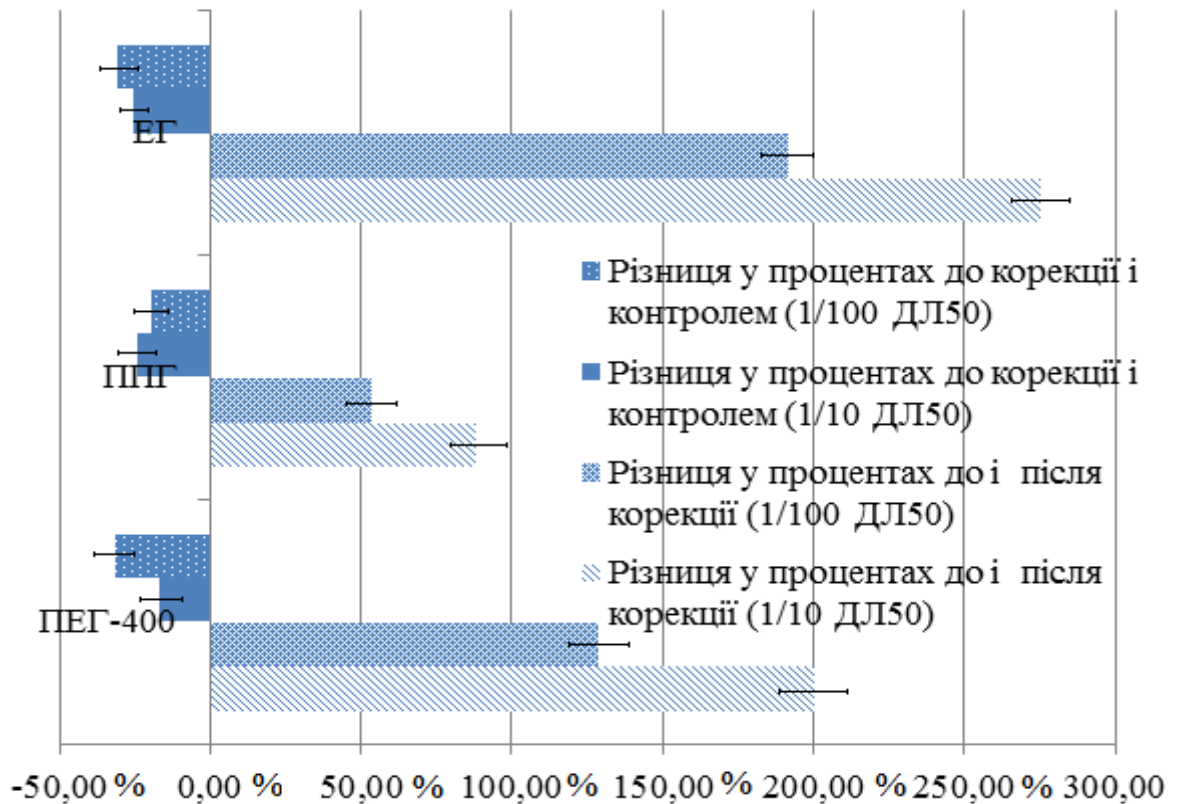


Рис. 6.14 Корекція препаратом «Квертин» вмісту 8-ізопростану (пг/мл) у сироватці крові щурів за умов впливу ксенобіотиків у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ у підгострому експерименті ($M \pm m$, $n=50$)

Найсуттєвіша активація процесу ПОЛ спостерігалась за умов впливу ЕГ, однак корекція «Квертином» покращувала вміст 8-ізопростану на 25,17 % та 30,92 %, але цей показник залишався підвищеним відносно контролю на 275,26 % та 191,90 % відповідно.

Визначення ефективності корекції препаратом «Квертин» патологічних порушень стану АОС проведено на основі оцінки динаміки в організмі щурів показників каталази та СОД (Рис. 6.15 - 6.17).

Зокрема відмічена позитивна динаміка підвищення після корекції активності каталази на 25,81 % і 20,62 % за умов впливу ПЕГ-400 в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Після корекції «Квертином» активність СОД крові підвищувалась на 29,30 % в умовах токсифікації ПЕГ-400 в дозі 1/10 ДЛ₅₀. В сироватці крові щурів, які були токсифіковані ПЕГ-400 у дозі 1/100 ДЛ₅₀ після корекції

«Квертином» активність СОД знижувалась на 21,63 %.

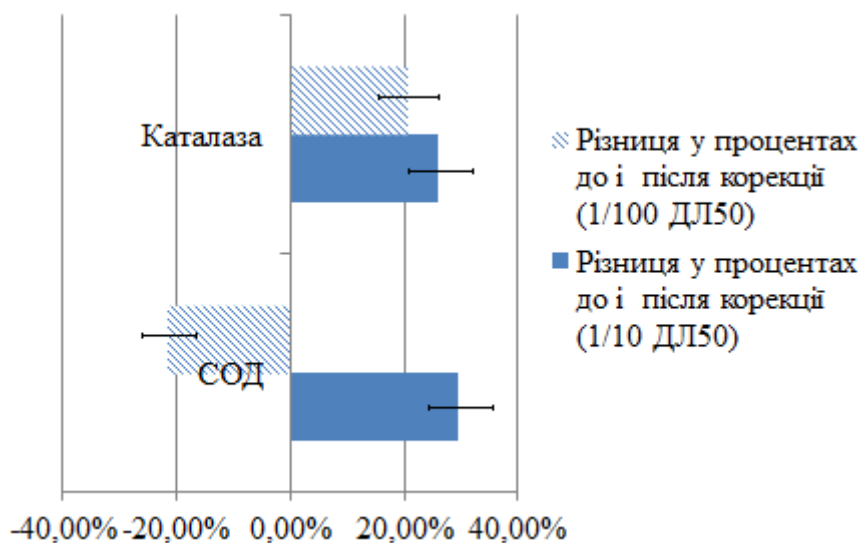


Рис. 6.15 Корекція препаратом «Квертин» активності супероксиддисмутази та каталази в крові щурів за умов впливу поліетиленгліколю в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ у підгострому експерименті ($M \pm m$, $n=50$)

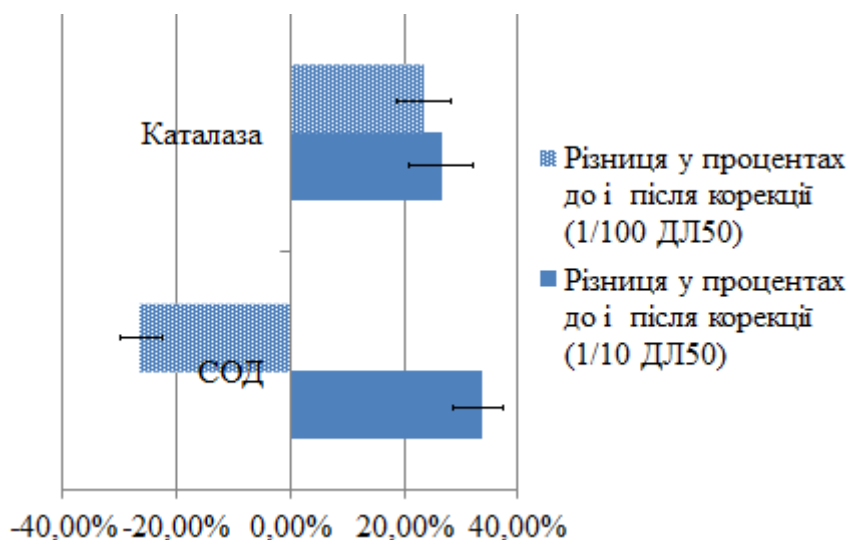


Рис. 6.16 Корекція препаратом «Квертин» активності супероксиддисмутази та каталази в крові щурів за умов впливу поліпропіленгліколю в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ у підгострому експерименті ($M \pm m$, $n=50$)

Активність каталази після корекції «Квертином» підвищувалася на 26,50 % і 23,44 % після токсифікації щурів ППГ в дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ (Рис. 6.16). Активність СОД крові підвищувалась на 33,51 % після корекції токсифікації ППГ в дозі 1/10 ДЛ₅₀ та знижувалась на 26,70 % - у дозі 1/100 ДЛ₅₀.

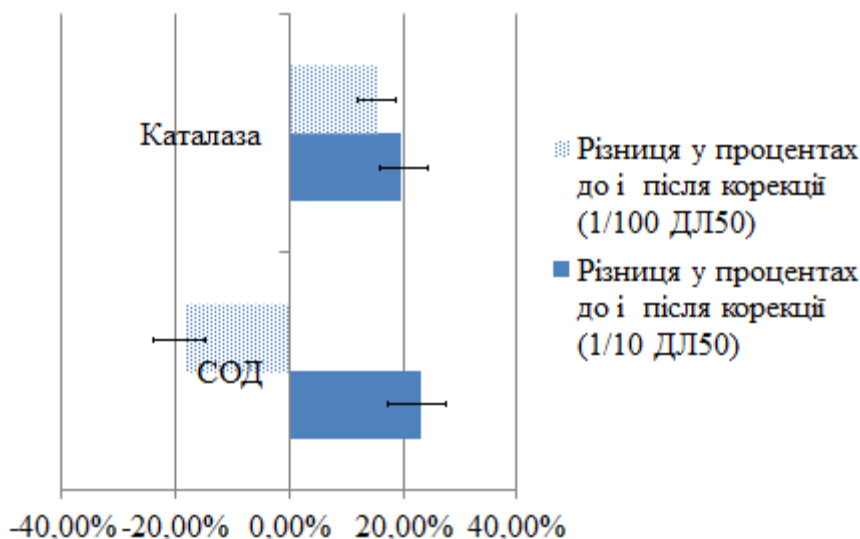


Рис. 6.17 Корекція препаратом «Квертин» активності супероксиддисмутази та каталази в крові щурів за умов впливу етиленгліколю в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ у підгострому експерименті ($M \pm m$, $n=50$)

Активність каталази після корекції «Квертином» підвищувалася на 19,41 % і 15,60 %, відповідно у токсифікованих ЕГ щурів у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ (Рис. 6.17). Активність СОД крові підвищувалась на 23,21 % - в дозі 1/10 ДЛ₅₀ та знижувалась на 18,63 % у щурів, які були токсифіковані ЕГ у дозі 1/100 ДЛ₅₀ після корекції «Квертином».

На закінчення підгострого експерименту було проведено патоморфологічне дослідження органів щурів, токсифікованих ПЕГ-400, ППГ та ЕГ у дозі 1/10 ДЛ₅₀ після корекції «Квертином», при цьому контролем послужили органи контрольної групи щурів, а також органи щурів аналогічних дослідних груп, які не піддавались корекції.

Після аналізу патоморфологічних досліджень визначено, що в найбільшому

ступеню заслуговує уваги стан печінки щурів дослідних груп, який характеризується зменшенням запальних процесів, і як наслідок, зменшення наявності макрофагально-лімфоцитарного інфільтрату та відновленням ендотелію синусоїд, а також їх незначним звуженням для всіх досліджуваних КБ. З огляду на односпрямованість досліджуваної корекції, наводимо результати впливу «Квертину» за умов впливу ПЕГ-400.

Печінка щурів за умов дії ПЕГ-400 характеризується тим, що макрофаги у ній досить активні. Гіперемія центральної вени. Спостерігається загибель клітин в середній частині трабекул. Різко розширені синусоїди. Ендотелій в синусоїдах місцями відсутній (Рис. 6.18).

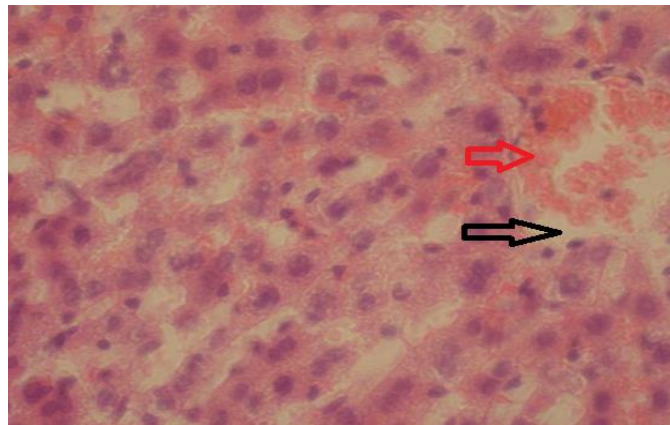


Рис. 6.18 Печінка щура за умов 45 добового впливу ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀.
 ➡ Гіперемія центральної вени. ➡ Різко розширені синусоїди. Багато гепатоцитів з каріолізісом і каріопікнозом. Ендотелій в синусоїдах місцями відсутній. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.: x 400

Встановлено, що в печінці щурів після корекції «Квертином», що токсифіковані ПЕГ-400, гепатоцити мають ядро у більшій мірі еухромне (світле), хроматин не пригнічений (Рис. 6.19). Хоча кількість клітин макрофагів біля стінки синусоїд знаходиться у великій кількості, проте синусоїди не такі широкі з місцями відновленим ендотелієм. У порівнянні з щурами груп до корекції, макрофаги у меншій мірі активні. Навколо триад макрофагально-лімфоцитарний інфільтрат зменшений, що вказує на активацію захисних процесів на місцевому

рівні. Локуси з жировою дистрофією гепатоцитів різко зменшені. Центральна вена не має ні запального інфільтрату, ні склерозу.

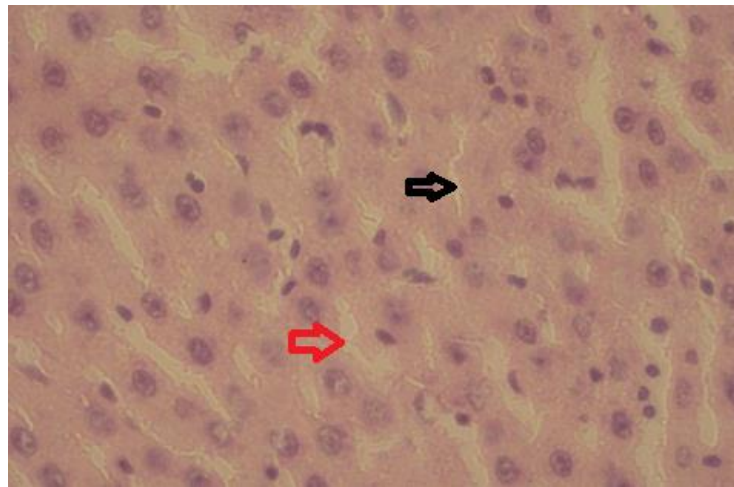


Рис. 6.19 Печінка щура після корекції «Квертином» за умов 45 добового впливу ПЕГ-400 у дозі 1/10 ДЛ₅₀ у підгострому експерименті. ➡ Присутній макрофагально-лімфоцитарний інфільтрат. ➡ Синусоїди розширені. Гепатоцити з активним хроматином. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.: x 400

Висновки до розділу 6

Дослідження ефективності корекції патологічних порушень «Квертином» проведено в умовах окремого цільового підгострого експерименту на білих щурах за умов впливу групи ксенобіотиків етиленгліколю, поліетиленгліколю та поліоксипропіленгліколю.

1. Експеримент проводився в два етапи: на першому визначалась ефективність корекції «Кверцетином» порушень функціонального стану печінки та білкового, вуглеводного і ліпідного обмінів, а на другому – ефективність корекції порушень прооксидантної системи організму щурів, а також патоморфологічні зміни печінки. Ефективність корекції патології у щурів

визначалась на основі порівняння ступенів зниження чи підвищення вмісту показників стану організму у щурів груп «до корекції» та «після корекції», а також у порівнянні зі станом аналогічних показників у щурів контрольної групи.

2. Таким чином, корекція «Квертином» покращує функціональний стан печінки за умов впливу досліджуваних ксенобіотиків. Визначене зменшення активності трансаміназ АсАТ у середньому на 12,62 % та 22,77 %, а АлАТ - у середньому на 8,67 % та 31,35 % відповідно доз впливу ксенобіотиків 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Можна зробити висновок, що «Кверцетин» відновлює детоксикаційну функцію печінки, про що свідчить підвищення вмісту загальних сульфатів в організмі щурів у групі токсифікованих ксенобіотиками в середньому на 23,40 % у дозі 1/10 ДЛ₅₀ та зниження вмісту загальних сульфатів в середньому на 23,31 % у дозі 1/100 ДЛ₅₀. Що стосується глюкуронідного шляху кон'югації, то й цей детоксикаційний механізм зазнавав покращення. Зокрема, вміст загальних глюкуронідів підвищувався після корекції в середньому на 12,16 % у дозі впливу ксенобіотиків 1/10 ДЛ₅₀ та знижувався на 8,44 % - у дозі 1/100 ДЛ₅₀.

3. Дослідження ефективності корекції «Квертином» порушень білкового обміну за умов впливу досліджуваної групи ксенобіотиків проведено на основі змін показників в крові щурів загального білку, альбуміну, сечовини, креатиніну. Найбільші зміни вмісту загального білку збільшення на 27,56 % та 21,86 %, а також альбуміну – збільшення на 47,79 % та 31,62 % спостерігались після корекції «Квертином» за умов впливу етиленгліколю у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Показники креатинін та сечовина зазнали найбільших змін після корекції «Квертином» за умов впливу поліетиленгліколю у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ - збільшення сечовини на 26,18 % та 21,29 % на тлі зниження креатиніну – на 16,39 % та 18,62 %.

4. Встановлено, що за результатами оцінки ефективності корекції вміст показників вуглеводного обміну в крові щурів групи «після корекції» мав позитивну динаміку. Визначено, що корекція препаратом «Квертин» за умов впливу досліджуваних ксенобіотиків у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в середньому

підвищує вміст глюкози на 22,23 % і 27,34 %, вміст лактату - на 36,29 % і 24,11 %, вміст пірувату - на 43,38 % і 39,81 % відповідно.

5. Визначено, що після корекції препаратом «Квертин» за умов впливу досліджуваних ксенобіотиків у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ покращуються показники ліпідного обміну - в середньому вміст холестеролу знижувався на 14,13 % і 13,80 %, вміст тригліцеридів знижувався на 24,15 % і 14,31 %.

6. Оцінка стану процесів ПОЛ за його основними показниками - вмістом 8-ізопростану показала, що корекція «Квертином» знижує інтенсивність процесу ПОЛ за умов впливу досліджуваних ксенобіотиків. Найсуттєвіша активація процесу ПОЛ спостерігалась за умов впливу етиленгліколю, однак корекція «Квертином» найбільше покращувала вміст 8-ізопростану на 25,17 % та 30,92 % відповідно.

7. Визначення ефективності корекції препаратом «Квертин» патологічних порушень стану антиоксидантної системи показало односпрямовану зміну активності каталази та СОД в усіх дослідних групах, але найменші позитивні зміни спостерігались у групі щурів за умов впливу етиленгліколю. Активність каталази після корекції «Квертином» підвищувалася на 19,41 % і 15,60 %, відповідно у токсифікованих етиленгліколем щурів у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. Активність СОД крові підвищувалась на 23,21 % - в дозі 1/10 ДЛ₅₀ та знижувалась на 18,63 % у щурів, які були токсифіковані ЕГ у дозі 1/100 ДЛ₅₀ після корекції «Квертином».

8. Патоморфологічне дослідження визначило, що в найбільшому ступеню заслуговує уваги стан печінки щурів дослідних груп токсифікованих поліпропіленгліколем, поліетиленгліколем та етиленгліколем у дозі 1/10 ДЛ₅₀, який характеризується зменшенням запальних процесів, і як наслідок, зменшення наявності макрофагально-лімфоцитарного інфільтрату та відновленням ендотелію синусоїд, а також їх незначним звуженням для всіх досліджуваних ксенобіотиків. З огляду на односпрямованість досліджуваної корекції, наводимо результати впливу «Квертину» за умов впливу ПЕГ-400.

Результати досліджень розділу 6 опубліковані в наступних роботах автора [14, 113, 166].

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішено актуальну задачу з дослідження структурно-функціонального стану печінки щурів за визначенням активності процесів біотрансформації ксенобіотиків, активності оксидантно-антиоксидантної системи, стану мембран гепатоцитів та еритроцитів, апоптозу/некрозу гепатоцитів, активності репарації ДНК, визначення морфологічних особливостей печінки за умов дії блоксополімерів та обґрунтовано можливість використання біофлавоноїду (препарату «Квертин») для корегування метаболічних порушень в організмі щурів.

1. Встановлено, що блоксополімери в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ викликають порушення структурно-функціонального стану печінки, що підтверджується підвищенням активності трансаміназ (АлАТ в середньому - в 5,23 та 4,08 рази, АсАТ - в 5,03 та 3,72 рази відповідно доз впливу), порушенням сульфатної та глюкуронової кон'югації (вміст загальних сульфатів знижувався в середньому на 47,29 % та загальних глюкуронідів - на 32,73 % у дозі 1/10 ДЛ₅₀, навпаки вміст загальних сульфатів підвищувався на 14,86 % та загальних глюкуронідів - на 30,52 % у дозі 1/100 ДЛ₅₀ у порівнянні з контролем). При імуногістохімічному дослідженні в ядрах гепатоцитів щурів було визначено збільшення відсотку MGMT-мічених гепатоцитів у порівнянні з контрольною групою в середньому.

2. Доведено, що за умов впливу блоксополімерів на основі оксипропілену та етилену в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ в організмі експериментальних тварин розвивається оксидативний стрес: у сироватці крові зростає вміст 8-ізопростану (в 2,59 рази за умов 1/10 ДЛ₅₀ та в 2,10 рази за умов дії 1/100 ДЛ₅₀, $p < 0,05$), вміст ТБК-АП в середньому підвищується в 2,65 рази в дозі 1/10 ДЛ₅₀ та в 1,69 рази в дозі 1/100 ДЛ₅₀, вміст ДК в середньому підвищується на 85,82 % в дозі 1/10 ДЛ₅₀ та на 37,17 % в дозі 1/100 ДЛ₅₀.

Спостерігається зниження активності антиоксидантної системи: активність каталази, СОД еритроцитів, глутатіонпероксидази крові - на 42,69 %, 41,26 %, 32,37 % відповідно та вміст церулоплазміну в крові в середньому

знижується на 47,24 % за умов 1/10 ДЛ₅₀ порівняно з контролем.

3. Визначено, що в організмі щурів, токсифікованих блоксополімерами в дозі 1/10 ДЛ₅₀, спостерігається порушення стану цитоплазматичних мембран гепатоцитів: екстерналізація фосфатидилсерину у фосфоліпідному бішарі та зміна інтенсивності флуоресценції зондів на мембранах еритроцитів, відсутність змін в області гліцеринових та карбонільних груп фосфоліпідів, формування на поверхні мембран еритроцитів додаткової оболонки.

4. Встановлено, що за умов дії досліджуваної групи ксенобіотиків протягом 45 діб у дозі 1/10 ДЛ₅₀ знижується життєздатність гепатоцитів на 18,21 %, активується апоптоз гепатоцитів, що підтверджується підвищенням відсотку ранньоапоптотичних гепатоцитів (в середньому на 18,98 %) та пізньоапоптотичних / некротичних клітин (в середньому на 9,75 %).

5. Встановлено, що блоксополімери сприяють розвитку гіпопротеїнемії за рахунок гіпоальбумінемії, уремії (вміст сечовини зростає в середньому в 2,63 рази); креатинінемії (вміст креатиніну підвищувався на 91,59 %). Спостерігається зниження репродуктивної функції білих щурів: гіпотестостеронемія та гіпоестрогенемія. Ксенобіотики в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ викликають порушення вуглеводного обміну: зниження вмісту лактату, пірувату на тлі гіпоглікемії (вміст глюкози знижувався на 53,51 %, $p < 0,05$). Визначається гіпоінсулінемія, що може свідчити про порушення функціонування підшлункової залози. Оцінка моніторингових показників ліпідного обміну під впливом досліджуваних речовин у дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ виявила гіперхолестеролемію та підвищення вмісту тригліцеридів.

6. Доведено ефективність використання біофлавоноїду лікарського препарату «Квертин» для корекції порушень структурно-функціонального стану печінки щурів на фоні токсифікації блоксополімерами у дозі 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀. На 45 добу знижується активність АсАТ, АлАТ в крові в середньому на 17 % та 19 %. «Квертин» сприяє активації процесів біотрансформації ксенобіотиків: підвищує вміст загальних сульфатів в середньому на 23,40 % у дозі 1/10 ДЛ₅₀,

зменшує інтенсивність процесів ПОЛ та активує антиоксидантну систему, покращує моніторингові показники обміну білків, вуглеводів, ліпідів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абрамзон А. А. Поверхностно-активные вещества и сырье для их производства. Москва, 1989. 306 с.
2. Абрамова Л. П., Мясоедов В. В. Влияние мелатонина на перекисное окисление липидов при воспалении // Экспериментальна і клінічна медицина. 2013. № 4. С. 6–9.
3. Акталиева А. Г., Шустов Г. Б., Саламов А. Х. Синтез и исследование простых ароматических олигоэфиров // Фундаментальные исследования. 2014. № 3. С. 55–58.
4. Андрейко Г., Коновалова О., Гончаренко М. Концентрація хімічних елементів в органах і тканинах білих щурів після навантаження плюмбум ацетатом в умовах 15-добового періоду адаптації // Вісник Львівського університету. Серія : Біологічна. 2016. Вип. 72. С. 50–57.
5. Антоняк Г. Л., Федяков Р. О., Коваль Н. К. Вплив афлатоксину В1 на процеси пероксидного окиснення ліпідів та стан антиоксидантної системи в еритроцитах та гепатоцитах щурів // Вісник Одеського національного університету ім. І. Мечнікова. Серія біологічна. 2011. Т. 16, вип. 6. С. 5–11.
6. Бабийчук В. Г. Возрастные особенности перекисного окисления липидов у крыс после экстремальных криовоздействий // Проблемы криобиологии и криомедицины. 2006. Т. 16, № 1 С. 32–44.
7. Бабийчук Л. А. Механизмы температурно-осмотической стабилизации эритроцитов при охлаждении и замораживании в присутствии непроникающего криопротектора : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : спец. 03.00.19 «Криобиология». Харьков, 2002. 24 с.
8. Бабийчук Л. А., Михайлова О. А., Рязанцев В. В., Зубов П. М. Оценка жизнеспособности и степени нарушения асимметрии мембран ядродержащих клеток при различных методах их выделения из цельной пуповинной и

- донорской крови // Вісник проблем біології і медицини. 2011. Т. 4, № 90. С. 118–122.
9. Бабийчук Л. А., Михайлова О. А., Зубов П. М., Рязанцев В. В. Оценка стадий апоптоза и распределения фосфатидилсерина в мембране ядродержащих клеток пуповинной и периферической крови при различных технологиях криоконсервации // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2013. Т. 8, № 4. С. 50–54.
10. Бабийчук Л. А., Грищенко В. И., Зубов П. М., Рязанцев В. В. Структурно-функциональное состояние и жизнеспособность ядродержащих клеток пуповинной крови после криоконсервирования // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2010. Т. 5, № 3. С. 77–81.
11. Баглаев Т. Н., Атауллаханов Р. И., Добрецов Г. Е., Кочина И. С. Определение площади поверхности и вязкости мембран Т- и В-лимфоцитов с помощью флуоресцентных зондов // Биофизика. 1983. Т. 28. С. 142–143.
12. Барабой В. А., Брахман И. И., Голотин В. Г., Кудряшов Ю. Б. Перекисное окисление и стресс. Санкт-Петербург, 1992. 148 с.
13. Бардов В. Г., Білецька Е. М., Кондратюк В. А. Основи екології : підручник. Вінниця, 2013. 424 с.
14. Безродна А. І. Корекція «Квертином» стану оксидантно-антиоксидантної системи у щурів за умов впливу ксенобіотиків // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія : Біологія. 2018. Вип. 31. С. 7–15.
15. Безродна А. І. Вплив олігоферів на вуглеводний і енергетичний обмін // Довкілля і здоров'я : матеріали наук.-практ. конф., присвяч. 30-річчю Чорнобильської катастрофи, 22–23 квіт. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 31–32.
16. Безродна А. І., Вишницька І. А., Мельник О. Г., Оветчин П. В., Резуненко Ю. К. Вплив олігоферів в субтоксичній дозі на гормональний обмін при тривалій токсифікації тварин в підгострому експерименті // Вісник проблем біології і медицини. 2016. Т. 1 (126). Вип. 1. С. 120–124.

17. Безродна А. І., Жуков В. І., Щербань М. Г., Ващук Н. А. Вплив олігоєфірів марок Л-3603-2-12 і Л-10002-2-80 на мікросомальне окислення гепатоцитів і тканинне дихання мітохондрій в організмі експериментальних тварин в умовах тривалої субтоксичної дії // Аграрний вісник Причорномор'я. Серія : біологічні науки. 2014. Вип. 73. С. 3–13.
18. Безродна А. І., Коцур В. Є., Стабровський С. С., Кучеренко І. О., Новікова Д. П. Вплив поверхнево-активних речовин на білковий обмін у білих щурів за умов підгострого токсикологічного експерименту // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической биохимии : материалы VI Межвуз. науч.-практ. конф. с междунар. участием, 22 мая 2017 г. Харьков, 2017. С. 21–23.
19. Безродна А. І., Максимова І. Г., Логвінова А. О., Толоконнікова А. А., Гарбузова Д. В. Вплив поліетиленгліколю на вміст холестеролу та статевих гормонів у крові щурів в підгострому токсикологічному експерименті / // Актуальні проблеми експериментальної та клінічної біохімії : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 12–13 квіт. 2018 р. Харків, 2018. С. 22–23.
20. Безродная А. И., Наконечная О. А. Влияние ксенобиотиков на белковый обмен белых крыс в подостром эксперименте // Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии : сборник материалов III Конф. молодых ученых биохимиков и молекулярных биологов с междунар. участием, 11–12 мая 2017 г. Гродно, 2017. С. 11–12.
21. Барабой В. А., Сутковой Д. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. Ч. 1. Киев, 1997. 202 с.
22. Барабой В. А., Сутковой Д. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. Ч. 2. Киев, 1997. 220 с.
23. Божков А. И., Малеев В. А. Снижается ли способность печени к регенерации с возрастом? Динамика функциональной активности митохондрий в процессе регенерации печени // Успехи геронтологии. 2004. Т. 13. С. 58–65.
24. Божков А. И., Сидоров В. И., Длубовская В. Л., Шевцова М. Я., Суров Ю. Н. Проявление эффекта импринтинга в паттерне внутриклеточного

распределения ионов меди в печени после многократных введений сернокислрой меди // Биомедицинская химия. 2010. Т. 56, №. 2. С. 195–208.

25. Бойкін Д. П., Бондарчук Т. І., Іванків О. Л. Біохімічні показники в нормі і при патології : навч. довід. Київ, 2007. 320 с.
26. Бондарева А. В., Стеценко С. О. Активність процесів ліпопероксидації у мікросомальній фракції печінки щурів при дії олігоефірів багатоатомних спиртів // Світ медицини і біології. 2016. № 3 (57). С. 98–102.
27. Бондарева А. В. Біохімічні механізми порушень процесів знешкодження олігоефірів багатоатомних спиртів та засоби їх корекції: дис. ... канд. мед. наук : 14.01.32 «Медична біохімія». Рубіжне, 2017. 164 с.
28. Бондарева А. В. Вплив олігоефірів багатоатомних спиртів на мікров'язкість та фосфоліпідний склад мембран мікросом гепатоцитів щурів // Одеський медичний журнал. 2016. № 4 (156). С. 9–13.
29. Бондарь З. А. Клиническая гепатология. Москва, 1970. 340 с.
30. Бурлакова Е. Б., Храпова Н. Г. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии. 1985. Т. 54, № 9. С. 1540–1558.
31. Величко В. О. Корекція антиоксидантного статусу сільськогосподарських тварин мікроелементами : монографія. Львів, 2011. 76 с.
32. Ветрова К. В. Експериментальне обґрунтування доцільності корекції токсичних ефектів протипухлинних препаратів похідними глюкозаміну та їх комбінацією з кверцетином : дис. ... канд. фармацевт. наук : 14.03.05 «Фармакологія». Харків, 2015. 197 с.
33. Виноградова С. В., Васнев В. А. Поликонденсационные процессы и полимеры. Москва, 2000. 372 с.
34. Виробництво промислової продукції за видами в Україні за 2016 рік: стат. бюлетень / Держ. служба статистики України. Київ, 2017. 432 с.
35. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в мембранах. Москва, 1972. 252 с.

36. Владимиров Ю. А. Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран // Биофизика. 1987. Т. 32, № 5. С. 830–844.
37. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журнал. 2000. Т. 6, № 12. С. 13–19.
38. Владимиров Ю. А., Азизова О. А., Деев А. И. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники. Биофизика. 1992. Т. 29. С. 233–250.
39. Владимиров Ю. А., Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. Москва, 1980. 320 с.
40. Власенко В. В., Дзюмак М. А., Мазур В. А., Дубовий Ю. В. Екологічне інспектування : навч. посіб. Вінниця, 2011. 191 с.
41. Вовкун Т. В., Янчук П. І., Штанова Л. Я. Участь парасимпатичної ланки нервової системи в реалізації дії біофлавоноїдів на шлункову секрецію у щурів // Фізіологічний журнал. 2015. Т. 61, № 1. С. 50–55.
42. Ганусова Г. В. Возрастные особенности активности *na⁺*-зависимых дегидрогеназ и содержания цитохромов Р-450 и b5 в печени крыс при развитии оксидативного стресса, вызванного хлоридом кобальта // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія : Біологія. 2005. № 709. Вип. 1–2. С. 33–38.
43. Геннис Р. Биомембраны: молекулярная структура и функции. Москва, 1997. 624 с.
44. Глыбочко П. В., Попков В. М., Чеснокова Н. П. Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор в развитии типовых патологических процессов и заболеваний различной этиологии. Саратов, 2012. 275 с.
45. Головкин Б. Н. Кверцетин (кверцитин) (quercetin, quercitin, 3,4,5,7-tetrahydroxyflavanol, 3,3',4,5,6-pentahydroxyflavone) – биологически активные вещества растительного происхождения. Москва, 2001, 350 с.
46. Головчак Н. П., Тарновська А. В., Коцюмбас Г. І., Санагурський Д. І. Процеси перекисного окиснення ліпідів у живих організмах : монографія. Львів, 2012. 250 с.

- 47.Гребняк М. П., Щудро С. А. Причинно-наслідковий зв'язок між екотоксикантами в атмосферному повітрі та здоров'ям підлітків // Україна. Здоров'я нації. 2008. № 3–4. С. 69–72.
- 48.Губский Ю. И. Смерть клетки: свободные радикалы, некроз, апоптоз : монография. Винница, 2015. 360 с.
- 49.Гуревич В. С., Конторидинона К. Н. Сравнительный анализ двух методов определения активности супероксиддисмутазы // Лабораторное дело. 1990. № 4. С. 44–47.
50. Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. Москва, 1989. 277 с.
51. Донозологічна діагностика стану здоров'я населення в зв'язку з впливом факторів навколишнього середовища : методичні рекомендації МР 2.2.12.068–2000 МОЗ України. Київ, 2000. 29 с.
52. Дубинина Е. Е., Ефимова Л. Ф., Сафронова Л. Н. Методы определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 8. С. 16–19.
53. Дудченко В. К., Власов А. В., Зыков В. В. Моделирование полупериодической суспензионной технологии синтеза блоксополимера пропилена и этилена // Пластические массы. 2004. № 5. С. 13–18.
54. Дымент О. Н. Гликоли и другие производные окисей этилена и пропилена. Москва, 1976. 373 с.
- 55.Ель-та'алу А. Б., Гоенага М. В., Перський Є. Е., Пономаренко А. М. Вікові особливості зв'язку між окислювальним дезамінуванням і термостабільністю колагену шкіри // Вісник Одеського національного університету. Серія : Біологія. 2010. Т. 15, вип. 17. С. 22–28.
- 56.Ершов С. С., Орлова Н. В., Шпакова Н. М. Чувствительность эритроцитов млекопитающих к изменению температурных и осмотических условий среды // Проблемы криобиологии. 2004. № 3. С. 51–57.
- 57.Жуков В. И. Гигиеническая характеристика макроциклических эфиров и их предшественников – простых полиэфиров в связи с проблемой санитарной

- охраны водоемов : автореф. дис. ... д-ра мед. наук: спец. 14.00.07 «Гигиена». Ленинград, 1991. 41 с.
58. Жуков В. И., Наконечна О. А. Диагностичне значення метаболічних і клінічних показників у моніторингу захворювань : навч. посіб. Харків, 2016. 338 с.
59. Жуков В. И., Мясоедов В. В., Козин Ю. И. Детергенты – модуляторы радиомиметрических эффектов. Белгород, 2000. 375 с.
60. Жуков В. И., Кратенко Р. И., Резуненко Ю. К. Медико-биологические аспекты проблемы охраны водных объектов от загрязнения поверхностно-активными веществами. Харьков, 2000. 394 с.
61. Жуков В. И., Попова Л. Д., Зайцева О. В. Простые и макроциклические эфиры: научные основы охраны водных объектов. Харьков, 2000. 438 с.
62. Жуков В. И., Щербань М. Г., Наконечна О. А., Зайцева О. В., Безродна А. І., Вашук Н. А., Резуненко Ю. К., Оветчин П. В., Телегін В. О., Стеценко С. О. Вплив «Лапролів» марок Л-3603-2-12 і Л-10002-2-80 на імунобіологічну реактивність в умовах підгострої субтоксичної дії на теплокровних тварин // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. 2016. № 3. С. 31–38.
63. Жуков В. И., Щербань М. Г., Безродна А. І., Вашук Н. А., Стеценко С. О. Стан метаболічної і детоксикаційної активності печінки у щурів під впливом тривалої субтоксичної дії олігомерів Л-3603-2-12 і Л-10002-2-80 // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. 2015. № 4. С. 45–50.
64. Жуков В. И., Щербань М. Г., Зайцева О. В., Безродна А. І., Вашук Н. А., Резуненко Ю. К., Оветчин П. В., Телегін В. О. Стан антирадикального, антиперекисного захисту під впливом тривалої субтоксичної дії олігоєфіра Л-3603-2-12 // Казантип-ЭКО-2016. Инновационные пути решения актуальных проблем базовых отраслей, экологии, энерго- и ресурсосбережения : сборник трудов XXIV Междунар. науч.-практ. конф., 6–10 июня 2016 г. Харьков, 2016. С. 122–126.
65. Загайко А. Л., Кравченко Г. Б. Порівняльна дія галової кислоти та кверцетину на показники функціонального стану нирок щурів за умов експериментального

- діабету 2 типу // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2016. № 3. С. 31–33.
66. Загайко А. Л., Вороніна Л. М., Волощенко М. В. Функціональна біохімія. Харків, 2010. 219 с.
67. Землянских Н. Г., Бабийчук Л. А., Дюбко Т. С. Криоконсервирование эритроцитов с непроникающим криопротектором ПЭО-1500. Изучение взаимодействий криопротектора с мембраной при различных температурах // Гематология і переливання крові : міжвідом. зб. Київ, 2004. Вип. 32, ч. 1. С. 45–52.
68. Землянских Н. Г., Бабийчук Л. А. Влияние криоконсервирования в присутствии криопротектора ПЭГ-1500 на поверхностные характеристики эритроцитов // Проблемы криобиологии и криомедицины. 2015. Т. 25, № 2. С. 104–113.
69. Землянских Н. Г., Бабийчук Л. А. Изменение активности Ca^{2+} - АТФазы эритроцитов под влиянием ПЭГ-1500 и низких температур // Цитология. 2016. Т. 58, № 12. С. 964–970.
70. Зубкова І. А., Кривонос К. А., Щербань М. Г., Сокол К. М. Гігієнічна оцінка стану санітарно-захисних зон промислових підприємств м. Харкова // Казантип-ЭКО-2013. Инновационные пути решения актуальных проблем базовых отраслей, экологии, энерго- и ресурсосбережения : сборник трудов XXI Междунар. науч.-практ. конф., 3–7 июня 2013 г., Щелкино, 2013. С. 284–286.
71. Ивашкин В. Т. Болезни печени и желчевыводящих путей: руководство для врачей. 2-е изд. Москва, 2005. 536 с.
72. Ильиных М. А. Структурно-функциональная характеристика поджелудочной железы потомства самок крыс с хроническим поражением гепатобилиарной системы различного генеза : автореф. дис. ... канд. биол. наук : спец. 03.00.13 «Физиология». Челябинск, 2007. 22 с.
73. Кагава Я. Биомембраны : научное издание. Москва, 1985. 303 с.
74. Камышников В. С. Клинические лабораторные тесты от А до Я и их диагностические профили : справочное пособие. Москва, 2007. 320 с.

75. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. 3 -е изд. Москва, 2009. 896 с.
76. Клинков А. С., Баяев П. С., Скуратов В. К. Утилизация и вторичная переработка тары и упаковки из полимерных материалов : учеб. пособие. Тамбов, 2010. 32 с.
77. Колб В. Г., Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2 т. Минск, 2000. Т. 1. 495 с.
78. Кондрахин И. П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики : справочник. Москва, 2004. 520 с.
79. Косухин А. Б., Ахметова Б. С. Экстракция липидов смесью гептан-изопропанол для определения диеновых конъюгатов // Лабораторное дело. 1987. № 6. С. 335–337.
80. Кот Ю. Г., Фальченко К. В., Морозова К. С., Перский Е. Э., Седова К. В., Эль-та'алу А. Б. Зависимость содержания коллагена и гликозаминогликанов в культуре фибробластов от числа клеточных делений // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія : Біологія. 2010. № 920. Вип. 12. С. 5–9.
81. Кот Ю. Г., Эль-та'алу А. Б. Вплив механічного напруження на вміст глікозаміногліканів у шкірі щурів // Біологія: від молекули до біосфери : матеріали II Міжнар. конф. молодих науковців, 19–21 листопада 2007 р., Харків, 2007. С. 37–38.
82. Кот Ю. Г., Эль-та'алу А. Б. Порівняльне дослідження впливу механічного напруження на синтез колагену та глікозаміногліканів у сполучній тканині // Молодь і поступ біології : матеріали III Міжнар. конф. студ. та аспірантів, 23–27 квіт. 2007 р., Львів, 2007. С. 68–69.
83. Кочетов Т. А. Практическое руководство по энзимологии. Москва, 1980. 217 с.
84. Кричковская Л. В., Никитченко Ю. В., Дзюба В. Н. Химия и биохимия антиоксидантной системы организма при старении : учеб. пособие для вузов. Харьков, 2012. 153 с.
85. Кучеренко В. П., Жуков В. І., Щербань М. Г., Безродна А. І., Стеценко С. О. Обґрунтування гранично допустимих концентрацій простих олігоєфірів

- технічної назви «Лапроли» марок 2102 і 3603-2-12 у воді водойм господарсько-питного і культурно-побутового призначення // Вісник проблем біології і медицини. 2015. Вип. 4, т. 1 (124). С. 48–53.
86. Кучеренко В. П., Жуков В. І., Щербань М. Г., Безродна А. І. Якісна та кількісна оцінка ступеня гідролітичної деструкції та трансформації простих олігоєфірів призначення // Світ медицини та біології. 2015. № 4 (53). С. 39–42.
87. Лебідь К. М. Дослідження біохімічної відповіді молодих і старих тварин на гепатотоксичну дію сірчаноокислої міді та вплив біологічних антидотів: дис. ... канд. біол. наук : 03.00.04 «Біохімія». Харків, 2017. 162 с.
88. Лезенко Г. О. Деякі аспекти захисту довкілля та населення від впливу поліетилену в країнах Європи та в США // Екологічний вісник. 2012. № 4. С. 9–11.
89. Лившиц В. М., Сидельникова В. И. Биохимические анализы в клинике. Москва, 2002. 202 с.
90. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. Москва, 1969. 646 с.
91. Макаров В. Г., Абрашова Т. В., Соколова А. П., Ковалева М. А. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных : справочник. Санкт-Петербург, 2013. 116 с.
92. Максимова І. Г. Вплив сумішей імідазолінів на активність НАДФН-цитохром с редуктази та вміст цитохрому Р-450 у мікросомальній фракції печінки щурів // Світ медицини та біології. 2016. № 2 (56). С. 129–132.
93. Максимова І. Г. Особливості фосфоліпідного складу мембран клітин крові щурів за умов тривалої дії сумішей імідазолінів // Медицина сьогодні і завтра. 2015. № 3 (68). С. 19–24.
94. Маракушин Д. И., Наконечная О. А., Максимова И. Г. Влияние оксиэтилированных алкилфенолов на гормональный обмен белых крыс в подостром эксперименте // Annals of Mechnikov Institute. 2013. № 2. С. 35–39.
95. Маракушин Д. И., Наконечная О. А., Вишницкая И. А. Влияние оксиэтилированных алкилфенолов на состояние белкового обмена в подостром

токсикологическом опыте // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. 2013. № 2, т. 8. С. 173–178.

96. Маракушин Д. І. Патолофізіологічні механізми розвитку структурно-метаболических і функціональних порушень за дії на організм оксигетильованих нонілфенолів та їх похідних : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : спец. 14.03.04 «Патологічна фізіологія». Харків, 2017. 39 с.
97. Мардашев С. Р., Карелин А. А. Определение трансамидиназы в сыворотке крови и моче при поражениях почек и поджелудочной железы // Методы исследования активности некоторых ферментов в клинике. Москва, 1967. С. 67–72.
98. Мартинюк М. М., Доманцевич Н. І. Аналітичний огляд методів утилізації та перероблення відходів з пластичних мас // Товарознавчий вісник : зб. наук. пр. Луцьк, 2009. С. 199–207.
99. Медведев В. В., Волчек Ю. З. Медицинская лаборатория и диагностика : справочник для врачей. Санкт-Петербург, 1997. 208 с.
100. Мельник А. В. Статеві особливості метаболізму сірковмісних амінокислот і гідроген сульфіді та їх зв'язок зі станом серцево-судинної системи (експериментальне дослідження): дис. ... д-ра мед. наук : 03.00.04 «Біохімія». Київ, 2017. 376 с.
101. Меншиков В. В. Методы клинической биохимии гормонов и медиаторов : учеб. пособие. Москва, 1973. Ч. 1. 304 с.
102. Меншиков В. В. Методы клинической биохимии гормонов и медиаторов : учеб. пособие. Москва, 1973. Ч. 2. 308 с.
103. Меншиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник. Москва, 1987. 368 с.
104. Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К., Ланкин В. З., Бондарь И. А., Труфакин В. А. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. Новосибирск, 2008. 284 с.
105. Методические рекомендации по выведению лабораторных животных из эксперимента. Киев, 1986. 12 с.

106. Моин В. Н. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лабораторное дело. 1986. № 212. С. 724–727.
107. Мошков К. А., Бурмистров С. О., Усатенко М. С. Активность и содержание церулоплазмينا в крови людей при острой и хронической алкогольной интоксикации // Фармакология и токсикология. 1986. Т. 49, № 1. С. 92–95.
108. Наконечна О. А. Біохімічні механізми порушень стану інтегративних систем організму за умов дії простих поліефірів та засоби їх корекції : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : спец. 14.01.32 «Медична біохімія». Луганськ, 2012. 40 с.
109. Наконечна О. А. Вплив простих поліефірів на фосфоліпідний склад еритроцитів та гепатоцитів щурів // Експериментальна і клінічна медицина. 2009. № 1. С. 82–84.
110. Наконечна О. А. Стан системи антиоксидантного захисту в організмі щурів за умов дії простих поліефірів // Досягнення біології та медицини. 2009. № 1(13). С. 23–26.
111. Наконечна О. А. Вплив простих поліефірів на активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази та сукцинатдегідрогенази в мембранних структурах головного мозку щурів // Український медичний альманах. 2009. Т. 12, № 6. С. 131–132.
112. Наконечна О. А., Безродна А. І., Абрамова Л. П. Основні показники вуглеводного обміну та його регуляції за умов впливу поліетиленгліколю // Здоров'я людини: теорія і практика : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 25-річчю мед. ін-ту Сумського держ. ун-ту, 17–19 жовтня 2017 р. Суми, 2017. С. 73–75.
113. Наконечна О. А., Безродна А. І., Кривонос К. А. Вплив блоксополімерів на регуляцію та основні показники білкового та вуглеводного обмінів у щурів в умовах підгострого токсикологічного експерименту // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія : Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2018. № 25. С. 55–59.

114. Наконечна О. А., Абрамова Л. П., Безродна А. І., Новікова О. О. Вміст в крові тиреотропного та тиреоїдних гормонів за умов токсифікації тварин поверхнево-активними речовинами в підгострому експерименті // Біологічні дослідження – 2017 : збірник наук. пр. VIII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 14–16 берез. 2017 р. Житомир, 2017. С. 270–271.
115. Наконечная О. А., Безродная А. И. Основные показатели углеводного обмена в результате действия поверхностно-активных веществ на основе окиси этилена и пропилена // Актуальные проблемы медицины : сборник науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. и 27-й итоговой науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та, 2–3 нояб. 2017 г. Гомель, 2017. С. 553–556.
116. Наконечная О. А., Безродная А. И. Основные показатели углеводного и белкового обмена в результате действия полиэтиленгликоля // Проблемы, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук : матеріали II Міжнар. заоч. наук.-практ. конф., 30 жовт. 2017 р. Миколаїв, 2017. С. 60–62.
117. Наконечная О. А., Безродная А. И. Влияние олигоэфиров на репродуктивную функцию крыс в условиях эксперимента // БатысҚазақстан медицина журналы. 2016. № 3 (51). С. 128–132.
118. Нардид О. А., Черкашина Я. О., Иванов Л. В., Нардид Э. О., Ляпунов А. Н., Мамонтов В. В. Влияние пропиленгликоля и полиэтиленгликоля с молекулярной массой 1500 на микровязкость мембран эритроцитов // Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016. Т. 26, № 1. С. 35–44.
119. Національна доповідь про стан навколишнього природного середовища в Україні у 2014 році. Київ, 2016. 350 с.
120. Національна доповідь про стан навколишнього природного середовища в Україні у 2015 році. Київ, 2017. 308 с.
121. Національний огляд: Ендокринні руйнівники в Україні: стан проблеми та шляхи її вирішення (Перша версія). Київ, 2018. 159 с.
122. Никитченко Ю. В. Роль прооксидантно-антиоксидантной системы в процессах старения и экспериментальные подходы к регуляции

- продолжительности жизни // Биологические механизмы старения : VII Международный симпозиум : сборник материалов науч.-практ. конф., 24–27 мая 2006 г. Харьков, 2006. С. 4.
123. Нікберг І. І., Сергета І. В., Цимбалюк Л. І. Гігієна з основами екології : підручник. Київ, 2001. 504 с.
124. Огнев В. А. Эпидемиология астмы и аллергии у детей : монография. Харьков, 2015. 336 с.
125. Огляд стану забруднення навколишнього природного середовища на території України у 2017 році за даними спостережень мережі національної гідрометслужби України. Київ, 2018. 56 с.
126. Остапченко Л. І. Біологічні мембрани: методи дослідження структури та функцій : навч. посіб. Київ, 2006. 215 с.
127. Перський Є. Е., Кот Ю. Г., Эль та'алу А. Б., Пономаренко А. Н. Связь между возрастными изменениями белково-полисахаридного состава и биомеханическими свойствами кожи // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія : Біологія. 2010. № 905. Вип. 11. С. 37–42.
128. Перський Є. Е., У Си, Кот Ю. Г., Кот Е. В. Особенности цитотоксичности длительного введения ультрамалых доз ионов кадмия на фибробласты кожи, легкого, почек и роговицы крыс // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія : Біологія. 2015. Вип. 25. С. 332–340.
129. Пирс Э. Гистохимия. Теоретическая и прикладная. Москва, 1962. 964 с.
130. Покровский А. А., Арчаков А. И. Методы разделения и ферментативная идентификация субклеточных фракций // Современные методы в биохимии. Москва, 1968. С. 5–59.
131. Про соціально-економічне становище України : доповідь / Державна служба статистики України. Київ, 2017. 80 с.
132. Промисловість України у 2011–2015 роках: стат. зб. / Держ. ком. статистики України. Київ, 2016. 381 с.

133. Резников А. Г. Методы определения гормонов: справочное пособие. Киев, 1980. 400 с.
134. Резуненко Ю. К. Гігієнічне обґрунтування прогнозу потенційної небезпеки поліолів на основі гліцеролу, ксиліту, етилен- і пропіленгліколю у зв'язку з проблемою санітарної охорони водних джерел: дис. ... д-ра мед. наук: спец.14.02.01 «Гігієна». Харків, 2014. 304 с.
135. Рыболовлев Ю. Р., Рыболовлев Р. С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Доклады АН СССР. 1979. № 6. С. 1513–1516.
136. Северин С. Е., Соловьева Г. А. Практикум по биохимии. Москва, 1989. 509 с.
137. Сердюк А. М., Тимченко О. І., Гойда Н. Г. Генофонд і здоров'я населення: методологія оцінки ризику від мутагенів довкілля, напрямки профілактики генетично обумовленої патології. Київ, 2003. 191 с.
138. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Київ, 2001. 528 с.
139. Силина Е. В., Румянцева С. А., Афанасьев В. В. Антиоксидантная энергокоррекция при острой и хронической цереброваскулярной патологии // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2013. Т. 113, № 10. С. 88–94.
140. Ситар В. І., Бурмістр М. В., Кабат О. С. Промислова екологія при виробництві та переробці полімерних матеріалів. Дніпропетровськ, 2012. 117 с.
141. Спосіб виділення ядровмісних клітин пуповинної крові: пат. 23499 Україна ; заявл. 22.01.2007 ; опубл. 25.05.2007, Бюл. № 7. 5 с.
142. Спосіб корекції порушень процесів знешкодження в печінці тварин, токсифікованих олігоефірами багатоатомних спиртів: пат. 115049 ; заявл. 21.11.2016 ; опубл. 27.03.2017, Бюл. № 6. 6 с.
143. Спосіб прогнозування рівня токсичності поверхнево-активних речовин: пат. 118223 Україна ; заявл. 28.11.2016 ; опубл. 10.12.2018, Бюл. № 23. 6 с.

144. Способ разделения гепатоцитов: пат. 1510356 СССР ; заявл. 29.06.1987 ; опубл. 07.06.1992, Бюл. № 21. 5 с.
145. Тареев Е. М. Болезни печени и желчных путей. Москва, 1965. 508 с.
146. Тефтыюєва Н. Б., Яремій І. М., Григор'єва Н. П. Вплив настоянки перстачу прямостоячого на глутатіонову систему печінки щурів за умов токсичного гепатиту // Медична хімія. 2001. Т. 3, № 4. С. 52–55.
147. Тюпка Т. І. Вплив енапу на процеси перекисного окиснення ліпідів і стан антиоксидантної системи щурів з експериментальним гемодинамічним набряком легень // Медицина сьогодні і завтра. 2006. № 1. С. 17–18.
148. Тюпка Т. І., Березнякова А. І. Структурно-функціональний стан еритроцитів і механізми порушень мікроциркуляції при експериментальному гемодинамічному набряку легень // Запорожский медицинский журнал. 2007. № 6 (45). С. 48–50.
149. У Сі, Кот Ю., Кот К., Перський Є. Показники загального обміну і оксидативного стресу у щурів при тривалій дії малих концентрацій Cd²⁺ // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія : Біологія. 2017. Вип. 29. С. 182–187.
150. Федорова Т. Н., Коршунова Т. С., Ларский Э. Г. Реакции с тиобарбитуровой кислотой для определения малонового диальдегида крови методом флюориметрии // Лабораторное дело. 1983. № 3. С. 25–28.
151. Хром'як У. В., Борщизин І. Д. Вторинне використання відходів полістирольних матеріалів // Вісник Львівського державного університету безпеки життєдіяльності. 2012. № 6. С. 208–213.
152. Цевелева И. А. Оценка методов определения сульфатной серы в биологическом материале // Лабораторное дело. 1971. № 5. С. 304–306.
153. Цыганенко А. Я., Жуков В. И., Щербань Н. Г. Научные основы обоснования прогноза потенциальной опасности детергентов в связи с регламентацией в воде водоёмов : монографія. Белгород, 2001. 442 с.
154. Чижов А. Я. Современные проблемы экологической патологии человека : учеб. пособие. Москва, 2008. 611 с.

155. Чорна І. В., Висоцький І. Ю. Біохімія мембран : навч. посіб. Суми, 2015. 72 с.
156. Шатинська О., Іскра Р., Сварчевська О. Зміни активності ензимів вуглеводного обміну у печінці щурів з експериментально-індукованим діабетом за дії цитратів магнію і хрому // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2016. Вип. 73. С. 235–239.
157. Шевченко О. А., Деркачов Е. А., Огір Л. Б. Вплив забруднення ґрунту на захворюваність дитячого населення на території інтенсивного техногенного навантаження // Медичні перспективи. 2007. Т. 12, № 3. С. 84–87.
158. Шевченко О. А., Огір К. Ю., Огір Л. Б. Оцінка та прогнозування ризиків для здоров'я населення на територіях техногенного навантаження промисловими відходами // Довкілля та здоров'я. 2009. № 4 (51). С. 25–29.
159. Шкуратівська С., Ерстенюк Г. Вплив адреналіну на динаміку показників вуглеводного обміну в щурів // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2017. Вип. 75. С. 151–157.
160. Шпакова Н. М. Температурна та осмотична стійкість еритроцитів різних видів ссавців : автореф. дис. ... д-ра біол. наук : спец. 03.00.19 «Кріобіологія». Харків, 2014. 44 с.
161. Шульпекова Ю. О. Лекарственные поражения печени // Врач. 2010. № 7. С. 10–13.
162. Шульгин К. К. Регуляция активности глутатионпероксидазы при токсическом поражении печени крыс и действию веществ – протекторов : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : спец. 03.00.04 «Биохимия». Минск, 2008. 36 с.
163. Щербань М. Г. Наукове обґрунтування заходів з оздоровлення верхів'я ріки С. Донець – основного джерела питного водопостачання населення південно-східного регіону України : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : спец. 14.02.01 «Гігієна». Київ, 2007. 39 с.
164. Щербань Н. Г., Жуков В. И., Мясоедов В. В. Биохимические механизмы радиомиметических эффектов поверхностно-активных веществ. Харьков, 2012. 120 с.

165. Щербань Н. Г., Жуков В. И., Мясоедов В. В., Резуненко Ю. К. Оценка рисков здоровья населения опасных отходов (Биохимические аспекты). Харьков, 2010. 156 с.
166. Щербань Н. Г., Жуков В. И., Безродна А. И., Зайцева О. В., Ващук Н. А., Оветчин П. В., Гопкалов В. Г. Вплив субтоксичних доз олігоєфірів на вуглеводний і енергетичний обмін печінки білих щурів в експерименті // Світ медицини та біології. 2016. № 1 (55). С. 176–180.
167. Цыганенко А. Я., Щербань Н. Г., Пивень В. И. Эпоксидсодержащие гликоли. Медико-экологические проблемы охраны здоровья населения и водных экосистем. Белгород, 2001. 145 с.
168. Эль-та'алу А. Б., Кот Ю. Г., Перский Е. Э., Пономаренко А. Н. Связь между возрастными изменениями белково-полисахаридного состава и биомеханическими свойствами кожи // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Сер. : Біологія. 2010. № 905, Вип. 11. С. 37–42.
169. Chaudhari N., Talwar P., Parimisetty A. A Molecular web: endoplasmic reticulum stress, inflammation, and oxidative stress // Front Cell Neurosci. 2014. Vol. 8. P. 213–215.
170. Abdelhalim M. A. K., Moussa S. A. A., Qaid H. A. Y. The protective role of quercetin and arginine on gold nanoparticles induced hepatotoxicity in rats // Int. J. Nanomed. 2018. № 13. P. 2821–2825.
171. Abrahamsen J. F., Bakken A. M., Bruserud O. Flow cytometric measurement of apoptosis and necrosis in cryopreserved PBPC concentrates from patients with malignant diseases // Bone Marrow Transplant. 2002. № 29. P. 165–171.
172. Acuna-Castroviejo D., Escames G., Rodriguez M. I. Melatonin role in the mitochondrial function // Front Biosci. 2007. № 12. P. 947–963.
173. Afifi N. A., Ibrahim M. A., Galal M. K. Hepatoprotective influence of quercetin and ellagic acid on thioacetamide-induced hepatotoxicity in rats // Can. J. Physiol. Pharmacol. 2018. № 7. P. 1–6.

174. Aguirre L., Arias N., Macarulla M. T. Beneficial Effects of Quercetin on Obesity and Diabetes // *The Open Nutraceuticals Journal*. 2011. № 4. P. 189–198.
175. Ahmed O. M., Mohamed T., Moustafa H., Hamdy H., Ahmed R. R., Aboud E. Quercetin and low level laser therapy promote wound healing process in diabetic rats via structural reorganization and modulatory effects on inflammation and oxidative stress // *Biomed. Pharmacother.* 2018. № 101. P. 58–73.
176. Alavanja M. C., Hoppin J. A., Kamel F. Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity // *Annu. Rev. Public Health*. 2004. № 25. P. 155–197.
177. Alonso-Magdalena P., Vieira E., Soriano S., Menes L., Burks D. Bisphenol A exposure during pregnancy disrupts glucose homeostasis in mothers and adult male offspring // *Environ Health Perspect.* 2010. № 118. P. 1243–1250.
178. Anand D. A. V., Arulmoli R., Parasuraman S. Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid // *Pharmacogn. Rev.* 2016. № 10. P. 84–89.
179. Andrea A., Mc Carty J., Pisano R., Joan-Emma S. Effect of Surfactants on Surface-Induced Denaturation of Proteins: Evidence of an Orientation-Dependent Mechanism // *J. Phys. Chem. B*. 2018. № 122. P. 11390–11399.
180. Ansar S., Siddiqi N. J., Zargar S., Ganaie M. A. Hepatoprotective effect of quercetin supplementation against acrylamide-induced DNA damage in wistar rats // *BMC Complement Altern Med.* 2016. № 16. P. 327–339.
181. Anway M. D., Leathers C., Skinner M. K. Endocrine disruptor vinclozolin induced epigenetic transgenerational adult-onset disease // *Endocrinology*. 2006. № 147. P. 5515–5523.
182. Anzenbacher P., Zanger U. M. *Metabolism of drugs and other xenobiotics*. Weinheim, 2012. 724 p.
183. Armstrong D., Stratton R. D. *Textbook of oxidative stress and antioxidant protection the science of free radical biology and disease*. New York, John Wiley & Sons, 2016. 600 p.

184. Ashraf N. U., Sheikh T. A. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease // *Free Radical Research*. 2015. Vol. 49. P. 1405–1418.
185. Atef Y., El-Fayoumi H. M., Abdel-Mottaleb Y., Mahmoud M. F. Quercetin and tin protoporphyrin attenuate hepatic ischemia reperfusion injury: role of HO-1. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2017. № 390. P. 871–881.
186. Ayala A., Munoz M. F., Arguelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal // *Oxid. Med. Cell Longev*. 2014. № 8. P. 360–438.
187. Babiychuk L. A., Zemlyanskikh N. G. Influence of polyethylene oxide-1500 and of temperature on peculiarities of modification of erythrocyte membranes // *Problems of Cryobiology*. 1996. № 4. P. 30–38.
188. Bardy G., Virsolvy A., Quignard J. F., Ravier M. A., Bertrand G., Dalle S., Cros G., Magous R., Richard S., Oiry C. Quercetin induces insulin secretion by direct activation of L-type calcium channels in pancreatic beta cells // *Br. J. Pharmacol*. 2013. № 169. P. 1102–1113.
189. Bartneck M., Warzecha K. T., Tacke F. Therapeutic targeting of liver inflammation and fibrosis by nanomedicine // *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2014. № 3. P. 364–376.
190. Bassil K. L., Vakil C., Sanborn M., Cole D. C., Kaur J. S., Kerr K. J. Cancer health effects of pesticides: systematic review // *Can. Fam. Physician*. 2007. № 53. P. 1704–1711.
191. Basu G., Mohapatra A. Interactions between thyroid disorders and kidney disease // *Indian J. Endocrinol. Metab*. 2012. № 16. P. 204–213.
192. Bezrodnaya A. I., Krivonos K. A. Genetic aspects of environmental pathology // 9th ISABS Conference on Forensic, Anthropologic Genetics and Mayo Clinic Lectures in Individualised Medicine : abstracts book, 22–26 June 2015, Croatia, 2015. P. 199.
193. Bezrodnaya A. I., Mbonu Favour Chinomso, Aladetoyinbo Anuoluwapo Elizabeth Investigation of enzyme activity under the conditions of influence of

- surface-active substances in rats in the subacute toxicological experiment // The International Scientific Interdisciplinary Conference (ISIC) : abstracts book, 23–25 May 2018, Kharkiv, 2018. P. 18–19.
194. Bezrodnaya A. I., Jukov V. I., Shcherban N. G. The influence of oligoesters on hormonal metabolism // Croatian student summit 12 : abstracts book, March 2016, Croatia, 2016. P. 12.
195. Biler M, Biedermann D. Quercetin and its analogues: optical and acido-basic properties // *Phys. Chem.* 2017. № 19. P. 268–319.
196. Blythe T., Bloor D. *Electrical Properties of Polymers*. London, 2008. 496 p.
197. Bozhkov A. I., Nikitchenko Yu. V., Lebid K. M., Ivanov E. G., Kurguzova N. I., Gayevoy S. S., Sharko M. O., Alsardia Mohammad M A, Al Begai Mohammad A. Y. Low molecular weight components from various sources eliminate oxidative stress and restore physiological characteristic of animals at early stages of Cu- induced liver fibrosis development // *Translational Biomedicine*. 2017. Vol. 8, № 2. P. 1–9.
198. Bozhkov A. I., Linkevych O. S., Ivanov E. G., Klimova O. M., Al Begai M. A. Y. Low molecular weight components of colostrum regulate the activity of cellular component of the immune system in animals with Cu-induced liver fibrosis // *Int. J. Curr. Res.* 2016. № 8. P. 44129–44137.
199. Bozhkov A. I., Nikitchenko Y. I., Klimova E. M., Lenkevich E. S., Lebid E. N. Young and old animals use different metabolic strategies to adapt to the Cu-induced fibrosis of the liver // *The successes of gerontology*. 2016. № 29. P. 555–566.
200. Bozhkov A. I., Nikitchenko Y. V., Lebed' K. N., Linkevych O. S., Kurguzova N. I. The cyclic feeding regime induces decaying agedependent oxidative stress and regulates the cell chain of the immunity // *Adv. Aging. Res.* 2016. № 5. P. 151–165.
201. Brenner C., Galluzzi L., Kepp O., Kroemer G. Decoding cell death signals in liver inflammation // *Journal of Hepatology*. 2013. № 59. P. 583–594.
202. Campisi J. Cellular senescence and apoptosis: how cellular responses might influence aging phenotypes // *Exp Gerontol*. 2003. № 38. P. 5–11.

203. Chan S. T., Chuang C. H., Lin Y. C., Liao J. W., Lii C. K., Yeh S. L. Quercetin enhances the antitumor effect of trichostatin A and suppresses muscle wasting in tumorbearing mice // *Food Funct.* 2018. № 7. P. 871–879.
204. Chen S., Xuan J., Couch L., Iyer A., Wu Y., Li Q. Z., Guo L. Sertraline induces endoplasmic reticulum stress in hepatic cells // *Toxicology.* 2014. № 322. P. 78–88.
205. Chen Y., Yu T. Testosterone mediates hyperthermic response of mice to heat exposure // *Life Sci.* 2018. № 1. P. 34–40.
206. Chen M. M., Qin J., Chen S. J., Yao L. M., Zhang L. Y., Yin Z. Q. Quercetin promotes motor and sensory function recovery following sciatic nerve-crush injury in C57BL/6J mice // *J. Nutr. Biochem.* 2017. № 46. P. 57–67.
207. Chen S., Jiang H., Wu X., Fang J. Therapeutic effects of quercetin on inflammation, obesity, and type 2 diabetes // *Mediators Inflamm.* 2016. № 93. P. 406–437.
208. Choi E. J., Chee K. M., Lee B. H. Anti- and prooxidant effects of chronic quercetin administration in rats // *Eur. J. Pharmacol.* 2003. № 482. P. 281–285.
209. Christopher J. L., Mohammad H., Ashkan A. Murray Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 // *Lancet.* 2016. № 388. P. 1659–1724.
210. Cicho-Lach H., Michalak A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases // *World J. Gastroenterol.* 2014. № 20. P. 8082–8091.
211. Collotta M., Bertazzi P. A., Bollati V. Epigenetics and pesticides // *Toxicology.* 2013. № 307. P. 35–41.
212. Copps K. D., White M. F. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2 // *Diabetologia.* 2012. № 55. P. 2565–2582.
213. Cracowski J. L., Stance Labesque F., Bessard G. Isoprostanes: new markets of oxidative stress. Fundamental and clinical aspects // *Rev. Med. Interne.* 2000. № 21. P. 304–307.

214. Damalas C. A., Eleftherohorinos I. G. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2011. № 8. P. 1402–1419.
215. Danielle K., Pelkonen O., Ahokas T. Hepatocytes: the powerhouse of biotransformation // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2012. № 44. P. 257–265.
216. De Coster S., Van Larebeke N. Endocrine-disrupting chemicals: associated disorders and mechanisms of action // *J. Environ. Public Health*. 2012. № 7. P. 136–196.
217. D’Cruz S. C., Jubendradass R., Jayakanthan M., Rani S. J., Mathur P. P. Bisphenol A impairs insulin signaling and glucose homeostasis and decreases steroidogenesis in rat testis: An in vivo and in silico study // *Food Chem. Toxicol.* 2012. № 50. P. 1124–1133.
218. Desaulniers D., Xiao G. H., Lian H., Feng Y. L., Zhu J., Nakai J. Effects of mixtures of polychlorinated biphenyls, methylmercury, and organochlorine pesticides on hepatic DNA methylation in prepubertal female Sprague-Dawley rats // *Int. J. Toxicol.* 2009. № 28. P. 294–307.
219. Diamanti-Kandarakis E., Bourguignon J. P., Giudice L. C. Endocrine disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement // *Endocrine Reviews*. 2009. Vol. 30, № 4. P. 293–342.
220. Doroshenko A. O., Posokhov E. A., Shershukov V. M., Mitina V. G., Ponomarev O. A. Intramolecular proton-transfer reaction in an excited state in a series of ortho-hydroxy derivatives of 2,5-diaryloxazole // *High Energy Chemistry*. 1997. № 31. P. 388–394.
221. Doroshenko A. O., Posokhov E. A., Verezubova A. A., Ptyagina L. M., Skripkina V. T., Shershukov V. M. Radiationless deactivation of the excited phototautomer form and molecular structure of ESIPT-compounds // *Photochem. Photobiol. Sci.* 2002. № 1. P. 92–99.
222. Doroshenko A. O., Posokhov E. A., Verezubova A. A., Ptyagina L. M. Excited state intramolecular proton transfer reaction and luminescent properties of the ortho-

- hydroxy derivatives of 2,5-diphenyl-1,3,4-oxadiazole // *J. Phys. Org Chem.* 2000. № 13. P. 253–265.
223. Doroshenko A. O., Posokhov E. A. Proton phototransfer in a series of ortho-hydroxy derivatives of 2,5-diphenyl-1,3-oxazole and 2,5-diphenyl-1,3,4-oxadiazole in polystyrene films // *Theor. Exper. Chem.* 1999. № 35. P. 334–337.
224. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function // *Physiol. Rev.* 2002. № 82. P. 47–95.
225. Dziubla T., Butterfield D. A. Oxidative stress and biomaterials. London, 2016. 389 p.
226. El-Gohary O. A., Hussien N. I. Effect of Exercise and Quercetin on Obesity Induced Metabolic and Renal Impairments in Albino Rats // *Journal of Physiology and Pharmacology Advances.* 2015. № 5. P. 589–602.
227. El-ta'alu A. B., Kot Yu. G., Falchenko K. V., Persky Ye. E., Ponomarenko A. N. Age-ratios in the concentration of collagen, elastin and glycosaminoglycans in the skin and aorta of rats // *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія : Біологія.* 2009. № 814. Вип. 7. С. 26–29.
228. Esposito D. L., Li Y., Cama A., Quon M. J. Tyr (612) and Tyr (632) in human insulin receptor substrate-1 are important for full activation of insulin-stimulated phosphatidylinositol 3-kinase activity and translocation of GLUT4 in adipose cells // *Endocrinology.* 2001. № 142. P. 2833–2840.
229. Esrefoglu M., Cetin A., Taslidere E., Elbe H., Ates B., Tok O. E. Therapeutic effects of melatonin and quercetin in improvement of hepatic steatosis in rats through supression of oxidative damage // *Bratisl Lek Listy.* 2017. № 118. P. 347–354.
230. Farag M. R., Alagawany M. Erythrocytes as a biological model for screening of xenobiotics toxicity // *Chemico-Biological Interactions.* 2018. № 279. P. 73–83.
231. Farn R. J. Chemistry and Technology of Surfactants. Oxford, 2006. 311 p.
232. Francesco V. Xenobiotics and human health: A new view of their pharmac-nutritional role // *Pharma Nutrition.* 2015. № 3. P. 60–64.

233. Franco R., Schoneveld O., Georgakilas A. G., Panayiotidis M. I. Oxidative stress, DNA methylation and carcinogenesis // *Cancer Lett.* 2008. № 266. P. 6–11.
234. Fukai T., Ushio-Fukai M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases // *Antioxid Redox Signal.* 2011. № 15. P. 379–385.
235. Gabbianelli R. Modulation of the Epigenome by Nutrition and Xenobiotics during Early Life and across the Life Span: The Key Role of Lifestyle // *Lifestyle Genomics.* 2018. № 11. P. 9–12.
236. Gebhardt R. Speeding up hepatocyte proliferation: how triiodothyronine and β -catenin join forces // *Hepatology.* 2014. № 59. P. 2074–2076.
237. Genestra M. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants // *Cell Signal.* 2007. № 19. P. 1807–1819.
238. Gunawan B. K., Kaplowitz N. Mechanisms of drug-induced liver disease // *Clin. Liver Dis.* 2007. № 11. P. 459–475.
239. Guo C., Yang R. J., Jang K., Zhou X. L., Liu Y. Z. Protective effects of pretreatment with quercetin against lipopolysaccharide induced apoptosis and the inhibition of osteoblast differentiation via the MAPK and Wnt/ β -catenin pathways in MC3T3-E1 Cells // *Cell Physiol Biochem.* 2017. № 43. P. 1547–1561.
240. Hernandez-Gea V., Friedman S. L. Pathogenesis of liver fibrosis pathology: Mechanisms of disease // *Annu. Rev. Pathol.* 2010. № 6. P. 425–456.
241. Hoffmann M. F., Preissner S. C., Nickel J. The transformer database: biotransformation of xenobiotics // *Nucleic Acids Res.* 2014. № 1. P. 1113–1117.
242. Hristev H., Penkov D., Hallak A. K. Serum protein changes in rabbits after chronic administration of lead and cadmium // *J. Cent. Eur. Agric.* 2008. № 9. P. 141–145.
243. 8 isoprostane ELISA Kit. Instructions for Use. URL : <https://www.caymanchem.com/pdfs/516351.pdf> (date of application: 14.05.2019).
244. Jae K. K., Sang U. P. Quercetin and its role in biological functions: an updated review // *EXCLI Journal.* 2018. № 17. P. 856–863.

245. Jaeschke H., McGill M. R., Ramachandran A. Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity // *Drug Metab. Rev.* 2012. № 44. P. 88–106.
246. James M. O., Ambadapadi S. Interactions of cytosolic sulfotransferases with xenobiotics // *Drug Metabolism Reviews.* 2013. № 4. P. 401–414.
247. Jayashree S., Indumathi D., Akilavalli N, Sathish S, Selvaraj J., Balasubramanian K. Effect of Bisphenol-A on insulin signal transduction and glucose oxidation in liver of adult male albino rat // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2013. № 35. P. 300–310.
248. Julinova M., Vanharova L., Jurca M. Water-soluble polymeric xenobiotics - Polyvinyl alcohol and polyvinylpyrrolidone - And potential solutions to environmental issues: A brief review // *J. Environ. Manage.* 2018. № 14. P. 213–222.
249. Kajbaf M., Ricci R., Zambon Contribution of rat intestinal metabolism to the xenobiotics clearance // *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics.* 2013. № 38. P. 33–41.
250. Kamath S. A., Kummerow F. A., Harayan K. A. A simple procedure for the isolation of rat liver microsomes // *FEBS Lett.* 1971. № 1. P. 90–92.
251. Kang E. R., Iqbal K., Tran D. A., Rivas G. E., Singh P., Pfeifer G. P., Szabo P. E. Effects of endocrine disruptors on imprinted gene expression in the mouse embryo // *Epigenetics.* 2011. № 6. P. 937–950.
252. Kanno T., Nakamura K., Ikai H. Literature review of the role of hydroxyl radicals in chemically-induced mutagenicity and carcinogenicity for the risk assessment of a disinfection system utilizing photolysis of hydrogenperoxide // *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2012. Vol. 51, N 1. P. 9–14.
253. Klymchenko A. S., Kreder R. Fluorescent probes for lipid rafts: from model membranes to living cells // *Chem. Biol.* 2014. № 21. P. 97–113.
254. Koopman G., Reutelingsperger C. P., Kuijten G. A. Annexin V for flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on B cells undergoing apoptosis // *Blood.* 1994. № 84. P. 1415–1420.

255. Kurguzova N. I., Bozhkov A. I., Nikitchenko Y. V., Al Begai M. A. Y., Goltvyansky A. V. Interconnection of antitoxic and antioxidant systems of the organism under the action of natural low molecular complex-Fungidol // *Am. J. Biomed. Life Sci.* 2015. № 2. P. 25–32.
256. Liu L., Ma C., Wen Z., Zhang L., Zhang Z., Jia L. Effect of bisphenol A exposure during early development on body weight and glucose metabolism of female filial rats // *Wei Sheng Yan Jiu.* 2012. № 41. P. 543–545.
257. Liu J., Yu P., Qian W., Li Y., Zhao J., Huan F., Wang J., Xiao H. Perinatal bisphenol A exposure and adult glucose homeostasis: Identifying critical windows of exposure // *PloS One.* 2013. № 8. P. 64–143.
258. Lodish H., Berk A., Kaiser C. A., Krieger M., Scott M. P., Bretscher A., Ploegh H. *Molecular Cell Biology.* 6th ed. New York, 2016. 1170 p.
259. Luedde T., Kaplowitz N., Schwabe R. F. Cell death and cell death responses in liver disease: mechanisms and clinical relevance // *Gastroenterology.* 2014. № 147. P. 765–783.
260. Lylo V. V., Matsevich L. L., Kotsarenko E. V. Activation of gene expression of the O6 -methylguanine-DNA transferase repair enzyme upon the influence of EMAP II cytokine in human cells in vitro // *Cytology and Genetics.* 2011. № 45. P. 373–378.
261. MacAllister S. L., Maruf A. A. Wan Modeling xenobiotic susceptibility to hepatotoxicity using an in vitro oxidative stress inflammation model // *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology.* 2013. Vol. 91. P. 236–240.
262. Maksymchuk O., Shysh A., Rosohatska I., Chashchyn M. Quercetin prevents type 1 diabetic liver damage through inhibition of CYP2E1 // *Pharmacol. Rep.* 2017. № 69. P. 1386–1392.
263. Martins N., Pereira J. L., Antunes F. E. Role of surfactant headgroups on the toxicity of SLEnS-LAS mixed micelles: A case study using microtox test. // *Sci. Total Environ.* 2018. № 643. P. 1366–1372.
264. McGill M. R., Du K., Weemhoff J. L. Critical review of resveratrol in xenobiotic-induced hepatotoxicity // *Food Chem Toxicol.* 2015. № 10. P. 309–318.

265. McLachlan J. A., Simpson E., Martin M. Endocrine disrupters and female reproductive health // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006. № 20. P. 63–75.
266. Mokhort N. A., Shalamay A. S., Frantsuzova S. B. Study of pharmacotherapeutic properties dosage forms of quercetin // Moibenko A. A. *Bioflavonoids as organoprotectors (quercetin, corvitin, quertin)*. Kiev, 2012. P. 74–117.
267. Monga S. P. S. *Molecular pathology of liver diseases*. New York, 2011. 931 p.
268. Mozhgan N., Mustafa K., Heiko H. Classifying Surfactants with Respect to Their Effect on Lipid Membrane Order // *Biophysical Journal*. 2012. Vol. 102. P. 498–506.
269. Murota K., Terao J. Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism // *Arch. Biochem. Biophys.* 2003. № 417. P. 12–17.
270. Nakonechna O. A., Babijchuk L. A., Bezrodna A. I. Disturbance of the transmembrane phosphatidylserine asymmetry in hepatocytes as an apoptosis marker under the action of xenobiotics on rats // *Ukr. Biochem. J.* 2018. Vol. 90, № 6. P. 82–88.
271. Nakonechna O. A., Babijchuk L. A., Bezrodna A. I. Violation of the transmembrane asymmetry of lipides of hepatocytes as the index of apoptosis in the action of xenobiotics on the organism of rats // *Актуальні питання лабораторної медицини : матеріали наук.-практ. конф. за участю міжнар. спеціалістів, 20–21 листопада 2018 р. Харків, 2018. С. 61–62.*
272. Nakonechna O. A., Bezrodna A. I., Kornienko E. M., Tkacheva T. N., Efimova S. L., Posokhov E. A., Maksimova I. G. The Fluorescent Probe Method in Investigation of the State of Erythrocyte Membranes in White Rats at Exposure to Chemical Environmental Factors // *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2018. Т. 3, № 6 (15). С. 299–303.
273. Nardid O. A., Cherkashina Y. O., Ivanov L. V., Nardid E. O., Lyapunov A. N., Mamontov V. V. Effect of propylene glycol and polyethylene glycol with molecular

- weight of 1,500 on erythrocyte membrane microviscosity // *Problems of Criobiology and Cryomedicine*. 2016. № 26. P. 35–44.
274. Osadchuk T. V., Kibirev V. K., Shybyryn O. V., Semyroz A. V., Velihina Ye. S., Abdurakhmanova E. R., Brovarets V. S. 1,3-Oxazol-4-ylphosphonium salts as new non-peptide inhibitors of furin // *Ukr. Biochem. J.* 2019. Vol. 91, № 4. P. 5–16.
275. Maity S., Rajkumar A., Matai L. Oxidative homeostasis regulates the response to reductive endoplasmic reticulum stress through translation control // *Cell Reports*. 2016. Vol. 16. P. 851–865.
276. Perez-Maldonado I. N., Athanasiadou M., Yanez L., Gonzalez-Amaro R., Bergman A., Diaz-Barriga F. DDE-induced apoptosis in children exposed to the DDT metabolite // *Sci. Total Environ.* 2006. № 370. P. 343–351.
277. Pham-Huy L. A., He H., Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health // *Int. J. Biomed. Sci.* 2008. № 4. P. 89–96.
278. Posokhov Y. O. Ortho-hydroxy derivatives of 2,5-diphenyl-1,3-oxazole and 2,5-diphenyl-1,3,4-oxadiazole as fluorescent probes for toxicological investigations of model biomembranes // *Kharkov University Bulletin. Chemical Series*. 2001. № 7. P. 192–194.
279. Public health and environment [online database]. Global Health Observatory (GHO) data. Geneva: World Health Organization. URL :<http://www.who.int/gho/phe/en/>. (date of the application: 02.09.2018).
280. Ramana K. V., Srivastava S., Singhal S. S. Lipid peroxidation products in human health and disease // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2013. Vol. 2013. P. 13–16.
281. Ravichandran R., Rajendran M., Devapiriam D. Antioxidant study of quercetin and their metal complex and determination of stability constant by spectrophotometry method // *Food Chem.* 2014. № 146. P. 472–478.
282. Renaud H. J., Rutter A., Winn L. M. Assessment of xenobiotic biotransformation including reactive oxygen species generation in the embryo using benzene as an example // *Method Mol. Biol.* 2012. № 889. P. 253–263.

283. Ropero A. B., Alonso-Magdalena P., Garcia-Garcia E., Ripoll C., Fuentes E., Nadal A. Bisphenol-A disruption of the endocrine pancreas and blood glucose homeostasis // *Int. J. Androl.* 2008. № 31. P. 194–200.
284. Saha D., Tamrakar A. Xenobiotics, oxidative stress, free radicals vs. antioxidants : dance of death to heaven's life // *Asian J. Res. Pharm. Sci.* 2011. № 1. P. 36–38.
285. Sharma S., Salehi F., Scheithauer B. W. Role of MGMT in tumor development, progression, diagnosis, treatment and prognosis // *Anticancer Res.* 2009. № 29. P. 3759–3768.
286. Skinner M. K: Endocrine disruptors in 2015: epigenetic transgenerational inheritance // *Nat. Rev Endocrinol.* 2016. № 12. P. 68–70.
287. Schenk S., Saberi M., Olefsky J. M. Insulin sensitivity: Modulation by nutrients and inflammation // *J. Clin. Invest.* 2008. № 118. P. 2992–3002.
288. Tinay I., Sener T. E., Cevik O., Cadirci S., Toklu H., Cetinel S. Antioxidant agent quercetin prevents impairment of bladder tissue contractility and apoptosis in a rat model of ischemia/reperfusion injury // *Low Urin Tract Symptoms.* 2017. № 9. P. 117–123.
289. The impacts of endocrine disrupters on wildlife, people and their environments. The Weybridge+15 (1996–2011) report. European Environment Agency. Copenhagen, Denmark, 2012. 112 p.
290. Torchilin V. P., Omelyanenko V. G., Papisov M. I. Poly(ethyleneglycol) on the liposome surface: on the mechanism of polimer-coated liposome longevity // *Biochem. Biophys. Acta.* 1994. № 1195. P. 11–20.
291. Vinken M., Maes M., Vanhaecke T., Rogiers V. Drug-induced liver injury: Mechanisms, types and biomarkers // *Curr. Med. Chem.* 2013. № 20. P. 3011–3021.
292. Wang F., Fan J., Zhang Z., Gao B., Wang H. The global burden of liver disease: the major impact of China // *Hepatology.* 2014. Vol. 60, № 6. P. 2099–2108.
293. World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. Geneva : World Health Organization; 2018. 327 p.
294. World Population Prospects: the 2017 revision. New York, 2017. 65 p.

295. Xing H. Z., Fang B., Pang G. F. 3-Monochloropropane-1, 2-diol causes irreversible damage to reproductive ability independent of hormone changes in adult male rats // *Food Chem. Toxicol.* 2018. № 16. P. 69–75.
296. Xu P., Lou X., Ding G. Effects of PCBs and PBDEs on thyroid hormone, lymphocyte proliferation, hematology and kidney injury markers in residents of an e-waste dismantling area in Zhejiang, China // *Sci. Total Environ.* 2015. № 24. P. 215–222.
297. Xu X., Liu J., Huang C. Association of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and lead co-exposure with child physical growth and development in an e-waste recycling town // *Chemosphere.* 2015. Vol. 4. P. 295–302.
298. Yarahmadi A., Khademi F., Mostafavi-Pour Z., Zal F. In-vitro analysis of glucose and quercetin effects on m-TOR and Nrf-2 Expression in HepG2 cell line (diabetes and cancer connection) // *Nutr. Cancer.* 2018. № 21. P. 1–6.
299. Yongsheng F., Guangxia Y., Jun Y., Jiantao S. Analysis Related to the Effects of Xenobiotics on Glucose Metabolism in Male Testes Research Trends and Hotspots // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2018. № 15. P. 15–29.
300. Yuan L., Kaplowitz N. Mechanisms of drug-induced liver injury // *Clin. Liver Dis.* 2013. № 17. P. 507–518.
301. Yuki H., Fischman N. H. A carbasole method for the differential analysis of glucuronate, glucoside urinate and hlycuronate // *Biochem. Etbiophys.* 1963. Vol. 69, № 3. P. 576–578.
302. Zemlianskykh N. G., Babijchuk L. A. Modification of erythrocyte membrane proteins by polyethylene glycol 1500 // *Biotechnologia acta.* 2016. Vol. 9, № 5. P. 54–63.
303. Zama A. M., Uzumcu M. Fetal and neonatal exposure to the endocrine disruptor methoxychlor causes epigenetic alterations in adult ovarian genes // *Endocrinology.* 2009. № 150. P. 4681–4691.

ДОДАТОК 1
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці у наукових фахових виданнях України:

1. Жуков В. І., Щербань М. Г., Наконечна О. А., Зайцева О. В., **Безродна А. І.**, Ващук Н. А., Резуненко Ю. К., Оветчин П. В., Телегін В. О., Стеценко С. О. Вплив «Лапролів» марок Л-3603-2-12 і Л-10002-2-80 на імунобіологічну реактивність в умовах підгострої субтоксичної дії на теплокровних тварин // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. 2016. №3. С. 31-38. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, постановка імунологічних тестів (реакція специфічного лізису лейкоцитів, реакція специфічного пошкодження базофілів, реакція специфічної агломерації лейкоцитів), обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”*.
2. Жуков В. І., Щербань М. Г., **Безродна А. І.**, Ващук Н. А., Стеценко С. О. Стан метаболічної і детоксикаційної активності печінки у щурів під впливом тривалої субтоксичної дії олігомерів Л-3603-2-12 і Л-10002-2-80 // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. 2015. № 4. С. 45-50. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту загальних, вільних, зв'язаних сульфатів, відновленого та окисленого глутатіону, малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів, креатиніну, сечовини, глюкози, холестерину, активності глутатіонпероксидази, аспаратамінотрансферази, аланін амінотрансферази, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”*.
3. **Безродна А. І.**, Жуков В. І., Щербань М. Г., Ващук Н. А. Вплив олігоєфірів марок Л-3603-2-12 і Л-10002-2-80 на мікросомальне окислення гепатоцитів і тканинне дихання мітохондрій в організмі експериментальних тварин в умовах тривалої субтоксичної дії // Аграрний вісник Причорномор'я. Серія: біологічні науки. 2014. Вип. 73. С. 3-13. *“Особистий внесок здобувача:*

формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання активності о-деметилази, НАДФН-цитохром – С-редуктази, НАДН- цитохром – С-редуктази, швидкість ендогенного дихання мікросом, швидкість окислення НАДФН, швидкість окислення НАДФН, швидкість перекисного окислення ліпідів, вміст цитохромів P₄₅₀ і в₅, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.

4. Nakonechna O. A., **Bezrodna A. I.**, Kornienko E. M., Tkacheva T. N., Efimova S. L., Posokhov E. A., Maksimova I. G. The Fluorescent Probe Method in Investigation of the State of Erythrocyte Membranes in White Rats at Exposure to Chemical Environmental Factors // Український журнал медицини, біології та спорту. 2018. Т. 3, № 6 (15). Р. 299-303. (Google Scholar). “Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, виділення еритроцитів, вимірювання інтенсивності флуоресценції мембран еритроцитів, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.
5. **Безродна А. І.** Корекція «Квертином» стану оксидантно-антиоксидантної системи у щурів за умов впливу ксенобіотиків // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія «Біологія». 2018. Вип. 31. С. 7-15. (Google Scholar).
6. Наконечна О. А., **Безродна А. І.**, Кривонос К. А. Вплив блоксополімерів на регуляцію та основні показники білкового та вуглеводного обмінів у щурів в умовах підгострого токсикологічного експерименту // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2018. № 25. С. 55-59. (Google Scholar). “Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту глюкози, лактату, сечовини, креатиніну, загального білку, гормонів інсуліну, тестостерону, естрадіолу, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.

Наукові праці у наукових фахових виданнях України, що входять до наукометричних баз

7. Nakonechna O. A., Babijchuk L. A., **Bezrodna A. I.** Disturbance of the transmembrane phosphatidylserine asymmetry in hepatocytes as an apoptosis marker under the action of xenobiotics on rats // Ukr. Biochem. J. 2018. Vol. 90, N 6. P. 82-88. (SCOPUS, CrossRef, DOAJ, Google Scholar). *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання асиметрії фосфатидилсерину в ліпідному бішарі мембран гепатоцитів, визначення стадій апоптозу/некрозу гепатоцитів щурів, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”*.
8. **Безродна А. І.**, Вишницька І. А., Мельник О. Г., Оветчин П. В., Резуненко Ю. К. Вплив олігоефірів в субтоксичній дозі на гормональний обмін при тривалій токсифікації тварин в підгострому експерименті // Вісник проблем біології і медицини. 2016. Вип. 1, Т. 1 (126). С. 120-124. (Index Copernicus, Google Scholar; Наукова електронна бібліотека "Cyberleninka"). *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту гормонів ТТГ, T_3 , T_4 , інсуліну, глюкагону, тестостерону, естрадіолу, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”*.
9. Щербань Н. Г., Жуков В. І., **Безродна А. І.**, Зайцева О. В., Вашук Н. А., Оветчин П. В., Гопкалов В. Г. Вплив субтоксичних доз олігоефірів на вуглеводний і енергетичний обмін печінки білих щурів в експерименті // Світ медицини та біології. 2016. № 1 (55). С. 176-180. (Index Copernicus, Google Scholar; Наукова електронна бібліотека "Cyberleninka"). *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання активності гексокінази, фосфофруктокінази, альдолази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, лактатдегідрогенази, креатинфосфокінази, глюкозо-6-фосфатази, лужної фосфатази, вмісту глюкози, обговоренні та інтерпретації*

результатів, участь у написанні статті”.

Патент України на винахід

10. Спосіб прогнозування рівня токсичності поверхнево-активних речовин: пат. 118223 Україна ; заявл. 28.11.2016 ; опубл. 10.12.2018, Бюл. № 23. 6 с.

Наукові праці апробаційного характеру (тези доповідей на наукових конференціях) за темою дисертації:

11. Nakonechna O. A., Babijchuk L. A., **Bezrodna A. I.** Violation of the transmembrane asymmetry of lipides of hepatocytes as the index of apoptosis in the action of xenobiotics on the organism of rats // Актуальні питання лабораторної медицини : матеріали науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів, 20-21 листопада 2018 р. Харків, 2018. С. 61-62. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання асиметрії фосфатидилсерину в ліпідному бішарі мембран гепатоцитів, визначення стадій апоптозу/некрозу гепатоцитів щурів, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”.*
12. **Bezrodna A. I.**, Максимова І. Г., Логвінова А. О., Толоконнікова А. А., Гарбузова Д. В. Вплив поліетиленгліколю на вміст холестеролу та статевих гормонів у крові щурів в підгострому токсикологічному експерименті // Актуальні проблеми експериментальної та клінічної біохімії : матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, 12-13 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 22-23. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту холестеролу, гормонів тестостерону, естрадіолу, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”.*
13. **Bezrodnaya A. I.**, Mbonu Favour Chinomso, Aladetoyinbo Anuoluwapo Elizabeth

Investigation of enzyme activity under the conditions of influence of surface-active substances in rats in the subacute toxicological experiment // The International Scientific Interdisciplinary Conference (ISIC) : abstracts book, 23-25 may 2018, Kharkiv, 2018. P. 18-19. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання активності лактатдегідрогенази, альфа-амілази, лужної фосфатази, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”*.

14. Наконечная О. А., **Безродная А. И.** Основные показатели углеводного обмена в результате действия поверхностно-активных веществ на основе окиси этилена и пропилена // Актуальные проблемы медицины : сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции и 27-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета, 2–3 ноября 2017 г. Гомель, 2017. С. 553–556. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту глюкози, лактату, гормонів ТТГ, T_3 , T_4 , інсуліну, активності лактатдегідрогенази, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”*.

15. Наконечна О. А., Абрамова Л. П., **Безродна А. І.**, Новікова О. О. Вміст в крові тиреотропного та тиреоїдних гормонів за умов токсифікації тварин поверхнево-активними речовинами в підгострому експерименті // Біологічні дослідження - 2017 : збірник наукових праць VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 14-16 березня 2017 р. Житомир, 2017. С. 270-271. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту гормонів ТТГ, T_3 , T_4 , обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”*.

16. **Безродная А. И.**, Наконечная О. А. Влияние ксенобиотиков на белковый обмен белых крыс в подостром эксперименте // Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии : сборник материалов III Конференции молодых ученых биохимиков и молекулярных биологов с международным

- участием, 11-12 мая 2017 г. Гродно, 2017. С. 11-12. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання рН, вмісту загального білку, сечової кислоти, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”*.
17. Наконечна О. А., **Безродна А. І.**, Абрамова Л. П. Основні показники вуглеводного обміну та його регуляції за умов впливу поліетиленгліколю // Здоров'я людини: теорія і практика : матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 25-річчю медичного інституту Сумського державного університету, 17–19 жовтня 2017 р. Суми, 2017. С. 73–75. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту глюкози, лактату, гормонів ТТГ, Т₃, Т₄, інсуліну, активності лактатдегідрогенази, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”*.
18. **Безродна А. І.**, Коцур В. Є., Стабровський С. С., Кучеренко І. О., Новікова Д. П. Вплив поверхнево-активних речовин на білковий обмін у білих щурів за умов підгострого токсикологічного експерименту // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической биохимии : материалы VI Межвузовской научно-практической конференции с международным участием, 22 мая 2017 г. Харьков, 2017. С. 21–23. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту інсуліну, активності альфа-амілази, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”*.
19. Наконечная О. А., **Безродная А. И.** Основные показатели углеводного и белкового обмена в результате действия полиэтиленгликоля // Проблемы, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук : матеріали II Міжнародної заочної науково-практичної конференції, 30 жовтня 2017 р. Миколаїв, 2017. С. 60–62. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту глюкози, лактату, альбуміну, сечової кислоти, білку, гормонів ТТГ, Т₃, Т₄, інсуліну, активності лактатдегідрогенази, обговоренні та інтерпретації результатів,*

участь у написанні тез”.

20. Жуков В. І., Щербань М. Г., Зайцева О. В., **Безродна А. І.**, Ващук Н. А., Резуненко Ю. К., Оветчин П. В., Телегін В. О. Стан антирадикального, антиперекисного захисту під впливом тривалої субтоксичної дії олігоєфіра Л-3603-2-12 // Казантип-ЭКО-2016. Инновационные пути решения актуальных проблем базовых отраслей, экологии, энерго- и ресурсосбережения : сборник трудов XXIV Международной научно-практической конференции, 6-10 июня 2016 г. Харьков, 2016. С. 122-126. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту відновленого глутатіону, малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів, церулоплазміну, гаптоглобіну, активності глутатіонпероксидази, СОД, каталази, глутатіонпероксидази, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.*
21. **Bezrodnaya A. I.**, Jukov V. I., Shcherban N. G. The influence of oligoesters on hormonal metabolism // Croatian student summit 12 : abstracts book, March 2016, Croatia, 2016. P. 12. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, вимірювання вмісту гормонів тестостерону, естрадіолу, пролактину, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”.*
22. **Безродна А. І.** Вплив олігоєфірів на вуглеводний і енергетичний обмін // «Довкілля і здоров'я» присвяченої 30-річчю Чорнобильської катастрофи : матеріали науково-практичної конференції, 22-23 квітня 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 31-32.
23. **Bezrodnaya A. I.**, Krivonos K. A. Genetic aspects of environmental pathology // 9th ISABS Conference on Forensic, Anthropologic Genetics and Mayo Clinic Lectures in Individualised Medicine : abstracts book, 22-26 June 2015, Croatia, 2015 P. 199. *“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, дослідження мітотичної активності клітин червоного кісткового мозку, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні тез”.*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

24. Наконечная О. А., **Безродная А. И.** Влияние олигоэфиров на репродуктивную функцию крыс в условиях эксперимента // БатысҚазақстан медицина журналы. 2016. №3 (51). С. 128-132. (Google Scholar; РИНЦ).
“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення токсикологічного експерименту, дослідження ембріотоксичного та гонадотоксичного впливу, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.
25. Кучеренко В. П., Жуков В. І., Щербань М. Г., **Безродна А. І.**, Стеценко С. О. Обґрунтування гранично допустимих концентрацій простих олігоєфірів технічної назви «Лапроли» марок 2102 і 3603-2-12 у воді водойм господарсько-питного і культурно-побутового призначення // Вісник проблем біології і медицини. 2015. Вип. 4, Т. 1(124). С. 48-53. (Index Copernicus, Google Scholar; Наукова електронна бібліотека "Cyberleninka").
“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, проведення органолептичних досліджень (запах, присмак, забарвлення, прозорість, піноутворення) та досліджень санітарного режиму, проведення токсикологічного експерименту, дослідження ембріотоксичного та гонадотоксичного впливу, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.
26. Кучеренко В. П., Жуков В. І., Щербань М. Г., **Безродна А. І.** Якісна та кількісна оцінка ступеня гідролітичної деструкції та трансформації простих олігоєфірів призначення // Світ медицини та біології. 2015. №4 (53). С. 39-42. (Index Copernicus, Google Scholar; Наукова електронна бібліотека "Cyberleninka").
“Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, формування та утримання модельних водойм, дослідження санітарного режиму модельних водойм, обговоренні та інтерпретації результатів, участь у написанні статті”.

ДОДАТОК 2



Проректор з науково-педагогічної роботи
Вінницького національного медичного університету
ім. М.І. Пирогова МОЗ України,
проф. Гумінський Ю.Й.
2018 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження.** Вплив блоксополімерів на основі оксипропілену та етилену на показники функціонального стану печінки щурів та корекція його порушень
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, м. Харків, пл. Свободи, 4. Здобувач наукового ступеня – Безродна Анастасія Ігорівна.
3. **Джерела інформації:** 1. Основные показатели углеводного обмена в результате действия поверхностно-активных веществ на основе окиси этилена и пропилена / О. А. Наконечная, А. И. Безродная // Актуальные проблемы медицины: сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции и 27-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета (Гомель, 2–3 ноября 2017 года). – Гомель : ГомГМУ, 2018. – С. 553–556.
2. Безродная А.И. Основные показатели углеводного и белкового обмена в результате действия полиэтиленгликоля / О. А. Наконечная, А. И. Безродная // Проблемы, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук: матеріали II Міжнародної заочної науково-практичної конференції, Миколаїв, 30 жовтня 2017 р. – Миколаїв: Чорноморський національний університет імені Петра Могили, 2017. – С. 60–62.
3. Вплив субтоксичних доз олігоєфірів на вуглеводний і енергетичний обмін печінки білих щурів в експерименті / А.І. Безродна, Н.Г. Щербань, В.І. Жуков та ін. // Світ медицини та біології. - 2016. – № 1 (55). – С. 176-180.
4. **Впроваджено:** на кафедрі біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ України, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
5. **Включено:** в лекційний курс і практичні заняття з біологічної хімії.
- Результати впровадження:** у лекції та практичні заняття по темі «Обмін білків», «Обмін вуглеводів» для студентів II курсу медичних та стоматологічних факультетів впроваджено дані щодо основних біохімічних показників метаболічних порушень в організмі за умов впливу ксенобіотиків.
6. **Термін впровадження:** 2018 рік.
7. **Базова установа, яка здійснює впровадження:** Харківський національний медичний університет
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження
завідувач кафедри біологічної та загальної хімії
Вінницького національного медичного університету
ім. М.І. Пирогова МОЗ України,
д.мед.н., професор

Н.В. Заїчко

ДОДАТОК 3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
Українська медична
стоматологічна академія

проф. Дворник В.М.

2018 року



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження.** Вплив блоксополімерів на основі оксипропілену та етилену на показники функціонального стану печінки щурів та корекція його порушень
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, м. Харків, пл. Свободи, 4. Здобувач наукового ступеня – Безродна Анастасія Ігорівна.
3. **Джерела інформації:** 1. Основные показатели углеводного обмена в результате действия поверхностно-активных веществ на основе окиси этилена и пропилена / О. А. Наконечная, А. И. Безродная // Актуальные проблемы медицины: сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции и 27-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета (Гомель, 2–3 ноября 2017 года). – Гомель : ГомГМУ, 2018. – С. 553–556.
2. Безродная А.И. Основные показатели углеводного и белкового обмена в результате действия полиэтиленгликоля / О. А. Наконечная, А. И. Безродная // Проблемы, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук: матеріали II Міжнародної заочної науково-практичної конференції, Миколаїв, 30 жовтня 2017 р. – Миколаїв : Чорноморський національний університет імені Петра Могили, 2017. – С. 60–62.
3. Вплив субтоксичних доз олігоферів на вуглеводний і енергетичний обмін печінки білих щурів в експерименті / А.І. Безродна, Н.Г. Щербань, В.І. Жуков та ін. // Світ медицини та біології. - 2016. – № 1 (55). – С. 176-180.
4. **Впроваджено:** на кафедрі біоорганічної та біологічної хімії Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава, вул. Шевченка, 23.
5. **Включено:** в лекційний курс і практичні заняття з біологічної хімії.
- Результати впровадження:** у лекції та практичні заняття по темі «Обмін білків», «Обмін вуглеводів» для студентів II курсу медичних та стоматологічних факультетів впроваджено дані щодо основних біохімічних показників метаболічних порушень в організмі за умов впливу ксенобіотиків.
6. **Термін впровадження:** 2018 рік.
7. **Базова установа, яка здійснює впровадження:** Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносились.

Протокол №3 від 12 вересня 2018

Відповідальний за впровадження
завідувач кафедри
біоорганічної та біологічної хімії
Українська медична
стоматологічна академія,
д.мед.н., професор

К.С. Непорада

ДОДАТОК 4

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження.** Вплив блоксополімерів на основі оксипропілену та етилену на показники функціонального стану печінки шурів та корекція його порушень
 2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, м. Харків, пл. Свободи, 4. Здобувач наукового ступеня – Безродна Анастасія Ігорівна.
 3. **Джерела інформації:** 1. Основные показатели углеводного обмена в результате действия поверхностно-активных веществ на основе окиси этилена и пропилена / О. А. Наконечная, А. И. Безродная // Актуальные проблемы медицины: сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции и 27-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета (Гомель, 2–3 ноября 2017 года). – Гомель : ГомГМУ, 2018. – С. 553–556.
2. Безродная А.И. Основные показатели углеводного и белкового обмена в результате действия полиэтиленгликоля / О. А. Наконечная, А. И. Безродная // Проблемы, достижения та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук: матеріали II Міжнародної заочної науково-практичної конференції, Миколаїв, 30 жовтня 2017 р. – Миколаїв : Чорноморський національний університет імені Петра Могили, 2017. – С. 60–62.
3. Вплив субтоксичних доз олігоєфірів на вуглеводний і енергетичний обмін печінки білих шурів в експерименті / А.І. Безродна, Н.Г. Щербань, В.І. Жуков та ін. // Світ медицини та біології. - 2016. - № 1 (55). - С. 176-180.
- Впроваджено:** на кафедрі біохімії Одеського національного університету імені І.І. Мечникова, м. Одеса, вул. Дворянська, 2.
4. **Включено:** в лекційні курси «Біохімія» та спецкурс «Ксенобіохімія».
 - Результати впровадження:** у лекції для студентів III курсу біологічного факультету та студентів, що навчаються в магістратурі впроваджено дані щодо основних біохімічних показників метаболічних порушень в організмі за умов впливу ксенобіотиків.
 5. **Термін впровадження:** 2018 рік.
 6. **Базова установа, яка здійснює впровадження:** Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
 8. **Зауваження і пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження
завідувач кафедри біохімії біологічного факультету
Одеського національного університету
Імені І.І. Мечникова,
д.б.н., професор

Підпис професора Петрова С.А.
засвідчую

засвідчую



[Handwritten signature]

С.А. Петров

(Петров С.А.)