

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА**

**БІШКО ОЛЬГА ІГОРІВНА**

УДК: 577.3+615.9+616-008

**ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ ЗА ВВЕДЕННЯ ЩУРАМ ГІСТАМІНУ  
ТА ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ**

03.00.02 – біофізика

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

Львів – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Львівському національному університеті імені Івана Франка Міністерства освіти і науки України.

**Науковий керівник:** доктор біологічних наук, професор  
**Санагурський Дмитро Іванович,**  
Львівський національний університет імені Івана Франка,  
завідувач кафедри біофізики та біоінформатики

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук, професор  
**Рибальченко Володимир Корнійович,**  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка,  
завідувач НДС «Мембранології і цитології»

кандидат біологічних наук  
**Фафула Роман Володимирович,**  
Львівський національний медичний університет  
імені Данила Галицького,  
старший викладач кафедри біофізики

Захист відбудеться “11” березня 2016 р. о 14 год. на засіданні спеціалізованої вченої ради К 35.051.14 у Львівському національному університеті імені Івана Франка за адресою: 79005, м. Львів, вул. Грушевського, 4, біологічний факультет, ауд. № 333.

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Львівського національного університету імені Івана Франка за адресою: 79005, м. Львів, вул. Драгоманова, 17.

Автореферат розісланий “\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2016 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради К 35.051.14,  
кандидат біологічних наук, доцент

О.В. Іккерт

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) є одним з універсальних процесів пошкодження метаболічних систем, що змінює хімічний склад, фізичні параметри, ультраструктурну організацію і функціональні характеристики біомембран. ПОЛ зумовлює зміну ліпідного складу мембран внаслідок заміни компонентів, які легко окиснюються, зокрема, фосфатидилсерину, фосфатидилетаноламіну, фосфатидилінозитола (Дубинина Е.Е., 2006; Головчак Н.П., 2012). ПОЛ веде до збільшення в'язкості мембран через: зменшення вмісту рідких ліпідів в бішарових ділянках; появу поперечних міжмолекулярних зшивок; збільшення частки структурованих ліпідів з обмеженою рухливістю. Негативний заряд на поверхні мембрани збільшується, що пов'язано з впливом вторинних продуктів ПОЛ, які містять карбонільні і карбоксильні групи (Головчак Н.П., 2012). Мембрани клітин, мітохондрій, саркоплазматичного ретикулуму, лізосом стають проникними для різних іонів та макромолекул. Поряд з цим змінюються властивості мембранних білків: Са<sup>2+</sup>-АТФази, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФази, родопсину, фосфоліпази (Костюк П.Г., 1988). Таким чином, процеси ліпопероксидації є важливою ланкою патогенезу багатьох захворювань (Дубинина О. Ю., 2001).

На сьогоднішній день поширеними стають алергічні реакції організму на різні чинники, які супроводжуються вивільненням гістаміну тканинними базофілами (Скельян Н.А., 2000; Akdis С.А., 2003; Nijmeijer S., 2010). Гістамін є одним із ендогенних медіаторів, який бере участь у регуляції багатьох функцій організму, а також відіграє важливу роль у розвитку ряду захворювань (Bachert С., 2009). При різних патологічних станах (анафілактичний шок, опіки, обмороження, сінна лихоманка, кропивниця, алергічні захворювання), а також при надходженні в організм деяких хімічних речовин кількість вільного гістаміну збільшується (Yoshimoto T., 1999; Church M.K., 2010).

Вільний гістамін викликає спазм гладеньких м'язів, розширення капілярів і зниження артеріального тиску, застій крові в капілярах і збільшення проникності їхніх стінок, викликає набрякання оточуючих тканин і згущення крові (Bousquet J., 2010; Naas H., 2003). Незважаючи на широкий спектр впливу гістаміну, на сьогодні залишається невідомою дія цього біогенного аміну на процеси вільнорадикальних реакцій та стан антиоксидантної системи (АОС) у крові та інших тканинах організму.

Все частіше, як антисептик та детоксикант, при різних отруєннях організму почали використовувати розчин ГХН (гіпохлорит натрію) (Aubut V., 2010). Для хімічної нейтралізації шкідливих сполук використовують 3–5 % розчин ГХН. У зазначених концентраціях він не токсичний та легко виводиться з організму (Коцюмбас І.Я., 2004). Враховуючи те, що гістамін легко вступає в реакцію з ГХН, важливим є вивчення його ролі як інактиватора гістаміну та модулятора прооксидантно-антиоксидантного стану організму.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана у рамках держбюджетної теми: “Стан іонтранспортних та антиоксидантних систем біооб'єктів за дії фізико-хімічних чинників” (номер державної реєстрації 0113U000866, 2013–2015 рр.), теми комплексного

фундаментального проекту «Вивчення дії електромагнітного випромінювання на життєздатність клітин і процеси запліднення та ембріогенезу» (номер державної реєстрації БФ 157 Ф №0113U003062, 2013–2015 рр.) та теми: “Транспортні та антиоксидантні системи мембран зародків холонокровних” (номер державної реєстрації 0110U005707, 2010–2012 рр.).

**Мета і завдання роботи.** Мета роботи полягала у з’ясуванні особливостей впливу гістаміну, ГХН та їхнього взаємного впливу на морфо-функціональні параметри тканин організму щурів.

Для досягнення поставленої мети у роботі вирішували наступні завдання:

1. Дослідити вміст гістаміну у крові та легенях щурів в контрольній групі та за екзогенного введення гістаміну (концентрації: 1 та 8 мкг/кг), ГХН (концентрації: 5 та 20 мг/л) та, за одночасного введення гістаміну і ГХН на 1, 7, 14 доби досліду та після реабілітаційного періоду (на 21 добу).
2. Вивчити динаміку інтенсивності процесів ліпопероксидації та активності ферментів антиоксидантної системи плазми крові, тканин печінки, легень, серця та нирок на 1, 7 та 14 доби досліду в контролі, за дії гістаміну, ГХН та, за їхнього одночасного впливу.
3. З’ясувати вплив досліджуваних чинників на прооксидантно-антиоксидантний стан плазми крові, тканин печінки, легень, серця, нирок щурів на 21 добу досліду (після реабілітаційного періоду).
4. Дослідити морфологічні та ультраструктурні зміни у тканинах печінки, легень, серця та нирок щурів на 1, 7, 14 та 21 доби досліду, за умов введення щурам гістаміну, ГХН та їхньої сумісної дії.
5. Провести дисперсійний та кластерний аналіз впливу гістаміну, ГХН та їх одночасного введення на зміну досліджуваних показників.

**Об’єкт дослідження:** прооксидантно-антиоксидантна системи тканин організму.

**Предмет дослідження:** процеси ПОЛ, активність ферментів АОС та морфологічні зміни у тканинах щура, за дії гістаміну та ГХН.

**Методи досліджень:** використовували спектрофотометричні методи; методи світлової та електронної мікроскопії; статистичні методи досліджень, дисперсійний та кластерний аналіз.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше проведено дослідження впливу гістаміну на процеси ПОЛ, стан АОС, морфологію печінки, нирок, легень, серця і плазми крові щурів. Встановлено морфо-функціональні зміни тканин щурів за дії розчину ГХН, у концентрації 5 мг/л та 20 мг/л. Вперше засвідчено негативний вплив гістаміну і ГХН на досліджувані органи щурів, проте на різні тканини ці чинники зумовлюють неоднаковий ефект.

Виявлено, що ГХН, на фоні дії гістаміну в організмі щура, змінює показники інтенсивності процесів ПОЛ та активність СОД, КАТ і ГПО порівняно з контролем. Потрібно зазначити, що за одночасної дії ГХН і гістаміну вміст ТБК-активних продуктів значно зростає в нирках і легенях, тоді як у серці інтенсивність процесів ліпопероксидації знижується.

Вперше відмічено, що одночасна дія ГХН (20 мг/л) і гістаміну (8 мкг/кг) в печінці та серцевому м’язі зумовлюють порушення структури мітохондрій. Вплив

ГХН, концентрацією 5 мг/л, на фоні дії гістаміну викликає зміни в мітохондріях та ендоплазматичній сітці клітин легень і печінки щурів.

**Практичне значення одержаних результатів.** Одержані результати розширюють відомості щодо впливу гістаміну та розчину ГХН на різні тканини організму щурів (серця, печінки, легень, нирок) та плазму крові. Результати експерименту відображають дію досліджуваних чинників на прооксидантно-антиоксидантну систему, структурні та ультраструктурні зміни тканин щурів. Враховуючи те, що кількість людей з алергічними реакціями з кожним роком зростає, а сфери застосування розчину ГХН, як антисептика та детоксиканта, все більше розширюються, для медицини, ветеринарії та фармакології, дані результати можуть бути використані у різних прикладних дослідженнях. Представлені результати будуть впроваджені у навчальний процес, на кафедрі біофізики та біоінформатики біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка, при викладанні загального курсу «Біофізика» та спецкурсів: «Окисно-відновні процеси в біологічних системах», «Механізми біологічної дії модифікуючих факторів».

**Особистий внесок здобувача.** Автор самостійно здійснила пошук та аналіз даних наукової літератури, виконала весь обсяг експериментальних досліджень, поданих у дисертаційній роботі, здійснила статистичне опрацювання результатів. За участю наукового керівника д.б.н., професора Д.І. Санагурського, провела планування напрямів дослідження, аналіз та інтерпретацію одержаних результатів, формулювання висновків.

Доцент, к.б.н. Гарасим Н.П. приймала участь у постановці та корегуванні дослідів, проведенні дисперсійного та кластерного аналізів. У проведенні електронно-мікроскопічних досліджень брав участь старший науковий співробітник, к.б.н. Кулачковський О.Р.

**Апробація результатів дослідження.** Матеріали результатів дисертації були представлені на наукових семінарах кафедри біофізики та біоінформатики, звітних наукових конференціях співробітників Львівського національного університету імені Івана Франка (2011–2014 рр.). Результати експериментів були апробовані на: Восьмій міжнародній кримській конференції «Окисний стрес і вільнорадикальні патології» (Судак, 2012); Другій міжнародній конференції молодих вчених "Фізіологія: від молекул до організму" (Київ, 2012); ІХ, Х та ХІ Міжнародних наукових конференціях студентів та аспірантів «Молодь та поступ біології» (Львів, 2013, 2014 та 2015); XV Міжнародній Пуцинській школі-конференції молодих вчених «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2013); ХІ З'їзді українського біофізичного товариства (Луцьк, 2015).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 14 наукових праць, у тому числі 6 статей у фахових виданнях, затверджених переліком МОН України, 8 тез доповідей у матеріалах міжнародних та вітчизняних наукових конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається з таких розділів: вступу; огляду літератури; матеріалів та методів досліджень; результатів досліджень; обговорення результатів досліджень; висновків; списку використаних джерел (202 найменування), а також з 5 додатків. Робота викладена на 149 сторінках, ілюстрована 57 рисунками.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Огляд літератури.** У розділі “Огляд літератури” узагальнено сучасні уявлення про процеси пероксидного окиснення ліпідів та систему антиоксидантного захисту клітин, висвітлено фізико-хімічні основи впливу гістаміну і ГХН та їхню біологічну активність (зокрема на прооксидантно-антиоксидантний стан і морфологію) в тканинах різних органів.

**Матеріали і методи досліджень.** Експерименти проводили на безпородних білих щурах-самцях масою 180–220 г. Дослід тривав протягом 21 доби. Тварин підбирали за принципом аналогів, по 20 щурів у кожній групі. Піддослідні щури були поділені на групи: перша – контрольні тварини; тваринам другої та третьої груп, протягом 14-ти днів, підшкірно вводили розчини гістаміну, концентрацією 1 та 8 мкг/кг відповідно (як вихідний розчин використовували 0,01 % гістамін дигідрохлорид). Обрані концентрації відповідають тим, які зумовлюють патологічні прояви в експериментальних умовах (Комаренко В.І., 2008). Тваринам 4-ї та 5-ї груп, впродовж часу експерименту, випоювали розчин ГХН, у концентраціях 5 та 20 мг/л, які відповідають мінімальним терапевтичним дозам. Крім того, були сформовані ще чотири групи, де тваринам одночасно вводили гістамін та розчин ГХН (обох концентрацій). З 14 доби тварин залишали на реабілітацію (яка полягала у припиненні введення в організм щурів гістаміну та ГХН з 14 по 21 доби досліду).

На 1, 7, 14 та 21 доби у тварин відбирали зразки тканин (цільну кров, плазму крові, праву нирку, ліву часточку печінки, верхівку серця та легені). У кожному зразку тканин визначали інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів, яку оцінювали за вмістом первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації – гідропероксидів (ГП) та ТБК-активних продуктів (Олексюк Н.П., 2010; Тимирбулатов Р.Р., 1981), та активність супероксиддисмутази (СОД) (Костюк В.А., 1990), каталази (КАТ) (Королюк М.А., 1988), глутатіонпероксидази (ГПО) (Моин В.М., 1986).

Для гістологічного дослідження зрізи фарбували гематоксилін-еозином та за методом Браше.

Для ультрамікроскопічного дослідження зразки тканин фіксували в розчині глутарового альдегіду. Отримані ультрарізи переглядали за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа ПЕМ-100.

### Результати досліджень та їхнє обговорення

**Вплив гістаміну та гіпохлориту натрію на вміст ендogenousного гістаміну в різних органах щурів.** У результаті проведених досліджень встановлено, що за екзогенного введення розчину гістаміну відбуваються періодичні зміни вмісту ендogenousного гістаміну в крові щурів впродовж досліджуваного проміжку часу. Одночасна дія гістаміну та ГХН, концентрацією 5 мг/л, зумовлює значне зниження вмісту біогенного аміну, як відносно контрольної групи (~ на 82 %,  $p \geq 0,99$ ), так і відносно групи тварин, яким підшкірно вводили гістамін. При сумісній дії гістаміну та ГХН, концентрацією 20 мг/л, зниження вмісту біогенного аміну в крові зафіксовано лише на 1 та 21 доби досліду (на 42–88 %,  $p \geq 0,95$ ). У інші доби показник був вищий від контрольних значень (на 7 добу – на ~ 32 %; 14 – ~ 100 %).

Це, ймовірно, обумовлено хімічними властивостями ГХН. Вища його концентрація, вірогідно, зумовлює руйнування базофілів та вивільнення гістаміну в кров.

Дослідження вмісту гістаміну в тканинах легень виявили його зростання впродовж експерименту в усіх досліджуваних групах (на 7 %–271%,  $p \geq 0,95$ ), що, на нашу думку, може бути пов'язано з руйнуванням тучних клітин сполучної тканини легень, ініційованого вільнорадикальними реакціями (нами зафіксовано зростання вмісту продуктів ліпопероксидації у досліджуваних групах). Отже, рівень гістаміну в крові не відображає реального вмісту гістаміну в легенях щурів.

**Вплив гістаміну та гіпохлориту натрію на інтенсивність вільнорадикальних процесів у різних органах щурів.** Дослідження процесів ліпопероксидації у плазмі крові щурів виявили, що за дії гістаміну, в концентраціях 1 та 8 мкг/кг, на початковому етапі дослідження відбувається підвищення вмісту гідропероксидів (на  $\sim 16$  %,  $p \geq 0,999$ ) з пониженням (на 27–44 %,  $p \geq 0,99$ ), відносно контролю. Проте після реабілітаційного періоду вміст ГП повертається до контролю, в той час як вміст ТБК-активних продуктів підвищується (рис. 1а).

Дія гістаміну (концентрацією 1 мкг/кг) та ГХН, концентрацією 5 мг/л зумовлює значне підвищення вмісту ГП впродовж всього дослідження (на 32–175 %,  $p \geq 0,999$ ), та незначне зростання кількості ТБК-активних продуктів на 1 і 14 доби дослідження в плазмі крові (рис. 1а, б). Комбінація гістаміну (1 мкг/кг) і ГХН (20 мг/л) спричиняє пониження вмісту ГП (на 6–30%,  $p \geq 0,99$ ) та значне зростання кількості ТБК-активних продуктів на 1, 7 та 21 доби дослідження (рис. 1а, б).

За впливу гістаміну, концентрацією 8 мкг/кг, в поєднанні з ГХН, концентрацією 5 мг/л, відбувається зменшення вмісту ТБК-активних продуктів відносно групи тварин, яким вводили лише гістамін (рис. 1а, б). Несподіваним виявилось те, що при одночасному впливі гістаміну (8 мкг/кг) і ГХН (20 мг/л), вміст ТБК-активних продуктів повертався до меж контролю на 14 добу дослідження (рис. 1б).

Після дії на організм щурів гістаміну та ГХН у концентрації 5 мг/л, кількість ТБК-активних продуктів наближається до меж контролю (рис. 1а, б). Така тенденція є нехарактерною для груп тварин, яким одночасно вводили гістамін та ГХН, концентрацією 20 мг/л, у плазмі крові яких вміст ТБК-активних продуктів підвищується (на 21 доби дослідження) як відносно контролю, так і відносно груп щурів, яким підшкірно вводили гістамін (рис. 1б).

З літературних джерел відомо, що ГХН в організмі проявляє сильну окисню дію (Коцюмбас І.Я., 2009). У високих концентраціях він може руйнувати різноманітні тканини. Це твердження узгоджується з нашими дослідженнями, якими встановлено, що ГХН, у концентрації 5 мг/л, менш негативно впливає на прооксидантний стан крові щурів, а у концентрації 20 мг/л призводить до значного підвищення вмісту ТБК-активних продуктів на 1, 7 та 21 доби дослідження. Поясненням того, чому опісля припинення введення гістаміну і ГХН (20 мг/л) після реабілітаційного періоду відбувається підвищення показників ТБК-активних продуктів, може бути розвиток в організмі щурів окисного стресу за рахунок надмірного надходження кисню до клітин крові та встановленні гіпероксії (Меньщикова Е.Б., 2006). За цих умов відбувається активація реакцій процесів ПОЛ і, тому, навіть за час реабілітації ці показники не повертаються до контролю.

Випоювання щурам ГХН зумовлює зростання вмісту ГП у плазмі крові. Вміст

ТБК-активних продуктів зберігається на рівні, близькому до контролю за дії ГХН, концентрацією 5 мг/л, тоді як ГХН, концентрацією 20 мг/л, зумовлює значне підвищення вмісту ТБК-активних продуктів. Потрібно відмітити, що рівень ТБК-активних продуктів має більш важливе діагностичне значення при вивченні прооксидантного стану організму, оскільки ці продукти є більш стійкими, порівняно з гідропероксидами. Отже, ГХН нижчої концентрації не чинить значної пошкоджуючої дії на процеси ліпопероксидації крові щурів, тоді як ГХН вищої концентрації зумовлює значне підвищення вмісту ТБК-активних продуктів.

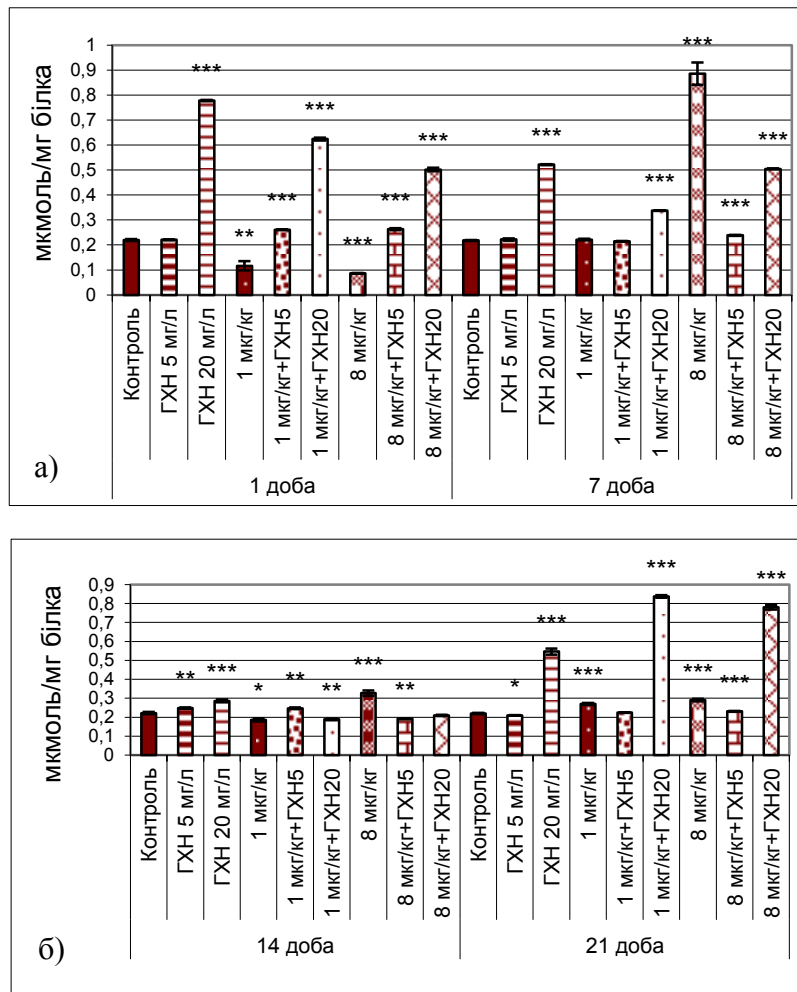


Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові на 1, 7 (а), 14 та 21 (реабілітація) (б) доби дослідження за дії гістаміну (концентрації: 1 мкг/кг, 8 мкг/кг), гіпохлориту натрію (концентрації: 5 мг/л, 20 мг/л) та одночасного впливу гістаміну та гіпохлориту натрію (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ ).

У легенях щурів гістамін, концентрацією 1 мкг/кг, зумовлює зниження вмісту первинних (на 32 %,  $p \geq 0,999$ ) та вторинних продуктів ліпопероксидації на 1 добу дії з подальшим зростання його кількості до кінця дослідження (рис. 2а, б).

Дослідження продуктів ліпопероксидації за впливу гістаміну, концентрацією 8 мкг/кг, виявило зміну вмісту ГП та значне наростаюче зростання кількості ТБК-активних продуктів впродовж дослідження (рис. 2). Ці результати свідчать про ушкодження гістаміном ненасичених жирних кислот ліпідів мембран клітин легень.

Під час одночасного введення гістаміну, концентрацією 1 мкг/кг, та ГХН, у дозі 5 мг/л, встановлено значне зниження вмісту ГП впродовж дослідження (на 58–95 %,  $p \geq 0,999$ ), крім 14 доби (що, ймовірно, пов'язано з підвищеною чутливістю легень до



окисної дії ГХН на цю добу досліджу), тоді як вміст вторинних продуктів ліпопероксидації суттєво підвищується протягом всього досліджу (рис. 2). Ці результати узгоджуються з дослідженнями гістозрізів.

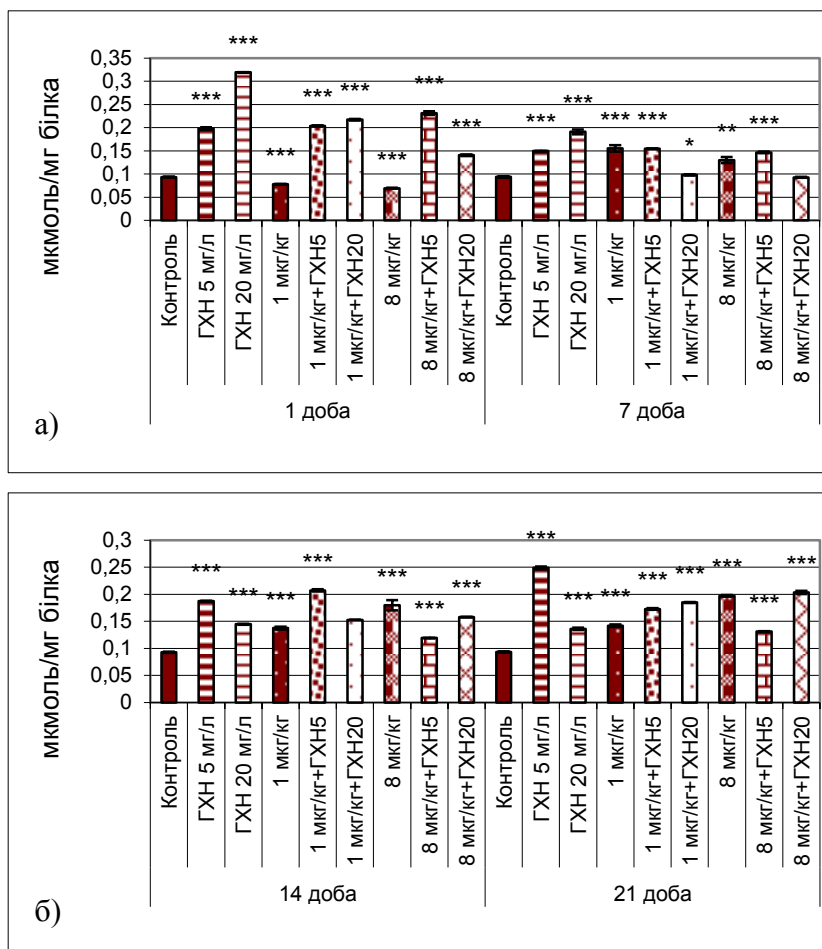


Рис. 2. Вміст ТБК-активних продуктів у тканинах легень на 1, 7 (а), 14 та 21 (реабілітація) (б) доби досліджу за дії гістаміну (концентрації: 1 мкг/кг, 8 мкг/кг), гіпохлориту натрію (концентрації: 5 мг/л, 20 мг/л) та одночасного впливу гістаміну і гіпохлориту натрію (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ ).

Аналіз одночасного впливу гістаміну (8 мкг/кг) та ГХН (5 мг/л), виявив зростання вмісту ГП та ТБК-активних продуктів як на 1, так і на 7 доби досліджу (рис. 2а, б). Зростання вмісту ТБК-активних продуктів ліпопероксидації відбувається і на 14 та 21 доби, тоді як вміст первинних продуктів ліпопероксидації на ці доби значно знижується (на 92 % і 85 %, відповідно,  $p \geq 0,999$ ). Враховуючи те, що вміст ГП зростає вже на 1 та 7 доби, дія ГХН, концентрацією 5 мг/л, (на фоні впливу гістаміну концентрацією 8 мкг/кг) зумовлює інтенсифікацію процесів ліпопероксидації у легенях щурів. ГХН в легенях спричиняє окиснення ГП, в результаті чого утворюються вторинні продукти ліпопероксидації.

Випоювання щурам ГХН, обох досліджуваних концентрацій, призводить до зростання вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації у легенях (рис. 2). Потрібно відмітити, що за дії ГХН (5 мг/л) вміст первинних продуктів ліпопероксидації знижується на 7 та 14 доби досліджу (на 94 % та 60 %), а вміст ТБК-активних продуктів підвищується менш інтенсивно, порівняно з дією ГХН, концентрацією 20 мг/л (рис. 2а, б). Отже, ГХН ініціює процеси ліпопероксидації в легенях.

У серцевому м'язі гістамін, концентрацією 1 мкг/кг, зумовлює гіпоксичний

стан, про що свідчить зниження вмісту первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації. Гістамін, концентрацією 8 мкг/кг, веде до зростання вмісту ГП (рис. 3), та до пониження ТБК-активних продуктів (на 7 %–28 %,  $p \geq 0,95$ ).

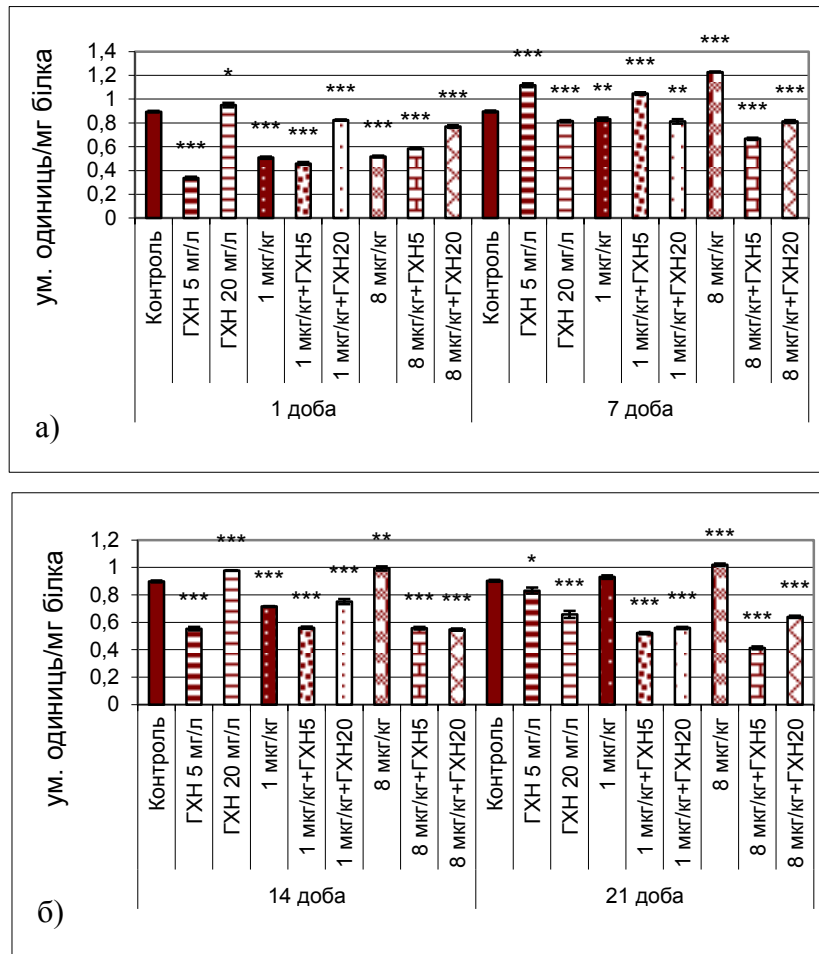


Рис. 3. Вміст гідропероксидів у серцевому м'язі на 1, 7 (а), 14 та 21 (реабілітація) (б) доби дослідження за дії гістаміну (концентрації: 1 мкг/кг, 8 мкг/кг), гіпохлориту натрію (концентрації: 5 мг/л, 20 мг/л) та одночасного впливу гістаміну та гіпохлориту натрію (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ ).

ГХН зумовлює переважаче зниження вмісту ГП у серцевому м'язі щурів, на тлі дії гістаміну різних концентрацій впродовж дослідження (рис. 3). Одночасне введення ГХН та гістаміну, концентрацією 1 мкг/кг, призводить до попереминого підвищення та зниження вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації. За одночасного введення гістаміну, концентрацією 8 мкг/кг, та ГХН рівень ТБК-активних продуктів залишається приблизно на тому самому рівні як і у групі тварин, яким вводився гістамін, концентрацією 8 мкг/кг.

За дії ГХН на серцевий м'яз щура, відбувається зниження вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації на 1 добу дослідження, зростання на 7 добу і повторне зниження на 14 та 21 доби дослідження (на ~25 %, 10 %, 32 %, 20 %, відповідно,  $p \geq 0,95$ ), що свідчить про порушення інтенсивності вільнорадикальних процесів. Ці результати узгоджуються з літературними даними (Харченко В.В., 2007).

У печинці, як і у серцевому м'язі, щура за введення гістаміну, концентрацією 1 мкг/кг, відбувається зниження вмісту первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації впродовж всього дослідження. Проте, гістамін, концентрацією 8 мкг/кг, зумовлює зростання ГП до 7 доби з подальшим зниженням до 21 доби, а також до

зниження ТБК-активних продуктів впродовж всього досліджу (на 22 %–47 %,  $p \geq 0,999$ ).

За одночасного введення шурам гістаміну, обох досліджуваних концентрацій, та ГХН, у дозі 5 мг/л, відбувається зниження вмісту ГП протягом всього досліджу, що свідчить про негативні процеси у печінці щурів. В той час як, вміст ТБК-активних продуктів, у даних досліджуваних групах, різко зростає на 1 добу досліджу (на  $\sim 99$  %,  $p \geq 0,999$ ) з подальшим зниженням до 21 доби (до 53 %,  $p \geq 0,999$ ). Ушкодження клітин за одночасного впливу гістаміну та ГХН, концентрацією 5 мг/л, підтверджується виявленою гідропічною дистрофією гепатоцитів.

У разі одночасного введення гістаміну та ГХН, у концентрації 20 мг/л, відбувається переважаюче зростання інтенсивності процесів ліпопероксидації впродовж досліджу.

Випоювання інтактним шурам ГХН, нижчої концентрації, призводить до значного зниження вмісту ГП, впродовж досліджу (на  $\sim 40$  %,  $p \geq 0,999$ ). Вміст вторинних продуктів ліпопероксидації зростає на 1 добу досліджу (на 109 %,  $p \geq 0,999$ ) зі зниженням до 21 доби. Аналіз впливу ГХН, у концентрації 20 мг/л, виявив схожу динаміку зміни вмісту первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації.

Дослідження прооксидантного стану нирок щура встановило, що гістамін, обох досліджуваних концентрацій, зумовлює зростання вмісту ГП та ТБК-активних продуктів. Проте, вплив гістаміну в концентрації 8 мкг/кг, є більш вираженим, що свідчить про концентраційний вплив цього біогенного аміну.

При одночасному задаванні шурам досліджуваних розчинів, зафіксовано зниження вмісту ГП порівняно з групами тварин, яким підшкірно вводили гістамін. Причому, вміст ГП, який був вищий контрольних значень, за дії гістаміну (8 мкг/кг), знижується у групах тварин, яким одночасно вводили гістамін, концентрацією 8 мкг/кг, та ГХН. У цей час вміст ТБК-активних продуктів зростає впродовж досліджу (на 29 %–67 %,  $p \geq 0,999$ ), відносно груп тварин, яким підшкірно вводили лише розчин гістаміну. Це свідчить про надходження додаткової кількості активних метаболітів кисню, які є ініціаторами пероксидного окиснення, внаслідок чого підвищується вміст вторинних продуктів ліпопероксидації.

За підшкірного введення гістаміну вищої концентрації, ГХН зумовлює утворення великої кількості ТБК-активних продуктів, вже на 1 добу досліджу порівняно з контролем. У разі сумісної дії досліджуваних чинників, ймовірно, відбувається взаємодія ГХН з вільними радикалами та ГП, у результаті чого первинні продукти ліпопероксидації перетворюються на вторинні.

При випоюванні шурам розчину ГХН (20 мг/л) відбувається значне зростання вмісту ГП та ТБК-активних продуктів протягом дослідного періоду (на 18 %–230 %,  $p \geq 0,999$ ). ГХН нижчої досліджуваної концентрації веде до переважаючого пониження вмісту ГП (на 25 %–54 %,  $p \geq 0,999$ ) та до підвищення кількості ТБК-активних продуктів (на 50 %–97 %,  $p \geq 0,999$ ) у нирках щурів.

Нами доведено, що гістамін і ГХН у нирках щурів є потужними прооксидантами.

**Стан системи антиоксидантного захисту різних органів щурів за дії гістаміну та гіпохлориту натрію.** Встановлено, що дія гістаміну в обох концентраціях призводить до активації ферменту СОД в плазмі крові щурів протягом 14 діб його екзогенного введення (на 21 %–49 %,  $p \geq 0,95$ ). За впливу нижчої концентрації після реабілітаційного періоду активність ферменту падає

нижче контролю (на 30 %,  $p \geq 0,95$ ). Причиною виявленого ефекту може бути надто низька кількість субстрату супероксиддисмутази реакції. За одночасного впливу гістаміну та ГХН відбувається переважаюче зростання активності СОД впродовж досліду, що свідчить про порушення вільнорадикальних процесів у крові щурів.

ГХН вищої досліджуваної концентрації виявляє менш виражений негативний вплив на СОД, активність якої значно зростає лише на 14 добу досліду (на 179 %,  $p \geq 0,999$ ), порівняно з даними отриманими за введення ГХН (5 мг/л), який зумовлює значну активацію досліджуваного ферменту. Відомо, що у разі зростання активності СОД, фермент виявляє не антиоксидантну, а прооксидантну дію.

При визначенні каталази активності в крові за дії гістаміну, концентрацією 1 мкг/кг, встановлено зростання активності на 7 та 14 доби досліду на 89 % та 22 %, відповідно, відносно контролю. Проте на 21 добу після реабілітації активність КАТ значно спадає на 82 %. Можна припустити, що під час введення гістаміну утворюються великі кількості пероксиду водню, який знешкоджується каталазою. Після припинення дії гістаміну на 21 добу активність каталази в плазмі крові спадає відносно контролю, що може свідчити про зниження вмісту пероксиду водню.

За підшкірного введення гістаміну та випоювання ГХН активність КАТ переважно спадає впродовж досліду (на 30 %–84 %,  $p \geq 0,95$ ). Відомо, що зниження активності КАТ може відбуватися не лише при зниженні вмісту субстрату ( $H_2O_2$ ), а також при ушкодженні структури самого ферменту. Потрібно відмітити, що взаємний вплив гістаміну, концентрацією 8 мкг/кг та ГХН, концентрацією 20 мг/л, веде до незначного спадання активності КАТ на 1, 7 та 21 доби досліду та до зростання цього показника на 14 добу досліду. Отже, за впливу гістаміну та ГХН вищих досліджуваних концентрацій спостерігається менш виражена пошкоджуюча дія на активність КАТ у плазмі крові щурів.

За впливу гістаміну, в дозі 8 мкг/кг, на фоні зростання активності СОД, відбувається зростання активності ГПО (на 69 %,  $p \geq 0,999$ ) на 1 добу досліду, з поступовим зниженням до 14 доби. Можна зробити висновок, що гістамін, концентрацією 8 мкг/кг, негативно впливає на функціональні параметри ГПО, активність якої спадає на 14 добу досліду на 34 %,  $p \geq 0,95$ .

Одночасний вплив ГХН і гістаміну зумовлює значне спадання активності ГПО відносно контролю протягом усього досліду, що свідчить про порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу крові навіть після припинення введення в організм досліджуваних розчинів. Потрібно відмітити, що дія самого ГХН у плазмі крові щурів зумовлює спадання активності ГПО (на 45 %–59 %,  $p \geq 0,99$ ), що свідчить про шкідливу дію цього розчину на фермент.

Інтенсивне зростання активності СОД веде до утворення великої кількості  $H_2O_2$ , який повинен знешкоджуватися або КАТ, або ГПО. Зниження активності КАТ і ГПО за умов експерименту свідчить про ймовірне пошкодження структури ензимів за впливу ГХН або про взаємодію НОСІ з  $H_2O_2$  (Меньщикова Е.Б., 2006).

При вивченні активності ферментів антиоксидантної системи тканин легень щурів, зафіксовано значне зростання активності СОД на 1 добу досліду за дії обох концентрацій гістаміну (~ в 6 разів,  $p \geq 0,999$ ), проте, до 21 доби активність цього ферменту спадає і наближається до контролю. Потрібно відмітити, що активність СОД значно зростає за дії розчинів ГХН та гістаміну.

За введення ГХН тваринам контрольної групи, нами відмічено зростання активності СОД (на 107 %–530 %,  $p \geq 0,999$ ) на фоні підвищення вмісту продуктів ліпопероксидації, що свідчить про інтенсифікацію ПОЛ та про вивільнення супероксид-аніон радикалу з ушкоджених мітохондрій.

При підшкірному введенні щурам гістаміну, концентрацією 1 мкг/кг, нами зафіксовано значне зростання активності КАТ до 14 доби досліду (до 184 %,  $p \geq 0,999$ ), що свідчить про утворення великої кількості пероксиду водню у тканинах легень. За дії гістаміну вищої концентрації, активність ГПО зростає до 7 доби досліду, що відображає руйнування невеликих кількостей пероксиду водню, та гідропероксидів. Однак до 14 доби досліду відбувається накопичення пероксиду водню, який знешкоджується у більшій мірі каталазою. Отже, вплив гістаміну нижчої концентрації призводить до накопичення великої кількості пероксиду водню впродовж всього досліду, тоді як вища концентрація викликає такий самий ефект на кінцевих етапах досліду.

Паралельний вплив розчинів гістаміну та ГХН зумовлюють зростання активності КАТ, у той час активність ГПО знижується відносно контролю.

Гістамін у серцевому м'язі зумовлює переважаюче зростання активності СОД та КАТ і зниження активності ГПО (на 17 %–69 %,  $p \geq 0,99$ ). Використання ГХН на фоні дії гістаміну зумовлює порушення функціонування цих ензимів відносно контролю. Введення ГХН інтактним тваринам веде до значного зростання активності СОД та КАТ, і інтенсивного спадання активності ГПО (на 57 %–98 %,  $p \geq 0,999$ ). Отже, за дії досліджуваних чинників відбувається розбалансування роботи ензимів системи антиоксидантного захисту. Відомо, що при порушенні роботи антиоксидантної системи, внаслідок будь-якого зовнішнього впливу, відбувається посилення вільнорадикального окиснення, що супроводжується зміною конформації ліпідів і призводить до порушення структурних і функціональних властивостей біомембран та розбалансуванню ензимних систем мембран (Ланкін В.З., 2000), що узгоджується з нашими попередніми дослідженнями.

Аналіз активності ензимів антиоксидантної системи печінки щурів встановив значне зниження активності СОД (на 14 %–92 %,  $p \geq 0,999$ ) впродовж досліду за дії гістаміну в концентрації 1 та 8 мкг/кг. Одночасна дія гістаміну в дозі 1 мкг/кг та ГХН (20 мг/л) у печінці щурів призводять до значної активації ензиму СОД на 1 добу досліду (на 80 %,  $p \geq 0,99$ ), з подальшим поверненням активності СОД до норми. Слід зазначити, що дія розчинів ГХН та гістаміну, дозою 8 мкг/кг, спричиняє спадання активності СОД впродовж досліду і навіть після реабілітаційного періоду (на 15 %–68 %,  $p \geq 0,999$ ). За умов впоювання ГХН (20 мг/л) інтактним тваринам у печінці спостерігається поступове зростання активності СОД, від 1 до 21 діб, що свідчить про утворення великої кількості  $O_2^{\cdot -}$ .

У разі підшкірного введення щурам гістаміну в дозі 1 мкг/кг у печінці відбувається зростання активності КАТ до 7 доби досліду, що свідчить про утворення пероксиду водню. За дії гістаміну вищої концентрації активність КАТ зростає на 7 та 14 доби досліду на 33 та 63 %, відповідно. Слід зазначити, що після реабілітаційного періоду активність КАТ за дії гістаміну обох досліджуваних доз повертається до меж контролю.

Активність ГПО за дії гістаміну, в концентрації 1 та 8 мкг/кг, поступово зростає

з 7 по 21 доби досліджу. Ймовірно, це свідчить про утворення великих кількостей ГП ліпідів, які і знешкоджує цей фермент.

При порівнянні впливу ГХН (20 мг/л) на фоні дії гістаміну різних концентрацій нами встановлено кращий ефект у разі впливу на печінку гістаміну, дозою 1 мкг/кг. За цих умов активність СОД зростає відносно контролю на 1 добу (на 79 %,  $p \geq 0,99$ ) і надалі повертається до меж контролю. Ймовірно, за введення нижчої дози гістаміну, ГХН, у концентрації 20 мг/л, у печінці щура окиснює надмірну кількість гістаміну, адже активує процеси обміну речовин, які потребують кисню.

За наявності в середовищі гістаміну в концентрації 8 мкг/кг, ГХН (20 мг/л) у достатній кількості не знешкоджує гістамін і активність ензимів антиоксидантної системи переважно залишається на тому самому рівні, що і при дії самого гістаміну (8 мкг/кг).

За впливу на організм щурів ГХН нижчої досліджуваної концентрації та у разі одночасного впливу гістаміну та ГХН, концентрацією 5 мг/л, у печінці встановлено пониження активності СОД і ГПО та зростання КАТ на фоні зниження вмісту гідропероксидів. Ймовірно, ГХН нижчої досліджуваної концентрації вступає в реакцію з первинними продуктами ліпопероксидації, в результаті чого виникає нестача субстрату ГПО і фермент інактивується.

У разі підшкірного введення гістаміну в дозі 1 мкг/кг активність СОД у нирках щурів залишається в межах контролю до 7 доби, подальше введення біогенного аміну спричиняє зростання активності цього ензиму на  $\sim 35$  %,  $p \geq 0,95$ . Активність СОД залишається на такому ж рівні після реабілітаційного періоду. В групі тварин, яким вводили гістамін дозою 1 мкг/кг, відбувається зниження активності КАТ та ГПО впродовж всього досліджу (на 30 %–60 %).

Підшкірне введення гістаміну, в дозі 8 мкг/кг, призводить до значного утворення супероксид-аніон радикалу (супероксиддисмутазна активність зростає) у нирках щурів впродовж всього часу його дії, а також навіть після реабілітаційного періоду (21 доба). Це свідчить про те, що в нирках щура, за дії цього біогенного чинника, відбувається посилення вільнорадикальних процесів.

На тлі зростання активності СОД у групі тварин, яким вводили гістамін у дозі 8 мкг/кг, зафіксовано зниження активності ГПО (на  $\sim 25$  %,  $p \geq 0,99$ ), впродовж всього часу введення сполуки, та зниження активності КАТ лише на 7 добу досліджу. Слід зазначити, що на 21 добу активність КАТ і ГПО повертається до меж контролю.

За одночасного введення ГХН та гістаміну відбувається значне зростання активності СОД впродовж досліджу, що свідчить про утворення великих кількостей  $O_2^{\cdot-}$ . Аналіз активностей ферментів, що відповідають за знешкодження  $H_2O_2$  та гідропероксидів, показав зниження активності КАТ та ГПО впродовж досліджуваного часу.

Вивчення впливу ГХН на інтактних тварин виявило зростання активності СОД (на 15 %–382 %,  $p \geq 0,95$ ) та значне спадання активності ГПО (на 75 %–93 %,  $p \geq 0,999$ ). Інтенсивне зростання активності СОД зумовлює утворення великої кількості  $H_2O_2$ , який повинен знешкоджуватися КАТ або ГПО, активності яких різко знижуються. Це можливо пояснюється пошкодженням структури ферментів гіпохлоритом натрію або його взаємодією з  $H_2O_2$  (Меньщикова Е.Б., 2006), в результаті чого утворюється синглетний кисень, який теж реакційно здатний. Отже,

ГХН чинить значний негативний вплив на антиоксидантний захист нирок щурів.

**Морфологічний та ультраструктурний аналіз тканин окремих органів щурів за дії гістаміну та гіпохлориту натрію.** При вивченні гістологічних зрізів встановлено, що дія гістаміну (1 мкг/кг та 8 мкг/кг) у легенях щурів призводить до периваскулярного набряку, спазму бронхіол, звуження просвіту альвеол (рис. 4). Дані результати підтверджуються і дослідженнями електронної мікроскопії, за допомогою якої встановлено, що гістамін у легенях щурів протягом 14 діб введення до порушення будови ендоплазматичної сітки, набрякання мітохондрій (рис. 5), підвищення кількості гранул гістаміну. Такі зміни свідчать про порушення функціональних процесів у клітинах, а саме про зміну роботи дихального ланцюга мітохондрій та цитохромів Р-450 ендоплазматичної сітки, в результаті чого відбувається «витікання» вільних радикалів (наприклад  $O_2^{\cdot-}$ ), що зумовлює зростання інтенсивності процесів ліпопероксидації в легенях.

Одночасна дія гістаміну, концентрацією 1 мкг/кг, та ГХН, концентрацією 5 мг/л, зумовлює, на 1 добу досліду, значне розширення альвеолярних пухирців з наступним (на 7, 14 доби) спазмуванням бронхіол. Після реабілітаційного періоду відбувається часткове відновлення тканин легень щурів.

Взаємний вплив гістаміну вищої досліджуваної концентрації (8 мкг/кг) та ГХН, концентрацією 5 мг/л, на 14 добу викликає спазмування бронхіол, розширення просвіту альвеол та руйнування міжальвеолярних стінок. Ці зміни тканин легень залишаються й після реабілітації. Дані результати корелюють з підвищенням вмісту продуктів ліпопероксидації у легенях за одночасної дії досліджуваних чинників.

Дослідження гістологічних зрізів легень засвідчили, що дія ГХН, концентрацією 5 мг/л, веде до незначних змін у будові клітин легень лише на 1 добу досліду. ГХН, концентрацією 20 мг/л, призводить до розширення просвіту альвеол на 1 добу досліду та в подальшому до потовщення стінок легеневої артерії. Після реабілітації ці зміни частково зникають.

За результатами світлової мікроскопії виявлено, що дія гістаміну, концентрацією 1 мкг/кг, зумовлює набрякання сполучної тканини між кардіоміоцитами (що свідчить про порушення водно-сольового обміну) та зниження рівня біосинтетичних процесів у серцевому м'язі.

За даними мікроскопії встановлено, що гістамін у концентрації 8 мкг/кг, на 7 добу досліду зумовлює порушення структури кардіоміоцитів, що проявляється розшаруванням міофібрил, проте ці зміни зникають на 14 добу дії гістаміну. Отже, гістамін у цій концентрації, чинить більш виражений негативний вплив, ніж гістамін, концентрацією 1 мкг/кг (спостерігається дозозалежний вплив). Гістамін у концентрації 1 мкг/кг спричиняє незначну гіпоксію, яка супроводжується сповільненням викидання мітохондріями активних форм кисню і зниження процесів ПОЛ. Гістамін у концентрації 8 мкг/кг веде до посилення гіпоксії, що, навпаки, інтенсифікує процеси ПОЛ.

Одночасний вплив гістаміну (1 мкг/кг) і ГХН (5 мг/л) у серцевому м'язі призводить до підвищеного виходу клітин крові у просвіт між функціональними волокнами та послаблення процесів біосинтезу. Дія гістаміну, концентрацією 8 мкг/кг та ГХН, концентрацією 5 мг/л вже з 1 доби викликає дистрофічні зміни, які не усуваються навіть після реабілітаційного періоду (рис. 6). При одночасному

випоюванні гіпохлориту натрію, концентрацією 20 мг/л, і підшкірному введенні гістаміну на 7 добу відбувається відновлення паралельного розташування міофібрил у кардіоміоцитах. Проте кристи в матриці мітохондрій оптично не проглядаються.

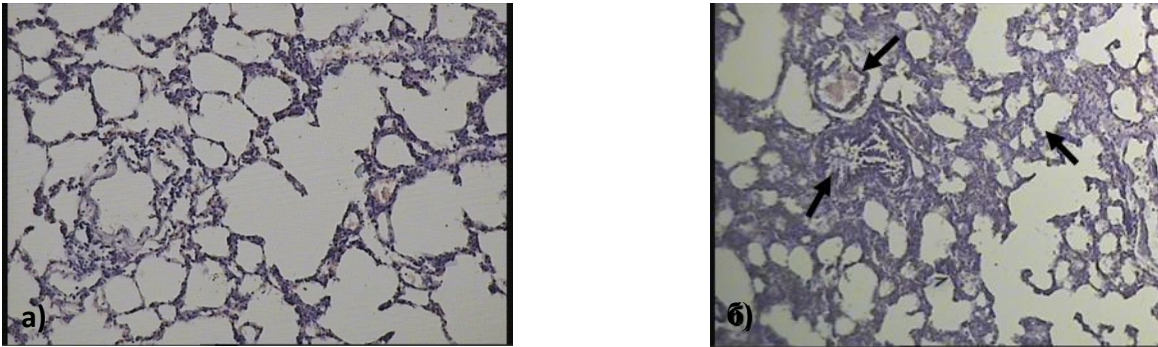


Рис. 4. Ядра на фоні оптично прозорої цитоплазми в клітинах респіраторного відділу правої легені щура в контролі на 1 добу досліду. (а). Спазм бронхіол, звуження просвіту альвеол, периваскулярний набряк у респіраторному відділі правої легені щура за дії гістаміну, концентрацією 8 мкг/кг на 7 добу (б). Фарбування гематоксилін-еозином. Ок. 10, об. 10.

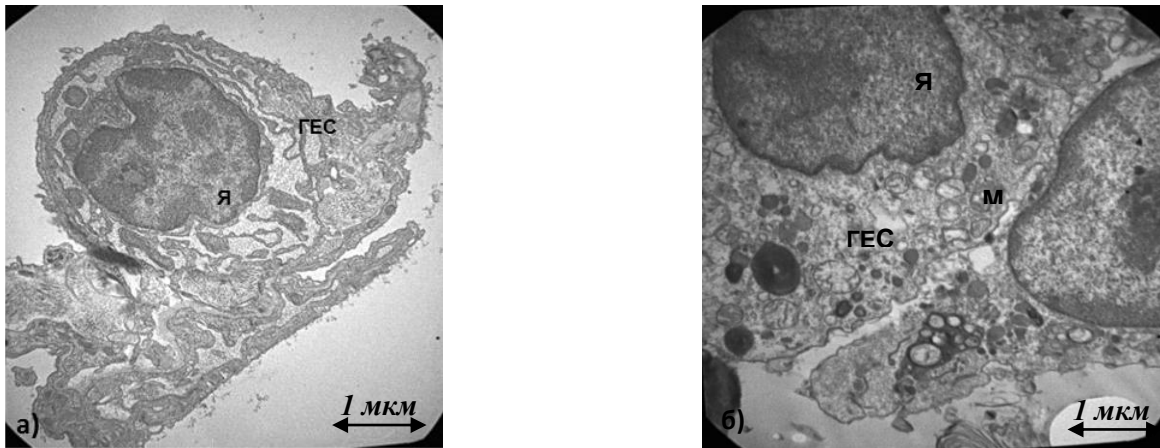


Рис. 5. Ультраструктура легень щура в контролі на 7 добу досліду. Зб. 10000 (а). Набрякання мітохондрій у клітинах легень щура за дії гістаміну, концентрацією 8 мкг/кг на 14 добу. Зб. 22000 (б) (Я – ядро, ГЕС – гранулярна ендоплазматична сітка, М – мітохондрія).

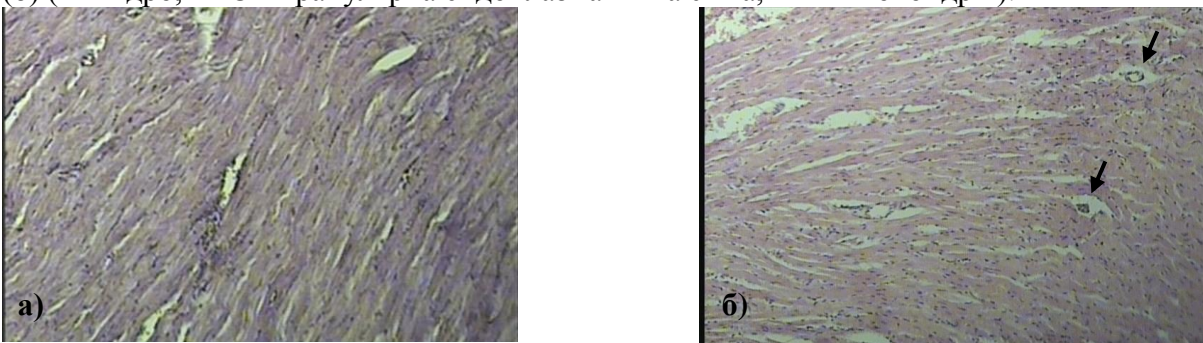


Рис. 6. Посмуговані волокна міокарду верхівки серця щура в контролі на 7 добу досліду (а). Периваскулярний набряк в міокарді верхівки серця щура за одночасної дії гістаміну, концентрацією 8 мкг/кг, та гіпохлориту натрію, концентрацією 5 мг/л. 14 доба (б). Фарбування гематоксилін-еозином. Ок. 10, об. 10.

**Кластерний та дисперсійний аналіз результатів досліджень прооксидантно-антиоксидантного стану різних органів щурів за дії гістаміну та гіпохлориту натрію.** Застосувавши комплексний кластерний аналіз встановлено, що



прооксидантно-антиоксидантний стан плазми крові за дії досліджуваних чинників відрізняється від стану інших досліджуваних органів. Це, ймовірно, обумовлено тим, що кров є тканиною, кількісні та якісні показники якої змінюються у першу чергу після розвитку будь-яких змін фізіологічного стану організму.

ГХН в концентрації 5 мг/л подібно діє на прооксидантно-антиоксидантний стан у плазмі крові як в інтактних тварин, так і на фоні дії гістаміну (1 і 8 мкг/кг). Потрібно зазначити, що такий вплив не повертає показники до меж контролю. Така сама тенденція характерна для тканин легень за дії ГХН (5 мг/л) та одночасної дії гістаміну (1 мкг/кг) та ГХН концентрацією 5 мг/л на 7 та 14 доби досліджу.

На 14 добу досліджу на прооксидантно-антиоксидантний стан печінки щура однаково діє ГХН (20 мг/л) та одночасне введення гістаміну (8 мкг/кг) і ГХН (20 мг/л), а також серця – одночасна дії гістаміну (8 мкг/кг) та ГХН 20 мг/л.

Отже, згідно з результатами кластерного аналізу, одночасна дія ГХН і гістаміну повторює вплив самого ГХН на організм щурів.

В результаті проведеного двофакторного дисперсійного аналізу встановлено, що на вміст первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації у плазмі крові значний вплив має ГХН і одночасне введення гістаміну та ГХН (рис. 7а).

При дисперсійному аналізі вмісту ГП у легенях встановлено незначну частку дії гістаміну, в концентрації 1 та 8 мкг/кг, порівняно з ГХН у концентрації 5 мг/л та 20 мг/л. Потрібно відмітити, що частка впливу ГХН у концентрації 20 мг/л на вміст ГП у легенях є максимальною і становить 41,29 %–99,19 % впродовж досліджу, що свідчить про пряму дію ГХН або його залучення в реакції утворення продуктів ліпопероксидації. Менш вираженим є одночасний вплив ГХН, у концентрації 5 мг/л і гістаміну (1 мкг/кг та 8 мкг/кг), на вміст ГП, виявлено у легенях. На частку сумісної дії ГХН, у концентрації 20 мг/л і гістаміну в концентрації 1 мкг/кг і 8 мкг/кг, припадає лише 0,06 %–4,56 %, впродовж досліджу. При вивченні вмісту ТБК-активних продуктів, за дії досліджуваних чинників, встановлено переважаючий вплив ГХН у концентрації 5 мг/л (максимальне значення – 98,6 % на першу добу досліджу). Значну дію на вміст ТБК-активних продуктів відмічено у разі сумісного введення ГХН, у концентрації 5 мг/л і гістаміну в концентрації 8 мкг/кг, на 14 та 21 доби досліджу (88,8 % і 85,4 %, відповідно) (рис. 7б). Посередній вплив на вторинні продукти ліпопероксидації чинить одночасне введення ГХН, у концентрації 20 мг/л і гістаміну (1 мкг/кг і 8 мкг/кг).

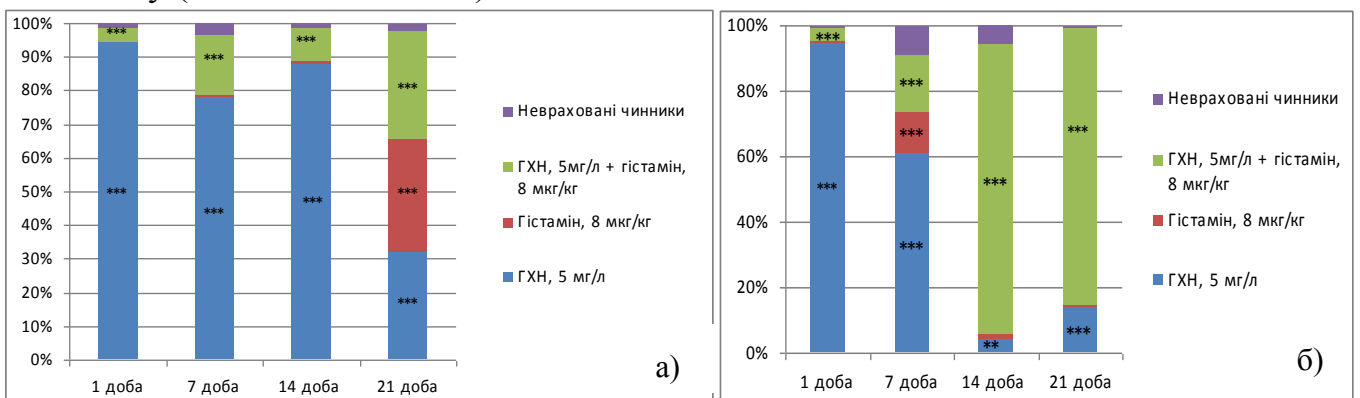


Рис. 7. Результати дисперсійного аналізу впливу гістаміну (8 мкг/кг), гіпохлориту натрію (5 мг/л), сумісної дії гістаміну і гіпохлориту натрію та неврахованих чинників на вміст гідропероксидів у плазмі крові (а) та ТБК-позитивних продуктів у легенях щурів (б) (\*\* –  $p \geq 0,99$ ;

\*\*\* –  $p \geq 0,999$ ,  $n = 5$ ).

Потрібно зазначити, що у серцевому м'язі переважає частка впливу одночасного введення гістаміну і ГХН, впродовж дослідів, а також частка впливу гістаміну в концентрації 8 мкг/кг (порівняно з гістаміном у концентрації 1 мкг/кг).

### Узагальнення

Узагальнюючи отримані результати, запропоновано гіпотетичні схеми механізмів дії досліджуваних чинників, згідно яких гістамін зумовлює інтенсифікацію процесів ліпопероксидації в легенях та нирках щурів. У крові зменшується кількість кисню, порушуються процеси вільнорадикальних реакцій. Це веде до руйнування тканинних базofilів в сполучній тканині легень і до підвищення в них вмісту гістаміну. В серцевому м'язі і в печінці інтенсивність процесів ПОЛ знижується. В нирках інтенсивність процесів ліпопероксидації зростає, що пов'язано з токсичними ефектами метаболітів гістаміну.

При вживанні інтактним тваринам ГХН ця сполука надходить в кров (де інтенсифікує процеси ліпопероксидації), печінку (де порушує прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз). Знижує вміст ТБК-активних продуктів та порушує кількість первинних продуктів ПОЛ в серцевому м'язі. ГХН інтенсифікує вільнорадикальні реакції як у легенях, так і в нирках, що підтверджує деструктивну дію цієї речовини. Негативним фактором дії ГХН на тканини є той факт, що він веде до спадання активності ГПО – ферменту, який знищує гідропероксиди та пероксид водню. Такі зміни показників зберігаються в тканинах організму щура і за одночасного введення гістаміну і ГХН, що підтверджується кластерним аналізом. Вживання ГХН на фоні дії гістаміну справляє значний негативний вплив на нирки щура, де вміст ТБК-активних продуктів підвищується, зростає СОД та спадає активність ГПО (рис. 8). Одночасна дія гістаміну і ГХН порушує будову мітохондрій та ендоплазматичної сітки органів. Отже, використання ГХН, як протигістамінного засобу, є недоцільним, оскільки одночасна дія гістаміну і ГХН не чинить позитивного впливу (на прооксидантно-антиоксидантний стан) на тканини різних органів щурів, аналогічно як і вплив самого ГХН в організмі.

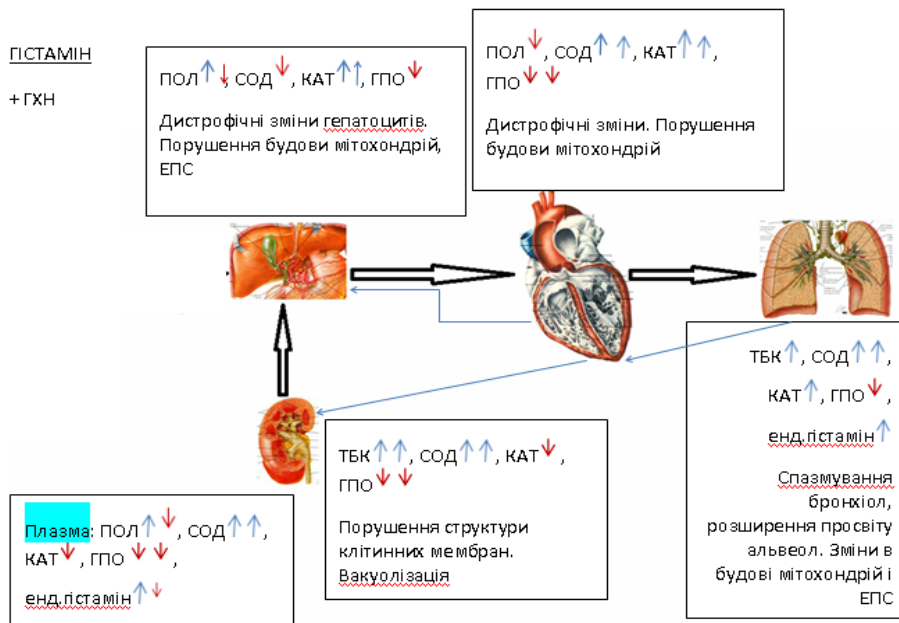


Рис. 8. Гіпотетична схема одночасної дії гістаміну та ГХН на морфо-функціональні параметри різних органів щура.

## ВИСНОВКИ

У роботі, відповідно до поставленої мети та завдань, досліджено вплив гістаміну та ГХН, а також дію ГХН на фоні впливу гістаміну, на вільнорадикальні процеси та стан антиоксидантної системи різних органів щурів. Функціональні зміни плазми крові, нирок, печінки, легень і серцевого м'язу підтвердилися їхніми структурними змінами.

1. Екзогенне введення гістаміну щурам веде до періодичних змін ендogenous вмісту гістаміну в крові. Вплив ГХН та одночасна дія ГХН і гістаміну зумовлює зниження його вмісту в крові. Проте, в легеневій тканині гістамін та ГХН зумовлюють зростання вмісту його, впродовж досліду.

2. Гістамін викликає підвищення вмісту продуктів ліпопероксидації у плазмі, легенях, нирках щура та їхнє зниження у серці і печінці. Одночасне введення в організм тварин гістаміну і ГХН веде до зниження вмісту продуктів ліпопероксидації у серці, а також до підвищення ТБК-активних продуктів у нирках, плазмі та легенях. У печінці, за дії ГХН і гістаміну, вміст продуктів ліпопероксидації періодично змінюється, впродовж досліду.

3. Випоювання тваринам ГХН зумовлює зниження вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації у серці, підвищення – у нирках, легенях та до порушення вмісту продуктів вільнорадикального окиснення у інших досліджуваних органах. В печінці більш виражений негативний вплив на інтенсивність ПОЛ спричинює ГХН, у концентрації 5 мг/л, тоді як у легенях – ГХН, у концентрації 20 мг/л.

4. Дія гістаміну та взаємний його вплив з ГХН викликає зростання активності СОД у серці, нирках, плазмі та легенях, а також спадання активності цього ферменту в печінці. Випоювання щурам ГХН зумовлює зростання активності цього ферменту у серці, нирках, легенях. При дії гістаміну та ГХН активність КАТ зростає в серці, легенях та печінці та спадає у нирках та плазмі. Дія гістаміну призводить до спадання активності ГПО в серці, нирках, а також до зростання у печінці щурів. За одночасного ведення в організм тварин гістаміну і ГХН, а також при випоюванні самого ГХН відбувається пригнічення активності ГПО в усіх досліджуваних тканинах.

5. Екзогенне введення щурам гістаміну призводить до периваскулярного набряку легень, спазму бронхіол, звуження просвіту альвеол, набрякання сполучної тканини між кардіоміоцитами, вакуолізації клітин, застою крові в судинах. Одночасна дія гістаміну та

ГХН зумовлює деструктивні зміни клітин. ГХН, концентрацією 5 та 20 мг/л, зумовлює зміни у будові клітин легень, печінки, серцевого м'язу та нирок.

6. В результаті аналізу електронограм встановлено, що тканини легень є більш чутливими до дії гістаміну, порівняно з серцевим м'язом та печінкою. Одночасна дія ГХН (20 мг/л) та гістаміну (8 мкг/кг), в печінці та серцевому м'язі зумовлюють порушення, у більшій мірі, структуру мітохондрій. Вплив ГХН, концентрацією 5 мг/л, на фоні дії гістаміну, викликає зміни в мітохондріях та ендоплазматичній сітці легень і печінки щурів, тоді як у серцевому м'язі цих змін не спостерігається ні на 7, ні на 14 доби досліду.

7. За допомогою дисперсійного аналізу встановлено, що на вміст продуктів ліпопероксидації в тканинах щурів значний вплив має гіпохлорит натрію і одночасна дія гістаміну та гіпохлориту натрію. За результатами кластерного аналізу показано, що ГХН і одночасний вплив гістаміну і гіпохлориту натрію виявляють схожий ефект на інтенсивність процесів ліпопероксидації та активність ферментів антиоксидантної системи тканин щурів.

### **СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Бішко О. І. Стан системи антиоксидантного захисту у плазмі та серцевому мязі щура за дії гістаміну та гіпохлориту натрію / О.І. Бішко, Н.П. Гарасим, Д.І. Санагурський // Укр. біохім. журнал. – 2014. – Т. 86, № 6. – С. 56–65. *(Дисертант опрацювала дані літератури та власні результати, їй належить участь в експериментальній роботі та написанні статті).*

2. Бішко О. І. Вільнорадикальні процеси в тканинах щура за дії гіпохлориту натрію та гістаміну / О.І. Бішко, Н.П. Головчак, М.Я. Бойко, Д.І. Санагурський // Біофізичний вісник. – 2014. – Т. 31, №1. – С. 14–26. *(Здобувачем особисто проведено дослідження, статистичний аналіз та узагальнення результатів, підготовлено матеріали до друку).*

3. Бішко О.І. Гістамін: фізико-хімічні та функціональні особливості / О.І. Бішко // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2012. – Вип. 60. – С. 40–57 *(Здобувач опрацювала літературні дані, проаналізувала об'єм матеріалу та написала статтю).*

4. Бішко О.І. Вплив гістаміну та гіпохлориту натрію на вільнорадикальні процеси у легеневій тканині щура / О.І. Бішко, Н.П. Головчак, Д.І. Санагурський // Біол. Студії / Stud. Biologica. – 2013. – Т. 7, №3. – С. 5–11. *(Дисертанту належить опрацювання робочої схеми експерименту, отримання й аналіз експериментальних і літературних даних, участь в написанні та оформленні статті).*

5. Бішко О.І. Вміст первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації у тканинах щура за дії гістаміну та гіпохлориту натрію / О.І. Бішко, Н.П. Гарасим, Д.І. Санагурський // Біол. Студії / Stud. Biologica. – 2013. – Т 7, №3. – С. 40–46. *(Дисертанту належить ідея, покладена у основу статті, опрацювання літературних даних і власних результатів, участь у їх аналізі та написанні статті).*

6. Бішко О.І. Система антиоксидантного захисту у печінці та нирках щура за впливу гістаміну та гіпохлориту натрію / О.І. Бішко, Н.П. Гарасим, Д.І. Санагурський // Експеримент. та клін. фізіол. та біох. – 2014. – Т. 3, №67. – С. 33–43. *(Здобувачем особисто проведено дослідження, статистичний аналіз та узагальнення результатів, підготовлено матеріали до друку).*

7. Бішко О.І. Процеси перекисного окиснення ліпідів в крові за дії гістаміну / О.І. Бішко, Н.П. Головчак, Д.І. Санагурський // Восьма міжн. кримська конф. «Окисний стрес і вільнорадикальні патології», м. Судак, 22–28 вересня 2012 р. – С. 13.

8. Бішко О.І. Вміст гістаміну в крові щурів за екзогенного його введення / О.І. Бішко, Д.І. Санагурський // Друга Міжн. конф. молодих вчених "Фізіологія: від молекул до організму", м. Київ, 8–9 жовтня 2012 р. – С.8.

9. Бішко О.І. Процессы липопероксидации в сердечной мышце крыс при действии

гистамина / О.И. Бишко, Н.П. Головчак, А.В. Тарновская, Д.И. Санагурский // 17я Междун. Пушчинская школа-конференция молодых ученых "БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА" г. Пушино, Россия, 21–26 апреля 2013 г. – С. 97–98.

10. Бішко О.І. Активність ключових ферментів антиоксидантної системи крові щурів за екзогенного введення гістаміну / О.І. Бішко, Н.П. Головчак, Д.І. Санагурський // Журнал НАМН України". – Т. 19, додаток. – Київ, 5 березня 2013. – С. 27.

11. Бішко О.І. Вплив гістаміну на вільнорадикальні процеси у легеневій тканині щура / О.І. Бішко, Н.П. Головчак, Д.І. Санагурський // ІХ Міжн. наук. конф. студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології», 16–19 квітня 2013 р.: збірник тез. – Львів, 2013. – С. 13–14.

12. Бішко О.І. Вільнорадикальні процеси в печінці щура за дії гістаміну та гіпохлориту натрію / О.І. Бішко, Н.П. Гарасим, Д.І. Санагурський // Х Міжн. наук. конф. студентів та аспірантів “Молодь і поступ біології”, 8–11 квітня 2014 р.: збірник тез. – Львів, 2014. – С. 11–12.

13. Бішко О.І. Структурні зміни легень щурів за дії гістаміну та гіпохлориту натрію / О.І. Бішко, Н.П. Гарасим, Д.І. Санагурський // ХІ Міжн. наук. конф. студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології», 20–23 квітня 2015 р.: збірник тез. – Львів, 2015. – С. 15–17.

14. Гарасим Н.П. Ультраструктурні зміни серцевого м'язу щурів за дії гістаміну та гіпохлориту натрію / Н.П. Гарасим, О.І. Бішко, С.М. Мандзинець, Д.І. Санагурський // Матеріали VI з'їзду Українського біофізичного товариства, 2015 р. – Луцьк: СНУ імені Лесі Українки, 2015. – С. 88–89. *(Дисертанту належить опрацювання робочої схеми експерименту, аналіз літературних даних і власних результатів, участь у написанні та оформленні тез).*

#### АНОТАЦІЯ

**Бішко О.І. Вільнорадикальні процеси за введення щурам гістаміну та гіпохлориту натрію. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика. – Львівський національний університет імені Івана Франка Міністерство освіти і науки України, Львів, 2016.

Дисертація присвячена дослідженню вільнорадикальних реакцій у тканинах щурів за дії біогенного аміну – гістаміну – та гіпохлориту натрію, речовини, яку використовують для дезінтоксикації організму та очищення водопровідної води. Встановлено, що гістамін та гіпохлорит натрію зумовлюють порушення процесів ліпопероксидації, причому в різних тканинах щурів інтенсивність вільнорадикальних реакцій є різною. Досліджувані речовини ведуть до зміни збалансованої роботи ферментів антиоксидантного захисту – СОД, КАТ, ГПО. Виявлено, що за одночасного ведення в організм тварин гістаміну і ГХН, а також при випоюванні самого ГХН, відбувається спадання активності глутатіонпероксидази в усіх досліджуваних тканинах.

Показано, що гістамін і ГХН зумовлюють дистрофічні зміни в клітинах тканин різних органів (печінки, серцевого м'язу, нирок, легень).

Двофакторний дисперсійний аналіз виявив, що на інтенсивність процесів ліпопероксидації у плазмі крові, серці та легнях щурів значну частку впливу чинить ГХН і одночасна дія ГХН і гістаміну.

**Ключові слова:** пероксидне окиснення ліпідів, ферменти антиоксидантної системи, гістамін, гіпохлорит натрію.

### АННОТАЦИЯ

**Бишко О. И. Свободнорадикальные процессы при введении крысам гистамина и гипохлорита натрия. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.02 – биофизика. – Львовский национальный университет имени Ивана Франко Министерство образования и науки Украины, Львов, 2016.

Диссертация посвящена исследованию процессов свободнорадикальных реакций в тканях крыс при действии биогенного амина – гистамина – и гипохлорита натрия, вещества, которое используют для дезинтоксикации организма и очистки водопроводной воды. Установлено, что гистамин и гипохлорит натрия предопределяют нарушение процессов липопероксидации, причем в разных тканях крыс интенсивность свободнорадикальных реакций является противоположной. Исследуемые вещества ведут к изменению сбалансированной работы ферментов антиоксидантной защиты – СОД, КАТ, ГПО. Выявлено, что при одновременном введении в организм животных гистамина и ГХН, а также при выпаивании самого ГХН, происходит понижение активности глутатионпероксидазы во всех исследуемых тканях.

Показано, что гистамин и ГХН предопределяют дистрофические изменения в клетках тканей разных органов (печенки, сердечной мышце, почек, легких). Гистамин в легких вызывает спазм бронхиол, расширения просвета альвеол. Эти изменения характерны и при одновременном влиянии гистамина и гипохлорита натрия. Установлено, что при влиянии гистамина в цитоплазме клеток легких происходит увеличение количества гранул со связанным гистамином, отекание митохондрий и фрагментация эндоплазматической сетки. Одновременное действие гистамина и ГХН ведёт к "разрыхленности клеточных мембран" легких крыс, что свидетельствует о разрушительном влиянии этих веществ на клетки.

С помощью кластерного анализа установлено, что одновременное введение крысам гистамина и гипохлорита натрия а также выпаивания самого ГХН похоже влияют на изменение содержания первичных и вторичных продуктов липопероксидации и активности ферментов антиоксидантной системы. Двофакторный дисперсионный анализ выявил, что на интенсивность процессов липопероксидации в сердце, плазме крови и легких крыс значительную часть влияния делает ГХН и одновременное действие ГХН и гистамина.

**Ключевые слова:** перекисное окисление липидов, ферменты антиоксидантной системы, гистамин, гипохлорит натрия.

### SUMMARY

**O.I. Bishko. Free-radical processes during the introduction of histamine and sodium hypochlorite to the rats. – Manuscript.**

The thesis of the Ph D degree with specialization 03.00.02 in biophysics. – Ivan Franko National University of Lviv, Ministry of Education and Science of Ukraine, Lviv, 2016.

Dissertation is dedicated to the research of the free-radical reactions processes in the tissue of the rats during the influence of biogenic amine - histamine - and the sodium hypochlorite, the solution that are used for the disintoxication of organism and purifying of

water supply system. It is set that histamine and sodium hypochlorite lead to the violation of the processes of lipid peroxidation, thus in different tissues of the rats the intensity of free-radical reactions is different. The investigated solutions lead to the change of the balanced work of antioxidant enzymes defence - superoxide dismutase, catalase, glutathion peroxidase. It is educed that at a simultaneous injection of histamine and sodium hypochlorite to the animals' organism, and also at giving to drink of sodium hypochlorite, there is a reduce of the activity of the glutathion peroxidase in all investigated tissues.

It is shown that the histamine and sodium hypochlorite cause the dystrophic changes in the tissue cells of different organs (liver, heart tissue, kidneys, lungs).

The two-factor dispersive analysis found out that sodium hypochlorite and simultaneous action of sodium hypochlorite and histamine considerably influence the intensity of the processes of lipid peroxidation in the heart, blood plasma and lungs of the rats.

**Key words:** lipoperoxidation, antioxidant defence system, histamine, sodium hypochlorite.

Підписано до друку 1.02.16 р.

Формат паперу 60×90/16. Папір офсетний.

Наклад 100 прим. Умовн. друк. арк. 0,9. Замовл. № 3

Друк ЛВ УкрДГРІ, м. Львів, вул. Пасічна, 4.