

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

Маркова Олена Олегівна

УДК: 614.876/878:616.36-055.6-08-092.9

ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ БІОЕНЕРГЕТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ У  
ПЕЧІНЦІ ТВАРИН, ОТРИМАНИХ ВІД СТРЕС-УРАЖЕНИХ  
ПОПЕРЕДНИКІВ

14.03.05 - фармакологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Науковий керівник  
Ульянов Вадим Олексійович  
доктор медичних наук, доцент

Одеса 2011

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	5
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1 ПРОФІЛАКТИКА РАДІАЦІЙНО- ТА СТРЕСІНДУКОВАНИХ ПОРУШЕНЬ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ ТА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТКАНИН ПЕЧІНКИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	12
1.1. Радіаційно- та стрес-індуковані порушення біоенергетичних процесів.....	13
1.2. Морфогенез тканин і органів при тривалому впливі іонізуючої радіації та хронічного стресу.....	17
1.3. Основні принципи стреспротекторної терапії.....	21
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	29
2.1. Лабораторні тварини та моделювання експерименту.....	29
2.2. Методи експериментальних досліджень.....	35
2.3. Обґрунтування вибору препаратів для корекції радіаційно- та стресіндукованих зрушень в гепатоцитах та еритроцитах.....	38
2.4. Методи статистичних досліджень.....	39
РОЗДІЛ 3 ПРОФІЛАКТИКА РАДІАЦІЙНО ТА СТЕС-ІНДУКОВАНИХ ЗРУШЕНЬ В ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ ТА ЕРИТРОЦИТАХ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ.....	40
3.1. Вплив хронічного стресу та іонізуючого випромінювання на морфофункціональний стан тканин печінки та еритроцитів.....	40
3.1.1. Радіаційно-індуковані зрушення морфофункціональних властивостей тканин печінки та еритроцитів.....	41
3.1.2. Стрес-індуковані порушення енергетичного обміну та морфофункціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів.....	44

3.1.3. Вплив поєднаної дії  $\gamma$ -опромінення та хронічного емоційно-больового стресу на морфофункціональні властивості гепатоцитів та еритроцитів .....52

3.2. Профілактика радіаційно- та стрес-індукованих порушень енергетичного обміну та морфофункціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів.....58

РОЗДІЛ 4 ПРОФІЛАКТИКА РЕАЛІЗАЦІЇ В ПОКОЛІННІ F<sub>1</sub> НАСЛІДКІВ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ  $\gamma$ -ОПРМІНЕННЯ ТА ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ.....74

4.1. Енергетичний обмін та морфофункціональні властивості гепатоцитів на різних етапах фізіологічного онтогенезу.....75

4.1.1. Вміст макроергічних сполук в тканинах печінки інтактних щурів.....75

4.1.2. Вікові особливості фізіологічної регенерації гепатоцитів.....76

4.1.3. Вміст макроергічних сполук в еритроцитах за фізіологічних умов.....81

4.1.4. Вікові особливості перекисної резистентності еритроцитів.....83

4.2. Морфофункціональний стан еритроцитів та тканин печінки в онтогенезі нащадків опромінених та стрес-уражених щурів.....85

4.3. Профілактика виникнення порушень морфофункціональних властивостей еритроцитів та тканин печінки у нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів.....93

РОЗДІЛ 5 ПРОФІЛАКТИКА ХРОНІЧНОГО ЕМОЦІЙНО-БОЛЬОВОГО СТРЕСУ ПРИ ЙОГО ВІДТВОРЕННІ У ЩУРІВ, ОТРИМАНИХ ВІД ОПРОМІНЕНИХ ТА СТРЕС-УРАЖЕНИХ ТВАРИН.....107

5.1. Особливості розвитку стресу у нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів.....108

5.2. Профілактика стрес-індукованих порушень енергетичного обміну та структурно-функціональних властивостей гепатоцитів потомства $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів.....	115
РОЗДІЛ 6 ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	126
ВИСНОВКИ.....	142
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	145

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АДФ – аденозиндифосфат;

АМФ – аденозинмонофосфат;

АТФ – аденозинтрифосфат;

АОС - антиоксидантна система;

ПОЛ – перекисне окислення ліпідів.

## ВСТУП

**Актуальність теми.** У сучасних екологічних умовах провідними негативними факторами впливу на людину є хронічний соціальний стрес та тривале іонізуюче  $\gamma$ -опромінення малими дозами [1]. Несприятливий стан екології та соціально-побутових умов проживання, які вони формують, сприяють поширенню серед населення різних видів соматичної патології [2, 3]. Тому пошук шляхів фармакологічної корекції наслідків поєданого впливу іонізуючої радіації та факторів, які викликають хронічний стрес - одна з актуальних проблем експериментальної фармакології [4].

Більш як 40 % онкологічних хворих призначають радіотерапію при лікуванні злоякісних новоутворень. Однак ефективність такого лікування зменшують ранні та пізні ускладнення, пов'язані з місцевим або загальним опроміненням [5]. Тому актуальною є розробка методів фармакологічного запобігання небажаним наслідкам радіотерапії, які б захищали здорові тканини, тим же часом не знижували чутливість до опромінення пухлин [6].

Тривалий вплив іонізуючої радіації малими дозами сприяє прискоренню загальнобіологічних процесів старіння [7], спричиняє розвиток хронічних захворювань: онкологічних [8], серцево-судинних, нейродегенеративних [9, 10]. В свою чергу доведено, що стрес може викликати ушкодження геному, які змінюють функціональний стан клітин, що викликає розвиток захворювань [11, 12]. Однак закономірності їх поєданого впливу досліджені недостатньо, що ускладнює розробку патогенетично обґрунтованих методів фармакологічної корекції [13]. Використання ж класичних радіопротекторів не ефективно для профілактики або лікування наслідків впливу малих доз іонізуючої радіації [14].

У численних роботах, присвячених вивченню механізмів біологічної дії хронічного опромінення малими дозами, підтверджена можливість закріплення в геномі ушкоджень радіаційного генезу і передачі зміненої генетичної інформації наступним поколінням [15]. Нащадки опромінених та

стрес-уражених попередників можуть інакше реагувати на несприятливі фактори довкілля [16, 17], зокрема вони схильні до зривів при психологічному стресі. Останнє є важливим, тому що психосоціальний стрес стає одним з ключових факторів, які впливають на поведінку, виробничу діяльність людини, та стан її здоров'я [18, 19, 20]. Отже актуальною є розробка методів профілактики поєднаної дії радіації та хронічного стресу, а також методів запобігання спадковим ефектам дії зазначених факторів [4].

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Матеріали дисертаційної роботи є фрагментом науково-дослідних робіт МОЗ України "Вивчення особливостей раннього етапу онтогенезу за умов дії несприятливих факторів довкілля, теоретичне обґрунтування можливостей прямої діагностики та корекції аномалій розвитку" (№ держреєстрації 0105U008876), "Морфогенез епітеліальної та сполучної тканин за фізіологічних та патологічних умов" (№ держреєстрації 0109U008570), які виконувалися на кафедрі гістології, цитології та ембріології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ). Дисертант є співвиконавцем даних тем.

**Мета і завдання дослідження.** Підвищити ефективність фармакологічної корекції порушень біоенергетичних процесів у печінці нащадків стрес-уражених і  $\gamma$ -опромінених щурів.

Для досягнення цієї мети були поставлені наступні задачі:

- Розробити патогенетичне обґрунтування фармакологічної корекції порушень морфофункціональних властивостей тканин печінки при відтворенні хронічного стресу у  $\gamma$ - опромінених щурів і в постнатальному онтогенезі їх нащадків першого покоління.

- Порівняти ефективність монотерапії тіотриазоліном,  $\alpha$ -ліпоевою кислотою та їх комбінованого застосування для запобігання зрушенням енергетичного обміну в печінці та еритроцитах, порушенням морфофункціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів при

поєднаній дії  $\gamma$ -опромінення та хронічного емоційно-больового стресу.

- Дослідити ефективність комбінованого застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну для запобігання зрушенням енергетичного обміну та порушенням морфофункціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів у тварин, отриманих від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів.

- Дослідити ефективність комбінованого застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну для запобігання порушенням енергетичного обміну і морфофункціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів при відтворенні хронічного стресу у тварин, отриманих від  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів.

**Об'єкт дослідження** – профілактика та лікування радіаційно- та стрес-індукованих уражень організму в експерименті.

**Предмет дослідження** – обґрунтування комплексного застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну для фармакологічної корекції біоенергетичних процесів у печінці нащадків стрес-уражених та  $\gamma$ -опромінених тварин.

**Методи дослідження** – фармакологічні, патофізіологічні, біофізичні, морфологічні, біохімічні, статистичні.

#### **Наукова новизна одержаних результатів.**

У роботі вперше розширене уявлення про особливості перебігу загального адаптаційного синдрому у  $\gamma$ -опромінених тварин, а також у статевозрілих щурів, отриманих від стрес-уражених і  $\gamma$ -опромінених попередників. На підставі вперше отриманих даних про стресіндуковані порушення вмісту аденілових нуклеотидів, морфогенезу гепатоцитів на різних етапах постнатального онтогенезу нащадків  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених тварин розроблено фармакологічну корекцію цих порушень.

Розширено уявлення про можливості корекції біоенергетичних процесів у  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів та їх нащадків першого



покоління, що виявляється у здатності  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну при їх комбінованому застосуванні більш ефективно запобігати виснаженню вмісту АТФ у тканинах печінки та еритроцитах, ніж при монотерапії зазначеними препаратами. Вперше виявлені нові властивості  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти, а саме здатність запобігати спадковим ефектам впливу іонізуючої радіації та стресу, що виявляється зменшенням кількості тварин із нестабільністю геному в поколінні  $\gamma$ -опромінених щурів. Вперше виявлено, що комплексне застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну запобігає порушенням кінетики клітинних популяцій та мітотичної активності гепатоцитів у постнатальному онтогенезі у поколінні  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів. Вперше виявлені властивості комбінованого застосування препаратів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну зменшувати виразність порушень кінетики клітинних популяцій на стадіях тривоги, резистентності та виснаження хронічного емоційно-больового стресу, відтвореного у статевозрілих нащадків інтактних і радіаційно- та стрес-уражених щурів.

На підставі результатів проведених досліджень отримано патент України № 55533 від 10.12.2010 «Спосіб профілактики порушень морфофункціональних властивостей тканин печінки в онтогенезі нащадків  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених тварин».

**Практичне значення одержаних результатів.** Виявлені в роботі нові властивості  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну обґрунтовують доцільність призначення цих засобів для корекції радіаційно- і стресіндукованих порушень морфогенезу тканин та органів. Виявлені нові властивості зазначених препаратів дозволяють розширити показання для їх призначення у клінічній практиці, у першу чергу, для профілактики небажаної дії радіотерапії злоякісних пухлин.

На підставі одержаних даних продовжено створення системи вікових морфометричних характеристик органів на тканинному рівні на різних

етапах онтогенезу ссавців, отриманих від  $\gamma$ -опромінених попередників, що дозволить обґрунтувати нові об'єктивні критерії оцінки негативного впливу несприятливих екологічних факторів на організм тварин і на якісно іншому рівні та вести розробку методів профілактики їх негативного впливу на людину.

Результати роботи впроваджено у навчальний процес кафедри фармакології, клінічної фармакології та фармакоекономіки Дніпропетровської державної медичної академії, кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава), кафедри загальної та клінічної фармакології ОНМедУ.

**Особистий внесок здобувача.** Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук, здійснено планування роботи, визначено мету і завдання дослідження, методичні підходи, опрацьовано моделі, згідно з якими виконано експериментальні дослідження. Проведено статистичну обробку одержаних результатів, їх оформлення у вигляді таблиць і рисунків, аналіз та узагальнення результатів, сформульовано висновки роботи, опубліковано й апробовано основні положення, написано та оформлено дисертаційну роботу.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати дослідження доповідалися на ІХ Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні досягнення спортивної медицини, лікувальної фізкультури та валеології» (Одеса, 2003), Х Ювілейній міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні досягнення спортивної медицини, лікувальної фізкультури та валеології» (Одеса, 2004), міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених «Вчені майбутнього» (Одеса, 2004), конференції «Біофізичні стандарти та інформаційні технології в медицині» (Одеса, 2007).

**Публікації за матеріалами дисертації.** За матеріалами дисертації опубліковано 10 наукових праць, із них 5 статей у фахових наукових журналах, ліцензованих ВАК України, 1 патент України, 4 тези у збірниках конференцій.

## РОЗДІЛ 1

ПРОФІЛАКТИКА РАДІАЦІЙНО- ТА СТРЕСІНДУКОВАНИХ ПОРУШЕНЬ  
ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ ТА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ  
ВЛАСТИВОСТЕЙ ТКАНИН ПЕЧІНКИ  
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

В світі сучасної концепції єдності метаболічних процесів організму [21, 22], з урахуванням тенденції до формування системного підходу до вивчення патогенезу мультифакторіальних захворювань різних видів, і до розробки діючих терапевтичних схем, спрямованих на основні ланки їх патогенезу, доцільним уявляється розгляд проблеми дії радіації і стресу на енергетичний обмін організму [23, 24, 25]. Все частіше у практиці трапляється поєднана дія цих факторів [26, 27], що дозволяє поглянути на проблему патоморфозу захворювань і порушень, викликаних окремими чинниками, в аспекті системного підходу до них [28, 29, 30].

По ряду питань - зокрема, з проблеми дії хронічного стресу [31, 32, 33] на стан організму, з урахуванням різних умов [34, 35], як ендогенних, так і екзогенних, накопичений величезний об'єм джерел. При розгляді літературних джерел, присвячених проблемі дії стресу [36, 37] та радіації [38, 39, 40] на енергетичний обмін організму, слід зазначити, що вона має ряд спільних сторін – на першому місці стоїть активація процесів спонтанного перекисного окислення ліпідів, до якого призводить як дія радіації [38, 39], так і хронічний стрес [37]. Але крім спільної ланки ПОЛ, між дією радіації та стресу є досить суттєва різниця - для стресу більш характерно виснаження механізму окислювального фосфорилування [31, 40], накопичення продуктів неповного окислення [32], і, як результат – порушення цілісності мембран [41], та, на завершувальному етапі – ураження генетичного апарату клітини [42]. При радіаційному опроміненні на перший план виходить ураження мембран, великих молекул [42] та ядерних структур [48, 49, 53] іонами та

вільними радикалами [43], що формуються під їх дією. Відомо, що малі дози радіації сприяють розвитку нестабільності генетичного апарату [44, 45] та порушують адаптаційні механізми [54, 67]. Надзвичайно цікавим для дослідження представляється проблема успадкування [55] подібних змін в поколіннях лабораторних тварин (F1, F2, F3 і т.д.) [46, 47].

Численні дослідження, як попередні, так і сучасні, підтверджують, що хронічний стрес сприяє пошкодженню генетичного апарату [50, 51, 56]. Проте, надзвичайно мало відомостей є про можливість реалізації придбаних генетичних порушень в наступних поколіннях [66]. Крім того, недостатньо вивчена дія стресу на реалізацію ефектів радіації [60, 61]. Відомо, що поєднання цих небезпечних факторів може підсилювати ефект кожного з них [78, 79], але недостатньо даних, як саме поєднаний вплив радіації та стресу впливає на морфогенез тканин і органів, також слід приділити більше уваги механізмам тривалого опромінення у малих дозах і хронічного стресу та їх багатостороннього впливу на стан організму.

Враховуючи роль печінки у всіх істотних стресових реакціях [71, 72, 73] (зокрема, в реакціях ПОЛ, що індукуються стресом [75, 76]), а також в забезпеченні тканин енергетичними ресурсами [77], раціональним уявляється вивчення особливостей енергетичного обміну і регенераторного потенціалу печінки при поєднаній дії радіації і стресу, як в початковому поколінні, так і в потомстві опромінених тварин.

### 1.1. Радіаційно- та стрес-індуковані порушення біоенергетичних процесів

Тривале  $\gamma$ -опромінення та хронічний стрес впливають на енергетичний обмін організму – зокрема, на обмін АТФ, АДФ та АМФ і всі енергетичні процеси в печінці [81, 82, 83]. Проте, мало відомо про поєднану дію радіації і хронічного стресу на енергетичний обмін в печінці [85, 86, 87]. Але, у літературі недостатньо даних про патоморфогенез реакцій, що індукуються

радіоактивним випромінюванням на різних стадіях стресу [88]. Вважаючи на те, що при стресі виснаження оксидативних систем [86] стимулює процеси катаболізму, що супроводжуються посиленням розпаду макромолекул і накопиченням ендогенних токсинів в організмі, це набуває істотного значення - зниження резистентності організму до стресу при поєднаній дії агресивних чинників [89, 90].

Безпосередньо печінка відповідає на стрес як центральний орган всіх видів обмінних процесів організму [91, 92], а також є основним джерелом вільних радикалів [96, 97].

Вплив радіації та стресу, як окремих факторів на енергетичний обмін у печінці досить відомий. Більшість авторів приділяє найбільшу увагу механізму формування вільних радикалів [96, 97].

На першій стадії стресу відбувається активація процесів адаптації, що, відповідно, призводить до активації процесів окислювального фосфорилування [92, 93] з накопиченням у клітині енергетичних субстратів. Продовжуючись, стрес переходить у стадію резистентності для якої характерний баланс між катаболічними та анаболічними реакціями, цикл окислювального фосфорилування функціонує у повному об'ємі [23, 97]. При хронічному стресі подальша дія ушкоджуючих чинників призводить до розвитку стадії виснаження, із зменшенням функціональних резервів печінки [24, 98]. Така ситуація веде до розвитку «метаболічної катастрофи» - виснажуються процеси енергетичного обміну та накопичуються продукти неповного окислення [100], що на певному етапі веде до блокування, а потім руйнування молекул - промоторів (ізоцитрат - дегідрогенази, сукцинатдегідрогенази, тощо) [101, 102, 103] подальшим порушенням ферментативних реакцій [104, 105]. В цілому, вказані вище чинники сприяють розвитку функціональних, а надалі – і структурних уражень печінки. Особливу увагу слід приділити мітохондріальній теорії ураження клітин, з віковим та стрес-індукованим накопленням оксогуаніну в клітинах печінки, що, у свою чергу, призводить до незворотного ураження ДНК

мітохондрій, з руйнуванням системи енергозабезпечення клітини [105, 106]. Низький рівень базального про- і антиоксидантного статусу клітин печінки при поєднаній дії стресу і радіації є причиною розвитку окислювального стресу. Відбувається інтенсифікація вільнорадикальних процесів, яка направлена, в першу чергу, на активацію перекисного окислення білків і аскорбат-залежного перекисного окислення ліпідів.

Противагою агресивних чинників, що порушують енергетичний баланс печінки (і будь-якого типу тканини, в цілому) виступають адаптаційні системи (ензимні комплекси каталази та супероксид-дисмутази) [106, 107]. В умовах зниження рівня енергетичного забезпечення тканин при стресі, адаптаційні властивості клітин визначаються потужністю метаболічних систем, компенсуючих витрати АТФ [108]. На тлі хронічного стресу відбувається виснаження вказаних систем, внаслідок якого прогресують функціональні порушення (пригнічення супероксид-дисмутази та каталази, дефіцит антиоксидантних молекул), а надалі – порушення на клітинному (дефіцит пероксисом) та органному рівнях (дегенерація та апоптоз клітин, що призводять до дистрофії тканини) [105, 107]. На індивідуальному рівні стресс-індуковані зрушення та адаптаційні механізми вивчені достатньо детально, особливо це торкається реакції перекисного окислення, які в теперішній час вважаються ключовою ланкою функціональних, а надалі – і органічних порушень при стресі. Проте, відкритим залишається питання негативної дії стресс-індукованих реакцій на геном клітин, з подальшою зміною метаболічного профілю, і можливим успадкуванням придбаних особливостей реагування. Таким чином, доцільним вважається відстежити особливості перебігу загального адаптаційного синдрому в поколіннях лабораторних тварин, попередники яких зазнали тривалого опромінення чи дії стресс-індукуючих факторів.

Далі слід розглянути особливості радіаційної дії на енергетичний обмін, особливо це стосується метаболічних процесів в печінці [109]. Слід зазначити, що вивчення змін метаболізму печінки, що індукуються

радіацією, проводилося після застосування великих доз іонізуючого випромінювання [115]. Це пов'язано з тим, що для печінки характерний значний рівень резистентності [110]. Проте, подібний підхід має ряд істотних недоліків – значні дози радіації спричиняють пряму пошкоджуючу дію [109, 110, 111], з розвитком неспецифічних деструктивних механізмів (зокрема, масивній активації реакцій ПОЛ в мембранах [119-120]). В цьому випадку найчастіше наголошується загибель клітин. Надалі ситуація розвивається дwoяко і закінчується, або загибеллю лабораторних тварин [111], або потужною активацією репаративних систем, і регенерацією пошкодженого органу [113, 114], з можливою персистенцією неспецифічних дистрофічних змін. Причому на молекулярному рівні головну роль грає пошкодження мембран та геному клітини, з можливою активацією протоонкогенів [110, 116]. Кажучи про порушення енергетичного обміну, у першу чергу воно зумовлене прямою пошкоджуючою дією опромінення, або дією вільних радикалів, які порушують активність ензимних комплексів [120, 121]. Останнім часом з'явилися роботи присвячені дії малих доз опромінення на метаболічні процеси печінки [122]. Особлива увага приділяється процесам репарації при опроміненні малими дозами [123]. Згідно прийнятим концепціям, пошкодження ряду біомолекул пов'язане з дозами радіації, недостатніми для активації репаративних систем клітин [124]. В результаті,  $\gamma$ -опромінення в малих дозах, може супроводжуватися молекулярними пошкодженнями, репарація яких не відбувається. Безперечним є вплив тіол-дисульфідної системи у змінах метаболізму печінки, що індукуються радіацією [125, 126]. Тіол-дисульфідним з'єднанням властива потужна захисна дія - інактивація вільних радикалів [127] і, таким чином, гальмування процесів каскадного окислення ліпідів [128]. Важливо враховувати захисну дію тіол-дисульфідної системи на геном клітки, що знижує рівень мутацій, які індукуються радіацією [129, 130]. Крім того, слід враховувати як пряму дію радіації, так і непрямий ефект, обумовлений дією на орган продуктів радіолізу води [131, 132]. В цілому, представлені матеріали свідчать про те,



що до порушень енергетичного обміну при  $\gamma$ -опроміненні, відносяться, по-перше, посилення утворення активних форм кисню, з окислювальним пошкодженням клітин, і виснаження компенсаторних систем, які забезпечують відновлення запасів АТФ і синтез ліпідів і тіол-дисульфідних з'єднань [133, 134].

Таким чином, між дією радіації та стресу на енергетичний обмін клітини є значна спільність – у обох випадках основним механізмом ураження клітин із подальшою дегенерацією, загибеллю, або репарацією, є процеси ПОЛ. Але треба підкреслити різні механізми утворення цих процесів, та особливості репарації, характерні для стрес-індукованих уражень (з урахуванням фази стресу), а також особливості репарації, властиві цим ураженням. Слід ще раз підкреслити нестачу матеріалів, присвячених поєднаній дії індукуючих чинників, особливо – поєднаній дії малих доз опромінення та хронічного стресу, як типового для техногенного середовища комплексного патологічного фактору. Важливо відзначити недолік системного підходу до досліджуваної проблеми: при достатньо глибокій деталізації окремих патохімічних і патофізіологічних процесів, відсутній повноцінний мультифакторний аналіз поєднаної дії патогенних чинників на клітинному і тканинному рівні, з екстраполяцією виявлених порушень на органний рівень.

## 1.2. Морфогенез тканин і органів при тривалому впливові іонізуючої радіації та хронічного стресу

Розглядаючи проблему морфогенетичних змін тканин та органів під дією хронічного стресу та радіації, слід зазначити, що вони є продовженням змін біоенергетичного балансу. По-перше, необхідно визначити, що незважаючи на спільні ланки патогенезу цих факторів, у них є деякі відмінності у механізмі розвитку. Іншими словами, ці патологічні фактори діють на різні мішені. Так, тривала або надмірна дія зовнішніх і внутрішніх

стресових чинників призводить до виснаження і патологічної трансформації, як центральних, так і місцевих регуляторних механізмів стресс-реакції.

Окислювальний стрес, викликаючи інсулінорезистентність за допомогою мембранотропної дії, веде до компенсаторної гіперінсулінемії [135], яка активує симпатичну нервову систему і підсилює подальше надмірне утворення продуктів вільнорадикального окислення ліпідів [136, 137]. Надмірна активація ліпідної тріади (активація перекисного окислення ліпідів, фосфолипаз і детергентна дія жирних кислот) [138] на тлі підвищення судинного тону, зменшення притоку крові неминуче призводить до зниження резистентності слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, пошкодження його паренхіматозних органів [139], зокрема підшлункової залози і печінки [140, 141].

В ході реалізації адаптаційних ефектів стрес-реакції за допомогою збільшення концентрації в цитозолі універсального клітинного трансмиттера  $Ca^{2+}$ , активації ліпаз, фосфолипаз і збільшення вільнорадикального окислення ліпідів, мобілізації енергетичних і структурних резервів, перерозподілу кровотоку, активації синтезу нуклеїнових кислот і білка формуються ушкоджувальні механізми стресу [142]. Надмірна активація ліпідної тріади, гіперсекреція глюкагона, кортизолу ведуть до прогресуючих порушень метаболізму, що поєднуються із зниженням резистентності слизової оболонки шлунку і дванадцятипалої кишки, пошкодженням паренхіми підшлункової залози, формуванням жирового гепатозу, порушенням моторної функції травного тракту [142, 143].

Основну відповідальність за формування патогенезу уражень печінки при хронічному стресі несе ретикулоендотеліальна система печінки, яка є координатором у взаєминах між гепатоцитами і мікрофлорою кишковика. Дисбаланс ретикуло-ендотеліальної системи призводить до підвищення рівня холестерину, інгібіції ГМГ-Коа-редуктази, та зміні кількості рецепторів для ліпопротеїдів низької щільності [144]. Вказані зміни призводять до наростання атерогенних змін – не тільки в печінці, а загалом, у судинному

руслі, а також сприяють розвитку ліпідної дистрофії печінки [144-145]. Крім того, слід враховувати дію вільних радикалів на мітохондрії, із ураженням мітохондріальної ДНК, що у свою чергу призводить до дистрофічних змін на клітинному, а потім – на тканинному рівні.

Таким чином, представлені дані ілюструють різноманітність матеріалів, накопичених в процесі вивчення проблеми стрес-індукованих змін органів і систем, зокрема – печінки. В першу чергу більшість авторів звертає увагу на активацію реакцій ПОЛ [127, 128], яка наголошується на першій стадії стресу, з подальшим підключенням репаративних реакцій в процесі накопичення патологічних продуктів. Надалі, на тлі хронічного стресу можливе виснаження репаративних систем [130, 131], з активацією деструктивних процесів (клітинний рівень), переважанням процесів катаболізму (тканинний рівень) і розвитком дистрофії і гіпоксії (органний рівень). Кажучи про енергетичний обмін, перш за все слід згадати, що в даному випадку відбудуватиметься виснаження систем, що забезпечують адекватний запас АТФ і АМФ [125, 126], що надалі, у свою чергу, сприятиме окисленню ліпідів і накопиченню продуктів анаеробного гліколізу [143, 144]. Подібні стани, залежно від тяжкості, ступеня дії та виснаження адаптивних систем (залежно від фази стресу, тобто, у деяких аспектах – від тривалості стрес орної стимуляції), можуть завершуватися загальною декомпенсацією з розвитком синдрому інтоксикації і поліорганної патології. Навпаки, у разі припинення стресової стимуляції найбільш вірогідним результатом стану буде ще потужніша дія репаративних процесів, з відновленням функціонального і структурного стану органу (як повноцінного, так і з наявністю залишкових дефектів, у вигляді фіброзу) [145]. При всій очевидності вказаних явищ, не достатньо вивченим залишається механізм дії стресу на геном клітини.

Іншим важливим питанням представляється вплив іонізуючої радіації на морфогенез печінки, на клітинному, тканинному і органному рівні, з відповідною екстраполяцією даних.

Ефект дії іонізуючого випромінювання на клітину - наслідок комплексних взаємозв'язаних і взаємообумовлених перетворень. Радіаційне ураження клітин здійснюється в три етапи [146]. На першому етапі випромінювання впливає на складні макромолекулярні утворення, іонізуючи і порушуючи їх. Це фізична стадія променевої дії. Другий етап - хімічні перетворення. Вони відповідають процесам взаємодії радикалів білків, нуклеїнових кислот і ліпідів з водою, киснем, радикалами води і виникненню органічних перекисів [147, 148]. Радикали, що виникають в шарах впорядковано розташованих білкових молекул, взаємодіють з утворенням "зшивань", внаслідок чого порушується структура біомембран. Завдяки пошкодженням лізосомальних мембран відбувається збільшення активності і вивільнення ферментів, які шляхом дифузії досягають будь-якої органели клітки і легко в неї проникають, викликаючи її лізис [149, 150]. Тобто, основними чинниками патологічного морфогенезу у даному випадку буде загибель клітин від гострого опромінення, із подальшою утилізацією продуктів некрозу та розростанням сполучної тканини. Крім того, слід зазначити пошкоджуючу дію опромінення на мітохондрії та мітохондріальну ДНК, спільну із дією при оксидантному стресі – у обох випадках результатом буде метаболічна катастрофа із активацією процесів апоптозу.

Кінцевий ефект  $\gamma$ -опромінення є результатом не тільки первинного пошкодження клітин, але і подальших процесів відновлення. Передбачається, що значна частина первинних пошкоджень у клітині виникає у вигляді потенційних пошкоджень, які можуть реалізуватися у разі відсутності відновних процесів [151]. Реалізації цих процесів сприяють процеси біосинтезу білків і нуклеїнових кислот. Поки реалізації потенційних пошкоджень не відбулося, клітина може "відновитися" [152]. Це, як передбачається, пов'язано з ензимними реакціями і обумовлено енергетичним обміном. Вважається, що в основі цього явища лежить діяльність систем, які в звичайних умовах регулюють інтенсивність природного мутаційного процесу [153, 154].

Отже, на підставі представлених даних стає зрозумілим, що при всій глибині і різносторонності досліджень морфогенезу органів і тканин, що індукуються стресом і радіацією, даних про поєднану дію патогенних чинників недостатньо. Так, маловивченою здається поєднана дія стресу і радіації на основні патогенетичні ланки (спонтанні реакції окислення, пошкодження генома, порушення структури на клітинному, тканинному і органному рівні, і, відповідно, функціональні порушення). З одного боку, дія гострого стресу та опромінення у великих дозах досить відомі та вивчені; але слід зазначити, що проблема спільної дії хронічного стресу як фонового фактору, та малих доз радіації, яких недостатньо для активації репаративних систем, практично не деталізована. Слід зазначити, що саме цей стан є найбільш актуальним у аспекті формування техногенного середовища, і тому саме поєднання хронічної фонові дії малих доз радіації та підпорогового стресу є одним з найбільш важливих факторів патоморфозу. Таким чином, саме ця область вважається найбільш перспективною для проведення подальших досліджень. Поглиблене вивчення поєднаної дії патогенних чинників на патогенез захворювань в перспективі сприятиме розробці ефективних методів лікування, спрямованих на ключові ланки патоморфоза.

### 1.3. Основні принципи стреспротекторної терапії

Принципи лікування гострих стрес-індукованих порушень досить вивчені [155, 156]. Також це стосується принципів лікування та профілактики гострих радіаційних порушень, [146, 147]. З іншого боку, концепція терапії порушень, ініційованих малими дозами радіації, а, зокрема, профілактики таких порушень, взагалі не розроблена. Слід зазначити, що загальний принцип підходу до лікування подібних патологічних явищ досить зрозумілий – це пригнічення окислення (переважно в контексті окислення органічних сполук) [155, 156], за рахунок механізмів обриву реакційних

ланцюгів та застосування протекторів клітин, які блокують патологічні фактори та прискорюють клітинне відновлення [181, 182].

Молекули антиоксиданту взаємодіють з активними радикалами з утворенням малоактивних радикалів. Окислення сповільнюється також у присутності речовин, що руйнують гідроперекиси [157]. В цьому випадку знижується швидкість утворення вільних радикалів. Навіть у невеликій кількості (0,01—0,001 %) антиоксиданти зменшують швидкість окислення, тому протягом деякого часу (період гальмування, індукції) продукти окислення не виявляються [158]. У практиці гальмування окислювальних процесів, велике значення має явище синергизма, взаємного посилення ефективності антиоксидантів в суміші, або у присутності інших речовин [161, 162]. Практичний досвід антиоксидантної терапії свідчить про переваги деяких терапевтичних комбінацій [161, 162]. Таким чином, антиоксиданти безпосередньо впливають на процес спонтанного окислення ліпідів, який є загальним для патогенезу порушень, характерних для стресу і іонізуючого випромінювання [169, 170]. Блокування такої істотної ланки дозволяє запобігти каскадному руйнуванню клітинних структур і систем, відповідальних за накопичення енергетичних субстратів (клітинний рівень), прискорити процеси оксигенації і репарації (тканинний рівень) і відновити функціональну активність органу в динамічній взаємодії з іншими органами і системами (органний рівень) [159, 160].

Практичний досвід вказує, що при патологічних станах, зумовлених хронічним випромінюванням та хронічним стресом [186, 187] доцільно використовувати такий препарат, як  $\alpha$ -ліпоева кислота це ендogenous антиоксидант (зв'язує вільні радикали), в організмі утворюється при окислювальному декарбоксилюванні  $\alpha$ -кетокислот [171, 173]. Як кофермент мітохондріальних мультиферментних комплексів бере участь в окислювальному декарбоксилюванні піровиноградної кислоти і  $\alpha$ -кетокислот [196, 197, 198]. Сприяє зниженню концентрації глюкози в крові і збільшенню

глікогену в печінці, а також подоланню інсулинорезистентності. По характеру біохімічної дії близька до вітамінів групи В [199]. Препарат в регулюванні ліпідного і вуглеводного обміну, стимулює обмін холестерину, покращує функцію печінки [200], а також має гепатопротекторну, гіполіпідемічну, гіпохолестеринемічну, гіпоглікемічну дію і покращує трофіку нейронів [201]. Вивчений вплив  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти на деякі ланки патогенезу змін біоенергетичного балансу, характерних для хронічного опромінення та дії хронічного стресу [174, 175]: так препарат збільшує співвідношення АД/НАДН, підвищує концентрацію GSN у клітині, стабілізує підвищення внутрішньоклітинного рівню Ca, та пригнічує активацію системи NF- $\kappa$ B [157, 158, 163]. На тлі застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти було досягнуто ряд терапевтичних ефектів – так, при хронічних захворюваннях печінки, зумовлених токсичними факторами, а також дією вільних радикалів, спостерігалось зменшення симптоматики, поліпшення показників функціонального стану печінки та нирок, поліпшення рівня ліпідів та холестерину, а також стимуляція репаративних процесів у органі [159, 160, 161].

Крім того, клінічний досвід вказує на доцільність застосування гепатопротекторів [177, 178] при лікуванні патологічних змін, у основі яких лежать вільно радикальні механізми [180]. Механізм дії препаратів цієї великої та досить різноманітної групи досить не з'ясований, але очевидно, що одним з основних їх ефектів є пригнічення окислювальних процесів [182] та потужна стимуляція процесів репарації [183] ушкоджених клітин, що призводить до відновлення функціональної активності органа [184]. Велика частина інформації про препарати цієї групи отримана емпіричним шляхом, і ще вимагає всебічного вивчення в рамках валідних досліджень (яскравим прикладом в даному випадку може служити адеметионин (Heptral) [184, 185, 186], визнаний і який широко використовується клініцистами.

Найпильнішого вивчення заслуговує препарат тіотриазолін - препарат з групи тіазолу (морфолинова сіль 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіооцтової кислоти) [187], широко вживаний в клінічній практиці для корекції різноманітних метаболічних порушень, який зарекомендував себе як надійний, ефективний і безпечний засіб [188]. Фармакологічні властивості тіотриазоліну обумовлені протиішемічними, мембраностабілізуючими, антиоксидантними і іммуномодуючими властивостями. Препарат попереджає пошкодження і загибель гепатоцитів [189], знижує ступінь жирової інфільтрації і поширеність централобулярного некрозу печінки, активує процеси репаративної регенерації гепатоцитів, нормалізує в них білковий, вуглеводний, ліпідний і пігментний обмін [190]. Також тіотриазолін прискорює синтез і виділення жовчі та нормалізує її хімічний склад [190, 191]. Тіотриазолін підвищує компенсаторну активацію анаеробного гліколізу, зменшує пригнічення процесів окислення в циклі Кребса з збереженням резервів АТФ. Препарат активує антиоксидантну систему і гальмує процеси окислення ліпідів в ішемізованих тканинах [191, 192]. Тіотриазолін покращує властивості реології крові за рахунок активації фібринолітичної системи.

Антиоксидантні властивості препарату виявляються завдяки наявності в структурі молекули тіотриазоліна тіола сірки, який володіє окислювально-відновлювальними властивостями, і третинного азоту, що зв'язує надлишок іонів водню [193]. Тіотриазолін реагує з активними формами кисню і ліпідними радикалами за рахунок виражених відновлювальних властивостей тіольної групи [194] і попереджає ініціацію активних форм кисню шляхом реактивації антирадикальних ферментів супероксиддисмутази, каталази і глутатіонпероксидази [195].

Розглянувши представлені дані, можна виділити основні напрямки, в яких на даний час проводиться пошук нових препаратів для протекторної терапії: розробка принципово нових препаратів, на підставі подальшого вивчення патогенезу захворювань; розробка нових препаратів в рамках



існуючих терапевтичних напрямів; пошук нових, ефективніших і безпечніших комбінацій існуючих препаратів. У цьому аспекті перспективною можна вважати концепцію сумісного застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну [199, 200].

Як вказувалося вище, фармакокінетичний і фармакодинамічний профіль тіотриазоліна і  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти детально вивчений, як в межах доклінічних і клінічних досліджень, так і на підставі досвіду застосування препаратів в практиці. Спільність їх дії припускає, що сумісне застосування препаратів забезпечує потенціювання їх терапевтичного ефекту [203]. У клінічній практиці широко поширений комплексний підхід до терапії метаболічних порушень печінки, з сумісним використанням вказаних препаратів [204].

Проте, слід зазначити, що для найбільш повноцінного розуміння механізмів потенціювання ефектів і розробки оптимальних терапевтичних схем комбінованої терапії необхідне проведення ряду досліджень, направлених на вивчення комплексної дії препаратів на клітинному, тканинному і органному рівні, а також на вивчення динамічної інтерактивної системи терапії мультифакторної патології за допомогою комплексної патогенетичної терапії [205].

Слід зазначити, що стрес-протекторна терапія у наш час є недостатньо вивченою – очевидна відсутність методичних розробок по застосуванню препаратів, та навіть відсутня спільна класифікація стрес-протекторів. Одним з найбільш вагомих питань у даному аспекті є те, що стрес, взагалі, є адаптивною реакцією організму. На ранніх фазах він, безумовно, сприяє активації адаптивних та репаративних процесів, накопиченню енергетичних сполук та підвищенню резистентності. Очевидно, що на цьому етапі стрес не потребує будь-якої фармакологічної корекції. Якщо ж тривалий стрес досягає стадії виснаження, що призводить до метаболічної катастрофи з каскадним вільно радикальним окисленням,

очевидно, що в даному випадку ефективними можуть стати загальні методи блокування ПОЛ (протекція мембран, блокування вільних радикалів, захист геному клітини [155, 156, 157]). Іншими словами, стрес-протекторна терапія, реалізована завдяки антиоксидантам та гепатопротекторам, не стільки змінює метаболічний профіль, чи інактивує патологічний чинник, скільки допомагає адаптивним системам організму самостійно впоратися із негативними наслідками хронічного стресу.

Представлені дані свідчать про те, що тіотриазолін та  $\alpha$ -ліпоева кислота надають могутню і різносторонню дію на основні патогенетичні ланки стресу. Препарати пригнічують реакції окислення, і знижують рівень вільних радикалів в клітині, що, у свою чергу, перешкоджає руйнуванню клітинних структур і активує регенераторні процеси [202]. Дані ефекти можна екстраполювати на тканинний і органний рівень, і стверджувати, що застосування тіотриазоліну та  $\alpha$ -ліпоевої кислоти забезпечує зміцнення регенераторного потенціалу клітин, органів і тканин, відновлення функціональних здібностей скомпрометованого органу, пригнічення каскадних катаболічних процесів, обумовлених дією патогенних чинників (стрес, радіація, інтоксикація). В світі особливостей патохімії процесу пошкоджень клітин, викликаних стресом і радіацією, можна припустити, що сумісне застосування препаратів надає протективну дію на геном клітини, і перешкоджає як індивідуальному її пошкодженню, так і успадкуванню нестабільності генома. Унаслідок недостатності матеріалів з цього питання, даний аспект вимагає пильної уваги і всебічного вивчення в рамках як доклінічних, так і клінічних досліджень.

Аспекти радіаційної дії на енергетичний обмін і стресіндукованих його змін досить детально вивчені окремо, проте очевидним є недолік досліджень, присвячених поєднаній дії цих ушкоджувальних агентів. Тобто, відсутній системний підхід до порушень енергетичного обміну, як до мультифакторної патології, обумовленої зовнішніми чинниками. Наголошується недостатність матеріалів, присвячених динамічній взаємодії агресивних чинників (зокрема

– ефекту радіації на різних етапах стресу, і, навпаки, дії стресу на стійкість до радіаційних уражень). Крім того, очевидний недолік досліджень, присвячених успадкуванню стресіндукованих і радіаційних пошкоджень, а також особливостей адаптивних систем. Дана область представляється вельми перспективною для проведення додаткових досліджень.

Проте, не дивлячись на відсутність структурованої патогенетичної бази і чіткої методології, не можна не відзначити значного прогресу, який був досягнутий в аспекті терапії стресіндукованих і радіаційних порушень енергетичного обміну. Проводиться активний емпіричний пошук методів дії на патологію енергетичного балансу. Слід повторити, що розробка єдиного, структурованого, патогенетичного підходу до патології енергетичного обміну, із залученням адекватної гісто-морфологічної бази, а також вивчення патоморфозу даного стану залежно від поєднань ушкоджувальних чинників, сприятиме найбільш ефективній розробці методів лікування, направлених безпосередньо на ключові ланки патогенезу.

Враховуючи баланс витрат і доцільність в аспекті розробки терапевтичних підходів до лікування стресіндукованих і радіаційних уражень, а також порушень, викликаних поєднаною дією вказаних чинників, на наш погляд найбільш обґрунтованим уявляється ведення досліджень саме у напрямку комбінованої терапії, з використанням вже відомих препаратів.

Таким чином, вивчення застосування тіотриазоліну і  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти при лікуванні уражень печінки, що індукуються агресивними чинниками, із створенням системного підходу на клітинному, тканинному і органному рівні, дозволить максимально оцінити механізми терапевтичної дії препаратів, визначити особливості потенціювання їх ефектів і можливі цільові ланки патогенезу, на які направлена їх дія, а також, надалі, розробити оптимальні схеми комбінованої терапії, застосування яких в перспективі можливо як при ізольованих стресіндукованих і радіаційних порушеннях

енергетичного обміну, так і при патології, викликаній поєднаною дією вказаних чинників.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Лабораторні тварини та моделювання експерименту.

Експериментальні дослідження проведені на 406 статевозрілих щурах, 21 зародку лінії Вістар, які утримувались за стандартних умов експериментально-біологічної клініки Одеського державного медичного університету з дотриманням науково практичних рекомендацій [207] та положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей". Дослідження були сплановані з врахуванням основних положень моделювання експериментів по вивченню спадкових зрушень у ссавців [208].

У відповідності до мети та задач дослідження експеримент складався з трьох частин. В першій частині роботи проводили дослідження впливу фракційного  $\gamma$ -опромінення сумарною дозою 1,0 Гр; відтворення хронічного емоційно-больового стресу та їх поєднаної дії на вміст аденілових нуклеотидів в тканинах печінки, еритроцитах; функціональну активність ядер гепатоцитів, мітотичну активність гепатоцитів, кількість патологічних мітозів а також перекисну резистентність еритроцитів. Досліджували ефективність експериментальної монотерапії тіотриазоліном,  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою та їх комбінованого застосування, для попередження порушень зазначених показників у тварин, у яких хронічний емоційно-больовий стрес відтворювали після завчасного  $\gamma$ -опромінення сумарною дозою 1,0 Гр. Таким чином, метою першої частини дослідження було патогенетичне обґрунтування фармакологічної корекції негативного впливу поєднаної дії  $\gamma$ -опромінення та хронічного стресу, а також оцінка ефективності фармакологічної корекції  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою, тіотриазоліном та їх

комбінованим застосуванням радіаційно- та стрес-індукованих зрушень в гепатоцитах і еритроцитах.

У відповідності до цього тварин (119 особин) в рамках першої частини роботи розподілили на групи:

- першу групу складала інтактні статевозрілі 90-денні самці (7 щурів);
- другу групу складала щурі, які підлягали фракційному  $\gamma$ -опроміненню сумарною дозою 1,0 Гр (7 особин);
- третю групу складала самці, у яких відтворювали хронічний емоційно-больовий стрес (21 щур);
- четверту групу складала щурі, у яких наступної доби після завершення фракційного  $\gamma$ -опромінення сумарною дозою 1,0 Гр відтворювали хронічний емоційно-больовий стрес (21 особина);
- п'яту групу складала щурі, яким призначали монотерапію тіотриазоліном. Тварини даної групи підлягали  $\gamma$ -опроміненню, після чого у них відтворювали хронічний емоційно-больовий стрес (21 особина);
- шосту групу складала щурі у яких хронічний стрес відтворювали після  $\gamma$ -опромінення, при цьому проводили експериментальну монотерапію  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою (21 особина);
- сьому групу складала щурі, у яких хронічний стрес відтворювали після  $\gamma$ -опромінення, при цьому проводили експериментальну терапію  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою та тіотриазоліном (21 особина).

В другій частині роботи досліджували динаміку вікових змін вищезазначених показників на різних етапах постнатального онтогенезу самців, отриманих від інтактних та радіаційно- та стрес-уражених щурів. Досліджували можливість комбінованого застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну для профілактики реалізації негативних наслідків впливу  $\gamma$ -опромінення та хронічного стресу в поколіннях радіаційно- та стрес-уражених щурів. Основною метою досліджень другої частини роботи було з'ясування особливостей порушень морфогенезу печінки та енергетичного

обміну в ній в постнатальному онтогенезі потомства  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів, та розробка засобів їх фармакологічної профілактики.

У відповідності до мети другої частини роботи дослідних тварин (21 зародок та 147 щурів) розподілили на групи:

- першу групу склали зародки (7 особин) та дводенні, 14-, 30-, 90-денні; 6-, 12- та 24-місячні щурі, отримані від інтактних тварин (по 7 тварин кожного віку, загалом 49 особин);

- другу групу склали зародки (7 особин) та дводенні, 14-, 30-, 90-денні; 6-, 12- та 24-місячні щурі, отримані від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених попередників (по 7 тварин кожного віку, загалом 49 особин), до групи вибирали тварин з ознаками нестабільності геному;

- до третьої групи увійшли 7 зародків та щурі віком 2, 14, 30 і 90-діб; 6, 12 та 24 місяці отримані від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених тварин (по 7 тварин кожного віку, загалом 49 особин). Попередники щурів даної групи отримували експериментальну комплексну терапію  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою та тіотриазоліном.

- четверту групу склали тварини віком 30 діб (90 особин) отримані від  $\gamma$ - опромінених та стрес-уражених попередників. Тварин розподілили на дві підгрупи. Перша підгрупа – потомство тварин, які не отримували експериментальну терапію перед спарюванням; друга – потомство тварин, які отримували експериментальну терапію. У потомства  $\gamma$ - опромінених та стрес-уражених тварин визначали наявність нестабільності геному за цитогенетичними показниками. Дослідження в групі проводились з метою оцінки здатності запропонованої експериментальної терапії попереджати виникнення нестабільності геному в поколіннях  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів.

Нарешті в третій частині роботи досліджували стрес-індуковані зрушення енергетичного обміну в печінці та еритроцитах; структурно-функціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів при відтворенні

хронічного емоційно-больового стресу у статевозрілих щурів, отриманих від радіаційно- та стрес-уражених щурів. Мета даної частини роботи: з'ясування особливостей перебігу загального адаптаційного синдрому у тварин, отриманих від радіаційно- та стрес-уражених попередників і з'ясування ефективності застосування комбінації  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну для попередження стрес-індукованих порушень зазначених вище показників. У відповідності до цього тварин розподілили на відповідні групи:

- першу група складалась з 21 щура віком 90 діб, отриманих від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів. У тварин даної групи відтворювали хронічний емоційно-больовий стрес. Дані отримані в цій групі порівнювали з показниками стрес-уражених щурів, отриманих від інтактних попередників в ході виконання першої частини роботи;

- друга група складалась з 21 щура віком 90 діб, отриманих від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів. У тварин даної групи відтворювали хронічний емоційно-больовий стрес та призначали комплексну експериментальну терапію  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою та тіотриазоліном.

Окрему групу тварин складали 98 самців і самок, у яких після  $\gamma$ -опромінення відтворювали хронічний емоційно-больовий стрес. Після чого цих тварин спарювали для отримання потомства. З потомства цих щурів формували другу та третю експериментальні групи другої частини роботи, та першу і другу групи третьої частини дисертаційної роботи.

Експериментальних тварин піддавали тотальному  $\gamma$ - опроміненню на  $\gamma$ -терапевтичній установці АГАТ-Р («ВНИИРТ», Росія), ізотоп  $Co^{60}$ . Опромінення проводили натщесерце о 9 годині ранку з дотриманням таких технічних умов: потужність дози 1,07 Гр/хвилину, відстань від джерела до поля 0,75 м.; поле 0,2×0,2 м.; одноразова доза 0,1 Гр. Опромінення тварин проводили кожні 72 години для досягнення сумарної дози 1,0 Гр. Дозиметричний контроль за дотриманням технічних умов проводився



дозиметричною службою Одеського обласного онкологічного диспансеру на базі якого проводили опромінення.

Для моделювання хронічного емоційно-больового стресу використовували класичну модель, яку легко можна відтворити і яка характеризується помірною інтенсивністю стресогенного впливу та стандартністю, до того ж вона відповідає умовам гуманного відношення до лабораторних тварин при їх використанні в експериментальних дослідженнях. Для цієї моделі відома тривалість стадій загального адаптаційного синдрому [ 209].

Хронічний емоційно-больовий стрес відтворювали протягом 18 діб. Щурі підлягали дії електричного струму силою 6 мА в спеціальній камері з двома платформами (великою і маленькою), в дно яких вмонтовані електроди. Електричні імпульси подавали щоденно, тривалістю три години. Коли струм подавали на велику платформу, щурі переходили на маленьку, на яку струм не подавали. Після вироблення рефлексу, при якому щури уникають великої платформи, електричні імпульси подають на маленьку платформу. В проміжок часу між ударами електричного струму тварини постійно знаходяться в напруженому стані очікуючи наступного подразнення. Останнє створює у щурів тривогу, яка супроводжується характерними вегетативними реакціями: тахіпноє, тахікардія, екзофтальм, вокалізація, агресивна оборонна поза. Стадія тривоги при цьому тривала в перші четверо діб, з п'ятої по чотирнадцяту добу тривала стадія резистентності, після п'ятнадцятої доби впливу розвивалася стадія виснаження.

Для дослідження поєднаної дії радіації та стресу після завершення  $\gamma$ -опромінення відтворювали хронічний стрес за вищенаведеними методиками.

З метою отримання виводку від радіаційно-уражених попередників, через 12 діб по завершенні дії іонізуючої радіації проводили спарювання самців та самок, опромінених у дозі 1,0 Гр. Відбір самок для запліднення та визначення першого дня вагітності проводили за методиками отримання

тварин з точно датованим строком вагітності [210]. Для отримання тварин з точно датованим строком вагітності відбирали самок на стадії проєструс, або раннього єструса та залишали в клітках з самцями на ніч. Вразі виявлення в вагінальних мазках сперматозоїдів наступного ранку - самок вважали вагітними.

В першій частині роботи в п'ятій групі призначали тіотриазолін (2,5 % розчин для ін'єкцій, "Arterium", Україна) за схемою: по 9,0 мг/кг маси тіла на добу з першої по сімнадцяту добу відтворення хронічного стресу.

В першій частині роботи в шостій групі призначали  $\alpha$ -ліпоєву кислоту (розчин для ін'єкцій: в 24 мл розчину 755 мг  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти етилендіамінової солі, що відповідає 600 мг  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти, "Berlin Chemie", Німеччина) за схемою: по 7,5 мг/кг маси тіла на добу внутрішньовенно з першої по сімнадцяту добу відтворення стресу.

В першій частині роботи в сьомій групі та в третій частині – в другій групі тваринам призначали і  $\alpha$ -ліпоєву кислоту, і тіотриазолін за схемою:  $\alpha$ -ліпоєва кислота по 7,5 мг/кг маси тіла на добу з першої по сімнадцяту добу відтворення хронічного стресу та тіотриазолін по 9 мг/кг маси тіла на добу з першої по сімнадцяту добу відтворення хронічного стресу. Нарешті в другій частині роботи у  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів, відібраних для спарювання і отримання потомства для подальших досліджень,  $\alpha$ -ліпоєву кислоту та тіотриазолін призначали за схемою:  $\alpha$ -ліпоєва кислота по 7,5 мг/кг маси тіла на добу з першої по сімнадцяту добу хронічного стресу; тіотриазолін по 9 мг/кг маси тіла на добу з першої по сімнадцяту добу відтворення хронічного стресу.

Призначення  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну проводили на підставі рекомендацій вибору дози лікарської речовини для клінічних випробувань [209]. Розрахунок дози базувався на співвідношенні між масою і поверхнею тіла людини і тварини. При цьому виходили з того, що мінімальна ефективна доза, співвіднесена до площі тіла у людини та тварин однакова. У випадку з щурами ефективна доза від такої у людини відрізняється в 56 разів [209].

В першій частині роботи в другій групі тварин виводили з експерименту наступного дня по завершенню  $\gamma$ -опромінення. У всіх групах, в яких у щурів відтворювали хронічний емоційно-больовий стрес, тварин виводили з експерименту на 3-ю (стадія тривоги), 7-у (стадія резистентності) та 17-у (стадія виснаження) добу від початку відтворення хронічного стресу. В другій частині роботи у всіх групах щурів виводили з експерименту на 2, 14, 30, 90-ту добу; 6, 12 та 24 місяці життя. Для отримання зародків, вагітних самок виводили з експерименту на 18-ту добу вагітності. Термін вагітності визначали за наведеною вище методикою.

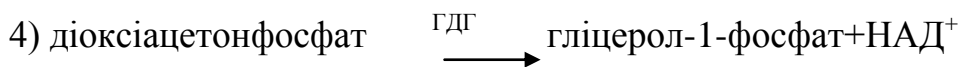
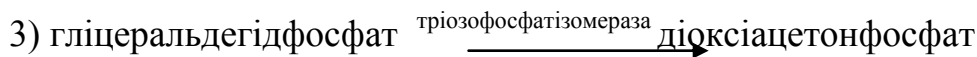
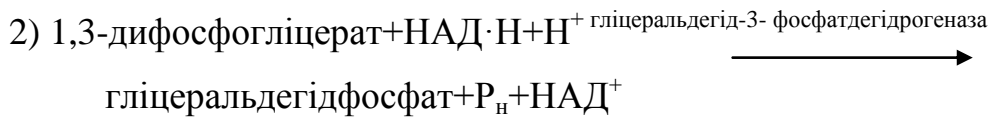
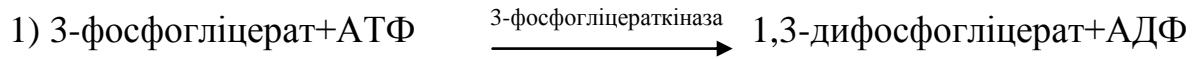
Щурів забивали під ефірним наркозом шляхом швидкої декапітації [211], кров збирали до центрифужних пробірок попередньо оброблених гепарином. Отриману кров центрифугували, відбирали еритроцитарну масу, яку тричі промивали в охолодженому фізіологічному розчині і піддавали гемолізу у двох об'ємах бідестильованої води. Отриманий гемолізат використовувався для проведення досліджень вмісту макроергів в еритроцитах. Після розтину черевної порожнини вилучали печінку і занурювали її до охолодженого розчину 0,14 М КСІ. Із тканин печінки готували гомогенат для визначення вмісту аденілових нуклеотидів. Частину вилученої печінки, заливали в парафін за стандартною методикою, і готували постійні гістологічні препарати [212]. Забарвлювали зрізи гематоксилин-еозіном, ставили PAS-реакцію [212], за методом Яцьковського [213], досліджували методом світлової мікроскопії.

## 2.2. Методи експериментальних досліджень

В роботі досліджували вміст аденілових нуклеотидів в еритроцитах і тканинах печінки; мітотичну активність гепатоцитів та кількість патологічних мітозів, функціональну активність ядер гепатоцитів; перекисну резистентність еритроцитів та вміст глікогену в гепатоцитах.

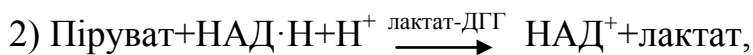
Кількісне визначення вмісту аденилових нуклеотидів в супернатантах гомогенатів тканин печінки та еритроцитах проводили спектрофотометрично.

Принцип методу визначення АТФ полягав у наступному. В результаті послідовних реакцій:

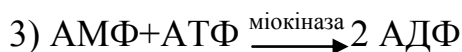


зменшується концентрація АТФ. Кількість АТФ, що прореагувала у фосфогліцераткіназній реакції, еквімолярна зменшенню вмісту НАД·Н, який реєструвався спектрофотометрично [214].

Суть методу, за яким визначався вміст АДФ і АМФ, полягає в тому, що на першому етапі:



В результаті піруваткіназної реакції реєструвалося зменшення вмісту НАД·Н, еквімолярне кількості АДФ, а на другому етапі:



В результаті міокіназної реакції - 1/2 АМФ (на 1 мкмоль АМФ утворюється 2 мкмоль НАД<sup>+</sup>). Вміст АМФ, АДФ та АТФ виражали в мкмоль/г тканин печінки мг/ 100 мл еритроцитів [215].

Визначення перекисної резистентності еритроцитів проводилось наступним чином – кров 0,02 мл вносили до мікроцентрифужної пробірки, яка містила 0,4 мл цитрату фізіологічного розчину (на 0,4 мл фізіологічного розчину додавали 2 краплі 0,2 М розчину лимонно-кислого натрію), центрифугували 5 хвилин при 3000 об/хв. Центрифугат видаляли, а до осаду (еритроцити) додавали 0,4 мл буферно-фізіологічного розчину, приготованого змішуванням рівних об'ємів фізіологічного розчину NaCl та

1/15 М фосфатного буфера рН 7,4. Після 15-хвилинної інкубації в термостаті при 37° еритроцитарну суспензію знову центрифугували протягом 5 хвилин при 3000 обертів/хв. Центрифугат знову зливали і до осаду додавали 0,25 мл фізіологічного розчину (при цьому утворюється приблизно 4% суспензія еритроцитів). Для визначення перекисної резистентності еритроцитів в 4 мікропробірки вносили по 0,05 мл готової суспензії. До перших 3-х проб додавали по 0,05 мл 2,4% розчину  $H_2O_2$  в 1/15 М фосфатному буфері рН 7,4, а у четверту пробу (контроль) - 0,05 мл того ж буферного розчину. Усі проби інкубують 15 хв. у термостаті при 37°, потім витримують при кімнатній температурі протягом 2 годин 45 хвилин. Після цього до усіх пробірок, окрім третьої додають 0,3 мл буферно-фізіологічного розчину, а до 3-ої пробірки для отримання повного гемолізу додають 0,3 мл дистильованої води. Усі проби центрифугують 5 хвилин при 3000 об/хв. Ступінь гемолізу визначають колориметруванням центрифугатів на ФЕК. Про перекисну резистентність еритроцитів судять за ступенем гемолізу, викликаним впливом  $H_2O_2$  [216].

Для дослідження вмісту глікогену в гепатоцитах ставили PAS-реакцію [212]. Доведені до води зрізи занурювали у розчин йодної кислоти на 5 хв. промивали дистильованою водою, для видалення йодної кислоти, після чого обробляли реактивом Шифа протягом 15 хвилин. Після чого зрізи обробляли в трьох порціях тільки-но приготованої серністої води по 1 хв. у кожній, промивали, ядра забарвлювали гематоксиліном.

Підраховували мітотичну активність – кількість мітозів на 10 тисяч гепатоцитів; та кількість фігур патологічних мітозів на 10 тисяч гепатоцитів. Кількість гепатоцитів підраховували автоматично за допомогою програмного забезпечення „Видео Тест-Мастер Морфологія” (ТОВ «ВидеоТест», Росія).

Функціональну активність ядер клітин визначали за допомогою методу диференціального забарвлення ядер з різною активністю. Принцип методу полягає в використанні барвників з різною молекулярною масою (альціановий синій – 118,6 Д, сафранін 350,84 Д) від чого залежить їх здатність зв'язуватись з різними за щільністю структурами. Внаслідок цього

гетерохроматин забарвлюється сафраніном, еухроматин забарвлюється альціановим синім. В кожному гістологічному препараті досліджували по 100 клітин. Забарвлені сафраніном ядра вважалися неактивними, альціановим синім – активними, забарвлені сафраніном і альціановим синім – ядра з проміжною активністю [213].

Про наявність у потомства  $\gamma$ - опромінених та стрес-уражених щурів нестабільності геному судили по зростанню кількості клітин з мікроядрами [217]. Аналізували частоту поліхроматофільних еритроцитів з мікроядрами в кістковому мозку та епітеліоцитів в букальному епітелії дослідних тварин [209]. Кількість поліхроматофільних еритроцитів з мікроядрами у інтактних тварин становила  $0,2 \pm 0,05$  %, епітеліоцитів  $0,3 \pm 0,05$  %. Якщо кількість досліджуваних клітин з мікроядрами у нащадків  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених тварин перевищувала середній показник інтактних тварин на  $2 \sigma$ , то у таких тварин діагностували наявність нестабільності геному.

### 2.3. Обґрунтування вибору препаратів для корекції радіаційно-та стрес-індукованих зрушень в гепатоцитах та еритроцитах

В результаті проведених досліджень з'ясовані механізми порушень вмісту макроергічних сполук в тканинах печінки та еритроцитах, а також порушень морфофункціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів у  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів та їх потомства першого покоління. Отримані дані дозволили патогенетично обґрунтувати експериментальну терапію зазначених розладів. З метою попередження можливих зрушень запропоновано використання препаратів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну.

Застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти в експериментальній терапії в першу чергу обумовлені її здатністю впливати на енергетичний обмін. Амід  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти входить до складу піруват-дегідрогеназного комплексу, а також  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу циклу Кребсу. Важливими

є антиоксидантні та гепатопротекторні властивості  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти, її здатність попереджати вільнорадикальне ушкодження молекул ДНК [131, 153, 169, 196].

Другим препаратом вибору був тіотриазолін. Тіотриазолін являє собою препарат, фармакологічний ефект якого обумовлений протиішемічними, мембраностабілізуючими, антиоксидантними та імуномодулюючими властивостями. Встановлено, що тіотриазолін запобігає загибелі гепатоцитів, знижує ступінь жирової інфільтрації та обмежує поширення централобулярних некрозів печінки, сприяє процесу репаративної регенерації гепатоцитів, нормалізує в них білковий, вуглеводний, ліпідний та пігментний обмін. Встановлено також, що тіотриазолін здатен впливати на перебіг гліколізу та тканинного дихання, що сприяє збереженню внутрішньоклітинного фонду АТФ [51, 187, 194, 218, 219]. Застосування препаратів в комбінації повинно було б підвищити ефективність стреспротекторної експериментальної терапії за рахунок сумачії ефектів.

#### 2.4. Методи статистичних досліджень.

Отримані дані оброблялися статистично з використанням статистичного пакету програми "Видеотест-Мастер Морфологія" (Видео Тест, Росія). Отримані дані спочатку обробляли за допомогою методів описової статистики. Надалі динаміку змін досліджуваних показників оцінювали за допомогою дисперсійного аналізу. У випадку, якщо нульова гіпотеза відкидалася, використовували для подальшого аналізу критерій Ньюмена-Кейлса [220]. Для порівняльної оцінки стреспротекторної активності монотерапії  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою, тіотриазоліном та їх комбінації застосовували кластерний аналіз [209, 221].

## РОЗДІЛ 3

ПРОФІЛАКТИКА РАДІАЦІЙНО- ТА СТРЕС-ІНДУКОВАНИХ ЗРУШЕНЬ В  
ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ ТА ЕРИТРОЦИТАХ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ

Найпоширеніші та найвпливовіші фактори довкілля, які діють сьогодні на людину: вплив іонізуючої радіації та хронічний соціальний стрес здатні спричиняти ушкодження геному, які зберігаються та передаються в поколіннях опромінених та стрес уражених ссавців змінюючи неспецифічну резистентність останніх. Виходячи з цього необхідною є розробка методів профілактики, не тільки безпосередньо наслідків дії радіації та хронічного стресу, а й попередження реалізації їх впливу в наступних поколіннях. Для розробки ефективних профілактичних засобів, необхідно зосередити увагу на дослідженні ланок патогенезу дії  $\gamma$ -опромінення та хронічного стресу окремо та їх комбінації. Враховуючи залежність перебігу всіх метаболічних процесів в організмі, від енергетичного їх забезпечення, доцільним є дослідження біоенергетичних процесів в тканинах печінки разом з вивченням порушень процесів регенерації гепатоцитів за фізіологічних та патологічних умов. Останнє може бути вкрай важливим, адже печінка є „метаболічним мозком” організму і відіграє ключову роль в механізмах стрес-реакцій.

У свою чергу перебіг енергетичних процесів залежить від достатньої доставки кисню до тканин, тому вкрай важливим може бути дослідження енергетичного обміну в еритроцитах. Виходячи з цього були сплановані і проведені експериментальні дослідження.

3.1. Вплив хронічного стресу та іонізуючого випромінювання на морфофункціональний стан тканин печінки та еритроцитів

Після формування груп контролю було досліджено вплив хронічного емоційно-больового стресу, загального фракційного  $\gamma$ -опромінювання



сумарною дозою 1,0 Гр, а також з'ясовані особливості поєднаної їх дії на організм статевозрілих щурів. Дослідили в тканинах печінки вміст аденілових нуклеотидів при дії зазначених факторів, що дало змогу оцінити забезпечення енергетичними ресурсами відповіді організму на  $\gamma$ -опромінення та стрес. Визначення вмісту макроергічних сполук в еритроцитах буде віддзеркалювати зміни загального стану організму у відповідь на дію несприятливих факторів. Скісно можна судити за цими показниками про здатність еритроцитів забезпечувати киснем тканини. Визначення мітотичної активності та кількості патологічних мітозів, а також функціональної активності ядер гепатоцитів дало змогу, по-перше, з'ясувати значення порушення енергетичного обміну для забезпечення процесів фізіологічної регенерації, по-друге оцінити негативний вплив радіації та стресу на зазначені процеси. Дослідження перекисної резистентності еритроцитів буде вказувати на ступінь їх пошкодження. У сукупності з дослідженнями енергетичного обміну можна буде патогенетично обґрунтувати фармакологічну корекцію поєднаної дії  $\gamma$ -опромінення та стресу.

3.1.1. Радіаційно-індуковані зрушення морфофункціональних властивостей тканин печінки та еритроцитів. В результаті проведених досліджень з'ясовано, що фракційне  $\gamma$ -опромінення призводить до виснаження енергетичних ресурсів тканин печінки. Про що свідчило зниження вмісту АДФ та АТФ відповідно на 11,5 і 15,6 % порівняно з інтактними тваринами. Отримані дані підтверджувалися гістологічними дослідженнями, які виявили зменшення вмісту глікогену в гепатоцитах  $\gamma$ -опромінених щурів, порівняно з інтактними. Поруч з цим кількість АМФ в тканинах печінки зростала на 17,2 % (табл. 3.1).

В еритроцитах зрушення енергетичного обміну були менш інтенсивними, ніж в печінці. Виявлена лише тенденція до зростання вмісту АМФ і зменшення кількості АДФ. Статистично достовірним було лише

зменшення вмісту в еритроцитах АТФ на 18 % порівняно з інтактними тваринами.

Таблиця 3.1

**Вміст макроергічних сполук в тканинах печінки та еритроцитах інтактних та  $\gamma$ -опромінених щурів**

(M $\pm$ m; n=7; мг/100 мл; мкмоль/г тканин печінки)

Група	Біоматеріал	Показники		
		АМФ	АДФ	АТФ
Інтактні	Печінка	0,64 $\pm$ 0,031	1,13 $\pm$ 0,062	1,54 $\pm$ 0,054
	Еритроцити	39,5 $\pm$ 0,34	42,1 $\pm$ 0,20	44,4 $\pm$ 0,28
$\gamma$ -опромінені	Печінка	0,75 $\pm$ 0,028 *	1,0 $\pm$ 0,04 *	1,3 $\pm$ 0,052 *
	Еритроцити	42,7 $\pm$ 0,85	38,7 $\pm$ 0,73	36,4 $\pm$ 0,62 *

Примітка. \* - p<0,05 – порівняно з показниками інтактних щурів.

Більші за інтенсивністю зрушення в гепатоцитах можуть бути пояснені необхідністю знешкодження продуктів обміну, які проходять через печінку з усього організму і обумовлені загальним характером впливу іонізуючої радіації.

Виявлено, що вплив фракційного  $\gamma$ -опромінення викликає зменшення осмотичної резистентності еритроцитів про що свідчило зростання відсотка гемолізованих еритроцитів у  $\gamma$ -опромінених щурів, порівняно з інтактними тваринами (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Перекисна резистентність еритроцитів у  $\gamma$ -опромінених щурів**

(M $\pm$ m; n=7; % гемолізованих еритроцитів)

Група	Перекисна резистентність
Інтактні	3,8 $\pm$ 0,32
$\gamma$ -опромінені	12,9 $\pm$ 0,31*

Примітка.\* -  $p < 0,05$  – порівняно з показниками інтактних щурів.

Порушення енергетичного обміну, а також безпосередній вплив іонізуючої радіації на генетичний апарат гепатоцитів призводило до пригнічення їх мітотичної активності на 24,7 % (табл. 3.3). Якщо зменшення активності поділу клітин є по своїй суті захисною реакцією організму у відповідь на дію несприятливих факторів, то різке зростання в декілька разів кількості патологічних мітозів є ознакою безпосереднього пошкодження клітин. До того ж це вказує на недостатню ефективність репаративних процесів.

Таблиця 3.3

**Радіаційно-індуковані морфофункціональні зрушення в  
гепатоцитах**

(M±m; n=7; %; кількість мітозів на 10000 гепатоцитів)

Група	Функціональна активність ядер %			Мітотична активність	Патологічні мітози
	висока	проміжна	низька		
Інтактні	81,3±3,2	12,9±0,52	5,8±0,21	28,3±0,51	0,1±0,01
γ-опромінені	75,8±3,1	6,9±0,33 *	17,3±0,78 *	21,3±0,47*	4,1±0,29 *

Примітка.\* -  $p < 0,05$  – порівняно з показниками інтактних щурів.

Тривале γ-опромінення спричиняло зміни функціональної активності ядер гепатоцитів. Майже втричі збільшувалася кількість ядер з низькою функціональною активністю, що корелює з пригніченням мітотичної активності гепатоцитів. Слід зазначити, що хоча і спостерігали зменшення кількості гепатоцитів з функціонально активними ядрами, відмінності від

показників інтактних тварин статистично не вірогідні. Підтримання кількості гепатоцитів з функціонально активними ядрами відбувалося за рахунок зменшення вдвічі кількості гепатоцитів з проміжною активністю ядер. З одного боку таким шляхом забезпечується належне функціонування печінки, з іншого, зазначені зрушення балансу клітинних популяцій гепатоцитів вказують на виснаження резервів.

Таким чином, тривале фракційне  $\gamma$ -опромінення сумарною дозою 1,0 Гр призводить до виснаження енергетичних ресурсів еритроцитів та тканин печінки, в останньому випадку в більшому ступені; пригнічує мітотичну активність гепатоцитів та збільшує кількість патологічних мітозів. Активоване  $\gamma$ -опроміненням вільнорадикальне окислення викликає зниження перекисної резистентності еритроцитів.

3.1.2. Стрес-індуковані порушення енергетичного обміну та морфофункціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів. В подальших дослідженнях ми дослідили відмінності стрес-індукованих зрушень морфофункціональних властивостей еритроцитів та тканин печінки, від радіаційно-індукованих. В результаті проведених досліджень з'ясовано, що на стадії тривоги хронічного стресу у тканинах печінки відбуваються збільшення вмісту АДФ на 15,9 %, АТФ на 24 %, порівняно з інтактними щурами. При цьому кількість АМФ залишалась незмінною. Виявлені зрушення відповідають реалізації антистресорних механізмів організму, тобто збільшення активності метаболічних процесів з метою адаптації до впливу стрес-індукуючого фактора (табл. 3.4).

На стадії резистентності хронічного стресу відбувалася стабілізація вмісту в тканинах печінки макроергічних сполук, що відповідає адаптації організму до дії несприятливих факторів довкілля. В даному випадку вміст АМФ зберігався на рівні інтактних тварин, вміст АДФ та АТФ виявлявся збільшеним порівняно з інтактними тваринами на 13,3 % та 16,9 % відповідно. Таким чином, за умов адаптації, тканини печінки не тільки

забезпечуються в повному обсязі енергетичними ресурсами, але і формується певний стабілізаційний фонд енергетичних сполук.

Таблиця 3.4

**Вміст макроергичних сполук в тканинах печінки та еритроцитах  
стрес-уражених щурів**

(M±m; n=7; мкмоль/г тканин печінки; мг/100 мл)

Біоматеріал	Стадія стресу	Показник		
		АМФ	АДФ	АТФ
Печінка	Інтактні	0,64±0,031	1,13±0,062	1,54±0,054
	Тривоги	0,65±0,03	1,31±0,05* <sup>1</sup>	1,91±0,08* <sup>1</sup>
	Резистентності	0,64±0,02	1,28±0,04* <sup>1</sup>	1,80±0,07* <sup>1</sup>
	Виснаження	0,75±0,03* <sup>1,3</sup>	1,0±0,03* <sup>1,3</sup>	1,3±0,04* <sup>1,3</sup>
Еритроцити	Інтактні	39,5±0,34	42,1±0,20	44,4±0,28
	Тривоги	41,1±0,78	47,2±0,85* <sup>1</sup>	51,9±1,03* <sup>1</sup>
	Резистентності	41,9±0,63* <sup>1</sup>	46,7±0,60* <sup>1</sup>	51,1±0,51* <sup>1</sup>
	Виснаження	47±0,52* <sup>1,3</sup>	36,2±0,51* <sup>1,3</sup>	38,1±0,49* <sup>1,3</sup>

Примітки:

- 1.\*<sup>1</sup> - p<0,05 – порівняно з показниками інтактних щурів,
- 2.\*<sup>2</sup> - p<0,05 – порівняно зі стадією тривоги;
- 3.\*<sup>3</sup> - p<0,05 – порівняно зі стадією резистентності.

Нарешті відтворення хронічного емоційного-больового стресу на стадії виснаження призводить до збільшення вмісту АМФ на 17,2 % порівняно зі стадією резистентності. Порівняно з цією ж стадією вміст АДФ зменшувався на 21,9 %, АТФ на 27,8 %. Тобто відбувалося виснаження енергетичних

ресурсів тканин печінки, викликане дією тривалого стресуючого фактора. Таким чином, стадія виснаження порівняно з інтактними тваринами характеризувалася збільшенням вмісту АМФ на 17,2% і зменшенням вмісту АДФ і АТФ відповідно на 11,5 % та 15,6 %.

В свою чергу в еритроцитах на стадії тривоги хронічного стресу, як і в тканинах печінки вміст АМФ не зазнав істотних зрушень, тоді як кількість АТФ зростала на 16,9 %, АДФ на 12,1 %. На стадії резистентності та виснаження зберігалася така ж сама тенденція змін вмісту аденілових нуклеотидів. Стабілізація показників на визначному рівні відбувалась на стадії резистентності. На стадії виснаження хронічного стресу збільшувався вміст АМФ при зменшенні кількості АДФ та АТФ відповідно, порівняно зі стадією резистентності хронічного стресу.

В свою чергу, порівняно з інтактними тваринами, еритроцити щурів на стадії виснаження хронічного стресу містили на 19 % більше АМФ, на 14 та 14,2 % менше відповідно АДФ та АТФ.

Таким чином вплив хронічного емоційного больового стресу викликає типові зрушення енергетичного обміну в різних тканинах організму, що є відображенням перебігу загального адаптаційного синдрому.

Надалі ми дослідили, як змінюється перекисна резистентність еритроцитів та показники регенерації гепатоцитів та функціональної активності їх ядер на різних стадіях хронічного стресу.

При відтворенні хронічного емоційно-больового стресу, на стадії тривоги, мітотична активність гепатоцитів зменшувалася на 31,8 %. На стадії резистентності кількість мітозів зростала на 17,6 %, порівняно з попередньою стадією стресу, але залишалася меншою, ніж у інтактних тварин на 19,8 %. Нарешті, на стадії виснаження хронічного стресу виявлено пригнічення мітотичної активності до 49,8 % від рівня інтактних щурів. Поруч з цим спостерігалася різке зростання кількості патологічних мітозів (табл. 3.5).

Виявлені зміни мітотичної активності гепатоцитів в цілому відповідають літературним даним про відповідь організму на хронічний

стрес. Зменшення мітотичної активності гепатоцитів на стадії тривоги хронічного стресу є захисною реакцією спрямованою на попередження пошкодження генетичного апарату клітин. На стадії резистентності відносно підвищення мітотичної активності вказує на пристосування організму до дії стресорного фактору. На користь останнього свідчить і відсутність змін кількості патологічних мітозів порівняно зі стадією тривоги.

Таблиця 3.5

**Стрес-індуковані морфофункціональні зрушення гепатоцитів  
неопромінених щурів**

(M±m; n=7; %; кількість мітозів на 10000 гепатоцитів).

Стадія стресу	Функціональна активність ядер %			Мітотична активність	Патологічні мітози
	Висока	Проміжна	Низька		
Інтактні	81,3±3,2	12,9±0,52	5,8±0,21	28,3±0,51	0,1±0,01
Тривоги	79,2±2,3	11,1±0,33 * <sup>1</sup>	9,7±0,38 * <sup>1</sup>	19,3±0,57 * <sup>1</sup>	0,4±0,01 * <sup>1</sup>
Резистентності	93,1±3,7 * <sup>1,2</sup>	2,7±0,10 * <sup>1,2</sup>	4,2±0,21 * <sup>1,2</sup>	22,7±0,51 * <sup>1,2</sup>	0,3±0,01 * <sup>1,2</sup>
Виснаження	70,5±3,5 * <sup>1,2</sup>	15±0,6 * <sup>1,2,3</sup>	14,5±0,58 * <sup>1,2,3</sup>	14,1±0,38 * <sup>1,2,3</sup>	2,8±0,12 * <sup>1,2,3</sup>

Примітки:

- 1.\*<sup>1</sup> - p<0,05 – порівняно з інтактними щурами;
- 2.\*<sup>2</sup> - p<0,05 – порівняно з попередньою стадією стресу.
- 3.\*<sup>3</sup> - p<0,05 – стадія виснаження хронічного стресу, порівняно з γ-опроміненими (див. табл. 3.3).

Нарешті на стадії виснаження, на якій знижується резистентність організму, захисні системи не здатні протидіяти впливу хронічного стресу і значно пригнічується мітотична активність гепатоцитів, яка в даному

випадку може відображати загальний стан організму. Виснаження антирадикальних захисних систем призводить до пошкодження генетичного апарату гепатоцитів, що проявляється різким збільшенням кількості фігур патологічних мітозів.

При співставленні змін енергетичного обміну та мітотичної активності можна дійти висновку про залежність між забезпеченням гепатоцитів енергетичними ресурсами і ефективністю процесів регенерації. На стадії резистентності хронічного емоційно-больового стресу відбувалася стабілізація енергетичного обміну і пристосування до існування за умов постійного впливу стресуючого фактора. Такі самі висновки можна зробити і при оцінці показників фізіологічної регенерації печінки.

Нарешті виснаження енергетичних ресурсів в тканинах печінки на стадії виснаження хронічного стресу супроводжувалося пригніченням на 37,9 % мітотичної активності порівняно зі стадією резистентності і збільшенням кількості патологічних мітозів в декілька разів. Тобто продовження дії стресуючого фактора, накопичення викликаних ним пошкоджень на фоні виснаження енергетичних ресурсів клітин може призводити до неефективності фізіологічної регенерації гепатоцитів, накопиченню клітин з ушкодженим генетичним апаратом і розвитком захворювань.

На тлі відтворення хронічного стресу спостерігали і порушення співвідношення гепатоцитів з різною функціональною активністю ядер. На стадії тривоги хронічного стресу зменшувалася кількість ядер з проміжною активністю на 14 %. При цьому зростала доля ядер з низькою функціональною активністю на 67,2 %. Кількість ядер з високою активністю не зазнавала істотних зрушень порівняно з інтактними тваринами. Виявлені зрушення відображають процеси адаптації клітин печінки до тривалої дії стрес-індукуючого фактору.

На стадії резистентності хронічного стресу зменшувалася кількість гепатоцитів з неактивними ядрами, порівняно зі стадією тривоги вдвічі і складала 72,4 % від показників інтактних тварин. Паралельно з цим зростала



кількість гепатоцитів з активними ядрами порівняно зі стадією тривоги на 17,6 %, що перевищувало показники інтактних тварин на 14,5 %. Щодо кількості ядер з проміжною активністю, то їх кількість зменшувалася порівняно зі стадією тривоги вчетверо. Наведені зрушення характеризують стадію резистентності до тривалої дії стрес-індукуючого фактору.

На стадії виснаження хронічного стресу зменшувалася кількість гепатоцитів з високою функціональною активністю ядер на 24,3 %, порівняно зі стадією резистентності і на 13,3 % порівняно з інтактними тваринами.

При цьому зростала кількість гепатоцитів з проміжною активністю ядер в 5,5 раз, порівняно зі стадією резистентності і перевищувала показники інтактних тварин на 16,3 %. Кількість гепатоцитів з неактивними ядрами в 3,5 рази перевищувала показники тварин зі стадією резистентності і була більшою, ніж у інтактних тварин в 2,5 рази. Тобто на стадії виснаження спостерігався процес інактивації ядер гепатоцитів. Збільшення кількості ядер з проміжною активністю відображало процес переходу ядер від високої функціональної активності до низької. Виявлені зрушення кінетики популяцій гепатоцитів співвідносилися з даними мітотичної активності гепатоцитів і кількості патологічних мітозів.

Подібні тенденції виявлені і при дослідженнях перекисної резистентності еритроцитів. Встановлено, що на стадії тривоги відсоток гемолізованих еритроцитів збільшувався в 1,2 рази порівняно з інтактними тваринами, що свідчить про зміни їх перекисної резистентності внаслідок вільнорадикального пошкодження мембрани. На стадії резистентності хронічного стресу на фоні стабілізації енергетичного обміну в еритроцитах спостерігалось зменшення кількості штучно гемолізованих еритроцитів на 14,5 % порівняно зі стадією тривоги. При цьому перекисна резистентність еритроцитів залишалась зниженою на 86,8 % порівняно з інтактними тваринами. Нарешті на стадії виснаження хронічного стресу відбувалося падіння перекисної резистентності еритроцитів вдвічі порівняно зі стадією

резистентності (табл. 3.6). Останнє відбувалося на фоні виснаження енергетичних ресурсів еритроцитів. Стрес-індуковані зрушення перекисної резистентності еритроцитів свідчать про вільнорадикальну природу пошкодження їх мембран, взаємозв'язок між енергозабезпеченням еритроцитів та станом їх мембран. Цілком вірогідно, що збільшення питомої ваги пошкоджених еритроцитів може супроводжуватись зниженням ефективності доставки кисню в тканини, виникненням гіпоксії. Таким чином, останнє призводитиме до замкнення патологічного кола і може бути одним з механізмів зриву адаптації при дії стресу, поглиблення стрес-індукованих метаболічних зрушень в тканинах, поступового виснаження захисних систем і переходу до стадії виснаження.

Таблиця 3.6

**Стрес-індуковані зрушення перекисної резистентності еритроцитів  
у неопромінених щурів**

(M±m; n=7; % гемолізованих еритроцитів)

Показник	Інтактні	Стадія стресу		
		Тривоги	Резистентності	Виснаження
Перекисна резистентність	3,8±0,32	8,3±0,40* <sup>1</sup>	7,1±0,28* <sup>1,2</sup>	14,3±0,63* <sup>1,3,4</sup>

Примітки:

- 1.\*<sup>1</sup> - p<0,05 – порівняно з інтактними (див. табл. 3.2);
- 2.\*<sup>2</sup> - p<0,05 – порівняно зі стадією тривоги;
- 3.\*<sup>3</sup> - p<0,05 – порівняно зі стадією резистентності;
- 4.\*<sup>4</sup> - p<0,05 – стадія виснаження порівняно з γ-опроміненими щурами (див. табл. 3.2).

Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлені характеристики стрес-індукованих порушень енергетичного обміну в тканинах печінки і еритроцитах, виявлено зв'язок між забезпеченням гепатоцитів та еритроцитів макроергічними сполуками та їх структурно-функціональним станом.

Надалі порівняли зрушення енергетичного обміну і морфофункціональних властивостей гепатоцитів і еритроцитів у щурів, які зазнали дії іонізуючої радіації та хронічного стресу (порівнювали показники тварин на стадії виснаження хронічного стресу). Встановлено, що статистично достовірні відмінності вмісту АМФ, АТФ та АДФ в печінці і еритроцитах відсутні, по завершенні  $\gamma$ -опромінення і на стадії виснаження стресу. Відсутність достовірних зрушень пов'язана ймовірно з реалізацією негативного впливу іонізуючої радіації і хронічного стресу через активацію вільнорадикального окислення. Однак виявлені і певні відмінності в дії  $\gamma$ -опромінення і факторів, які призводять до розвитку хронічного стресу. На стадії виснаження перекисна резистентність еритроцитів менша (відсоток гемолізу на додавання  $H_2O_2$  вищий на 11 %), ніж у  $\gamma$ -опромінених, що свідчить про більш інтенсивну активацію вільнорадикального окислення. Однак у  $\gamma$ -опромінених тварин більш виразні зрушення структурно-функціональних властивостей гепатоцитів. Так, у  $\gamma$ -опромінених щурів в 2,2 рази меншою була кількість гепатоцитів з проміжною активністю ядер і на 16,2 % більшою з неактивними, ніж у щурів на стадії виснаження хронічного стресу (див. табл. 3.3 та 3.5). До того ж у  $\gamma$ -опромінених щурів майже в 1,5 рази більшою була кількість патологічних мітозів. Виявлені зрушення, а саме більша кількість патологічних мітозів та гепатоцитів з низькою активністю ядер, потребують активації компенсаторних процесів, що і відбувалося. На користь останнього твердження вказувала більша на 33,8 % мітотична активність гепатоцитів у  $\gamma$ -опромінених щурів, ніж на стадії виснаження у стресованих тварин ( $p < 0,05$ ).

Таким чином в результаті проведених досліджень з'ясовані відмінності між ефектами впливу фракційного  $\gamma$ -опромінення та хронічного емоційно-больового стресу.

3.1.3. Вплив поєднаної дії  $\gamma$ -опромінення та хронічного емоційно-больового стресу на морфофункціональні властивості еритроцитів та гепатоцитів. В результаті проведених досліджень ми з'ясували особливості порушень енергетичного обміну в тканинах печінки та еритроцитах, а також зміни морфофункціональних властивостей гепатоцитів за умов поєднаної дії іонізуючого випромінювання та хронічного емоційно-больового стресу. Хоча обидва фактори ініціюють вільнорадикальне пошкодження організму, виявлено відмінності в наслідках впливу  $\gamma$ -опромінення і радіації. Надалі за необхідне ми вважали дослідити, як впливає тривале опромінення в низьких дозах на перебіг адаптації організму до впливу хронічного емоційно-больового стресу. Останнє є актуальним, враховуючи те, що велика кількість населення мешкає на забруднених радіонуклідами територіях, підлягає тривалому впливу зовнішнього та інкорпорованого  $\gamma$ -опромінення в малих дозах. На цих же територіях люди підлягають і соціальному стресу, який на сьогодні стає однією з причин погіршення стану здоров'я населення. З'ясування механізмів розвитку адаптації до хронічного стресу на фоні хронічного  $\gamma$ -опромінення дасть змогу розробити ефективні методи профілактики стрес-індукованих зрушень.

В результаті проведених досліджень порівняли зміни вмісту АМФ, АДФ та АТФ у  $\gamma$ -опромінених стрес-уражених і неопромінених стрес-уражених щурів. Так у тварин, які зазнали фракційного  $\gamma$ -опромінення перед відтворенням хронічного стресу в тканинах печінки на стадіях тривоги, резистентності та виснаження, а в еритроцитах на стадіях резистентності та виснаження містилося менше АТФ (табл. 3.7). В печінці та еритроцитах на стадіях резистентності та виснаження містилося менше АДФ. Натомість в

печінці на стадіях тривоги і резистентності, а в еритроцитах на стадії виснаження містилося більше АМФ.

Таблиця 3.7

**Вміст макроергічних сполук в тканинах печінки та еритроцитах  
радіаційно- та стрес-уражених щурів**

(M±m; n=7; мкмоль/г тканин печінки; мг/100 мл)

Біоматеріал	Стадія стресу	Показник		
		АМФ	АДФ	АТФ
Печінка	Тривоги	0,72±0,01 * <sup>1,4</sup>	1,29±0,03 * <sup>1</sup>	1,73±0,036 * <sup>1,4</sup>
	Резистентності	0,75±0,02 * <sup>1,4</sup>	1,09±0,02 * <sup>2</sup>	1,43±0,02 * <sup>2,4</sup>
	Виснаження	0,83±0,02 * <sup>1,2,3,4</sup>	0,86±0,016 * <sup>1,2,3,4</sup>	0,94±0,03 * <sup>1,2,3,4</sup>
Еритроцити	Тривоги	44,6±0,71 * <sup>1,4</sup>	46,7±0,75 * <sup>1</sup>	50,6±0,66 * <sup>1</sup>
	Резистентності	45,5±0,64 * <sup>1,4</sup>	40±0,52 * <sup>1,2,4</sup>	41,3±0,62 * <sup>1,2,4</sup>
	Виснаження	52,1±0,68 * <sup>1,2,3,4</sup>	31,2±0,49 * <sup>1,2,3,4</sup>	29,9±0,48 * <sup>1,2,3,4</sup>

Примітки:

- 1.\*<sup>1</sup> - p<0,05 – порівняно з інтактними ( див. табл. 3.1);
- 2.\*<sup>2</sup> - p<0,05 – порівняно зі стадією тривоги;
- 3.\*<sup>3</sup> - p<0,05 – порівняно зі стадією резистентності.

4.\*<sup>4</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно зі стрес-ураженими неопроміненими щурами (див. табл. 3.4).

В результаті проведених досліджень встановлено, що завчасне тривале фракційне  $\gamma$ -опромінення сумарною дозою 1,0 Гр порушує перебіг загального адаптаційного синдрому при відтворенні хронічного емоційно-больового стресу. В тварин зазначеної групи на стадії тривоги хронічного стресу зменшувалася кількість гепатоцитів з високою функціональною активністю ядер на 15,1 %, зростала кількість з проміжною і низькою відповідно на 52,7 і 94,8 % порівняно з інтактними тваринами (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

**Морфофункціональні зрушення гепатоцитів радіаційно та стрес-уражених щурів**

(M $\pm$ m; n=7; %, кількість мітозів на 10000 гепатоцитів).

Стадія стресу	Функціональна активність ядер %			Мітотична активність	Патологічні мітози
	Висока	Проміжна	Низька		
Інтактні	81,3 $\pm$ 3,2	12,9 $\pm$ 0,52	5,8 $\pm$ 0,21	28,3 $\pm$ 0,51	0,1 $\pm$ 0,01
Тривоги	69 $\pm$ 2,1* <sup>1,3</sup>	19,7 $\pm$ 0,98 * <sup>1,3</sup>	11,3 $\pm$ 0,33 * <sup>1,3</sup>	25,3 $\pm$ 0,46 * <sup>1,3</sup>	3,2 $\pm$ 0,3 * <sup>1,3</sup>
Резистентності	71 $\pm$ 2,6* <sup>1,3</sup>	20,8 $\pm$ 0,83 * <sup>1,3</sup>	8,2 $\pm$ 0,18 * <sup>1,2,3</sup>	20,1 $\pm$ 0,28 * <sup>1,2,3</sup>	5,1 $\pm$ 0,38 * <sup>1,2,3</sup>
Виснаження	58 $\pm$ 2,3* <sup>1,2,3</sup>	19,7 $\pm$ 0,98* 1,3	22,3 $\pm$ 0,66* 1,2,3	10,3 $\pm$ 0,28 * <sup>1,2,3</sup>	9,3 $\pm$ 0,71 * <sup>1,2,3</sup>

Примітки:

- 1.\*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з інтактними тваринами;
- 2.\*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з попередньою стадією стресу;
- 3.\*<sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з тваринами, які зазнали лише впливу хронічного стресу (див. табл. 3.5).

На стадії резистентності хронічного стресу кількість гепатоцитів з високою функціональною активністю була меншою, ніж у інтактних тварин на 12,7 %, з проміжною – більшою на 61,2 %, з низькою – більшою на 41,4 %. Нарешті, на стадії виснаження кількість гепатоцитів з активними ядрами зменшувалася на 28,7 %, кількість з проміжною активністю зростала на 52,7 %, неактивними в 3,8 рази порівняно з інтактними тваринами.

У  $\gamma$ -опроміненених та стрес-уражених щурів зміни співвідношення гепатоцитів з різною функціональною активністю ядер відрізнялись від таких у тварин, у яких моделювали стрес без завчасного  $\gamma$ -опромінення. Так у радіаційно- та стрес-уражених тварин на стадії тривоги кількість гепатоцитів з функціонально активними ядрами зменшувалася на 12,9 % більш інтенсивно. Кількість гепатоцитів з ядрами з проміжною активністю була більшою на 77,5 %, з низькою активністю – на 16,5 % вищою. Тобто, у тварин даної групи на стадії тривоги виразність зрушень була більшою, ніж у тварин, у яких відтворювали стрес без завчасного  $\gamma$ -опромінення. На стадії резистентності у тварин, які зазнали поєднаної дії стресу і радіації не відбувалося коливань вмісту гепатоцитів з ядрами з низькою і проміжною активністю порівняно зі стадією тривоги, лише зменшувався вміст гепатоцитів з низькою активністю ядер. Нарешті у щурів даної групи на стадії виснаження кількість клітин з високою активністю була меншою на 17,7 %, з проміжною активністю вищою на 31,3 %, з низькою – вищою на 53,8 %, порівняно зі стрес-ураженими неопроміненими щурами. Виявлені зрушення є свідченням того, що завчасне  $\gamma$ -опромінення порушує перебіг загального адаптаційного синдрому.

В результаті проведених досліджень встановлено, що поєднана дія  $\gamma$ -опромінення та хронічного стресу викликає більш глибокі порушення поділу гепатоцитів порівняно з лише дією одного хронічного стресу. Так на стадії тривоги хронічного стресу, відтвореного на фоні дії  $\gamma$ -опромінення мітотична активність була вищою на 31,1 %, що може бути ознакою запізнення захисних реакцій організму на дію несприятливого фактора, яка повинна

зменшити мітотичну активність клітин. На користь останнього свідчить швидке, майже в 8 раз зростання кількості патологічних мітозів в печінці порівняно зі стрес-ураженими неопроміненими щурами.

Пригнічення мітотичної активності в групі стрес-уражених  $\gamma$ -опромінених щурів відбувалося на стадії резистентності на 20,6 % порівняно зі стадією тривоги. Привертають увагу два факти: по-перше, у стрес-уражених неопромінених щурів на стадії резистентності навпаки відбувалося збільшення мітотичної активності. По-друге у  $\gamma$ -опромінених стрес-уражених щурів продовжувала зростати кількість патологічних мітозів гепатоцитів на 59,3% порівняно зі стадією тривоги, що відбувалося на фоні зменшення мітотичної активності. Нарешті слід зазначити, що у стрес-уражених неопромінених тварин на стадії резистентності кількість патологічних мітозів зменшувалась порівняно зі стадією тривоги. У сукупності виявлені зрушення можуть свідчити про дезінтеграцію механізмів пристосування опромінених тварин до дії хронічного стресу. Наслідком цього було подальше пригнічення мітотичної активності гепатоцитів на стадії виснаження порівняно зі стадією резистентності на 48,8 % і подальше збільшення кількості фігур патологічних мітозів гепатоцитів.

Більш глибокі пошкодження спостерігались і при дослідженні перекисної резистентності еритроцитів. Встановлено, що на стадії тривоги кількість гемолізованих еритроцитів у радіаційно- та стрес-уражених щурів була в 2,4 рази більша, ніж у стрес-уражених неопромінених щурів. Подальше відтворення хронічного стресу у  $\gamma$ -проміненних щурів призводило до поглиблення пошкодження еритроцитів, про що свідчить зниження перекисної резистентності еритроцитів порівняно зі стадією тривоги на 41,1 %. Натомість у стрес-уражених неопромінених тварин на стадії резистентності відбувалося навпаки відновлення перекисної резистентності еритроцитів порівняно зі стадією тривоги, хоча воно і не досягало рівня інтактних тварин. Нарешті на стадії виснаження у  $\gamma$ -проміненних і стрес-уражених щурів виявлено максимальне зменшення перекисної



резистентності порівняно з іншими дослідженими групами. У тварин зазначеної групи кількість гемолізованих еритроцитів порівняно зі стадією резистентності збільшувалась на 37,4 %, і перевищувала показники стрес-уражених неопромінених тварин в 2,7 рази (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

**Радіаційно- та стрес-індуковані зрушення перекисної резистентності еритроцитів**

(M±m; n=7; % гемолізованих еритроцитів)

Група	Стадія		
	Тривога	Резистентність	Виснаження
Стрес-уражені неопромінені	8,3±0,40 <sup>*1</sup>	7,1±0,28 <sup>*1,2</sup>	14,3±0,63 <sup>*1,2</sup>
Опромінені Стрес-уражені	19,7±0,63 <sup>*1,3</sup>	27,8±0,86 <sup>*1,2,3</sup>	38,2±1,1 <sup>*1,2,3</sup>

Примітки:

1.\*<sup>1</sup> - p<0,05 – порівняно з інтактними (перекисна резистентність: 3,8±0,32 % гемолізованих еритроцитів);

2.\*<sup>2</sup> - p<0,05 – порівняно з попередньою стадією стресу;

3.\*<sup>3</sup> - p<0,05 – порівняно зі стрес-ураженими та опроміненими щурами.

Таким чином, в результаті проведених досліджень з'ясовано, що тривале іонізуюче випромінювання призводить до порушення процесів адаптації організму до дії хронічного емоційно-больового стресу. Внаслідок порушення енергетичного обміну в тканинах печінки відбуваються глибокі розлади функціональної та мітотичної активності гепатоцитів. Поруч з цим більш глибоке виснаження енергетичних ресурсів в еритроцитах супроводжується зменшенням їх перекисної резистентності, що може бути прямим маркером пошкодження їх мембран. Слід зазначити, що існують роботи в яких  $\gamma$ -опромінення в малих дозах сприяє більш ефективному

пристосуванню організму до впливу гострого  $\gamma$ -опромінення. У випадку дії хронічного емоційно-больового стресу цього не відбувається. Найвірогідніше із-за відмінностей в механізмах негативного впливу. Можливо має значення реакція центральної нервової системи, адже ключовою відмінністю  $\gamma$ -опромінення та хронічного емоційно-больового стресу є нездатність органами чуття сприймати іонізуюче випромінювання, на відміну від емоційно-больового стресу.

3.2. Профілактика радіаційно- та стрес-індукованих порушень енергетичного обміну та морфофункціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів

У результаті проведених досліджень з'ясовано, що поєднана дія іонізуючої радіації та хронічного стресу викликає зміни енергетичного обміну та морфофункціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів, відмінні від дії радіації та стресу окремо. Виходячи з цього, подальші дослідження, метою яких була розробка профілактичних заходів, проведені на групі тварин з поєднаною дією хронічного стресу та іонізуючої радіації. Враховуючи механізми дії радіації та стресу, а також роль печінки в забезпеченні адаптації організму до дії несприятливих факторів довкілля, ми дослідили можливості застосування тіотриазоліну та препарату  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти, а також їх комбінованого застосування з профілактичною метою. Надалі ми порівняли ефективність застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну та їх комбінованого застосування для профілактики поєднаної дії  $\gamma$ -опромінення та хронічного стресу.

В результаті проведених досліджень виявлено, що застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти попереджає збільшення кількості АМФ на стадії тривоги хронічного стресу. При цьому збільшувався вміст АДФ та АТФ в тканинах печінки на 16 та 14 % відповідно. Останнє свідчить про мобілізацію енергетичних ресурсів при дії стресуючого фактору більш ефективно, ніж у

тварин у яких не застосовували  $\alpha$ -ліпоєву кислоту. На стадії резистентності хронічного стресу не відбувалося істотних зрушень порівняно з попередньою стадією. Виявлені лише тенденції до зростання вмісту АМФ, АДФ та АТФ. У той час, як у тварин без корекції на тлі тенденції до зростання вмісту АМФ кількість АДФ та АТФ істотно зменшувалася. Нарешті на стадії виснаження хронічного стресу застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти не попереджало порушень енергетичного обміну в тканинах печінки. Так вміст АМФ зростав на 17% порівняно з інтактними тваринами, а кількість АТФ і АДФ зменшувалась відповідно на 21 та 12,1 %. Тобто застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти забезпечує більш ефективне пристосування до поєднаної дії  $\gamma$ -опромінення та хронічного стресу, але є недостатнім для тривалого підтримання енергетичного обміну в тканинах печінки на необхідному рівні.

При застосуванні тіотриазоліну не виявлено суттєвих відмінностей вмісту АМФ, АДФ та АТФ в тканинах печінки  $\gamma$ -опромінених і стрес уражених щурів на стадії тривоги порівняно з тваринами, які не отримували корекцію. Слід зазначити, що на відміну від  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти застосування тіотриазоліну не призводило до попередження зростання в тканинах печінки АМФ на стадії тривоги хронічного стресу (табл. 3.10).

Розвиток ефекту застосування тіотриазоліну спостерігали на стадії резистентності хронічного стресу. Відбувалося зменшення вмісту АМФ в тканинах печінки, і зростання кількості АДФ та АТФ. Вміст АМФ, АДФ та АТФ був таким самим, як при застосуванні  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти.

Таким чином ефект застосування тіотриазоліну розвивається дещо пізніше, ніж при застосуванні  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти. Нарешті комбінація  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну виявилася більш ефективною, ніж монотерапія  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою чи тіотриазоліном. На стадії тривоги хронічного стресу при його відтворенні на фоні  $\gamma$ -опромінення на жодній з досліджуваних стадій стресу вміст АМФ не перевищував показників інтактних тварин. На стадії тривоги відбувалося зростання кількості АДФ та АТФ в тканинах печінки на 27,1 та 28,3 % порівняно з інтактними тваринами.

**Ефективність фармакологічної корекції обміну аденолових нуклеотидів  
в печінці радіаційно- та стрес-уражених щурів**

(M±m; n=7; мкмоль/г тканин печінки)

Стадія стресу	Препарат	Показник		
		АМФ	АДФ	АТФ
Тривоги	α-ліпоєва кислота	0,70±0,014	1,31±0,04 * <sup>1</sup>	1,76±0,046 * <sup>1</sup>
	Тіотриазолін	0,71±0,014 * <sup>1</sup>	1,28±0,024 * <sup>1</sup>	1,72±0,026 * <sup>1</sup>
	α-ліпоєва кислота + Тіотриазолін	0,68±0,012	1,44±0,024 * <sup>1,2,3</sup>	1,98±0,031 * <sup>1,2,3</sup>
Резистентності	α-ліпоєва кислота	0,67±0,027	1,32±0,033 * <sup>1</sup>	1,78±0,034 * <sup>1</sup>
	Тіотриазолін	0,68±0,012	1,25±0,015	1,76±0,023 * <sup>1</sup>
	α-ліпоєва кислота + Тіотриазолін	0,65±0,010	1,35±0,019 * <sup>1,3,4</sup>	1,85±0,035 * <sup>1,3,4</sup>
Виснаження	α-ліпоєва кислота	0,75±0,012 * <sup>1,4,5</sup>	0,99±0,02 * <sup>1,4,5</sup>	1,22±0,015 * <sup>1,4,5</sup>
	Тіотриазолін	0,74±0,012 * <sup>1,5</sup>	1,0±0,014 * <sup>1,4,5</sup>	1,26±0,024 * <sup>1,4,5</sup>
	α-ліпоєва кислота + Тіотриазолін	0,69±0,013 * <sup>2,3,5</sup>	0,93±0,017 * <sup>1,2,3,4,5</sup>	1,31±0,029 * <sup>1,2,4,5</sup>

Примітки:

1.\*<sup>1</sup> - p<0,05 – порівняно з інтактними тваринами (див. табл. 3.1);

- 2.\*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою;
- 3.\*<sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з тіотриазоліном;
- 4.\*<sup>4</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно зі стадією тривоги;
- 5.\*<sup>5</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно зі стадією резистентності.

На стадії резистентності хронічного стресу відбувалося зменшення вмісту АДФ та АТФ, але при цьому він перевищував інші експериментальні групи. Нарешті на стадії виснаження хронічного стресу не спостерігали статистично достовірних зрушень вмісту АДФ та АТФ порівняно зі стадією резистентності. Тобто комбінація тіотриазоліну та  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти забезпечує більшу мобілізацію енергетичних ресурсів тканин печінки спрямовану на перебудову метаболізму для пристосування до умов в яких організм підлягає дії  $\gamma$ -опромінення та хронічного стресу. За рахунок цього на стадії резистентності хронічного стресу забезпечується більш високий вміст макроергічних сполук в тканинах печінки. У сукупності це дозволяє зберігати більш тривалий час адаптацію до впливу  $\gamma$ -опромінення та хронічного стресу і віддалити стадію виснаження хронічного стресу. На користь останнього свідчить відсутність достовірних змін вмісту АМФ, АДФ та АТФ в тканинах печінки на стадіях виснаження і резистентності хронічного стресу за умов застосування тіотриазоліну та  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти.

Надалі була досліджена ефективність застосування зазначених препаратів для профілактики порушень енергетичного обміну в еритроцитах радіаційно та стрес уражених шурів.

Встановлено, що застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну не призводить до статистично достовірних коливань вмісту макроергічних сполук в еритроцитах на стадії тривоги хронічного стресу порівняно з тваринами, які не отримували корекцію. Застосування ж комбінації цих препаратів попереджає збільшення вмісту АМФ при цьому виявлена тенденція до збільшення кількості АТФ (табл. 3.11).

**Ефективність фармакологічної корекції обміну аденолових нуклеотидів  
в еритроцитах радіаційно- та стрес-уражених щурів**

(M±m; n=7; мг/100 мл)

Стадія стресу	Препарат	Показник		
		АМФ	АДФ	АТФ
Тривоги	α-ліпоєва кислота	43,8±0,48 * <sup>1</sup>	48,4±0,68 * <sup>1</sup>	48,4±0,68 * <sup>1</sup>
	Тіотриазолін	45,4±0,59 * <sup>1,2</sup>	47,2±0,76 * <sup>1</sup>	51,4±0,72 * <sup>1,2</sup>
	α-ліпоєва кислота + Тіотриазолін	41,9±0,50 * <sup>1,2,3</sup>	47,9±0,78 * <sup>1</sup>	51,9±0,73 * <sup>1,2</sup>
Резистентності	α-ліпоєва кислота	44,2±0,75 * <sup>1</sup>	45±0,63 * <sup>1,4</sup>	48,8±0,63 * <sup>1</sup>
	Тіотриазолін	44,4±0,48 * <sup>1</sup>	41,7±0,62 * <sup>2,4</sup>	40,8±0,57 * <sup>1,2,4</sup>
	α-ліпоєва кислота + Тіотриазолін	40,7±0,56 * <sup>2,3</sup>	49,3±0,79 * <sup>1,2,3</sup>	52,4±0,63 * <sup>1,2,3</sup>
Виснаження	α-ліпоєва кислота	47±0,74 * <sup>1,4,5</sup>	34,9±0,59 * <sup>1,4,5</sup>	35,1±0,67 * <sup>1,4,5</sup>
	Тіотриазолін	49,8±0,80 * <sup>1,2,4,5</sup>	33,7±0,61 * <sup>1,4,5</sup>	32,3±0,61 * <sup>1,2,4,5</sup>
	α-ліпоєва кислота + Тіотриазолін	43,5±0,78 * <sup>1,2,3,5</sup>	39,2±0,63 * <sup>1,2,3,4,5</sup>	36,3±0,69 * <sup>1,3,4,5</sup>

Примітки:

- 1.\*<sup>1</sup> - p<0,05 – порівняно з інтактними;
- 2.\*<sup>2</sup> - p<0,05 – порівняно з α-ліпоєвою кислотою;
- 3.\*<sup>3</sup> - p<0,05 – порівняно з тіотриазоліном;
- 4.\*<sup>4</sup> - p<0,05 – порівняно стадією тривоги;

5.\*<sup>5</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно зі стадією резистентності.

Відмінності в ефектах монотерапії зазначеними препаратами виявлені на стадії резистентності хронічного стресу. Застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти призводило до зростання вмісту АДФ та АТФ на 7 та 10 % порівняно з інтактними тваринами. При застосуванні тіотриазоліну вміст в еритроцитах АДФ був на рівні інтактних, а АТФ нижчим на 8 %.

Слід зазначити, що за відсутності корекції еритроцити містили на 5 та 7 % менше відповідно АДФ і АТФ на стадії резистентності хронічного стресу порівняно з інтактними тваринами. Застосування ж комбінації  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну забезпечувало з поміж інших експериментальних груп мінімальне зростання вмісту АМФ та максимальне збільшення вмісту АДФ та АТФ. Нарешті на стадії виснаження хронічного стресу лише комбінація  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну ефективно попереджала порушення енергетичного обміну в еритроцитах порівняно з групою тварин, які не отримували корекцію. Так, порівняно з останнім, еритроцити містили на 22 % менше АМФ, стільки ж АДФ та на 14,4 % більш АТФ. Таким чином стосовно попередження порушень енергетичного обміну в еритроцитах найбільш ефективною виявилась комбінація  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну, найменш ефективним було застосування тіотриазоліну.

В результаті проведених досліджень, встановлено, що застосування препаратів, що містять  $\alpha$ -ліпоєву кислоту та тіотриазолін, а також їх комбінації зменшують порушення функціональної активності ядер гепатоцитів щурів, які зазнали поєднаної дії іонізуючої радіації та хронічного емоційно-больового стресу.

У щурів, які отримували  $\alpha$ -ліпоєву кислоту на стадії тривоги хронічного стресу кількість гепатоцитів з високою активністю ядер була більшою на 19,3 %; а з проміжною та низькою активністю меншою на 49,2 та 31,9 % відповідно, ніж у радіаційно- та стрес-уражених щурів, які не отримували корекції (табл. 3.12).

**Профілактика стрес-індукованих порушень функціональної активності ядер гепатоцитів**

(M±m; n=7; %)

Стадія стресу	Препарат	Функціональна активність ядер %		
		Висока	Проміжна	Низька
Тривоги	α-ліпоєва кислота	82,3±3,2	10±0,42 * <sup>14</sup>	7,7±0,36 * <sup>1,4</sup>
	Тіотриазолін	70,4±1,4 * <sup>1,2,4</sup>	18,8±0,54 * <sup>1,2,4</sup>	10,8±0,40 * <sup>1,2</sup>
	α-ліпоєва кислота +Тіотриазолін	82,4±3,3 * <sup>3</sup>	10,1±0,36 * <sup>1,3,4</sup>	7,5±0,30 * <sup>1,3,4</sup>
Резистентності	α-ліпоєва кислота	83,3±2,5 * <sup>4</sup>	6,3±0,20 * <sup>1,4</sup>	7,4±0,27 * <sup>1,4</sup>
	Тіотриазолін	80,1±4,0 * <sup>4</sup>	12,4±0,59 * <sup>2,4</sup>	7,5±0,27 * <sup>1,4</sup>
	α-ліпоєва кислота +Тіотриазолін	90,3±3,1 * <sup>1,3</sup>	5,1±0,20 * <sup>1,2,3,4</sup>	5±0,18 * <sup>1,2,3,4</sup>
Виснаження	α-ліпоєва кислота	69±3,1 * <sup>1</sup>	14,6±0,42 * <sup>1</sup>	16,4±0,70 * <sup>1,4</sup>
	Тіотриазолін	72±3,3 * <sup>1</sup>	16,1±0,58 * <sup>1,2</sup>	11,9±0,47 * <sup>1,2,4</sup>
	α-ліпоєва кислота +Тіотриазолін	80±3,8 * <sup>2</sup>	10,1±0,45 * <sup>1,2,3,4</sup>	9,9±0,50 * <sup>1,2,3,4</sup>

Примітки:

- 1.\*<sup>1</sup> - p<0,05 – порівняно з інтактними щурами;
- 2.\*<sup>2</sup> - p<0,05 – порівняно з α-ліпоєвою кислотою;
- 3.\*<sup>3</sup> - p<0,05 – порівняно з тіотриазоліном;



4.\*<sup>4</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з опроміненими та стрес-ураженими тваринами, які не отримували  $\alpha$ -ліпоєву кислоту та тіотриазолін (див. табл. 3.8).

В свою чергу у тварин зазначеної групи на стадії резистентності кількість гепатоцитів з високою функціональною активністю ядер практично не змінювалась і перевищувала показники тварин, які не отримували лікування на 17,3 %. При цьому, кількість гепатоцитів з проміжною активністю ядер була меншою на 69,7 %, з низькою – на 10 %.

Нарешті, на стадії виснаження хронічного стресу, на фоні застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти, кількість гепатоцитів з високою активністю ядер була більшою на 19 %, з проміжною і низькою – меншою на 25,9 та 26,5 %. Таким чином, застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти наближало перебіг загального адаптаційного синдрому у  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів до такого у тварин, які зазнали лише дії стресіндукуючого фактору без завчасного  $\gamma$ -опромінення.

При застосуванні тіотриазоліну не спостерігали істотних відмінностей співвідношення гепатоцитів з різною функціональною активністю ядер на стадії тривоги хронічного стресу від показників тварин, які не отримували експериментальної терапії.

На стадії резистентності на фоні застосування тіотриазоліну кількість гепатоцитів з високою функціональною активністю зростала і перевищувала показники тварин без лікування на 12,8 %, при цьому кількість гепатоцитів з проміжною активністю ядер була меншою на 40,4 %. Кількість гепатоцитів з низькою функціональною активністю не зазнавала істотних змін.

На стадії виснаження у тварин, які отримували тіотриазолін кількість гепатоцитів з функціонально активними ядрами була більшою на 24,1 %, з проміжною і низькою активністю меншою на 18,3 та 46,6 % відповідно ніж у нелікованих тварин. Таким чином, дія тіотриазоліну розвивається пізніше, ніж при введенні  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти. Однак, на стадії виснаження, на фоні

застосування тіотриазоліну кількість гепатоцитів з низькою функціональною активністю була меншою на 27,4 %, ніж у тварин які отримували  $\alpha$ -ліпоєву кислоту.

Максимального ефекту вдавалося досягти при комплексному призначенні  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну. На стадії тривоги ефект від застосування даної комбінації не відрізнявся від монотерапії  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою. Але на стадії резистентності на фоні застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну кількість гепатоцитів з неактивними ядрами була меншою на 32,4 %, ніж при монотерапії  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою та на 33,3 %, ніж при монотерапії тіотриазоліном. Кількість гепатоцитів з високою функціональною активністю була більшою на 12,7 %, ніж при монотерапії тіотриазоліном.

Нарешті, на стадії виснаження при поєднаному застосуванні  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну кількість гепатоцитів з високою функціональною активністю ядер була більшою на 11,1 %, ніж при монотерапії тіотриазоліном і на 15,9 %, ніж монотерапії  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою. Кількість гепатоцитів з низькою активністю ядер була меншою на 16,8 і 39,6 %, ніж при монотерапії відповідно тіотриазоліном та  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою.

Важливим також є те, що застосування комбінації  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну наближає перебіг загального адаптаційного синдрому до показників тварин, у яких відтворювали хронічний стрес без попереднього  $\gamma$ -опромінення, з тією відмінністю, що виразність негативних зрушень на фоні експериментальної терапії була меншою.

В результаті проведених досліджень встановлено, що застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти на стадії тривоги стресу зменшує мітотичну активність гепатоцитів на 21 % порівняно з групою тварин, які не отримували корекцію (табл. 3.13). На фоні призначення  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти на стадії тривоги виявлялась майже вдвічі менша кількість патологічних мітозів (див. табл. 3.8). На стадії резистентності порівняно зі стадією тривоги не відбувалось

суттєвих коливань мітотичної активності гепатоцитів, при цьому кількість патологічних мітозів зменшувалась на 35,3 % порівняно зі стадією тривоги.

Таблиця 3.13

**Профілактика зрушень мітотичної активності гепатоцитів у радіаційно-  
та стрес-уражених щурів**

( $M \pm m$ ;  $n=7$ ; кількість мітозів на 10000 гепатоцитів)

Стадія стресу	Препарат	Показник	
		Мітотична активність	Патологічні мітози
Тривоги	$\alpha$ -ліпоєва кислота	$20 \pm 0,11^{*1,4}$	$1,7 \pm 0,37^{*1,4}$
	Тіотриазолін	$26,1 \pm 0,49^{*1,2}$	$3,1 \pm 0,28^{*1,2}$
	$\alpha$ -ліпоєва кислота +Тіотриазолін	$18,1 \pm 0,45^{*1,2,3,4}$	$0,63 \pm 0,21^{*1,2,3,4}$
Резистентності	$\alpha$ -ліпоєва кислота	$19,1 \pm 0,93^{*1}$	$1,1 \pm 0,23^{*1,4}$
	Тіотриазолін	$23,2 \pm 0,38^{*1,2,4}$	$4,1 \pm 0,19^{*1,2,4}$
	$\alpha$ -ліпоєва кислота +Тіотриазолін	$22,4 \pm 0,52^{*1,2,4}$	$0,65 \pm 0,22^{*1,3,4}$
Виснаження	$\alpha$ -ліпоєва кислота	$18,3 \pm 1,0^{*1,4}$	$3,1 \pm 0,24^{*1,4}$
	Тіотриазолін	$17,8 \pm 0,38^{*1,4}$	$5,8 \pm 0,61^{*1,2,4}$
	$\alpha$ -ліпоєва кислота +Тіотриазолін	$19,4 \pm 0,95^{*1,4}$	$2,0 \pm 0,47^{*1,2,3,4}$

Примітки:

1.\*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  - порівняно з інтактними щурами (див. табл. 3.8);

- 2.\*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  - порівняно з  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою;
- 3.\*<sup>3</sup> -  $p < 0,05$  - порівняно з тіотриазоліном;
- 4.\*<sup>4</sup> -  $p < 0,05$  - порівняно з нелакованими щурами (див. табл. 3.8).

Слід зазначити, що у  $\gamma$ -опромінених тварин у яких відтворено хронічний стрес, і які не отримували  $\alpha$ -ліпоєву кислоту на стадії резистентності порівняно зі стадією тривоги навпаки збільшувалась кількість патологічних мітозів.

Привертає увагу те, що при застосуванні  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти напрямок змін досліджуваних показників наближається до змін у стрес-уражених неопромінених тварин, тобто спостерігалось певне відновлення адекватності відповідних реакцій на дію хронічного емоційно-больового стресу. У той час, як при відтворенні хронічного стресу у  $\gamma$ -опромінених тварин спостерігалась дезінтеграція адаптаційних механізмів.

На стадії виснаження стресу у  $\gamma$ -опромінених тварин, які вживали  $\alpha$ -ліпоєву кислоту спостерігалась тенденція до зменшення мітотичної активності порівняно зі стадією резистентності, але ці зрушення статистично не достовірні. Поруч з цим майже в 3 рази зростала кількість патологічних мітозів, але їх кількість була втричі меншою ніж у нелікованих щурів.

Таким чином основними ефектами застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти стала стабілізація мітотичної активності гепатоцитів при відтворенні стресу у  $\gamma$ -опромінених тварин, зниження кількості патологічних мітозів, нормалізація реакції відповіді на хронічний емоційний больовий стрес. Однак в даному випадку  $\alpha$ -ліпоєва кислота не здатна повністю виключити інтенсивне зростання кількості патологічних мітозів на стадії тривоги та виснаження хронічного стресу. Звертає увагу і відсутність збільшення мітотичної активності гепатоцитів на стадії резистентності хронічного стресу, що може зменшувати можливість гепатоцитів до відновлення.

Далі ми дослідили застосування тіотриазоліну з профілактичною метою. Встановлено, що на стадії тривоги хронічного стресу застосування

тіотриазоліну не сприяло покращенню показників мітотичної активності та патологічних мітозів порівняно з стрес-ураженими та  $\gamma$ -опроміненими тваринами, які не отримували корекцію. На стадії резистентності хронічного стресу тіотриазолін забезпечує на 15,4 % більше мітотичної активності та на 19,6 % меншу кількість патологічних мітозів, ніж у тварин, які не отримували корекцію. На стадії виснаження хронічного стресу тіотриазолін забезпечує менше пригнічення мітотичної активності гепатоцитів, ніж у тварин, які не отримували корекцію. Меншою також була кількість патологічних мітозів. Але, якщо порівняти стадію резистентності, то як і в інших групах відбувалося пригнічення мітотичної активності на 23,3 % та збільшення кількості патологічних мітозів на 41,5 %.

Таким чином, тіотриазолін здатен коригувати стрес-індуковані порушення поділу гепатоцитів у  $\gamma$ -опромінених тварин. Привертають увагу відмінності в ефектах тіотриазоліну та  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти. На відміну від  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти ефект застосування тіотриазоліну розвивається пізніше, про що свідчать наведені зрушення на стадії тривоги, до того ж тіотриазолін менш ефективно, ніж  $\alpha$ -ліпоєва кислота, зменшує кількість патологічних мітозів на всіх досліджених стадіях стресу. Останнє можливо пояснюється тим, що  $\alpha$ -ліпоєва кислота здатна сприяти відновленню пошкодженої ДНК. Відмінності фармакологічного впливу  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну пояснюється більш раннім розвитком ефекту  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти.

Нарешті було досліджено ефективність комбінованого застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну для профілактики радіаційно- та стрес-індукованих зрушень в гепатоцитах щурів. В результаті проведених досліджень комплексне застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти і тіотриазоліну максимально ефективно, порівняно з іншими групами, попереджає збільшення кількості патологічних мітозів. Так порівняно з застосуванням лише  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти на стадії тривоги кількість патологічних мітозів була меншою на 62,9 %, порівняно з групою, в якій застосовували тіотриазолін на 79,7 %. Слід зазначити, що застосування даної комбінації

забезпечувало відсутність зростання кількості патологічних мітозів на стадії резистентності. На стадії виснаження, хоча і спостерігалось зростання кількості фігур патологічних мітозів, воно було менш порівняно з  $\gamma$ -опроміненими стрес-ураженими щурами, які не отримували корекцію, а також в групах в яких тварини отримували, або  $\alpha$ -ліпоєву кислоту, або тіотриазолін. На стадії виснаження вміст патологічних мітозів в печінці був навіть меншим, ніж у стрес-уражених неопромінених щурів. Більш ефективним було комбіноване застосування тіотриазоліну і  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти, і стосовно корекції порушень мітотичної активності гепатоцитів.

В результаті проведених досліджень встановлено, що застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти зменшувало відсоток гемолізованих еритроцитів на 38,1 % на стадії тривоги хронічного стресу, порівняно з тваринами, які не отримували корекцію. Хоча на стадії резистентності за умов застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти зменшувалася перекисна резистентність еритроцитів на 36 % порівняно зі стадією тривоги, але вона була меншою на 40,3 % порівняно з тваринами, які не отримували даного препарату. Аналогічна кількісна і якісна картина спостерігалась і на стадії виснаження хронічного стресу (табл. 3.14).

Таким чином, застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти зменшує інтенсивність вільнорадикального пошкодження еритроцитів порівняно з  $\gamma$ -опроміненими стрес-ураженими щурами, у яких не застосовували профілактичних засобів. На відміну від  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти застосування тіотриазоліну не попереджало на стадії тривоги пошкодження еритроцитів, про що свідчило зменшення перекисної резистентності еритроцитів практично так само і в групі без фармакологічної корекції. Ефект застосування тіотриазоліну виявлено на стадії резистентності хронічного стресу, коли перекисна резистентність еритроцитів була більша на 12,9 %, ніж у тварин без корекції. На стадії виснаження застосування тіотриазоліну забезпечило на 13,1 % вищу резистентність еритроцитів. Порівняно з нелікованими тваринами.

**Профілактика змін перекисної резистентності еритроцитів у радіаційно-  
та стрес-уражених щурів**

(M±m; n=7; % гемолізованих еритроцитів)

Препарат	Стадія стресу		
	Тривога	Резистентність	Виснаження
γ-опромінені та стрес-уражені неліковані щури	19,7±0,63	27,8±0,86	38,2±1,1
α-ліпоєва кислота	12,2±0,38* <sup>1,5</sup>	16,6±0,8* <sup>1,4,5</sup>	28,1±0,71* <sup>1,4,5</sup>
Тіотриазолін	19,1±0,60* <sup>1,2</sup>	24,2±0,53* <sup>1,2,4,5</sup>	33,2±1,04* <sup>1,2,4,5</sup>
α-ліпоєва кислота + Тіотриазолін	10,3±0,41* <sup>1,2,3,5</sup>	12,3±0,5* <sup>1,2,3,4,5</sup>	19,1±0,3* <sup>1,2,3,4,5</sup>

Примітки:

- 1.\*<sup>1</sup> - p<0,05 – порівняно з інтактними;
- 2.\*<sup>2</sup> - p<0,05 – порівняно з α-ліпоєвою кислотою;
- 3.\*<sup>3</sup> - p<0,05 – порівняно з тіотриазоліном;
- 4.\*<sup>4</sup> - p<0,05 – порівняно з попередньою стадією стресу;
- 5.\*<sup>5</sup> - p<0,05 – порівняно з γ-опроміненими, стрес-ураженими нелікованими щурами.

Отже виявилось, що застосування α-ліпоєвої кислоти більш ефективно попереджає вільнорадикальне ушкодження еритроцитів у γ-опромінених стрес-уражених щурів. Ефект застосування α-ліпоєвої кислоти розвивався більш швидко, ніж у тіотриазоліну. Можливо за рахунок антиоксидантних властивостей α-ліпоєва кислота зв'язує вільні радикали тим самим попереджає ушкодження еритроцитів.

Що стосується тіотриазоліну, то запобігання ушкодженням еритроцитів можливе опосередкованим шляхом. Стабілізуючи мембрани гепатоцитів він попереджає їх ушкодження. У свою чергу більш ефективно працюють ферментні системи гепатоцитів, які відповідають за знешкодження токсичних речовин. За рахунок цього на більш високому рівні підтримуються неспецифічні резерви організму, більш ефективно функціонує антиоксидантна система. В результаті проведених досліджень встановлено, що комбінація  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну найбільш ефективно попереджає вільнорадикальне пошкодження еритроцитів, ніж експериментальна монотерапія  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою чи тіотриазоліном. Так, на стадії тривоги хронічного стресу перекисна резистентність еритроцитів була на 15,6 % вище, ніж в групі, в якій застосовували  $\alpha$ -ліпоєву кислоту, і на 46,1 % вище, ніж в групі в якій застосовували тіотриазолін. На стадії резистентності гемолізованих еритроцитів було на 26 % менше, ніж при монотерапії  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою, і на 49,2 % ніж при застосуванні тіотриазоліну. Нарешті, на стадії виснаження хронічного стресу комбінація препаратів знижувала відсоток гемолізованих еритроцитів на 32 % та 40,5 % порівняно з групою в якій використовували  $\alpha$ -ліпоєву кислоту і групою в якій використовували тіотриазолін відповідно.

Таким чином встановлено, що комбіноване застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну більш ефективно попереджає порушення енергетичного обміну в тканинах печінки та еритроцитах, зменшує вільно радикальне пошкодження еритроцитів та зменшує порушення клітинного циклу гепатоцитів, ніж монотерапія  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою чи тіотриазоліном.

Отже, внаслідок проведених досліджень встановлені особливості порушень енергетичного обміну в еритроцитах та тканинах печінки за умов поєднаної дії фракційного  $\gamma$ -опромінення та хронічного емоційно-больового стресу. Розширено уявлення про взаємозв'язок між станом енергетичного обміну та морфофункціональними властивостями гепатоцитів та еритроцитів. Встановлено особливості порушень клітинного циклу



гепатоцитів при поєднаної дії радіації та стресу. З'ясовано особливості вільнорадикального ушкодження еритроцитів на різних стадіях хронічного стресу при поєднаній дії з опроміненням. Досліджена ефективність  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну для профілактики наслідків поєднаної дії  $\gamma$ -опромінення та стресу. Вперше встановлена ефективність тіотриазоліну та  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти для профілактики поєданого негативного впливу  $\gamma$ -опромінення та стресу, і здатність запропонованої експериментальної терапії попереджувати морфофункціональні зрушення в еритроцитах та гепатоцитах.

Результати викладені в даному розділі опубліковані в :

1. Маркова О.О. Профілактика стрес-індукованих порушень функціональної активності ядер гепатоцитів / О.О. Маркова // Світ медицини та біології. – 2010. – № 2. – С. 111-115.

2. Маркова О.О. Механізми впливу Берлітіону на вміст макроергичних сполук в еритроцитах крові / О.О. Маркова, В.К. Напханюк // Одеський медичний журнал. – 2006. – № 4. – С. 22-25.

Доповідались на наступних конференціях:

1. Маркова О.О. Динаміка змін вмісту аденілових нуклеотидів у печінці виводку опромінених тварин / О.О. Маркова, В.К. Напханюк // Сучасні досягнення спортивної медицини, лікувальної фізкультури та валеології : ІХ науково-практична конференція, 18-20 вересня 2003 р. : матеріали. – Одеса: ОДМУ, 2003. – С. 150.

2. Маркова О.О. Особливості вмісту макроергичних сполук в печінці виводку щурів, які зазнали токсичного ураження / О.О. Маркова, В.К. Напханюк // ІІІ-читання В.В. Підвисоцького: наукова конференція, 27-29 травня 2004 р. : матеріали. – Одеса, 2004 – С. 65-66.

## РОЗДІЛ 4

ПРОФІЛАКТИКА РЕАЛІЗАЦІЇ В ПОКОЛІННІ F<sub>1</sub> НАСЛІДКІВ  
ПОЄДНАНОЇ ДІЇ  $\gamma$ -ОПРОМІНЕННЯ ТА ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ

Як іонізуюча радіація так і хронічний стрес можуть викликати пошкодження генетичного апарату клітин. Ці пошкодження можуть бути еліміновані, або закріплені в геномі і передаватись в поколіннях, якщо виникають в статевих клітинах. У свою чергу потомство  $\gamma$ -опромінених попередників відрізняється від нащадків здорових попередників фізичними параметрами та перебігом метаболічних процесів. Виходячи з цього існує потреба в розробці профілактичних заходів спрямованих на попередження виникнення ушкоджень генетичного апарату і передачі зміненої генетичної інформації в поколіннях ссавців, які зазнали впливу несприятливих факторів довкілля.

В попередніх дослідженнях (див. розділ 3) з'ясовані механізми поєднаної дії стресу та  $\gamma$ -опромінення на енергетичний обмін в печінці і еритроцитах. Доведена ефективність комбінації  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну для попередження радіаційно- та стрес-індукованих морфофункціональних зрушень в гепатоцитах та еритроцитах. Але важливим в даній ситуації є можливість попередження даними препаратами реалізації в поколіннях негативних наслідків  $\gamma$ -опромінення та хронічного емоційно-больового стресу. Тому було досліджено стан енергетичного забезпечення печінки та еритроцитів макроергічними сполуками, регуляцію поділу гепатоцитів та стан мембран еритроцитів в онтогенезі нащадків шурів, яким за умов поєднаного впливу іонізуючої радіації та хронічного стресу проводили і не проводили фармакологічну корекцію  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою та тіотриазоліном.

#### 4.1. Енергетичний обмін та морфофункціональні властивості гепатоцитів та еритроцитів на різних етапах фізіологічного онтогенезу

4.1.1. Вміст макроергичних сполук в тканинах печінки інтактних щурів. Досліджено вміст макроергичних сполук в гомогенатах тканин печінки інтактних щурів в періоди онтогенезу, на яких організм зазнає максимальних фізіологічних навантажень. В результаті проведених досліджень встановлено, що вміст макроергичних сполук у печінці інтактних щурів зазнає істотних коливань у різні вікові періоди. Мінімальна кількість АМФ, АДФ та АТФ спостерігалася у зародків та літніх щурів віком 12 та 24 місяці.

Таблиця 4.1

#### Вміст макроергичних сполук в тканинах печінки інтактних щурів на різних етапах фізіологічного онтогенезу

( $M \pm m$ ;  $n=7$ ; кмоль/г тканин печінки)

Вік тварин	Показник		
	АМФ	АДФ	АТФ
Зародки	0,39±0,028	0,75±0,025	0,92±0,051
2 дні	0,46±0,017*	0,85±0,041*	1,15±0,036*
14-днів	0,52±0,019*	0,96±0,032*	1,28±0,06
1-місяць	0,61±0,023*	1,06±0,027*	1,42±0,038
3-місяці	0,64±0,031	1,13±0,062	1,54±0,054
6-місяців	0,64±0,016	1,15±0,023	1,52±0,08
12-місяців	0,37±0,007*	0,67±0,029*	0,89±0,045*
24-місяці	0,31±0,006*	0,59±0,008*	0,7±0,038*

Примітка. \* -  $p < 0,05$  – порівняно з попереднім віковим періодом.

Що стосується зародків, то це може бути пояснено меншими енерговитратами. У щурів 12-ти та 24-х місячного віку це пов'язане із

збільшенням інтенсивності процесів, які лежать в основі загальнобіологічного процесу старіння (таб. 4.1).

Починаючи з другої доби після народження і до досягнення інтактними щурами статевої зрілості спостерігалось поступове зростання вмісту макроергічних сполук в печінці. Максимальне збільшення вмісту АМФ, АДФ та АТФ відповідно на 17,9; 13,3 і 25 % спостерігали у дводенних щурят порівняно з зародками. На нашу думку, це пов'язано з необхідністю пристосування до нових умов життєдіяльності після народження. Надалі з другого дня після народження до 14-ї доби постнатального розвитку зростання вмісту АМФ, АДФ та АТФ відбувалися більш повільно. Можливо 14-а доба, яка є межею періоду новонародженості, є менш критичною і потребує менших енергетичних витрат. Надалі, с 14-ої по 30-ту добу життя, вміст макроергічних сполук в печінці зростав з такою ж інтенсивністю, як і в попередній проміжок часу. Це зростання співпадає з початком статевого дозрівання. В період з першого по третій місяць життя виявлена лише тенденція до зростання вмісту АМФ, АДФ та АТФ в печінці. Сталим вмістом макроергічних сполук характеризувався і період з третього по шостий місяць життя, тобто період статевої зрілості.

Отже за умов фізіологічного онтогенезу в тканинах печінки відбувалося коливання вмісту макроергічних сполук, що вочевидь спрямовано на забезпечення процесів життєдіяльності, які мають свої особливості в кожному періоді онтогенезу. Пристосування до нових умов існування у новонароджених щурят, перебіг процесів статевого дозрівання, досягнення репродуктивного віку і нарешті вплив старіння потребують певного енергетичного забезпечення метаболізму тканин, органів та організму в цілому.

4.1.2. Вікові особливості фізіологічної регенерації гепатоцитів. Для подальших досліджень впливу на тканини печінки

несприятливих факторів довкілля і розробки методів профілактики, важливим буде дослідження залежності фізіологічної регенерації гепатоцитів від енергетичного їх забезпечення. Тому була досліджена фізіологічна регенерація гепатоцитів, яку оцінили за мітотичною активністю та кількістю фігур патологічних мітозів на різних етапах фізіологічного онтогенезу, а також динаміка змін функціональної активності гепатоцитів на різних етапах постнатального онтогенезу.

В результаті проведених досліджень виявлено, що мінімальна кількість гепатоцитів з високою функціональною активністю спостерігалася у зародків та дворічних щурів. При цьому у зародків виявлено максимальну з поміж інших вікових періодів кількість гепатоцитів з проміжною функціональною активністю (таб. 4.2).

Таблиця 4.2

**Динаміка змін функціональної активності ядер гепатоцитів за  
фізіологічних умов**

(M±m; n=7; %)

Вік тварин	Функціональна активність гепатоцитів %		
	Висока	Проміжна	Низька
Зародки	61,4±2,8	28,3±0,76	10,3±0,29
2 доби	75±2,9*	16,9±0,69*	8,1±0,33*
14 діб	78±3,5	14,1±0,7*	7,9±0,26
1 місяць	92,3±3,3*	4,6±0,14*	3,1±0,15*
3 місяці	81,3±3,2*	12,9±0,52*	5,8±0,21*
6 місяців	80±2,1	14,3±0,45*	5,7±0,26
12 місяців	75±2,4	13,7±0,39	11,3±0,40*
24 місяці	59±2,0*	19,9±0,91*	21,1±0,65*

Примітка. \* -  $p < 0,05$  – порівняно з попереднім віковим періодом.

Виявлене співвідношення пояснюється порівняно мінімальними навантаженнями на печінку у зародків. При цьому висока кількість гепатоцитів з проміжною функціональною активністю формує резерв, за рахунок якого функціональна активність гепатоцитів може швидко зростати при необхідності. Останнє припущення підтверджується змінами співвідношення гепатоцитів з різною функціональною активністю після народження. Так у дводенних щурят, порівняно з зародками кількість гепатоцитів з високою функціональною активністю зростала на 22,1 %, з низькою – зменшувалася на 21,4 %. Перерозподіл відбувався за рахунок гепатоцитів з проміжною активністю, кількість яких зменшувалася на 40,3 %. Виявлені зрушення можуть бути пояснені переходом до нових умов існування, зокрема харчування після народження.

На чотирнадцяту добу життя спостерігали статистично вірогідні зміни лише кількості гепатоцитів з проміжною функціональною активністю ядер, а саме зменшення на 16,6 % порівняно з другою добою життя.

На тридцяту добу життя, порівняно з чотирнадцятою, кількість гепатоцитів з проміжною та низькою функціональною активністю зменшувалася на 67,4 % та в 2,5 рази відповідно. Натомість кількість гепатоцитів з функціонально активними ядрами зростала на 18,3 % і досягала максимальних значень з поміж інших досліджуваних вікових періодів (рис. 4.1). Виявлені зрушення можуть бути пов'язані з повним переходом на інший тип харчування в цьому віці.

Надалі, у тримісячних щурів порівняно з тридцятиденними кількість гепатоцитів з функціонально активними ядрами зменшувалася на 11,9 %; з низькою і проміжною активністю навпаки зростала відповідно в 2,8 рази та на 87,1 %, досягаючи показників притаманних статевозрілим щурам (рис. 4.2). При досягненні шестимісячного віку функціональна активність ядер гепатоцитів не зазнавала істотних зрушень порівняно з інтактними тваринами. У дванадцятимісячних тварин спостерігали зростання кількості гепатоцитів з неактивними ядрами в два рази порівняно з шестимісячними

щурами. При цьому зміни кількості гепатоцитів з ядрами з високою і проміжною активністю були статистично невірогідними.

Рис. 4.1. Печінка інтактного 30-денного щура. Функціональна активність ядер гепатоцитів. Ок. x 10, об. x 20. Забарвлення за Яцьковским.

Рис. 4.2. Печінка інтактного тримісячного щура. Функціональна активність ядер гепатоцитів. Ок. x 10, об. x 20. Забарвлення за Яцьковским.

Нарешті, наприкінці другого року життя, у літніх щурів, кількість гепатоцитів з високою функціональною активністю зменшувалася на 21,3 %, з проміжною – зростала на 45,3 %, а з низькою – збільшувалася майже вдвічі, що є відображенням перебігу процесів старіння.

В результаті проведених досліджень встановлено, що максимальна мітотична активність виявлена у зародків. Після народження на другу добу мітотична активність знижувалася вдвічі. Останнє може бути викликано фізіологічними перенавантаженнями, характерними для періоду новонародженості, що відповідає даним про пригнічення процесів поділу клітин, при впливові стресорних чинників, з метою попередження виникнення патології поділу.

Надалі відбувалося незначне поступове зниження мітотичної активності і досягнення у тримісячному віці показників притаманних статевозрілим тваринам. Цей рівень зберігався майже незмінним до 12-місячного віку, після чого розпочиналося пригнічення мітотичної активності. У віці двох років мітотична активність складала 81,5% від показників 12-місячних тварин.

Що стосується патологічних мітозів, то їх кількість зберігалася незмінною до 6-місячного віку. В 12 місяців виявляли тенденцію до їх зростання, але відмінності були недостовірні. У віці двох років суттєво зростав вміст патологічних мітозів в печінці інтактних тварин. Останнє може бути відображенням процесів старіння і зменшення фізіологічної регенерації гепатоцитів (таб. 4.3).

Отже проведені дослідження дозволили встановити особливості динаміки змін структурно-функціональних властивостей гепатоцитів на різних етапах постнатального онтогенезу. Отримані результати надалі використовували, як контрольні для порівняння з перебігом постнатального онтогенезу у щурів, отриманих від  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів.



**Вікові зміни поділу гепатоцитів за умов фізіологічного онтогенезу**

(M±m; n=7; кількість мітозів на 10000 гепатоцитів)

Вік тварин	Показники	
	Мітотична активність	Патологічні мітози
Зародки	94,0±2,1	0,1±0,01
2-дні	47,1±1,2*	0,1±0,01
14-днів	40,5±1,21*	0,1±0,01
1-місяць	31,9±0,81*	0,1±0,01
3-місяці	28,3±0,51*	0,1±0,01
6-місяців	26,3±0,31*	0,1±0,01
12-місяців	25,4±0,3*	0,14±0,02
24-місяці	20,7±0,28*	2,2±0,05*

Примітка.\* -  $p < 0,05$  – порівняно з попереднім віковим періодом.

4.1.3. Вміст макроергічних сполук в еритроцитах за фізіологічних умов. Для підтримання гомеостазу організму на фізіологічному рівні необхідним є належне забезпечення тканини киснем. Природно, це може залежати від функціонального стану еритроцитів. Тому ми дослідили енергетичний обмін в еритроцитах на різних етапах фізіологічного онтогенезу, що в поєднанні з дослідженням вмісту макроергічних сполук в печінці дозволило створити групу порівняння, яку можна використати для комплексного дослідження декількох ланок патогенезу хронічного стресу і розробки патогенетично орієнтованої його профілактики (табл. 4.4).

В результаті проведених досліджень ми виявили, що у інтактних тварин відбувалися вікові коливання вмісту макроергічних сполук в еритроцитах. Так в проміжок з чотирнадцятої до тридцятої доби життя в еритроцитах збільшувався вміст АДФ, АТФ на 68,8 та 64,4 % відповідно.

При цьому зростає і вміст АМФ на 65,5 %. Тобто, після завершення періоду новонародженості в еритроцитах збільшується вміст макроергічних сполук, але і зростають енерговитрати, про що вказує вміст АМФ. Такі зрушення можуть бути пов'язані з початком періоду статевого дозрівання у щурів, а також з переходом на інший характер харчування.

Таблиця 4.4

**Вміст макроергічних сполук в еритроцитах інтактних щурів на різних етапах фізіологічного онтогенезу**

(M±m; n=7; мг/100 мл)

Вік тварин	Показник		
	АМФ	АДФ	АТФ
14-днів	23,1±0,25	24,4±0,33	25,6±0,28
1-місяць	38,4±0,26*	41,2±0,35*	42,6±0,30*
3-місяці	39,5±0,34*	42,1±0,20*	44,4±0,28*
6-місяців	38±0,28*	41±0,25*	42,5±0,35*
12-місяців	22,4±0,21*	24±0,25*	24,2±0,25*
24-місяці	17,5±0,26*	17,9±0,34*	19±0,28*

Примітка. \* -  $p < 0,05$  – порівняно з попереднім віковим періодом

З'ясовано, що вміст макроергічних сполук в еритроцитах притаманний статевозрілим тваринам суттєво не відрізняється від показників 30-денних і зберігається на такому ж рівні у 6-ти місячних тварин. Надалі у 12-місячних тварин виявлено зменшення інтенсивності енергетичного обміну. Про що свідчило зниження вмісту в еритроцитах аденілових нуклеотидів практично однаково від 41,1 до 43,1 %. В проміжок часу з 12-місячного до 2-річного віку відбувалося подальше зменшення вмісту макроергічних сполук в еритроцитах. Так кількість АДФ зменшувалась на 25,4 %, АТФ на 21,5 %. При цьому кількість АМФ знижувалась на 21,9 % порівняно з 12-місячними тваринами.

Майже однакове зменшення вмісту аденілових нуклеотидів в еритроцитах 12- та 24-місячних тварин свідчить про зменшення інтенсивності перебігу енергетичного обміну при збереженні балансу між утворенням та розпадом макроергічних сполук. Ці зрушення вказують на початок загальнобіологічних процесів старіння. Таким чином доведено, що еритроцитам інтактних щурів властиве вікове коливання вмісту макроергічних сполук при збереженні балансу між утворенням і розпадом АМФ, АТФ та АДФ.

4.1.4. Вікові особливості перекисної резистентності еритроцитів. Відомо, що функціональний стан еритроцитів, здатність їх проходити через капілярне русло, обмінюватись транспортованими газами між тканинами та цитоплазмою залежить від стану їх мембран. Саме мембрана несе інформацію про пошкодження еритроцитів, про їх вік і забезпечує своєчасно їх елімінацію з кровообігу. В свою чергу стан мембран може залежати від забезпечення енергомісткими сполуками еритроцитів. Враховуючи вікові коливання вмісту макроергічних сполук в еритроцитах за доцільне можна вважати дослідження стану мембран еритроцитів у різні вікові періоди у щурів. Показником функціонального стану мембрани еритроцитів є її перекисна осмотична та кислотна резистентність. Враховуючи те, що ми планували дослідити вплив іонізуючої радіації та хронічного стресу, які ініціюють посилення вільнорадикального окислення, найбільш раціональним може бути дослідження перекисної резистентності еритроцитів. Останній показник у даному випадку надасть інформацію не тільки про стан еритроцитарної мембрани, а й буде маркером ступеня вільнорадикального її пошкодження.

В результаті проведених досліджень ми виявили, що перекисна резистентність еритроцитів інтактних щурів зберігалась на незмінному рівні з чотирнадцятої доби онтогенезу до досягнення тваринами статевої зрілості. У 12-місячному віці спостерігалася тенденція до зменшення осмотичної

резистентності еритроцитів, але зміни були статистично не достовірні, і лише на 24-місяці життя спостерігалось зниження резистентності еритроцитів у інтактних щурів, про що свідчило збільшення відсотку гемолізованих еритроцитів на 72,3 % порівняно з 12-місяцями життя при додаванні перекису водню (табл. 4.5).

Таблиця 4.5

### Перекисна резистентність еритроцитів інтактних щурів

( $M \pm m$ ;  $n=7$ ; %)

Група	Вік тварин					
	14 діб	30 діб	90 діб	6-міс.	12-міс.	24-міс.
Інтактні	4,1±0,27	4±0,28	3,8±0,32	4±0,29	4,7±0,3	8,1±0,4*

Примітка.\* -  $p < 0,05$  – порівняно з попереднім строком спостереження.

Таким чином, осмотична резистентність еритроцитів у інтактних щурів стабільна з чотирнадцятої доби життя до початку старіння тварин, що природньо необхідно для належного газообміну. Враховуючи те, що середній термін життя еритроцитів складає 120 діб забезпечення стабільності їх резистентності пов'язано з двома основними процесами. По-перше, підтримується на належному рівні процес кровотворення в красному кістковому мозку. По-друге, стан еритроцитів забезпечується їх власними захисними системами.

Таким чином, проведені дослідження енергетичного обміну в тканинах печінки та еритроцитах, також процесів функціональної регенерації гепатоцитів і осмотичної резистентності еритроцитів надали можливість створити групу порівняння для подальшого дослідження впливу іонізуючої радіації та хронічного стресу на організм дослідних тварин.

#### 4.2. Морфофункціональний стан еритроцитів та тканин печінки в онтогенезі нащадків $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів

В результаті проведених досліджень з'ясовано, що динаміка вікових змін вмісту макроергічних сполук у тканинах печінки і еритроцитах відрізняється у нащадків інтактних щурів і щурів попередники, яких зазнали поєднаної дії  $\gamma$ -опромінення та хронічного емоційно-больового стресу (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

#### Вміст макроергічних сполук в тканинах печінки нащадків $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів

( $M \pm m$ ;  $n=7$ ; кмоль/г тканин печінки)

Вік тварин	Показник		
	АМФ	АДФ	АТФ
Зародки	0,41 $\pm$ 0,016	0,55 $\pm$ 0,027* <sup>1</sup>	0,71 $\pm$ 0,045* <sup>1</sup>
2 дні	0,67 $\pm$ 0,022* <sup>1,2</sup>	0,55 $\pm$ 0,035* <sup>1</sup>	0,79 $\pm$ 0,041* <sup>1</sup>
14-днів	0,57 $\pm$ 0,014* <sup>1,2</sup>	0,66 $\pm$ 0,029* <sup>1,2</sup>	0,77 $\pm$ 0,034* <sup>1</sup>
1-місяць	0,40 $\pm$ 0,027* <sup>1,2</sup>	0,69 $\pm$ 0,015* <sup>1</sup>	0,9 $\pm$ 0,053* <sup>1,2</sup>
3-місяці	0,38 $\pm$ 0,008* <sup>1</sup>	0,67 $\pm$ 0,027* <sup>1</sup>	0,85 $\pm$ 0,033* <sup>1</sup>
6-місяців	0,35 $\pm$ 0,019* <sup>1</sup>	0,62 $\pm$ 0,026* <sup>1</sup>	0,8 $\pm$ 0,043* <sup>1</sup>
12-місяців	0,39 $\pm$ 0,023	0,34 $\pm$ 0,017* <sup>1,2</sup>	0,45 $\pm$ 0,026* <sup>1,2</sup>
24-місяці	0,34 $\pm$ 0,027	0,26 $\pm$ 0,005* <sup>1,2</sup>	0,29 $\pm$ 0,009* <sup>1,2</sup>

Примітки:

- \*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з інтактними тваринами.
- \*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з попередньою віковою групою.

В результаті проведених досліджень виявилось, що на всіх досліджуваних вікових періодах вміст АДФ та АТФ в печінці нащадків  $\gamma$ -опромінених щурів був меншим, ніж у інтактних тварин. Максимальні відмінності спостерігалися на 24-му місяці життя, коли вміст АДФ та АТФ був нижчим у нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів на 55,9 та 58,6 %.

Але найсуттєвішим є те, що відрізнялася від інтактних щурів динаміка змін вмісту макроергічних сполук на різних етапах онтогенезу нащадків  $\gamma$ -опромінених тварин. Так на другу добу життя таких тварин спостерігалось зменшення вмісту АТФ на 31,3 %, АДФ на 35,3 %, що супроводжувалося зростанням вмісту АМФ на 45,7 %. На нашу думку це є ознакою більших енерговитрат при пристосуванні до нових умов існування у нащадків  $\gamma$ -опромінених щурів.

На чотирнадцяту добу після народження порівняно з другою у нащадків  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів вміст АМФ зменшувався на 14,9 %, а АДФ зростав на 20 %, вміст АТФ не зазнав істотних змін. На тридцяту добу життя спостерігалось зростання кількості АТФ, зменшення АМФ, поруч з відсутністю динаміки у кількості АДФ. При досягненні статевої зрілості у тримісячному віці тканини печінки містили таку ж кількість АМФ, АДФ і АТФ, як і у 30-ти денному віці.

В результаті проведених досліджень з'ясовано, що  $\gamma$ -опромінення і відтворення хронічного емоційно-больового стресу перед спарюванням спричиняє розлади вікової динаміки змін функціональної активності гепатоцитів у їх нащадків першого покоління (табл. 4.7).

Так, на другу добу життя зростання кількості гепатоцитів з високою активністю ядер статистично невірогідне порівняно з зародками, натомість кількість гепатоцитів з низькою активністю ядер зростала на 21,8 %. Менш інтенсивно зменшувався і вміст гепатоцитів з проміжною активністю ядер після народження, лише на 22,9 %, в той час як у інтактних тварин на 40,3 %.

Тобто у тварин, отриманих від  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів порушується адаптація гепатоцитів до нових умов існування.

Таблиця 4.7

**Динаміка змін функціональної активності ядер гепатоцитів у тварин, отриманих від опромінених і стресуражених щурів**  
(  $M \pm m$ ;  $n=7$ ; % )

Вік тварин	Функціональна активність ядер %		
	Висока	Проміжна	Низька
Зародки	59,3 $\pm$ 2,4	29,7 $\pm$ 0,95	11,0 $\pm$ 0,49
2 доби	63,7 $\pm$ 2,2* <sup>1</sup>	22,9 $\pm$ 1,0* <sup>1,2</sup>	13,4 $\pm$ 0,62* <sup>1,2</sup>
14 діб	68 $\pm$ 1,8* <sup>1</sup>	21,6 $\pm$ 0,99* <sup>1</sup>	10,4 $\pm$ 0,34* <sup>1,2</sup>
1 місяць	84,4 $\pm$ 3,3* <sup>2</sup>	10,5 $\pm$ 0,38* <sup>1,2</sup>	5,1 $\pm$ 0,21* <sup>1,2</sup>
3 місяці	80,5 $\pm$ 3,4	13,6 $\pm$ 0,40* <sup>2</sup>	5,9 $\pm$ 0,27* <sup>2</sup>
6 місяців	80,7 $\pm$ 3,1	13,9 $\pm$ 0,58	5,4 $\pm$ 0,21
12 місяців	70,4 $\pm$ 2,5* <sup>2</sup>	12,1 $\pm$ 0,42* <sup>1,2</sup>	17,5 $\pm$ 0,64* <sup>1,2</sup>
24 місяці	59,9 $\pm$ 2,2* <sup>2</sup>	10,1 $\pm$ 0,46* <sup>1,2</sup>	30 $\pm$ 1,1* <sup>1,2</sup>

Примітки:

- \*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з тваринами отриманими від інтактних щурів;
- \*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з попереднім віковим періодом.

Надалі, у тварин зазначеної групи, по досягненні чотирнадцятої доби життя зменшувалася кількість гепатоцитів з неактивними ядрами на 22,4 %, хоча і перевищувала показники інтактних одновікових тварин на 31,6 % (рис. 4.3). При цьому на відміну від інтактних чотирнадцятиденних тварин

кількість гепатоцитів з високою активністю ядер була меншою на 12,8 %, а з проміжною активністю – більшою на 53,2 %.

Рис.4.3. Печінка 4-денного щура, отриманого від  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених тварин. Пригнічення функціональної активності ядер гепатоцитів. Ок. х 10, об. х 20. Забарвлення за Яцьковским.

Лише по досягненні тридцятиденного віку у тварин, отриманих від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів, напрямок змін функціональної активності гепатоцитів збігався з показниками інтактних тварин, хоча кількісно показники і відрізнялися. Так, кількість гепатоцитів з ядрами з низькою функціональною активністю була більшою у потомства  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів на 39,3 % (рис. 4.4). По досягненні тримісячного віку, а також у шестимісячних тварин кількість гепатоцитів з високою, проміжною та низькою активністю не відрізнялася у щурів, отриманих від інтактних та радіаційно- і стрес-уражених попередників.

По досягненні дванадцятимісячного віку, у щурів отриманих від радіаційно- і стрес-уражених попередників спостерігалася тенденція до зменшення кількості гепатоцитів з високою функціональною активністю



ядер, на 11,6 % зменшувалась кількість клітин з проміжною активністю ядер та зростала на 54,8 % кількість гепатоцитів з неактивними ядрами.

Рис.4.4. Печінка 30-денного щура, отриманого від  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених тварин. Пригнічення функціональної активності ядер гепатоцитів. Ок. x 10, об. x 20. Забарвлення за Яцьковским.

Наприкінці другого року життя у тварин зазначеної групи кількість гепатоцитів з високою активністю ядер не відрізнялася від показників інтактних тварин. Але це досягалося за рахунок виснаження функціональних резервів. На користь останнього свідчило зменшення вмісту гепатоцитів з проміжною активністю ядер до 50,7 % від рівня інтактних тварин і зростання вмісту клітин з неактивними ядрами на 42,2 %.

Таким чином, у тварин отриманих від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених перед спарюванням щурів порушується вікова динаміка змін функціональної активності ядер гепатоцитів. Зазначені зрушення можуть відбиватися на морфофункціональних властивостях печінки як органу. А також на станові неспецифічної резистентності організму в цілому.

Слід зазначити, що виявлені зрушення функціональної активності ядер гепатоцитів були співставні зі змінами їх мітотичної активності та змінами кількості патологічних мітозів.

Виявлені зрушення енергетичного обміну супроводжувались і порушеннями фізіологічної регенерації гепатоцитів. Так, в результаті проведених досліджень встановлено, що у зародків отриманих від  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів пригнічується мітотична активність гепатоцитів на 27,6 %.(табл. 4.8)

Таблиця 4.8

### Морфологічні показники фізіологічної регенерації в онтогенезі

#### нащадків $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених тварин

(  $M \pm m$ ;  $n=7$ ; кількість мітозів на 10000 гепатоцитів )

Вік тварин	Показники	
	Мітотична активність	Патологічні мітози
Зародки	$68,1 \pm 2,3^{*1}$	$2,2 \pm 0,12^{*1}$
2-дні	$33,1 \pm 1,1^{*1,2}$	$2,05 \pm 0,11^{*1}$
14-днів	$29,4 \pm 1,2^{*1,2}$	$2,3 \pm 0,12^{*1}$
1-місяць	$25,3 \pm 1,2^{*1,2}$	$2,1 \pm 0,11^{*1}$
3-місяці	$24,4 \pm 1,1^{*1}$	$2,53 \pm 0,12^{*1,2}$
6-місяців	$19,1 \pm 0,83^{*1,2}$	$2,6 \pm 0,11^{*1}$
12-місяців	$17,3 \pm 0,78^{*1}$	$2,8 \pm 0,12^{*1}$
24-місяці	$12,1 \pm 0,68^{*1,2}$	$7,4 \pm 0,23^{*1,2}$

Примітки:

- \*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з інтактними тваринами.
- \*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з попередньою віковою групою.

Паралельно з цим виявлено різке збільшення кількості патологічних мітозів. Після народження мітотична активність у нащадків уражених щурів

була на 29,7 % меншою, ніж у інтактних одновікових тварин. Кількість патологічних мітозів зберігалася майже на незмінному рівні. На наступних етапах онтогенезу кількість патологічних мітозів зберігалася практично на однаковому рівні. Лише на 24-му місяці спостереження порівняно з 12-місяцем виявлено збільшення кількості патологічних мітозів майже втричі. Звертає увагу більш висока кількість патологічних мітозів в печінці порівняно з інтактними тваринами на всіх досліджуваних етапах онтогенезу. Виявлені зміни можуть бути ознакою існування нестабільності геному, в даному випадку, в гепатоцитах нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів. Як відомо, нестабільність геному може реалізуватися через злоякісні переродження клітин. Отже збільшення кількості патологічних мітозів, особливо під час старіння, підвищує ризик виникнення пухлин.

Що стосується мітотичної активності, то вона була нижчою також на всіх досліджуваних етапах онтогенезу нащадків уражених тварин. Максимальне наближення мітотичної активності до показників інтактних тварин відбувалося у тримісячному віці. Виявлене зменшення мітотичної активності гепатоцитів зменшує ефективність фізіологічної регенерації тканин печінки. Наслідком цього може бути прискорене старіння, яке спостерігається за умов тривалого  $\gamma$ -опромінення у низьких дозах, а також у нащадків  $\gamma$ -опромінених людей та тварин.

Що стосується причин виявлених зрушень, то на початкових етапах онтогенезу вони можуть бути пояснені впливом тривалого  $\gamma$ -опромінення на організм попередників перед спарюванням, доречно згадати, що при спарюванні на дванадцятую добу після опромінення, в заплідненні приймає участь одна з найбільш радіочутливих комбінацій статевих клітин. Не виключено, що і організм опромінених самок не встигне повністю відновитися, тому перебіг вагітності буде відбуватися за умов відмінних від фізіологічних. Що стосується збереження змін вмісту макроергічних сполук у статевозрілих та старих нащадків  $\gamma$ -опромінених щурів, то поясненням цього може бути радіаційно-індукована нестабільність геному, яка може

проявляться не тільки в першому, а і подальших поколіннях опромінених ссавців.

У свою чергу в еритроцитах нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів також виявлені відмінності вікової динаміки вмісту макроергічних сполук від показників інтактних тварин (табл. 4.9).

Таблиця 4.9

**Вміст макроергічних сполук в еритроцитах нащадків  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів**

(  $M \pm m$ ;  $n=7$ ; мг/100 мл )

Вік тварин	Показник		
	АМФ	АДФ	АТФ
14-днів	16,1 $\pm$ 0,3* <sup>1</sup>	16,5 $\pm$ 0,25* <sup>1</sup>	17,1 $\pm$ 0,33* <sup>1</sup>
1-місяць	25,4 $\pm$ 0,31* <sup>1,2</sup>	26,5 $\pm$ 0,26* <sup>1,2</sup>	26,5 $\pm$ 0,26* <sup>1,2</sup>
3-місяці	24,1 $\pm$ 0,28* <sup>1,2</sup>	24,7 $\pm$ 0,23* <sup>1,2</sup>	25,1 $\pm$ 0,32* <sup>1,2</sup>
6-місяців	21,6 $\pm$ 0,2* <sup>1,2</sup>	22,3 $\pm$ 0,22* <sup>1,2</sup>	22,10 $\pm$ 0,27* <sup>1,2</sup>
12-місяців	12,3 $\pm$ 0,26* <sup>1,2</sup>	12 $\pm$ 0,33* <sup>1,2</sup>	12,10 $\pm$ 0,22* <sup>1,2</sup>
24-місяці	8,4 $\pm$ 0,25* <sup>1,2</sup>	7,8 $\pm$ 0,14* <sup>1,2</sup>	7,6 $\pm$ 0,28* <sup>1,2</sup>

Примітки:

- \*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з інтактними тваринами.
- \*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з попередньою віковою групою.

У результаті проведених досліджень було з'ясовано, що у двотижневих щурів, отриманих від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених перед спарюванням самців і самок, вміст аденілових нуклеотидів, і зокрема АМФ, АДФ та АТФ, був нижчим за аналогічні показники одновікового контролю і стосовно останнього відповідно дорівнював 69,5; 67,7 і 66,7%. У тридцятиденних щурів вміст АМФ, АДФ й АТФ в еритроцитах периферичної крові був

вищим за показники тварин попередньої вікової групи, але порівняно з контролем був нижчим відповідно на 33,9; 35,7 і 37,8 %. При обстеженні тримісячних щурів було виявлено, що вміст АДФ й АТФ практично не відрізнявся від аналогічних значень попередньої вікової групи і також залишався нижчим за показники інтактних тварин на 38,9; 41,4 і 43,4%. На такому ж рівні залишався вміст АМФ, АДФ й АТФ в еритроцитах периферичної крові й у шестимісячних щурів цієї експериментальної групи, але відносно контролю він знижувався відповідно на 43,3; 45,7 та 47,8 %. У дванадцятимісячних тварин вміст в еритроцитах крові АМФ, АДФ й АТФ майже вдвічі знижувався порівняно з показниками попередньої вікової групи і щодо контролю відповідно дорівнював 54,8; 50,1 та 49,8 %. Було також встановлено, що у 24-місячних тварин цієї експериментальної групи вміст АМФ, АДФ і АТФ в еритроцитах крові вірогідно знижувався стосовно показників 12-місячних щурів і відносно контролю дорівнював 47,8; 43,6 та 40,2 % відповідно.

Таким чином, наведені вище результати дослідження свідчать про те, що у тварин, попередники яких зазнали тривалого  $\gamma$ -опромінення сумарною дозою 1,0 Гр, спостерігалися досить істотні відхилення вмісту макроергічних сполук від фізіологічного рівня практично на всіх етапах постнатального онтогенезу. Важливим для розуміння особливостей енергозабезпечення цих тварин було і те, що з віком виразність виявлених змін зростала.

При дослідженні вікових особливостей перекисної резистентності еритроцитів у нащадків  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів не виявлено суттєвих відмінностей даного показника від такого ж у інтактних тварин (табл. 4.10).

4.3 Профілактика виникнення порушень морфофункціональних властивостей еритроцитів та тканин печінки у нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів.

Виявлені порушення енергетичного обміну в печінці та еритроцитах, в онтогенезі нащадків  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів потребують належної корекції. Але через їх збереження практично протягом усього онтогенезу більш ефективною є профілактика їх виникнення взагалі. Враховуючи можливий спадковий характер виявлених зрушень, механізми впливу іонізуючого опромінення на організм, зрушення в печінці нащадків  $\gamma$ -опромінених щурів, а також безпосередньо  $\gamma$ -опромінених тварин, значення печінки, як “метаболічного мозку” організму для функціонування всіх систем організму і репродуктивної зокрема, для профілактики виявлених зрушень нами було обрано препарати з антиоксидантними та гепатопротекторними властивостями.

Таблиця 4.10

**Зміни перекисної резистентності еритроцитів нащадків  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів на різних етапах фізіологічного онтогенезу**  
( $M \pm m$ ;  $n=7$ ; %).

Вік тварини \ показник	14 днів	1 місяць	3 місяці	6 місяців	12 місяців	24 місяці
Перекисна резистентність еритроцитів	4,4 $\pm$ 0,28	4,3 $\pm$ 0,2	4,0 $\pm$ 0,28	4,7 $\pm$ 0,3	12,3 $\pm$ 0,51 * <sup>1,2</sup>	17,3 $\pm$ 0,8 * <sup>1,2</sup>

Примітки:

- \*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з інтактними тваринами.
- \*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з попереднім віковим періодом.

Виходячи з цього в подальших дослідженнях з'ясували можливості використання  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну у  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених перед спарюванням самців та самок щурів для запобігання зрушення енергетичного обміну в тканинах печінки покоління, отриманого від цих тварин.

В результаті проведених досліджень встановлено, що застосування зазначених препаратів після дії несприятливих факторів перед спарюванням попереджає порушення морфофункціональних властивостей печінки та еритроцитів у нащадків першого покоління уражених тварин. Встановлено, що у нащадків  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених тварин (надалі експериментальна група) порівняно з нащадками уражених щурів, у яких не застосовували  $\alpha$ -ліпоеву кислоту та тіотриазолін перед спарюванням (надалі контрольна група) тканини печінки містили більше макроергічних сполук на всіх досліджуваних етапах онтогенезу. Хоча при цьому залишалися відмінності від показників інтактних тварин. Максимальне переважання вмісту АТФ в 1,3 рази в печінці експериментальної групи над контрольною спостерігалось на тридцять добу життя. Виявлені відмінності між тваринами контрольної та експериментальної групи підтверджувалися морфологічно різним вмістом глікогену в гепатоцитах (рис. 4.5 та рис. 4.6).

Рис. 4.5. Печінка 30-денного щура. Вміст глікогену. Щурі, отримані від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених попередників. Ок. х 10, об. х 20. Вміст глікогену. PAS-реакція.

Рис.4.6. Печінка 30-денного щура. Вміст глікогену. Щурі, отримані від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених попередників. Перед спарюванням щурі отримували комбінацію  $\alpha$ -ліпоевої кислоти та тіотриазоліну. Ок. х 10, об. х 20. Вміст глікогену. PAS -реакція.

Лише у шестимісячних тварин контрольної і експериментальної групи вміст АТФ в печінці був однаковий. Щодо АДФ, то максимальна різниця між контрольною і експериментальною групою спостерігалась також на тридцять добу життя майже в 1,1 рази. Якщо порівнювати нащадків, отриманих від  $\gamma$ -опромінених тварин, яким давали тіотриазолін та  $\alpha$ -ліпоеву кислоту, з інтактними тваринами, то привертає увагу таке: у зародків, шести- і дванадцятимісячних щурів досліджувані показники не відрізнялися від таких у інтактних щурів. У період із 12-го до 24-го місяця відбувалося різке зниження вмісту АМФ, АДФ і АТФ порівняно з інтактними тваринами на 22,6; 25,4; 24,3 % відповідно. У свою чергу в період із 2-ї доби до 6-го місяця життя у нащадків опромінених тварин, які вживали зазначені препарати, в тканинах печінки містилася більша кількість АМФ, АДФ та АТФ (табл. 4.11).



**Профілактика порушень вмісту макроергічних сполук в тканинах  
печінки у нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів**

(  $M \pm m$ ;  $n=7$ ; мкмоль/г тканин печінки)

Вік тварин	Показник		
	АМФ	АДФ	АТФ
Зародки	$0,47 \pm 0,009^{*1,2}$	$0,7 \pm 0,041^{*2}$	$0,95 \pm 0,054^{*2}$
2 дні	$0,77 \pm 0,024^{*1,2,3}$	$0,86 \pm 0,029^{*2,3}$	$1,13 \pm 0,028^{*2,3}$
14-днів	$0,66 \pm 0,013^{*1,2,3}$	$1,17 \pm 0,038^{*1,2,3}$	$1,55 \pm 0,085^{*1,2,3}$
1-місяць	$0,89 \pm 0,044^{*1,2,3}$	$1,49 \pm 0,035^{*1,2,3}$	$2,04 \pm 0,12^{*1,2,3}$
3-місяці	$0,7 \pm 0,042^{*2,3}$	$1,23 \pm 0,028^{*2,3}$	$1,62 \pm 0,037^{*2,3}$
6-місяців	$0,68 \pm 0,018^{*2}$	$1,21 \pm 0,061^{*2}$	$1,6 \pm 0,064^{*2}$
12-місяців	$0,37 \pm 0,026^{*3}$	$0,69 \pm 0,018^{*2,3}$	$0,91 \pm 0,037^{*2,3}$
24-місяці	$0,24 \pm 0,015^{*1,2,3}$	$0,44 \pm 0,026^{*1,2,3}$	$0,53 \pm 0,019^{*1,2,3}$

Примітки:

- \*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з інтактними тваринами.
- \*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з нащадками опромінених тварин, які не отримували  $\alpha$ -ліпоеву кислоту і тіотриазолін.
- \*<sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з попереднім строком спостереження.

Загалом це свідчить про те, що комбінація препаратів тіотриазоліну та  $\alpha$ -ліпоевої кислоти запобігає реалізації у нащадків негативного впливу  $\gamma$ -опромінення їх попередників перед спарюванням. Якщо виявлені зрушення у нащадків  $\gamma$ -опромінених щурів дійсно є проявами радіаційно-індукованої нестабільності геному, то, як відомо, нестабільність може реалізуватись або через пристосування до нових умов існування, або через збільшення

вірогідності пухлинної трансформації. Тоді зрозумілими є ефекти вживання  $\alpha$ -ліпоевої кислоти та тіотриазоліну. Вони сприяють адаптації організму до нових умов існування. Хоча, вочевидь, ця адаптація не є повною та досконалою. Адже відбувається різке падіння вмісту макроергічних сполук у період з 12-го до 24-го місяця життя тварин, отриманих від  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів, які вживали  $\alpha$ -ліпоеву кислоту і тіотриазолін.

В результаті проведених досліджень з'ясовано, що застосування  $\alpha$ -ліпоевої кислоти та тіотриазоліну у  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів попереджає порушення функціональної активності ядер гепатоцитів у їх потомства першого покоління. У потомства тварин даної групи кількість гепатоцитів з високою функціональною активністю ядер на всіх досліджуваних етапах онтогенезу не відрізнялась від показників інтактних тварин (рис. 4.7. та 4.8).

Рис. 4.7. Печінка 30-денного щура, отриманого від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених тварин. Перед спарюванням щурі отримували комбінацію  $\alpha$ -ліпоевої кислоти та тіотриазоліну. Функціональна активність ядер гепатоцитів. Ок.  $\times 10$ , об.  $\times 20$ . Забарвлення за Яцьковським.

Рис. 4.8. Печінка тримісячної тварини. Перед спарюванням щурі отримували комбінацію  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну. Функціональна активність ядер гепатоцитів. Ок. x 10, об. x 20. Забарвлення за Яцьковським.

Кількість клітин з проміжною активністю ядер була меншою на 11,6 %, порівняно з інтактними тваринами лише у тварин віком двадцять чотири місяці. Нарешті, кількість гепатоцитів з низькою активністю ядер була вищою, ніж у інтактних щурів лише у віці двох та чотирнадцяти діб на 30,9 % та 31,6 % відповідно (табл. 4.12).

Таблиця 4.12

**Профілактика порушень функціональної активності гепатоцитів у тварин отриманих від радіаційно- та стрес-уражених щурів**  
( $M \pm m$ ;  $n=7$ ; %)

Вік тварин	Функціональна активність ядер %		
	Висока	Проміжна	Низька
Зародки	60,1±2,4	29,4±1,0	10,5±0,52
2 доби	71,2±2,9* <sup>2,3</sup>	18,2±0,59* <sup>2,3</sup>	10,6±0,37* <sup>1,2</sup>
14 діб	74,5±2,6* <sup>2</sup>	15,1±0,65* <sup>2,3</sup>	10,4±0,25* <sup>1</sup>
1 місяць	90,2±4,2* <sup>3</sup>	5,8±0,17* <sup>1,2,3</sup>	4,0±0,14* <sup>1,2,3</sup>
3 місяці	81,6±2,9	12,1±0,44* <sup>2,3</sup>	6,3±0,28* <sup>3</sup>
6 місяців	81,2±3,7	14,3±0,68* <sup>3</sup>	4,5±0,16* <sup>1,2,3</sup>
12 місяців	73,2±3,3	14,7±0,73* <sup>2</sup>	12,1±0,28* <sup>2,3</sup>
24 місяці	60±2,1* <sup>3</sup>	17,6±0,54* <sup>1,2,3</sup>	22,4±1,0* <sup>2,3</sup>

Примітки:

- \*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з інтактними тваринами.
- \*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з тваринами, отриманими від щурів, які під час опромінення і моделювання стресу не отримували  $\alpha$ -ліпоєву кислоту і тіотриазолін.
- \*<sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з попереднім віковим періодом.

Покращення енергетичного обміну в печінці у тварин експериментальної групи сприяло наближенню показників фізіологічної регенерації печінки до рівня інтактних тварин. Максимальне пригнічення

мітотичної активності порівняно з інтактними тваринами на 21,3 % спостерігали в віці 2-роки. Мінімальне, на 10,2 % спостерігали в 3-місячному віці.

Порівняно з тваринами контрольної групи мітотична активність була вищою у зародків і дводенних щурів на 11,3 та 14,2% відповідно, та у віці 6-, 12- та 24-місяці на 15,7; 24,8 та 34,7 % (табл. 4.13).

Таблиця 4.13

**Морфолічні показники регенерації гепатоцитів в онтогенезі  
нащадків уражених щурів, які отримували  $\alpha$ -ліпоєву кислоту та  
тіотриазолін**

(  $M \pm m$ ;  $n=7$ ; кількість мітозів на 10000 гепатоцитів )

Вік тварин	Показники	
	Мітотична активність	Патологічні мітози
Зародки	$75,8 \pm 2,3^{*1,2}$	$1,9 \pm 0,11^{*1}$
2-дні	$37,8 \pm 1,6^{*1,2,3}$	$1,80 \pm 0,12^{*1}$
14-днів	$32,4 \pm 1,5^{*1,3}$	$2,11 \pm 0,11^{*1}$
1-місяць	$27,1 \pm 1,2^{*1,3}$	$1,9 \pm 0,11^{*1}$
3-місяці	$25,4 \pm 0,49^{*1}$	$1,6 \pm 0,08^{*1,2}$
6-місяців	$22,1 \pm 0,93^{*1,2,3}$	$1,65 \pm 0,1^{*1,2}$
12-місяців	$21,6 \pm 0,89^{*1,2}$	$1,8 \pm 0,09^{*1,2}$
24-місяці	$16,3 \pm 0,31^{*1,2,3}$	$4,1 \pm 0,04^{*1,2,3}$

Примітки:

- \*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з інтактними тваринами.
- \*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з нащадками радіаційно- та стрес-уражених щурів.
- \*<sup>3</sup> -  $p < 0,05$  -- порівняно з попереднім строком спостереження.

Отримані дані свідчать про те, що застосування фармакологічної корекції після  $\gamma$ -опромінення та дії стрес-індукуючого фактору покращує стан самок і перебіг вагітності, що позитивно відбивається на стані зародків.

Більша мітотична активність у тварин експериментальної групи на 6-й, 12-й та 24-й місяці життя свідчить про меншу швидкість процесів старіння, ніж у тварин контрольної групи. На користь останнього свідчить і менша кількість патологічних мітозів у тварин експериментальної групи порівняно з контрольною на 36,8; 36,5; 35,7 та 44,6 % відповідно у віці 3, 6, 12 та 24 місяці.

Застосування препаратів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну перед спарюванням у  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів покращувало енергетичний обмін і структурні властивості і у еритроцитах їх нащадків.

Встановлено, що використання після  $\gamma$ -опромінення та перед спарюванням  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну призводило до досить істотних змін вмісту макроергічних сполук порівняно з показниками контрольної групи. Так, наприклад, встановлено, що у 2-тижневих щурів, отриманих від радіаційно-уражених попередників, яким перед спарюванням вводили  $\alpha$ -ліпоєву кислоту та тіотриазолін (друга експериментальна група) вміст АМФ, АДФ та АТФ в еритроцитах крові практично не відрізнявся від аналогічних значень в інтактних тварин і водночас достовірно був вищим від показників тварин цього віку контрольної групи (таб.4.9). Дослідження вмісту АМФ, АДФ та АТФ в еритроцитах крові 1-місячних щурів 2-ї експериментальної групи показали, що їх кількість була вищою за показники інтактних тварин відповідно на 50,6 %, 51,2 % та 53,3 % і одночасно більш, як вдвічі переважала значення контрольної групи. Встановлено, що вміст АМФ, АДФ та АТФ у 3-х місячних щурів експериментальної групи проявляв тенденцію до збільшення відносно значень 1-місячних щурят і водночас переважав показники на 58,3 %, 56,4 % та 52,2 %, що практично в 3-рази було вищим за показники контрольної групи. У 6-ти місячних щурів

експериментальної групи вміст АМФ, АДФ та АТФ в еритроцитах крові практично не відрізнявся від аналогічних значень попередньої вікової групи і були достовірно вищими, як показники контролю так і показники одновікових тварин контрольної групи. В результаті проведених досліджень було встановлено, що у 12-місячних щурів експериментальної групи вміст аденілових нуклеотидів різко знижувався відносно попередніх значень відновлюючись до рівня одновікового контролю.

Необхідно також наголосити, що і в даному випадку виявлені показники достовірно переважали аналогічні у тварин цього віку 1-ї експериментальної групи. У 24-місячних тварин експериментальної групи було виявлено, що вміст АМФ, АДФ та АТФ в еритроцитах крові достовірно знижувався відносно попередніх значень та значень одновікових інтактних тварин і дорівнював при цьому 73,2 %, 77,4 % та 74,2 %. Але водночас ці показники були вищими за аналогічні у тварин цього віку контрольної групи (табл. 4.14).

Таким чином використання, після радіаційного ураження перед спарюванням, комбінації  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну сприяло значному покращенню вмісту макроергічних сполук порівняно з аналогічними значеннями тварин контрольної групи. При цьому необхідно підкреслити, що в ранньому постнатальному періоді розвитку та у 12-місячних тварин вміст АМФ, АДФ та АТФ практично не відрізнявся від контролю.

Покращення енергетичного обміну в еритроцитах тварин експериментальної групи супроводжувалось зростанням перекисної резистентності еритроцитів. Перекисна резистентність була нижчою порівняно з інтактними тваринами лише на 24-му місяці життя, про що свідчив на 51,9 % більший відсоток гемолізованих еритроцитів.

**Профілактика виникнення порушень вмісту макроергічних сполук в еритроцитах у нащадків уражених щурів**

(  $M \pm m$ ;  $n=7$ ; мг/100 мл )

Вік тварин	Показник		
	АМФ	АДФ	АТФ
14-днів	23,7±0,19* <sup>2</sup>	25,2±0,19* <sup>1,2</sup>	25,2±0,21* <sup>2</sup>
1-місяць	57,8±0,89* <sup>1,2,3</sup>	62,3±0,2* <sup>1,2,3</sup>	65,3±0,23* <sup>1,2,3</sup>
3-місяці	62,5±0,26* <sup>1,2,3</sup>	65,8±0,15* <sup>1,2,3</sup>	67,6±0,17* <sup>1,2,3</sup>
6-місяців	58,3±0,14* <sup>1,2,3</sup>	62,2±0,23* <sup>1,2,3</sup>	63,7±0,19* <sup>1,2,3</sup>
12-місяців	22±0,14* <sup>2,3</sup>	22,9±0,17* <sup>1,2,3</sup>	14,10±0,18* <sup>1,2,3</sup>
24-місяці	12,8±0,18* <sup>1,2,3</sup>	13,9±0,11* <sup>1,2,3</sup>	14,1±0,21* <sup>1,2</sup>

Примітки:

- \*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з інтактними тваринами.
- \*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з нащадками радіаційно- та стрес-уражених щурів.
- \*<sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з попереднім строком спостереження.

Слід зазначити, що у тварин експериментальної групи кількість гемолізованих еритроцитів у віці дванадцяти та двадцятичотирьох місяців була меншою на 58,5 і 28,9 % порівняно з тваринами контрольної групи (табл. 4.15).

Нарешті проводили дослідження кількості тварин з нестабільністю геному в потомстві  $\gamma$ - опромінених та стрес-уражених тварин, а також ефективність запропонованої комбінації препаратів попереджати її виникнення при застосуванні до спарювання. В результаті проведених



досліджень доведена ефективність застосування комбінації  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти по 7,5 мг/кг маси тіла на добу та тіотриазоліну по 9,0 мг/кг маси тіла на добу перед спарюванням для профілактики виникнення нестабільності геному та її передачі в поколіннях радіаційно- та стрес-уражених щурів, що виявлялося зменшенням кількості тварин з нестабільністю геному в першому поколінні, отриманому від  $\gamma$ - опромінених та стрес-уражених щурів на 37% порівняно з потомством нелікованих тварин ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 4.15

**Зміни резистентності еритроцитів у нащадків уражених щурів, які отримували корекцію перед спарюванням**

( $M \pm m$ ;  $n=7$ ; %).

Вік	14- днів	1- місяць	3- місяці	6- місяців	12- місяців	24- місяці
Перекисна резистентні сть еритроцитів	4,3 $\pm$ 0,27	4,2 $\pm$ 0,29	3,9 $\pm$ 0,30	4,3 $\pm$ 0,31	5,1 $\pm$ 0,48 * <sup>3</sup>	12,3 $\pm$ 0,53 * <sup>1,2,3</sup>

Примітки:

- \*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з інтактними тваринами.
- \*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з попереднім віковим періодом.
- \*<sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з групою, яка не отримувала корекцію.

Таким чином в результаті проведених досліджень з'ясовані особливості енергетичного обміну в тканинах печінки і еритроцитах нащадків  $\gamma$ - опромінених та стрес-уражених щурів. З'ясовані вікові особливості фізіологічної регенерації гепатоцитів та стану мембран еритроцитів. Доведена ефективність комбінації  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну попереджати порушення енергетичного обміну і структурно-функціональних

властивостей гепатоцитів і еритроцитів тварин, отриманих від радіаційно- та стрес-уражених щурів.

Результати викликані в даному розділі опубліковані в :

1. Маркова О.О. Профілактика стресіндукованих порушень енергетичного обміну в печінці щурів, отриманих від опромінених попередників / О.О. Маркова, В.О. Ульянов // Одеський медичний журнал. – 2008. – № 1. – С. 13-16.

Доповідались на наступних конференціях:

1. Маркова О.О. Можливості використання Берлітіону для попередження виникнення зрушень вмісту макроергічних сполук у печінці виводку опромінених тварин / О.О. Маркова, В.К. Напханюк // Сучасні досягнення спортивної медицини, лікувальної фізкультури та валеології : Х Ювілейна міжнародна науково-практична конференція, 22-24 вересня 2004 р. : матеріали. – Одеса: ОДМУ, 2003. – С. 234-235.

2. Маркова О.О. Попередження порушень мітотичної активності гепатоцитів у нащадків опромінених щурів / О.О. Маркова // Біофізичні стандарти та інформаційні технології в медицині : міжнар. дистанційна наук.-практ. конф., листопад 2007 р. : матеріали. – Одеса : Астропринт, 2007. – С. 77.

## РОЗДІЛ 5

ПРОФІЛАКТИКА ХРОНІЧНОГО ЕМОЦІЙНО-БОЛЬОВОГО СТРЕСУ  
ПРИ ЙОГО ВІДТВОРЕННІ У ЩУРІВ, ОТРИМАНИХ ВІД  $\gamma$ -  
ОПРОМІНЕНИХ ТА СТРЕС-УРАЖЕНИХ ТВАРИН

Відомо, що  $\gamma$ -опромінення ссавців перед спарюванням може призводити до фізичної неповноцінності їх потомства. У них спостерігаються порушення фізичного розвитку, які проявляються змінами антропометричних показників, гормональними порушеннями. В наших дослідженнях ми виявили, що у нащадків  $\gamma$ -опромінених щурів на різних етапах онтогенезу вміст макроергичних сполук в тканинах печінки та еритроцитах відрізняється від показників інтактних тварин (див. розділ 4). При цьому недостатнє енергетичне забезпечення клітин печінки та еритроцитів при фізіологічних перенавантаженнях організму призводять до порушення їх морфофункціональних властивостей. Спостерігаються зміни мітотичної активності гепатоцитів та збільшення кількості гепатоцитів з фігурами патологічних мітозів. Порушується перекисна резистентність еритроцитів. Виходячи з цього можна припустити іншу відповідь організму нащадків  $\gamma$ -опромінених щурів на дію несприятливих факторів довкілля, зокрема стресу. Отже актуальним може бути і пошук засобів профілактики такого впливу.

Виходячи з цього ми провели подальші дослідження у нащадків опромінених та стрес-уражених щурів по досягненні ними статевої зрілості, і дослідили характерні порушення енергетичного обміну в тканинах печінки та еритроцитах, а також морфофункціональні властивості гепатоцитів та еритроцитів при відтворенні хронічного стресу. Також ми дослідили ефективність комбінації препаратів тіотриазоліну та  $\alpha$ -ліпоевої кислоти для профілактики стрес-індукованих порушень у нащадків  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів.

### 5.1. Особливості розвитку стресу у нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів

Експериментальні дослідження проводили на статевозрілих тваринах, отриманих від радіаційно- та стрес-уражених щурів. У тварин відтворювали хронічний емоційно-больовий стрес з метою встановлення механізмів відповіді організму на дію несприятливих факторів. В результаті проведених досліджень ми встановили, що стрес-індуковані зрушення енергетичного обміну в тканинах печінки та еритроцитах нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів відрізняється від показників стрес-уражених нащадків інтактних тварин. Так на стадії резистентності хронічного стресу у нащадків уражених щурів в тканинах печінки містилося на 12,3 % більше АМФ, у той час, як кількість АДФ та АТФ була меншою на 10,2 % та 15,6 % відповідно (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

#### Стрес-індуковані зміни вмісту аденілових нуклеотидів в печінці

(  $M \pm m$ ;  $n=7$ ; мкмоль/г тканин печінки )

Група тварин	Стадія стресу	АМФ	АДФ	АТФ
Нащадки інтактних тварин	Тривоги	0,65±0,03	1,31±0,05	1,91±0,08
	Резистентності	0,64±0,02	1,28±0,04	1,8±0,07
	Виснаження	0,75±0,03* <sup>2,3</sup>	1±0,03* <sup>2,3</sup>	1,3±0,04* <sup>2,3</sup>
Нащадки уражених тварин	Тривоги	0,71±0,03	1,25±0,04	1,8±0,07
	Резистентності	0,72±0,02* <sup>1</sup>	1,15±0,04* <sup>1</sup>	1,52±0,05* <sup>1,2</sup>
	Виснаження	0,74±0,02	0,93±0,04* <sup>2,3</sup>	1,1±0,05* <sup>1,2,3</sup>

Примітки:

1. \*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з стрес-ураженими отриманими від інтактних щурів;
2. \*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно зі стадією тривоги;
3. \*<sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно зі стадією резистентності.

Тобто адаптація до дії стресуючого фактора супроводжується більшими енерговитратами. Можна припустити, що тривалість стадії резистентності буде коротшою. Дійсно, при порівнянні стадії виснаження хронічного стресу вміст АТФ був на 15,4 % меншим, ніж у стрес-уражених нащадків  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених тварин. Що стосується стадії тривоги хронічного стресу то відповідь інтактних та стрес-уражених щурів співпадала за напрямком. Кількісно вони не відрізнялися, хоча у нащадків уражених щурів спостерігалась виразна тенденція до меншого вмісту АТФ та збільшення АМФ в тканинах печінки.

Таким чином відповідь на хронічний емоційно-больовий стрес у нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів відрізняється більш значним виснаженням енергетичних ресурсів в тканинах печінки. Схожі за напрямком зрушення енергетичного обміну виявлені в еритроцитах нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів. При відтворенні хронічного стресу у нащадків уражених щурів відмінності виявлені вже на стадії тривоги (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

**Порушення вмісту нуклеотидів в еритроцитах при відтворенні хронічного стресу у нащадків уражених щурів**

(  $M \pm m$ ;  $n=7$ ; мг/100 мл )

Стадія стресу	АМФ	АДФ	АТФ
Тривога	46,2±1,2* <sup>1</sup>	44,6±1,2* <sup>1</sup>	49,7±1,5* <sup>1</sup>
Резистентність	47,8±1,0* <sup>1</sup>	42,5±1,1	42,6±1,4* <sup>2</sup>
Виснаження	48,9±1,2* <sup>1</sup>	31,9±0,7* <sup>1,2,3</sup>	31,1±0,9* <sup>1,2,3</sup>

Примітки:

- 1.\*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з інтактними тваринами.
- 2.\*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно зі стадією тривоги.
- 3.\*<sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно зі стадією резистентності.

У нащадків  $\gamma$ -опромінених тварин на стадії тривоги хронічного стресу еритроцити містили на 13 % більше АМФ, виявлена виразна тенденція до зниження рівня АДФ та АТФ. На стадії резистентності хронічного стресу у нащадків уражених щурів в еритроцитах не відбувалося зрушень вмісту АДФ та АТФ порівняно з інтактними тваринами, у той час як кількість АМФ збільшувалась на 21 %. У підсумку на стадії виснаження хронічного стресу в еритроцитах вміст АДФ та АТФ складав відповідно 76 % та 70 % від показників інтактних тварин (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

### Стрес-індуковані зрушення резистентності еритроцитів

( $M \pm m$ ;  $n=7$ ; %)

Група тварин	Стадія стресу		
	тривоги	Резистентності	виснаження
Отримані від інтактних тварин	8,3±0,4	7,1±0,28* <sup>2</sup>	14,3±0,63* <sup>2,3</sup>
Отримані від опромінених і стрес-уражених щурів	14,3±0,59* <sup>1</sup>	12,8±0,35* <sup>1,2</sup>	24,3±0,68* <sup>1,2,3</sup>

Примітки:

- 1.\*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з тваринами, отриманими від опромінених і стрес-уражених щурів.
- 2.\*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно зі стадією тривоги.
- 3.\*<sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно зі стадією резистентності.

У свою чергу кількість АМФ було зростала на 24 %. Тобто відтворення хронічного стресу у нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів викликає

більш глибоке виснаження енергетичних ресурсів еритроцитів, ніж при відтворенні стресу у потомства інтактних тварин. Порушення енергетичного обміну в еритроцитах спричиняло ушкодження мембран еритроцитів. Внаслідок цього перекисна резистентність еритроцитів у нащадків уражених щурів на стадії тривоги хронічного стресу була менша на 72,2 %, на стадії резистентності на 80,2 %, на стадії виснаження 69,9 %, ніж при відтворенні стресу у нащадків інтактних тварин.

Подальші дослідження виявили, що у нащадків  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів хронічний емоційно-больовий стрес спричиняє зміни морфофункціональних властивостей гепатоцитів відмінні від таких, при відтворенні стресу у потомства інтактних щурів (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

### Стрес-індуковані зрушення мітотичної активності гепатоцитів

( $M \pm m$ ;  $n=7$ ; кількість мітозів (патологічних мітозів) / 10 тисяч гепатоцитів)

Група тварин	Стадія хронічного стресу					
	Тривоги		Резистентності		Виснаження	
	МА	ПМ	МА	ПМ	МА	ПМ
Нащадки інтактних щурів	19,3 $\pm$ 0,57 * <sup>1</sup>	0,4 $\pm$ 0,01 * <sup>1</sup>	22,7 $\pm$ 0,51 * <sup>1,2</sup>	0,3 $\pm$ 0,01 * <sup>1,2</sup>	14,1 $\pm$ 0,38 * <sup>1,2,3</sup>	2,8 $\pm$ 0,12 * <sup>1,2,3</sup>
Нащадки $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів	21,8 $\pm$ 0,55 * <sup>1,4</sup>	1,4 $\pm$ 0,03 * <sup>1,4</sup>	20,3 $\pm$ 0,53 * <sup>1,4</sup>	1,1 $\pm$ 0,01 * <sup>1,2,4</sup>	10,6 $\pm$ 0,37 * <sup>1,2,3,4</sup>	7,8 $\pm$ 0,14 * <sup>1,2,3,4</sup>

Примітки:

- \*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з інтактними тваринами;
- \*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно зі стадією тривоги;
- \*<sup>3</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно зі стадією резистентності;
- \*<sup>4</sup> -  $p < 0,05$  – порівняно з нащадками інтактних щурів.

Так, у нащадків  $\gamma$ -опромінених щурів на стадії тривоги мітотична активність пригнічується на 12,9 % менше, ніж при відтворенні стресу у інтактних щурів. На стадії тривоги значно зростає кількість фігур патологічних мітозів. У сукупності це свідчить про меншу здатність до адаптації у нащадків  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених тварин. В подальшому, на стадії резистентності ми спостерігали у них не збільшення мітотичної активності, а навпаки тенденцію до її пригнічення. Хоча кількість патологічних мітозів зменшувалася порівняно зі стадією тривоги, вона залишалася значно більшою, ніж у інтактних щурів та у нащадків інтактних щурів при відтворенні хронічного стресу. У сукупності це свідчить про те, що у нащадків  $\gamma$ -опромінених тварин резистентність організму зростає менш інтенсивно, ніж у потомства інтактних щурів при відтворенні стресу. Останнє може створювати умови для більш раннього розвитку стадії виснаження хронічного стресу, отже і підвищення ризику захворювань значно раніше. На користь останнього свідчило глибоке пригнічення мітотичної активності поруч з різким зростанням кількості патологічних мітозів у нащадків  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених тварин на стадії виснаження хронічного стресу .

В результаті проведених досліджень встановлено, що при відтворенні хронічного стресу у потомства  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів зміни співвідношення гепатоцитів з різною функціональною активністю ядер інакші, ніж при відтворенні стресу у потомства інтактних щурів (табл. 5.5).

Так, якщо на стадії тривоги хронічного стресу за напрямом та кількісно зрушення функціональної активності ядер не відрізнялись від показників стрес-уражених щурів, отриманих від інтактних попередників. То на стадії виснаження кількість гепатоцитів з високою функціональною активністю ядер була меншою на 15,9 %, а з проміжною і низькою активністю – більшою на 14,7 та 62,1 % відповідно (рис. 5.1 та 5.2).



**Стрес-індуковані зрушення кількості гепатоцитів з різною  
функціональною активністю ядер**

(M±m; n=7; %)

Група тварин	Стадія стресу	Функціональна активність ядер %		
		висока	проміжна	низька
Потомство інтактних щурів	Тривоги	79,2±2,3	11,1±0,33	9,7±0,38
	Резистентності	93,1±3,7* <sup>2</sup>	2,7±0,10* <sup>2</sup>	4,2±0,21* <sup>2</sup>
	Виснаження	70,5±3,5* <sup>2</sup>	15±0,6* <sup>2</sup>	14,5±0,58* <sup>2</sup>
Потомство опромінених і стресуражених щурів	Тривоги	78,5±3,1	11,4±0,44	10,1±0,50
	Резистентності	92,3±3,5* <sup>2</sup>	3,8±0,14* <sup>1,2</sup>	3,9±0,14* <sup>2</sup>
	Виснаження	59,3±2,6* <sup>1,2</sup>	17,2±0,67* <sup>1,2</sup>	23,5±0,79* <sup>1,2</sup>

Примітки:

- \*<sup>1</sup> - p<0,05 – порівняно з групою в якій стрес відтворювали у щурів, отриманих від інтактних тварин;
- \*<sup>2</sup> - p<0,05 – порівняно з попередньою стадією стресу.

Таким чином з'ясовані особливості перебігу загального адаптаційного синдрому у щурів, отриманих від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів. У тварин даної групи змінюються показники вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах печінки та еритроцитах, порушується функціональна активність ядер гепатоцитів та їх мітотична активність.

Рис. 5.1. Печінка тримісячного щура, отриманого від інтактних тварин. Стадія виснаження хронічного стресу. Пригнічення функціональної активності ядер гепатоцитів. Ок. х 10, об. х 40. Забарвлення за Яцьковским.

Рис. 5.2. Печінка тримісячного щура, отриманого від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів. Стадія виснаження хронічного стресу. Пригнічення функціональної активності ядер гепатоцитів. Ок. х 10, об. х 40. Забарвлення за Яцьковским.

## 5.2. Профілактика стрес-індукованих порушень енергетичного обміну та структурно-функціональних властивостей гепатоцитів потомства $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів

Після з'ясування особливостей перебігу хронічного стресу у нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів дослідили ефективність комбінації препаратів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти і тіотриазоліну для профілактики стрес-індукованих зрушень енергетичного обміну і структури гепатоцитів і еритроцитів.

В результаті проведених досліджень встановлено, що застосування комбінації препаратів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну зменшувало порушення енергетичного обміну в тканинах печінки нащадків  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів при відтворенні хронічного емоційно-больового стресу. На всіх стадіях експериментального хронічного стресу вміст АМФ в тканинах печінки не відрізнявся від показників інтактних щурів. На стадії тривоги у тварин, які отримували корекцію, тканини печінки містили на 10,4 і 12,2 % більше відповідно АДФ і АТФ, ніж у нащадків  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів, які не отримували препаратів під час відтворення стресу. На стадії тривоги в тканинах печінки щурів, які отримували корекцію визначалось більше АДФ і АТФ відповідно на 26,1 та 28,3 %, а на стадії тривоги – на 19,1 і 56 %, ніж у тварин, які не отримували зазначені препарати (табл. 5.6).

Таким чином, проведені дослідження виявили якісно іншу реакцію нащадків опромінених у малих дозах щурів на відтворення хронічного емоційно-больового стресу. Не виключено, що виявлені зрушення є проявами радіаційно-індукованої нестабільності геному в соматичних клітинах, зокрема гепатоцитах, і фенотипічно проявляється порушеннями енергетичного обміну в екстремальних умовах.

**Профілактика порушень обміну нуклеотидів при відтворенні хронічного стресу у нащадків радіаційно- та стрес-уражених щурів**

(  $M \pm m$ ;  $n=7$ ; мкмоль/г тканин печінки; мг/100 мл )

Біоматеріал	Стадія стресу	Показник		
		АМФ	АДФ	АТФ
Печінка	Тривоги	0,65±0,03	1,32±0,05 * <sup>1</sup>	1,86±0,06 * <sup>1</sup>
	Резистентності	0,67±0,02 * <sup>4</sup>	1,25±0,052	1,75±0,08 * <sup>1,4</sup>
	Виснаження	0,70±0,03	1,03±0,04 * <sup>2,3</sup>	1,36±0,066 * <sup>1,2,3,4</sup>
Еритроцити	Тривоги	48,9±1,2 * <sup>1</sup>	50,8±1,6 * <sup>1,4</sup>	58,6±1,5 * <sup>1,4</sup>
	Резистентності	52,6±0,9 * <sup>1,2,4</sup>	47,6±1,4 * <sup>1,4</sup>	48,9±1,3 * <sup>1,2,4</sup>
	Виснаження	54,8±1,4 * <sup>1,2,4</sup>	28,4±0,9 * <sup>1,2,3,4</sup>	36,4±0,7 * <sup>1,2,3,4</sup>

Примітки:

- \*<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  порівняно з інтактними тваринами;
- \*<sup>2</sup> -  $p < 0,05$  порівняно зі стадією тривоги;
- \*<sup>3</sup> -  $p < 0,05$  порівняно зі стадією резистентності;
- \*<sup>4</sup> -  $p < 0,05$  порівняно з порушенням обміну нуклеотидів при відтворенні хронічного стресу у нащадків уражених щурів, без корекції.

Антиоксидантні властивості  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну, протидіючи активації вільнорадикального окислення, зокрема в печінці, забезпечували адекватний дії стресогенного чинника енергетичний обмін. Останнє має значення, як місцево у печінці, так і для підтримання резистентності в цілому, враховуючи те, що печінка є "метаболічним

мозком" організму. Збереження вмісту АДФ і АТФ на фоні застосування  $\alpha$ -ліпоевої кислоти та тіотриазоліну на рівні інтактних тварин на стадії виснаження хронічного стресу, на нашу думку, демонструє здатність тіотриазоліну зберігати резерви АТФ. У сукупності ж динаміка розвитку хронічного емоційного стресу на фоні корекції вказує на ефективність зазначеної комбінації препаратів для профілактики стрес-індукованих зрушень енергетичного обміну, в результаті чого стадія виснаження хронічного стресу, вочевидь, розвивається пізніше, а резистентності триває довше. Дане припущення підтверджувалося гістохімічними дослідженнями вмісту глікогену в гепатоцитах (рис. 5.3, рис 5.4).

Рис. 5.3. Печінка тримісячного щура. Стадія виснаження хронічного стресу. Вміст глікогену. Ок. х 10, об. х40. PAS -реакція.

Рис. 5.4. Печінка тримісячного щура. Стадія виснаження хронічного стресу. Вміст глікогену. Фармакологічна корекція:  $\alpha$ -ліпоева кислота та тіотриазолін. Ок. x 10, об. x40. PAS-реакція.

Покращувала дана комбінація препаратів і енергетичний обмін в еритроцитах. Встановлено, що вміст АДФ та АТФ в еритроцитах тварин, яким проводили корекцію був вищим на стадії тривоги, резистентності і виснаження хронічного стресу порівняно з тваринами, які не отримували  $\alpha$ -ліпоеву кислоту та тіотриазолін.

В результаті проведених досліджень встановлено (табл.5.7), що застосування  $\alpha$ -ліпоевої кислоти та тіотриазоліну за ефективністю не відрізняється від показників їх застосування у стрес-уражених щурів, отриманих від інтактних попередників (див. розд. 3, табл. 3.12).

**Профілактика стрес-індукованих порушень функціональної активності  
ядер гепатоцитів**

(M±m; n=7; %)

Група тварин	Стадія стресу	Функціональна активність ядер		
		висока	проміжна	низька
Стрес	Тривоги	78,5±3,1	11,4±0,44	10,1±0,50
	Резистентності	92,3±3,5	3,8±0,14	3,9±0,14
	Виснаження	59,3±2,6	17,2±0,67	23,5±0,79
Стрес + $\alpha$ -ліпоєва кислота + тіотриазолін	Тривоги	82,8±2,9	9,3±0,34*	7,9±0,25*
	Резистентності	87,3±3,6	6,4±0,23*	6,3±0,19*
	Виснаження	70,1±3,5*	19,6±0,58*	10,3±0,30*

Примітка. \* -  $p < 0,05$  – порівняно зі стрес-ураженими тваринами, які не отримували корекцію.

На стадії виснаження дана комбінація теж ефективна, дозволяє збільшити кількість гепатоцитів з високою та проміжною функціональною активністю ядер на 18,2 та 14 % відповідно. Як видно з рис. 5.5 на фоні застосування комбінації препаратів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну зменшується кількість гепатоцитів з неактивними ядрами більш як вдвічі порівняно з тваринами, які не отримували зазначені препарати (див. рис. 5.2).

Застосування комбінації препаратів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну значно зменшувало порушення поділу гепатоцитів, але не виключали їх. Основні ефекти введення зазначених препаратів полягали в тому, що на стадії тривоги та виснаження хронічного стресу виявлено значно менше фігур патологічних мітозів, ніж в інших експериментальних групах. На стадії резистентності кількість патологічних мітозів не відрізнялася від

показників інтактних тварин. На стадіях резистентності та виснаження на фоні прийому препаратів мітотична активність була вищою ніж у нащадків опромінених щурів, які не вживали зазначених препаратів.

Рис. 5.5. Печінка тримісячного щура. Стадія виснаження хронічного стресу. Функціональна активність ядер гепатоцитів. Фармакологічна корекція:  $\alpha$ -ліпоева кислота та тіотриазолін. Ок. x 10, об. x40. Забарвлення за Яцьковським.

Таким чином, введення тваринам комбінації препаратів  $\alpha$ -ліпоевої кислоти та тіотриазоліну підвищує їх резистентність до впливу хронічного емоційно-больового стресу (табл. 5.8). Нарешті, слід зазначити, що виявлені зрушення мітотичної активності гепатоцитів у нащадків опромінених щурів при відтворенні хронічного стресу вказують на наявність спадкових порушень в генетичному апараті гепатоцитів.



**Профілактика зрушень мітотичної активності гепатоцитів при  
відтворенні хронічного стресу у нащадків уражених щурів**

(M±m; n=7; кількість мітозів (патологічних мітозів) / 10 тисяч гепатоцитів).

Група тварин	Стадія хронічного стресу					
	Тривоги		Резистентності		Виснаження	
	МА	ПМ	МА	ПМ	МА	ПМ
Стрес у нащадків опромінених і стресуражених щурів	21,8±0,55 * <sup>1</sup>	1,4±0,03 * <sup>1</sup>	20,3±0,53 * <sup>1</sup>	1,1±0,01 * <sup>1,2</sup>	10,6±0,37 * <sup>1,2,3</sup>	7,8±0,14 * <sup>1,2,3</sup>
Профілактика стресу у нащадків радіаційно та стрес-уражених щурів	22,3±1,1 * <sup>1,4</sup>	0,2±0,03 * <sup>1,4,5</sup>	24,8±1,1 * <sup>1,5</sup>	0,12±0,03 * <sup>4,5</sup>	15,6±0,9 * <sup>1,2,3,4,5</sup>	1,7±0,09 * <sup>1,2,3,4,5</sup>

Примітки:

- \*<sup>1</sup> - p<0,05 – порівняно з інтактними тваринами;
- \*<sup>2</sup> - p<0,05 – порівняно зі стадією тривоги;
- \*<sup>3</sup> - p<0,05 – порівняно зі стадією резистентності;
- \*<sup>4</sup> - p<0,05 – порівняно з нащадками інтактних щурів;
- \*<sup>5</sup> - p<0,05 – порівняно з нащадками опромінених щурів.

Відсутність відмінностей в мітотичній активності інтактних тварин і нащадків опромінених щурів до відтворення хронічного стресу вказують на необхідність провокуючого фактору для фенотипічної реалізації цих ушкоджень. У сукупності, це свідчить на користь того, що вплив  $\gamma$ -опромінення на щурів перед спарюванням призводить до формування нестабільності геному в гепатоцитах їх нащадків. Виходячи з цього, можна пояснити і ефективність  $\alpha$ -ліпоевої кислоти, яка здатна запобігати

ушкодженню ДНК. Антиоксидантні ж ефекти  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти і тіотриазоліну, а також гепатопротекторні властивості останнього у комплексі і призвели до виявлених нами позитивних зрушень при відтворенні хронічного емоційно-больового стресу.

Застосування комбінації  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну при моделюванні хронічного стресу у нащадків уражених щурів зменшувало вільнорадикальне пошкодження мембран еритроцитів, порівняно з тваринами у яких не проводили фармакологічну корекцію. (табл. 5.9)

Таблиця 5.9

**Профілактика змін резистентності еритроцитів при відтворенні хронічного стресу у нащадків уражених щурів**

(M $\pm$ m; n=7; %)

Стадія стресу	Тривоги	Резистентності	Виснаження
Зрушення перекисної резистентності еритроцитів у інтактних щурів	14,3 $\pm$ 0,59	12,8 $\pm$ 0,35 * <sup>2</sup>	24,3 $\pm$ 0,68 * <sup>2,3</sup>
Профілактика змін резистентності еритроцитів при відтворенні хронічного стресу у нащадків уражених щурів	8,8 $\pm$ 0,4 * <sup>1</sup>	8,4 $\pm$ 0,28 * <sup>1</sup>	16,3 $\pm$ 0,63 * <sup>1,2,3</sup>

Примітки:

- \*<sup>1</sup> - p<0,05 – порівняно з інтактними тваринами.
- \*<sup>2</sup> - p<0,05 – порівняно зі стадією тривоги.
- \*<sup>3</sup> - p<0,05 – порівняно зі стадією резистентності.

Це проявлялося зменшенням відсотку гемолізованих еритроцитів на стадії тривоги хронічного стресу на 28,7 %, на стадії резистентності на 12,0 %, на стадії виснаження на 28,4 % .

Таким чином в результаті проведених досліджень встановлено, що забезпечення печінки та еритроцитів макроергічними сполуками у нащадків уражених щурів, для забезпечення пристосування до дії хронічного стресу відрізняється від такого у інтактних тварин. При цьому стадія резистентності досягається з більшими енерговитратами. Вміст макроергічних сполук виснажується значно більше на стадії виснаження. Розлади енергозабезпечення клітин призводить до більш значних вільнорадикальних ушкоджень генетичного апарату та мембранних структур. Останнє проявляється збільшенням кількості патологічних мітозів гепатоцитів та зменшенням перекисної резистентності еритроцитів. Застосування комбінації  $\alpha$ -ліпоевої кислоти та тіотриазоліну ефективно попереджає стрес-індуковані порушення завдяки сумачіі гепатопротекторних, антиоксидантних та енергозберігаючих властивостей даних препаратів.

Після завершення експериментальних досліджень оцінили відмінності ефективності монотерапії  $\alpha$ -ліпоевою кислотою, тіотриазоліном та комбінацією зазначених препаратів радіаційно- та стрес-індукованих порушень енергетичного обміну та морфофункціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів. Оцінювали стреспротекторні властивості препаратів при відтворенні хронічного стресу після завчасного  $\gamma$ -опромінення, при відтворенні хронічного стресу у потомства  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених попередників, а також оцінювали здатність зазначених препаратів попереджати виникнення нестабільності геному, порушень вмісту макроергічних сполук в тканинах печінки та морфогенезу гепатоцитів та еритроцитів в постнатальному онтогенезі у потомства  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених попередників. Порівняльну оцінку проводили за допомогою кластерного аналізу. В результаті проведених досліджень максимальна стреспротекторна ефективність виявлена у комбінації препаратів  $\alpha$ -ліпоевої кислоти та тіотриазоліну, мінімальна у монотерапії тіотриазоліном.

Результати викладені в даному розділі опубліковані в :

1. Маркова О.О. Можливості фармакологічної корекції порушень енергетичного обміну в печінці щурів, отриманих від опромінених попередників / О.О.Маркова, В.О. Ульянов, В.К. Напханюк // Одеський медичний журнал. – 2007. – № 4. – С. 30 – 33.

2. Маркова О.О.Профілактика стресіндукованих порушень мітотичної активності гепатоцитів у нащадків опромінених щурів / О.О. Маркова, В.О. Ульянов // Світ медицини та біології. – 2007. – № 4. – С. 18-21.

3. Профілактика стресіндукованих порушень енергетичного обміну в печінці щурів, отриманих від опромінених попередників / О.О. Маркова, В.О. Ульянов // Одеський медичний журнал. – 2008. – № 1. – С. 13-16.

Доповідались на наступних конференціях:

1. Маркова О.О. Можливості використання Берлітіону для попередження виникнення зрушень вмісту макроергічних сполук у печінці виводку опромінених тварин / О.О. Маркова, В.К. Напханюк // Сучасні досягнення спортивної медицини, лікувальної фізкультури та валеології : Х Ювілейна міжнародна науково-практична конференція, 22-24 вересня 2004 р. : матеріали. – Одеса: ОДМУ, 2003. – С. 234-235.

2. Маркова О.О. Попередження порушень мітотичної активності гепатоцитів у нащадків опромінених щурів / О.О. Маркова // Біофізичні стандарти та інформаційні технології в медицині : міжнар. дистанційна наук.-практ. конф., листопад 2007 р. : матеріали. – Одеса : Астропринт, 2007. – С. 77.

3. Маркова О.О. Динаміка змін вмісту аденілових нуклеотидів у печінці виводку опромінених тварин / О.О. Маркова, В.К. Напханюк // Сучасні досягнення спортивної медицини, лікувальної фізкультури та валеології : ІХ науково-практична конференція, 18-20 вересня 2003 р. : матеріали. – Одеса: ОДМУ, 2003. – С. 150.

4. Маркова О.О. Особливості вмісту макроергічних сполук в печінці виводку щурів, які зазнали токсичного ураження / О.О. Маркова, В.К.

Напханюк // III-читання В.В. Підвисоцького: наукова конференція, 27-29 травня 2004 р. : матеріали. – Одеса, 2004 – С. 65-66.

## РОЗДІЛ 6

## ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Проведеними дослідженнями дана характеристика порушень енергетичного обміну у  $\gamma$ -опромінених сумарною дозою 1,0 Гр щурів на різних стадіях хронічного емоційно-больового стресу та при їх поєднаній дії. Уточнення механізмів радіаційно- та стресіндукованих зрушень дозволило запропонувати та оцінити ефективність комбінації  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну для їх профілактики.

Перед обговоренням механізмів ефективності зазначених препаратів, вважаємо за доцільне зупинитися на відмінностях впливу радіації та стресу на досліджувані показники. Встановлено, що по досягненні сумарної дози  $\gamma$ -опромінення 1,0 Гр та на стадії виснаження хронічного стресу вміст в печінці і еритроцитах АТФ, АДФ та АМФ майже однаковий. Але опромінення в зазначеному режимі менш агресивний фактор, ніж хронічний емоційно-больовий стрес, і ініціює менш потужне вільнорадикальне окислення. На користь останнього свідчило більш виразне зменшення перекисної резистентності еритроцитів у стресуражених тварин (див. табл. 3.2 і 3.6). Тому виникає закономірне питання про причини і механізми порушень енергетичного обміну у  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів. Причини стають зрозумілими при порівнянні радіаційно- та стресіндукованих порушень функціональної активності ядер гепатоцитів, кількості патологічних мітозів, а також мітотичної активності гепатоцитів, які є показником їх регенерації [31]. У  $\gamma$ -опромінених щурів порівняно зі стресураженими значно більшою була кількість патологічних мітозів, а також гепатоцитів з низькою функціональною активністю ядер (див. табл. 3.3 та 3.5). Це може бути пояснено, з позицій однієї з теорій дії малих доз радіації, за якою  $\gamma$ -опромінення малими дозами не є достатнім подразником для активації систем репарації [243, 211]. Тому ушкодження ДНК

накопичуються і реалізуються фенотипічно [172, 173]. У випадку хронічного стресу доволі потужний вплив стресіндукуючого фактору спричиняє вже на стадії тривоги активацію адаптаційних механізмів. Одним з проявів цього є пригнічення мітотичної активності з метою зменшення вірогідності появи порушень поділу клітин. Останнє ми і спостерігали в печінці при відтворенні хронічного стресу (див. табл. 3.5).

Але досягалося це за рахунок зменшення кількості гепатоцитів з проміжною функціональною активністю ядер. На нашу думку підтримання кількості гепатоцитів з функціонально активними ядрами на необхідному рівні, поруч із зростанням кількості клітин з неактивними ядрами виснажує функціональні резерви популяції гепатоцитів, що потребує її відновлення. Механізмом відновлення може бути зростання мітотичної активності гепатоцитів у  $\gamma$ -опромінених щурів порівняно зі стресураженими.

Таким чином, виснаження енергетичних ресурсів на стадії хронічного стресу може бути пов'язане з використанням макроергів на процеси життєдіяльності, можуть бути викликані пошкодженням мембран клітин, органел. На користь останнього свідчить більший відсоток гемолізу еритроцитів при додаванні перекису водню.

У  $\gamma$ -опромінених щурів посилення вільнорадикального окислення менш потужне і завдає меншої шкоди. Але пошкодження генетичного апарату клітин, зокрема за рахунок безпосередньої взаємодії з  $\gamma$ -квантами потребує відновлення популяції клітин за рахунок репарації накопичених пошкоджень, зростання мітотичної активності. Необхідно враховувати і енергетичні затрати на елімінацію клітин з порушеннями мітозу, а також клітин в яких запущені механізми апоптозу і які, що можна стверджувати з високою долею ймовірності, приймають участь в формуванні групи гепатоцитів з низькою функціональною активністю ядер. Наведене, на нашу думку, є поясненням виснаження енергетичних ресурсів у  $\gamma$ -опромінених щурів зіставне з таким у щурів на стадії виснаження хронічного стресу.

Отже, впливові фракційного  $\gamma$ -опромінення і хронічного стресу притаманні спільні ланки патогенезу, але існують і суттєві відмінності. Це необхідно враховувати при розробці засобів профілактики їх негативного впливу, особливо їх поєднаної дії. Виходячи з цього на наступному етапі роботи дослідили поєднаний вплив фракційного  $\gamma$ -опромінення малими дозами та відтворення хронічного емоційно-больового стресу.

Встановлено, що  $\gamma$ -опромінення перед відтворенням хронічного стресу порушує перебіг загального адаптаційного синдрому [76, 111]. В першу чергу це виявлялося в змінах динаміці вмісту макроергичних сполук в печінці та еритроцитах, а також структурно-функціональних властивостей гепатоцитів на різних стадіях хронічного стресу. Виснаження енергетичних ресурсів гепатоцитів під час  $\gamma$ -опромінення зменшує можливості адаптації до дії хронічного стресу на початкових його стадіях. Найбільш показовим є недостатнє забезпечення макроергами стадії тривоги стресу. У  $\gamma$ -опроміненіх і стрес-уражених щурів не відбувалося такого ж інтенсивного зростання вмісту АТФ в печінці. Натомість зростав вміст АМФ. У стресуражених неопроміненіх тварин вміст АМФ залишався на рівні інтактних щурів на стадії тривоги та резистентності (див. табл. 3.4 та 3.7).

Зростання вмісту АМФ в печінці може мати дві причини. По-перше посилюється катаболізм білків і утворення сечовини, продуктом цих біохімічних перетворень є АМФ. Другою причиною може бути активація жирних кислот для їх подальшого окислення з метою отримання додаткових енергетичних ресурсів, нестачу яких демонструє вміст АТФ на стадії тривоги.

Важливим є і порушення забезпечення макроергами тканин печінки і на стадії резистентності стресу  $\gamma$ -опроміненіх і стрес-уражених щурів. У стресуражених неопроміненіх щурів на стадії резистентності кількість АТФ зменшувалася, хоча залишалася більшою, ніж у інтактних щурів, а вміст АМФ та АДФ не зазнавав істотних зрушень порівняно зі стадією тривоги. Це демонструвало зменшення напруги пристосувальних процесів, адаптацію до



дії стресіндукуючого фактору. У  $\gamma$ -опромінених перед відтворенням стресу щурів на стадії резистентності спостерігали значно виразніше зменшення вмісту АТФ, по-перше. По-друге, паралельно з цим зменшувався вміст АДФ. У сукупності це свідчить, про посилене використання АТФ на потреби забезпечення різних шляхів метаболізму. Також, це свідчить про порушення відновлення АТФ із АДФ, і утилізацію останнього в умовах обмеження можливостей відновлення.

Нарешті, на стадії виснаження спостерігали подальше зростання АМФ, що свідчило про активацію катаболізму в першу чергу. Зменшення вмісту АДФ з різким зниженням вмісту АТФ свідчить про виснаження енергетичних ресурсів в печінці. На користь останнього свідчили і виснаження вмісту глікогену в гепатоцитах визначеного гістохімічно. Більш виразні порушення енергетичного обміну у  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів супроводжувалися і більш виразними змінами морфофункціональних властивостей гепатоцитів. Найбільш суттєвими відмінностями, на нашу думку, є значно більша кількість патологічних мітозів на всіх стадіях стресу; прогресуюче пригнічення мітотичної активності і збільшення кількості гепатоцитів з неактивними ядрами; нездатність забезпечити збільшення кількості гепатоцитів з ядрами з високою функціональною активністю на стадії резистентності хронічного стресу. Виявлені зрушення морфофункціональних властивостей гепатоцитів можуть бути пов'язані з виснаженням енергетичних ресурсів. З іншого боку, виявлені пошкодження потребують усунення, на що потрібні енергоресурси, що призводить до замкнення патологічного кола і максимальної виразності порушень на стадії виснаження хронічного стресу у завчасно  $\gamma$ -опромінених щурів.

Підсумовуючи вищенаведене, можна припустити, що загальна схема патогенезу поєднаної дії іонізуючої радіації та хронічного стресу має наступний вигляд (рис. 6.1). Фракційне  $\gamma$ -опромінення спричиняє пошкодження генетичного апарату, в даному випадку гепатоцитів.

Рис. 6.1 Механізми радіаційно- та стресіндукованих порушень енергетичного обміну і морфофункціональних властивостей гепатоцитів

Пошкодження накопичуються зі збільшенням сумарної дози  $\gamma$ -опромінення. Відображенням цього є зростання кількості патологічних мітозів і зменшення кількості гепатоцитів з високою функціональною активністю ядер. Репарація потребує енергетичних ресурсів, але їх відновлення виявляється обмеженим внаслідок пригнічення функціональної активності ядер гепатоцитів. Додатковим фактором погіршення морфофункціональних властивостей гепатоцитів є радіаційно-індукована активація вільнорадикального окислення. Задля компенсації виявлених зрушень відбувалося зростання мітотичної активності гепатоцитів, що також потребує енергетичних ресурсів. Отже в сукупності спостерігали виснаження вмісту макроергів в печінці при накопиченні сумарної дози опромінення 1,0 Гр. За таких умов відтворення хронічного стресу спричиняє зрив адаптації. Адже, на стадії тривоги хронічного стресу у неопромінених щурів спостерігали пригнічення мітотичної активності гепатоцитів з метою запобігання ушкодження генетичного апарату і виникнення патології поділу клітин. Але ж, як наведено раніше, наприкінці опромінення зростала мітотична активність гепатоцитів. Отже при поєднаній дії двох факторів виникала потреба в двох різнонаправлених процесах. Потужність стресіндукуючого фактору переважала і мітотична активність пригнічувалася, що обмежувало можливості регенерації популяції гепатоцитів. Таке зіткнення необхідностей спричиняло зростання кількості патологічних мітозів.

Окрім зазначеного, відтворення хронічного стресу на стадії тривоги потребувало зростання енерговитрат спрямованих на адаптацію до дії агресивного фактору [221]. Але ці ресурси були обмежені процесами ініційованими впливом іонізуючої радіації. В результаті відбувалася сумація негативних впливів  $\gamma$ -опромінення і стресу. Як наслідок, на стадії резистентності вміст макроергічних сполук був мінімальним порівняно зі стресураженими неопроміненими щурами. Виснаження вмісту макроергічних сполук на третій стадії хронічного стресу було максимальним.

Не можна виключити, за таких умов, зменшення тривалості стадії резистентності хронічного стресу.

Таким чином фармакологічна корекція радіаційно- та стрес-індукованих порушень енергетичного обміну та морфофункціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів повинна бути спрямована на корекцію порушень забезпечення тканин макроергічними сполуками, а також попередження ушкодження генетичного апарату клітин, нормалізацію процесів регенерації. Виходячи з цього для експериментальної терапії запропонували і патогенетично обґрунтували комбінацію препаратів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну (див. розділ 2).

Дослідження ефективності застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти, тіотриазоліна та їх комбінації виявило більшу ефективність останньої. Ефективність комбінації препаратів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну може бути пояснена впливом на більшу кількість ланок енергетичного обміну. А саме вплив тіотриазоліну на перебіг лактат-дегідрогеназної реакції гліколізу та аспартат-малатну систему переносу відновлювальних еквівалентів від цитозольного НАДН в мітохондріальний матрикс. Вплив  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти на окислювальне декарбоксілювання пірвіноградної кислоти та перебіг циклу Кребса (рис. 6.2).

Так, тіотриазолін може попереджати утворення молочної кислоти з пірвіноградної в останній реакції гліколізу. Тим самим створюються умови для окислення пірвату в ацетил-КоА в окислювальному декарбоксілюванні пірвіноградної кислоти. На зазначеному етапі реалізуються ефекти  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти, яка в формі аміду входить до мультиферментної системи пірват-дегідрогеназного комплексу. Враховуючи високу реактивну здатність сульфгідрильних груп  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти, існує висока вірогідність їх окислення і інактивації при ініційованому радіацією і стресом вільнорадикальному окисленні. Наслідками цього може бути блокування утворення ацетил-КоА з пірвату і обмеження його надходження до циклу

трикарбонових кислот Кребса. Останнє зменшує кількість утворених молекул АТФ, що і спостерігали в тканинах печінки і еритроцитах  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів. В свою чергу надходження  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти, ймовірно, може розблокувати перебіг даної реакції, тим самим відновити надходження ацетил-КоА до циклу Кребса.

Наступною, вкрай важливою точкою впливу  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти є цикл Кребса, адже сам він є тим центром, де сходяться метаболічні шляхи перетворень вуглеводів, жирних кислот та амінокислот. Аналогічно піруват-дегідрогеназному комплексу, амід  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти входить до складу  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу, який каталізує четверту реакцію циклу Кребса – окислювальне декарбоксілювання  $\alpha$ -кетоглутарової кислоти з утворенням високоенергетичного з'єднання сукциніл-КоА.

Нарешті, на наступному етапі в дію знову вступає тіотриазолін. Тіотриазолін активує аспартат-малатний механізм, який сприяє доставці відновлюючих еквівалентів в матрикс мітохондрій, що сприяє тканинному диханню і утворенню молекул АТФ.

Таким чином, відбувається сумація ефектів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти і тіотриазоліну, що забезпечує більшу ефективність комбінації цих препаратів порівняно з монотерапією.

Щодо відмінностей між ефективністю монотерапії препаратами  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну, слід зазначити наступне. На стадії тривоги хронічного стресу  $\alpha$ -ліпоєва кислота попереджає зростання вмісту АТФ та зменшення вмісту АДФ та АТФ в тканинах печінки, порівняно з нелікованими радіаційно- та стрес ураженими тваринами. Тіотриазолін не спричиняє статистично достовірних зрушень. Це може бути пояснено необхідністю певного часу для реалізації ефектів тіотриазоліну.

На стадії резистентності та виснаження кількісно та за напрямком ефект монотерапії  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою та тіотриазоліном зіставні.

Рис. 6.2. Механізм сумачії ефектів комбінації препаратів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну при лікуванні радіаційно- та стрес-індукованих порушень енергетичного обміну

В свою чергу в еритроцитах тіотриазолін не виявив ефективності попереджати порушення енергетичного обміну на стадії тривоги та резистентності хронічного стресу. На відміну від тіотриазоліну,  $\alpha$ -ліпоєва кислота забезпечувала більший вміст АДФ та АТФ в еритроцитах на стадії резистентності хронічного стресу. На стадії резистентності та виснаження хронічного стресу комбінація препаратів виявилася більш ефективною, ніж монотерапія. Виявлені зрушення свідчать про те, що  $\alpha$ -ліпоєва кислота здатна попереджати порушення енергетичного обміну більш оперативно, ніж тіотриазолін і на рівні всього організму. Ефективність тіотриазоліну на рівні організму менша. Менш виразні загальні ефекти тіотриазоліну порівняно з  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою підтверджуються і змінами перекісної резистентності еритроцитів. Тіотриазолін лише на стадії виснаження попереджає зменшення перекісної резистентності еритроцитів, в той час, як  $\alpha$ -ліпоєва кислота попереджає вільнорадикальне ушкодження еритроцитів ще на стадії тривоги.

Розбіжності в ефектах  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти і тіотриазоліну можуть бути пояснені наступним: на початку дії стресіндукуючого фактору тканини насичені киснем на належному рівні, тому перебіг лактат-дегідрогеназної реакції гліколізу має мінімальну швидкість. За цих умов відсутня потреба в дії тіотриазоліну на перебіг цієї реакції. Більш необхідним на даному етапі є попередження вільнорадикального ушкодження тканин, клітин, генетичного апарату, метаболічних систем. Тобто більш важливими є ефекти  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти, яка зазначеними вище шляхами, сприяє синтезу та подальшим метаболічним перетворенням ацетил-КоА. Таким чином синтезується АТФ, необхідна для пристосування організму до хронічної дії стрес-індукуючого фактору і переходу організму зі стадії тривоги до стадії резистентності стресу. Тому, на початкових етапах ефективність монотерапії  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою вища, ніж тіотриазоліном. Надалі їх ефективність вирівнюється і на стадії виснаження тіотриазолін за деякими показниками більш ефективний. На нашу думку, це пов'язано з розвитком гіпоксії в тканинах, виснаженням енергетичних ресурсів. За таких умов активізується перебіг реакції

перетворення пірувату в лактат в гліколізі. Останнє має негативні наслідки, адже анаеробний гліколіз менш ефективний в плані утворення АТФ. Накопичення лактату спричиняє ацидоз і головне те, що зменшується кількість пірувату. За таких умов, важливим є властивість тіотриазоліну пригнічувати зазначену реакцію. Менша ефективність монотерапії  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою пов'язана з наростанням кількості вільних радикалів і введеної дози препарату недостатньо для їх нейтралізації. Отже, проведеними дослідженнями доведено, що комбінація  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну більш ефективно нормалізує енергетичний обмін в печінці та еритроцитах, ніж монотерапія зазначеними препаратами.

Як зазначено вище, порушення вмісту аденілових нуклеотидів супроводжується порушеннями морфофункціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів, зазнає зрушень кінетика клітинних популяцій при поєднаній дії  $\gamma$ -опромінення та стресу. Отже, препарати обрані для досліджень повинні попереджати зазначені зрушення. Дійсно, проведеними дослідженнями вперше виявлені властивості комбінації препаратів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну попереджати порушення кінетики клітинних популяцій. У випадку монотерапії більш ефективною виявилася  $\alpha$ -ліпоєва кислота, ніж тіотриазолін. Але знову ж таки ефективність проявляється у тіотриазоліну пізніше, ніж у  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти і менш виражена на стадії тривоги та резистентності хронічного стресу.

Найбільш ймовірно, ефективність  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти пов'язана з її здатністю попереджати пошкодження ДНК [169, 196]. Оскільки  $\alpha$ -ліпоєва кислота функціонує як у мембрані, так і в водному середовищі, вона здатна запобігати пошкодженню ДНК синглетним киснем та іншими активними формами кисню, та вільними радикалами [56]. Особливо це важливо при реалізації негативних ефектів  $\gamma$ -опромінення. На нашу думку дія тіотриазоліну має допоміжний, опосередкований характер в плані захисту генетичного апарату від вільнорадикального ушкодження. Так тіотриазолін здатен нормалізувати активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в



пентозофосатному шляху окислення вуглеводів, який, окрім іншого, поставляє пентозофосфати для синтезу нуклеїнових кислот. Нарешті важливими є мембранопротекторні властивості тіотриазоліну, адже мембрани теж є мішенню для впливу іонізуючого випромінювання.

Привертають увагу різні за направленістю зміни мітотичної активності та кількості патологічних мітозів на фоні монотерапії  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою та тіотриазоліном. Спершу слід зазначити, що у нелікованих тварин поступово зменшується мітотична активність гепатоцитів і зростає кількість патологічних мітозів з максимумом на стадії виснаження хронічного стресу. Застосування тіотриазоліну зменшує пригнічення мітотичної активності гепатоцитів і зростання кількості патологічних мітозів на стадії виснаження хронічного стресу, але напрямок зрушень такий же, як у нелікованих щурів. На відміну від тіотриазоліну,  $\alpha$ -ліпоєва кислота стабілізує мітотичну активність на певному рівні, що супроводжувалося меншою кількістю патологічних мітозів. Ймовірно  $\alpha$ -ліпоєва кислота попереджає ушкодження ДНК.

Сумація ефектів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну при застосуванні їх комбінації наближає зміни мітотичної активності до таких у стрес уражених щурів, які не зазнали завчасного  $\gamma$ -опромінення. Тобто наближає динаміку змін мітотичної активності до таких при перебігу загального адаптаційного синдрому. А саме, пригнічення мітотичної активності на стадії тривоги хронічного стресу з метою запобігання патології поділу, подальше зростання мітотичної активності на стадії резистентності з метою відновлення і репарації ушкоджень. Нарешті пригнічення на стадії виснаження хронічного стресу, з одного боку в зв'язку з виснаженням ресурсів, зменшення поділу, з іншого – в умовах активації вільно радикального окислення запобігання патології клітинного поділу. Нормалізація реакції гепатоцитів на тривалий вплив стресіндукуючих факторів сприяє мінімальній кількості патологічних мітозів, порівняно з нелікованими тваринами. Тобто узагальнюючи вищенаведені факти, можна

відобразити схематично спільні та відмінні риси ефективності  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну.

Відомо, що іонізуюча радіація в малих дозах може викликати нелетальні пошкодження генетичного апарату, які можуть бути успадковані [95]. У ссавців, попередники яких зазнали тривалої дії іонізуючої радіації виявлені зміни адаптації до дії несприятливих факторів довкілля [146]. Але механізми цих порушень достеменно невідомі, що унеможливорює розробку ефективних профілактичних заходів. Враховуючи ключову роль енергетичного обміну в адаптації до дії несприятливих факторів довкілля [45], за необхідне вважали дослідити особливості вмісту макроергічних сполук в печінці на різних етапах постнатального онтогенезу потомства  $\gamma$ -опромінених та стресуражених щурів, а також у статевозрілих потомків при відтворенні хронічного емоційно-больового стресу. При плануванні досліджень вважали, що така постановка експерименту дозволить запропонувати заходи спрямовані на попередження виникнення розладів перебігу загального адаптаційного синдрому у потомства  $\gamma$ -опромінених і стресуражених щурів.

В результаті проведених досліджень були з'ясовані особливості енергетичного обміну в печінці та структурно-функціональні особливості гепатоцитів та еритроцитів у потомства  $\gamma$ -опромінених та стресуражених щурів (див. розділ 4).

Виявлені відмінності динаміки вікових змін вмісту макроергічних сполук в тканинах печінки ставлять два принципових питання: причини, які лежать в основі цих відмінностей і наслідки для розвитку нащадків  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів. Щодо останнього питання, то на нашу думку, в першу чергу має значення недостатній вміст АТФ в тканинах печінки на другу, чотирнадцяту, тридцяту добу після народження, що свідчить про недостатнє енергозабезпечення організму в період новонародженості, статевого дозрівання. Не виключено, що це може призвести до виникнення захворювань, загибелі щурят в перші дні після

народження, виникнення гормональних дисфункцій, порушень в статевому дозріванні, що в свою чергу може негативно відобразитись на репродуктивній функції нащадків  $\gamma$ -опромінених щурів. Але найбільш загрозливим, на нашу думку, є порівняно повільне зростання вмісту АТФ в період з другої доби життя по третій місяць, що може вказувати на функціональну неспроможність метаболічних систем організму, які відповідають за підтримання вмісту АТФ в клітинах на належному рівні.

Виявлені зрушення свідчили про підвищене використання АТФ, або про порушення однієї, або декількох ланок енергетичного обміну, пов'язаних можливо з спадковими дефектами одного з ферментів-каталізаторів. Але, в такому випадку, на нашу думку, мало б місце прогресуюче порушення енергетичного обміну з прогресуючим виснаженням вмісту в тканинах макроергів, причому на ранніх етапах постнатального онтогенезу.

Тому, більш вірогідним є виникнення радіаційно-індукованої нестабільності геному у потомства радіаційно- та стресуражених щурів, яка фенотипічно проявляється функціональними розладами. Останнє, на нашу думку, потребує більших енерговитрат. Що до результатів отриманих в роботі, то показовими є зміни функціональної активності гепатоцитів потомства  $\gamma$ -опромінених та стресуражених щурів, особливо виражені під час фізіологічних навантажень та у літніх щурів (див. табл. 4.7). В ці періоди значно збільшувалася кількість гепатоцитів з низькою активністю ядер. Отже для підтримання функціонування печінки залучена менша кількість гепатоцитів, вони працюють з більшою напругою, тому потребують більших витрат енергії АТФ. З іншого боку, зменшена кількість гепатоцитів з високою функціональною активністю обмежує відновлення резервів макроергичних сполук. Таким чином патологічне коло замикається.

Нарешті, на користь наявності у щурів нестабільності геному свідчить підвищена кількість патологічних мітозів гепатоцитів у потомства  $\gamma$ -опромінених та стресуражених щурів на всіх етапах постнатального онтогенезу.

Застосування комбінації препаратів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну зменшувало кількість тварин з нестабільністю геному в потомстві  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів. В разі, якщо нестабільність зберігалась, то її прояви у потомства були меншими. У зазначених тварин перебіг загального адаптаційного синдрому при тривалій дії стресіндукуючого фактору наближався до такого у потомства інтактних щурів. Механізм ефективності зазначеної комбінації препаратів може полягати в наступному.  $\alpha$ -ліпоєва кислота попереджає вільнорадикальне ушкодження ДНК, за рахунок антиоксидантних властивостей. Сумація ефектів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну, як наведено вище, протидіє порушенням вмісту макроергічних сполук в тканинах, що забезпечує належне забезпечення функціонування метаболічних систем. Нарешті гепатопротекторні властивості препаратів забезпечує активацію власних захисних систем організму. У сукупності це зменшує вірогідність ушкодження статевих клітин, сприяє репарації ушкоджень в разі їх виникнення, що і зменшує ризик виникнення нестабільності геному у потомства  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів..

Логічним, в такому випадку, припустити, що у потомства  $\gamma$ -опромінених та стресуражених щурів виявлені зрушення енергетичного обміну та структурно-функціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів є причиною порушення адаптації до дії несприятливих факторів виявлені в роботах інших дослідників. Отже у тварин отриманих від  $\gamma$ -опромінених та стрес-уражених щурів відтворювали хронічний емоційно-больовий стрес. В результаті проведених досліджень доведено, що у таких тварин порушувався перебіг загального адаптаційного синдрому, що виявлялося більш виразним зменшенням вмісту макроергів в тканинах печінки, еритроцитах, зменшенням перекисної резистентності еритроцитів, пригніченням функціональної активності ядер гепатоцитів, їх мітотичної активності. За таких умов за необхідне вважали оцінити ефективність запропонованої

експериментальної терапії при відтворенні хронічного стресу у статевозрілих щурів, отриманих від  $\gamma$ - опромінених та стрес-уражених тварин. В результаті проведених досліджень підтверджена ефективність комбінації препаратів  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну зменшувати виразність порушень вмісту макроергічних сполук в тканинах печінки та еритроцитах, а також морфофункціональних властивостей гепатоцитів та еритроцитів у таких тварин.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено нове розв'язання актуального наукового завдання фармакології — медикаментозної профілактики та корекції стресіндукованих і пострадіаційних розладів біоенергетичних процесів, морфофункціональних властивостей тканин печінки шляхом комплексного застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну, що дозволило розробити новий спосіб профілактики порушень морфофункціональних властивостей тканин печінки в онтогенезі нащадків  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених тварин.

1. Фракційне  $\gamma$ -опромінення сумарною дозою 1,0 Гр перед відтворенням хронічного емоційно-больового стресу порушує перебіг загального адаптаційного синдрому, що виявляється в більш інтенсивному зменшенні в тканинах печінки вмісту АТФ і АДФ, кількості ядер з високою функціональною активністю, більш виразними порушеннями мітотичної активності гепатоцитів, ніж у тварин, у яких моделювали хронічний стрес без попереднього  $\gamma$ -опромінення.

2. У нащадків  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів у постнатальному онтогенезі порушуються енергетичний обмін у печінці й еритроцитах і кінетика клітинних популяцій гепатоцитів. Зазнає змін перебіг загального адаптаційного синдрому при відтворенні стресу, що виявляється менш інтенсивним зростанням вмісту АТФ на стадії тривоги хронічного стресу і більш інтенсивним зменшенням кількості АТФ на стадії виснаження, ніж при відтворенні хронічного стресу у нащадків інтактних щурів. На стадії виснаження хронічного стресу кількість гепатоцитів з ядрами з високою активністю була меншою на 15,9 %, з неактивними — на 62,1 % більшою, при цьому на 24,8 % пригнічувалася мітотична активність і втричі зростала кількість фігур патологічних мітозів, ніж при відтворенні хронічного стресу у нащадків інтактних щурів ( $p < 0,05$ ).

3. Поєднане застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти і тіотриазоліну запобігає

порушенню енергетичного обміну та морфофункціональних властивостей гепатоцитів і еритроцитів у  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів більш ефективно, ніж експериментальна монотерапія  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою або тіотриазоліном. Комплексне застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти по 7,5 мг/кг маси тіла на добу, тіотриазоліну по 9,0 мг/кг маси тіла на добу щодня з 1-ї доби відтворення стресу забезпечує більш високий вміст АТФ у печінці й еритроцитах, ніж при монотерапії. На стадії виснаження хронічного стресу кількість гепатоцитів з низькою функціональною активністю ядер була меншою на 65,7 та 20,2 %, перекисна резистентність еритроцитів вищою на 47,1 і 73,8 %, ніж при монотерапії  $\alpha$ -ліпоєвою кислотою і тіотриазоліном відповідно ( $p < 0,05$ ).

4. Експериментально доведена ефективність комбінованого застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти по 7,5 мг/кг маси тіла на добу та тіотриазоліну по 9,0 мг/кг маси тіла на добу перед спарюванням для профілактики виникнення нестабільності геному та її передачі в поколіннях радіаційно- та стрес-уражених щурів, що виявляється зменшенням кількості тварин з нестабільністю геному в першому поколінні, отриманому від  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених щурів, на 37,0 % порівняно з нащадками нелікованих тварин ( $p < 0,05$ ).

5. Застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти по 7,5 мг/кг маси тіла на добу та тіотриазоліну по 9,0 мг/кг маси тіла на добу під час  $\gamma$ -опромінення і відтворення хронічного емоційно-больового стресу перед спарюванням запобігає порушенню енергетичного обміну та морфогенезу тканин печінки у нащадків уражених щурів. Це виявляється збільшенням вмісту АТФ (максимально — в 1,3 разу), більшою кількістю гепатоцитів з високою функціональною активністю ядер (максимально — на 34,7 %) на всіх досліджуваних етапах постнатального онтогенезу порівняно з нащадками, отриманими від радіаційно- та стрес-уражених щурів, у яких не застосовували  $\alpha$ -ліпоєву кислоту та тіотриазолін ( $p < 0,05$ ).

6. Експериментально доведена ефективність комбінованого застосування  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти та тіотриазоліну запобігати порушенню енергетичного обміну та морфофункціональних властивостей гепатоцитів і еритроцитів при відтворенні хронічного стресу у щурів, отриманих від  $\gamma$ -опромінених і стрес-уражених тварин. На фоні експериментальної терапії, порівняно з нелікованими тваринами, тканини печінки й еритроцити містили більше АДФ і АТФ на всіх стадіях хронічного стресу, кількість патологічних мітозів та гепатоцитів з функціонально неактивними ядрами на стадії виснаження була меншою в 4,6 та 2,3 разу відповідно, перекисна резистентність еритроцитів була вищою на 49,1 % ( $p < 0,05$ ).



## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Петриченко О.О. Соціальне самопочуття як індикатор ставлення населення радіоактивно забруднених та умовно чистих територій до умов і якості життя у віддалений період після Чорнобильської катастрофи / О.О. Петриченко // УРЖ. – 2010. – № 18. – С. 372-378.
2. Кашкалда Д.А. Нарушения окислительного гомеостаза у потомков ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС / Кашкалда Д.А., Бориско Г.А. // I конгресс Российского общества школьной и университетской медицины и здоровья: материалы. – М., 2008. – С. 76-77.
3. Коренєв М.М. Функціональний стан серцево-судинної системи в підлітків 16-18 років, які народилися від батьків-ліквідаторів аварії на ЧАЕС / Коренєв М.М., Костенко Т.О., Бориско Г.О. та ін. // УРЖ. – 2009. - № 1. – С. 299-302.
4. Барабой В.А. Биоантиоксиданты / Барабой В.А. – К.: Книга плюс, 2006. – 462 с.
5. Greenberger J.S. Radioprotection / J.S. Greenberger // In Vivo. – 2009. – № 2. – P. 323-336.
6. Weiss J.F. History and development of radiation-protective agents / J.F. Weiss, M.R. Landauer // Int. J. Radiat. Biol. – 2009. – № 7. – P. 539-573.
7. Richardson R.B. Ionizing radiation and aging: rejuvenating an old idea / R.B. Richardson // Aging. – 2009. – № 1. – P. 887-902.
8. Schonfeld S.J. Polymorphisms in oxidative stress and inflammation pathway genes, low-dose ionizing radiation, and the risk of breast cancer among US radiologic technologists // Schonfeld S.J., Bhatti P., Brown E.E. et al. / Cancer Causes Control. – 2010. – № 4. – P. 243-248.
9. Review and meta-analysis of epidemiological associations between low/moderate doses of ionizing radiation and circulatory disease risks, and their possible mechanisms / Little M.P., Tawn E.J., Tzoulaki I. et al. // Radiat. Environ. Biophys. – 2010. – № 2. – P. 139-153.

10. Systematic review of epidemiological associations between low and moderate doses of ionizing radiation and late cardiovascular effects, and their possible mechanisms / Little, M. P., Tawn, E. J., Tzoulaki, I. at all. // *Radiat. res.* – 2008. – № 1. – P. 99-109.
11. Johnstone S.E. Stress and the epigenetic landscape: a link to the pathobiology of human diseases? / S.E. Johnstone, S.B. Baylin // *Nat Rev Genet.* 2010 Oct 5. [Epub ahead of print
12. Limón-Pacheco J. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress / J. Limón-Pacheco, M.E. Gonshebb // *Mutat. Res.* – 2009. – № 1-2. – P. 137-147.
13. A new paradigm in radioadaptive response developing from microbeam research / H. Matsumoto, M. Tomita, K. Otsuka, M. Hatashita // *J. Radiat. Res.* – 2009. – Vol. 50, Suppl. A. – P. 67-79.
14. Pharmacological agents for the prevention and treatment of toxic radiation exposure in spaceflight / J. Langell, R. Jennings, J. Clark, J.B. Jr. Ward // *Aviat. Space Environ. Med.* – 2008. – № 7. – P. 651-660.
15. Гриневич Ю.А., Демина С.А. Иммунные и цитогенетические эффекты плотно- и редкоионизирующих злучений. – К.: Здоров'я, 2006. – 200 с.
16. Saugstad O.D. Oxygen and oxidative stress in bronchopulmonary dysplasia / O.D. Saugstad // *J Perinat Med.* – 2010. – № 3. – P. 132-135.
17. Prenatal stress exposure related to maternal bereavement and risk of childhood overweight / Li J., Olsen J., Vestergaard M. at all. // *PLoS. One.* – 2010. – № 7 – P. 11896.
18. Low C.A. Psychosocial factors in the development of heart disease in women: current research and future directions / C.A. Low, R.C. Thurston, K.A. Matthews // *Psychosom. Med.* – 2010. – № 3. – P. 23-29.
19. Community perspectives: mixed-methods investigation of culture, stress, resilience, and health / Abdou C.M., Schetter C.D., Jones F. at all. // *Ethn. Dis.* – 2010. – №1, Suppl. 2. – P. 41-48.

20. Li J. Prenatal stress and risk of febrile seizures in children: a nationwide longitudinal study in Denmark / Li J., Olsen J., Obel C. et al. // *J Autism Dev Disord.* – 2009. – № 7. – P. 1047-1052.

21. Гасанов А.А. Захворюваність та поширеність хронічного гепатиту серед постраждалих внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС / А.А. Гасанов, О.М. Коваленко // *Український медичинський часопис.* - 2007. – № 3. – С. 98-101.

22. Mulroney S.E. Introduction: The co-morbidity of stress and disease: effects of chronic stress on metabolism, cardiovascular disease and behavior / S.E. Mulroney, Y. Taché // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* – 2010. – № 10. – P. 1149-1160.

23. Stress (Tako-Tsubo) Cardiomyopathy Following Radiofrequency Ablation of a Liver Tumor: A Case Report / I. Joo et al. // *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* – 2010. – № 8. – P. 1057-1066.

24. Radiation induced stress proteins / M. Gehrman, D. Schilling, M. Molls, G. Multhoff // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* – 2010. – № 8. – P. 492-493.

25. Захлебаєва В.В. Зміни структури печінкових клітин під впливом іонізуючої радіації / В.В. Захлебаєва. // *Український морфологічний альманах.* – 2005. – Т. 3, № 1. – С. 19-21.

25. McEwen B.S. The role of corticosteroids and stress in chronic pain conditions / B.S. McEwen, M. Kalia // *Metabolism.* – 2010. – № 59 – 69-75.

26. Роль антиоксидантного статусу в формуванні наслідків біологічного дії низькоінтенсивного випромінювання в малій дозі / Л.Н. Шишкіна, Е.В. Кушнірева, О.Ф. Беспалько, Н.В. Полякова. // *Радіаційна біологія. Радіоекологія.* – 2000. – Т. 40, № 2. – С. 162-167.

27. Tomruk A. The influence of 1800 MHz GSM-like signals on hepatic oxidative DNA and lipid damage in nonpregnant, pregnant, and newly born rabbits / A. Tomruk, G. Guler, A.S. Dincel. // *Cell Biochem. Biophys.* – 2010. - № 1. – P. 39-47.

28. Human augments liver regeneration is important for hepatoma cell viability and resistance to radiation-induced oxidative stress / Y. Cao et al. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2009. – № 7. – P. 1057- 1068.
29. Rasina LN. The metabolic homeostasis of the small mammals in the conditions of the East Ural radioactive trace / L.N. Rasina, N.A. Orekhova // *Radiat. Biol. Radioecol.* – 2009. – № 2. – P. 238-245.
30. Rapozzi V. Evidence that photoactivated pheophorbide a causes in human cancer cells a photodynamic effect involving lipid peroxidation / V. Rapozzi, M. Miculan, L.E. Xodo // *Cancer Biol. Ther.* – 2009. - № 14. – P. 1318-1327.
31. Doi H. Salicylic acid-induced hepatotoxicity triggered by oxidative stress / H. Doi, T. Horie // *Chem. Biol. Interact.* – 2010. – № 3. – P. 363-368.
32. Seyan AS. Changing face of hepatic encephalopathy: role of inflammation and oxidative stress / A.S. Seyan, R.D. Hughes, D.L. Shawcross // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – № 27. – P. 3347-3357.
33. An experimental research on chronic intermittent hypoxia leading to liver injury / S.Z. Feng et al. // *Sleep Breath.* – 2010. – № 10. – P. 1149-1160.
34. Liver fibrosis :a dynamic and potentially reversible process. / Povero D. et al. // *Histol. Histopathol.* – 2010 – № 8.– P. 1075-1091.
35. Резніков О.Г. Ганс Сельє и Концепція стресу (до сторіччя з дня народження) / О.Г. Резніков // *Журнал АМН України.* – 2007 – № 1. – С. 175-183.
36. Melchers A. A systematic proteomic study of irradiated DNA repair deficient Nbn-mice / A. Melchers et al. // *PLoS One* – 2009.– № 5. – P. 5415-5423.
37. Chandrasekharan D.K. Radiation protection by 6-palmitoyl ascorbic acid-2-glucoside: studies on DNA damage in vitro, ex vivo, in vivo and oxidative stress in vivo / D.K. Chandrasekharan, T.V. Kagiya, C.K. Nair // *J. Radiat. Res.* – 2009. – № 3.– P. 203-212.

38. Switch from inhibition to activation of the mitochondrial permeability transition during hematoporphyrin-mediated photooxidative stress. Unmasking pore-regulating external thiols / V. Petronilli et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – № 7.– P. 897-904.

39. Effects of low-level light therapy on hepatic antioxidant defense in acute and chronic diabetic rats / J. Lim et al. // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2009. – № 1. – P. 45-60.

40. Zhao W. Inflammation and chronic oxidative stress in radiation-induced late normal tissue injury: therapeutic implications / W. Zhao, M.E. Robbins // *Curr. Med. Chem.* – 2009.– № 2.– P. 130-143.

41. The effect of N-acetylcysteine on biomarkers for radiation-induced oxidative damage in a rat model / S. Kilciksiz et al. // *Acta Med. Okayama* – 2008. – № 6. – P. 403-409.

42. Identifying patients at risk for late radiation-induced toxicity / D. Azria et al. // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2010. – №7. – P. 312-321.

43. Azria D. Factors of late radiosensitivity of normal tissues / D. Azria, Y. Pointreau, A. Toledano, M. Ozsahin // *Cancer Radiother.* – 2010.– № 4-5.– P. 250-254.

44. The response of human cancer stem cells on low-dose X-ray exposure / A.V. Ermakov et al. // *Radiats. Biol. Radioecol.* – 2009. – № 5. – P. 528-537.

45. Variations in radiosensitivity among individuals: a potential impact on risk assessment. / T.A. Kato et al. // *Health Phys.* – 2009. – № 5.– P. 470-480.

46. Study of the genetic instability in generations of mice irradiated of a low-dose rate of high-LET radiation / S.I. Zaichkina et al. // *Radiats. Biol. Radioecol.* – 2009.– № 1.– P. 55-59.

47. Triapitsyna N.V. Polymorphism of DNA fragments flanked by microsatellite loci (ISSR-PCR) in cattle reproduced under low-dose irradiation conditions / N.V. Triapitsyna, V.I. Glazko // *Tsitol. Genet.* – 2005.– № 5.– P. 41-50.

48. Modulation of lens epithelial cell proliferation by enhanced prostaglandin synthesis after UVB exposure. / U.P. Andley et al. // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1994. – № 2. – P. 374-81.
49. Still Two-generation reproductive toxicity study of implanted depleted uranium (DU) in CD rats / D.P. Arfsten et al. // *J. Toxicol. Environ. Health* – 2009. – № 6. – P. 410-427.
50. Sherman M.H. AID-induced genotoxic stress promotes B cell differentiation in the germinal center via ATM and LKB1 signaling / M.H. Sherman et al. // *Mol. Cell.* – 2010. – № 6. – P. 873-885.
51. Яковлева Л.В. Оцінка стресс-протективної активності нових фармакологічних засобів адаптогенної дії на моделі гострого та мобілізаційного стресу / Л.В. Яковлева, О.Я Міщенко // *Вісник фармації.* – 2006. – № 2 (46). – С. 60-63.
52. Нагієв Е.Р. Зміни вмісту уридилових нуклеотидів і глікогену в тканинах тварин при дії іонізуючої радіації і фізичного навантаження та деякі шляхи її корекції / Е.Р. Нагієв. // *Український Радіологічний Журнал.* – 1994. – № 2. – С. 103-106.
53. Plasma protein oxidation and its correlation with antioxidant potential during human aging / K.B. Pandey, M.M. Mehdi, P.K. Maurya, S.I. Rizvi // *Dis. Markers.* – 2010. – № 1. – P. 31-36.
54. Гичев Ю.П. Роль печени в стрессорных реакциях организма / Ю.П. Гичев // *Журнал АМН Украины.* – 1990. – Т. 21, № 1. – С. 23-36.
55. Chin C.F. Safeguarding entry into mitosis: the antephasis checkpoint / C.F. Chin, F.M. Yeong // *Mol. Cell. Biol.* – 2010. – № 1. – P. 22-32.
56. Epigenomic stress response. Knockdown of DNA methyltransferase 1 triggers an intra-S-phase arrest of DNA replication and induction of stress response genes / S. Milutinovic, Q. Zhuang, A. Niveleau, M. Szyf // *J. Biol. Chem.* – 2003. – № 25. – P. 185-195.
57. Green C.M. When repair meets chromatin. First in series on chromatin dynamics / C.M. Green, G. Almouzni // *EMBO Rep.* – 2002. – № 1. – P. 28-33.

58. Apolipoprotein E modulates Alzheimer's Abeta (1-42)-induced oxidative damage to synaptosomes in an allele-specific manner / C.M. Lauderback et al. // *Brain Res.* – 2002. – № 1. – P. 90-97.

59. Van Dyke K. Oxidative nitrosative stresses trigger type I diabetes: preventable in streptozotocin rats and detectable in human disease. / K. Van Dyke // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2010. – № 1203. – P. 138-145.

60. Sazykina T.G. Manifestation of radiation effects in cold environment: data review and modeling / T.G. Sazykina, A.I. Kryshev. // *Radiat. Environ. Biophys.* – 2010. – № 9. – P. 55-59.

61. Effects of *Melissa officinalis* L. on oxidative status and DNA damage in subjects exposed to long-term low-dose ionizing radiation / A. Zeraatpishe et al. // *Toxicol. Ind. Health.* – 2010. – №8. – P. 324-330.

62. Delayed effects of exposure to a moderate radiation dose on transcription profiles in human primary fibroblasts / S.S. Mello et al. // *Environ. Mol. Mutagen.* – 2010. – №9 – P. 121-126.

63. Assessment of cytogenetic damage and oxidative stress in personnel occupationally exposed to the pulsed microwave radiation of marine radar equipment / V. Garaj-Vrhovac et al. // *Int. J. Hyg. Environ. Health.* – 2010. – №9 – P. 54-58.

64. Bystander Cell Death and Stress Response is Inhibited by the Radical Scavenger  $\alpha(1)$ -Microglobulin in Irradiated Cell Cultures / M.G. Olsson et al. // *Radiat Res.* – 2010. – №9 – P. 87-92.

65. Different oxidative stress response in keratinocytes and fibroblasts of reconstructed skin exposed to non extreme daily-ultraviolet radiation / C. Marionnet et al. // *PLoS One.* – 2010.–№ 10. – 68-73.

66. Девяткіна Т.О. Механізми ушкодження печінки при гострому стресі та їх попередження / Т.О. Девяткіна, Р.В, Луценко. // *Вісник стоматології.* – 2008. – №4 – С. 13-16.

67. Кургалюк Н.М. Стан мітохондріального дихання та окислювального фосфорилування у печінці білих щурів за умов

рентгенівського опромінення та введення  $\alpha$ -кетоглутарату натрію / Н.М. Кургалюк, О.В. Горинь. // Фізіол. журн. – 2000.- Т.46, № 5. – С. 67-73.

68. Abe K. Neuropeptide Y is a mediator of chronic vascular and metabolic maladaptations to stress and hypernutrition / K. Abe, L. Kuo, Z. Zukowska // *Exp. Biol. Med.* (Maywood). – 2010. – №10 – P. 238-241.

69. Cagampang F.R. Developmental origins of the metabolic syndrome: body clocks and stress responses / F.R. Cagampang, K.R. Poore, M.A. Hanson // *Brain Behav Immun.* – 2010.– №9 – P. 134-139.

70. Consequences of stress in the secretory pathway: the ER stress response and its role in the metabolic syndrome / M.L. Schröder et al. // *Methods Mol. Biol.* – 2010. – № 648 – P. 43-62.

71. Modification in oxidative stress, inflammation and lipoprotein assembly in response to hepatocyte nuclear factor 4 alpha knockdown in intestinal epithelial cells / V. Marcil et al. // *J. Biol. Chem.* – 2010 – №9 – P. 201-212.

72. Vickers A.E. Glutathione modulation and oxidative stress in human liver slices / A.E. Vickers, R.L. Fisher, J.R. Sinclair. // *Curr. Drug. Discov. Technol.* – 2010. – №3. – P. 154-69.

73. Hoene M. The stress response of the liver to physical exercise / M. Hoene, C. Weigert // *Exerc. Immunol. Rev.* – 2010. – № 16. – P. 163-83.

74. Malhi H. Hepatocyte death: a clear and present danger / H. Malhi., M.E. Guicciardi, G.J. Gores // *Physiol. Rev.* – 2010.– №7 – P. 1165-94.

75. Mal'tsev A.N. Effect of emotional painful stress on affinity of blood to oxygen, on the antioxidant system and physical properties of the hepatocyte microsomal membrane / A.N. Mal'tsev, A.A. Grekova, E.A. Kits // *Biomed. Khim.* – 2010. – № 3.– P. 360-72.

76. Comporti M. Ethanol-induced oxidative stress: basic knowledge / M. Comporti et al. // *Genes. Nutr.* – 2010.– № 2.– P. 101-109.

77. The toxic effect of thioacetamide on rat liver in vitro / P. Staňková et al. // *Toxicol. In. Vitro.*–2010.– №8 – P. 318-323.



78. Melatonin protects against tauro lithocholic-induced oxidative stress in rat liver / L. Fuentes-Broto et al. // *J. Cell. Biochem.* – 2010. – № 5. – P. 1219-1225.
79. In vivo hepatic oxidative stress because of carbon tetrachloride toxicity: protection by melatonin and pinoline / M. Aranda et al. // *J. Pineal. Res.* – 2010. – № 1. – P. 78-85.
80. Marengo B. DNA oxidative damage of neoplastic rat liver lesions / B. Marengo et al. // *B. Oncol. Rep.* – 2010. – № 5. – P. 1241-6.
81. Recombinant human mitochondrial transcription factor A stimulates mitochondrial biogenesis and ATP synthesis, improves motor function after MPTP, reduces oxidative stress and increases survival after endotoxin / R.R. Thomas et al. // *Mitochondrion.* – 2010. – №7 – P. 128-135.
82. Magnesium and aging / M. Barbagallo et al. // *Curr. Pharm. Des.* – 2010. – № 7. – P. 153-163.
83. Maillard reaction, mitochondria and oxidative stress, potential role of antioxidants / M. Edeas et al. // *Pathol. Biol. (Paris).* – 2010. – № 3. – P. 220-225.
84. AMP-activated protein kinase is essential for survival in chronic hypoxia / D.R. Borger et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2008. – № 2. – P. 230-234.
85. Proteomic alterations in progeny of irradiated human liver cells / Y.H. Zuo et al. // *J. Toxicol. Environ. Health. A.* – 2010. – № 7. – P. 520-528.
86. Stress (Tako-Tsubo) Cardiomyopathy Following Radiofrequency Ablation of a Liver Tumor: A Case Report / I. Joo, J.M. Lee, J.K. Han, B.I. Choi, E.A. Park // *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* – 2010. – №8. – P. 123-130.
87. Human augments liver regeneration is important for hepatoma cell viability and resistance to radiation-induced oxidative stress / Y. Cao et al. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2009. – № 1. – P. 1057-66.
88. Chandrasekharan D.K. Radiation protection by 6-palmitoyl ascorbic acid-2-glucoside: studies on DNA damage in vitro, ex vivo, in vivo and oxidative

stress in vivo / D.K. Chandrasekharan, T.V. Kagiya, C.K. Nair. // *J. Radiat. Res.* (Tokyo). – 2009. – № 3. – P. 203-12.

89. Hörtnagl P.H. Photo-oxidative stress in symbiotic and aposymbiotic strains of the ciliate *Paramecium bursaria* / P.H. Hörtnagl, R. Sommaruga. // *Photochem. Photobiol. Sci.*–2007.– № 8.– P. 233-240.

90. Menon S.G. A redox cycle within the cell cycle: ring in the old with the new / S.G. Menon, P.C. Goswami // *Oncogene*. – 2007. – № 8.– P. 1101-1109.

91. Regulation of nutrient metabolism and inflammation. / S. Kersten.et. al. // *Results. Probl. Cell. Differ.* – 2010. – № 52. – P. 113-125.

92. Hirota K. Transcriptional regulation of energy metabolism in the liver / K. Hirota, A. Fukamizu. // *J. Recept. Signal. Transduct. Res.* – 2010. – №7 – P. 231-238.

93. Харченко В.В. Природні біоантиоксиданти та печінка /В.В Харченко // *Сучасна гастроентерологія*. – 2007.– № 6 (38). – С. 79-85.

94. Dynamics and control of the central carbon metabolism in hepatoma cells / K. Maier, U. Hofmann, M. Reuss, K. Mauch // *BMC Syst. Biol.* – 2010.–№ 28.– P. 144-154.

95. Fülöp P. Patomechanisms of hepatic steatosis / P. Fülöp P, G Paragh // *Orv. Hetil.* – 2010.–№ 9. – P. 323-329.

96. Скворцов В.В. Peroxidация липидов и антиоксидантная система в гепатология / В.В. Скворцов. // *Современная гастроэнтерология* – 2009. – №5 – С. 98-110.

97. Copple B.L. Oxidative stress and the pathogenesis of cholestasis / B.L. Copple, H. Jaeschke, C.D. Klaassen. // *Semin. Liver. Dis.* – 2010.– № 2.– P. 195-204.

98. Gronowska-Senger A. Retinyl palmitate and oxidative stress reduction in rats / A. Gronowska-Senger, K. Burzykowska, M. Przepiórka // *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* – 2010. – № 1. – P 81-85.

99. Vasyl'kiv O.I. Comparative characteristic of lactate dehydrogenase properties from the white muscles and liver of goldfish (*Carassius auratus* L.) / O.I. Vasyl'kiv, V.I. Lushchak // *Ukr. Biokhim. Zh.* – 2010.– № 2.– P. 29-35.
100. Differential evaluation of hepatocyte apoptosis and necrosis in acute liver injury / M. Onodera, Y. Takikawa, K. Kakisaka, T. Wang // *Hepatol. Res.* – 2010. – №6. – P. 156-162.
101. Comparison of enhancement patterns of histologically confirmed hepatocellular carcinoma between gadoxetate- and ferucarbotran-enhanced magnetic resonance imaging / M. Okada et al. // *J. Magn. Reson. Imaging.* – 2010.–№ 4.– P. 903-913.
102. Assessing the impact of hepatitis C virus coinfection on lopinavir/ritonavir trough concentrations in HIV-infected patients / L. Calza. et al. // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2010. – №8 – P. 118-125.
103. Peyrou M. PTEN in liver diseases and cancer / M. Peyrou, L. Bourgoin, M. Foti // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – №37. – P. 4627-4633.
104. Карнозин и антиоксиданты природного происхождения как средства профилактики острого посленагрузочного окислительного стресса / Е.А. Рожкова et al. // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* – 2007. – № 5. – С. 35-48.
105. A. Pathological aspects of lipid peroxidation / A. Negre-Salvayre et al. // *Free Radic. Res.* – 2010.– № 10.– P. 1125-71.
106. Neuroprotective effects of resveratrol on ischemic injury mediated by improving brain energy metabolism and alleviating oxidative stress in rats / H. Li, Z. Yan, J. Zhu, J. Yang, J. He. // *Neuropharmacology.* – 2010.– №7 – P. 87-96.
107. Lee H.C. Somatic mutations of mitochondrial DNA in aging and cancer progression / H.C. Lee, C.M. Chang, C.W. Chi // *Ageing Res. Rev.* – 2010.– №8 – P. 124-132.
108. Mitochondrial involvement in drug-induced liver injury / D. Pessayre , A. Mansouri, A. Berson, B. Fromenty. // *Handb. Exp. Pharmacol.*– 2010. – № 196.– P. 311-365.

109. Пшеничные зародыши – перспективное сырье для получения лечебно-профилактических и питательных композиций радиопротекторного действия / Л.Г. Москаленко, Д. Гуменюк, Л.М. Согоконь, О.И. Данивич. // Фармацевтический журнал. – 1996. – № 2. – С. 25-36.

110. Бочков Н.П. Наследственность человека и мутагены внешней среды. / Н.П. Бочков, А.Н.Чеботарев. // Издательство “Медицина».– 1986. –№ 5 – С. 54-60.

111. Грицина И.В. Морфологическое основание метода мини-гамма-квантового облучения тканей / И.В. Грицина, В.П. Сулина. // Морфология.– 2008.- № 3.– С. 25-28.

112. Фурдичко Л.В. Смены параметров пероксидного окисления липидов в крови крыс под действием высоких доз ионизирующего излучения / Л.В. Фурдичко // Экспериментальная биология и биохимия. – 2007.– № 4. – С. 33-40.

113. Шкала Л.В. Дистрес-синдром як наслідок радіаційного впливу / Л.В. Шкала, О.В. Шкала. // Український медичний альманах. – 2002.– № 1. – С. 177-180.

114. Нагієв Е.Р. Зміни вмісту уридилових нуклеотидів і глікогену в тканинах тварин при дії іонізуючої радіації і фізичного навантаження та деякі шляхи його корекції / Е.Р.Нагієв // УРЖ. – 1994.– № 2.– С. 103-106.

115. Мардар Г.И. Морфофункціональні зміни печінки за дії рентгенівського випромінювання / Г.И. Мардар, С.В.Трибовська, Г.П. Савчук // УРЖ. – 1999. - № 5.– С. 95-109.

116. Изменение активности микросомальных цитохром-Р-450-зависимых монооксигеназ печени крыс под влиянием хронического действия малых доз радиации / Т.А. Золотарева, А.Ю. Гришанова, Л.Ф. Гуляева, В.В. Люхович // Укр. биохим. журн. – 1996. – № 3. – С. 39-47.

117. Влияние внешнего облучения различной интенсивности в дозе 1Гр на содержание ДНК,РНК и общего белка в семенниках и печени крыс /

Г.П. Верещако, А.М. Ходосовская, И.В. Буловацкая, Е.Ф. Конопля // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1999. – № 5. – С. 557-562.

118. Динамика структурных изменений в печени крыс после однократного воздействия  $\gamma$ -излучения / Л.Б. Заводник et al. // УРЖ. – 2003. – № 6. – С. 115-127.

119. Зміни структури мітохондріальних мембран печінки щурів за дії іонізуючої радіації / Н.Г. Міронова, В.І. Древаль, Л.В. Січевська, Ю.Ю. Марчук. // Український біохімічний журнал – 1999. – № 4. – С. 95-98.

120. Fujiyoshi M. Molecular mechanisms of liver regeneration and protection for treatment of liver dysfunction and diseases / M. Fujiyoshi, M. Ozaki // J. Hepatobiliary. Pancreat. Sci. – 2010. – №6 – P. 220-234.

121. Влияние малых доз радиации на содержание витаминов А и В в печени крыс / С.В. Четыркин et al. // Український біохімічний журнал – 1999. – № 2. – С. 38-42.

122. Костенко А.Г. Вплив поєднаної хронічної дії підвищених доз натрію фториду та іонізувального опромінення на антиоксидантний статус та енергетичний обмін у печінці тварин / А.Г. Костенко, А.В. Міщенко. // УРЖ.– 2001.– № 9.– С.413-417.

123. Барабой В.А. Фармакологічний захист від тривалої дії на організм іонізуючої радіації низької інтенсивності / В.А. Барабой, С.І. Ялкупт. // УРЖ.– 1994. – № 2. – С. 115-118.

124. Барабой В.А. Концепція фармакологічного захисту від хронічного радіаційного та екологічного стресу / В.А. Барабой, С.І.Ялкупт // Фармацевтичний журнал. – 1996. – № 2. – С. 19-24.

125. Бебешко В.Г. Радиопротекторы как средства минимизации последствий Чернобыльской катастрофы / В.Г.Бебешко, Д.А.Базыка. // Вісник фармакології та фармації. – 2006. – № 4. – С. 2-12.

126. Чекман И.С.. Радиация и растительные лекарственные средства / И.С.Чекман, Л.И.Казак И.Ю.Худецкий. // Фармакологічний вісник. – 2000. – № 5. – С. 12-15.

127. Загальні принципи пошуку шляхів фармакологічної корекції при опроміненні в малих дозах та інтенсивностях / В.А. Барабой, Н.О. Горчакова, С.А. Олійник, Ю.В. Хмелєвський // УРЖ. – 2004. – № 1. – С. 12-26.

128. Максютіна Н.П. Рослинні антиоксиданти та пектини в лікуванні та профілактиці променевого уражень і детоксикації організму. /Н.П. Максютіна, Л.Б. Пилипчук. // Фармацевтичний журнал. – 1996. – № 2. – С. 35-41.

129. Оболенцева Г.В. Лікарські та харчові рослини як засоби протирадіаційного захисту. / В.С. Оболенцева, В.П. Георгиевський, С.І. Дихтярьов, Л.П. Брюзгінова . // Фармацевтичний журнал. – 1996. – № 2. – С. 33-50.

130. Лукашин Б.П. Сравнительное изучение противолучевой эффективности различных доз цистамина, гепаторина и нафтизина в опытах на мышах / Б.П. Лукашин, А.Н. Гребенюк. // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2001.– № 3.– С. 310-312.

131. Зуєва Н.О. Обґрунтування застосування берлітіону для зменшення проявів метаболічного синдрому – варіанта мультифакторної патології у потерпілих внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС / Н.О. Зуєва, А.С. Єфімов. // Український медичний часопис. – 2002. – № 1 (27). – С. 135-138.

132. Горішна О.В. Зміни прооксидантно-антиоксидантної системи печінки в експерименті при дії тривалого фракційного гамма-опромінення в залежності від вікового аспекту / О.В. Горішна, О.І. Цебржинський, Б.М. Горішний // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2001.–№ 1. – С. 30-45.

133. Кудяшева А.Г. Состав фосфолипидов печени полевок-экономок, обитающих в разных радиоэкологических условиях / А.Г. Кудяшева // Украинский медицинский часопис. – 2000. – № 3. – С. 327-333.

134. Chandrasekharan D.K. Radiation protection by 6-palmitoyl ascorbic acid-2-glucoside: studies on DNA damage in vitro, ex vivo, in vivo and oxidative stress in vivo / D.K. Chandrasekharan, T.V. Kagiya, C.K. Nair. // J. Radiat. Res. (Tokyo). – 2009. – № 3.– P. 203-12.

135. Modification in oxidative stress, inflammation and lipoprotein assembly in response to hepatocyte nuclear factor 4 alpha knockdown in intestinal epithelial cells / V. Marcil et al. // *J. Biol. Chem.* – 2010. – № 4. – P. 27-40.

136. Liu W.H. Hepatocyte Proliferation During Liver Regeneration Is Impaired in Mice with Methionine Diet-Induced / W.H. Liu // *Am. J. Pathol.* – 2010. – № 2. – P. 39-50.

137. Danielsen P.H. Oxidative stress, inflammation and DNA damage in rats after intratracheal instillation or oral exposure to ambient air and wood smoke particulate matter / P.H. Danielsen // *Toxicol. Sci.* – 2010. – № 5. – P. 33-60.

138. Messarah M. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of selenium on arsenic-induced liver injury in rats / M. Messarah // *Exp. Toxicol. Pathol.* – 2010. – № 5. – P. 25-39.

139. Sun L.Y. Hepatic response to oxidative injury in long-lived Ames dwarf mice / L.Y. Sun // *FASEB J.* – 2010. – № 6. – P. 45-70.

140. Oxidative Stress and Apoptosis in Relation to Exposure to Magnetic Field / M. Emre et al. // *Cell Biochem. Biophys.* – 2010. – № 7. – P. 127-140.

141. Sahu S.C. Comparative hepatotoxicity of deoxynivalenol in rat, mouse and human liver cells in culture / S.C. Sahu, M.W. O'Donnell, P.L. Wiesenfeld // *J. Appl. Toxicol.* – 2010. – №6. – P. 566-573.

142. Paukov V.S. Hepatopathies in concomitance of chronic drug and alcoholic intoxications / V.S. Paukov, O.M. Ermakova, I.V. Kostornaia // *Arkh. Patol.* – 2008. – № 5. – P. 125-129.

143. Saratikov A.S. The efficacy of hepatoprotective agents in experimental chronic hepatitis / A.S. Saratikov, N.O. Baturina, V.S. Chuchalin // *Eksp. Klin. Farmakol.* – 1996. – № 1. – P. 84-90.

144. Podymova S.D. Fatty hepatosis. Non-alcoholic steatohepatitis (evolution of the knowledge about clinico-morphological features, prognosis, treatment) / S.D. Podymova // *Ter. Arkh.* – 2006. – № 4. – P. 78-88.

145. Martí Vicente A. Thorotrast-related hepatosis / A. Martí Vicente // *Rev. Esp. Enferm. Dig.* – 1993. – № 5. – P. 36-50.

146. Чубанов В.С. Функциональное взаимодействие компонентов аденилатциклазной системы печени крыс после пренатального воздействия  $\gamma$ -излучения / В.С. Чубанов. // Украинский медицинский часопис. – 1999. – № 4. – С. 394-398.

147. Bogojević D. Administration of rat acute-phase protein  $\alpha(2)$ -macroglobulin before total-body irradiation initiates cytoprotective mechanisms in the liver / D. Bogojević // Radiat. Environ. Biophys. – 2010.– № 5. – P. 79-85.

148. Zhu Y. MicroRNA-21 is involved in ionizing radiation-promoted liver carcinogenesis / Y. Zhu // Int. J. Clin. Exp. Med. – 2010. – № 3. – P. 211-222.

149. Li M.Y. Effect of NAD (+) against radiation injury and its dose-effect relationship / M.Y. Li // Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao. – 2010. – № 8.– P. 1787-1789.

150. Rastogi L. Protection against radiation-induced oxidative damage by an ethanolic extract of *Nigella sativa* L / L. Rastogi // Int. J. Radiat. Biol. – 2010.– № 9.– P. 719-731.

151. Gastaldelli A. Fatty liver disease: the hepatic manifestation of metabolic syndrome / A. Gastaldelli // Hypertens. Res. – 2010. – №6 – P. 546-547.

152. Михайлик В.В. Вивчення дсРНК-залежної протеїнкінази в лімфоцитах селезінки і тимуса щурів за радіаційного впливу на фоні введення їм індукторів інтерферону / В.В. Михайлик, Л.І. Остапченко, М.Є. Кучеренко // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т.74, № 4. – С. 120-128.

153. Зуева Н.А. Иммуномодулирующий эффект берлитиона у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. Экологические проблемы и здоровья нации / Н.А. Зуева, Л.А. Метелица, А.Н. Коваленко, А.С. Ефимов. // Екологічні проблеми та здоров'я нації. – 2002. – №5 – С. 24-26.

154. Роль антиоксидантного статуса в формировании последствий биологического действия низкинтенсивного излучения в малой дозе / Л.Н. Шишкина, Е.В. Кушнинрева, О.Ф. Беспалько, Н.В. Полякова. // Радиационная биология. Радиоэкология- 2000. – №2.- С. 162-167.



155. Харченко Н.В. . Сучасні гепатопротектори в лікуванні хворих із хронічними ураженнями печінки / Н.В. Харченко // Гепатологія – 2004 – №3 – С. 14-18.
156. Бунятян Н.Д. Природные антиоксиданты – как гепатопротекторы / Экспериментальная и клиническая фармакология. / Н.Д. Бунятян., О.А. Герасимова, Т.С. Сахарова, Л.В. Яковлева. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1999. – Т.63. - №2. – С. 64-67.
157. Topiramate for anger control: A systematic review / B.S. Varghese, A. Rajeev, M. Norrish, S.B. Khusaiby. // Indian J. Pharmacol. - 2010. – №4 – P. 135-141.
158. Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Disease: Mitochondria-Targeted Therapeutics / M. Rocha et al. // Curr. Med. Chem. – 2010. – №8. – P. 67-75.
159. Перспективы клинического применения стрессопротекторов / Л.Т. Киричек et al. // Клиническая фармакология. – 2009. – № 3. – С. 23-24.
160. Liver functional reserve estimation: state of the art and relevance to local treatments / F. Manizate et al. // Oncology. – 2010. – №9. – P. 45-53.
161. Molecular aspects of hepatic encephalopathy / A.L. Márquez-Aguirre. A.A. Canales-Aguirre, U. Gómez-Pinedo, F.J. Gálvez-Gastélum // Neurologia. – 2010. – №6 – P. 239-247.
162. Gindre C. Everyday stress, routines and bipolar spectrum / Gindre C, Swendsen J. // Encephale. – 2010. – №5 – P., 87-94.
163. Tak L.M. Dysfunction of stress responsive systems as a risk factor for functional somatic syndromes / L.M. Tak J.G. Rosmalen // J. Psychosom. Res. - 2010.– №6 – P. 461-468.
164. Dual role of heat shock proteins as regulators of apoptosis and innate immunity / A.L. Joly et al. // J. Innate. Immun. – 2010. – № 3. – P. 238-247.
165. Tanaka M. A new hypothesis of chronic fatigue syndrome: co-conditioning theory / M. Tanaka, Y. Watanabe // Med. Hypotheses. – 2010. – №4 – P. 244-249.

166. Антиоксидантная активность некоторых фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды / О.Л.Кулагин et al. // Фармакология. – 2007. – №4 – С. 22-26.
167. Прохоровська Н.В. Мембранопротекторна та антиоксидантна властивість тіотризоліну за умов гострого імунокомплексного процесу / Н.В. Прохоровська, М.С. Регеда. // Експериментальна фізіологія та біохімія – 2007. – №3. – С. 35-39.
168. Савченкова Л.В.. Клиническая фармакология тиотриазолина / Л.В. Савченкова, Д.А. Филатов, И.П. Белоусова // Украинский медицинский альманах. – 2008. – Т. 11, № 3, – С. 212-215.
169. Лукьянчук В.Д. Современный взгляд на фармакологию  $\alpha$ -липовой кислоты (берлитиона) / В.Д. Лукьянчук, О.Д. Немятых. // Журнал практического врача. – 2003. – № 3. – С. 23-27.
170. Максимов Ю. Проблема ПОЛ–какие антиоксиданты нам нужны / Ю.Максимов. // Вісник фармакології та фармацевції. – 2005. – № 4. – С. 23-27.
171. Phytochemicals: cancer chemoprevention and suppression of tumor onset and metastasis / L. Shu et al. // Cancer Metastasis Rev.– 2010.– №3 – P. 483-502.
172. Anti-oxidative and anti-inflammatory activities of placental extracts in benzo[a]pyrene-exposed rats / S.Y. Park et al. // Placenta. – 2010.– №5 – P.873-879.
173. Protective effects of luteolin on neurons against oxygen-glucose deprivation / reperfusion injury via improving  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase activity / L. Fang et al. // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. – 2010.– №4 – P. 1051-1054.
174. Fujiyoshi M. Molecular mechanisms of liver regeneration and protection for treatment of liver dysfunction and diseases / M. Fujiyoshi, M. Ozaki // J. Hepatobiliary. Pancreat. Sci. – 2010. – №6 – P. 220-234.
175. Kim J. Naturally occurring phytochemicals for the prevention of Alzheimer's disease. / J. Kim , H.J. Lee, K.W. Lee // J. Neurochem. – 2010. – №5 – P. 1415-1430.

176. Чекман І.С. Клинична фармакологія гепатопротекторів / І.С. Чекман // Український медичний альманах. – 2001. – № 4 – С. 15-19.
177. Мирсаев Т.Р. Гепатопротекторное действие оксиметилурацила / Т.Р. Мирсаев // Фармация – 2007.–№ 8 – С. 34-35.
178. Палій І.Г. Есенціальні фосфоліпіди: реалії та перспективи застосування / І.Г. Палій. // Укр. Мед. Часопис. – 2009. – № 2. -43-46.
179. Серединин С.Б. Фармакологическая защита генома / С.Б. Серединин, А.Д. Дурнев // Фармакология. – 1992.– № 2 (79). – С. 56-65.
180. Харченко Н.В. К вопросу о классификации, профилактике и лечении хронических гепатитов / Н.В.Харченко, В.В. Харченко, Т.В.Лобода. // Экспериментальная и клиническая медицина. – 2008. – № 12. – С.28-35.
181. Lipid peroxidation and antioxidant system status in patients with acute myeloblast leukemia and toxic damage of the liver / G.Z. Kuzieva, N.M. Kholmatova, L.I. Shevchenko // Lik. Sprava. – 2009. –№ 5 – P. 55-58.
182. Efficacy and safety of heptral, vitamin B6 and folic acid during toxic hepatitis induced by CCL4 / N.A. Antelava et al. // Georgian Med. News. – 2007.– №3 – P. 53-56.
183. Avezov S.A. Efficacy of combined administration of ursodeoxycholic acid and heptral in the treatment of primary biliary cirrhosis / S.A. Avezov, F.K. Mansurov // Klin. Med. (Mosk).–2004.– №2 – P. 55-58.
184. Vostrikov G.P. Use of heptral in chronic liver diseases / G.P. Vostrikov, A.S. Toporkov // Eksp. Klin. Gastroenterol.–2002. – №4. – P. 113-121.
185. Il'chenko L.I. Metabolism pathways and use of heptral in chronic liver diseases / L.I. Il'chenko, E.V. Vinnitskaia // Eksp. Klin. Gastroenterol. – 2002. – № 7. – P. 62-64.
186. Reїzis A.R. Heptral potentialities in the treatment of hepatic damage in children with malignant blood disease / A.R. Reїzis, E.A. Nurmukhametova // Ter. Arkh.– 1998. – № 70. – P. 48-51.
187. Бибик Е.Ю. Тиатриазолин – потенциальное лекарственное средство с детоксикационной активностью / Е.Ю. Бибик, К.А. Фомина, М.В.

Юшак. // Украинский медицинский альманах. – 2009.– Т. 12, № 1, – С. 213-217.

188. Бабак О.Я. Современная фармакотерапия хронических гепатитов / О.Я.Бабак. // Український медичний часопис. – 1998.– №3(5) – С. 84-87.

189. Застосування тіотриазоліну при хронічних гепатитах / В.П. Виговський. et al. // Ліки України. – 1994. – № 3 – С. 38-39.

190. Лысенко Е.А. Биохемилюминисцентный анализ действия ацелизина, тиотриазолина и их комбинаций / Е.А.Лысенко, Е.Ю.Бибик, Д.С.Кравец // Украинский медицинский альманах. – 2000. – Т. 3, № 2. – С.

191. Слишков В.В. Порівняльний аналіз ефективності антралю та тіотриазоліну за умов експерименту / В.В. Слишков, Т.С. Сахарова, С.І. Сальнікова, Т.Ф. Сарбаш. // Ліки України. – 1994. – № 3 – С. 34-36.

192. Трофимова Т.С. Вплив тіотриазоліну на морфологічну структуру міокарда щурів при доксорубіциновій кардіоміопатії / Н.А. Колесова, І.С. Чекман, М.О. Авраменко. // Запорожский медицинский журнал. – 2006. – №3 (36) – С. 107-109.

193. Азатиоприн і тіотриазолін в комплексній терапії цирозу печінки №1. / Є.М. Стародуб, О.Є. Самогальська, І.А. Мазур, М.А. Волошин // Экспериментальная и клиническая медицина. – 2006. – №5 – С. 45-46.

194. Дроговоз С.М. Механізм гепатозахисної дії тіотриазоліну / С.М. Дроговоз, С.І. Сальнікова. // Фармакология. – 1995.– №2 – С. 73-89.

195. Зуєва Н.О. Обґрунтування застосування берлітіону для зменшення проявів метаболічного синдрому – варіанта мультифакторної патології у потерпілих внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС / Н.О. Зуєва, А.С. Єфімов. // Український медичний часопис. – 2002. – № 1 (27). – С. 135-138.

196. Avezov S.A. Efficacy of combined administration of ursodeoxycholic acid and hepthral in the treatment of primary biliary cirrhosis / S.A. Avezov, F.K. Mansurov // Klin. Med. (Mosk).–2004.– №2 – P. 55-58.

197. Рябоконт Е.В. Применение препарата  $\alpha$ -липоевой кислоты (Берлитион) в комплексной патогенетической терапии больных хроническим

гепатитом С / Е.В. Рябоконт, Д.П. Ипатова. // Запорожский медицинский журнал. – 2006. – №2 (35) – С. 174-175.

198. Нейко Е.М. Ефективність лікування хронічного холестатичного гепатиту берлітіоном / Є.М. Нейко, А.Д. Захараш. // Запорожский медицинский журнал – 2006. – № 3(37). – С. 14-17.

199. Аметов А.С. Лечение  $\alpha$ -липоевой кислотой (Берлитионом) периферической вегетативной недостаточности у пациента с сахарным диабетом 2 типа / А.С. Аметов, И.Н. Мамедова // Эндокринология. Клиническая фармакология и терапия. – 2003. – № 12(2). – С. 74-78.

200. Хворостинка В.В. Корекція метаболічних порушень при жировій дистрофії печінки з використанням препарату  $\alpha$ -ліпоевої кислоти / В.В. Хворостинка. Л.К. Бобронникова // Ліки України.– 2004. – №8 – С. 50-53.

201. Маев И.В. Лечение и профилактика печеночной энцефалопатии гепатопротекторами / И.В. Маев, К.Г. Гуревич. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии . – 2001. – №4 – С. 41-45.

202. Хазанова В.А. Влияние силимарина, янтарной кислоты, и их комбинации на биоэнергетику головного мозга при экспериментальной энцефалопатии / В.А.Хазанова, А.И.Венгеровский // Врачебное искусство. – 2007. – Т. 144, № 12. – С. 67-98.

203. Гепатопротекторы препятствуют токсическому действию циклофосфана на печень крыс при  $CCl_4$ -гепатите / А.В. Ратькин, А.С. Саратовиков, В.С. Чучалин, В.Н. Буркова. // Врачебное искусство. – 2005. –Т. 68, № 2.– С. 47-50.

204. Pharmacological correction of neuronal damage in sensomotor zone of frontal cortex under conditions of experimental cerebral blood flow pathology / S.V. Gorbacheva et al // Eksp. Klin. Farmakol.–2007.–№ 8.– P.13-23.

205. Possibilities and perspectives of berlition usage in the treatment of alcohol polyneuropathy / E.A. Kovrazhkina et al. // Zh. Nevrol. Psikiatr. Im. S.S. Korsakova.–2004.– №2. – P. 33-37.

206. Курбанов А.И. Современные представления о механизме действия антиоксидантов на фагоцитоз / А.И. Курбанов. // Международный медицинский журнал. – 2008. – № 3.– С. 45-67.

207. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожем'якін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко К.: Авіценна, 2002.- С.156.

208. Нефёдов И.Ю. Некоторые методологические аспекты экспериментального моделирования и оценки наследственных последствий облучения одного и обоих родителей / И.Ю. Нефёдов, Г.Ф. Палыга, И.Ю. Нефёдова // Радиационная биология. Радиационная экология. – 1996. Т.36, вып.6. – С. 912–920.

209. Доклинические исследования лекарственных средств (Метод. Рекомендации) / Под ред. чл.-кор. АМН Украины О.В. Стефанова.- К.: Авиценна. 2001.-№3.-С.61-65.

210. Практикум по эмбриологии / Под ред. Ивановой – Казас О.М.-Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1986. – 232 с.

211. Артишевский А.А. Гистология с техникой гистологических исследований / Артишевский А.А., Леонтьук А.С., Слука Б.А.. – Минск.: Высшая школа, 1999. – 236 с.

212. Микроскопическая техника // Под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова.- М: Медицина. 1996.-С.544.

213. Яцковский А.Н. Метод оценки функциональной активности клеточных ядер / А.Н. Яцковский // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1987. – № 1. – С. 76–79.

214. Yaworek D. Adenosin-5'-triphosphat. Bestimmung mit 3-phosphoglycerat-kinase / Yaworek D., Gruber W., Bergmeyer H.U. // Methoden der enzymatischen Analyse / Bergmeyer H.U.– Verlag Chemic Weinheim, 1974. – P. 2147–2151.

215. Yaworek D. Adenosin-5'-diphosphat und. Adenosin-5'-monophosphat Bestimmung mit 3-phosphoglycerat-kinase / Yaworek D., Gruber W., Bergmeyer

H.U. // Methoden der enzymatischen Analyse / Bergmeyer H.U. – Verlag Chemie Weinheim, 1974. – P. 2178–2181.

216. Визначення перекиснонь резистентности еритроцитыв

217. Фролов А.И. Иммуноцитогенетика. – М.: Медицина, 1993. – 267

с.

218. Метаболитотропные препараты / Мазур И.А., Чекман И.С., Беленичев И.Ф. и др. – Запорожье, 2007. – 309 с.

219. Балаболкин М.И. Роль окислительного стресса в патогенезе диабетической нейропатии и возможность его коррекции препаратами  $\alpha$ -липоевой кислоты / Балаболкин М.И., Креминская В.М., Клебанова Е.М. // Проблемы эндокринологии. – 2005. – № 3. – С. 22-33.

220. Герасимов А.Н. Медицинская статистика / Герасимов А.Н. – М.: МИА, 2007. – 475 с.

221. Славин М.Б. Методы системного анализа в медицинских исследованиях / М.Б. Славин. – М.: Медицина, 1989. – 304 с.