

УДК 616.13-004.6:615.225

КП

№ ДР 0104U000746

Інв. №

Міністерство охорони здоров'я України

Вищий державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія»

36024, м. Полтава, вул. Шевченка, 23; тел. (0532) 60-20-51, факс 60-20-51

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Ректор ВДНЗУ “УМСА”

д.мед.н., професор

---

Ждан В.М.

2008.12.12

ЗВІТ

ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНУ РОБОТУ

НО-ЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ЇХ  
КОРЕКЦІЯ ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНИМИ РЕЧОВИНАМИ

(заключний)

Керівник НДР

д.мед.н., професор

2008.12.12

Костенко В.О.

Рукопис закінчено 25 листопада 2008 р.

Результати цієї роботи розглянуто Вченою Радою ВДНЗУ “УМСА”

протокол від 16.11.08 № 4

Робота виконана згідно з планом за темою “НО-залежні механізми розвитку патологічних процесів та їх корекція фізіологічно активними речовинами”, номер держреєстрації №0104U000746, ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія”.

## СПИСОК ВИКОНАВЦІВ

Керівник теми

Завідувач кафедри патофізіології,  
доктор медичних наук, професор

1.12.2008 р.

Костенко В.О.

Відповідальний виконавець -  
Асистент кафедри патофізіології,  
кандидат медичних наук

1.12.2008 р.

Луценко Б.О.

Доцент кафедри патофізіології,  
кандидат медичних наук

1.12.2008 р.

Глебова Л.Ю

Доцент кафедри патофізіології,  
кандидат медичних наук

1.12.2008 р.

Міщенко А.В.

Здобувач

1.12.2008 р.

Оренчук О.П.

Заочний аспірант

1.12.2008 р.

Батухіна І.В.

Магістрант

1.12.2008 р.

Хміль Д.О.

Нормоконтролер

1.12.2008 р.

Гавриш В.О.

## РЕФЕРАТ

Виявлено, що при хронічній нітратній інтоксикації збільшується продукція супероксиду мітохондріальним та мікросомальним електронно-транспортним ланцюгами, знижується його вироблення NADPH-оксидазою лейкоцитів, активуються процеси ПОЛ, знижується антиоксидантний потенціал, пригнічується ресинтез АТФ, підвищується загальна протеолітична активність, дезорганізація сполучнотканинних структур у слизовій оболонці шлунка (СОШ), пародонті, тканинах тонкої кишки та шкіри білих щурів, що позначається на структурних змінах у цих органах. Моделювання ПВ на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію супроводжується посиленням біоенергетичної недостатності, підвищенням продукції супероксиду мікросомальним і мітохондріальним електронно-транспортними ланцюгами клітин СОШ, активацією процесів ПОЛ, зниженням активності СОД та каталази, підвищенням дезорганізації сполучнотканинних структур слизової оболонки шлунка білих щурів, що супроводжується збільшенням множинності пептичних виразок (ПВ), виразкового індексу, порушенням репарації виразкового дефекту.

Встановлено, що зменшення утворення оксиду азоту NO-синтазними системами за умов відтворення ПВ на тлі хронічної нітратної інтоксикації обмежує падіння ЕП та продукцію супероксиду мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом у клітинах СОШ а також NADPH-оксидазою лейкоцитів. Селективне пригнічення індукцибельної NO-синтази призводить до обмеження ліпопероксидації, у той час як сукупне інгібування NO-синтаз (у т.ч. конституційної) сприяє активації цього процесу.

Виявлено, що введення відпрацьованого моторного масла на тлі 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію збільшує в тканинах пародонта, СОЖ і тонкої кишки продукцію супероксидного аніон-радикала мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом. При цьому, у тканинах СОШ і тонкої кишки обмежується ріст продукції супероксидного аніон-радикала мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом. У тканинах пародонта, СОШ і тонкої кишки білих щурів зростає продукція супероксиду NADPH-оксидазою лейкоцитів.

Ключові слова: оксид азоту, інтоксикація нітратами, енергетичний обмін, пероксидне окиснення ліпідів, шлунок, пародонт, тонка кишка, шкіра, пептична виразка.

## ЗМІСТ

СПИСОК ВИКОНАВЦІВ.....	2
РЕФЕРАТ.....	3
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	5
ВСТУП.....	5
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	8
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	11
ВИСНОВКИ.....	28
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	30

## ОСНОВНА ЧАСТИНА

### ВСТУП

Оксид азоту (NO) — важливий фізіологічний регулятор функцій організму та метаболізму клітин, а також його попередники та метаболіти — нітрати та нітрити — постійно присутні в шлунково-кишковому тракті (ШКТ) та шкірі (Гоженко А.И., Насибуллин Б.А., Кохно Ю.С., 2000; Vjörne H. et al., 2004; Wallace J.L., Miller M.J.S., 2000).

Сучасні дослідження показали, що в шлунку експресуються всі ізоформи NO-синтаз, активно протікають ферментативні й неферментативні реакції відновлення екзогенних нітратів і нітритів з утворенням великих кількостей NO (Berg A., Kechagias S., Sjostrand S.E., Ericson A.C., 2001; Calatayud S., Barrachina D., Esplugues J.V., 2001; Fischer H., Becker J.C., Boknik P. et al., 1999; Premaratne S., Xue C., McCarty J.M. et al., 2001).

Ціла низка публікацій вказує на участь NO, як патогенетичного фактора, у розвитку хвороб органів ШКТ, у тому числі в процесі розвитку виразкових уражень слизової оболонки шлунка (Гоженко А.И., Насибуллин Б.А., Кохно Ю.С., 2000; Маленюк Е.Б., Аймашева Н.П., Манухина Е.Б. и др., 1998; Малышев И.Ю., 1997).

Виявлено зміни активності NO-синтаз при гострому виразковому процесі: збільшення на тлі гіперсекреції і зменшення у всіх структурних елементах шлунка у фазі рубцювання виразки (Гоженко А.И., Насибуллин Б.А., Кохно Ю.С., 2000).

У той же час недостатньо досліджено NO-залежні механізми ульцерогенезу, зокрема пов'язані зі змінами окиснювальних та репаративних процесів у слизовій оболонці шлунка, при надлишковому утворенні оксиду азоту з екзогенних попередників (нітратів та нітритів).

Відомо, що саме з біотрансформацією нітрат- і нітрит-іонів до оксиду азоту пов'язана головна ланка патогенезу хронічних інтоксикацій цими сполуками (Ажипа Я.И., Реутов В.П., Каюшин Л.П., 1990; Денисенко С.В., Костенко В.А., 2003).

Нез'ясованим залишається конкретний внесок у розвиток пептичних виразок за цих умов продукції оксиду азоту NO-синтазами та шляхом ферментативного і неферментативного відновлення нітрат- і нітрит-іонів.

В даний час практично відсутні роботи, що висвітлюють зміни функціональних і метаболічних процесів у органах травлення і шкірі ссавців при надлишковому утворенні оксиду азоту з екзогенних джерел.

Актуальність досліджень у напрямку розкриття особливостей перебігу тих чи інших патологічних процесів в умовах надлишкового надходження нітратів в організм ссавців також пов'язана з тим, що навантаження на організм нітросполуками в останні роки не тільки не знизилося, а й істотно підвищилося (Гоженко А.И., Доренский В.С., Рудина Е.И. и др., 1996; Fewtrell L., 2004), особливо в сільській місцевості, де використовуються місцеві джерела водопостачання (шахтні колодязі).

У Полтавській області за період з 1995 по 2005 р.р. концентрація нітратів, у джерелах місцевого водопостачання, зросла у 2 рази. Підвищеному навантаженню нітратами підлягає близько 300 тисяч людей. Насамперед непокоїть становище в

Карлівському, Семенівському, Козельщинському, Оржицькому, Глобинському та деяких інших районах, де питна вода шахтних колодязів містить рівень нітратів, який перевищує середньонормативний показник у 5-15, а в деяких навіть в 30-40 разів.

**Мета і задачі дослідження.** Метою дослідження є розкриття механізмів дії оксиду азоту, що утворюється з екзогенного (хронічна інтоксикація нітратом натрію) попередника на енергетичний метаболізм, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантну систему, функціональний стан органів травлення (пародонту, шлунка, тонкої кишки) та шкіри білих щурів.

Для досягнення поставленої мети були визначені такі задачі дослідження:

1. Визначити рівень накопичення оксиду азоту в вигляді залізо-нітрозильних комплексів в тканинах умов хронічної інтоксикації нітратом натрію.

2. З'ясувати в динаміці вплив хронічної нітратної інтоксикації на зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів, стану мітохондріального окислення і фосфорилування, рівня продукції супероксидного аніон-радикалу, процесів вільнорадикального окислення ліпідів та антиоксидантного захисту, секреторної функції в тканинах органів травлення та шкіри білих щурів.

3. Дослідити біохімічний стан сполучної тканини та морфологічні зміни в слизовій оболонці шлунка білих щурів у динаміці хронічної інтоксикації нітратом натрію.

4. Дослідити стан окиснювального метаболізму (продукцію активних форм кисню, пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантної системи, вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів) у слизовій оболонці шлунка білих щурів при відтворенні експериментальної пептичної виразки за умов 90-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію.

5. Дослідити біохімічний стан сполучної тканини та морфологічні зміни в слизовій оболонці шлунка білих щурів при відтворенні експериментальної пептичної виразки за умов 90-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію.

6. Дослідити репаративні процеси в слизовій оболонці шлунка білих щурів у динаміці загоєння експериментальної ацетатної виразки за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію.

7. З'ясувати роль зміни продукції оксиду азоту NO-синтазними системами (при введенні їхніх інгібіторів та субстрату – L-аргініну) на структурно-метаболічні зміни в слизовій оболонці шлунка при відтворенні експериментальної пептичної виразки за умов 90-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію.

8. Дослідити продукцію супероксидного аніон-радикалу та оксиду азоту, стан вільнорадикального окиснення біополімерів і зміни антиоксидантної системи у тканинах пародонту, шлунку, тонкої кишки та печінки білих щурів у залежності від типу реагування організму на стрес при токсичній дії відпрацьованого автомобільного масла на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію.

9. Дослідити біохімічний стан сполучної тканини та морфо-функціональні зміни у тканинах пародонту, шлунку, тонкої кишки та печінки у залежності від типу реагування організму на стрес при токсичній дії відпрацьованого автомобільного масла на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію.

**Наукова новизна роботи.** Вперше виявлено, що при хронічній нітратній інтоксикації збільшується продукція супероксидного аніон-радикалу мітохондріальним та мікосомальним електронно-транспортним ланцюгами, знижується його вироблення NADPH-оксидазою (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений) лейкоцитів, активуються процеси пероксидного окиснення ліпідів, знижується антиоксидантний потенціал, пригнічується ресинтез АТР (аденозинтрифосфат), підвищується загальна протеолітична активність, дезорганізація сполучнотканинних структур у слизовій оболонці шлунка білих щурів, що позначається на структурних змінах у шлунку – розвитку ерозивно-виразкових уражень і дизрегенераторних процесів у вигляді атрофії та гіперплазії.

Вперше виявлено, що розвиток пептичної виразки на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію супроводжується посиленням біоенергетичної недостатності, підвищенням продукції супероксидного аніон-радикалу мікосомальним і мітохондріальним електронно-транспортними ланцюгами клітин слизової оболонки шлунка, активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів, зниженням активності антиоксидантних ферментів (SOD (супероксиддисмутаза), каталази), підвищенням дезорганізації сполучнотканинних структур слизової оболонки шлунка білих щурів, що супроводжується збільшенням множинності пептичних виразок, виразкового індексу, порушенням репарації виразкового дефекту.

Вперше виявлено, що зменшення утворення оксиду азоту NO-синтазними системами за умов відтворення пептичної виразки на тлі хронічної нітратної інтоксикації обмежує падіння енергетичного потенціалу та продукцію супероксидного аніон-радикалу мікосомальним електронно-транспортним ланцюгом у клітинах слизової оболонки шлунка а також NADPH-оксидазою лейкоцитів. З'ясовано, що активність пероксидного окиснення ліпідів у тканинах слизової оболонки шлунка за умов моделювання пептичної виразки на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію (90 діб) залежить від функціональної активності NO-синтаз. При цьому селективне пригнічення індукційної NO-синтази призводить до обмеження ліпопероксидації, у той час як сукупне інгібування NO-синтаз (у т.ч. конституційної) сприяє активації цього процесу.

Вперше виявлено, що зменшення утворення оксиду азоту індукційною NO-синтазою обмежує дезорганізацію сполучнотканинних структур слизової оболонки шлунка білих щурів за умов ульцерогенезу на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію, що супроводжується зменшенням показника числа виразок на 1-го щура. Виявлено, що введення L-аргініну перед моделюванням пептичної виразки в умовах надлишкового утворення NO при надходженні до організму нітрату натрію не позначається на тяжкості виразкового процесу в слизовій оболонці шлунка.

В результаті проведених досліджень поглиблено уявлення про механізми морфофункціональних та метаболічних змін у органах ссавців при надлишковому надходженні нітрату натрію в організм та токсичному впливі відпрацьованого автомобільного масла.

Уперше виявлено, що в динаміці хронічної інтоксикації нітратом натрію в шкірі білих щурів відмічається прогресуюче збільшення продукції оксиду азоту і

супероксидного аніон-радикала, істотна активація процесів вільнорадикального пероксидного окиснення ліпідів і виснаження антиоксидантного потенціалу. Основними джерелами супероксидного аніон-радикала є мітохондріальний та мікросомальний електронно-транспортні ланцюги. Виявлено, що зміна активності антиоксидантних ферментів носить фазний характер: на 14 добу інтоксикації активність супероксиддисмутази і каталази зростає, а далі знижується. Уперше виявлено, що динаміка динаміка хронічної інтоксикації нітратом натрію супроводжується фазовими змінами вмісту і співвідношення адениннуклеотидів у тканинах шкіри: на 14-у добу інтоксикації – компенсаторні зміни, на 30-у і 90-у добу – прогресуюче пригнічення біоенергетичних процесів.

Уперше виявлене, що надлишкове утворення оксиду азоту з екзогенного джерела (модель хронічної інтоксикації нітратом натрію) супроводжується істотною зміною бар'єрно-захисних функцій шкіри, що виявляється в зниженні міцності й еластичності шкіри, зменшенні її репаративних властивостей, підвищенні постперспіраційної трансгландулярної проникності шкіри підошовних ділянок лапок щурів для водорозчинних речовин. Уперше виявлене, що надлишкове утворення оксиду азоту з екзогенного джерела в динаміку хронічної інтоксикації нітратом натрію супроводжується зниженням електричного опору шкіри з наступним скороченням різниці між величинами електричного опору й електричної ємності шкіри в ділянках точок акупунктури і поза ними, зникненням фізіологічної асиметрії зазначених показників у зоні активних точок на шкірі правої і лівої лапок.

**Практичне значення роботи.** В результаті проведених досліджень поглиблені уявлення про патогенез метаболічних порушень в тканинах при надлишковому утворенні NO з екзогенних попередників. Одержані результати можуть використовуватися як експериментальна база для розробки патогенетично обґрунтованих методів корекції ульцерогенних порушень СОШ (слизова оболонка шлунка) за умов надлишкового надходження неорганічних нітросполук до організму людини та теплокровних тварин.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти виконані на 258 білих щурах лінії Вістар масою 130-160 г. Тварин утримували в умовах акредитованого віварію згідно зі “Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)”. Комісією з питань біоетики Вищого державного навчального закладу України “Українська медична стоматологічна академія” (протокол № 46 від 20.02.2007 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Проведено одинадцять серій дослідів:

- інтактні тварини;
- введення нітрату натрію протягом відповідно 14, 30, 60 та 90 діб;
- відтворення пептичної виразки за Л.М.Тарасенко зі співавторами, у т.ч. за умов знаходження тварин у стані хронічної нітратної інтоксикації та введенні неселективного інгібітору NO-синтази – L-NAME (метиловий ефір нітро-L-



аргініну), селективного інгібітору індукцибельної NO-синтази – аміногуанідину та субстрату NO-синтазної реакції – L-аргініну.

- відтворенні пептичної виразки шлунку за модифікованою методикою Okabe причому в одинадцятій серії на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію;
- при токсичній дії відпрацьованого автомобільного масла (500 мг/кг маси) на тлі надлишкового введення нітрату натрію протягом 2-х місяців у щурів.

Евтаназію білих щурів проводили шляхом декапітації під ефірним наркозом.

Нами були використані дві методики відтворення експериментальної ПВ шлунка: за Л.М. Тарасенко, К.С. Непорадою, І.М. Скрипником із деякими змінами (взяття матеріалу проводили на 14, 30, 90 добу) та за модифікованою методикою S. Okabe et al. (взяття матеріалу проводили на 5-у, 7-у, 15-у та 21-у добу після операції). Перша модель відбиває провідні патогенетичні механізми розвитку ПВ у людини (хронічний психоемоційний стрес, цитотоксичний вплив жовчі на СОШ внаслідок дуоденального рефлюксу, зміни режиму харчування). Характерною рисою другої методики є можливість одержання ПВ у певному відділі шлунково-кишкового тракту, висока стабільність відтворення, простота і значний ступінь однорідності морфогенезу.

Хронічну інтоксикацію відтворювали шляхом введення нітрату натрію у дозі 200 мг/кг маси тіла у вигляді водного розчину інтрагастрально за допомогою спеціального зонду щоденно протягом 14, 30 та 90 діб. Для зміни режимів функціонування NO-синтаз використовували препарати виробництва “Sigma” (США): неселективний інгібітор NO-синтаз – L-NAME – вводили внутрішньоочеревинно в дозі 20 мг/кг двічі за 48 та 24 години перед початком відтворення ПВ (пептична виразка) за методом Л.М. Тарасенко зі співавторами; селективний інгібітор індукцибельної NO-синтази – аміногуанідин (Aminoguanidine) – вводили внутрішньоочеревинно в дозі 25 мг/кг двічі за 48 та 24 години перед початком відтворення ПВ за методом Л.М. Тарасенко зі співавторами; субстрат NO-синтазної реакції – L-аргінін – вводили в дозі 100 мг/кг маси інтрагастрально за три дні до початку відтворення ПВ за методом Л.М. Тарасенко зі співавторами.

Біохімічні методи дослідження. Утворення  $O_2^-$  оцінювали при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм (НСТ) (Цебржинский О.И., 2002). При цьому спектрофотометричним НСТ-тестом оцінюється продукція  $O_2^-$  в гомогенаті тканин СОШ з індукторами у вигляді NADH, NADPH і пірогеналом. Принцип методу визначення концентрації ТБК-реактантів (Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г., 1977) базується на здатності 2-тіобарбітурової кислоти (ТБК) утворювати стійкий забарвлений комплекс із малоновим діальдегідом та іншими проміжними оксопродуктами ПОЛ (пероксидне окиснення ліпідів). Приріст концентрації ТБК-реактантів при 1,5-годинній інкубації тканин дає інформацію про стан антиоксидантної системи. Принцип методу визначення активності супероксиддисмутази (Брусков О.С. и соавт., 1976) полягає в тому, що SOD інгібує аутоокислення адреналіну. За різницею швидкості реакції без додавання біологічного матеріалу та з його додаванням обчислюють активність ферменту. Визначення активності каталази (Архипова О.Г., 1980) ґрунтується на її здатності розкладати пероксид водню. Кількість останнього, що залишився в пробі, визначають титруванням 0,1 н розчином калію перманганату. Вміст

аденозинтрифосфату (Beutler E. et al., 1975) визначали за допомогою вимірювання оптичної густини реагуючих речовин, яка пропорційна вмісту АТФ у пробі. Вміст аденозинди- та монофосфату (ADP і AMP) (Jaworek D. et al., 1974) визначали в одній пробі за допомогою сполучених реакцій. Метод ґрунтується на тому, що AMP у присутності АТФ перефосфорилується ферментом міокіназою з утворенням двох молекул ADP. Молекули ADP фосфорилуються піруваткіназою за рахунок фосфоенолпірувату, який при цьому перетворюється на піруват, котрий можна визначити за допомогою індикаторної реакції з NADH (нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений) та ЛДГ. На основі одержаних результатів обчислювали значення енергетичного потенціалу (ЕП) за формулою D.E. Atkinson. Принцип методу визначення вмісту фукози (Dishe і Shettles, 1948), заснований на фотометричному визначенні хромогену, що утворюється в умовах послідовної дії на фукозу сірчаною кислотою та солянокислим цистеїном. Вміст NANA (N-ацетилнейрамінова кислота) в тканинах визначали за методом Гесса, принцип якого ґрунтується на утворенні хромогену сіаловими кислотами, які виділяються із складу глікопротеїдів у результаті гідролізу безбілкового фільтрату сироватки крові та гомогенату тканин, з розчином оцтової та сірчаної кислот у киплячій водній бані. Вміст гексуринових кислот визначали карбазоловим методом (Шараев П.Н. и др., 1987), принцип якого базується на нагріванні досліджуваних біологічних субстратів з концентрованою сірчаною кислотою. У результаті реакції цукри перетворюються в альдегід фурфуролу або його гомологи, які з карбазолом утворюють хромоген фіолетово-рожевого кольору. Для оцінки кислотоутворюючої функції СОШ (Тарасенко Л.М., Скрипник І.М., 1998) у порожнину шлунка після перев'язки лігатурою нижнього відділу стравоходу за допомогою шприца через пілорус вводили 1,0 мл дистильованої води. Потім внутрішньошлункову рідину збирали в хімічний стаканчик і вимірювали рН універсальним іонометром И-130 2М з поправкою на розведення. У тканинах СОШ щурів визначали загальну протеолітичну активність за методом (Уголев А.М., Иезуитова Н.Н., Масевич Ц.Г., 1969), який ґрунтується на визначенні приросту гліцину, що утворюється в результаті гідролізу казеїну супернатантом гомогенату тканин. Протеолітичну активність розраховували в мкмольх відщепленого гліцину за 1 хв. інкубації на 1 г тканини.

Ступінь виразкового ушкодження розраховували із застосуванням системи балів (Яковлева Л.В., Оболенцева Г.В., Брюзгінова Л.П., 2001).

Дослідження зрізів проводили на цифровому мікроскопі фірми Olympus "BX 41" з використанням спеціальної програми "Olympus DP Soft" та наступним фотографуванням препаратів із дослідженням клітинних і стромальних елементів. Характер дольового співвідношення кровоносних мікросудин, м'язової та власної платівок слизової оболонки визначали з допомогою внутрішньоокулярної сітки (Автандилов Г.Г., 1980).

Для порівняння та оцінки достовірності отриманих результатів використовували розрахунок критерію достовірності Ст'юдента (t).

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 1. NO-залежні механізми формування виразки шлунка щурів при хронічній інтоксикації нітратом натрію

Через 14 діб від початку введення щурам нітрату натрію вірогідних змін загального фону продукції  $\cdot O_2^-$  в тканинах СОШ білих щурів, його утворення мікросомальним і мітохондріальним електронно-транспортними ланцюгами не виявлено. Проте після 30-денного введення нітрату натрію вже відмічається зростання як загального фону продукції  $\cdot O_2^-$  (на 18,1%,  $P < 0,05$ ), так і його продукції мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом (на 27,1%,  $P < 0,05$ ). При відтворенні 90-добової інтоксикації загальний фон продукції  $\cdot O_2^-$  перевищує дані інтактної групи на 16,7% ( $p < 0,05$ ). Утворення  $\cdot O_2^-$  мікросомальним і мітохондріальним електронно-транспортними ланцюгами зростає відповідно на 46,0% ( $p < 0,001$ ) та 41,3% ( $p < 0,001$ ). У той же час відмічається вірогідне зниження на 27,3% ( $p < 0,01$ ) утворення  $\cdot O_2^-$  при використанні пірогеналу, що свідчить про зниження функціональної активності NADPH-оксидази лейкоцитів.

Через 14 діб від початку введення в організм білих щурів нітрату натрію вірогідних змін утворення ТБК-реактивів не виявлено. У цей період також відсутні достовірні зміни активності SOD і каталази. Після 30-ї доби інтоксикації вже відмічається вірогідне зростання концентрації ТБК-реактивів після 1,5-годинної інкубації тканин СОШ в залізоаскорбатному буферному розчині (на 29,8%,  $p < 0,05$ ). У цей же час спостерігається збільшення активності SOD на 29,3% ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з даними інтактної групи тварин. Відомо, що біосинтез цього ферменту індукується субстратом (тобто  $\cdot O_2^-$ ), продукція якого після місячної інтоксикації суттєво зростає. Проте, у цей же період достовірно підвищується приріст концентрації ТБК-реактивів за час інкубації (на 30,1%,  $p < 0,05$ ), що вказує на загальне збіднення антиоксидантного потенціалу в тканинах СОШ білих щурів.

При відтворенні 90-добової інтоксикації концентрація ТБК-реактивів зростає до інкубації в 2,1 рази ( $p < 0,001$ ), а після 1,5-годинної інкубації в залізоаскорбатному буферному розчині – на 86,0% ( $p < 0,001$ ), що вказує на істотну активацію процесів ПОЛ у тканинах СОШ білих щурів. Відмічається суттєве підвищення приросту концентрації ТБК-реактивів за час інкубації (на 64,2%,  $p < 0,001$ ), що вказує на прогресування антиоксидантної недостатності в тканинах СОШ. Це також підтверджується зниженням активності SOD – на 31,5% ( $p < 0,01$ ), каталази – на 52,9% ( $p < 0,001$ ).

На 14 добу від початку введення білим щурам нітрату натрію вірогідні зміни концентрації та співвідношення аденіннуклеотидів, величини ЕП у тканинах СОШ відсутні. Через 30 діб від початку введення білим щурам нітрату натрію відмічається суттєве зниження концентрації АТФ на 16,6% ( $p < 0,05$ ) та ЕП на 9,2% ( $p < 0,01$ ). Вміст АМР зростає в 3,2 рази ( $p < 0,001$ ), що свідчить про обмеження активності ресинтезу АТФ у тканинах СОШ. Така динаміка залишається й у подальший період розвитку хронічної інтоксикації. Так, на 90 добу інтоксикації спостерігається зменшення в тканинах СОШ вмісту АТФ на 24,9% ( $p < 0,001$ ), АДФ

– на 15,9% ( $p < 0,05$ ), ЕП – на 9,8% ( $p < 0,001$ ). Вміст АМР зростає в 3,0 рази ( $p < 0,001$ ).

Під впливом інтоксикації достовірних змін секреції HCl парієтальними клітинами шлунка не відмічається, про що свідчать величини рН внутрішньошлункової рідини: через 90 діб після введення нітрату натрію –  $3,12 \pm 0,16$ ; контроль (інтактна група) –  $3,12 \pm 0,16$  ( $p > 0,05$ ). На 14 та 30 добу хронічної інтоксикації нітратом натрію загальна протеолітична активність у СОШ істотно не змінюється. Після 90-денного введення нітрату натрію відзначається збільшення загальної протеолітичної активності в СОШ на 41,9% ( $p < 0,05$ ).

Встановлено, що вміст основного протектора слизової оболонки гастродуоденальної зони – фукози, що зв'язана з білками, за умов 90-добової інтоксикації достовірно не змінюється. Проте, у цей же час відмічається суттєве підвищення вмісту NANA (на 28,6%,  $p < 0,05$ ) та гексуринових кислот (на 32,9%,  $p < 0,05$ ), що свідчить про процес дезорганізації сполучнотканинних структур внаслідок деполімеризації неколагенових білків – глікопротеїнів і протеогліканів.

Після 90-денного введення нітрату натрію відмічаються суттєві зміни в СОШ білих щурів: у 40% тварин спостерігаються ерозивно-виразкові ураження. При цьому множинність ерозій і виразок на 1-го щура дорівнює відповідно 0,2 та 0,5. Середній ступінь виразки (СВ) у групі – 0,7; виразковий індекс – 0,28.

Хронічна інтоксикація нітратом натрію супроводжується істотними структурними змінами в СОШ, що полягають у розвитку дизрегенераторних процесів у вигляді атрофії та гіперплазії. У 40% білих щурів розвиваються ерозивно-виразкові ураження СОШ.

При відтворенні експериментальної ПВ (за Л.М.Тарасенко та співавт.) загальний фон продукції  $\dot{O}_2$  достовірно не відрізняється від даних інтактною групи. Проте за умов її моделювання на тлі хронічної інтоксикації (90 діб) указаний показник на 22,2% ( $p < 0,001$ ) перевищує дані серії, у якій вводився нітрат без відтворення ПВ. При відтворенні експериментальної ПВ відмічається суттєве зростання продукції  $\dot{O}_2$  як мікросомальним і мітохондріальним електронно-транспортними ланцюгами, так і в результаті підвищення NADPH-оксидазної активності лейкоцитів (відповідно на 17,4% ( $p < 0,02$ ); 17,3% ( $p < 0,05$ ) та 50,0% ( $p < 0,01$ )). За умов моделювання ПВ на тлі хронічної інтоксикації вироблення  $\dot{O}_2$  мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом збільшується на 61,1% ( $p < 0,001$ ), що перевищує величину серії, у якій відтворювали ПВ без введення нітрату на 37,3% ( $p < 0,001$ ). У цих же умовах продукція  $\dot{O}_2$  мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом збільшується на 58,6% ( $p < 0,001$ ), що на 12,3% ( $p < 0,05$ ) перевищує величину серії, у якій нітрат застосовували без відтворення ПВ, та на 35,2% ( $p < 0,001$ ) – величину серії, у якій відтворювали ПВ без введення нітрату натрію. У тих же умовах достовірні відмінності у виробленні  $\dot{O}_2$  електронно-транспортним ланцюгом фагоцитів у порівнянні з інтактною групою не відмічаються. Проте величина продукції  $\dot{O}_2$  NADPH-оксидазою лейкоцитів на 53,1% ( $p < 0,05$ ) перевищує величину серії, у якій нітрат вводили без відтворення ПВ. Це, очевидно, пов'язано

зі збільшенням числа лейкоцитів (перш за все нейтрофілів та макрофагів) у місці пошкодження СОШ при відтворенні ПВ.

Введення як неселективного інгібітора NO-синтаз L-NAME, так і селективного інгібітора iNOS аміногуанідину за умов моделювання ПВ на тлі хронічної інтоксикації призводить до зниження продукції  $\cdot\text{O}_2^-$  мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом (відповідно на 35,8% ( $p < 0,001$ ) та на 29,2% ( $p < 0,001$ )). В умовах застосування обох інгібіторів NOS вдається виявити достовірне зменшення вироблення  $\cdot\text{O}_2^-$  електронно-транспортним ланцюгом фагоцитів при моделюванні ПВ на тлі хронічної інтоксикації у порівнянні з даними серії, у якій відтворювали ПВ без введення нітрату натрію. Пригнічення NOS (синтаза оксиду азоту) та окремо iNOS (індуцибельна синтаза оксиду азоту) обмежує продукцію  $\cdot\text{O}_2^-$  мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом клітин СОШ, а також NADPH-оксидазою лейкоцитів.

При відтворенні експериментальної ПВ (контрольна серія – без введення нітрату) концентрація ТБК-реактивних зростає до інкубації на 40,1% ( $p < 0,05$ ), а після 1,5-годинної інкубації в залізоаскорбатному буферному розчині – на 30,6% ( $p < 0,05$ ), що вказує на істотну активацію процесів ПОЛ у тканинах пошкодженої СОШ білих щурів. Проте за умов моделювання ПВ на тлі хронічної інтоксикації (90 діб) концентрація ТБК-реактивних до та після інкубації відповідно на 61,8% ( $p < 0,001$ ) та 46,2% ( $p < 0,01$ ) перевищують дані серії, у якій відтворювали ПВ без введення нітрату. При цьому величина приросту концентрації ТБК-реактивних за час інкубації в прооксидантному буферному розчині на 26,9% ( $p < 0,05$ ) перевищує показник останньої групи, що свідчить про більш значний рівень виснаження антиоксидантних ресурсів.

При відтворенні експериментальної ПВ (без введення нітрату) звертає на себе увагу підвищення активності SOD (на 23,9%,  $p < 0,01$ ) і каталази (на 26,9%,  $p < 0,05$ ). Відомо, що синтез SOD індукується на рівні трансляції субстратом (тобто  $\cdot\text{O}_2^-$ ), а, як відзначалося вище, у цей період істотно зростає його продукція. Активність каталази індукується на генному рівні  $\text{H}_2\text{O}_2$ , у зв'язку з чим активності каталази і SOD знаходяться у взаємозв'язку, тому що SOD забезпечує каталазу субстратом, а остання регенерує кисень для потреб клітини (Панченко Л.Ф., Герасимов А.М., Антоненко Г.Д., 1981). За умов же моделювання ПВ на тлі хронічної інтоксикації (90 діб) активності SOD та каталази не тільки не зростають, а навпаки знижуються: відповідно на 42,4% ( $p < 0,001$ ) та 55,0% ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з даними інтактної групи, та на 53,5% ( $p < 0,001$ ) та 64,5% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з результатами серії, у якій відтворювали ПВ без введення нітрату. Проте достовірних відмінностей при порівнянні з даними серії, у якій вводився нітрат натрію (без відтворення ПВ), не виявлено.

Нами виявлено, що процеси ПОЛ у значній мірі залежать від функціональної активності NOS. Так, введення неселективного інгібітора NO-синтаз L-NAME призводить до достовірного підвищення концентрації ТБК-реактивних як до інкубації (на 34,0%,  $p < 0,01$ ), так і після 1,5-годинної інкубації в залізоаскорбатному буферному розчині (на 28,4%,  $p < 0,02$ ). Ми припускаємо, що більш активний перебіг процесів ПОЛ може бути пов'язаний з інгібуванням конституційної NOS. Очевидно, NO, що виробляється різними джерелами, може чинити різну дію, незважаючи на однакову хімічну структуру. При введенні

селективного інгібітора iNOS аміногуанідину, навпаки, концентрація ТБК-реактивних до інкубації в залізоаскорбатному буферному розчині достовірно зменшується (на 17,9% ( $p < 0,05$ )). Відомо, що саме з функціонуванням iNOS пов'язують активацію вільнорадикальних процесів у СОШ (Martin M.J., Jimenez M.D., Motilva V., 2001). Введення білим щурам L-аргініну за умов же моделювання ПВ на тлі хронічної інтоксикації (90 діб) не призвело до достовірних змін концентрації ТБК-реактивних. Однак, при цьому виявлене достовірне збільшення величини концентрації ТБК-реактивних до інкубації (на 26,4%,  $p < 0,05$ ) за умов моделювання ПВ на тлі хронічної інтоксикації у порівнянні з серією, у якій нітрат вводили без моделювання ПВ.

Введення інгібіторів NO-синтаз (L-NAME, аміногуанідину) та їхнього субстрату (L-аргініну) достовірно не змінює активність SOD у тканинах СОШ за умов моделювання ПВ на тлі хронічної інтоксикації. При введенні інгібіторів NO-синтаз також не виявляється достовірних змін активності каталази у порівнянні з серією, у якій моделювали ПВ на тлі хронічної інтоксикації. Проте, саме за умов застосування L-NAME та аміногуанідину стає очевидною відсутність достовірного зниження каталази ( $p > 0,05$ ) при відтворенні ПВ на фоні інтоксикації нітратом. Тобто, зменшення ендogenous утворення оксиду азоту в NO-синтазній реакції може попереджувати істотне зниження активності каталази, що розвивається внаслідок взаємодії NO з активним центром цього ферменту. Це припущення, у певній мірі, підтверджується тим фактом, що при застосуванні L-аргініну достовірно зниження активності каталази (на 56,2%,  $p < 0,05$ ) залишається. Виявлена певна неоднозначна залежність між рівнем ПОЛ у тканинах СОШ за умов моделювання ПВ на тлі інтоксикації нітратом та функціональною активністю NO-синтаз. Якщо селективне пригнічення індукційної NO-синтази призводить до обмеження ПОЛ, то сукупне інгібування NO-синтаз (у т.ч. конституційної) сприяє активації цього процесу.

Застосування неселективного (L-NAME) та iNOS-селективного (аміногуанідин) інгібіторів NO-синтаз обмежує зниження активності каталази. Введення L-аргініну сприяє активації ПОЛ в умовах ульцерогенезу на тлі хронічної інтоксикації, при цьому активність мідь- та залізовмісних антиоксидантних ферментів (SOD, каталази) істотно не змінюється.

При відтворенні експериментальної ПВ (контрольна серія – без введення нітрату) відмічається істотне зменшення в тканинах СОШ вмісту АТФ (на 12,9%,  $p < 0,01$ ), АДФ (на 12,7%,  $p < 0,05$ ), ЕП (на 6,9%,  $p < 0,01$ ). Вміст АМР зростає в 2,8 рази ( $p < 0,001$ ). Вказані зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів свідчать про збільшення утилізації макроергічних сполук при зниженні їхнього ресинтезу в клітинах ушкодженої СОШ білих щурів. За умов моделювання ПВ на тлі хронічної інтоксикації (90 діб) концентрація АТФ у тканинах СОШ на 21,7% ( $p < 0,01$ ) та 32,4% ( $p < 0,001$ ) поступається значенням серій, у яких відповідно вводився нітрат без відтворення ПВ (1) та моделювали ПВ без введення нітрату (2). У той же час спостерігається підвищення вмісту АМР відповідно в 2,6 ( $p < 0,001$ ) та 2,8 рази ( $p < 0,001$ ). При порівнянні з результатами останніх груп величини ЕП за умов моделювання ПВ на тлі інтоксикації нітратом виявляється зменшення даного показника відповідно на 21,0% ( $p < 0,001$ ) та 23,5% ( $p < 0,001$ ).

При введенні інгібіторів NO-синтаз (L-NAME, аміногуанідину) та L-аргініну ми не виявили статистично достовірних відмінностей одержаних результатів щодо вмісту аденіннуклеотидів у СОШ білих щурів при порівнянні з серією без їхнього застосування перед відтворенням ПВ за умов надлишкового надходження до організму нітрату натрію. Проте розрахунок ЕП доводить, що введення інгібіторів NO-синтаз (як неселективного L-NAME, так і iNOS-селективного аміногуанідину) достовірно обмежує зниження ЕП (відповідно на 17,3% ( $p < 0,02$ ) та 13,0% ( $p < 0,05$ )) при відтворенні ПВ за умов надлишкового надходження до організму нітрату натрію, що, очевидно, пов'язано зі зменшенням утворення оксиду азоту NOS-джерелом. Як відомо, порушення біоенергетичних процесів за участю NO можуть бути зумовлені інактивацією ферментів, що беруть участь у енергоутворенні (аконітази, сукцинатдегідрогенази, гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази, NADH-убіхінонредуктази, цитохромів) (Реутов В.П., Сорокіна Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С., 1998). Можливий також механізм, опосередкований пероксинітридом (Szabo C., Zingarelli B., Oconnor M., Salzman A.L., 1996).

Введення інгібіторів NO-синтаз (L-NAME, аміногуанідину) обмежує падіння енергетичного потенціалу, що, очевидно, пов'язано зі зменшенням утворення оксиду азоту *de novo* NO-синтазною системою.

При відтворенні експериментальної ПВ (контрольна серія – без введення нітрату) та за умов моделювання ПВ на тлі хронічної інтоксикації (90 діб) достовірних змін секреції HCl паріетальними клітинами шлунка не відмічається, про що свідчать величини рН внутрішньошлункової рідини. Таким чином, такий агресивний чинник як HCl не має суттєвого значення в патогенезі ушкодження СОШ у досліджуваних умовах. Проте, і в контрольній серії (ПВ без введення нітрату), і за умов моделювання ПВ на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію відмічається істотне підвищення загальної протеолітичної активності відповідно на 48,4% ( $p < 0,05$ ) та 58,1% ( $p < 0,01$ ). Але достовірної різниці між величинами загальної протеолітичної активності в цих серіях не виявлено.

При відтворенні експериментальної ПВ (контрольна серія – без введення нітрату) відмічається зменшення в тканинах СОШ вмісту основного протектора слизової оболонки гастродуоденальної зони - фукози, що зв'язана з білками (на 22,3%,  $p < 0,05$ ), та істотне підвищення вмісту гексуранових кислот (на 34,1%,  $p < 0,01$ ). Певна тенденція до збільшення виявлена також щодо концентрації NANA, проте достовірного підвищення виявити не вдалося. У цілому одержані результати дозволяють стверджувати про високий рівень деполімеризації глікопротеїнів слизового бар'єра при розвитку деструктивних змін СОШ.

За умов моделювання ПВ на тлі хронічної інтоксикації (90 діб) концентрація фукози, що зв'язана з білками, достовірно знижується, як у відношенні до даних серії, у якій вводили нітрат без відтворення ПВ (на 54,1%,  $p < 0,001$ ), так і до результатів, одержаних за умов моделювання ПВ без введення нітрату (на 37,0%,  $p < 0,01$ ).

При відтворенні ПВ на фоні інтоксикації нітратом звертає на себе увагу суттєве збільшення вмісту NANA та гексуранових кислот у СОШ щурів.

Величина концентрації NANA у СОШ білих щурів на 22,2% ( $p < 0,02$ ) перевищує дані серії, у якій вводили нітрат без відтворення ПВ, та на 29,4%

( $p < 0,01$ ) – результати групи з відтвореною ПВ без уведення нітрату. Значення вмісту гексуранових кислот перевищує дані тільки останньої серії (на 12,7%,  $p < 0,05$ ). До введення інгібітору iNOS виявився чутливим показник вмісту NANA у СОШ білих щурів. Так, введення аміногуанідину обмежує підвищення концентрації NANA на 15,2% ( $p < 0,02$ ). Деяка тенденція до обмеження вмісту NANA та гексуранових кислот відмічається при введенні лабораторним тваринам L-аргініну. Останній, по суті, запобігає достовірному збільшенню цих речовин в умовах як нітратної інтоксикації, так і ульцерогенезу при відтворенні експериментальної ПВ, тобто забезпечує, у певній мірі, протекторну дію по відношенню до сполучнотканинних структур СОШ (Тарасенко Л.М., Непорада К.С., Скрипник І.М., 2002).

Моделювання ПВ за Л.М.Тарасенко, І.М.Скрипником і К.С.Непорадою на тлі хронічної інтоксикації (90 діб) дає можливість виявити достовірне збільшення показника множинності виразок як у порівнянні з даними серії, у якій вводили нітрат без відтворення ПВ (на 17,1%,  $p < 0,05$ ), так і до результатів, одержаних за умов моделювання ПВ без уведення нітрату (на 31%,  $p < 0,01$ ). Показник СВ становить 3,0; ВІ – 3,0.

Згідно отриманих нами даних, на множинність виразок за умов моделювання ПВ на тлі інтоксикації нітратом (90 діб) впливає в певній мірі активність iNOS. Введення інгібітору останньої (аміногуанідину) зменшує число виразок на 1-го щура на 18,4% ( $p < 0,05$ ). При моделюванні ПВ в умовах надлишкового утворення NO при надходженні до організму нітрату натрію відзначається наростання показників тяжкості виразкового процесу в шлунку (збільшення множинності пептичних виразок, середнього ступеню виразки в групі, виразкового індексу). На показник множинності виразок впливає активність iNOS, оскільки введення селективного інгібітору останньої (аміногуанідину) достовірно зменшує число виразок на 1-го щура. Відсутність зміни цього показника при введенні L-NAME, можливо, пов'язана з протекторною дією NO, що виробляються конститутивною NOS.

Введення L-аргініну перед моделюванням ПВ в умовах надлишкового утворення NO при надходженні до організму нітрату натрію достовірно не позначається на тяжкості виразкового процесу в СОШ.

Нами проведено дослідження морфологічних змін у процесі загоєння виразки пілороантрального відділу шлунка в експерименті при хронічній нітратній інтоксикації. На 21 добу в контрольній групі щурів після експериментального відтворення виразкового дефекту макроскопічно виразка не виявлялася, на ділянці його проекції пальпаторно було відмічено ущільнення стінки шлунка твердої консистенції; мікроскопічно в ділянці серозної оболонки на місці проекції виразки спостерігається утворення грубоволокнистої рубцевої сполучної тканини, в якій наявна велика кількість кровоносних судин, з ділянками метакромазії навколо. Подекуди, за рахунок розростання сполучної тканини, яка була представлена фіброцитами, що мали витягнуту форму, та колагеновими волокнами, форма просвіту судин змінювалась. Появу грубоволокнистої сполучної тканини можна вважати кінцевим результатом перебудови тканини. Таким чином, вищеописана морфологічна картина свідчить про сприятливий плин процесів загоєння гострої виразки пілороантрального відділу шлунка у щурів.



На фоні хронічної інтоксикації нітратом натрію спостерігаються наступні морфологічні особливості патологічних процесів у вигляді атрофії та гіперплазії слизової оболонки шлунка, які негативно впливають на час загоєння відтвореної виразки. На 21 добу виразка стає хронічною, має ті ж самі розміри, що й на момент відтворення. Гістологічно спостерігається грануляційна тканина, що знаходиться на різних стадіях дозрівання.

## **2. Окисні процеси у шкірі за умов тривалого надходження нітрату натрію в організм білих щурів**

Уже через 2 тижні після початку введення в організм білих щурів нітрату натрію спостерігається зростання продукції  $\cdot\text{O}_2^-$  мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом на 41.7% ( $P < 0,01$ ) і НАДФН-оксидазою лейкоцитів на 63.9% ( $P < 0,02$ ).

Підвищення продукції  $\cdot\text{O}_2^-$  мітохондріальним (на 44.8%,  $P < 0,01$ ) і лейкоцитарним (на 75.0%,  $P < 0,02$ ) електронно-транспортними ланцюгами відзначається і через 1 місяць після початку введення в організм білих щурів нітрату натрію. У цей же період підвищується утворення  $\cdot\text{O}_2^-$  мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом (на 39.5%,  $P < 0,01$ ).

Після 3-місячного введення нітрату натрію істотно зростає загальний фон продукції  $\cdot\text{O}_2^-$  (на 27.1%;  $P < 0,05$ ). У цей період його вироблення мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом на 88.7% ( $P < 0,001$ ) перевищує дані контрольної групи, мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом – на 73.0% ( $P < 0,001$ ).

У цей же час продукція  $\cdot\text{O}_2^-$  при використанні як стимулятора пірогенала, що дозволяє оцінити внесок НАДФН-оксидазної системи лейкоцитів у процес продукції активних форм кисню, на відміну від даних на 14-ї і 30-ї доба інтоксикації, вірогідно не відрізняється від даних контрольної серії.

На 14 добу інтоксикації нітратом натрію достовірної зміни в зразках шкіри сигналу ЕПР (фактор  $g=2,007$ ), що реєструється при взаємодії NO з гемовим і негемовим залізом, ми не виявили. Проте, на 30-у добу хронічної інтоксикації нітратом натрію ми виявили достовірне зростання амплітуди сигналу. При цьому число спинів змінюється з  $13.83 \pm 1.21 \times 10^{13}$  (у контрольній серії) до  $22.33 \pm 1.65 \times 10^{13}$  ( $P < 0,05$ ), тобто на 61.9%.

Однак на 90-у добу хронічної інтоксикації нітратом натрію сигнал ЕПР, що відповідає комплексам NO з гемовим і негемовим залізом (фактор  $g=2,007$ ), зростає до  $24.27 \pm 0.46 \times 10^{13}$ , тобто на 61.9% перевищує дані контрольної серії ( $P < 0,02$ ).

При цьому нами встановлена пряма кореляційна залежність між рівнем залізо-нітрозильних комплексів і величиною продукції  $\cdot\text{O}_2^-$  мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом ( $r = 0,78$ ), що вказує на роль NO у забезпеченні 1-електронного відновлення кисню в дихальному ланцюзі мітохондрій.

Одночасний ріст утворення NO і  $\cdot\text{O}_2^-$  створює передумови до утворення в тканинах шкіри високореакційного пероксинітриту:  $\cdot\text{O}_2^- + \text{NO} \rightarrow \cdot\text{ONOO}\cdot$ .

Останній здатний породжувати ланцюгові реакції ПОЛ, викликати розриви і різко підсилювати утворення 8-гідроксидезоксигуанозину в ДНК, інгібувати мітохондріальне дихання.

Через 14 днів після початку введення в організм білих щурів нітрату натрію достовірних змін утворення ТБК-реактивних не виявлено. Це, мабуть, пов'язано з компенсаторним підвищенням антиоксидантного потенціалу, зокрема, у цей період вірогідно зростає активність супероксиддисмутази (на 45.5%,  $P < 0,01$ ) і каталази (на 28.1%,  $P < 0,05$ ).

Відомо, що синтез СОД індукується на рівні трансляції субстратом (тобто  $\cdot O_2^-$ ), а, як відмічалось вище, у цей період істотно зростає його продукція. Активність каталази індукується на генному рівні пероксидом водню [9], у зв'язку з чим активності цього ферменту і СОД знаходяться у взаємозв'язку, тому що СОД забезпечує каталазу субстратом, а остання регенерує кисень для потреб клітини.

При відтворенні 1-місячної інтоксикації нітратом натрію відзначається зростання концентрації ТБК-реактивних після 1,5-годинної інкубації в залізоаскорбатному буферному розчині – на 48.2% ( $P < 0,01$ ), що свідчить про активацію процесів вільно-радикального ПОЛ у тканинах шкіри білих щурів. У цей період вірогідно підвищується приріст ТБК-реактивних за час інкубації (на 56.0%,  $P < 0,001$ ), що вказує на виснаження антиоксидантного потенціалу в тканинах шкіри. Разом з тим, активність СОД на 27.7% ( $P < 0,02$ ) перевищує дані інтактної групи. У той же час, активність каталази прогресивно знижується й уступає величині контролю на 26.2% ( $P < 0,05$ ).

Одним з можливих механізмів зниження активності зазначеного ферменту, очевидно, є блокування іона заліза його активного центра, що утвориться в ході метаболізму нітрат- і нітрит-іонів NO [6]. На це вказує, зокрема, підвищена в цей період величина рівня парамагнітних комплексів NO з гемовим і негемовим залізом у зразках шкіри білих щурів, причому нами встановлена зворотна кореляційна залежність між рівнем цих комплексів і значенням каталазного показника ( $r = -0,70$ ).

Таким чином, у динаміці хронічної інтоксикації нітратом натрію в шкірі білих щурів відзначається погресуюче збільшення продукції оксиду азоту і супероксидного аніон-радикала. Основними джерелами останнього є мітохондріальний і мікросомальний електронно-транспортні ланцюги. Продукція супероксидного аніон-радикала НАДФН-оксидазою лейкоцитів у тканинах шкіри білих щурів обмежена часовим проміжком (на 14-30 добу). Хронічна інтоксикація нітратом натрію сприяє істотній активації процесів вільнорадикального пероксидного окиснення ліпідів і виснаженням антиоксидантного потенціалу в шкірі щурів уже на 30 добу інтоксикації. Зміна активності антиоксидантних ферментів у тканинах шкіри білих щурів носить фазний характер. На 14 добу інтоксикації активність СОД і каталази зростає, а надалі знижується (каталази – на 30 добу, СОД – після 3-місячної інтоксикації).

### 3. Функціональний стан шкіри при надлишковому утворенні оксиду азоту з екзогенних попередників (модель хронічної інтоксикації нітратом натрію)

У контрольній серії досвідів були виявлені істотні розходження між величинами електричного опору й електричної ємності в ділянках шкіри, що відповідають досліджуваним точкам акупунктури, і поза ними. Так, величина електричного опору поза біологічно активними точками на правих лапках (табл. 1) у інтактних тварин складає  $1288 \pm 23$  кОм, а в точках акупунктури GI-4 і E-36 – відповідно  $978 \pm 36$  і  $783 \pm 45$  кОм. Величина електричного опору поза біологічно активними точками на лівих лапках у інтактних тварин складає  $1308 \pm 28$  кОм, а в точках акупунктури GI-4 і E-36 – відповідно  $1098 \pm 28$  і  $899 \pm 24$  кОм.

При цьому звертають на себе увага достовірні розходження у величинах електричного опору шкіри в точках акупунктури правих і лівих лапок у інтактних білих щурів. У точці GI-4 на лівій лапці електричний опір на 12.3 % ( $P < 0,05$ ) перевищує таке в симетричній точці на правій лапці; у точці E-36 на лівій лапці цей показник на 14.8 % ( $P < 0,05$ ) перевищує такий у точці на правій лапці. Таким чином, отримані дані свідчать про існування функціональної асиметрії електрофізіологічних показників шкіри білих щурів у зоні біологічно активних точок.

Після 2-тижневого введення нітрату натрію зберігається достовірне розходження у величинах електричного опору в точці GI-4 (“Негу”) на лівій і правій лапках: значення зазначеного показника ліворуч на 15.8 % ( $P < 0,05$ ) перевищує відповідну величину праворуч. Після введення нітрату натрію протягом 1-го і 3-х місяців розходжень у величинах електричного опору в симетричних точках акупунктури виявити не вдається.

Електрична ємність шкіри поза біологічно активними точками на правих лапках у інтактних тварин складає  $0.12 \pm 0.03$  мкФ, а в точках акупунктури GI-4 і E-36 – відповідно  $0.12 \pm 0.03$  і  $0.42 \pm 0.04$  мкФ. На лівих лапках поза біологічно активними точками: у інтактних тварин –  $0.11 \pm 0.01$  мкФ, а в точках акупунктури GI-4 і E-36 – відповідно  $0.30 \pm 0.02$  і  $0.38 \pm 0.03$  мкФ.

У контрольній серії при оцінці величин електричної ємності шкіри в симетричних точках GI-4 відзначається функціональна асиметрія: у точці GI-4 на лівій лапці значення зазначеного показника на 28.6 % ( $P < 0,02$ ) уступає відповідній величині праворуч. При уведенні нітрату натрію функціональної асиметрії при оцінці електричної ємності в біологічно активних точках шкіри не виявлено.

Через 14 і 30 доби після початку введення в організм білих щурів нітрату натрію величини електричного опору й електричної ємності поза біологічно активними точками істотно не відрізняються від даних контрольної серії.

Однак, уже через 14 доби після початку введення нітрату натрію електричний опір у точках акупунктури GI-4 і E-36 відповідно на 27.6% ( $P < 0,001$ ) і 21.1% ( $P < 0,05$ ) на правих кінцівках і на 25.3 % ( $P < 0,001$ ) і 22.4 % ( $P < 0,01$ ) на лівих уступає величинам контрольної серії. Електрична ємність шкіри у точках акупунктури GI-4 і E-36 у цей період вірогідно не змінюється.

Через 30 діб після початку введення в організм білих щурів нітрату натрію величина електричного опору в точці акупунктури GI-4 на правій лапці уступає

даним контрольної серії на 27.2 % ( $P < 0,001$ ), а на лівій – на 33.9 % ( $P < 0,001$ ). У цей період істотно знижується електрична ємність шкіри: на правих кінцівках – у точках GI-4 і E-36 відповідно на 47.6 % ( $P < 0,01$ ) і 30.6 % ( $P < 0,05$ ), на лівій лапці тільки в точці E-36 – на 34.2 % ( $P < 0,05$ ).

Через 90 доби після початку введення в організм білих щурів нітрату натрію відзначається зменшення електричного опору шкіри (на правих лапках на 21.7 % ( $P < 0,001$ ), на лівих – на 13.8 % ( $P < 0,05$ )) поза біологічно активними точками. У точках акупунктури в цей період відзначається протилежна тенденція, пов'язана з певним підвищенням електричного опору шкіри. При цьому даний показник у точці E-36 на правій лапці на 22.6 % ( $P < 0,02$ ) перевищує результат контрольної серії. Відзначається істотне скорочення різниці між даними електричного опору шкіри в точках акупунктури і поза ними.

Через 90 діб після початку введення в організм білих щурів нітрату натрію електрична ємність шкіри поза біологічно активними точками істотно не відрізняється від даних контрольної серії. У точках акупунктури GI-4 і E-36 електрична ємність шкіри відповідно на 57.1 % ( $P < 0,001$ ) і 38.9 % ( $P < 0,02$ ) на правих кінцівках і на 30.0 % ( $P < 0,05$ ) і 34.2 % ( $P < 0,01$ ) на лівих уступає даним інтактної групи тварин. При цьому також просліджується істотне скорочення різниці між величинами електричної ємності шкіри в точках акупунктури і поза ними.

Моделлю для вивчення трансгландулярної проникності шкіри служила шкіра подошовних ділянок передніх і задніх лапок щурів, що зв'язано з наявністю на подушечках лапок у гризунів потових залоз, відсутніх на шкірі тулуба. Методика проби полягала в тім, що на шкіру подушечок усіх лапок білих щурів наносили краплю 1% розчину адреналіну, приготовленого *ex tempore*. У наших дослідженнях визначалася тривалість часу від початку надходження розчину у вивідні протоки потових залоз до поява мармурово-блідих ділянок шкіри.

Результати проби розцінювали як негативні (–) при відсутності збліднення шкіри; слабо позитивні (+) – за появою збліднення шкіри у вигляді окремих білих точок; позитивні (++) – при злитті точок збліднення й утворенні вузлуватої сітки; різко позитивні (+++) – при утворенні суцільної плями, близької за розміром до поміщеної на шкіру краплі.

Нанесення 1% розчину адреналіну на шкіру спини і подушечок усіх лапок білих щурів (без активації механізмів постперспіраційної проникності шкірного покриву для водяних розчинів речовин) у всіх серіях експериментів не супроводжувалося звуженням судин. Візуально досліджувані ділянки шкіри не змінювалися. Це свідчить про те, що як у інтактних тварин, так і при введенні нітрату натрію в досліджуваній термін транскорнеальне проникнення водорозчинних речовин відсутнє.

Для активації трансгландулярного шляху проникнення водорозчинних речовин лапки тварин поміщали в термокамеру з температурою 55-65°C (на 3 хв), потім різко заохолоджували до температури 25-30°C (протягом 2 хв), після чого знову піддавали тепловому впливу при температурі 55-65°C (3 хв) з наступним заохолодженням до температури 25-30°C (на 2 хв).

Виявлено, що при дослідженні інтактних тварин всі адреналінові проби на подушечках правих лапок дають негативний результат, що вказує на відсутність проникності шкірного бар'єра для водорозчинних речовин.

На 14 добу після початку введення нітрату натрію на шкірі 60% подушечок правих лапок результати адреналінової проби були слабо позитивними (+). На 30 добу хронічної інтоксикації нітратом натрію результати адреналінової проби були слабо позитивними (+) на шкірі 70% і позитивними (++) – 30% подушечок правих лапок. На 90 добу після початку введення нітрату натрію результати адреналінової проби були слабо позитивними (+) на шкірі 20%, позитивними (++) – 70% і різко позитивними (+++) – 10% подушечок правих лапок.

На 30 добу хронічної інтоксикації нітратом натрію були виявлені розходження у швидкості розвитку збліднення шкіри при позитивних результатах (+, ++, +++) адреналінової проби на подушечках правих передніх і задніх лапок. На подушечках правих передніх лапок збліднення розвивається через  $302.8 \pm 4.6$  с, а на подушечках правих задніх лапок –  $331.2 \pm 3.8$  с (на 9.1% пізніше,  $P < 0,001$ ).

На 90 добу після початку введення нітрату натрію на подушечках правих передніх лапок збліднення розвивається через  $282.8 \pm 1.9$  с, на подушечках правих задніх лапок –  $294.4 \pm 3.0$  с (на 4.1% пізніше,  $P < 0,01$ ). Ці дані свідчать про наявність передньо-задньої асиметрії показників швидкості проникнення водорозчинних речовин через шкірний бар'єр. Це, очевидно, може бути пов'язане з різним числом потових залоз на подушечках лівих і правих лапок, що виявляється в період найбільшої активації їхньої функціональної активності.

Таким чином, дія високих концентрацій NO спрямована на активізацію процесу потовиділення, що передує трансгландулярному переносу водорозчинних речовин через шкіру.

Виявлене нами у динаміці хронічної інтоксикації нітратом натрію посилення трансгландулярного шляху проникнення водорозчинних речовин не повною мірою узгоджується з отриманими нами раніше даними про розвиток біоенергетичної недостатності в тканинах шкіри (виявлене зниження концентрації АТФ і енергетичного потенціалу). Відомо, що потовиділення – неодмінна фаза, що передує реабсорбції води і розчинених у ній речовин – є АТФ-залежним процесом (АТФ необхідний у даному випадку і як макроерг, і як регуляторний фактор). Однак, дані літератури підкреслюють, що NO відіграє важливу роль у регуляції процесу екскреції поту екринними залозами. Так, у хворих з гіпергідрозом (посиленою пітливістю) рівень NO у плазмі крові істотно вище, ніж у здорових облич. NO і АФК здатні безпосередньо активувати як центральний, так і периферичний компоненти симпатичного відділу нервової системи, що регулюють потовиділення.

У динаміці інтоксикації відзначається прискорення появи збліднення в ході адреналінової проби. Так, на 90 добу після початку введення нітрату натрію на подушечках правих передніх лапок збліднення розвивається на 6.6% ( $P < 0,01$ ) раніше, ніж на 30 добу інтоксикації. На подушечках правих задніх лапок збліднення розвивається на 11.1% ( $P < 0,001$ ) раніше, ніж на 30 добу інтоксикації.

При оцінці адреналінових проб на подушечках лівих лапок у інтактних тварин також відмічається негативний результат, що підтверджує відсутність проникності шкіри для водорозчинних речовин.

На 14 добу після початку введення нітрату натрію на шкірі 40% подушечок лівих лапок результати адреналінової проби були слабо позитивними (+). На 30 добу хронічної інтоксикації нітратом натрію результати адреналінової проби були слабо позитивними (+) на шкірі 60% і позитивними (++) – 40% подушечок лівих лапок. На 90 добу після початку введення нітрату натрію результати адреналінової проби були слабо позитивними (+) на шкірі 20%, позитивними (++) – 80% подушечок лівих лапок.

Приведені дані істотно не відрізняються від результатів постановки адреналінової проби на подушечках правих лапок.

На 30 добу хронічної інтоксикації нітратом натрію також виявлені розходження у швидкості розвитку збліднення шкіри при позитивних результатах (+, ++, +++) адреналінової проби на подушечках лівих передніх і задніх лапок. На подушечках лівих передніх лапок збліднення розвивається через  $305.6 \pm 5.2$  с, а на подушечках лівих задніх лапок –  $324.9 \pm 4.2$  с (на 6,3 % пізніше,  $P < 0,02$ ).

На 90 добу після початку введення нітрату натрію на подушечках лівих передніх лапок збліднення відзначається через  $286.4 \pm 2.6$  с, на подушечках лівих задніх лапок –  $296.8 \pm 3.3$  с (на 3.6% пізніше,  $P < 0,05$ ). Ці дані підтверджують наявність передньо-задньої асиметрії показників швидкості проникнення водорозчинних речовин через шкірний бар'єр у динаміці хронічної інтоксикації нітратом натрію.

Час виявлення збліднення шкіри при адреналіновій пробі на подушечках лівих лапок також помітно скорочується при 90-денній інтоксикації в порівнянні з даними на 30 добу: на подушечках правих передніх лапок – на 6.3% ( $P < 0,01$ ) раніше, правих задніх лапок – на 8.6% ( $P < 0,001$ ) раніше.

#### **4. Метаболічні та морфофункціональні зміни в органах травлення за умов хронічної інтоксикації нітратом та відпрацьованого моторного масла**

За умов 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію та введення відпрацьованого моторного масла у тканинах пародонту відмічаються зміни утворення супероксидного аніон-радикалу мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом та НАДФН-оксидазою лейкоцитів, що є подібними до таких при ізольованому введенні ВВМ. Так, продукція супероксидного аніон-радикалу мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом збільшується до  $30.32 \pm 0.99$  нмоль/мг·с (на 58.7%,  $p < 0,001$ ), що на 14.1% ( $p < 0,05$ ) перевищує дані серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію без уведення ВВМ.

Вироблення супероксидного аніон-радикалу НАДФН-оксидазою лейкоцитів збільшується до  $1.37 \pm 0.10$  нмоль/мг·с (на 55.7%,  $p < 0,001$ ), що на 107.0% ( $p < 0,001$ ) перевищує дані серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію без уведення ВВМ.

У той же час, при оцінці продукції супероксидного аніон-радикалу мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом, яка підвищується до  $37.6 \pm 1.4$  нмоль/мг·с (на 65.6%,  $p < 0,001$ ), виявлено перевищення (на 17.1%,  $p < 0,02$ ) даних серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію, що не є характерним за умов ізольованого введення ВВМ.

Таким чином, введення відпрацьованого моторного масла на тлі 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію призводить до збільшення продукції супероксидного аніон-радикалу мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом.

За умов 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію та введення відпрацьованого моторного масла збільшення концентрації ТБК-реактантів після 1,5 годинної інкубації тканин пародонту у залізо-аскорбатному буферному розчині та їхнього приросту є аналогічним такому за умов ізольованого введення білим щурам ВММ.

Так, концентрація ТБК-реактантів після інкубації підвищується до  $97.4 \pm 5.2$  мкмоль/г (на 134.0%,  $p < 0,001$ ), що на 41.2% ( $p < 0,01$ ) перевищує дані серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію без уведення ВММ. Приріст концентрації ТБК-реактантів за час інкубації збільшується до  $34.4 \pm 1.8$  мкмоль/г (на 109.0%,  $p < 0,001$ ), що на 28.4% ( $p < 0,02$ ) перевищує дані серії, в якій відтворювали ізольовану хронічну інтоксикацію нітратом натрію.

Проте, за умов 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію та введення відпрацьованого моторного масла збільшується також концентрація ТБК-реактантів до інкубації – до  $63.0 \pm 3.5$  мкмоль/г (на 151.0%,  $p < 0,001$ ). Ці дані на 49.3% ( $p < 0,01$ ) перевищують дані серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію без уведення ВММ, і не є характерними для ізольованого введення ВММ.

Таким чином, введення відпрацьованого моторного масла на тлі 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію призводить до активації у тканинах пародонту процесів ПОЛ, на що вказує збільшення концентрації ТБК-реактантів до інкубації тканин пародонту у прооксидантному буферному розчині.

Активність каталази за умов 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію та введення відпрацьованого моторного масла знижується – до  $1.59 \pm 0.24$  мкат/г (на 44.6%,  $p < 0,01$ ), що є характерним як для серії з ізольованою хронічною інтоксикацією нітратом натрію, так і з введенням ВММ.

Введення відпрацьованого моторного масла на тлі 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію істотно позначається на величинах біохімічних показників, які характеризують стан білків сполучної тканини.

Так, відмічається достовірне зниження вмісту фукози, зв'язаної з білками, до  $6.1 \pm 0.4$  мкмоль/г (на 53.1%,  $p < 0,001$ ). Ці данні достовірно (на 33.7%,  $p < 0,01$ ) поступаються результату серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію без уведення ВММ, що не є характерними для ізольованого введення ВММ.

Концентрація N-ацетилнейрамінової кислоти підвищується до  $5.4 \pm 0.4$  мкмоль/г (на 86.2%,  $p < 0,001$ ), що достовірно (на 28.6%,  $p < 0,05$ ) перевищує дані серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію без уведення ВММ, що також не є характерним для ізольованого введення ВММ.

Вміст гексуранових кислот збільшується до  $14.6 \pm 0.6$  мкмоль/г (на 43.1%,  $p < 0,001$ ). Ці данні достовірно перевищують як результати серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію (на 15.0%,  $p < 0,05$ ), так і серії з ізольованим введенням ВММ (на 13.2%,  $p < 0,05$ ).

Загальна протеолітична активність збільшується до  $4.03 \pm 0.18$  мкмоль/г  $\times$  хв (на 98.5%,  $p < 0,001$ ), що перевищує як результат серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію (на 37.1%,  $p < 0,001$ ), так і серії з ізольованим введенням ВММ (на 51.5%,  $p < 0,01$ ).

Таким чином, введення відпрацьованого моторного масла потенціює ефекти хронічної інтоксикації нітратом натрію, пов'язані з дезорганізацією сполучної тканини пародонту внаслідок деполімеризації глікопротеїнів і протеогліканів, підвищує загальну протеолітичну активність тканин пародонту.

Введення відпрацьованого моторного масла за умов 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію достовірно (на 13.2%,  $p < 0,05$ ) обмежує продукцію супероксидного аніон-радикалу мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом (яка складає  $25.12 \pm 0.98$  нмоль/мг $\cdot$ с, що на 48.0% перевищує величину інтактної серії) у тканинах СОШ у порівнянні з даними серії, у якій ізольовано вводили ВММ. Тобто, отриманий результат відповідає величині, отриманій у серії з ізольованим відтворенням хронічної нітратної інтоксикації.

В той же час, введення відпрацьованого моторного масла за умов 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію змінює напрямок змін продукції супероксидного аніон-радикалу лейкоцитами, що відмічався за умов ізольованої нітратної інтоксикації.

Так, вироблення супероксидного аніон-радикалу НАДФН-оксидазою лейкоцитів СОШ збільшується до  $1.38 \pm 0.18$  нмоль/мг $\cdot$ с (на 50.0%,  $p < 0,05$ ), що на 94.4% ( $p < 0,01$ ) перевищує дані серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію без уведення ВММ. За умов останньої відмічається, навпроти, істотне зменшення продукції супероксида лейкоцитарним електронно-транспортним ланцюгом.

У той же час, при оцінці продукції супероксидного аніон-радикалу мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом, яка підвищується до  $29.22 \pm 1.37$  нмоль/мг $\cdot$ с (на 48.7%,  $p < 0,001$ ), не виявлено суттєвих відмінностей у порівнянні з даними інших дослідних серій.

Таким чином, моделювання 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію обмежують ріст продукції мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом, пов'язаний з дією відпрацьованого моторного масла. Введення відпрацьованого моторного масла на тлі 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію підвищує у СОШ білих щурів продукцію супероксидного аніон-радикалу НАДФН-оксидазою лейкоцитів, яка є істотно меншою у випадку ізольованої нітратної інтоксикації.

За умов 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію та введення відпрацьованого моторного масла концентрація ТБК-реактивів до інкубації збільшується до  $38.4 \pm 2.5$  мкмоль/г (на 127.0%,  $p < 0,001$ ), після інкубації – до  $66.3 \pm 3.4$  мкмоль/г (на 113.0%,  $p < 0,001$ ). Ці дані відповідно на 42.8% ( $p < 0,01$ ) та 35.0% ( $p < 0,01$ ) перевищують дані серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію без уведення ВММ, і не є характерними для ізольованого введення ВММ.

Приріст концентрації ТБК-реактивів за час інкубації тканин СОШ (як і у випадку пародонту) збільшується (до  $27.9 \pm 1.4$  мкмоль/г, тобто на 96.5%,  $p < 0,001$ ), що на 25.7% ( $p < 0,02$ ) перевищує дані серії, в якій відтворювали



ізолювану хронічну інтоксикацію нітратом натрію. Але подібні зміни мають місце і при ізолюваному введенні ВММ.

Таким чином, введення відпрацьованого моторного масла на тлі 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію потенціює активацію у тканинах СОШ процесів ПОЛ, на що вказує збільшення концентрації ТБК-реактивів до інкубації до і після інкубації тканин СОШ у прооксидантному буферному розчині.

За умов 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію та введення відпрацьованого моторного масла істотно зменшується активність СОД до  $10.0 \pm 1.3$  од. акт. (на 47.9%,  $p < 0,001$ ). Ці дані достовірно поступаються як результатам серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію (на 36.7%,  $p < 0,02$ ), так і серії з ізолюваним введенням ВММ (на 29.6%,  $p < 0,05$ ).

За цих умов активність каталази не відрізняється від даних інтактної групи та серії з ізолюваним введенням ВММ, проте достовірно перевищує (на 56.7%,  $p < 0,05$ ) величину серії з відтворенням ізолюваної інтоксикації нітратом натрію.

Таким чином, за умов сукупної дії 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію та введення відпрацьованого моторного масла відмічається взаємне потенціювання пригнічення активності СОД у тканинах СОШ. Введення відпрацьованого моторного масла на тлі 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію попереджує істотне зниження активності каталази, що має місце за умов ізолюваної нітратної інтоксикації.

За умов 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію та введення відпрацьованого моторного масла величина рН внутрішньошлункової рідини істотно не змінюється.

Загальна протеолітична активність складає  $7.27 \pm 0.16$  мкмоль/г  $\times$  хв, що на 64.5% ( $p < 0,001$ ) перевищує дані інтактної групи тварин. Цей результат істотно перевищує як дані серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію (на 24.3%,  $p < 0,001$ ), так і серії з ізолюваним введенням ВММ (на 41.7%,  $p < 0,001$ ).

Введення відпрацьованого моторного масла на тлі 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію істотно позначається на величинах біохімічних показників, які характеризують стан протекторних білків СОШ.

Вміст фукози, зв'язаної з білками, знижується до  $5.6 \pm 0.6$  мкмоль/г (на 60.6%,  $p < 0,001$ ). Ці дані достовірно поступаються як результатам серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію (на 42.9%,  $p < 0,01$ ), так і серії з ізолюваним введенням ВММ (на 34.9%,  $p < 0,05$ ).

Концентрація N-ацетилнейрамінової кислоти збільшується до  $7.5 \pm 0.4$  мкмоль/г (на 63.0%,  $p < 0,001$ ), що достовірно перевищує як результати серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію (на 29.3%,  $p < 0,01$ ), так і серії з ізолюваним введенням ВММ (на 17.2%,  $p < 0,05$ ).

Вміст гексуранових кислот збільшується до  $13.2 \pm 0.5$  мкмоль/г (на 50.0%,  $p < 0,001$ ). Ці дані також достовірно перевищують як результати серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію (на 22.2%,  $p < 0,01$ ), так і серії з ізолюваним введенням ВММ (на 17.9%,  $p < 0,01$ ).

Таким чином, за умов сукупної дії 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію та введення відпрацьованого моторного масла відмічається взаємне потенціювання процесів дезорганізації сполучної тканини СОШ внаслідок

деполімеризації глікопротеїнів і протеогліканів, підвищення загальної протеолітичної активності.

Введення відпрацьованого моторного масла на тлі 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію істотно збільшує частоту ерозивно-виразкових уражень СОШ до 90%. При цьому множинність ерозій і виразок на 1-го щура підвищується відповідно до  $1,2 \pm 0,24$  та  $1,7 \pm 0,37$ , середній ступінь виразки (СВ) у групі – до 1,2; виразковий індекс – до 0,96.

Таким чином, за умов сукупної дії 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію та введення відпрацьованого моторного масла відмічається істотне збільшення ерозивно-виразкових уражень СОШ білих щурів.

За умов введення відпрацьованого моторного масла за умов 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію продукція супероксидного аніон-радикалу мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом у тканинах тонкої кишки складає  $32.66 \pm 0.94$  нмоль/мг·с, що на 57.9% ( $p < 0,001$ ) перевищує величину інтактної серії. Ця величина достовірно (на 28.4%,  $p < 0,001$ ) перевищує дані серії з ізольованим відтворенням хронічної інтоксикації нітратом натрію, проте поступається (на 10.9%,  $p < 0,02$ ) результату серії, у якій ізольовано вводили ВММ.

Введення відпрацьованого моторного масла за умов 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію у тканинах тонкої кишки, як і при дослідженні СОШ, істотно підвищує продукцію супероксидного аніон-радикалу лейкоцитами. Так, вироблення супероксидного аніон-радикалу НАДФН-оксидазою лейкоцитів у тканинах тонкої кишки збільшується до  $1.77 \pm 0.17$  нмоль/мг·с (на 58.0%,  $p < 0,02$ ), що на 105.0% ( $p < 0,001$ ) перевищує дані серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію без уведення ВММ. За умов останньої відмічається, навпроти, істотне зменшення продукції супероксида лейкоцитарним електронно-транспортним ланцюгом.

При оцінці продукції супероксидного аніон-радикалу мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом, яка підвищується до  $32.66 \pm 0.94$  нмоль/мг·с (на 46.5%,  $p < 0,001$ ), не виявлено суттєвих відмінностей у порівнянні з даними інших дослідних серій.

Таким чином, моделювання 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію обмежую у тканинах тонкої кишки підвищення продукції мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом, пов'язаний з дією відпрацьованого моторного масла.

Введення відпрацьованого моторного масла на тлі 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію підвищує у тканинах тонкої кишки білих щурів продукцію супероксидного аніон-радикалу НАДФН-оксидазою лейкоцитів, яка істотно зменшується у випадку ізольованої нітратної інтоксикації.

За умов 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію та введення відпрацьованого моторного масла у тканинах тонкої кишки концентрація ТБК-реактивних до інкубації збільшується до  $58.4 \pm 3.1$  мкмоль/г (на 117.0%,  $p < 0,001$ ), після інкубації – до  $85.0 \pm 4.9$  мкмоль/г (на 105.0%,  $p < 0,001$ ). Ці дані відповідно на 47.5% ( $p < 0,01$ ) та 43.1% ( $p < 0,01$ ) перевищують дані серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію без уведення ВММ, і не є характерними для ізольованого введення ВММ.

Приріст концентрації ТБК-реактивів за час інкубації тканин СОШ (як і у випадку пародонту та СОШ) збільшується (до  $26.6 \pm 1.5$  мкмоль/г, тобто на 83.4%,  $p < 0,001$ ), що на 34.3% ( $p < 0,01$ ) перевищує дані серії, в якій відтворювали ізольовану хронічну інтоксикацію нітратом натрію. Подібні зміни характерні і для серії з ізольованим введенням ВММ.

Таким чином, введення відпрацьованого моторного масла на тлі 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію потенціює активацію у тканинах тонкої кишки процесів ПОЛ, на що вказує збільшення концентрації ТБК-реактивів до інкубації до і після інкубації тканин СОШ у прооксидантному буферному розчині.

За умов 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію та введення відпрацьованого моторного масла активність СОД істотно зменшується до  $8.0 \pm 0.6$  од. акт. (на 39.4%,  $p < 0,001$ ). Ця величина достовірно поступається як результату серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію (на 28.6%,  $p < 0,001$ ), так і серії з ізольованим введенням ВММ (на 18.4%,  $p < 0,05$ ).

За цих умов активність каталази знижується до  $1.07 \pm 0.09$  мкат/г (на 35.5%,  $p < 0,01$ ), але достовірно не відрізняється від даних інших дослідних груп.

Таким чином, за умов сукупної дії 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію та введення відпрацьованого моторного масла у тканинах тонкої кишки також відмічається взаємне потенціювання пригнічення активності СОД.

Введення відпрацьованого моторного масла на тлі 60-денної хронічної інтоксикації нітратом натрію істотно позначається на величинах біохімічних показників, які характеризують стан білків сполучної тканини.

Так, у тканинах тонкої кишки відмічається достовірне зниження вмісту фукози, зв'язаної з білками, до  $7.3 \pm 0.9$  мкмоль/г (на 57.1%,  $p < 0,001$ ). Цей результат достовірно (на 37.1%,  $p < 0,02$ ) поступається такому у серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію без введення ВММ і не є характерними для ізольованого введення ВММ.

Концентрація N-ацетилнейрамінової кислоти підвищується до  $9.4 \pm 0.9$  мкмоль/г (на 67.9%,  $p < 0,02$ ), але достовірних відмінностей від даних інших дослідних серій не виявлено.

Вміст гексуринових кислот збільшується до  $15.9 \pm 0.7$  мкмоль/г (на 39.5%,  $p < 0,01$ ). Ці дані достовірно перевищують результат серії, в якій моделювали хронічну інтоксикацію нітратом натрію (на 16.1%,  $p < 0,05$ ).

Таким чином, введення відпрацьованого моторного масла потенціює ефекти хронічної інтоксикації нітратом натрію, пов'язані з дезорганізацією сполучної тканини тонкої кишки внаслідок деполімеризації глікопротеїнів і протеогліканів.

## ВИСНОВКИ

1. Підвищене утворення оксиду азоту (модель 90-добової хронічної інтоксикації нітратом натрію в дозі 200 мг/кг) призводить до прогресуючих порушень окиснювальних процесів у слизовій оболонці шлунка білих щурів, що відбивається у збільшенні продукції супероксидного аніон-радикалу мітохондріальним та мікосомальним електронно-транспортним ланцюгами, зниженні його вироблення NADPH-оксидазою лейкоцитів, активації процесів пероксидного окиснення ліпідів, зниженні антиоксидантного потенціалу, пригніченні ресинтезу АТФ, підвищенні загальної протеолітичної активності, дезорганізації сполучнотканинних структур слизової оболонки шлунка білих щурів, про що свідчить збільшення вмісту в останній N-ацетилнейрамінової та гексуранових кислот.

2. При підвищеному утворенні оксиду азоту (модель 90-добової хронічної інтоксикації нітратом натрію) спостерігаються істотні структурні зміни в слизовій оболонці шлунка, що полягають у розвитку дисрегенераторних процесів у вигляді атрофії та гіперплазії, виникненні в 40% білих щурів ерозивно-виразкових уражень.

3. Відтворення пептичної виразки при підвищеному утворенні оксиду азоту (модель 90-добової хронічної інтоксикації нітратом натрію) супроводжується посиленням біоенергетичної недостатності (знижується вміст АТФ та енергетичний потенціал), підвищенням продукції супероксидного аніон-радикалу мікосомальним і мітохондріальним електронно-транспортними ланцюгами клітин слизової оболонки шлунка, активацією в них процесів пероксидного окиснення ліпідів, зниженням активності антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази).

4. Відтворення пептичної виразки при підвищеному утворенні оксиду азоту (модель 90-добової хронічної інтоксикації нітратом натрію) потенціює процес дезорганізації сполучнотканинних структур слизової оболонки шлунка білих щурів, що супроводжується збільшенням множинності пептичних виразок, середнього ступеня виразки в групі, виразкового індексу.

5. За умов підвищеного утворення оксиду азоту (модель 90-добової хронічної інтоксикації нітратом натрію) ацетатна пептична виразка набуває ознак хронічної (на 21 добу після моделювання), має ті ж самі розміри, що й на момент відтворення. Гістологічно спостерігається грануляційна тканина, що знаходиться на різних стадіях дозрівання.

6. Пригнічення NO-синтаз (та окремо індукбельної NO-синтази) при підвищеному утворенні оксиду азоту на тлі хронічної нітратної інтоксикації за умов відтворення пептичної виразки обмежує продукцію супероксидного аніон-радикалу мікосомальним електронно-транспортним ланцюгом у клітинах слизової оболонки шлунка, а також NADPH-оксидазою лейкоцитів, обмежує зниження активності каталази, а також падіння енергетичного потенціалу. Селективне пригнічення індукбельної NO-синтази призводить до обмеження ліпопероксидації, тоді як сукупне інгібування NO-синтаз (у т.ч. конституційної) сприяє активації цього процесу в тканинах слизової оболонки шлунка. Введення L-аргініну сприяє активації пероксидного окиснення ліпідів у тканинах слизової

оболонки шлунка за умов ульцерогенезу, при цьому активність мідь- та залізовмісних антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази) істотно не змінюється.

7. Зменшення утворення оксиду азоту індукційною NO-синтазою обмежує дезорганізацію сполучнотканинних структур слизової оболонки шлунка білих щурів за умов ульцерогенезу на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію (90 діб), про що свідчить зниження концентрації продукту деградації сіалоглікопротеїнів – N-ацетилнейрамінової кислоти, що супроводжується зменшенням числа виразок на 1-го щура. Введення L-аргініну перед моделюванням пептичної виразки в умовах надлишкового утворення NO (модель 90-добової хронічної інтоксикації нітратом натрію) не позначається на тяжкості виразкового процесу в слизовій оболонці шлунка.

8. У динаміці хронічної інтоксикації нітратом натрію в шкірі відмічається погресуюче збільшення продукції оксиду азоту і супероксидного аніон-радикала, активація процесів пероксидного окиснення ліпідів і виснаження антиоксидантного потенціалу вже на 30 добу зотруєння. Виявлено фазний характер зміни в шкірі активності антиоксидантних ферментів.

9. Тривале надходження в організм тварин нітрату натрію в дозі 200 мг/кг супроводжується істотним зниженням електричного опору шкіри поза біологічно активними точками (через 3 місяці після початку введення нітрату натрію). У точках акупунктури GI-4 (“Негу”) і E-36 (“Zusanli”) електричний опір шкіри знижується вже після 2-тижневої інтоксикації нітратом натрію. Після 3-місячного затруєння виявлена тенденція до росту електричного опору шкіри з істотним скороченням різниці між його величинами у точках акупунктури та поза ними. У динаміці інтоксикації в знижується електрична ємність шкіри, зникає асиметрія показників електричного опору в точках акупунктури GI-4 і E-36 і електричної ємності у GI-4 на шкірі правої та лівої лапок.

10. Порушення окиснювальних процесів грають провідну роль у пошкодженні тканин органів травлення (пародонту, шлунку, тонкої кишки) за умов дії відпрацьованого автомобільного масла на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію, що виявляється у істотному збільшенні продукції АФК мікросомальним, мітохондріальним електронно-транспортними ланцюгами та НАДФН-оксидазою лейкоцитів, активацією пероксидного окиснення ліпідів з дисбалансом антиоксидантних ферментів. За умов тривалої сукупної дії відпрацьованого автомобільного масла та нітрату натрію має місце потенціювання порушень окисного обміну, дезорганізації сполучної тканини пародонту, слизової оболонки шлунку та тонкої кишки, що супроводжувалося більш тяжкими пошкодженнями структури і функції цих органів.

## ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Ажипа Я.И. Медико-биологические аспекты применения метода электронного парамагнитного резонанса. - М.: Наука, 1983. - 527 с.
2. Ажипа Я.И., Реутов В.П., Каюшин Л.П. Экологические и медико-биологические проблемы загрязнения окружающей среды нитратами и нитритами // Физиология человека. - 1990. - Т.16, N.3. - С.131-149.
3. Бондаренко В.В., Соколов Н.А., Мищенко А.В., Костенко А.Г., Вплив хронічної інтоксикації на ферментну активність слинних залоз // Актуал. пробл. сучасн. мед.: Вісн. Укр. мед. стомат. акад.- 2006.- Т. 6, вип.4 (16).- С. 159-160.
4. Брусов О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина // Бюл. эксперим. биологии и медицины - 1976. - N.1. - С.33-35.
5. Бурбелло А.Г., Баскович Г.А., Доброхотова Е.Г., Слесарев В.И. Защитное действие антиоксидантов при метгемоглобинемии, вызванное нитритом натрия в эксперименте // Гиг. труда и проф. забол. - 1991. - N.8. - С.13-15.
6. Ванин А.Ф. Оксид азота как биорегулятор // Молекулярная и медицинская биотехнология. - Л., 1990. - С.4-12.
7. Ванин А.Ф. К вопросу о стабильности динитрозильного комплекса железа с цистеином как кандидата на роль эндотелиального фактора релаксации кровеносных сосудов // Биохимия. - 1995. - Т.60, Вып.2. - С.308-314.
8. Варич В.Я., Ванин А.Ф., Овсянникова Л.М. Обнаружение эндогенной окиси азота в печени мышей методом электронного парамагнитного резонанса // Биофизика. - 1987. - Т.32, Вып.6. - С.1062-1063.
9. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.- М.: Наука, 1972. - 236 с.
10. Денисенко С.В., Костенко В.А. Изменения продукции активных форм кислорода в семенниках белых крыс в условиях хронической интоксикации нитратом натрия // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – №4. – С.44-46.
11. Денисенко С.В., Костенко В.А. Изменения митохондриального окисления и фосфорилирования в семенниках белых крыс в условиях избыточного поступления в их организм нитрата натрия // Укр. биохим. журн. – 2003. – Т.75, №1. – С.95-97.
12. Денисенко С.В. Изменения содержания и соотношения адениннуклеотидов в семенниках белых крыс в условиях избыточного поступления в организм нитрата натрия // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Укр. мед. стоматол. акад. – 2002. – Т.2, №1. – С.16-17.
13. Денисенко С.В. Опосередкованість порушень ембріо- та фетогенезу нітратною інтоксикацією самців і коригувальний вплив мексидолу на ці процеси / Денисенко С.В. // Вісн. Сумськ. держ. ун-ту : Серія Медицина. – 2005. – №3(75). – С. 37–39.
14. Денисенко С.В. Особливості спермограми при хронічній інтоксикації нітратом натрію // Вісн. пробл. біол. і мед. – 2002. – №7-8. – С.38-41.
15. Дмитриев Л.Ф., Иванова М.В., Иванов И.И. Синтез АТФ в митохондриях: взаимодействие редокс-цепей внешней и внутренней мембран // Докл. АН СССР. - 1990. - Т.312, N.4. - С.986-989.

16. Дмитриев Л.Ф., Иванова М.В., Иванов И.И. Синтез АТФ в митохондриях печени можно ингибировать и стимулировать, генерируя супероксид с помощью УФ облучения // Биол. мембраны. - 1990. - Т.7, N.9. - С.961-965.
17. Дмитриев Л.Ф., Иванова М.В., Давлетшина Л.Н. Создание на внутренней мембране митохондрий  $\Delta\mu\text{H}^+$  250 мВ является необходимым, но не достаточным условием синтеза АТФ // Биохимия. - 1993. - Т.58, N.2. - С.255-260.
18. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В.Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - 528с.
19. Костенко А.Г., Костенко В.О., Цебржинський О.І., Глебова Л.Ю., Бондаренко В.В., Міщенко А.В., Денисенко С.В., Романцев О.Ю. Роль змін прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в розвитку різних патологічних процесів // Мат. 3 Національного конгресу патофізіологів України. - Одеса, 2000. - С. 82-83.
20. Костенко А.Г., Міщенко А.В. Зміна активності антиоксидантного захисту і процесів перекисного окислення ліпідів у тканинах тонкого кишечника і печінці при фтористій інтоксикації та радіації // Одеський медичний журнал. -2000. - №6. - С. 13-15.
21. Костенко А.Г., Міщенко А.В. Зміна тканинного дихання й окисного фосфорилювання в тканинах тонкого кишечника і печінки білих пацюків під впливом фтористої інтоксикації та радіації // Вісник Вінницького державного медичного університету. - 2001. - Т. 5., №2.-С. 329-331.
22. Костенко А.Г., Міщенко А.В. Вплив поєднаної хронічної дії підвищених доз натрію фториду та іонізуючого опромінення на антиоксидантний статус та енергетичний обмін у печінці тварин // Український радіологічний журнал. - 2001.- №4.- С. 413-417.
23. Костенко А.Г., Мищенко А.В., Глебова Л.Ю., Филатова В.Л., Нижниченко Н.Н. Изменение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в тканях тонкого кишечника и печени белых крыс при воздействии фтористой интоксикации и радиации // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії.-2002.- Т. 2., вип. 1. - С. 25-26.
24. Костенко А.Г., Мищенко А.В. Влияние комплекса антиоксидантов на состояние свободнорадикального окисления в печени и крови при введении фторида натрия и воздействии ионизирующей радиации // Український медичний альманах. - 2002. - Т. 5. - №1- С. 81-84.
25. Костенко А.Г., Мищенко А.В. Изменение содержания ядерной ДНК, цитоплазматической РНК и суммарного белка в печени крыс, облученных рентгеновскими лучами // Світ медицини та біології -2007.-№2.-С. 95-97.
26. Костенко В.А., Батухина И.В., Левков А.А. Луценко Б.А., Оренчук Е.П., Скотникова Л.В., Соболева Н.А. Не только концентрация, но и происхождение оксида азота определяет его патогенетическую или саногенетическую роль // Патологія. – 2008. – Т.5, №2. - С.58.
27. Костенко В.А., Глебова Л.Ю. Токсическое действие нитратов и нитритов на организм человека и теплокровных животных // Вестник проблем биологии и медицины. - 1996. - №11. - С.1-14.
28. Костенко В.А., Глебова Л.Ю., Мельник Н.Н., Филатова В.Л., Мищенко А.В. Антигипоксанты метаболического действия - перспективные средства коррекции

- окислительных и репаративных процессов в тканях // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української Медичної стоматологічної академії. - 2003. - Т. 3., Вип. 1.-С. 4-8.
29. Костенко В.А., Крышталь Н.В., Мищенко А.В., Оренчук Е.П., Щириков А.В., Хмиль Е.В. Роль окислительного метаболизма в патогенезе раневого процесса // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії. -2003.-Т. 3., вип. 2.- С. 119-122.
30. Костенко В.О. Зміни енергетичного метаболізму в нирках білих щурів у динаміці гострої інтоксикації нітратом натрію // Фізіол. журн. - 1995. - Т.41, N.5-6. - С.91-96.
31. Костенко В.О., Батухіна І.В., Луценко Б.О., Мельник Н.М., Оренчук О.П., Щириков О.В. Регуляція сукцинатвмісними антигіпоксантами нітрат- та нітритредуктазного механізму утворення оксиду азоту // III національний з'їзд фармакологів України "Фармакологія 2006 – крок у майбутнє", тези доповідей. – Одеса, 2006. – С. 80.
32. Костенко В.О., Глебова Л.Ю., Денисенко С.В., Луценко Б.О., Назаренко С.М., Оренчук О.П., Щириков О.В. Механізми порушення репаративних процесів у тканинах при надлишковому утворенні оксиду азоту в умовах хронічної інтоксикації нітратом натрію // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: Тр. Крымского гос. мед. ун-та им. С.И.Георгиевского. – 2006. – Т.142, Ч.3. – С.223.
33. Костенко В.О., Костенко А.Г., Денисенко С.В., Оренчук О.П., Щириков О.В., Глебова Л.Ю., Міщенко А.В. Механізми порушення окисних процесів у тканинах при надлишковому утворенні оксиду азоту з екзогенних попередників // Клін. та експ. патол. - 2004. – Т.3, № 2 (Ч.1). - С.202-204.
34. Костенко В.О., Луценко Б.О., Оренчук О.П., Щириков О.В., Назаренко С.М., Міщенко А.В. Стан репаративних процесів у тканинах при надлишковому утворенні оксиду азоту в умовах хронічної інтоксикації нітратом натрію // II з'їзд токсикологів України, тези доповідей. – К., 2004. – С.171.
35. Костенко В.О., Цебржинський О.І. Продукція супероксидного аніон-радикала та оксиду азоту у тканині нирок після хірургічного втручання // Фізіол. журн. - 2000. - Т.46, №5. - С.56-62.
36. Малышев И.Ю., Монастырская Е.А., Смирин Б.В., Манухина Е.Б. Гипоксия и оксид азота // Вестн. РАМН. - 2000. - N.9. - С.44-48.
37. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление. - М.: Медицина, 1991. - 272 с.
38. Методы исследования в профпатологии / Под ред. О.Г.Архиповой. - М.: Медицина, 1988. - 208 с.
39. Мешкова П.П., Северин С.Е. Практикум по биохимии животных. - М.: Советская наука, 1950. - 290с.
40. Мищенко А.В. Влияние гипербарической оксигенации на выживаемость белых крыс при экспериментальной острой фтористой интоксикации// Вестник проблем биологии и медицины. 1997.-Вип. 19.- С.88-93.
41. Мищенко А.В. Механизмы повреждения клетки при фтористой интоксикации // Вісник проблем біології і медицини — 1999. - №6. - С. 36-39.



42. Мищенко А.В., Костенко А.Г. Изменение содержания макроэргов в тканях тонкого кишечника белых крыс в ранний период острой фтористой интоксикации // Проблемы экології та медицини — 1999. - №5. - С. 31 -32.
43. Міщенко А.В., Олексюк В.І. Лікувальне застосування ГБО при гострому ураженні шлунково-кишкового тракту і міокарду натрію фторидом // Мат. Першого Національного з'їзду фармакологів України “Сучасні проблеми фармакології”. - Полтава, 1995. - С. 113.
44. Мищенко А.В., Костенко А.Г. Вплив гострої фтористої інтоксикації на зміну активності антиоксидантного захисту і процесів перекисного окислення ліпідів у тканинах тонкого кишечника білих щурів // Вісник Вінницького державного медичного університету. — 2000. – Т.4, №2. - С. 409-410.
45. Мищенко А.В., Костенко А.Г. Изменение процессов тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в тканях тонкого кишечника и печени белых крыс при фтористой интоксикации // Проблемы экології та медицини. - 2000. - №2. - С. 10-12.
46. Міщенко А.В., Глебова Л.Ю. Вплив гіпербаричної оксигенації на вміст аденіннуклеотидів у тканинах тонкої кишки білих щурів при гострій фтористій інтоксикації // Буковинський медичний вісник.-2000.-№4.- С. 172-175.
47. Міщенко А.В. Энергетичний метаболізм тонкого кишечника при гострій інтоксикації фторидом натрію і застосуванні гіпербаричної оксигенації: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец: 14.03.04 «Патофізіологія» / А.В.Міщенко - К., 2001. - 20 с.
48. Міщенко А.В., Костенко А.Г., Глебова Л.Ю. Зміни вмісту аденіннуклеотидів у тканинах тонкого кишечника та печінки білих щурів при фтористій інтоксикації та впливу іонізуючої радіації // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2001. - Т. 1., вип.1-2.- С. 34-35.
49. Міщенко А.В., Костенко А.Г., Ришко В.В. Зміни вмісту аденіннуклеотидів у тканинах тонкого кишечника і печінки білих щурів при фтористій інтоксикації та впливу іонізуючої радіації // Одеський медичний журнал.-2002.- №2.- С. 11-12.
50. Оренчук Е.П., Костенко В.А. Окислительные процессы в коже в условиях длительного поступления нитрата натрия в организм белых крыс // Світ медицини та біології. – 2008. - №3. - С.78-81
51. Панченко Л.Ф., Герасимов А.М., Антоненко Г.Д. Роль пероксидов в патологии клетки. - М.: Медицина, 1981. - 200 с.
52. Пастух М.Б. Морфологічні зміни в сім'яниках білих щурів при інтоксикації етанолом та відновні процеси в них при корекції кровопостачання: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.01 / Нац. мед. ун-т. - К., 1996. - 23 с.
53. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. - М.: Наука, 1998. - 159 с.
54. Руководство к практическим занятиям по клинической лабораторной диагностике / Под ред. М.А.Базарновой, В.Т.Морозовой. - К.: Вища школа, 1988. – 318 с.
55. Середенко М.М. Гемічна гіпоксія, механізми її розвитку і компенсації / Мат. II конгресу патофізіологів України, присвяченого 100-річчю від дня

- народження академіка М.М.Сиротиніна // Фізіол. журн. - 1996. - Т.42. - N.3-4. - С.30.
56. Соловійова Н.В., Костенко В.О. Зміни функціональних показників сперми білих щурів за умов тривалої дії на організм відпрацьованого моторного масла // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2008. – Т. 3, №4. – С. 34-39.
57. Соловійова Н.В. Особливості енергетичного обміну у сім'яниках білих щурів при дії на організм відпрацьованого автомобільного масла // Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : І науково-практ. конф. : мат. (Тернопіль, 6-7 листопада 2008 р.) // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. - №2. – С.145-146.
58. Соловійова Н.В. Вміст і співвідношення аденіннуклеотидів у сім'яниках білих щурів при дії на організм відпрацьованого моторного масла // Всеукраїнська наук.-практ. конф. “Медична наука – 2008” : мат. // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2008 – Т.8, №4 (Ч. 2). - С. 175-176.
59. Тыртышников И.М., Костенко А.Г., Костенко В.А., Горишный Б.М., Горишная О.В., Мищенко А.В., Олексюк В.И., Парташникова С.Г., Глебова Л.Ю. Фундаментальные механизмы фармакологического эффекта ГБО при интоксикациях // Мат. Першого Національного з'їзду фармакологів України “Сучасні проблеми фармакології”. - Полтава, 1995. - С. 170.
60. Цебржинский О.И. Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. - 2002. – Т.2, №1. - С.96-97.
61. Atkinson D.E. The energy charge of the adenylate pools as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers // Biochemistry. - 1968. - V.7, N.11. - P.4030-4034.
62. Beutler E. Methods of enzymatic analysis. – N.Y., 1975. - V.1. - 565 p.
63. Chance B., Williams G.R. The respiratory chain and oxydative phosphorylation // Adv.Enzymol.- 1956.- V.17.- P.65-134.
64. Estabrook R.W. Mitochondrial respiratory control and polarographic measurement of ADP: O ratios // Methods in Enzymol. - New York, London: Academic Press, 1967. - Vol.10. - P.41-48.
65. Feher J., Csomos G., Vereckei A. Free Radical Reactions in Medicine. - Berlin, Heidelberg, N.Y.: Springer-Verlag, 1987. - 199 p.
66. Ponrdenz E., Kahl R. Alteration of antioxidant enzyme expression in response to hydrogen peroxide // Free Radical. Biol. Med. - 1998. - V.24, N.1. - P.27-38.
67. Szabo C., Zingarelli B., Oconnor M., Salzman A.L. DNA strand breakage, activation of poly(ADP-ribose) synthetase, and cellular energy depletion are involved in the cytotoxicity in macrophages and smooth muscle cells exposed to peroxynitrite // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. - 1996. - V.93, N.5. - P.1753-1758.