Міністерство охорони здоров'я України
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»

На правах рукопису

УДК: 616.36-099:615.212-08]-092

ПАЦКАНЬ ЛЮДМИЛА ОЛЕКСАНДРІВНА

ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТІ ПАРАЦЕТАМОЛУ НА ФОНІ НІТРИТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ І МЕТОДИ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація
на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник
Кліщ Іван Миколайович
доктор біологічних наук, професор

Тернопіль – 2013

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень…….. 5

Вступ……... 6

Розділ 1 Токсична дія ліків, методи її запобігання і корекції 12

1.1 Медикаментозні ураження печінки: типи, розповсюдження, перебіг 12

1.2 Фармакотерапевтичні і токсичні ефекти парацетамолу. Механізми виникнення і розвитку токсичних уражень парацетамолом……. 18

1.3 Нітрогенвмісні полютанти, їх розповсюдженість в природі та вплив на організм……... 25

1.4 Сучасні підходи до вибору методів корекції порушень обмінних процесів, викликаних токсичними ураженнями печінки…….. 29

Розділ 2 Об'єкт та методи дослідження……... 33

2.1 Відбір тварин для дослідження…….. 33

2.2 Дослідження показників ліпопероксидації……... 34

2.3 Дослідження функціонального стану антиоксидної системи……. 36

2.4 Методи дослідження стану ендогенної інтоксикації……... 40

2.5 Методи дослідження стану плазматичних мембран…… 41

2.6 Методи визначення окислювальних процесів у мітохондріях…… 42

2.7 Методи визначення окиснювальних процесів у постмітохондріальній фракції…….. 44

2.8 Методи морфологічних досліджень……... 46

2.9 Метод математичного аналізу……. 47

Розділ 3 Порушення метаболічних процесів у тварин за умов гострого отруєння парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації…….. 48

3.1 Стан ліпідної пероксидації в організмі тварин з гострим отруєнням парацетамолу на тлі інтоксикації нітритами…… 49

3.2 Вплив парацетамолу, натрію нітриту на процеси вільно радикального окиснення білків плазми крові та печінки щурів 52
3.3 Стан антиоксидантної системи в організмі тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації ……. 56
3.4 Показники ендогенної інтоксикації в організмі тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі попереднього уведення натрій нітриту……. 62
3.5 Стан мембранних структур у тварин з гострим отруєнням парацетамолу на тлі інтоксикації нітритами……... 66
3.6 Вплив парацетамолу і натрій нітриту на процеси мітохондріального окиснення…….. 71
3.7 Активність окиснювальних процесів у мікросомах за умов токсичного ураження парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації. 75
3.8. Морфологічні зміни печінки щурів при застосуванні парацетамолу та на фоні довготривалого введення натрій нітриту 78
Розділ 4 Корекція тіотриазоліном порушень метаболізму у тварин за умов гострого отруєння парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації 88
4.1 Вплив тіотриазоліну на показники ліпопероксидації у тварин з гострим отруєнням парацетамолу на тлі нітритної інтоксикації……. 89
4.2 Вплив тіотриазоліну на стан окислювальної модифікації білків у тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації…… 93
4.3 Вплив тіотриазоліну на стан антиоксидантної системи у тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації……... 95
4.4 Вплив тіотриазоліну на розвиток ендогенної інтоксикації у тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації……. 101
4.5 Вплив тіотриазоліну на стан плазматичних мембран у тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації……... 104

4.6 Вплив тіотриазоліну на процеси енергозабезпечувального окиснення у тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації 108

4.7 Корекція тіотриазоліном окиснювальних процесів у мікросомах щурів з токсичним ураженням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації…… 110

Розділ 5 Аналіз і узагальнення результатів дослідження…… 114

Висновки …… 130

Список використаних джерел …….. 132

Додатки…….. 162

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АлАТ – аланін амінотрансфераза
АОС – антиоксидантна система
АсАТ – аспартатамінотрансфераза
АФК – активні форми кисню
ВРО – вільнорадикальне окиснення
ГП – глутатіонпероксидаза
ГР – глутатіонредуктаза
G-SH – відновлений глутатіон
ДК – дієнові кон’югати
ЕІ – еритроцитарний індекс
КТ – каталаза
МДА – малоновий діальдегід
МСМ – молекули середньої маси
ОМБ – окиснювальна модифікація білків
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
СОД – супероксиддисмутаза
ТБК АП – ТБК-активні продукти
ЦХО – цитохромоксидаза ЦХО
ЦП – церулоплазмін
ум.од. – умовні одиниці
НАДФН – нікотинамідаденіндинуклеотид фосфат відновлений

ВСТУП

Безконтрольний прийом парацетамолу пов’язаний з високим ризиком виникнення ускладнень [24, 209]. За даними медичних центрів США та Великої Британії, передозування парацетамолу є головною причиною розвитку гострої печінкової недостатності [106, 194]. Гостре отруєння парацетамолом часто набуває форми фульмінантної печінкової недостатності і потребує трансплантації органа, а нерідко завершується смертю хворих. Як свідчать дані літератури, не лише передозування, а й застосування парацетамолу у терапевтичних дозах за умов дії додаткових чинників (спадкові особливості активності печінкових ензимів, вживання алкоголю, цукровий діабет, голодування і незбалансованість харчування, а також різні хімічні сполуки) може викликати ураження печінки [211].

Токсичні ефекти парацетамолу тісно асоційовані з особливостями його біотрансформації – зокрема, з утворенням високоактивного інтермедіата N-ацетил-пара-бензохіноніміну, супероксидного радикала та їх здатністю стимулювати клітини Купфера, які є продуцентами монооксиду нітрогену, надмірні кількості якого мають виразну пошкоджувальну дію [164].

Важливість робіт з вивчення впливу нітросполук на життєдіяльність людей і тварин зумовлена зростанням виробництва нітратів, нітритів і азотних добрив, а також широким використанням цих речовин у різних галузях промисловості (харчовій, хімічній, текстильній, металургійній тощо), сільському господарстві, фармакології [35]. Значну кількість нітросполук у вигляді діоксиду нітрогену виділяють автомобілі на автомагістралях. Важливим джерелом нітратів і нітритів, що діють на організм людини, є питна вода і харчові продукти. Нітросполуки можуть потрапляти в організм людини разом з овочами та фруктами, ковбасними і консервними виробами. Одним із джерел є також нітрогенвмісні лікарські препарати. Доведено, що

нітрити здатні спричиняти токсичну дію на всіх структурно-функціональних рівнях: від цілого організму до окремих молекул [36].

Як антидот при отруєнні парацетамолом використовують попередник біосинтезу глутатіону (*N*-ацетилцистеїн). Але можливості його використання з профілактичною метою обмежені внаслідок наявності побічної дії, зокрема здатності провокувати виникнення алергічних реакцій, бронхоспазм [3]. Це вимагає пошуку засобів з поліфункціональними властивостями, здатних запобігати утворенню реактивних метаболітів, сприяти глутатіонзалежній кон'югації парацетамолу та, відповідно, активно впливати на патогенез ураження печінки парацетамолом. Одним з таких медикаментозних середників є тіотриазолін, який характеризується виразними антиоксидантними властивостями, що доведено в експериментах і клінічній практиці [15, 49].

Актуальність теми.

Реальна загроза одночасного поступлення в організм парацетамолу і нітросполук є досить високою, що надає вивченню їхньої комбінованої дії особливої актуальності. Однак особливості перебігу токсичного ураження парацетамолом на тлі попереднього тривалого поступлення нітритів є недостатньо вивченими, не розроблені методи патогенетичної корекції такого ураження, що і спонукало нас до виконання цієї роботи.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є складовою частиною планової науково-дослідної роботи кафедр медичної хімії і загальної гігієни та екології людини ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України" “Біохімічні механізми токсичності наночастинок різної природи та інших антропогенних і біогенних токсикантів в біологічних системах” (№ держреєстрації 0112U000542), у виконанні якої автором проведено дослідження токсичного ураження організму тварин парацетамолом на тлі тривалого введення нітритів і

вивчено ефективність застосування тіотриазоліну з метою корекції виявлених порушень, що викладено в матеріалах дисертації.

Матеріали роботи затверджені Проблемною комісією «Нормальна і патологічна фізіологія» (протокол № 3 від 1 листопада 2012 р.).

Мета дослідження: встановити патогенетичні особливості перебігу гострого експериментального отруєння парацетамолом на фоні попередньої нітритної інтоксикації і з'ясувати можливість використання тіотриазоліну з метою корекції викликаних порушень.

Завдання дослідження:

1. З'ясувати особливості впливу попередньої нітритної інтоксикації на інтенсивність процесів ліпідної пероксидації і вільнорадикального окиснення білків експериментальних тварин з гострим отруєнням парацетамолом.
2. Дослідити в динаміці стан ферментної та неферментної ланок антиоксидантної систем за умов отруєння парацетамолом на тлі попередньої нітритної інтоксикації в експерименті.
3. Дати оцінку стану ендогенної інтоксикації у тварин з отруєнням парацетамолом на тлі попередньої нітритної інтоксикації.
4. Встановити ступінь порушення мембранних структур гепатоцитів, викликаного отруєнням парацетамолом на тлі попереднього уведення натрій нітриту.
5. Дослідити стан детоксикуючої системи у тварин з отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації.
6. Встановити ефективність тіотриазоліну як засобу корекції патологічних порушень, викликаних отруєнням парацетамолом на тлі попередньої нітритної інтоксикації.

Об'єкт дослідження – гостре отруєння парацетамолом на тлі попередньої нітритної інтоксикації.

Предмет дослідження – показники вільнорадикального, мікросомного, енергозабезпечувального окиснення, стан антиоксидантної системи, плазматичних і субклітинних мембран у щурів з токсичним ураженням

парацетамолом на фоні попередньої нітритної інтоксикації та за їх корекції тіотриазоліном.

Методи дослідження: біохімічні (спектрофотометричні, колориметричні) – для вивчення інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і білків, стану антиоксидантної системи, плазматичних і субклітинних мембран, вираженості ендогенної інтоксикації, активності процесів енергозабезпечення, мікросомного окиснення; патоморфологічні – для дослідження структури тканини печінки в умовах норми і патології; статистичні (метод варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента) – для обробки отриманих цифрових результатів.

Наукова новизна одержаних результатів.

Вперше вивчено в динаміці особливості перебігу гострого токсичного ураження парацетамолом на тлі попереднього уведення натрій нітриту. Встановлено, що гостре отруєння парацетамолом після семиденного уведення натрій нітриту супроводжується більшою інтенсивністю ліпідної і білкової пероксидації, виснаженням компонентів ферментної і неферментної ланок антиоксидантної системи, дезінтеграцією плазматичних і субклітинних мембран, значно виразнішими змінами інтенсивності мікросомного окиснення, процесів енергозабезпечення, структурними змінами тканини печінки, ніж окремішнє уведення аналогічної дози парацетамолу.

Доведено позитивний вплив тіотриазоліну на стан метаболічних процесів, порушених уведенням парацетамолу у токсичній дозі на тлі попередньої інтоксикації, викликаної 7-ми денним уведенням натрій нітриту.

Практичне значення отриманих результатів.

Результати проведених досліджень дають можливість розширити наявні відомості про патогенетичні механізми токсичної дії парацетамолу на фоні попереднього поступлення натрій нітриту, що дозволяє розробляти більш ефективні методи корекції порушень, які виникають за цієї патології. Отримані результати дозволяють констатувати ефективність використання

тіотриазоліну за умов гострого отруєння парацетамолом на фоні попередньої нітритної інтоксикації.

Результати дослідження впроваджені у навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології, медичної біохімії, фармакології з клінічною фармакологією, загальної гігієни та екології людини ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України", кафедрах патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України, Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України, Буковинського державного медичного університету МОЗ України.

Особистий внесок здобувача.

Автором проведено патентно-інформаційний пошук, опрацьовано наукову літературу, самостійно проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз одержаних результатів, написано і оформлено дисертацію. Формулювання завдань та інтерпретацію результатів здійснено разом з науковим керівником.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, здобувачу належать виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та узагальнення отриманих даних, підготовка матеріалів до друку.

Апробація результатів дисертації.

Результати досліджень, що включені до дисертації, оприлюднені на науково-практичній конференції "Біохімічні основи патогенезу ураження внутрішніх органів різної етіології та способи їх фармакологічної корекції" (Тернопіль, 2011), всеукраїнській науково-медичній конференції "Інноваційні технології в медицині. Проблеми та їх вирішення" (Полтава, 2012), 2-й науково-практичній конференції "Інноваційні технології в стоматології" (Тернопіль, 2012), підсумковій науково-практичній конференції "Здобутки клінічної та експериментальної медицини" (Тернопіль, 2011-2012), міжнародному медичному конгресі студентів і молодих вчених (Тернопіль, 2012).

Публікації.

За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових робіт, із них 6 – у наукових фахових виданнях (з яких 1 – в іноземному), 7 – у матеріалах і тезах конференцій та конгресів.

РОЗДІЛ 1

ТОКСИЧНА ДІЯ ЛІКІВ, МЕТОДИ ЇЇ ЗАПОБІГАННЯ І КОРЕКЦІЇ

1.1 Медикаментозні ураження печінки: типи, розповсюдження, перебіг

Переважна більшість ксенобіотиків здатні викликати ураження печінки. Відомо, що з кожним роком все більше людей страждає від побічних ефектів лікарських засобів, які іноді призводять навіть до летальних випадків [1, 2, 3]. Медикаментозні ураження печінки мають не однакову поширеність в різних країнах, що залежить від доступу населення до медикаментів, кількості і структури споживання ліків. У Росії гострі медикаментозні ураження печінки виявляються у 3 % госпіталізованих хворих і частіше за все пов’язані з прийманням протитуберкульозних, антибактерійних, анальгетических, гормональних, цитостатичних, гіпотензивних і антиаритмічних засобів [4]. В Англії перше місце в етіології фульмінантний печінкової недостатності займає парацетамол, який витісняє на другий план не тільки інші токсичні ураження печінки, а й гострі вірусні гепатити [5]. У США щорічно реєструються гострі отруєння парацетамолом, що вимагають госпіталізації, що становлять 29 хворих на 100000 населення, в Ізраїлі – 57, у Великобританії – 200 [6, 7].

Більшість токсичних уражень печінки перебігає приховано, клінічно їх важко відрізнити від інших захворювань печінки. Якщо медикаментозне ураження печінки вчасно не діагностоване та прийом медикаментів триває, то важкість ураження багаторазово зростає [2, 8]. Смертність при токсичних гепатопатіях досягає 5 % [9], а при отруєннях парацетамолом навіть у невисоких дозах (4-12 г) – 19 % [6].

Печінка є головним органом метаболізму ксенобіотиків. ООксигенувальний метаболізм речовин каталізується цитохром P_{450}-залежною монооксигеназною системою і іншими ферментами [10]. Цитохром P_{450} представлений набором білків, близьких за будовою, але різних за субстратною

специфічностю [11]. Завдяки реакціям окиснення, багато ксенобіотиків, первинно нетоксичних для печінки, здатні перетворюватися на токсичні метаболіти [10, 11, 12]. У реакціях другої фази утворені метаболіти кон'югуються з ендогенними молекулами, що призводить до зменшення токсичності, підвищення розчинності у воді та полегшує виведення ксенобіотиків нирками [12].

З літературних джерел відомо, що існує два основних типи пошкодження печінки ксенобіотиками [2, 8, 13]. «Передбачена» токсичність залежна від дози утворених токсичних метаболітів і характеризується дозозалежним пошкодженням гепатоцитів. Токсичність виникає при прийманні речовини в дозі, що перевищує місткість систем біотрансформації (передозування, дефіцит субстратів кон'югації і коферментів, ферментів, необхідних для детоксикації), а також під впливом індукторів та інгібіторів ферментів. Дозозалежне ураження викликає тетрахлорметан, парацетамол, тетрацикліни, гризеофульвін, ніацин, аміодарон, естрогени, анаболічні гормони, меркаптопурин, цитостатики і інші речовини.

Токсичний ефект більшості ліків непередбачуваний. Ураження печінки виникає лише в чутливих осіб і не залежить від дози [2, 14, 15]. Типовою причиною "непередбачуваної" токсичності є утворення гаптенів, що викликають імунне ураження печінки. Цей тип реакцій супроводжується системними проявами гіперчутливості: висипаннями, лихоманкою, еозинофілією і відрізняється швидкою регресією симптомів при відміні препарату. Молекулярною основою гепатотоксичності можуть бути розбіжності щодо активності ферментів, що беруть участь у їх біотрансформації, дефекти імунної системи тощо [2, 12, 15, 16]. Так, в осіб з генетично низьким рівнем цитохрому P_{450}, субстрати цього ферменту – дебрізохін, пергекселін, пропранолол, хінідин, дезипрамін мають дуже тривалий період напіввиведення, отже, високу ймовірність токсичності [13, 15].

Багато ксенобіотиків (барбітурати, психотропні засоби, антибіотики, анальгетики, протигрибкові, гіполіпідемічні. антигістамінні препарати,

стероїди, антиоксиданти, вітаміни) здатні посилювати синтез молекул метаболізуючих ферментів [21]. Хоча індукція має пристосувальне значення і спрямована на якнайшвидше видалення ксенобіотика з організму, тривале підвищення активності ферментів порушує обмін стероїдних гормонів, ретинолу та холекальциферолу [20].

Хімічно-індукована патологія печінки являє собою важливу проблему сучасної медицини. Ліки та промислові токсиканти викликають різноманітні за клінічними проявами і механізмами розвитку патологічні зміни в печінці. Часто ця патологія перебігає приховано й погано розпізнається клініцистами. Існуючі підходи до лікування та профілактики токсичних уражень печінки мало ефективні, що значною мірою пов'язане з недостатнім рівнем інформованості медичних працівників про побічну дію лікарських засобів, несприятливий вплив ксенобіотиків на організм.

1.1.1 Стан ендогенної інтоксикації за умов кзоток–сикозів. Перебіг і наслідки токсичних уражень печінки, як і багатьох інших захворювань внутрішніх органів, визначається певною мірою розвитком ендогенної інтоксикації (ЕІ), яку можна охарактеризувати як неспецифічний за більшістю клінічних і біохімічних проявів синдром, що супроводжується невідповідністю між утворенням і виведенням як продуктів нормального обміну, так і речовин спотвореного метаболізму [30, 33, 54, 74, 81].

Гостру ниркову та печінкову недостатність, опікову хворобу, інфекційні хвороби, гострі захворювання черевної порожнини, а також токсикози, викликані дією ксенобіотиків, супроводжує ЕІ [6, 42, 65, 71], що спричиняє посилення процесів катаболізму з утворенням нових токсичних продуктів [5]. За даними багатьох авторів [31, 35, 36], до таких речовин належать, так звані, молекули середньої маси (МСМ) – сполуки з молекулярною масою 300-5000 Да, важливі індуктори ендотоксикозу і неспецифічні маркери ЕІ будь-якого походження [5, 68]. МСМ вважаються гетерогенна група речовин, до складу якої входять поліпептиди і ароматичні амінокислоти, речовини вуглеводної природи, похідні глюкуронової кислоти і деяких спиртів, інші сполуки, які самі

по собі можуть мати пошкоджувальний і токсичний вплив на мембрани клітин, збільшувати проникність судин, викликати тканинну гіпоксію [31, 50]. Хоча ці речовини є складовими компонентами відповідних біологічних рідин у нормі, однак при всіх патологічних станах констатовано, що їх співвідношення та концентрація змінюються, встановлено кореляційні зв'язки між цими змінами та важкістю перебігу токсичного процесу [11, 39, 82]. МСМ визначають темпи розвитку синдрому ендогенної інтоксикації внаслідок їх впливу на основні гомеостатичні системи [40, 77].

Утворення надмірної кількості МСМ в організмі й розподіл їх у біологічних рідинах зумовлені порушенням рівноваги між процесами анаболізму і катаболізму в бік останнього, що сприяє ураженню токсичними метаболітами відповідних органів та порушенню детоксикуючої функції печінки і видільної функції нирок. Токсична дія МСМ пов'язана насамперед із змінами проникності мембран, мембранного транспорту та роз'єднувальним впливом МСМ на процеси окисного фосфорилування. Окрім цього, вони сприяють гемолізу еритроцитів, гальмують утворення глюкози в них, знижують синтез ДНК та глобіну в еритробластах, порушують вуглеводний обмін, пригнічують синтез білка, пошкоджують гепатоцити, дезінтегрують функції лімфоцитів [39, 65, 75].

У літературі є відомості про роль МСМ при хронічній нирковій недостатності, опіковій хворобі, ішемічній хворобі серця, гострих порушеннях мозкового кровообігу, перитоніті, хронічному панкреатиті, інфекційному ендокардиті, онкологічних захворюваннях, при інфекційних захворюваннях вірусної і бактерійної етіології, токсичних ураженнях печінки і ряді інших захворювань [9, 11, 16, 47, 51, 62, 68]. Показано, що при експериментальному токсичному гепатиті у щурів вміст компонентів МСМ у сироватці крові достовірно зростає і корелює зі ступенем інтоксикації [1].

1.1.2 Стан плазматичних та цитоплазматичних мембран при екзогенних токсикозах. На сьогодні немає сумнівів в тому, що порушення структури і функції біологічних мембран – одне

з універсальних явищ, що лежить в основі цілого ряду патологічних процесів [7]. У зв'язку з тим, що надходження в організм, розподіл між тканинами, метаболізм та виведення сторонніх сполук (ксенобіотиків) безсумнівно залежить від їхнього проникнення через мембрани, дослідження стану мембран може значно допомогти у розумінні механізмів інтоксикації, методів ранньої діагностики та патогенетичної терапії [91].

Першою опосередкованою ознакою порушення цілісності плазматичних мембран гепатоцитів при ряді захворювань (вірусних і токсичних гепатитах тощо) є підвищення в сироватці крові активності ферментів печінкового походження (АсАТ, АлАТ) [183].

Матеріальною основою, а також обов'язковою умовою гіперферментемії є збільшення проникності плазматичних мембран гепатоцитів за умови збереження ними функції синтезу білка. Отримані шляхом електронної мікроскопії результати вказують на те, що при гепатиті та деяких інших патологічних процесах в печінці нерідко виникають локальні розриви в плазматичній мембрані [28].

У зв'язку із удосконаленням техніки та методик дослідження, стало можливим дослідження структурно-функціонального стану інших видів мембран (мітохондріальних, ендоплазматичних, лізосомальних, ядерних тощо).

Структурною основою мітохондрій є складна мембранна система, яка містить високоорганізовані ферментні ансамблі, які інтегрують численні процеси клітинного обміну [177]. В мітохондріях розрізняють зовнішню та внутрішню мембрани, котрі різняться між собою структурно і за вмістом мембранних компонентів, а також різною проникністю для іонів та метаболітів.

Порушення енергетичного обміну в мітохондріях багато авторів [23, 28, 63] вважають провідною ланкою патогенезу багатьох захворювань печінки. З одного боку це може бути результатом порушення цілісності самих мітохондріальних мембран, а з іншого – дефіцит макроергічних сполук в гепатоцитах, який виникає внаслідок роз'єднання дихання та оксидного фосфорилування, є безпосередньою причиною порушення іонної рівноваги,

мембранної проникності та інших патологічних зрушень гомеостазу печінкових клітин [72].

Підвищення проникності лізосомальних мембран також відіграє суттєву роль в ушкодженні гепатоцитів. Дистрофічно-некротичні зміни в печінці спостерігаються при поєднанні лабілізації лізосомальних мембран з активацією гідролаз і порушенням проникності мітохондріальних мембран, що призводить до дефіциту макроергічних сполук в клітині.

Отже, токсичні агенти викликають зміни фізико-хімічних властивостей плазматичних та субклітинних мембран. У залежності від властивостей пошкоджуючого агента різняться характер і динаміка цих змін, а також дискоординація діяльності мембранозалежних ферментів окремих видів органел, що має важливе значення у розвитку патологічного процесу.

1.1.3 Морфо-функціональні зміни печінки за умов її медикаментозного ураження. Наявні в літературних джерелах дані свідчать, що після застосування гепатотоксичних медикаментів у печінці виникає адаптивна реакція – помутніння і опалесценція цитоплазми, гіперплазія мітохондрії і гладкого ендоплазматичного ретикулуму. Спостерігаються також зміни ядра, що вказує підвищення активності метаболічних процесів. Токсичний вплив на печінку проявляється виникненням гепатопатій, які можуть мати різний характер [37]. При стеатозі має місце нагромадження ліпідів у вигляді дрібних або великих крапель в ендоплазматичному ретикулумі. При триваючому прийманні препаратів на тлі макровезикулярного стеатозу розвиваються некротичні зміни. Цитоплазма стає пінистою, при електронній мікроскопії виявляються кристалічні включення. Ступінь загибелі гепатоцитів найбільшою мірою визначає важкість медикаментозного ураження печінки. Втрата гепатоцитів розвивається за типом апоптозу (часто також вживають термін "коагуляційний некроз"). Некроз спостерігається в поодиноких клітинах або їх групах. Некроз навколо центральних вен – досить специфічна ознака ураження печінки. Іноді некрози захоплюють цілі сектори печінкових ділянок [23, 39, 40, 44, 50, 51, 52, 53]. У клітинах різко знижується

запас глікогену і надалі розвивається фрагментація ядра. Загибель 65-80 % паренхіми печінки є критичною. Гострі масивні некрози печінки призводять до розвитку фульмінантної печінкової недостатності. Цей синдром в 10-15 % випадків викликаний медикаментозними ураженнями.

Шульпекова Ю.О. виділяє наступні типи холестатичних змін при медикаментозній гепатопатії:

а) міжклітинний (у формі жовчних тромбів), прилеглі гепатоцити перебувають у стані дистрофії;

б) внутрішньоклітинний (у вигляді скупчення крапель жовчі в гепатоцитах, свідчить про серйозне ураження печінки;

в) змішана форма;

г) порушення секреції жовчних кислот. При цьому спостерігається "периста" дегенерація клітин. Виражений холестаз призводить до втрати клітин. При медикаментозному ураженні може визначатися синдром зникаючих жовчних протоків.

1.2 Фармакотерапевтичні і токсичні ефекти парацетамолу. Механізми виникнення і розвитку токсичних уражень парацетамолом

Безпечність фармакотерапії парацетамолом залишається актуальною проблемою сучасної фармакології, оскільки парацетамол належить до найбільш вживаних лікарських засобів, а реклама та необмежений продаж сприяють надзвичайно широкому його застосуванню населенням.

Сьогодні на фармацевтичному ринку України спостерігається збільшення препаратів (більше 50) парацетамолу (вітчизняного і зарубіжного виробництва), які характеризуються яскравою мозаїчністю лікарських форм: від звичайних таблеток, супозиторіїв до фруктових дитячих сиропів. Популярність цього препарату зростає, причиною чого є поширений погляд, що він є найбільш безпечним із всіх анальгетиків/антипіретиків [45].

Препарати з парацетамолом використовують для лікування болю і застуди. У нашій країні зареєстровано десятки препаратів з цією активною речовиною. Найвідоміші з них – Калпол, Панадол, Тайленол, Еффералган. Парацетамол швидко всмоктується, в розчинній формі поглинається швидше, ніж тверді форми таблетки. Піковий рівень у крові для обох форм аналогічна і, як правило, менше 20 мг/л після 1000 мг. Пік рівня препарату відбувається від 30 хвилин до 2 годин після прийому. Видалення з організму є швидким з періодом напіврозпаду близько двох годин [62].

В терапевтичному дозуванні парацетамол має порівняно невелику гепатотоксичність. Однак свідоме чи випадкове приймання препарату у високих дозах – для дорослих в разовій дозі 10-15 г або в добовій дозі більше 4 г протягом декількох днів здатне призвести до важкого ураження печінки по типу центролобулярного гепатонекрозу, що нерідко закінчується летально [28]. Можливо це є причиною псевдопопулярності парацетамолу, як препарату, що найчастіше використовується з метою суїциду в США [212].

У зарубіжній періодиці останніх років було опубліковано декілька оглядових статей, які узагальнюють сучасні дані щодо токсичності парацетамолу [176, 205, 206, 214]. Первинні біохімічні і метаболічні ефекти, що виникають в організмі постраждалого в гострій стадії отруєння, добре вивчені. Але патологічні процеси, що ведуть до ушкодження гепатоцитів при передозуванні парацетамолу залишаються багато в чому не розгаданими. З високим ступенем вірогідності можна стверджувати, що в цьому випадку йде мова про варіант загибелі клітин, який не пов'язаний з апоптозом [200, 213].

Отруєння парацетамолом є дуже підступними: початок буває спокійним, без серйозних симптомів, що загрожують життю. Розпізнати його на цій стадії непросто. Парацетамол швидко всмоктується, розчинній формі поглинається швидше, ніж тверді форми таблетки. Пікові рівні у сироватці зазвичай спостерігаються від 30 хвилин до 2 годин після прийому препарату. Виведення з організму є швидким з періодом напіврозпаду близько двох годин [65, 70, 71].

При терапевтичному дозуванні парацетамол головним чином метаболізується шляхом кон’югації з сірчаною і, особливо, глюкуроновою (60 %) кислотами в печінці тварин та людини [194].

Близько 5-10 % препарату оксигенується цитохром Р450 (CYP450)-залежними шляхами (головним чином CYP2E1 та CYP3A4) до токсичного метаболіту електрофільної природи – N-ацетил-р-бензохіноніміну (NAPQI), який здатний до ковалентного зв’язування з білками [185, 232, 236]. NAPQI або відновлюється у вихідний парацетамол у реакції, яку каталізує відновлений глутатіон або інактивується кон’югацією з глутатіоном та елімінується з сечею або жовчю [212].

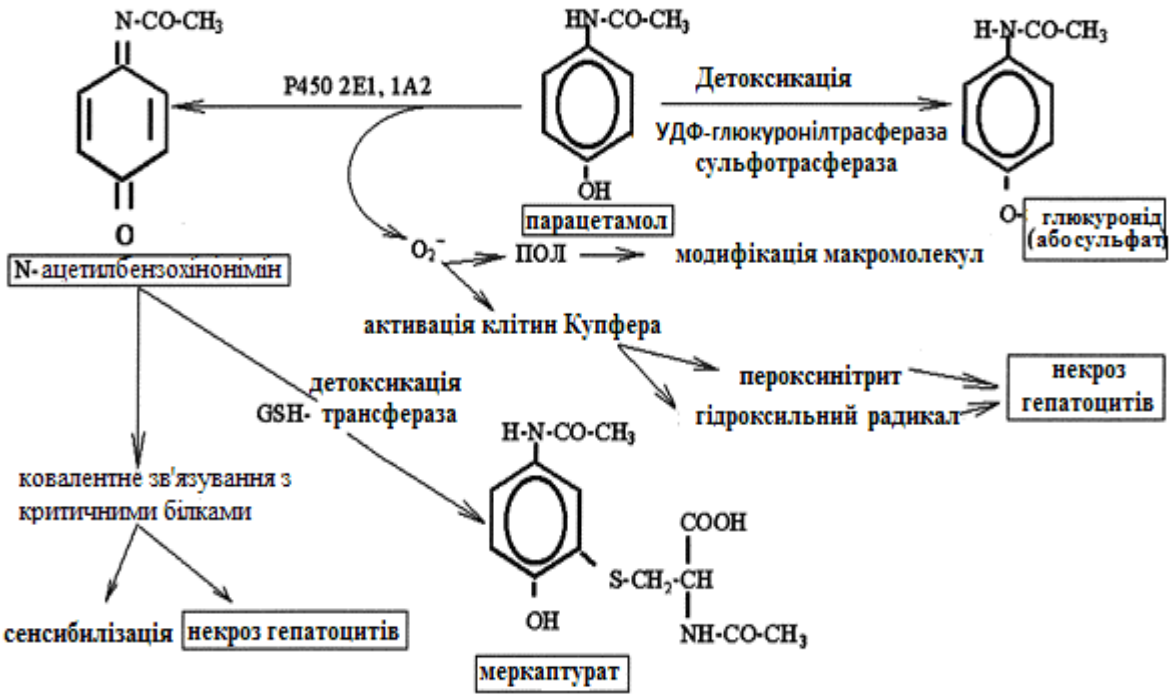

Рис. 1.1. Основні шляхи метаболічної активації і детоксикації парацетамолу.

Механізм токсичності парацетамолу зумовлений ковалентним зв’язуванням його метаболітів з нуклеофільними групами біомакромолекул гепатоцитів. Встановлено, що у формуванні комплексу “парацетамол-білок” бере участь амінокислота цистеїн [239]. Сьогодні існує обмежена інформація про механізм дії комплексу “парацетамол-білок” на клітини печінки.

Вважається, що виникнення ковалентного зв'язку між парацетамолом і найбільш біологічно важливими внутрішньоклітинними білками печінки супроводжується наступними діями: зниженням активності гепатоцитів, потім – загибель і лізис клітин [212]. Згідно з цією гіпотезою білком-мішенню для парацетамолу є мітохондріальні протеїни печінки. На сьогодні ідентифіковано близько 20 внутрішньоклітинних білків, які здатні утворювати ковалентні зв'язки з парацетамолом. Серед них глутамінсинтетаза, глутаміндегідрогеназа, глутаматдегідрогеназа, глутатіонпероксидаза, альдегіддегідрогеназа тощо. [240]. Утворення ковалентного зв'язку між препаратом та внутрішньоклітинними білками призводить до зниження енергетичних процесів в гепатоциті і, як наслідок, до порушень в трансмембранному йонному градієнті [196, 228], а також різким пригніченням активності плазматичної АТФ-ази [238].

Одним із можливих механізмів реалізації токсичних ефектів високих доз парацетамолу є оксидативний стрес. Підвищене утворення супероксиду по механізму реакції Фентона призводить до утворення пероксиду Гідрогену та гідроксильного радикалу ($^{\bullet}OH$). В реакції Фентона ($Me^{n+} + H^2O^2 > Me^{(n+1)+} + {}^{\bullet}OH + OH^-$ або $Me^{n+} + ROOH > Me^{(n+1)+} + RO^{\bullet} + H_2O$) беруть участь катіони металів змінної валентності в нижчому ступені окиснення (Fe^{2+}, Cu^{+}, Ti^{3+}, Cr^2+, Co^{2+}). Висока ефективність продукції активних форм Оксигену в даній реакції забезпечується спряженою реакцією, в якій супероксид-аніон-радикал поводить себе як відновник: $Me(^{n+1)+} + {}^{\bullet}O_2^- > Me^{n+} + O_2$. Було показано, що швидкість протікання реакції між NAPQI і глутатіоном дуже висока ($k1 = 3{,}2 \times 10^4\ M^{-1s-1}$ при значенні pH = 7,0) [179]. Як вказувалось вище, після приймання токсичних доз парацетамолу утворюється NAPQI, що, як наслідок супроводжується вираженим зменшенням рівня глутатіону в центролобулярних клітинах печінки. Вважається, що в такій ситуації проходить інгібування глутатіон-пероксидази – найважливішого ферменту, який бере участь в процесі детоксикації [188, 231].

Крім того, в процесі утворення NAPQI під впливом цитохрому P_{450} проходить утворення супероксид-аніонів ($^{\bullet}OO^{-}$), що характеризуються яскраво вираженою цитотоксичною дією [211]. Під впливом супероксиддисмутази супероксид-аніони перетворюються в кисень та пероксид Гідрогену [193].

В експериментальних роботах щодо отруєння парацетамолом була дана оцінка метаболічної активації (так званого “респіраторного вибуху”) клітин Купфера, макрофагів і нейтрофілів [205].

Раптове різке підвищення утилізації оксигену фагоцитарними клітинами – результат підвищення активності ферменту НАДФ-оксидази, але проведенні дослідження показали [49], що при передозуванні парацетамолом джерелом підвищення рівня супероксиду не є активовані макрофаги. Подальші роботи вказаних авторів дозволили припустити, що утворення супероксиду проходить у мітохондріях клітин печінки, які під впливом парацетамолу знаходяться в стані дисфункції. Зроблено висновок, що цей механізм відіграє суттєву роль в механізмах гепатотоксичності при передозуванні препарату.

Накопичується все більше даних, що вказують на значний вплив оксидативного стресу на гепатотоксичність парацетамолу. У дослідах на щурах продемонстровано різке зростання токсичних властивостей препарату при одночасному призначенні інкапсульованої супероксиддисмутази [203]. Крім того, на експериментальних тваринах було показано, що дефероксамін (комплексоутворюючий препарат, який використовується для лікування отруєнь препаратами заліза) здатний послаблювати токсичність високих доз парацетамолу [235]. Пізніше вияснилось, що дефероксамін не тільки попереджує токсичну дію парацетамолу на печінку, а й затримує розвиток цього ушкодження (в середньому на 24 години). [237]. Всі перераховані дані дають можливість припускати, що в реалізації оксидативного стресу і ушкодження клітин печінки при отруєнні парацетамолом активну роль може відігравати реакція Хабера-Вейса, яку каталізує залізо [196, 204, 221, 230].

В декількох лабораторія західних країн проводять постійну роботу по вивченню ролі макрофагальних клітин в токсичності парацетамолу [187, 210]. В

печінці макрофагальними клітинами є клітини Купфера. Відомо, що в процесі їх життєдіяльності продукується ряд біологічно активних молекул, серед яких гідролітичні ферменти, ейкозаноїди, оксид Нітрогену, супероксид. Крім них, при контакті з парацетамолом, купферівські клітини здатні вивільняти деякі протизапальні цитокіни, в число яких входять Il-1, Il-6 і TNF-α [99, 134]. Науковцями [95, 164] було вивчено in vivo механізми токсичного впливу парацетамолу на купферівські клітини. Ними була запропонована експериментальна модель, в якій фізіологічна активність купферівських клітин штучно пригнічувалась за рахунок введення хлориду гадолінію і сульфату декстрину. Вияснилось, що щурі, яким попередньо вводили ці речовини, значно краще переносили токсичні дози парацетамолу. Подібні результати були одержані і на мишах [56]. Показано, що блокада купферіських клітин ліпосомами, що містять дихлорметилену дифосфанат, також достовірно знижує токсичний ефект високих доз парацетамолу [194]. Одержані дані дозволили авторам висловити припущення про суттєву роль клітин Купфера в механізмах розвитку отруєння парацетамолом. Однак в іншому дослідженні були одержані не такі однозначні результати [204]. Так, введення дихлорметилену фосфанату знижувало токсичність, але в той же час вияснилось, що при введенні хлориду гадоліну фізіологічна активність частини купферівських клітин пригнічувалась, що ставить під сумнів трактування раніше отриманих результатів. Таким чином, роль клітин Купфера в процесі реалізації токсичних ефектів парацетамолу потребує подальшого вивчення.

Порівняно недавно в дослідах на експериментальних тваринах було виявлено, що введення токсичних доз парацетамолу супроводжується накопиченням нітротирозину в гепатоцитах, які розміщені центролобулярно [221]. Дані імуногістохімічного аналізу свідчать про те, що нітрати утворюються саме в тих клітинах, в яких проходить накопичення адукторів парацетамолу, а пізніше розвивається некроз. В організмі ссавців пероксинітрит є одним із небагатьох хімічних сполук, здатних перетворювати тирозин в нітротирозин. Можна припустити, що саме ця сполука бере участь в

метаболізмі парацетамолу в клітинах печінки, і призводить до накопичення продукту реакції – нітротирозину. Разом з тим відомо, що пероксинітрит – досить агресивний окисник, потенційно здатний до ушкодження багатьох клітинних структур печінки [137]. В умовах послаблення антиоксидантного захисту пошкоджуючі ефекти пероксинітриту стають ще більш значними [169]. Аніон пероксинітриту є порівняно стабільним, хоча в умовах зниженого pH (7,4) період його напіврозпаду зменшується, складаючи близько 1,9 секунди. Реакції оксидації, які ініціюються пероксинітритом, можуть перебігати за участю одного або двох електронів. Доведена роль цієї сполуки в процесах оксидації ліпідів [145], білків та ДНК [146].

Таким чином, процес оксидації клітинних структур, що провокується високими дозами парацетамолу за участю пероксинітриту, може виявитись одним з можливих механізмів токсичного ушкодження печінки.

Аналіз літературних даних свідчить, що важкому перебігу інтоксикації парацетамолом, навіть при його терапевтичному дозуванні сприяє ензиматична неповноцінність ферментативної ланки антиоксидантної системи (АОС) і наявність дегенеративних вільнорадикальних хвороб (атеросклероз та ін.), які часто зустрічаються у похилому віці [66], гепатити різної етіології [35, 178], хронічне зловживання алкоголем [212, 225]. Посилення гепатотоксичності парацетамолу в зв’язку з підвищеним утворенням NAPQI спостерігається при недостатньому харчуванні [176]. Внаслідок посилення активності CYP2E1 утворення токсичного метаболіту може також підвищуватись при голодуванні [189] та за дефіциту білка в дієті [193], ожирінні [216], погано контрольованому цукровому діабеті [229]. Його інактивація внаслідок зменшення утворення глутатіону знижується у пацієнтів з хронічною білковою недостатністю [190]. Крім того, ризик гепатотоксичності парацетамолу збільшується при одночасному прийомі лікарських препаратів, які здатні впливати на його виведення із організму та на активність CYP2E1[65, 78]

У своїх працях В.Т. Івашкін, В.П. Фисенко також стверджують, що ефект гепатотоксичності пов'язаний з дією не самого парацетамолу, а викликається

його нестабільним метаболітом – N-ацетил-п-амінобензохіноном (NAPQI), який інактивується глютатіоном. У нормі лише невелика фракція парацетамолу конвертується в активний метаболіт, який зв'язується з глютатіоном і потім утворюється у вигляді меркаптуринової кислоти. Великі дози парацетамолу призводять до підвищеного утворення його активного метаболіту – NAPQI; коли виснажуються запаси зв'язує NAPQI глютатіон, цей метаболіт ковалентно зв'язується з білками плазми з утворенням комплексів, які викликають некроз. Таким чином, гепатотоксичність парацетамолу залежить від дози препарату, швидкості його трансформації, тканинних запасів глютатіону, обставин або агентів потенційно здатних індукувати відповідну ланку цитохрому P_{450} або зменшувати запаси глютатіону [23, 40, 41, 53].

Як антидот при гострих отруєннях парацетамолом використовують протиотруту – N-ацетилцистеїн, який вводять внутрішньовенно. Протиотрута відновлює здатність печінки виробляти глутатіон для комбінування з бензохіноном і що має захисний вплив на печінку [50]. Застосування антидоту протягом 12 годин після передозування є дуже ефективним і має можливість попередити ураження печінки.

1.3 Нітрогенвмісні полютанти, їх розповсюдженість в природі та вплив на організм

За останні десятиріччя використання мінеральних добрив, в тому числі нітрогенних, значно збільшилось, що зумовило різке зростання залишкової кількості нітратів та нітритів у довкіллі, а в кінцевому результаті – збільшення нітритного навантаження на людину [2, 115].

Актуальність робіт з вивчення впливу нітросполук на життєдіяльність людей і тварин обумовлена також зростанням виробництва нітратів, нітритів і нітрогенних добрив, а також широким використанням цих речовин у різних галузях промисловості (харчовій, хімічній, текстильній, металургійній, та ін.), сільському господарстві, фармакології [112]. Значну кількість нітросполук у

вигляді диоксиду нітрогену виділяють автомобілі на автомагістралях [78]. Важливим джерелом нітратів і нітритів, що діють на організм людини, є питна вода і харчові продукти [53, 116]. Нітросполуки можуть потрапляти в організм людини разом з овочами та фруктами, ковбасними і консервними виробами [53]. Можливе також потрапляння інгаляційним шляхом із вдихуваним повітрям і лікарськими препаратами [29, 73].

Солі нітратної кислоти є достатньо токсичними сполуками, які здатні вступати в природний цикл нітрогену [125]. Беручи участь в різноманітних біохімічних реакціях, нітросполуки підлягають подальшим перетворенням, в результаті яких утворюються нові речовини, в тому числі реакційно здатні вільні радикали: диоксид нітрогену (NO_2) і монооксид нітрогену (NO) [30, 115]. На початку 80-их років було встановлено, що їжа не єдине і навіть не головне джерело нітратів і нітритів. Було зроблено висновок, що нітрити і нітрати утворюються в результаті окиснення відновлених форм нітрогену, в ході якого як проміжний продукт може утворюватись NO [69]. Монооксид нітрогену давно відомий своєю токсичністю, обумовленою наявністю в його структурі неспареного електрона. З іншого боку, він безперервно продукується в організмі людини та тварини, виконуючи функцію одного з універсальних регуляторів метаболізму. Зокрема, він бере участь в регуляції тонусу судин як антагоніст адренергічної нервової системи, гальмує адгезію і агрегацію тромбоцитів [94]. Основними клітинними мішенями NO є:

- залізовмісні ферменти та білки, такі як гуанілатциклаза, гемоглобін, мітохондріальні ферменти, ферменти циклу Кребса, ферменти синтезу білка і ДНК. Зв'язування NO з залізовмісною ділянкою ферменту призводить до зміни його активності. Взаємодія NO з цими мішенями відіграє роль в цитотоксичній дії макрофагів, в розслабленні м'язів судин і шлунково-кишкового тракту, в переносі оксигену, утворенні АТФ та формуванні довготривалої пам'яті [7, 27, 131].

- білки, що містять SH-групи [11]. NO є потужним каталізатором утворення дисульфідних містків. Завдяки взаємодії з SH-групами він може регулювати такий важливий для клітини процес, як біосинтез білка.

- активні форми оксигену. Монооксид нітрогену зв'язується з киснем із утворенням надзвичайно токсичної сполуки – пероксинітриту [94]. Механізм окиснення гемоглобіну нітритними іонами і супутні цьому проесу реакції до кінця ще не з'ясовані. В останні роки з'явились роботи [80], автори яких при розгляді реакції взаємодії нітритів з гемоглобіном включають систему рівнянь, що описують проміжні етапи цієї складної реакції: супероксидний аніон-радикал (O_2^-), пероксид водню (H_2O_2), нітратні (NO_3^-) та нітритні (NO_2^-) іони, монооксид (NO) та двооксид (NO_2) Нітрогену; а також проміжні продукти окисненя гемоглобіну.

Після надходження в кров іони NO_2^- проникають через еритроцитарні мембрани і вступають в реакцію з гемоглобіном. При взаємодії NO_2 із дезоксигемоглобіном відбувається окисно-відновна реакція в ході якої дезоксигемоглобін оксигенується в метгемоглобін, а іони NO_2^- відновлюються в NO [155]:

$$HbFe^{2+} + NO_2^- + 2H^+ \longrightarrow MetHbFe^{3+} + NO + H_2O \qquad (1.1)$$

Комплекси MetHb з NO нестабільні, в зв'язку з чим легко розпадаються. Взаємодіючи з відновленим гемоглобіном, монооксид нітрогену (NO) утворює стабільні Hb-NO комплекси:

$$Hb^{2+} + NO \longrightarrow Hb\text{-}NO \qquad (1.2)$$

При взаємодії іонів NO_2^- з оксигемоглобіном монооксид нітрогену переходить окиснену форму. Однак утворення Hb-NO комплексів протягом 1-3 годин не відбувається. У зв'язку з цим запропонована гіпотеза, згідно з якою при дії оксигемоглобіну з іонами NO_2^- відбувається утворення комплексу із поділеною електронною густиною. Остання здійснюється таким чином, що гемоглобін переходить в квазіокиснений стан [78, 154].

Отже, на основі встановленого механізму реакції оксигемоглобіну з нітрит-іоном, за умов збереження основних закономірностей їх взаємодії in vivo

можливі два шляхи токсичної дії солей нітратної кислоти при надходженні їх у живий організм – метгемоглобіноутворення та зміна стаціонарних концентрацій фізіологічних радикальних метаболітів O_2^-, $O^{\cdot}H$, $HO_2^{\cdot}$. Останні мають виражену активуючу дію, взаємодіючи з SH-групами білків, відновленими формами коферментів, поліненасиченими біологічно активними сполуками, викликають їх окиснення, що супроводжується втратою чи порушенням їх функції [7, 11, 28, 45, 145, 156]

Метгемоглобіноутворення поряд з тим, що викликає гемічну гіпоксію, приводить до виникнення тканинної гіпоксії з усіма наслідками для організму [123]. Як показують дані [79], адаптація тканини печінки до гемічної гіпоксії здійснюється шляхом зниження інтенсивності дихання мітохондрій.

При цьому спостерігається пригнічення окисно-відновних процесів у мітохондріях: зниження активності ферментів (сукцинатдегідрогенази, NADH-дегідрогенази, малатдегідрогенази, цитратсинтетази тощо); зростання відновлюваності піридиннуклеотидів, акцептування електронів дихального ланцюга іонами NO_2^-, а також зменшення концентрації цитохрому P_{450} [78]. Нітритні іони і продукти їх перетворення здатні роз'єднувати окисне фосфорилювання і дихання та інгібувати транспорт електронів по дихальному ланцюгу мітохондрій. Зменшення дихального контролю за інкубації мітохондрій з нітритами вказує на вираженість роз'єднання дихання і фосфорилювання, що приводить до енергетичного дефіциту при цій інтоксикації. Особливий місцем є ділянка дихального ланцюга від цитохрому *C* до цитохромоксидази, оскільки іони NO_2^- можуть оксигенувати відновлений цитохром *C* через інтактний дихальний ланцюг мітохондрій. Вважається [69], що відновлення іонів NO_2^- до NO в мітохондріях здійснюється в результаті акцептування електронів з термінальної ділянки дихального ланцюга. Найбільш вірогідним ферментом, здатним виконувати роль донора електронів для іонів NO_2^- є цитохромоксидаза.

Частина нітратів в організмі людини (переважно в слині) відновлюється бактеріальною мікрофлорою до нітритів, останні, взаємодіючи з амінами

(амідами), приводять до утворення N-нітросполук, багато з яких є канцерогенами [126]. Показана можливість утворення нітросполук у порожнині рота, шлунку, кишечнику та сечовому міхурі людини [78, 112]. Деякі автори [126] вказують на канцерогенну небезпеку нітритів у малих дозах, близьких до тих, які людина отримує з водою.

Виходячи з вищенаведеного можна зробити висновок, що необхідні подальші дослідження з метою вивчення біологічної дії натрій нітриту на організм, його впливу на зміни показників захисних систем організму, а також впливу інших ксенобіотиків на тлі тривалого поступлення нітрогенвмісних сполук.

1.4 Сучасні підходи до вибору методів корекції порушень обмінних процесів, викликаних токсичними ураженнями печінки

Забруднення навколишнього середовища різноманітними техногенними відходами, стрімке поширення вірусів гепатиту призводить до росту числа захворювань печінки різної етіології [42]. Одними з поширених факторів ураження печінки залишаються алкоголь та ліки [59]. Синдром ендогенної інтоксикації організму, що зумовлений розпадом клітин печінкової паренхіми і накопиченням в навколоклітинному просторі токсичних продуктів, призводить до порушення клітинного метаболізму, послаблення регуляторних та адаптаційних функцій і систем, які підтримують гомеостаз [88]. Тому розробка ефективних і доступних способів видалення з організму ксенобіотиків або ендогенних токсичних сполук, корекції метаболічних порушень, спричинених їхнім впливом на організм є одним з перспективних шляхів розв’язку проблеми терапії токсичних уражень печінки [169, 231].

Сучасні напрямки лікування токсичних гепатопатій зводяться до таких терапевтичних заходів: вплив фармакологічними препаратами на біохімічні процеси та ультраструктурну організацію в гепатоцитах; застосування різноманітних методів очищення внутрішнього середовища організму людини

– гемодіалізу, перитонеального діалізу, замінного переливання крові або фізико – хімічних сорбційних методів; тимчасового заміщення функцій гепатоцитів, уражених патологічним процесом [108]. Проте, незважаючи на численні дослідження вітчизняних і зарубіжних спеціалістів, проблема біохімічної корекції екзотоксикозів залишається все ще не вирішеною. Сьогодні широко ведуться пошуки і дослідження препаратів, які були б здатні інгібувати активацію ксенобіотиків на молекулі цитохрому P_{450}, коректувати діяльність апарату білкового синтезу, пошкодженого при хімічному ураженні печінки, стимулювати функцію компонентів власної ферментної антиоксидантної системи організму, нормалізувати порушені енергетичні процеси.

1.4.1 Гепатопротекторні властивості антиоксидантів при токсичній дії ксенобіотиків на організм. Прооксидантний ефект багатьох ксенобіотиків значною мірою визначає патогенез їх пошкоджувального впливу на печінку, тому при інтоксикаціях широко застосовують антиоксиданти [220, 225]. В механізмі дії антиоксидантів виділені, за сучасними уявленнями наступні механізми [216,]: інгібування окиснення, безпосередня взаємодія з вільними радикалами; безпосередня взаємодія з гідроперекисами та їх руйнування; блокування каталізаторів вільнорадикального окиснення, передусім металів змінної валентності, внаслідок утворення комплексів з цими металами; підвищення активності ендогенних антиоксидантних ферментів, в першу чергу СОД, каталази, церулоплазміну [120, 181, 182].

Серед антиоксидантів, гепатопротекторними властивостями при хімічному ураженні організму характеризуються аскорбінова кислота [183, 184], коензим Q [185], ряд синтетичних антиоксидантів [186, 187]. Застосування селеніту натрію та інших селеновмісних препаратів сприяло нормалізації морфологічної структури і біохімічних змін у печінці щурів, отруєних тетрахлорметаном, етанолом і тетрацикліном [187, 188]. Одним з найкраще вивчених і широко використовуваних у гепатології біоантиоксидантів є вітамін Е [189, 190], протекторна дія якого зумовлена наявністю в його молекулі

лабільного атома водню, завдяки чому він може легко взаємодіяти з вільними радикалами і гальмувати процес ПОЛ [191]. У роботах [192, 193] показано високий захисний ефект каротинів, токоферолів, відновленого глутатіону, ваніліну, кверцетину, убіхінону та інших антиоксидантів при інтоксикації галактозаміном. Доведена також захисна дія манітолу, циклічного аденозинмонофосфату, диметилсульфоксиду, під впливом яких у щурів з галактозаміновим ураженням зменшувалася ферментемія, покращувався синтез білка, збільшувався вміст АТФ у гепатоцитах [194, 195].

Крім дослідження ефективності за умов токсичного впливу ксенобіотиків відомих препаратів, в останні десятиріччя ведеться активний пошук нових сполук – гепатопротекторів з антиоксидантними властивостями. Перспективним в плані гепатопротекторного ефекту може бути препарат тіотриазолін. Фармакологічні властивості тіотриазоліну зумовлені протиішемічним, мембраностабілізуючим, антиоксидантним і імуномодулючим ефектом. Препарат попереджує ураження і смерть гепатоцитів, знижує ступінь жирової інфільтрації і поширеність центролобулярного некрозу печінки, активуючи процеси репаративної регенерації гепатоцитів, нормалізує в них білковий, вуглеводний, ліпідний і пігментний обмін. Пришвидшує синтез і виділення жовчі, нормалізує її хімічний склад [203, 236].

Тіотриазолін підвищує компенсаторну активацію анаеробного гліколізу, зменшує пригнічення процесів окислення в циклі Кребса з збереженням резервів АТФ, покращує реологічні властивості крові за рахунок активації фібринолітичної системи [71].

Антиоксидантна дія проявляються завдяки наявності в структурі молекули тіотриазоліну толової групи, завдяки чому він має окислювально-відновні властивості, а також третинного Нітрогену, який зв’язує надлишок іонів Гідрогену. Тіотриазолін реагує з активними формами оксигену і ліпідними радикалами за рахунок виражених відновних властивостей тіолової групи і попереджує ініціювання активних форм оксигену шляхом реактивації антирадикальних ферментів – СОД, каталази і глутатіонпероксидази [65, 66].

Таким чином, антиоксидантна дія тіотриазоліну реалізується на декількох напрямках – безпосередня взаємодія з вільнорадикальними продуктами та гідропероксидами, активування оксигенації поліненасичених жирних кислот і зниження тим самим концентрації субстратів вільнорадикальних реакцій, покращання транспорту ліпідів через клітинну мембрану, активування енергетичних процесів в клітині.

РОЗДІЛ 2
ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Враховуючи мету і завдання, поставлені в дисертаційній роботі, а також сучасні уявлення про патогенез і принципи лікування токсичних уражень ксенобіотиками, нами вибрано наступний методологічний підхід та комплекс лабораторних методів дослідження.

2.1 Відбір тварин для дослідження

Досліди проводили на білих статевозрілих щурах-самцях масою 180-190 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського». В процесі роботи використано 198 тварини. Для виключення випадкових впливів усі тварини перебували в однакових умовах і досліджувалися в один і той же час (зберігалась сезонність і час доби).

Токсичне ураження викликали шляхом дворазового внутрішньошлункового введення тваринам суспензії парацетамолу у 2 % розчині крохмалю в дозі 1250 мг/кг маси тіла (1/2 LD_{50}). Тварини 3-ої групи перед цим отримували натрію нітрит в дозі 25 мг/кг внутрішньошлунково протягом 7-ми діб. Корекцію проводили шляхом уведення 2,5 % розчину тіотриазоліну внутрішньом'язово з розрахунку 50 мг/кг щоденно з першого дня уведення токсичних чинників і до завершення експерименту.

Піддослідних щурів поділили на 4 групи: 1-ша – інтактні (контроль); 2-га – уражені парацетамолом, 3-тя – уражені парацетамолом після попереднього уведення натрію нітриту, 4-та - уражені парацетамолом після попереднього уведення натрію нітриту та за корекції тіотриазоліном.

Утримання тварин та експерименти проводилися у відповідності до положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" [118].

Тварин декапітували під тіопенталовим наркозом на першу, третю та п’яту доби від моменту припинення ураження. Дослідженню підлягали сироватка крові й гомогенат печінки.

2.2 Дослідження показників ліпопероксидації

2.2.1 Визначення концентрації ТБК–активних продуктів. Принцип методу: при високій температурі в кислому середовищі малоновий діальдегід і деякі інші проміжні продукти ліпопероксидації реагують з тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений комплекс з максимумом поглинання при 535 нм [80].

У центрифужні пробірки наливали по 1 мл H_2O та 1 мл 10 % гомогенату або 0,5 мл сироватки крові. Після цього в пробірки добавляли 2 мл 30 % розчину трихлороцтової кислоти, 0,1 мл 5М НС1 і 2 мл тіобарбітурової кислоти. Пробірки поміщали в киплячу водяну баню на 15 хв, після чого охолоджували. Осад відділяли центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 40 хв. Надосадову рідину зливали в чисті пробірки і фотометрували на СФ-46 при 535 нм.

Концентрацію продуктів, щоб реагують з тіобарбітуровою кислотою розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції забарвленого комплексу, який дорівнює $1{,}56\times10^{5}$см$^{-1}$м$^{-1}$ і виражали в мкмоль/л сироватки крові або мкмоль/кг тканини.

2.2.2 Визначення концентрації дієнових кон’югатів. Концентрацію дієнових кон’югатів (ДК) визначали за методом, описаним у роботі [28], який грунтується на тому, що екстраговані гептан-ізопропіловою сумішшю гідроперекиси мають відповідний максимум поглинання: ДК при довжині хвилі 232 нм.

До 0,2 мл сироватки або 0,4 мл 10 % гомогенату добавляли 4 мл суміші гептан-ізопропанолу (1:1) і струшували 15 хв на лабораторному струшувачі. Потім у пробірки добавляли по 1 мл розчину НСІ (рН=2,0) і 2 мл гептану,

інтенсивно струшували і після відстоювання та розшарування суміші (через 30 хв) відбирали гептановий шар та вимірювали його оптичну щільність на спектрофотометрі СФ-46 при λ= 232 нм. Як контроль використовували пробу, яка містила 0,2 мл дистильованої води замість досліджуваного матеріалу. Розрахунок вмісту ДК проводили у відносних одиницях за формулою:

$$C = 10 \cdot E \cdot V_1/V_2 \text{ (для сироватки)} \qquad (2.1)$$

$$\text{або } C = E \cdot V_1/V_2 \text{ (для печінки)},$$

де E – оптична щільність гептанового шару проби,

V_1 – кінцевий об'єм гептанового екстракту 4 мл,

V_2 – об'єм досліджуваного матеріалу 2 мл.

Вміст дієнових кон'югатів виражали в ум.од/мл у сироватці крові та ум.од./г в гомогенаті печінки.

2.2.3 Метод визначення окиснювальної модифікації білків. В процесі окиснювальної модифікації білків плазми утворюються альдегідні і кетонні групи, які взаємодіють з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів, що мають характерний спектр поглинання. Альдегідо- і кетонопохідні нейтрального характеру реєструються при 370 нм (ОМБ370), а основного – 430 нм (ОМБ430) [113].

Для дослідження використовували плазму крові і гомогенат печінки. У центрифужні пробірки (обов'язково паралельні проби) вносять 0,8 мл 0,85 % розчину NaCl, 0,2 мл плазми крові (гомогенату печінки), 1 мл 2,4-динітрофенілгідразину, молярна концентрація якого 0,1 моль/л, розчиненого в 2 моль/л соляній кислоті і 1 мл 10 % трихлороцтової кислоти (ТХО). В контрольні проби замість 2,4-динітрофенілгідразину добавляли 1 мл 2 молярної соляної кислоти. Проби інкубували 1 год при температурі +37 °С, а далі центрифугували 10 хв при частоті обертання 3000 об./хв. Одержаний осад промивали тричі 5 % розчином ТХО (по 5 мл), кожен раз старанно ресуспендуючи осад скляною паличкою. До одержаного осаду добавляли 5 мл 8 моль/л розчину сечовини, витримували 5 хв у киплячій водяній бані до повного

розчинення. Оптичну густину утворених динітрофенілгідразонів реєстрували на фотоелектроколориметрі КФК-3 при довжині хвилі 370 і 430 нм проти контролю. Паралельно проводили визначення в плазмі крові білка біуретовим методом.

Вміст фенілгідразонів розраховували за формулою:

$$A=10^3 \times E / (21 \times C) \qquad (2.2)$$

де А – вміст фенілгідразонів, ммоль/кг,

С – вміст білка в 0,2 мл плазми крові,

Е – оптична щільність проб.

2.3 Дослідження функціонального стану антиоксидної системи

2.3.1 Визначення супероксиддисмутазної активності. (СОД, К.Ф.1.15.1.1). Активність СОД у печінці визначали за методом, описаним у роботі [158]. Для дослідження брали 1 мл 10 % гомогенату печінки, приготовленого на фосфатному буфері (pH=7,4). Проводили попередню обробку досліджуваного матеріалу хлороформ-спиртовою сумішшю і КН2РО4 з наступним центрифугуванням при частоті обертання 12000 об/хв протягом 15 хв при температурі +4 оС.

До 0,2 мл супернатанту добавляли 1,3 мл пірофосфатного буферу (pH - 8,3), молярна концентрація якого 0,1 моль/л, 1 мл розчину нітросинього тетразолію, 0,3 мл розчину феназинметасульфату і 2 мл розчину НАДН, молярна концентрація якого 0,2 ммоль/л. Проби 10 хв витримували в темноті й фотометрували на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 540 нм в 1 см кюветі проти проб, до яких не добавляли НАДН. Контролем служили проби, в яких замість гомогенату добавляли 0,2 мл фосфатного буферу. Активність фермента розраховували за наступними формулами: спочатку визначали його здатність інгібувати відновлення нітросинього тетразолію. Відсоток інгібування розраховували за формулою:

$$T=(E_к - E_д) \times 100/E_к, \qquad (2.3)$$

де Т – відсоток інгібування, %,

$Е_к$ – екстинкція контрольної проби, од. виміру,

$Е_д$ – екстинкція дослідної проби.

Після чого розраховували активність фермента за формулою:

$$А_{сод} = Т / (100\ \% - Т), \qquad (2.4)$$

де $А_{сод}$ – активність супероксиддисмутази, од. виміру,

Т – відсоток інгібування.

Ферментну активність виражали в умовних одиницях на 1 мг дослідної тканини.

Для визначення активності СОД у крові відбирали 0,1 мл крові і розводили 5 мМ тріс-буферним розчином, pH 7,4 у співвідношенні 1:9. З отриманого гемолізату осаджували гемоглобін шляхом додавання 0,25 мл етанолу та 0,15 мл хлороформу. Суміш охолоджували до -30 ^{0}С. Після заморожування гемолізат ретельно перемішували і потім центрифугували при 3000 об/хв протягом 15 хв. для видалення гемоглобіну і хлороформу. Прозорий супернатант використовували для визначення активності супероксиддисмутази. Подальше визначення проводилось так, як і в гомогенаті печінки.

Виражали активність фермента в умовних одиницях на 1 мг білка у цільній крові.

2.3.2 Визначення активності каталази. (К.Ф.1.11.1.6. Активність каталази визначали за методом Королюк М.А. и співав. [81]. Принцип методу ґрунтується на здатності гідрогену пероксиду утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення прямопропорційна кількості перекисю водню.

Каталазну активність визначали в плазмі крові і тканині печінки, з якої на холоді готували 10 % гомогенат на 0,05 М тріс-буфері (pH - 7,8). Реакцію запускали додаванням 0,1 мл плазми або гомогенату до 2 мл 0,03 % розчину перекису водню. Паралельно готували порівняльну пробу, в яку замість досліджуваного матеріалу вносили 0,1 мл дистильованої води. Через 10 хв реакцію зупиняли додаванням 1 мл 4 % молібдату амонію. Інтенсивність

забарвлення вимірювали на спектрофотометрі СФ- 46 при 410 нм проти контрольної проби, в яку замість гідрогену пероксид добавляли 2 мл води. Активність каталази виражали в каталах і розраховували за формулою:

$$A=(Ex-Eд)/Vtk, \qquad (2.5)$$

де A − активність каталази;

Ex і Ед − екстинкція холостої і дослідної проб;

t − час інкубації (с);

k − коефіцієнт молярної екстинкції гідроген пероксиду, який дорівнює $22,2 \times 10^3 M^{-1}$ $см^{-1}$.

2.3.3 Визначення глутатіонпероксидазної активності. (ГП, К. Ф. 1.11.1.9). Активність ГП визначали за методом, описаним у роботі [87]. До 0,3 мл гомогенату печінки (1 : 4) добавляли 0,5 мл тріс-буферу (pH - 7,4), молярна концентрація якого 0,25 моль/л, 0,1 мл ЕДТА, молярна концентрація якого 25 ммоль/л, 0,1 мл азиду натрію, молярна концентрація якого 0,4 моль/л. Суміш інкубували 5 хв за кімнатної температури, потім добавляли 0,3 мл розчину відновленого глутатіону молярна концентрація якого 50 ммоль/л. Реакцію починали, додаючи 0,1 мл H_2O_2 молярна концентрація якого 50 ммоль/л. Через 1 хв реакцію зупиняли 1 мл 10 % розчину метафосфорної кислоти. Суміш центрифугували і в центрифугаті визначали (СФ-46, 340 нм) кількість відновленого глутатіону. Активність ферменту розраховували за різницею між кількістю відновленого глутатіону в контрольній (без H_2O_2) і дослідній пробах і виражали в ммолях/(хв·кг).

2.3.4 Визначення глутатіонредуктазної активності. (ГР, К.Ф.1.6.4.2). Глутатіонредуктазну активність визначали за кількістю НАДФ·Н, що використовується у ферментативній реакції відновлення окисленого глутатіону [87].

Середовище, яке містило 0,4 мл 0,25 моль/л тріс-буферу (pH - 7,4), 0,1 мл 25 ммоль/л ЕДТА, 0,1 мл 7,5 ммоль/л НАДФ·Н, 0,5 мл 8 ммоль/л окисленого глутатіону, інкубували при температурі +37 ^{0} С 10 хвилин, потім вносили 0,1 мл гомогенату печінки (1:10) і суміш знову інкубували 10 хвилин температурі

+37 ^{0}С. Реакцію зупиняли, додаючи 2,8 мл охолодженого метанолу. Паралельно готували контрольну пробу, в якій гомогенат вносили після метанолу. Проби центрифугували і в центрифугаті спектрофотометрично (СФ-46, 340 нм) визначали кількість НАДФ·Н. Ферментну активність розраховували за різницею між кількістю НАДФ·Н у контрольній і дослідних пробах і виражали в ммолях / (хв·кг).

2.3.5 Визначення концентрації відновленого глутатіону. (G-SH)

Принцип методу полягає в тому, що при взаємодії 5,5'-дитіобіс(2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) з вільними SH-групами відновленого глутатіону відбувається утворення тіонітрофенильного аніону, кількість якого прямо пропорційна вмісту SH-груп [190].

До 0,2 мл гомогенату печінки (1:4) добавляли 1,6 мл 3 % H_2O_2 і 0,2 мл 25 % сульфосаліцилової кислоти. Центрифугували 15 хв при частоті обертання 3000 об/хв, потім до 0,5 мл центрифугату добавляли 2,5 мл 0,2 моль/л трис-буферу (рН - 8,4) і 0,05 мл 0,04 % розчину реактиву Елмана. В контрольну пробірку замість досліджуваного матеріалу вносили 0,2 мл води. Через 10 хв проби фотометрували на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 412 нм проти контролю. Концентрацію відновленого глутатіону розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції для тіонітрофенильного аніону, якийдорівнює 11400 $М^{-1} \cdot см^{-1}$.

2.3.6 Визначення вмісту церулоплазміну в сиро-ватці крові. Вміст церулоплазміну (ЦП) визначали за методом, описаним у роботі [77]. Принцип методу базується на здатності п-фенілендиаміну в присутності церулоплазміну окиснюватись з утворенням забарвлених сполук рожевого кольору. Кількість церулоплазміну прямо пропорційна інтенсивності забарвлення.

Досліджували сироватку крові без слідів гемолізу. В пробірки вносили по 0,1 мл сироватки. В контрольну пробірку добавляли 1 мл 0,5 % розчину

гідроксиламіну солянокислого з метою інактивації ферменту. У всі пробірки добавляли по 8 мл розчину ацетатного буферу (pH=5,5), молярна концентрація якого 0,4 моль/л і по 1 мл 1 % п-фенілендиаміну. Пробірки закривали корками і витримували в термостаті при температурі +37 °С 1 год. Потім у кожну пробірку, крім контролю, добавляли по 1 мл гідроксиламіну солянокислого. Проби витримували 30 хв при температурі +4 °С і потім визначали їх оптичну щільність проти контролю на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 530 нм. Розрахунок проводили за формулою:

$$C = E \cdot 875, \qquad (2.6)$$

де С – концентрація церулоплазміну в мг/л плазми;

Е – екстинкція проби;

875 – коефіцієнт перерахунку.

2.4 Методи дослідження стану ендогенної інтоксикації

2.4.1 Визначення вмісту молекул середньої маси. Визначення МСМ проводили згідно методики, описаною в роботі [135]. Із сироватки крові виділяли кислоторозчинну фракцію, яку отримували шляхом додавання до 0,2 мл сироватки 1,8 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти. Наступне центрифугування проводили при 3000 об./хв протягом 30 хв. Виділену фракцію в об’ємі 0,5 мл розводили дистильованою водою у співвідношенні 1:10 і визначали оптичну густину при довжині хвилі 254 нм (визначаються ланцюгові амінокислоти) та 280 нм (визначаються ароматичні амінокислоти) проти дистильованої води на спектрофотометрі СФ-46; результати виражали в умовних одиницях, що чисельно дорівнювали показникам екстинкції.

2.4.2 Визначення еритроцитарного індекса інтоксикації. ЕІІ визначали за методом, описаним в роботі [141]. В основі методу лежать уявлення про еритроцити як універсальний адсорбент, який дозволяє оцінити рівень ЕІ за зміною сорбційної здатності еритроцитів полярного,

практично не проникного через їхню мембрану метиленового синього.

В пробірку, що містила 1 мл 3,8 % розчину натрію цитрату, відбирали 4 мл цільної крові, перемішували і відділяли еритроцити шляхом центрифугування протягом 10 хв при 3000 об./хв. Плазму видаляли. Переносили 1 мл еритроцитарної маси в пробірку, яка містила 3 мл розчину метиленового синього (0,025 %), приготованого на фізіологічному розчині. Проби перемішували та інкубували 10-12 хв при кімнатній температурі, після чого знову центрифугували протягом 10 хв при 3000 об/хв. Надосадову рідину переносили в кювету і визначали оптичну щільність відносно фізіологічного розчину при довжині хвилі 630 нм на КФК-3. Кількість поглинутого барвника (у відсотках) вираховували за різницею оптичної щільності вихідного розчину барвника та розчину барвника після інкубації з еритроцитами за формулою:

$$A(\%) = 100 - \frac{C}{B} x100 \qquad (2.7)$$

де А – кількість поглинутого барвника, % ;

В – оптична щільність вихідного розчину (метиленова синька) в одиницях екстинкції, од. виміру;

С – оптична щільність розчину барвника після інкубації з еритроцитами (в од. екстинкції)

100 – відсоток щільності мембрани в нормі, %.

2.5 Методи дослідження стану плазматичних мембран

2.5.1 Визначення активності амінотрансфераз. Принцип методу базується на визначенні щавелевооцтової та піровиноградної кислот, які є субстратами реакцій трансамінувння за участю відповідно АсАТ та АлАТ. Щавелевооцтова кислота в процесі реакції перетворюється в піровиноградну, яка під впливом 2,4-динітрофенілгідразину у лужному середовищі утворює забарвлений гідразон піровиноградної кислоти, інтенсивність забарвлення якого можна визначити колориметрично.

Визначення аспартатамінотрансферази: в пробірку вносили 0,5 мл субстратного розчину для визначення АсАТ, нагрівали його протягом 5 хв при температурі 37 ^{o}C, добавляли 0,1 мл плазми (гомогенату печінки) та інкубували 60 хв при температурі +37 ^{o}C. Після інкубації добавляли 0,5 мл розчину 2,4-динітрофенілгідразину і витримували протягом 20 хв при кімнатній температурі (для розвитку реакції). Доливали 5 мл 0,4 н розчину NaOH і залишали пробу на 10 хв при кімнатній температурі для розвитку забарвлення. Оптичну щільність визначали на фотоколориметрі КФК-3 при довжині хвилі 540 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм проти порівняльної проби, яку готували аналогічно дослідним, але плазму вносили після інкубації.

Визначення активності аланінамінотрансферази проводилось в такій же послідовності, лише вносився субстратний розчину для визначення АлАТ.

Розрахунок активності ферментів проводили за допомогою калібрувального графіку, побудованого за натрію піровинограднокислого і виражали у мілімолях піровиноградної кислоти на літр плазми за 1 год інкубації .

2.5.2 Визначення активності лужної фосфатази у сироватці крові. Визначення активності ЛФ проводили, використовуючи стандартний набір реактивів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика».

Принцип методу. Лужна фосфатаза розщеплює фенілфосфат з утворенням фенолу. Окисне сполучення фенолу з 4-амінофеназоном утворює червоний барвник, інтенсивність забарвлення якого прямо пропорційна активності ферменту та визначається фотометрично.

Активності ЛФ у сироватці крові виражали у ммоль/(год·л).

2.6 Методи визначення окислювальних процесів у мітохондріях

2.6.1 Виділення мітохондрій печінки. Мітохондрії виділяли методом диференційованого центрифугування в середовищі виділення, яке складалось з 250 мМ сахарози, 10 мМ тріс-HCI буферу та 10 мМ ЕДТА, pH

7,4. Із 10% гомогенату печінки центрифугуванням осаджували фракцію ядер поетапно - 3 хв. при 150 g і 3 хв. при 330 g без зупинки центрифуги. Надосадову рідину переливали в іншу пробірку. Мітохондріальну фракцію отримували центрифугуючи супернатант протягом 10 хв. при 9000 g на рефрежираторній центрифузі. Отриманий осад мітохондрій гомогенізували вручну із середовищем виділення, яке добавляли з таким розрахунком, щоб в 1 мл містилось 70-90 мг мітохондріального білка. Отриману суспензію зберігали на льоді. Всі операції проводили при охолодженні, витримуючи температуру 0+4°С. Під час приготування розчинів використовували тільки бідистильовану воду [228].

2.6.2. Визначення активності сукцинатдегідрогеназ и (СДГ, К.Ф.1.3.9.9.1). Принцип методу полягає у відновленні сукцинатом під дією СДГ фериціаніду калію, розчин якого має жовте забарвлення, до безбарвного фероціаніду калію. Активність фермента пропорційна кількості відновленого ферріціаніду.

У центрифужні пробірки, що містять по 1 мл 0,1 М фосфатного буфера і по 0,1 мл розчинів янтарної кислоти, ЕДТА, азиду натрію і дистильованої води добавляли 0,5 мл суспензії мітохондрій і проби інкубували при кімнатній температурі 5 хв. Реакцію запускали додаванням до проб 0,1 мл ферріціаніду калію. Проби інкубували при температурі +30оС протягом 15 хв. Після інкубації реакцію зупиняли поміщенням проб на лід і додаванням 2 мл 20% ТХО. В контрольні проби ТХО добавляли перед внесенням суспензії мітохондрій. Потім проби центрифугували для осадження білка і надосадову рідину фотометрували на спектрофотометрі СФ-46 при λ= 420 нм проти контролю. Активність ферменту виражали в нмолях сукцинату/хв. х мг білка [55].

2.6.3 Визначення активності цитохромоксидази (ЦХО,К.Ф.1.9.3.1). Принцип методу полягає в тому, що при інкубації мітохондрій з цитохромом с і диметил-n-фенілендиаміну в результаті окиснення останнього утворюється пігмент червоного кольору з максимумом поглинання при 510 нм в кількості, пропорційній цитохромоксидазній активності

мітохондрій. Активність фермента виражали в нмолях окисненого диметил-n-фенілендиаміну.

У пробірку вносили по 0,3 мл суспензії мітохондрій, 0,2 мл 0,04% розчину цитохрому с і бідистильовану воду по 1 мл. Проби інкубували при +37оС на протязі 2 хв., потім добавляли по 0,1 мл 0,4% розчину диметил-n-фенілендіаміну та інкубували на протязі 3-4 хв. Проби охолоджували і утворений продукт екстрагували 4-х кратним об'ємом суміші етилового спирту з тетрахлорметаном /3:1/. Після центрифугування надосадову рідину переносили в сухі пробірки і фотометрували на спектрофотометрі СФ-46 при 510 нм проти контролю. Розрахунок вели за калібрувальною кривою [86].

2.6.4 Визначення активності Н+-АТФ-ази. Принцип методу полягає у визначенні вмісту неорганічного фосфату, який звільняється при гідролізі АТФ.

Активність протонної АТФ-ази визначали в інкубаційному середовищі, що містило 400 мкмоль трісу, 5 мкмоль АТФ, 7,5 мкмоль сірчанокислого магнію. Об'єм середовища – 2 мл. Реакцію починали, додаючи 0,05 мл суспензії мітохондрій, що містила 1-2 мг білка. Час інкубації становив 15 хв. При +37 ^{o}С. Припиняли реакцію, вносячи 1 мл 10% ТХО. Активність Н+-АТФ-ази виражали в мілімолях неорганічного фосфату на 1 кг білка за 1 хв [48].

2.7 Методи визначення окиснювальних процесів у постмітохондріальній фракції печінки

2.7.1 Виділення постмітохондріальної фракції печінки. Відразу ж після іммобілізації щурів декапітували під тіопенталовим наркозом. Витягували печінку і поміщали в крижаний фізіологічний розчин. Наважку тканини печінки гомогенізували з середовищем виділення, що містить 320 мМ сахарози, 10 мМ Трис і 1 мМ ЕДТА (рН = 7,2) в гомогенізаторі Поттера-Ельвегейма у співвідношенні 1:10. Отриманий гомогенат фільтрували через два шари марлі в центрифужні

пробірки і центрифугували при 1000 g протягом 10 хв. Супернатант переливали в чисті пробірки і центрифугували 20 хв при 10000 g. Усі процедури проводили при температурі +4 ^{0}С. Отриманий супернатант досліджували як постмітохондріальну фракцію печінки [51].

2.7.2 Визначення N-деметилазної активності мікросом. Принцип методу полягає у дослідження швидкості деметилювання диметиланіліну (ДМА), яка визначається по кількості утвореного формальдегіду. Реакція перебігає на молекулі цитохрому P_{450} в присутності НАДФ·H_2 та кисню.

Готували інкубаційну суміш, яка в об'ємі 1 мл містила: тріс-HCI буфера (pH 7,6) з молярною концентрацією 40 ммоль/л, $MgCI_2$, молярна концентрація якого 16 ммоль/л, НАДФ·Н з молярною концентрацією 3 ммоль/л і постмітохондріальну фракцію печінки в об'ємі, що містив біля 1,5 мг мікросомального білка.

Реакцію розпочинали додаванням ДМА до концентрації 6 ммоль/л. Дослідні та контрольні (ті, що не містили НАДФ·Н) проби інкубували при 37 ^{o}С на протязі 20 хв при інтенсивному струшуванні. Реакцію зупиняли додаванням 0,25 мл суміші рівних об'ємів 25 % розчину $ZnSO_4$ та насиченого розчину $Ba(OH)_2$. Для осадження білка проби центрифугували при 3500·об/хв$^{-1}$ на протязі 10 хв. Вміст формальдегіду в надосадовій рідині визначали за допомогою кольорової реакції Наша на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 412 нм. Розрахунок проводили за калібрувальною кривою. Результати виражали у ммолях формальдегіду на кг білка мікросом за хвилину [71].

2.7.3 Визначення р-гідроксилазної активності мікросом. Принцип методу полягає у дослідженні швидкості р-гідроксилювання аніліну, що визначається за кількістю утвореного р-амінофенолу. Реакція перебігає на молекулі цитохрому P_{450} за участю кисню.

Інкубаційна суміш в об'ємі 1 мл містила: тріс-HCI буфера (pH - 7,3) з молярною концентрацією 40 ммоль/л, $MgCI_2$, молярна концентрація якого 16 ммоль/л, НАДФ·Н з молярною концентрацією 3 ммоль/л і

постмітохондріальну фракцію печінки в об'ємі, що містив біля 2 мг білка мікросом.

Реакцію розпочинали додаванням аніліну до кінцевої концентрації 3 ммоль/л. В контрольні проби НАДФ·Н вносили після зупинки реакції. Інкубацію проводили при 37 ^{o}C на протязі 20 хв при постійному струшуванні. Реакцію зупиняли додаванням 0,5 мл 15 % розчину трихлороцтової кислоти. Після центрифугування при 3500 об/хв$^{-1}$ на протязі 10 хв відбирали 1 мл надосадової рідини і визначали вміст п-амінофенолу додаванням 0,5 мл 10 % розчину Na_2CO_3 та 1,5 мл 2 % розчину фенолу у 0,2 н розчині NaOH. Для розвитку забарвлення проби витримували у водяній бані 30 хв при температурі 37 ^{o}C. Оптичну щільність визначали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 630 нм. Ферментативну активність розраховували за калібрувальним графіком і виражали у ммолях п-амінофенолу на кг білка за хв [71].

2.7.4 Визначення тривалості тіопенталового сну. Тіопентал натрію вводили внутрішньоочеревинно в дозі 60 мг/кг маси щурів. Тривалість тіопенталового сну визначали за ефектом бокового положення тварин до появи локомоторних реакцій і виражали у хвилинах.

2.8 Методи морфологічних досліджень

Тварин декапітували, швидко видаляли печінку, вирізали невеликий кусочок, промивали його від крові в охолодженому фізіологічному розчині. Робили поперечний зріз товщиною 0,4-0,5 см. Зрізи фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну протягом 2-х тижнів. Після промивання у проточній водопровідній воді, зневоднення у спиртах зростаючої концентрації, тканину ущільнювали в парафіні, після чого виготовляли гістологічні препарати. Зрізи фарбували гематоксиліном і еозином з метою виявлення загальної структури патологічних змін печінки, гістотопографічних взаємовідношень між стромою та паренхімою.

Найбільш демонстративні гістологічні препарати фотографували за допомогою універсального мікроскопа МБИ-15 та мікроскопа МБД-6.

2.9 Метод математичного аналізу

Результати досліджень піддавали статистичному аналізу [100]. Достовірність отриманих результатів визначали, використовуючи критерій Стьюдента. Зміни вважали достовірними при $p<0,05$.

Для розрахунків використовували комп’ютерну програму Excel (Microsoft, USA).

РОЗДІЛ 3

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ЛІПІДНОЇ І БІЛКОВОЇ ПЕРОКСИДАЦІЇ, АНТИОКСИДНОЇ СИСТЕМИ, ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ, ФЕРМЕНТІВ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ І МІКРОСОМАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОГО ОТРУЄННЯ ПАРАЦЕТАМОЛОМ НА ТЛІ НІТРИТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Незважаючи на багаточисельні дослідження як вітчизняних, так і закордонних фахівців, проблема біохімічних змін в організмі при токсичному ураженні печінки залишається все ще недостатньо висвітленою. Зокрема не вивчені зміни, що виникають в організмі уражених тварин за комбінованого впливу різних гепатотропних чинників, хоча в реальних умовах частіше має місце поєднана дія токсикантів, а не їх ізольований вплив на організм. Дослідженню впливу парацетамолу на тлі тривалої дії натрій нітриту у субтоксичних дозах і присвячений цей розділ дисертаційної роботи.

У ньому наведено результати досліджень впливу парацетамолу і натрій нітриту на стан основних показників метаболічних процесів організму. Ми оцінювали інтенсивність ліпідної (за вмістом дієнових конюгатів та ТБК-активних продуктів) і білкової (за вмістом окиснено-модифікованих білків) пероксидації, стан антиоксидантної системи (за показниками супероксиддисмутази, глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та відновленого глутатіону) функціональний стан плазматичних і цитоплазматичних мембран (за активністю АлАТ і АсАТ); стан ендогенної інтоксикації (за вмістом молекул середньої маси і еритроцитарним індексом інтоксикації), показники мітохондріального (за активність сукцинатдегідрогенази, цитохром оксидази і протонної АТФ-ази) і мікросомального (за N-деметилазною і пара-гідроксилазною активністю) окиснення, а також патоморфологічні зміни у печінці здорових і уражених тварин.

Дослідження проводили в динаміці (на 1-шу, 3-тю та 5-ту доби після останнього уведення парацетамолу) на двох групах піддослідних тварин – уражених парацетамолом у дозі 1250 мг/кг і тих, яким парацетамол уводили після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту. Контрольною служила група інтактних тварин.

3.1 Стан ліпідної пероксидації в організмі тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі інтоксикації натрій нітритом

Численні літературні дані переконливо стверджують, що в механізмах ураження гепатобіліарної системи однією з основних ланок є гіперліпопероксидація [88, 165]. Вважають, що будь-який патологічний процес, що призводить до порушення функції печінки, в тій чи іншій мірі відбивається на обміні ліпідів і структурній організації мембран гепатоцитів. Як відомо, в ендоплазматичному ретикулумі функціонують ферментна (НАДФН-залежна) та неферментна (аскорбатзалежна) системи ліпопероксидації. Активація пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) є однією із основних причин порушення бар’єрної та матричної функцій ліпідного шару біологічних мембран при пошкодженні клітин. Зважаючи на це, ми провели серію експериментів із дослідження процесів ліпідної пероксидації за умов токсичного ураження парацетамолом після 7-ми разового уведення натрій нітриту у субтоксичній дозі.

Найбільш виражені зміни вмісту ДК ми зафіксували у групі тварин, яким гостре отруєння парацетамолом моделювали після попереднього уведення натрій нітриту. Найвищі показники в сироватці крові спостерігались на 3-тю добу – 253 % ($p<0,001$), а в гомогенаті печінки – 278 % ($p<0,001$) від рівня інтактних тварин. Варто відмітити, що зміни були достовірні як стосовно інтактних тварин, так і тварин, уражених парацетамолом (рис.3.1 та 3.2).

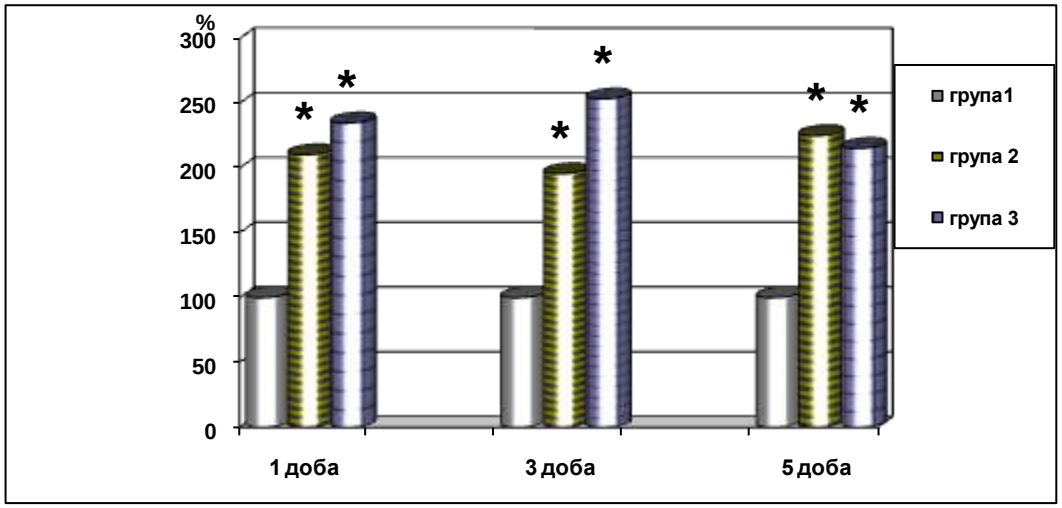

Рис. 3.1. Динаміка активності ДК в сироватці крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

Примітка. Тут і надалі позначка * – різниця вірогідна порівняно з контролем.

У групі щурів, яким здійснювали ізольоване уведення парацетамолу показник ДК в сироватці крові був істотно меншим, і становив 210, 196, 225 % (p<0,001) у відповідні терміни дослідження. Аналогічні тенденції мали місце і при дослідженні гомогенату печінки – показник зріс на 30, 164 та 207 % (p<0,001) на 1-шу. 3-тю і 5-ту доби відповідно.

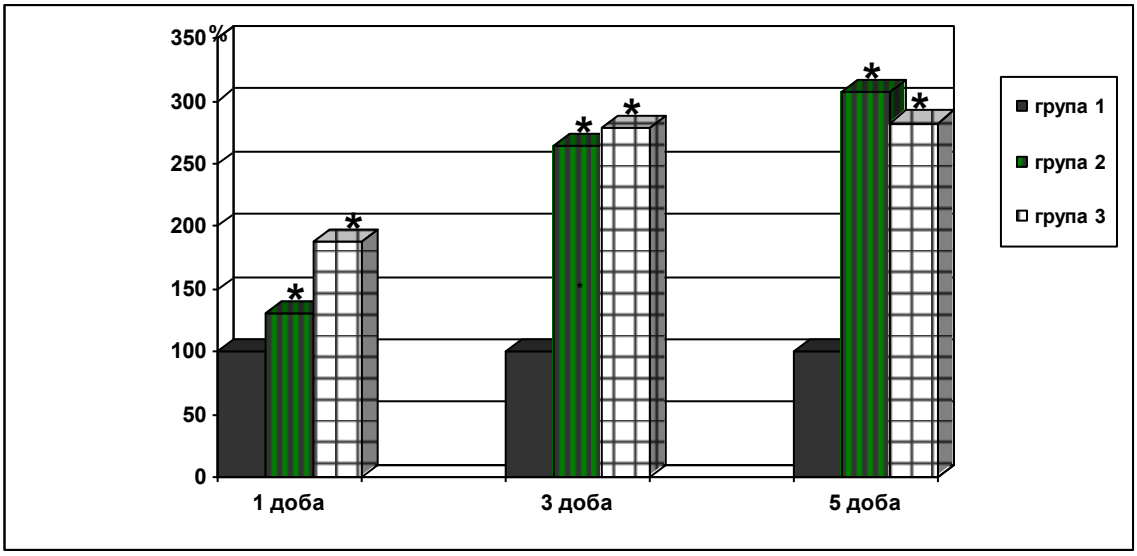

Рис. 3.2. Динаміка вмісту ДК в гомогенаті печінки щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

Ми провели також дослідження, в яких визначали інтенсивність нагромадження ТБК-активних продуктів у сироватці крові і гомогенаті печінки (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Динаміка вмісту дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів в сироватці крові та гомогенаті печінки щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі 7-ми разового уведення натрій нітриту (M±m)

Показник	Біологічна рідина	інта ктні n=10	Група тварин					
			Уражені парацетамолом, група 2			Уражені парацетамолом та натрій нітритом, група 3		
			1 доба n=8	3 доба n=7	5 доба n=7	1 доба n=7	3 доба n=6	5 доба n=6
ТБК – активні продукти, мкмоль/л	Сироватка крові	4,75 ± 0,14	7,05± 0,31 p_1 <0,001	12,05± 0,58 p_1 <0,001	13,54± 0,68 p_1 <0,001	10,72± 0,78 p_1 <0,001 p_2<0,002	17,94± 0,63 p_1<0,001 p_2<0,001	14,89± 0,46 p_1<0,001 p_2>0,05
ДК, ум.од./мл	Сироватка крові	2,04 ± 0,04	4,29± 0,38 p_1 <0,001	3,99± 0,15 p_1<0,001	4,59± 0,49 p_1<0,001	4,79± 0,14 p_1 <0,001 p_2>0,05	5,17± 0,07 p_1<0,001 p_2<0,001	4,39± 0,04 p_1<0,001 p_2>0,05
ТБК-активні продукти, мкмоль/кг	Гомогенат печінки	1,16 ± 0,07	0,99± 0,009 p_1 <0,05	2,95± 0,34 p_1 <0,001	2,34± 0,09 p_1 <0,001	2,61± 0,17 p_1 <0,001 p_2<0,01	3,29± 0,03 p_1 <0,001 p_2>0,05	3,08± 0,08 p_1<0,001 p_2<0,001
ДК, ум.од./г	Гомогенат печінки	0,86 ± 0,03	1,12± 0,06 p_1 <0,01	2,27± 0,02 p_1<0,001	2,64± 0,03 p_1<0,001	1,61± 0,03 p_1 <0,001 p_2<0,001	2,39± 0,032 p_1<0,001 p_2<0,01	2,43± 0,33 p_1<0,001 p_2>0,05

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей між II та III групами уражених тварин.

У групі тварин, уражених парацетамолом, ТБК-активні продукти в сироватці крові (рис. 3.3) максимуму сягнули на 5-ту добу, що становило 285 % (p<0,001), на 1-шу і 3-тю доби зміни були меншими – відповідно 148 та 254 % (p<0,001). В гомогенаті печінки на 3-тю та 5-ту доби показник підвищився до 254 та 202 % (p<0,001). У групі тварин, яким ураження парацетамолом моделювали після попереднього 7-ми разового уведення натрій нітриту зміни були ще більш вираженими. У сироватці крові нами відмічено зростання вмісту

продуктів, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою у 1,5 раза на 1-шу та 5-ту доби дослідження, що вірогідно вище, ніж у тварин II групи.

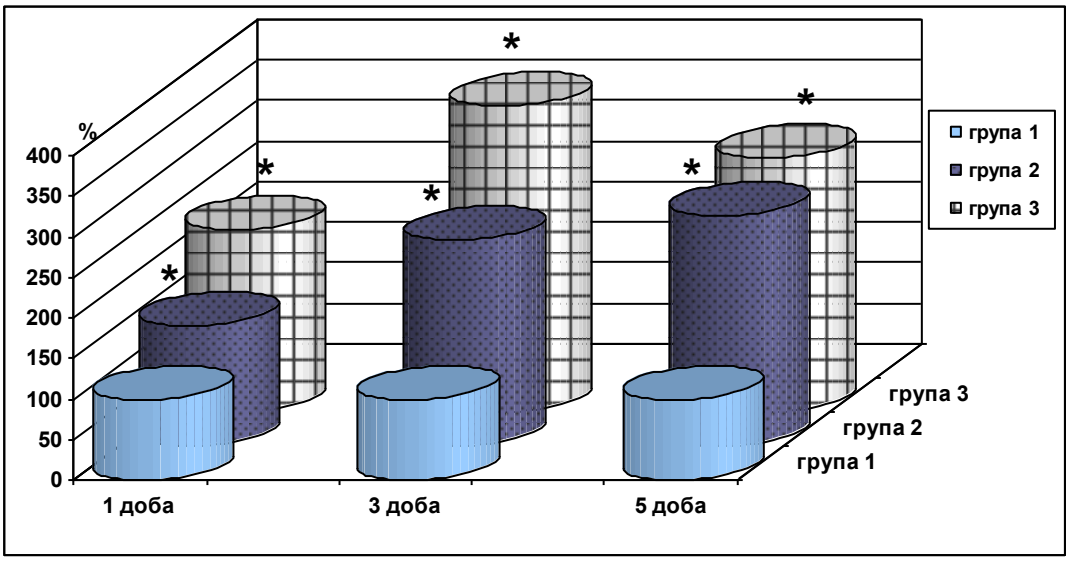

Рис. 3.3. Динаміка вмісту ТБК-активних продуктів в сироватці крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

3.2 Вплив парацетамолу і натрій нітриту на процеси вільнорадикального окиснення білків плазми крові та печінки щурів

Як відомо [11], активні форми оксигену, що утворюються в процесі метаболізму ксенобіотиків, зумовлюють не лише пероксидацію ліпідів, але й окиснювальну модифікацію білків (ОМБ).

Ініціація білкової пероксидації є важливою ланкою токсичного пошкодження клітин через інактивацію цитоплазматичних ферментів та мембранних іонних помп із наступним запуском різноманітних механізмів руйнування клітин. Крім того, визначення продуктів деструкції білків є більш надійним маркером пошкодженння тканин, ніж аналітів ліпопереокиснення, оскільки вони більш стабільні порівняно з тими, які утворюються в процесі ліпідної пероксидації.

Зважаючи на це, ми вирішили дослідити ці процеси у здорових і уражених ксенобіотиками щурів. Про ступінь ОМБ судили за вмістом альдегідо- та кетонопохідних білків нейтрального та основного характеру.

У тварин з гострим отруєнням парацетамолом показники ОМБ зазнали виражених змін (табл.3.2, рис. 3.4, 3.5, 3.6, 3.7). Найвищий вміст альдегідо- і кетонопохідних нейтрального та основного характеру відмічено на 3-тю добу з моменту введення парацетамолу, що складало відповідно 221 та 155 % ($p<0,001$) для $ОМБ_{370}$ та $ОМБ_{430}$ в сироватці крові і аналогічно 175 і 263 % ($p<0,001$) у гомогенаті печінки.

Таблиця 3.2

Динаміка вмісту альдегідо- та кетонопохідних нейтрального /$ОМБ_{370нм}$/ і основного /$ОМБ_{430нм}$/ характеру в сироватці крові та гомогенаті печінки щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації, (M±m)

Показник	Біологічна рідина	інтактні n=10	Група тварин					
			Уражені парацетамолом, група 2			Уражені парацетамолом і натрій нітритом, група 3		
			1 доба n=8	3 доба n=7	5 доба n=7	1 доба n=7	3 доба n=6	5 доба n=6
$ОМБ_{370}$, ммоль/г	Сироватка крові	0,76± 0,03	1,56± 0,05 $p<0,001$	1,68± 0,07 $p<0,001$	1,62± 0,06 $p<0,001$	2,37± 0,06 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	2,52± 0,08 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	2,48± 0,07 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$
$ОМБ_{430}$ ммоль/г	Сироватка крові	0,44± 0,01	0,92± 0,02 $p<0,001$	1,12± 0,02 $p<0,001$	1,08± 0,03 $p<0,001$	1,38± 0,03 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	1,67± 0,04 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	1,55± 0,05 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$
$ОМБ_{370}$ ммоль/г	Гомогенат печінки	1,42± 0,04	2,36± 0,06 $p<0,001$	2,48± 0,05 $p<0,001$	2,41± 0,06 $p<0,001$	2,35± 0,05 $p_1<0,001$ $p_2>0,05$	2,66± 0,06 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	2,54± 0,07 $p_1<0,001$ $p_2>0,05$
$ОМБ_{430}$ ммоль/г	Гомогенат печінки	0,72± 0,02	1,75± 0,03 $p<0,001$	1,89± 0,04 $p<0,001$	1,81± 0,05 $p<0,001$	2,43± 0,05 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	2,54± 0,07 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	2,51± 0,08 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей між II та III групами уражених тварин.

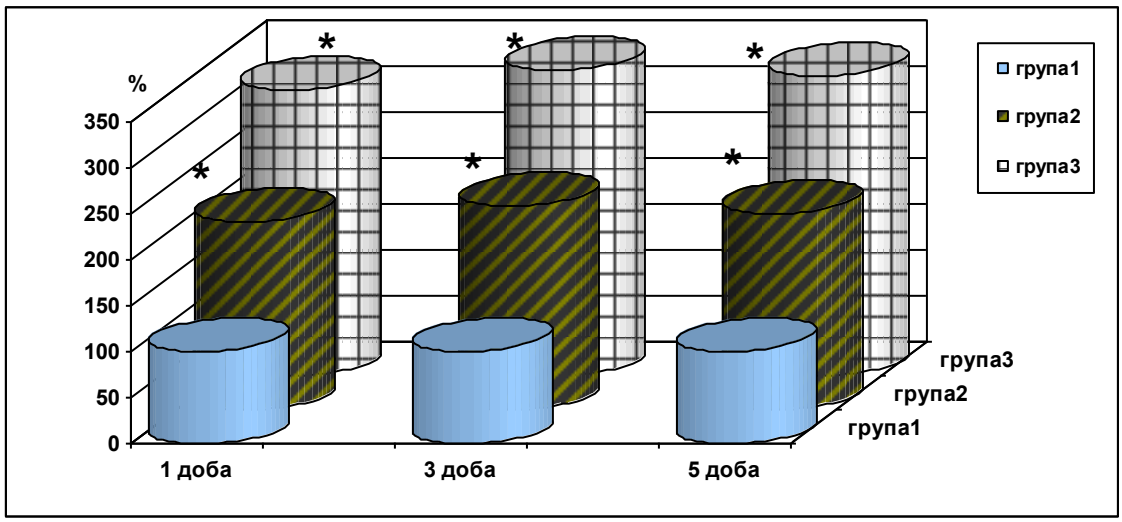

Рис. 3.4. Динаміка вмісту ОМБ$_{370нм}$ в сироватці крові у щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

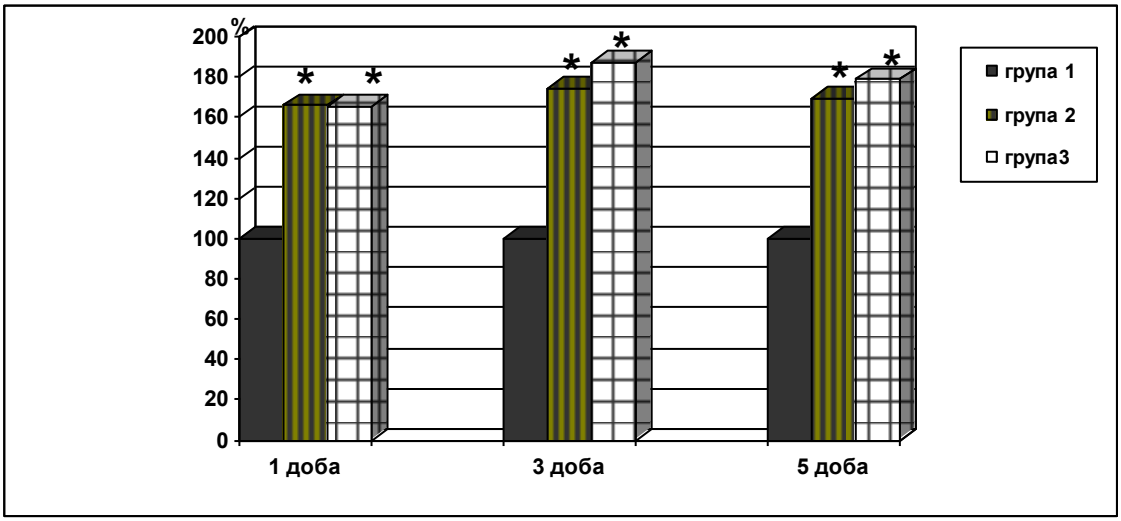

Рис. 3.5. Динаміка вмісту ОМБ$_{370нм}$ в гомогенаті печінки у щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

На 5-ту добу експерименту концентрація ОМБ$_{370}$ склала 213 % ($p<0,001$) в сироватці крові та 170 % ($p<0,001$) в гомогенаті печінки, а концентрація ОМБ$_{430}$ – відповідно 246 та 251 % ($p<0,001$). Варто відмітити, що вміст альдегідо- і кетонопохідних основного характеру протягом всього експерименту перевищував вміст похідних нейтрального характеру.

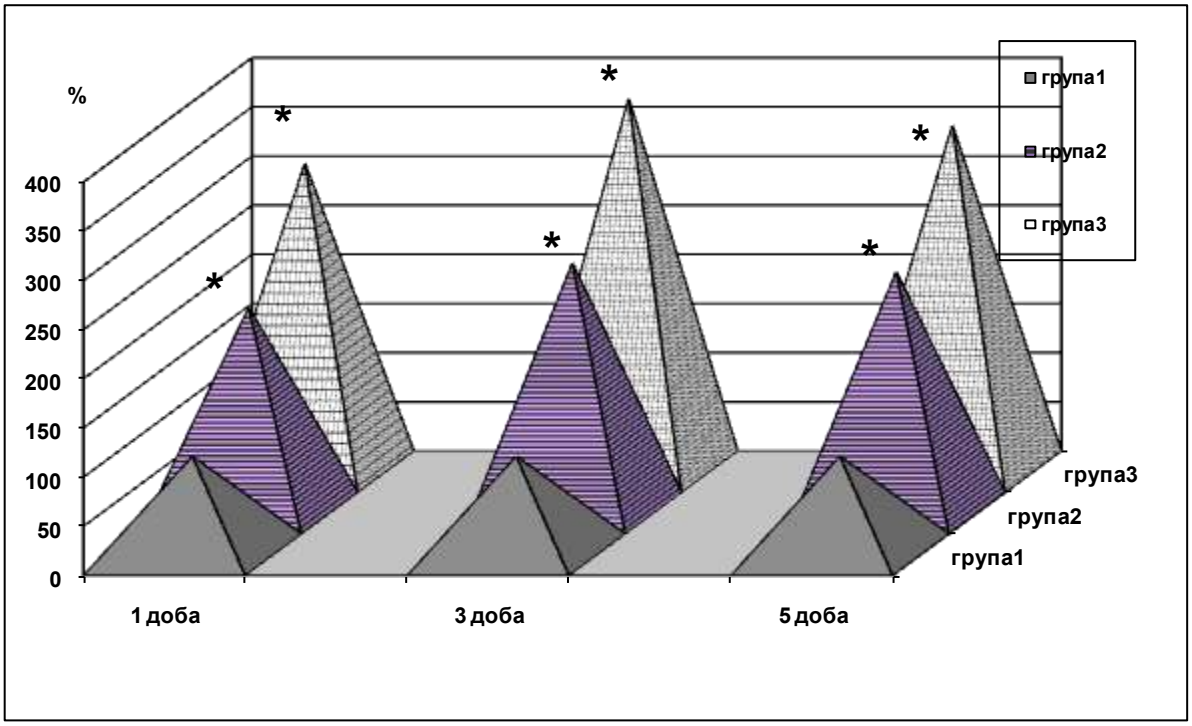

Рис. 3.6. Динаміка вмісту ОМБ$_{430нм}$ в сироватці крові у щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

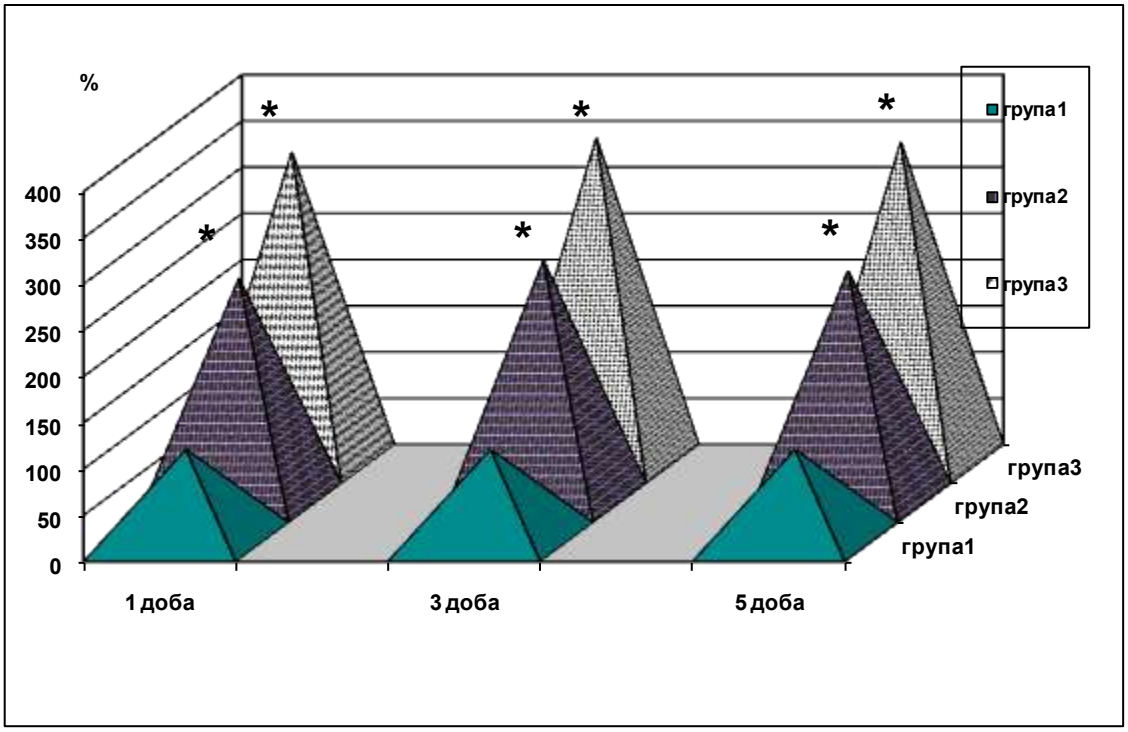

Рис. 3.7. Динаміка вмісту ОМБ$_{430нм}$ в гомогенаті печінки у щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

Таким чином, в уражених тварин протягом усього експерименту вміст ОМБ переважав над аналогічними показниками контрольних щурів. Отже, у тварин із гострим отруєнням парацетамолом спостерігається виражене підвищення інтенсивності вільнорадикального окиснення білків, що підтверджує прооксидантні властивості парацетамолу, щодо яких в літературі існують суперечливі дані.

Зважаючи на те, що вміст ОМБ залежить від співвідношення між швидкістю деградації за участю внутрішньоклітинних протеаз, а також співвідношення між активними формами оксигену і антиоксидною системою організму, звідси підвищення активності альдегідо- і кетонопохідних нейтрального та основного характеру уражених тварин може бути обумовлено як зниженням активності специфічних протеаз, так і недостатності антиоксидантної системи.

У тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі інтоксикації натрій нітритом показники ОМБ зазнали найбільших змін. Спостерігалось лінійне зростання вмісту альдегідо- і кетонопохідних нейтрального та основного характеру протягом всіх днів експерименту. Вже на 1-шу добу з моменту припинення введення ксенобіотиків рівень альдегідо- і кетонопохідних нейтрального та основного характеру в крові уражених тварин сягнув 152 % та 150 % ($p<0,001$) від норми, а в гомогенаті печінки для $ОМБ_{430}$ 139 % ($p<0,001$) відповідно. Але найвищий вміст досліджуваних показників відмічено на 3-тю добу експерименту, що складало відповідно 332 та 380 % ($p<0,001$) від рівня здорових тварин для $ОМБ_{370}$ та $ОМБ_{430}$ у сироватці крові і аналогічно 187 та 353 % ($p<0,001$) у гомогенаті печінки.

3.3 Стан антиоксидантної системи в організмі тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації

Основними компонентами системи антиоксидного захисту є ферментна антиоксидантна система, неферментна антиоксидантна система і, так званий,

структурний антиоксидант (комплекс структурних характеристик мембрани). Ряд дослідників виділяють три основні ланки антиоксидантного захисту. Перша з них спрямована на знешкодження та утилізацію активних форм оксигену. Її представляють СОД, каталаза і група пероксидаз, які діють за участю таких донаторів атомів гідрогену, як НАДФН, аскорбінова кислота тощо. На активність СОД в клітині впливають різноманітні фактори – гормони, рівень іонів міді, концентрація ліпопероксидів. Інгібування СОД має місце і за умов отруєння гепатотоксинами, у всіх цих випадках пригнічення активності фемента супроводжується активацією процесів вільнорадикального окиснення.

Як показали наші дослідження (табл. 3.3 та рис.3.8), динаміка активності СОД змінювалась у всіх дослідних групах, найбільш вираженого зниження сягнула в групі з комбінованою інтоксикацією нітритами та парацетамолом. Так, в крові на 3-тю добу активність СОД максимально знизилась в 1,3 раза ($p<0,001$), на 1-шу та 5-ту доби – в 1,2 раза ($p<0,001$), а у гомогенаті печінки на 3-тю добу – в 1,97 раза, на 1-шу та 5-ту доби – у 2 рази ($p<0,001$) порівняно з аналогічними показниками у тварин II групи. В групі уражених парацетамолом тварин показник у крові знизився на 22,6 %, 27,4 % та 16,1 % ($p<0,001$) на 1-шу, 3-тю та 5-ту доби, в гомогенаті печінки на 3-тю та 5-ту доби на 27,3 ($p<0,002$) та 23,5 % ($p<0,02$) відносно здорових тварин.

Для забезпечення повноцінної захисної функції СОД необхідні механізми, які б знешкоджували пероксид гідрогену, оскільки акумуляція H_2O_2 в клітині значно інгібує даний фермент. Каталізує реакцію розкладання пероксиду гідрогену до води і, таким чином, разом з СОД ще на стадії зародження блокує ланцюг пероксидного окиснення, фермент каталаза. У групі щурів, яким моделювали гостре отруєння парацетамолом спостерігали достовірне зниження каталазної активності у крові в 1,5 раза ($p<0,01$) на 1-шу, у 2,2 раза – на 3-тю і у 2 рази ($p<0,001$) на 5-ту добу дослідження. За попереднього уведення натрій нітриту спостерігалось значно більше пригнічення ензимної активності у крові – показник становив 28, 31 і 37 % ($p<0,001$) від рівня здорових тварин. Каталазна активність у печінці також

вірогідно знижувалась, причому більш виразно у тварин ІІІ групи з максимумом на 3-тю добу (показник склав 35 % ($p<0,001$) від норми).

Таблиця 3.3

Динаміка стану ферментної ланки антиоксидантної системи щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації, (M±m)

Показник	Біологічна рідина	інтактні, група 1, n=10	Група тварин					
			Уражені парацетамолом, група 2			Уражені парацетамолом і натрій нітритом, група 3		
			1 доба n=8	3 доба n=7	5 доба n=7	1 доба n=7	3 доба n=6	5 доба n=6
СОД, ум.од.	Кров	0,62± 0,006	0,48± 0,005 $p_1<0,001$	0,45± 0,005 $p_1<0,001$	0,52± 0,007 $p_1<0,001$	0,41± 0,005 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	0,36± 0,005 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	0,45± 0,013 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$
СОД, ум.од./г	Гомогенат печінки	3,88± 0,2	3,36± 0,16 $p_1>0,05$	2,82± 0,14 $p_1<0,002$	2,97 ±0,24 $p_1<0,02$	1,69± 0,24 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	1,43± 0,07 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	1,49± 0,06 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$
Каталаза (мкат/л)	Кров	0,153± 0,011	0,103± 0,005 $p_1<0,01$	0,069± 0,004 $p_1<0,001$	0,075± 0,007 $p_1<0,001$	0,043± 0,008 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	0,048± 0,006 $p_1<0,001$ $p_2<0,02$	0,057± 0,005 $p_1<0,001$ $p_2<0,05$
Каталаза (мкат/кг)	Гомогенат печінки	5,79± 0,23	4,68± 0,24 $p_1<0,01$	3,1± 0,18 $p_1<0,001$	3,22± 0,27 $p_1<0,001$	2,72± 0,37 $p_1<0,001$ $p_2<0,002$	2,01± 0,19 $p_1<0,001$ $p_2<0,002$	2,82± 0,16 $p_1<0,001$ $p_2>0,05$
ЦП, мг/л	Сироватка крові	246,4± 5,6	183,9± 10,7 $p_1<0,001$	138,9± 15 $p_1<0,001$	143,3± 6,9 $p_1<0,001$	156,2± 6,0 $p_1<0,001$ $p_2<0,05$	123,7± 2,1 $p_1<0,001$ $p_2>0,05$	130,4± 5,3 $p_1<0,001$ $p_2>0,05$

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей між ІІ та ІІІ групами уражених тварин.

Особливої уваги заслуговує визначення концентрації мідьвмісного білка церулоплазміну, який є одним із найбільш потужних антиоксидантів сироватки крові.

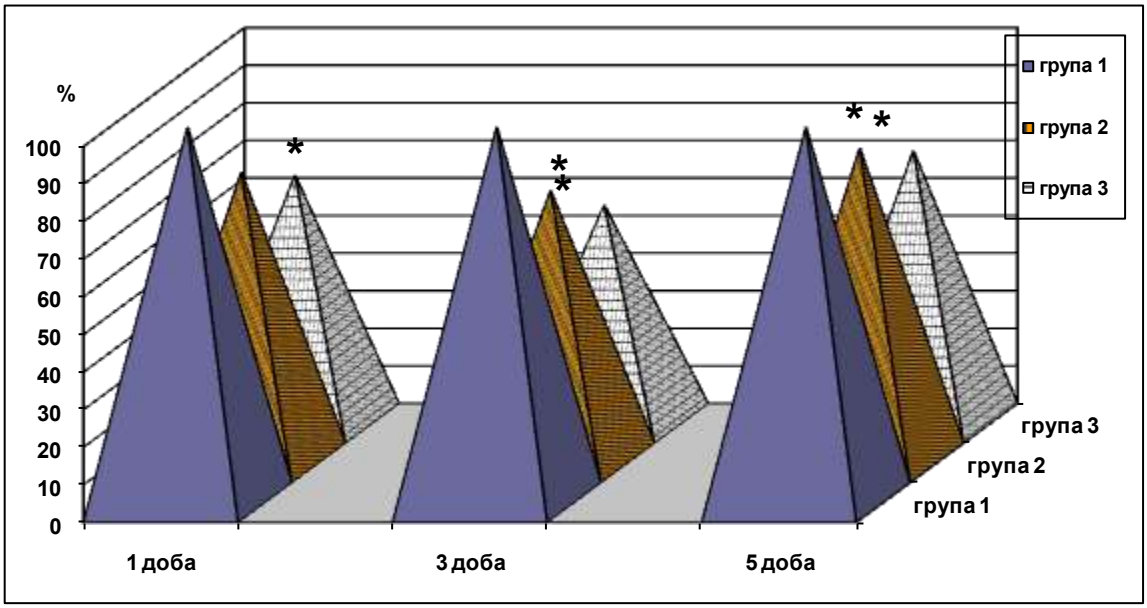

Рис. 3.8. Динаміка активності СОД у сироватці крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

Нами встановлено, що вже на 1-шу добу після введення тваринам парацетамолу відбулося вірогідне зниження вмісту церулоплазміну у сироватці крові в 1,3 раза (p<0,001). На 3-тю добу експерименту відмічено більш істотне зниження концентрації ЦП – у 1,8 раза (p<0,001) по відношенню до аналогічного показника в контрольній групі тварин. На 5-ту добу дослідження виявлено виражену тенденцію до зростання концентрації ЦП порівняно з попередньою добою дослідження, хоча цей показник не досягнув контрольного рівня.

У тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі інтоксикації натрій нітритом вже на 1-шу добу після його останнього уведення вказаний показник вірогідно зменшувався на 36,6 % (p<0,001). На 3-тю добу експерименту рівень ЦП вірогідно відрізнявся від такого ж в контрольній групі і був меншим на 49,8 % (p<0,001), а на 5-ту добу експерименту рівень ЦП був меншим відносно контролю на 47,1 % (p<0,001).

Досить важливою у системі антиоксидантного захисту є глутатіонзалежна ланка цієї системи, яка включає ферменти глутатіонпероксидазу (ГП) та

глутатіонредуктазу (ГР), а також неферментний компонент – відновлений глутатіон (G-SH). Як видно з табл. 3.4 та рис. 3.9, під впливом парацетамолу спостерігалось зниження активності ГП на 33 % ($p<0,001$) на 3-тю добу експерименту, а на 5-ту добу від початку дії отрути ензимна активність знизилась на 56,4 % ($p<0,001$).

У групі тварин, уражених натрій нітритом та парацетамолом активність ГП поступово знижувалась протягом усього експерименту, причому на 1-шу і 3-тю добу зміни були вірогідні яв відносно контролю, так і порівняно з показниками тварин II групи (табл. 3.4), так даний показник зменшився у ці доби у 1,4 раза ($p<0,001$) відносно тварин уражених парацетамолом.

Таблиця 3.4

Динаміка показників глутатіонової ланки антиоксидантної системи щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації (M±m)

Показник	інтактні n=10	Група тварин					
		Уражені парацетамолом, група 2			Уражені парацетамолом і натрій нітритом, група 3		
		1 доба n=8	3 доба n=7	5 доба n=7	1 доба n=7	3 доба n=6	5 доба n=6
G-SH, ммоль/г	3,99± 0,15	3,35± 0,14 $p_1<0,02$	3,04± 0,2 $p_1<0,001$	1,9± 0,18 $p_1<0,001$	2,91± 0,04 $p_1<0,001$ $p_2<0,02$	2,48± 0,03 $p_1<0,001$ $p_2<0,05$	1,72± 0,007 $p_1<0,001$ $p_2>0,05$
ГП, ммоль/(хв×кг)	1,036 0,015	0,996± 0,025 $p_1>0,05$	0,694± 0,027 $p_1<0,001$	0,452± 0,025 $p_1<0,001$	0,71± 0,018 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	0,513± 0,008 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	0,407± 0,009 $p_1<0,001$ $p_2>0,05$
ГР, ммоль/(хв×кг)	13,15 0,41	10,2±0,51 $p_1<0,002$	7,51 ± 0,74 $p_1<0,001$	3,72± 0,16 $p_1<0,001$	7,05± 0,38 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	4,58± 0,12 $p_1<0,001$ $p_2<0,01$	2,51± 0,24 $p_1<0,001$ $p_2<0,002$

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей між II та III групами уражених тварин.

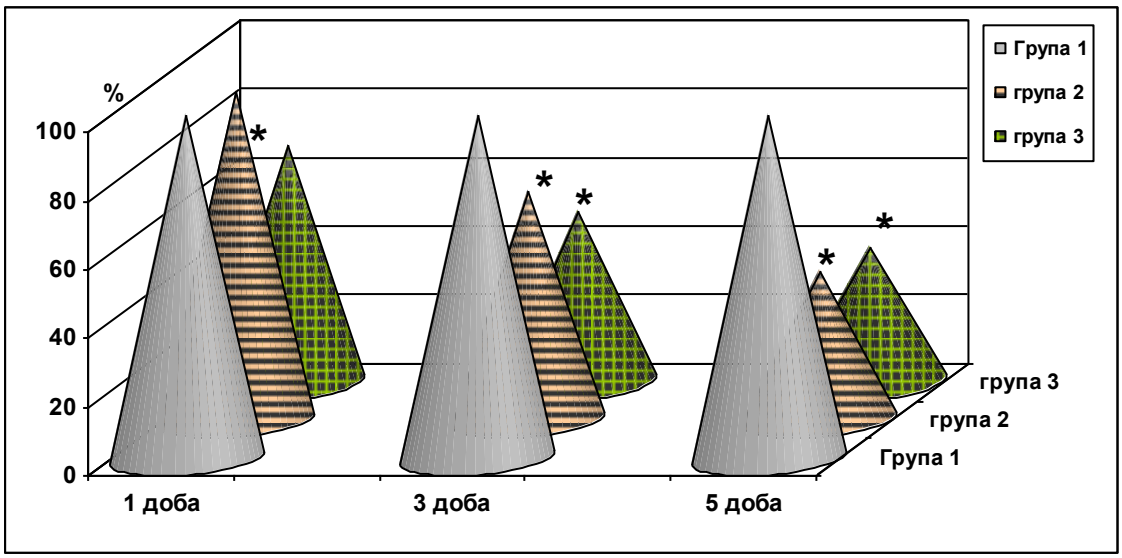

Рис. 3.9. Динаміка вмісту ГП у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

Активність ГР печінки тварин, отруєних парацетамолом, теж зазнавала змін (рис. 3.10). Так, показник вірогідно знижувався відносно аналогічного у здорових тварин: на 1-шу добу – на 22,4 % ($p<0,002$); на 3-тю добу спостереження – на 42,9 % ($p<0,001$) і на 5-ту добу дослідження – на 71,7 % ($p<0,001$). За комбінованого уведення токсикантів показник знижувався на 1-шу добу в 1,4 раза ($p<0,002$); на 3-тю добу спостереження – в 1,6 раза ($p<0,01$) та на 5-ту добу дослідження – у 1,5 раза ($p<0,002$) відносно тварин, уражених парацетамолом.

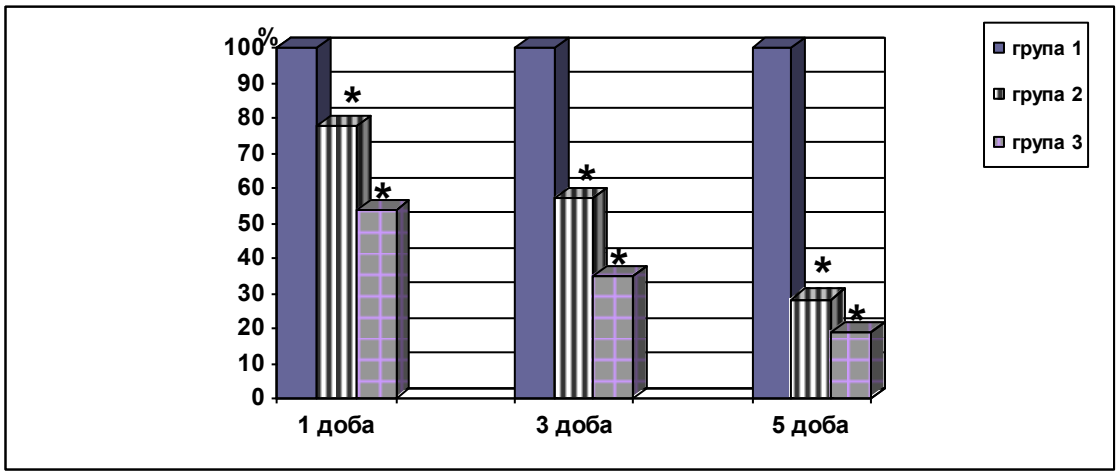

Рис. 3.10. Динаміка вмісту ГР у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

За умови уведення парацетамолу концентрація G-SH вірогідно зменшувалась на 1-шу та 5-ту доби в 1,2 (p<0,02) та 2,3 раза (p<0,001) відносно контрольних щурів (табл. 4.). У тварин III групи на 1-шу добу показник знизився на 13,1 % (p<0,02), на 3-тю добу – на 18,4 % (p<0,05) відносно тварин II групи, і також вірогідно відрізнявся від показника здорових щурів (рис. 3.11).

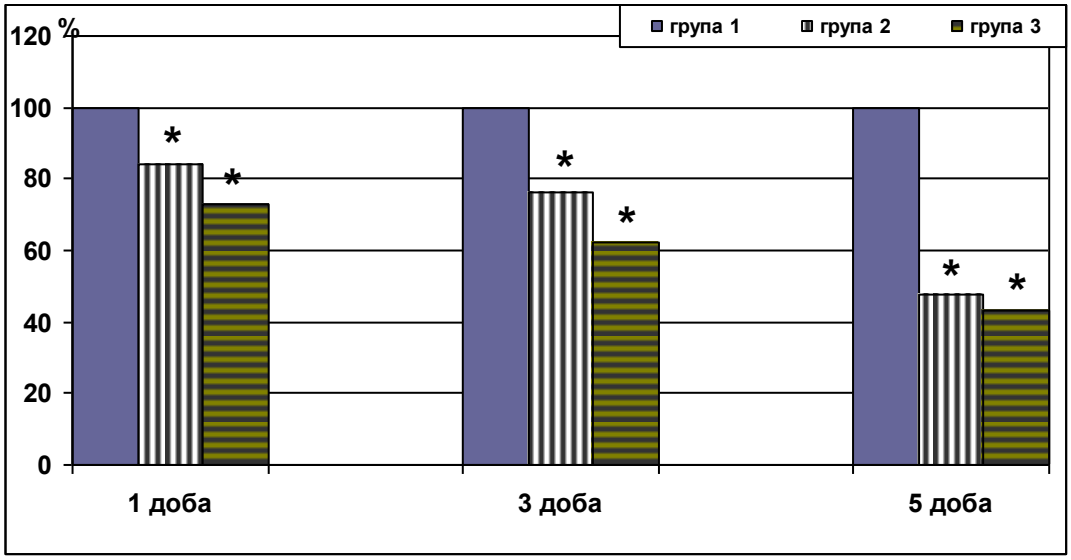

Рис. 3.11. Динаміка вмісту відновленого глутатіону у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом

3.4 Показники ендогенної інтоксикації в організмі тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі попереднього уведення натрій нітриту

Поняття ендогенної інтоксикації широко використовується як критерій оцінки стану організму за умов накопичення кінцевих продуктів метаболізму білків, ліпідів та інших речовин, що має місце при різноманітних екзотоксикозах, які супроводжуються посиленням катаболічних процесів. Синдром ендогенної інтоксикації не лише супроводжує гостру і хронічну патологію, але й сам по собі є важливим фактором їх патогенезу, визначає перебіг та наслідки захворювання. Під час патологічного процесу, при зсуві метаболізму в бік катаболічних реакцій в крові з’являється велика кількість проміжних та кінцевих продуктів обміну, біологічно активних речовин,

продуктів деструкції органів і тканин, продуктів активного протеолізу, гідроперекисів ліпідів і білків.

Наведені в цьому розділі результати експериментальних досліджень дають змогу оцінити динаміку показників ендогенної інтоксикації в крові щурів, отруєних парацетамолом і натрій нітритом в залежності від часу з моменту потрапляння ксенобіотиків в організм тварин. Як маркери ендогенного токсичного синдрому ми використовували молекули середньої маси (МСМ) та еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ).

Як показали наші дослідження при гострому отруєнні парацетамолом вміст МСМ зазнає значних змін. На 1-шу добу від часу потрапляння парацетамолу в організм тварин в сироватці крові зареєстровано збільшення вмісту $МСМ_1$ і $МСМ_2$ в 1,7 раза ($p<0,001$) у порівнянні з інтактними щурами, що вказує на виражене збільшення як ланцюгових, так і ароматичних амінокислот у складі пептидних компонентів МСМ. Найвищого рівня вміст $МСМ_1$ і $МСМ_2$ в сироватці крові сягнув на 3-тю добу після інтоксикації парацетамолом, що становило відповідно 189 % та 215 % ($p<0,001$) від норми. На 5-ту добу експерименту ступінь вираженості інтоксикації у тварин, уражених парацетамолом, дещо знизився в порівнянні з 3-ю добою, але стосовно норми він складав 167 % ($p<0,001$) ($МСМ_1$) і 200 % ($p<0,001$) ($МСМ_2$). Таким чином, ураження тварин парацетамолом, призводило до статистично вірогідного зростання показників ендогенної інтоксикації, що проявлялось збільшенням вмісту МСМ.

При дослідженні молекул середньої маси у тварин, що зазнали ураження парацетамолом на тлі 7-денної інтоксикації натрій нітритом виявлено зростання їх концентрацій протягом усіх днів експерименту (рис. 3.12, 3.13). Максимальна величина вмісту середньомолекулярних пептидів в сироватці крові спостерігалась на 3-тю добу з моменту припинення дії токсичних агентів і становила стосовно норми 247 % ($p<0,001$) ($МСМ_1$) і 346 % ($p<0,001$) ($МСМ_2$). Ці показники є вірогідно вищими, ніж ті, які ми отримали за умов окремішнього уведення парацетамолу.

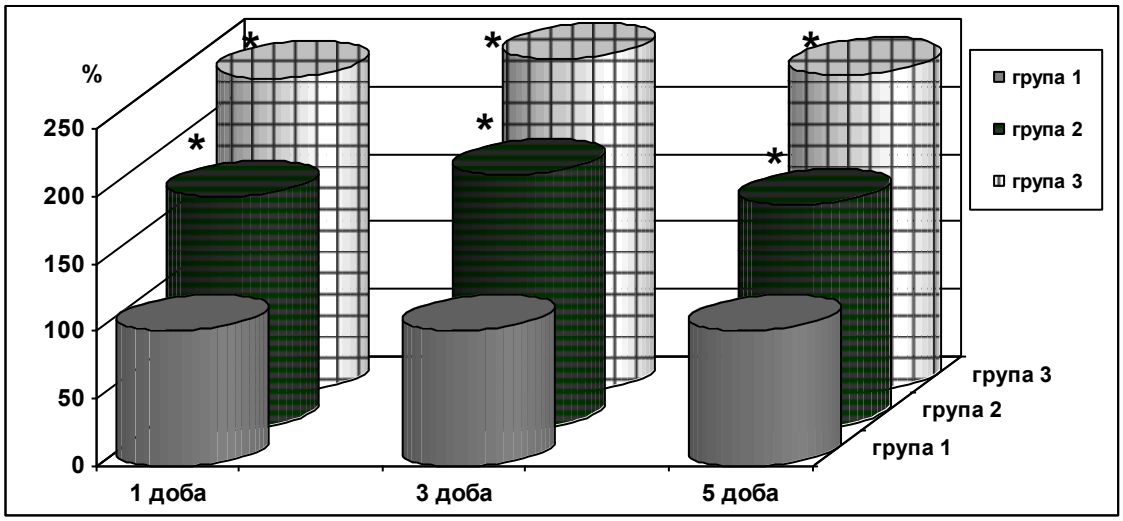

Рис. 3.12. Динаміка вмісту $МСМ_1$ у сироватці крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

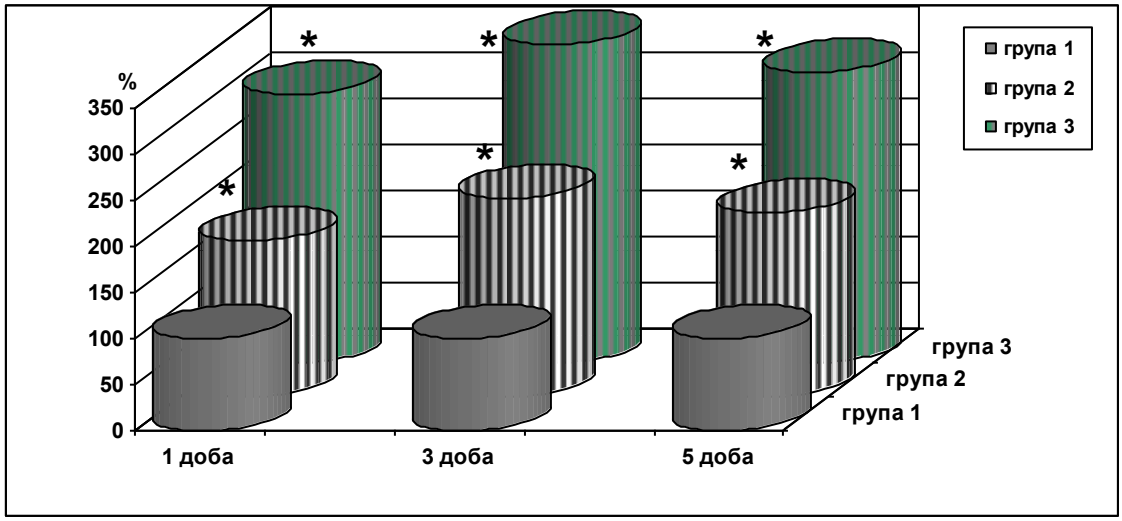

Рис. 3.13. Динаміка вмісту $МСМ_2$ у сироватці крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

Отже, поєднаний вплив парацетамолу та натрій нітриту у відсотковому відношенні проявляє більшу токсичну дію, у порівнянні з окремим введенням парацетамолу. Це свідчить про сумацію токсичної дії, що може супроводжуватися як посиленням в організмі катаболічних проявів, так і пригніченням функціональної активності системи детоксикації.

Одночасно з нагромадженням МСМ в організмі тварин, уражених парацетамолом, зростав і сумарний токсичний вплив на мембрани еритроцитів,

який проявлявся у вірогідному підвищенні ЕІІ у всі доби експерименту (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Динаміка вмісту МСМ у сироватці крові та ЕІІ в крові щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації (M±m)

Показник	Біологічна рідина	інтактні n=10	Група тварин					
			Уражені парацетамолом, група 2			Уражені парацетамолом і натрій нітритом, група 3		
			1 доба n=8	3 доба n=7	5 доба n=7	1 доба n=7	3 доба n=6	5 доба n=6
$МСМ_1$, ум.од. екст.	Сироватка крові	0,36± 0,02	0,62± 0,04 p_1<0,001	0,68± 0,05 p_1<0,001	0,60± 0,04 p_1<0,001	0,84± 0,05 p_1<0,001 p_2<0,01	0,89± 0,06 p_1<0,001 p_2<0,05	0,85± 0,08 p_1<0,001 p_2<0,02
$МСМ_2$, ум.од. екст	Сироватка крові	0,13± 0,01	0,22± 0,01 p_1<0,001	0,28± 0,02 p_1<0,001	0,26± 0,02 p_1<0,001	0,38± 0,03 p_1<0,001 p_2<0,001	0,45± 0,04 p_1<0,001 p_2<0, 01	0,41± 0,03 p_1<0,001 p_2<0,002
ЕІІ, %	Кров	33,83± 1,62	68,54± 1,52 p_1<0,001	72,61± 1,88 p_1<0,001	70,12± 1,06 p_1<0,001	74,46± 2,28 p_2>0,05 p_1<0,001	82,76± 2,83 p_1<0,001 p_2<0,02	80,14± 2,32 p_1<0,001 p_2<0,01

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей між ІІ та ІІІ групами уражених тварин.

Найвищий ступінь пошкодження еритроцитарних мембран у щурів, уражених парацетамолом, спостерігався на 3-тю добу від часу дії токсиканта і складав 215 % (p<0,001) від норми. На 5-ту добу експерименту ЕІІ порівняно з інтактними тваринами склав 207 % (p<0,001), що свідчить про деяке зниження токсичного впливу парацетамолу на еритроцитарні мембрани (рис. 3.14).

Ступінь пошкодження еритроцитарних мембран у тварин з отруєнням парацетамолом на тлі інтоксикації натрій нітритом, як і вміст МСМ, лінійно зростав протягом всіх днів експерименту. Максимальна величина ЕІІ спостерігалась на 3-тю добу з моменту припинення дії ксенобіотиків і становила 114 % (p<0,02) порівняно з ураженими парацетамолом щурами. Це свідчить про більш тривалу персистенцію токсичних метаболітів в організмі тварин за умови поєднаної дії ксенобіотиків.

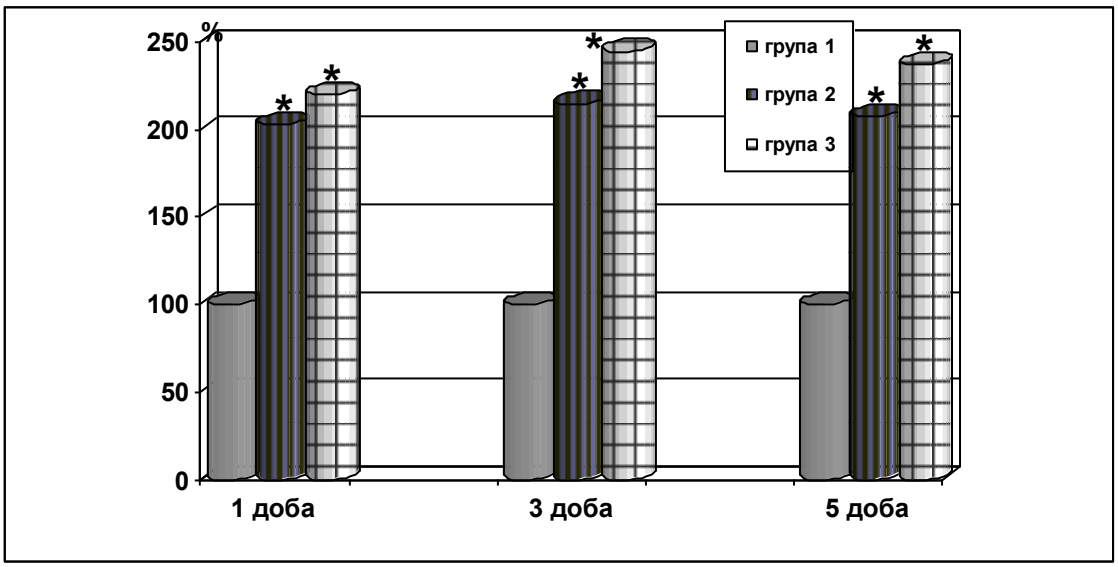

Рис. 3.14. Динаміка змін ЕІІ у крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації

Враховуючи, що еритроцитарні мембрани розглядаються як прототип плазматичних мембран всіх клітин організму, підвищення їх проникності (зростання ЕІІ), можна вважати критерієм на виражену мембранотропну дію парацетамолу, особливо в поєднанні з натрій нітритом.

3.5 Стан мембранних структур у тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі попереднього уведення натрій нітриту

На порушення структури і функції клітинних мембран за умов дії парацетамолу вказують і результати досліджень, наведені в таблиці 3.6. В них представлені результати досліджень активності цитозольних ферментів (АлАТ та АсАТ) у сироватці крові та гомогенаті печінки здорових та уражених тварин.

Як відомо, вміст цитозольних форм у сироватці крові та позаклітинному просторі тканин знаходиться на відносно низькому рівні. Але пошкодження плазматичних мембран або підвищення клітинної проникності призводить до виходу ферментів із цитозоля, і вміст їх вказує на ступінь пошкодження мембран, що відбивається на синдромі ендогенної інтоксикації. Крім того, відомо, що незалежно від фактору, що ініціює реакції окиснення, відбувається

зростання проникності мембран, яке призводить до ряду змін всередині клітини і завершується пошкодженням клітинних органел і виходом ферментів .

Активність АлАТ в сироватці крові уражених парацетамолом тварин (рис. 3.15, табл. 3.6) максимально збільшилася на 1-шу добу експерименту – в 2,4 раза ($p<0,01$), на 5-ту добу відмічалось незначне зниження активності фермента (у 1,7 раза) ($p<0,05$). Щодо активності АлАТ у печінці (рис. 3.1), то вона зменшилася максимально у 3,5 раза ($p<0,001$) на 1-шу добу експерименту. На 3-тю та 5-ту доби спостерігалось підвищення активності АлАТ у порівнянні з 1-шою добою, але рівня інтактних тварин досягнуто не було (рис. 3.16).

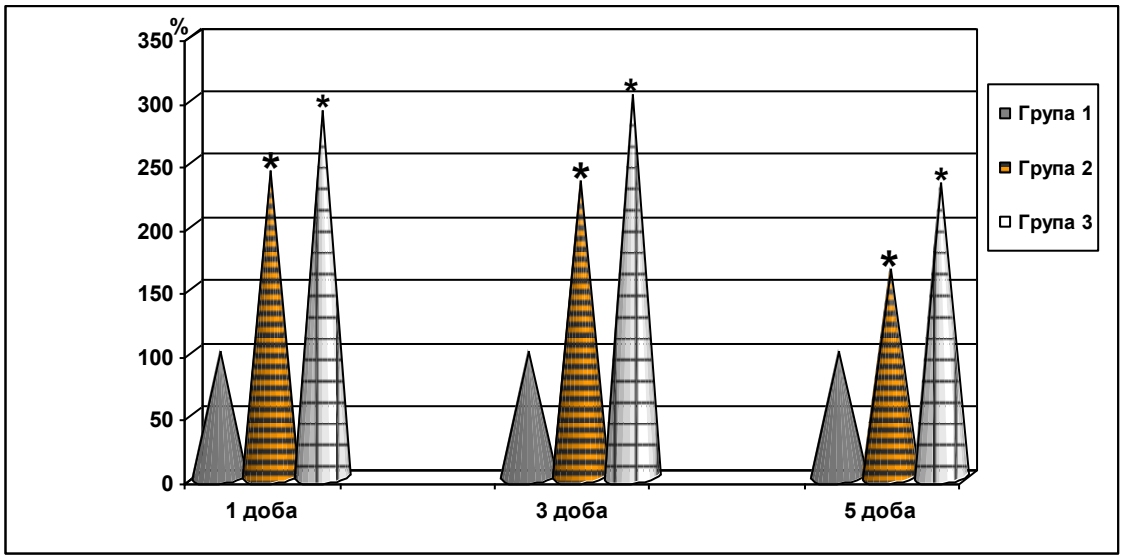

Рис. 3.15. Зміна активності АлАТ в сироватці крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

Враховуючи, що АлАТ є органоспецифічним ферментом печінки, то зростання його активності в сироватці крові слід розцінювати як наслідок токсичної дії парацетамолу на гепатоцити, що супроводжувалось підвищенням проникності еритроцитів та пошкодженням плазматичних мембран. Надмірне надходження цитозольних ферментів у позаклітинний простір і в кров створює надмірну субстратну базу для ендопротеаз плазми крові, які, розщеплюючи їх, підвищують пул ендотоксичних речовин, зокрема МСМ.

Таблиця 3.6

Активність АлАТ та АсАТ в крові і печінці щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації (M±m)

Показник	Біологічна рідина	інтактні n=10	Група тварин					
			Уражені парацетамолом, група 2			Уражені парацетамолом і натрій нітритом, група 3		
			1 доба n=8	3 доба n=7	5 доба n=7	1 доба n=7	3 доба n=6	5 доба n=6
АлАТ, Од/л	Сироватка крові	33,15± 6,54	80,57± 10,26 $p_1<0,01$	77,83± 5,42 $p_1<0,001$	55,05± 5,46 $p_1<0,05$	96,52± 2,95 $p_1<0,001$ $p_2>0,05$	100,42± 3,38 $p_1<0,001$ $p_2<0,01$	77,52± 3,44 $p_1<0,001$ $p_2<0,01$
АлАТ, ммоль/(кг · год)	Гомогенат печінки	1,648 ±0,041	0,473± 0,031 $p_1<0,001$	0,583± 0,025 $p_1<0,001$	0,522± 0,030 $p_1<0,001$	0,203± 0,020 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	0,068 ±0,019 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	0,047 ±0,013 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$
АсАТ, Од/л	Сироватка крові	73,27± 4,63	153,95± 8,99 $p_1<0,001$	169,17± 4,66 $p_1<0,001$	91,97± 5,99 $p_1<0,05$	173,92± 6,83 $p_1<0,001$ $p_2>0,05$	151,37± 13,95 $p_1<0,001$ $p_2>0,05$	127,67± 2,23 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$
АсАТ, ммоль/(кг · год)	Гомогенат печінки	1,790± 0,017	0,573± 0,025 $p_1<0,001$	0,613± 0,027 $p_1<0,001$	0,485± 0,026 $p_1<0,001$	0,218± 0,021 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	0,212± 0,025 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	0,205± 0,019 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$
ЛФ, мккат/л	Сироватка крові	21,62 ± 0,07	34,58± 1,64 $p_1<0,001$	36,78± 2,12 $p_1<0,001$	32,41± 1,24 $p_1<0,001$	41,66± 3,28 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	43,78± 2,12 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	40,25± 3,21 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей між II та III групами уражених тварин.

Подібних змін зазнавав ще один цитозольний фермент печінки – АсАТ (див. табл. 3.6). Активність АсАТ в сироватці крові (рис. 3.17) збільшилася в 2,3 раза ($p<0,001$) на 3-тю добу експерименту, на 1-шу та 5-ту доби зростання становило 2,1 ($p<0,001$) та 1,3 раза ($p<0,05$) відповідно. Активність АсАТ у печінці (рис. 3.18) зменшилася в 3,1 раза ($p<0,001$) на 1-шу добу експерименту, а на 5-ту – в 3,7 раза ($p<0,001$). Такі зміни можна вважати результатом підвищеної чутливості гепатоцитів до дії парацетамолу, що пов’язано із вираженим порушенням структури і функції мембран гепатоцитів (цитолізом)

та виходом, відповідно, більшого вмісту ферменту в міжклітинний простір, а звідси – у кров. Крім того, не виключено, що в основі такого феномену знаходиться вихід у кров цих ферментів не тільки із пошкоджених ксенобіотиками гепатоцитів, а й з інших уражених органів.

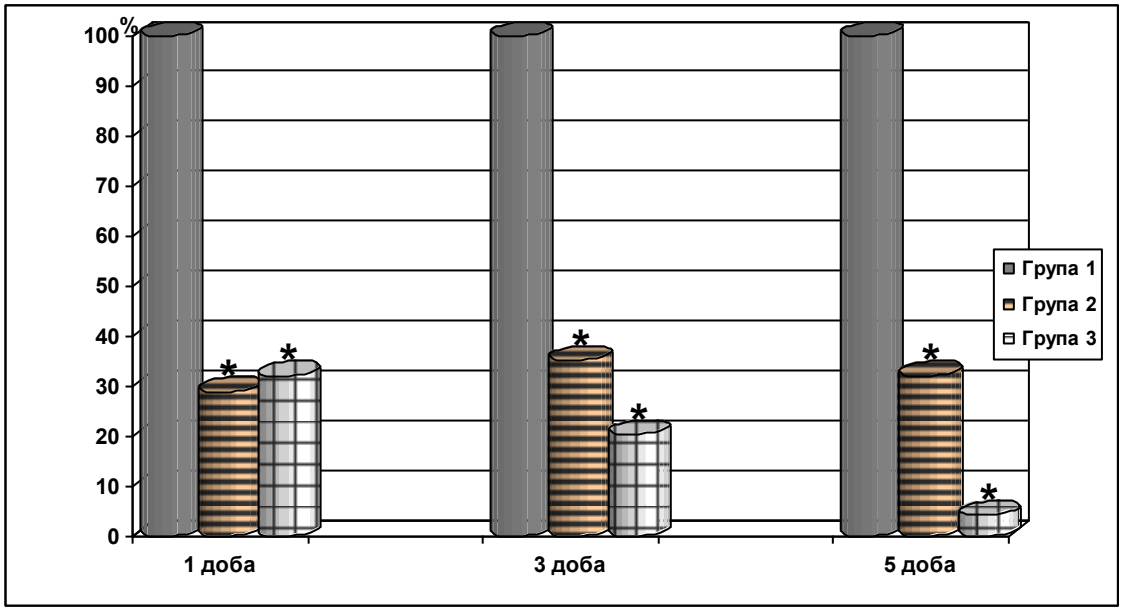

Рис. 3.16. Зміна активності АлАТ в тканині печінки щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

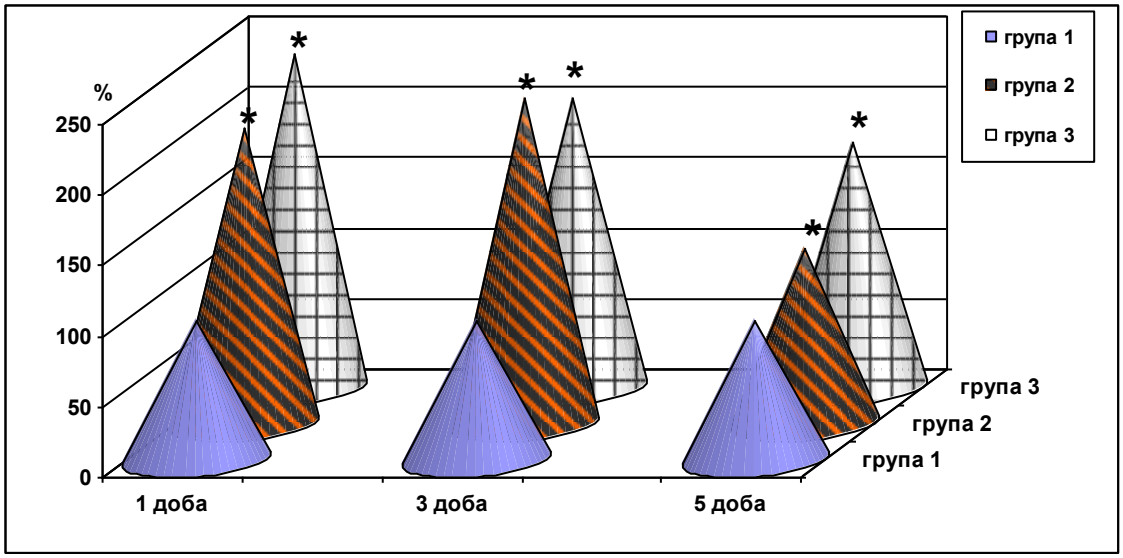

Рис. 3.17. Зміна активності АсАТ в сироватці крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

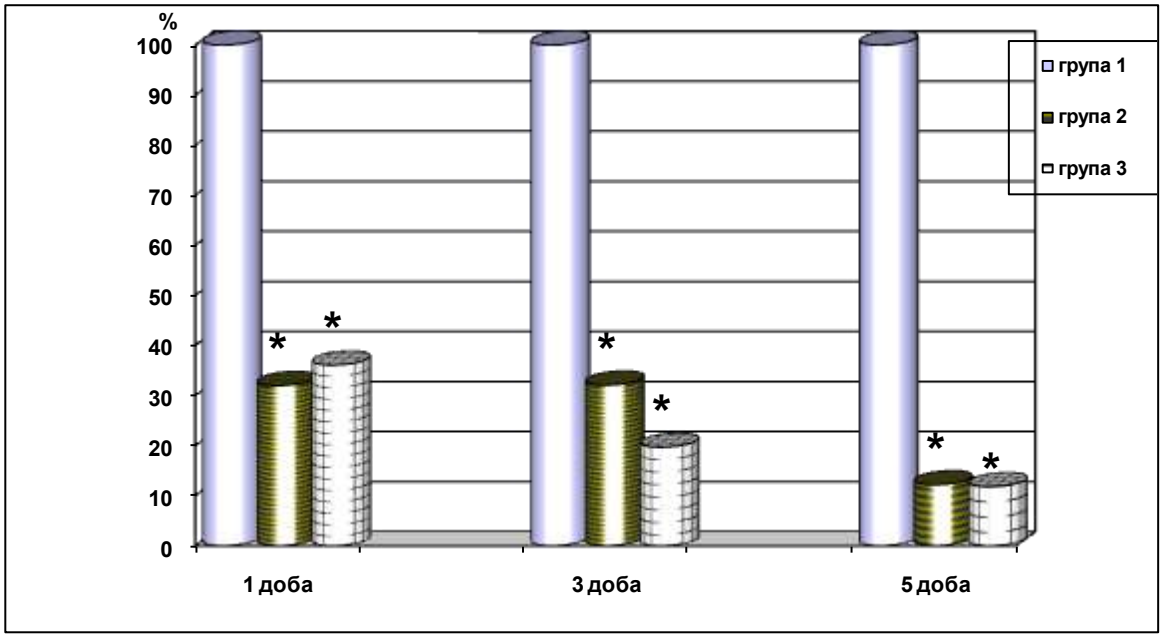

Рис. 3.18. Зміна активності АсАТ в тканині печінки щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

Варто відзначити, що активність АсАТ у відсотковому відношенні перевищувала аналогічний показник АлАТ. Значне переважання змін активності АсАТ над АлАТ може бути обумовлене виходом у кров як цитозольного ізоферменту АсАТ, так і мітохондріального, що спостерігається за умов пошкодження не лише плазматичних, а й мітохондріальних мембран.

У тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі інтоксикації нітритами спостерігались найбільш виражені зміни активності АлАТ та АсАТ. Активність амінотрансфераз у сироватці крові збільшилась на 41 % ($p<0,01$) (АлАТ) і 39 % ($p<0,001$) (АсАТ) на 5-ту добу експерименту, порівняно з показниками тварин, уражених парацетамолом. Активність амінотрансфераз у гомогенаті печінки лінійно знижувалася протягом усіх діб експерименту, зокрема на 5-ту добу активність АлАТ зменшилася у 35 разів ($p<0,001$), активність АсАТ – у 9 разів ($p<0,01$) відносно показників у інтактних щурів.

Найбільш виразні зміни активності ЛФ виявлено в групі тварин з поєднаною інтоксикацією парацетамолом та нітритами. У початкові терміни нами зафіксовано поступове зростання ензимної активності, що становило на першу добу 193 % ($p<0,001$), на 3-тю добу – 202 % ($p<0,001$), а до 5-ї доби

показник становив 186 % (p<0,001) від норми. В групі тварин уражених парацетамолом активність лужної фосфатази максимально зросла на 3-тю добу і становили 170 % (p<0,001) від рівня здорових тварин.

3.6 Вплив парацетамолу і натрій нітриту на процеси мітохондріального окиснення

Процес синтезу АТФ, як основний і кінцевий результат функціонування мітохондрій, включає в себе цілий ряд біофізичних та біохімічних перетворень. Це і окиснення субстратів відповідними дегідрогеназами, і транспорт електронів по дихальному ланцюгу рядом переносників, і енергізація внутрішньої мітохондріальної мембрани, а також здатність АТФ-синтази використовувати енергію трансмембранного потенціалу іонів водню для синтезу макроергічних сполук. Зважаючи на це, ми вирішили провести ряд експериментів, які б давали інформацію про функціонування кожної з цих ланок, враховуючи вікові особливості організмів. Ми досліджували активність СДГ, ЦХО та активність протонної АТФ-ази у печінці здорових тварин та тварин з токсичним ураженням (табл. 3.7).

Одним з найперших у цьому складному процесі є окиснення субстратів дихання мітохондріальними дегідрогеназами. Ми досліджували активність СДГ. Результати наших досліджень представлені в таблиці 3.7.

Так в нормі активність СДГ у тварин становила (8,82±0,19) ммоль/(кг×хв). За умов гострого ураження тварин парацетамолом активність фермента знижувалась вже на 1-шу добу на 50 % (p<0,001). На 3-тю та 5-ту доби ензимна активність знижувалася ще більше і становила відповідно 49 і 53 % (p<0,001) від норми (рис. 3.19). Поряд з визначенням активності СДГ, ми досліджували активність ЦХО – фермента, що є кінцевим в дихальному ланцюзі.

Активність ЦХО за гострого отруєння парацетамолом зазнавала різкого пригнічення (в 1,4 раза, p<0,001) на 1-шу та 3-тю доби екпериментy по

відношеню до інтактних тварин. На 5-ту добу активність цього ензиму знижувалася в 1,3 раза (p<0,001) (рис. 3.20).

Таблиця 3.7

Активність мітохондріальних ферментів у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації, (M±m)

Показник	інтактні n=10	Група тварин					
		Уражені парацетамолом, група 2			Уражені парацетамолом і натрій нітритом, група 3		
		1 доба n=8	3 доба n=7	5 доба n=7	1 доба n=7	3 доба n=6	5 доба n=6
СДГ, ммоль/(кг×хв)	8,82±0,19	4,41±0,12 p_1<0,001	4,32±0,14 p_1<0,001	4,67±0,09 p_1<0,001	3,26±0,15 p_1<0,001 p_2<0,001	3,59±0,11 p_1<0,001 p_2<0, 01	3,57±0,17 p_1<0,002 p_2<0,001
ЦХО, ммоль/(кг×хв)	9,06±0,11	6,30±0,12 p_1<0,001	6,39±0,13 p_1<0,001	7,15±0,14 p<0,001	3,90±0,21 p_1<0,001 p_2<0,001	2,84±0,11 p_1<0,001 p_2<0,001	4,03±0,20 p_1<0,001 p_2<0,001
Н+-АТФ-аза ммоль/(кг×хв)	345,0±13,4	654,2±13,1 p_1<0,001	429,4±12,8 p_1<0,001	366,2±8,5 p_1<0,001	825,2±8,2 p_1<0,001 p_2<0,001	633,8±9,3 p_1<0,001 p_2<0,001	375,4±8,3 p_1<0,001 p_2<0,001

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей між II та III групами уражених тварин.

У тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі інтоксикації нітритами показник СДГ зазнав ще більших змін. Так, на 1-шу добу дослідження дія парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації призвела до вірогідного зниження активності СДГ у печінці на 26 % (p<0,001) порівняно з такими ж показниками у групі тварин, уражених парацетамолом. Подальше зниження активності СДГ спостерігалось і на 3-тю та 5-ту доби експерименту, відповідно на 17 % (p<0,01) та 24 % (p<0,001) від тварин групи II.

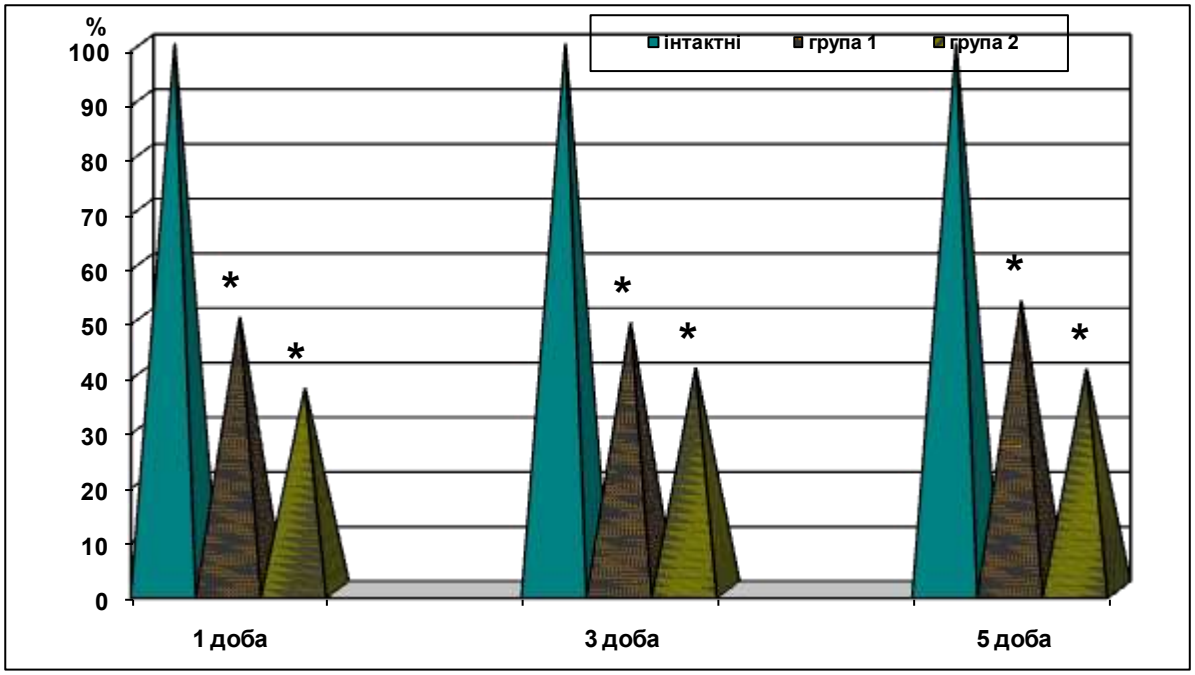

Рис. 3.19. Динаміка активності СДГ у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

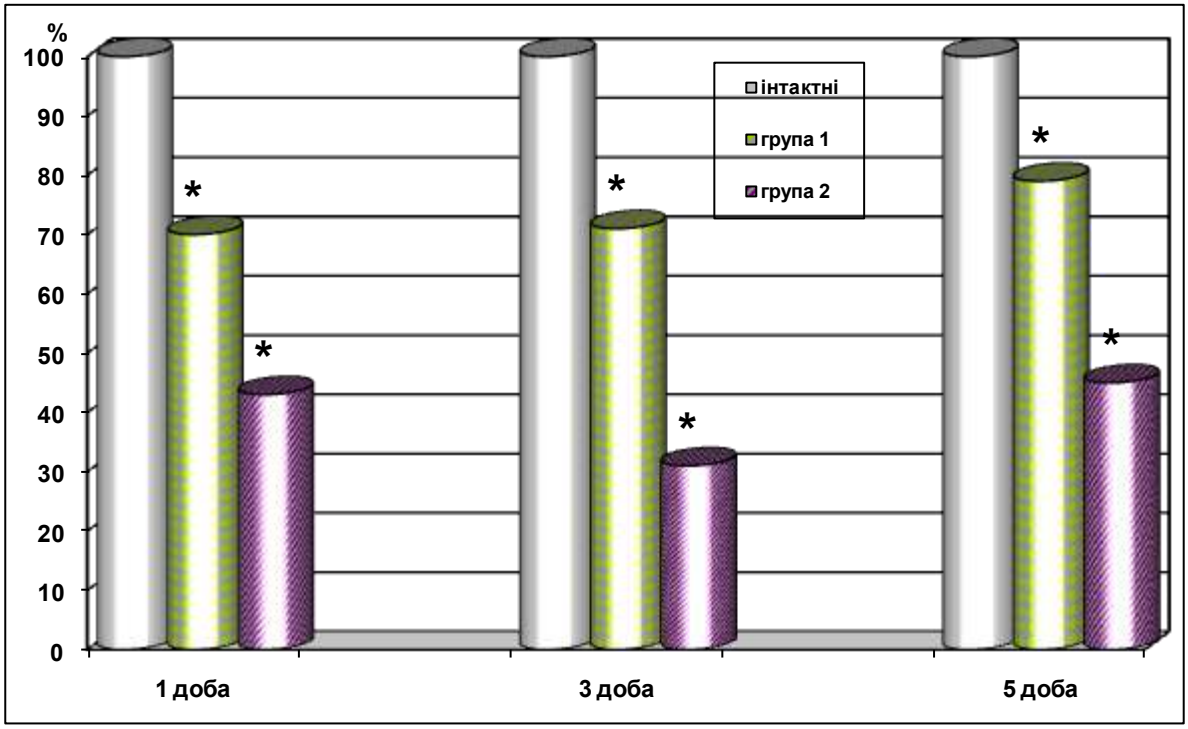

Рис. 3.20. Динаміка активності ЦХО у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом.

Важливе місце у енергетичному забезпеченні клітини належить цитохромоксидазі – кінцевому ферменту дихального ланцюга, який забезпечує перенесення електронів від цитохрому с на кисень. Активність ЦХО за інтоксикації парацетамолом на фоні введення натрій нітриту зазнавала різкого пригнічення в усі дні експерименту у піддослідних тварин. Так, на 1-шу добу експерименту активність ЦХО у печінці щурів вірогідно знижувалась на 38 % ($p<0,001$), відносно показників у групі тварин уражених парацетамолом. Спостерігали зниження вказаного ензиму і на 3-тю добу експерименту. При цьому активність ЦХО у печінці піддослідних тварин була нижчою на 56 % ($p<0,001$) аналогічно. На 5-ту добу досліду активність ЦХО у печінці щурів дещо зросла, порівняно з попередньою добою, але залишалася значно нижчою за контроль на 56 % ($p<0,001$).

Ферментною системою, відповідальною за синтез АТФ за рахунок енергії електрохімічного потенціалу та підтримання критичного рівня мембранного потенціалу за рахунок розпаду АТФ, є протонна АТФ-аза. Використовуючи іони H^+ і OH^-, що знаходяться по обидва боки мембрани, фермент працює зворотно, тобто може функціонувати як АТФ-аза і як АТФ-синтаза.

Згідно з отриманими нами результатами, в інтактних щурів активність H^+-АТФ-ази становила 345,0±13,4 мкат Р/кг. За введення тваринам парацетамолу активність ферменту різко підвищувалася у всі терміни дослідження. Таке парадоксальне, на перший погляд, підвищення активності фермента можна пояснити зниженням мембранного потенціалу і оберненням АТФ-синтазної реакції на АТФ-азну, тобто, розпад АТФ тут використовується як джерело енергії для підтримання трансмембранного потенціалу внутрішньої мітохондріальної мембрани на певному критичному рівні. На 1-шу добу експерименту показник зріс на 89 % ($p<0,001$), 3-тю – 24 %, а до 5-ої доби відбулося часткове відновлення ензимної активності.

За результатами наших досліджень можна стверджувати, що введення парацетамолу на тлі попереднього уведення натрій нітриту призводить до різкого зростання АТФ-азної активності (рис. 3.21). Через 24 год. від

останнього уведення токсикантів у піддослідних тварин активність H^+-АТФ-ази зросла у 1,3 раза (p<0,001), на 3-тю добу становила 144 % (p<0,001) відносно показників у групі тварин, уражених парацетамолом. До 5-ї доби активність фермента наближалась до норми.

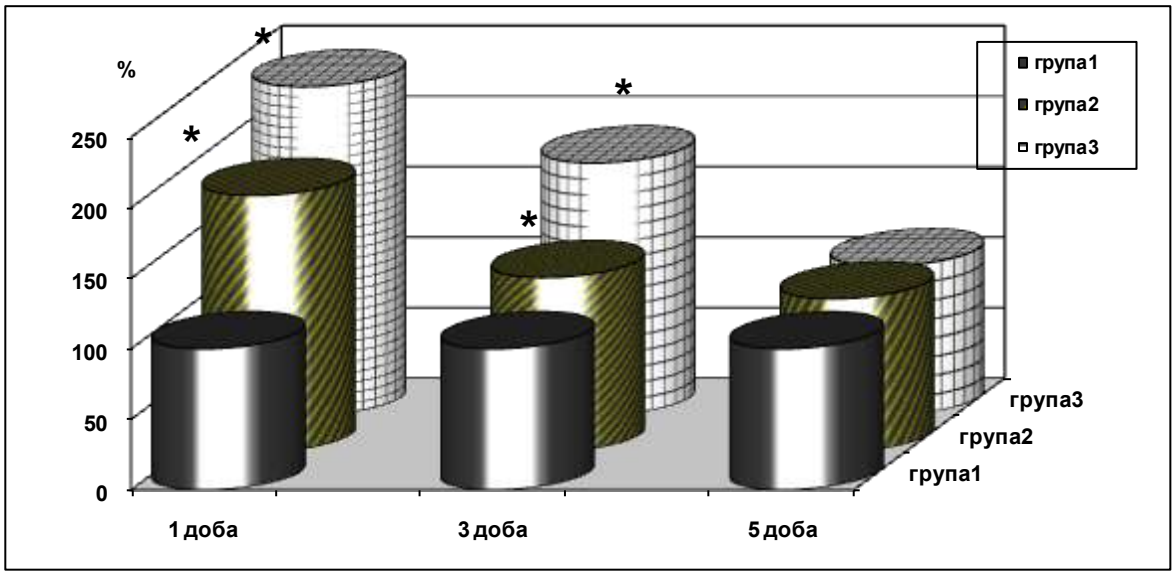

Рис. 3.21. Активність H^+-АТФ-ази у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом

3.7 Активність окиснювальних процесів у мікросомах за умов токсичного ураження парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації

Як видно з даних, приведених в табл. 3.8, існує достовірна різниця показників функціонування окиснювальних систем ендоплазматичного ретикулуму печінки здорових щурів та уражених ксенобіотиками.

Уведення парацетамолу спричиняло значне пригнічення оксигеназної здатності мікросомних ферментів у гепатоцитах тварин. Під впливом парацетамолу спостерігалось зниження N-деметилазної активності на 14 % (p<0,001) на 1-шу добу експерименту та на 18 % (p<0,05) на 3-тю добу від моменту завершення дії отрути. На 5-ту добу дослідження виявлено тенденцію до зростання концентрації даного показника порівняно з попередньою добою, хоча контрольного рівня він і не досягнув (рис. 3.22).

Таблиця 3.8

N-деметилазна та р-гідроксилазна активність у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації, (M±m)

Показник	Інтактні n=10	Група тварин					
		Уражені парацетамолом, група 2			Уражені парацетамолом і натрій нітритом, група 3		
		1 доба n=8	3 доба n=7	5 доба n=7	1 доба n=7	3 доба n=6	5 доба n=6
N-деметилазна активність, ммоль/(кг×хв)	2,29±0,03	1,97±0,03 p_1<0,001	1,88±0,15 p_1<0,05	2,11±0,04 p_1<0,01	1,53±0,07 p_1<0,001 p_2<0,001	1,39±0,06 p_1<0,001 p_2<0,02	1,92±0,09 p_1<0,01 p_2>0,05
р- гідроксилазна активність, ммоль/(кг×хв)	0,33±0,02	0,25±0,02 p_1<0,02	0,23±0,02 p_1<0,01	0,25±0,01 p_1<0,01	0,19±0,01 p_1<0,001 p_2<0,05	0,18±0,01 p_1<0,001 p_2<0,05	0,21±0,01 p_1<0,001 p_2<0,02
Тіопенталовий сон, (хв.)	89,2±3,1	122,3±4,5 p_1<0,001	130,3±4,5 p_1<0,001	116±2,7 p_1<0,001	132,7±5,0 p_1<0,001 p_2>0,05	144,2±5,9 p_1<0,001 p_2>0,05	139,3±4,3 p_1<0,001 p_2<0,002

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей між II та III групами уражених тварин.

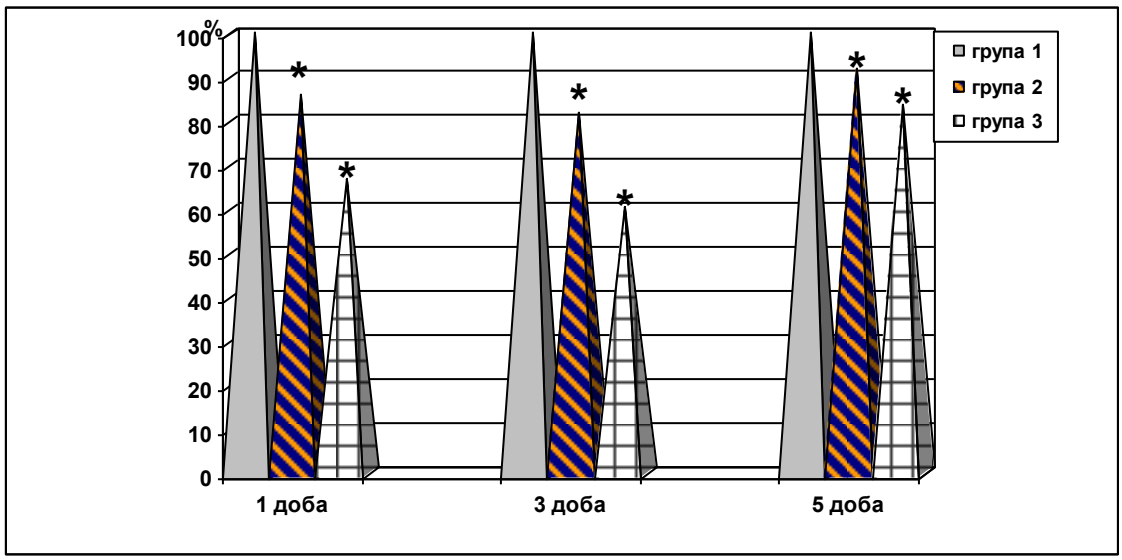

Рис. 3.22. N-деметилазна активність у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом і натрій нітритом

У тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі інтоксикації натрій нітритом вже на 1-шу добу досліду вказаний показник вірогідно зменшувався на 22 % (p<0,001) відносно показника тварин, уражених парацетамолом, та на 26 % (p<0,02) на 3-тю добу експерименту. На 5-ту добу рівень N-деметилазної активності був меншим на 16 % (p<0,001) відносно показника здорових тварин.

Пара-гідроксилазна активність печінки тварин, отруєних парацетамолом, теж зазнавала змін. Показник вірогідно знижувався відносно аналогічного у здорових тварин, на 1-шу та 5-ту доби – на 24 % (p<0,01), 3-тю добу спостереження – на 30 % (p<0,01).

Визначаючи р-гідроксилазну активність, найбільш виражені зміни відмічались в групі поєднаної інтоксикації (рис. 3.23), вже на 1-шу добу досліду вказаний показник вірогідно зменшувався у 1,3 раза (p<0,05) відносно показника тварин уражених парацетамолом, та у 1,4 рази на 3-тю добу експерименту.

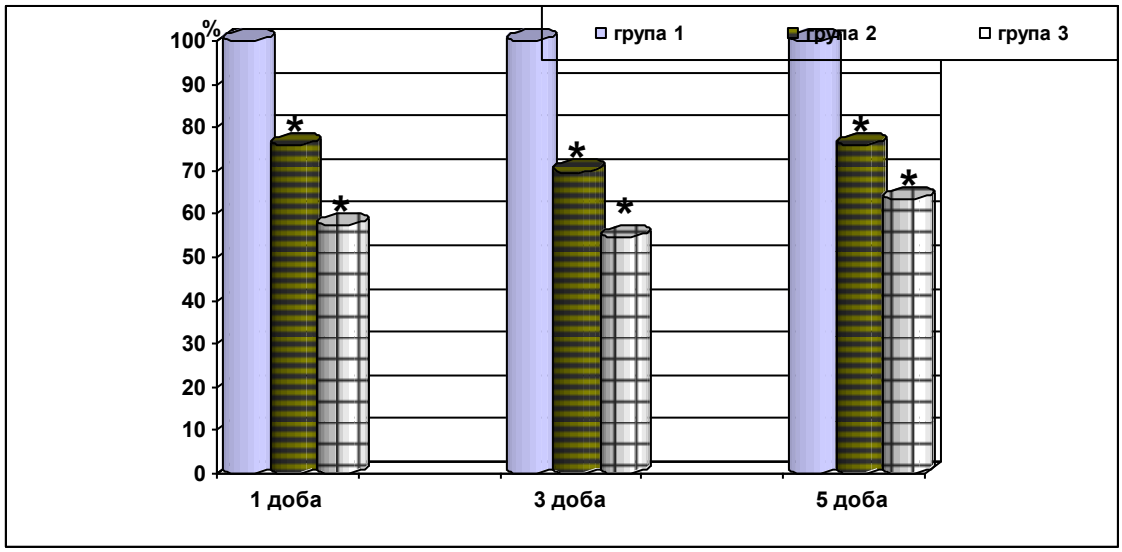

Рис. 3.23. Зміна р-гідроксилазної активності у печінці щурів з токсичним ураженням ксенобіотиками.

Таким чином, на тлі попереднього уведення натрій нітриту парацетамолу проявляє найбільш виражений інгібуючий вплив на окиснювльні процеси у мікросомах печінки тварин, ніж гостре отруєння парацетамолом.

Досліджували тривалість тіопенталового сну у щурів за умов гострого ураження печінки парацетамолом. Встановлено, що на першу добу після введення токсичної дози парацетамолу час біотрансформації тіопенталу в печінці (тривалість тіопенталового сну) був на 33 хв (37 %) ($p<0,001$) тривалішим, ніж у щурів контрольної групи. На 3-тю добу він ще більше зріс і становив 146 % ($p<0,001$) від норми, а на 5-ту добу експерименту тіопенталовий сон у щурів тривав довше на 27 хв (30 %) ($p<0,001$) порівняно з контрольними групами тварин. У тварин, яким попередньо уводили натрій нітрит, тривалість тіопенталового сну зростала суттєвіше, ніж за ураження лише парацетамолом. Через добу від моменту ураження тривалість тіопенталового сну зросла у 1,5 раза , на 3-тю та 5-ту – в 1,6 рази ($p<0,001$) відносно здорових тварин.

Пригнічення детоксикуючої функції печінки під впливом парацетамолу на тлі нітритної інтоксикації, яке проявлялось зростанням тривалості тіопенталового сну, – результат негативного впливу ксенобіотиків на мікросомну ферментну систему печінки, що бере участь у біотрансформації токсичних сполук. Це підтвердилось і при проведенні досліджень N-деметилазної та p-гідроксилазної актвності.

3.8. Морфологічні зміни печінки щурів при застосуванні парацетамолу та на фоні довготривалого введення натрій нітриту.

3.8.1 Морфологічні зміни печінки щурів при гострому отруєнні парацетамолом в дозі 1250 мг/кг.

При світлооптичному дослідженні печінки щурів виявлено суттєво глибші морфологічні зміни усіх її структурних компонентів порівняно з першою групою дослідження. Виявлялись ознаки порушення мікроциркуляції, які проявлялись нерівномірним кровонаповненням із переважанням повнокрів’я його венозної ланки та з вираженими ознаками порушення реологічних властивостей крові: стазами, перерозподілом форменних елементів з утворенням дрібних лейкостазів, склеюванням еритроцитів (сладж-феноменом)

і формування дрібних гіалінових тромбів. Перисинусоїдальні простори значно розширювалися.

У більшості випадків спостерігалося порушення балково-радіальної структури печінкових часточок – дискомплексація гепатоцитів, (рис. 3.24).

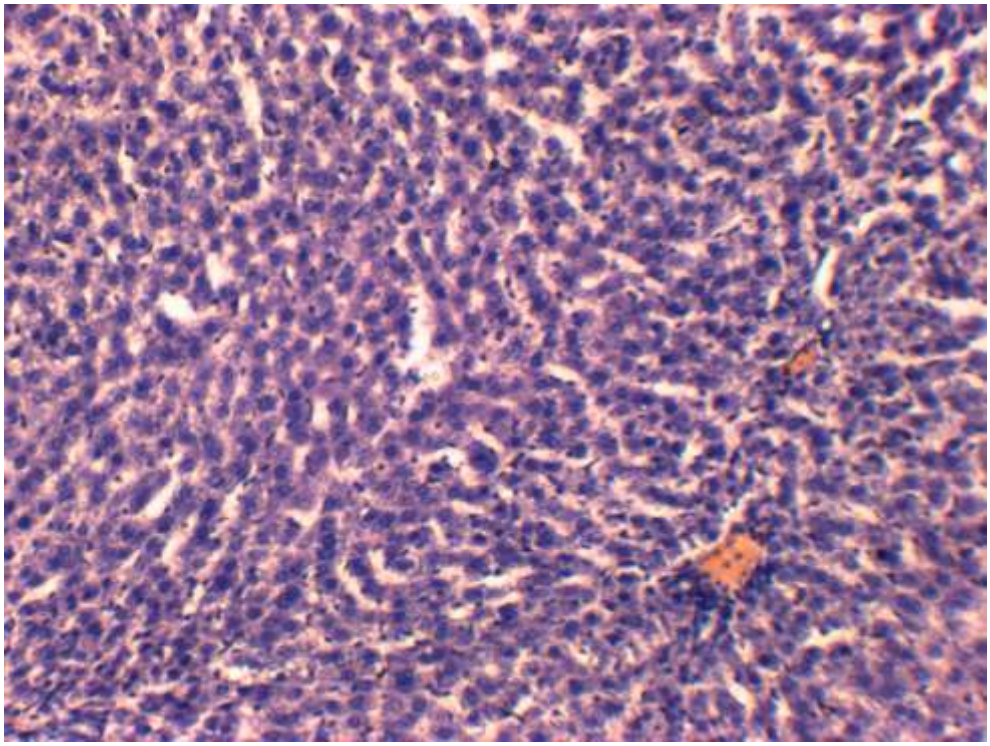

Рис. 3.24. Порушення типової балково-радіальної структури печінкової часточки – дискомплексація гепатоцитів протягом 1-ї доби впливу парацетамолу. Забарвлення гематоксиліном та еозином. × 180.

Синусоїди були дещо розширеними, в їх просвітах спостерігалась незначна кількість макрофагів.

Дистрофічні зміни печінкових клітин набували виразного дифузного характеру, але різного ступеня вираженості. Переважна більшість клітин мала різний розмір, проте частина їх була збільшена в об’ємі. В просвіті цитоплазми виявлялись ацидофільні білкові гранули, які мали тенденцію до злиття в більш масивні білкові включення. Мембрани гепатоцитів втрачали чіткість контурів, а межі їх зливалися.

Ядра печінкових клітин також були поліморфні та нерівномірно забарвлені за рахунок нерівномірного розподілу хроматину. Частина клітин збільшувалися в розмірах за рахунок вакуолізації цитоплазми поряд із добре вираженими контурами мембран. Залишки слабоеозинофільної зернистої цитоплазми розміщувалися навколо ядра або вздовж мембрани. Ядра мали бліде забарвлення із ознаками каріорексису та каріолізису (рис. 3.25). Переважали ознаки коагуляційного некрозу окремих або груп гепатоцитів. Переважно центролобулярно, гепатоцити знаходилися в стані гідропічної дистрофії з переходом у фокальний та зональний колікваційний некроз (рис. 3.26). Мали місце внутрішньоклітинні холестази.

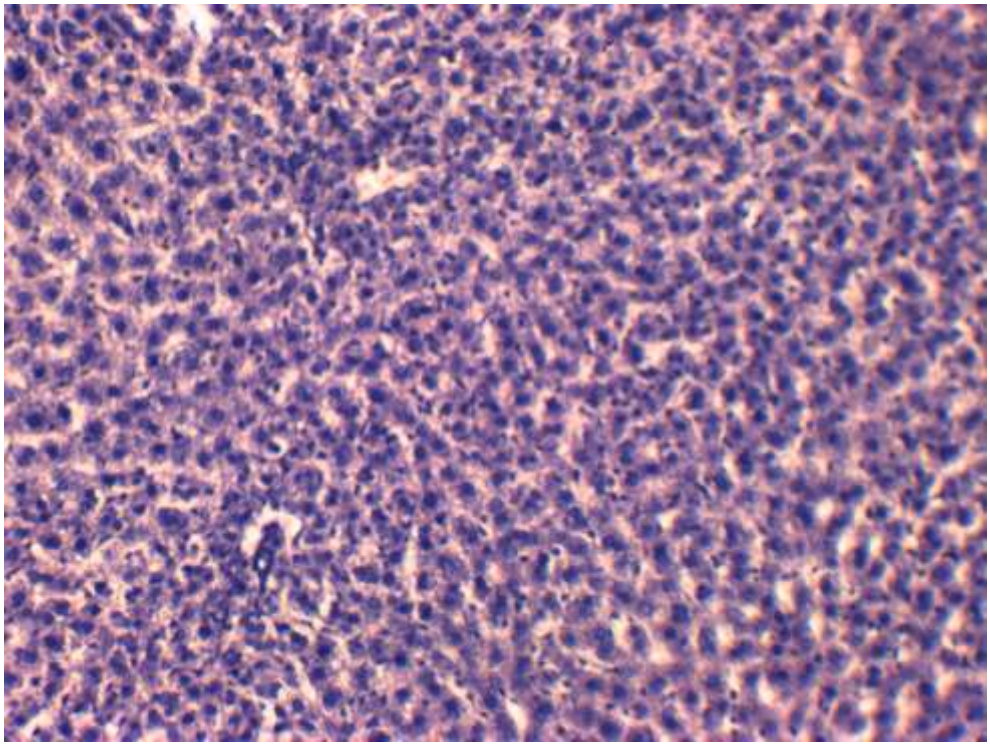

Рис. 3.25. Анізокаріоз та нерівномірне забарвлення гідропічно змінених гепатоцитів. Поодинокі двоядерні клітини. Забарвлення гематоксиліном та еозином. × 180.

Поряд із описаними змінами, спостерігалися клітини з двома ядрами як прояв компенсаторних змін, які розвивалися паралельно із дистрофічно-некротичними процесами (рис. 3.27). Слід відзначити, що в окремих випадках виявлялися також ділянки інтактних гепатоцитів.

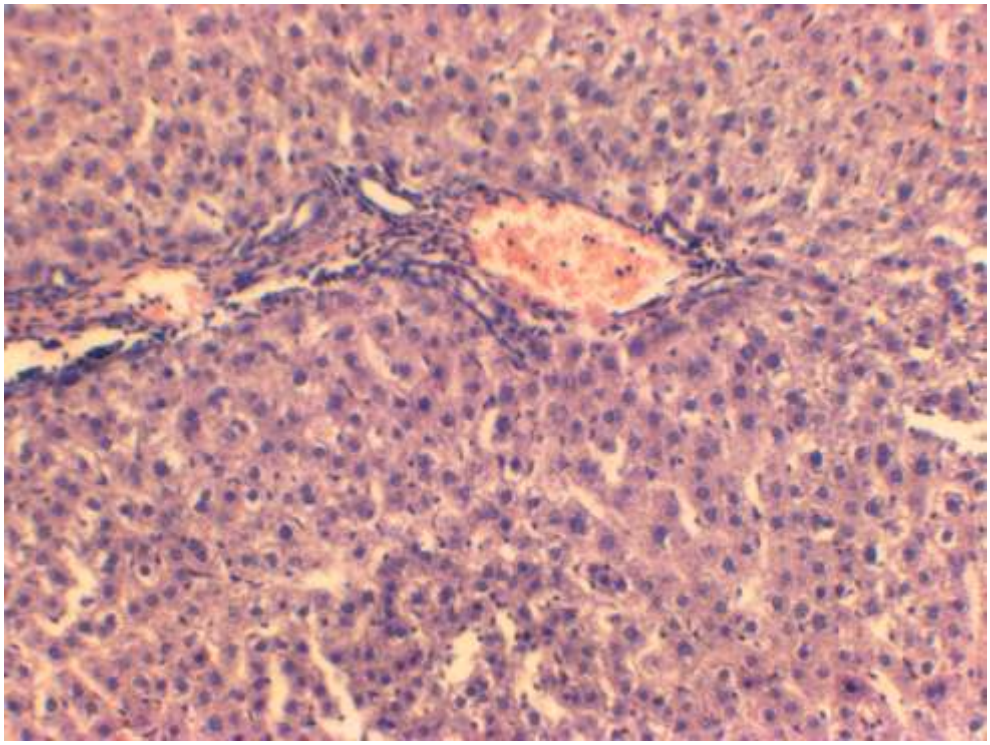

Рис. 3.26. Некрози центролобулярних гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. × 180.

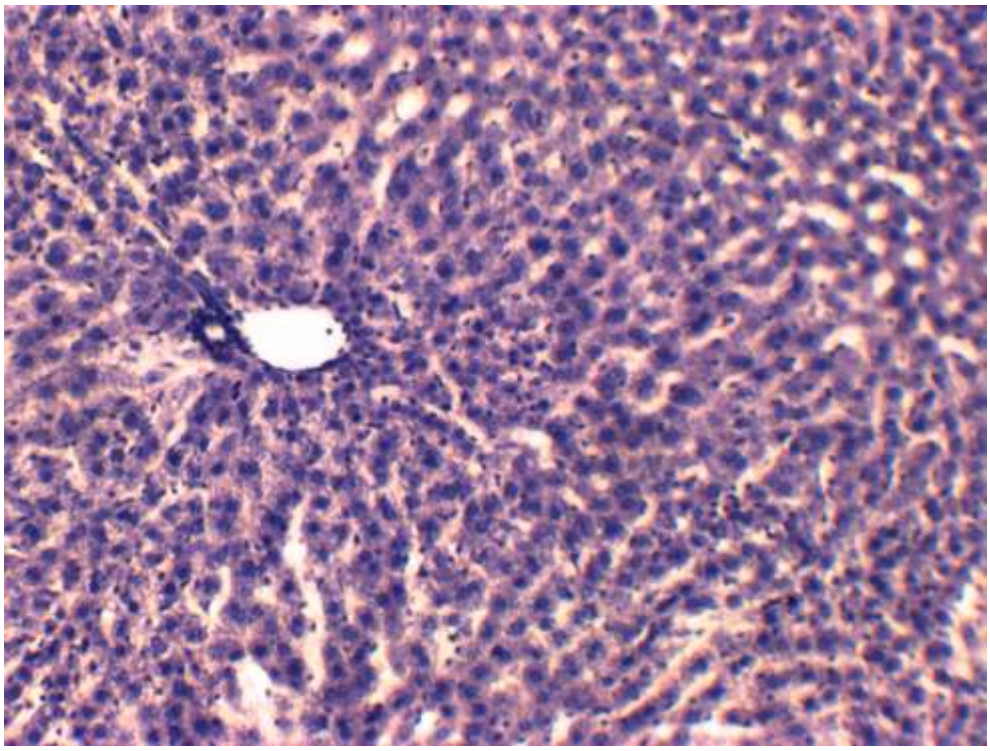

Рис. 3.27. Виражені дистрофічні зміни гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. × 180.

3.8.2 Морфологічні зміни печінки щурів призасто-суванні парацетамолу на фоні введення натрій нітриту протягом 7-ми діб. В стінках судин і стромі портальних трактів спостерігалися незначні поліморфноклітинні інфільтрати. При світлооптичному дослідженні гістопрепаратів виявлені суттєві розлади кровообігу на рівні мікроциркуляторного русла, які проявилися нерівномірним кровонаповненням синусоїдних капілярів, повнокрів'ям вен тріад із ознаками стазу крові та сладжем еритроцитів, що спричинило активну транссудацію плазми в перисинусоїдальні простори з наступним їх розширенням (рис. 3.28).

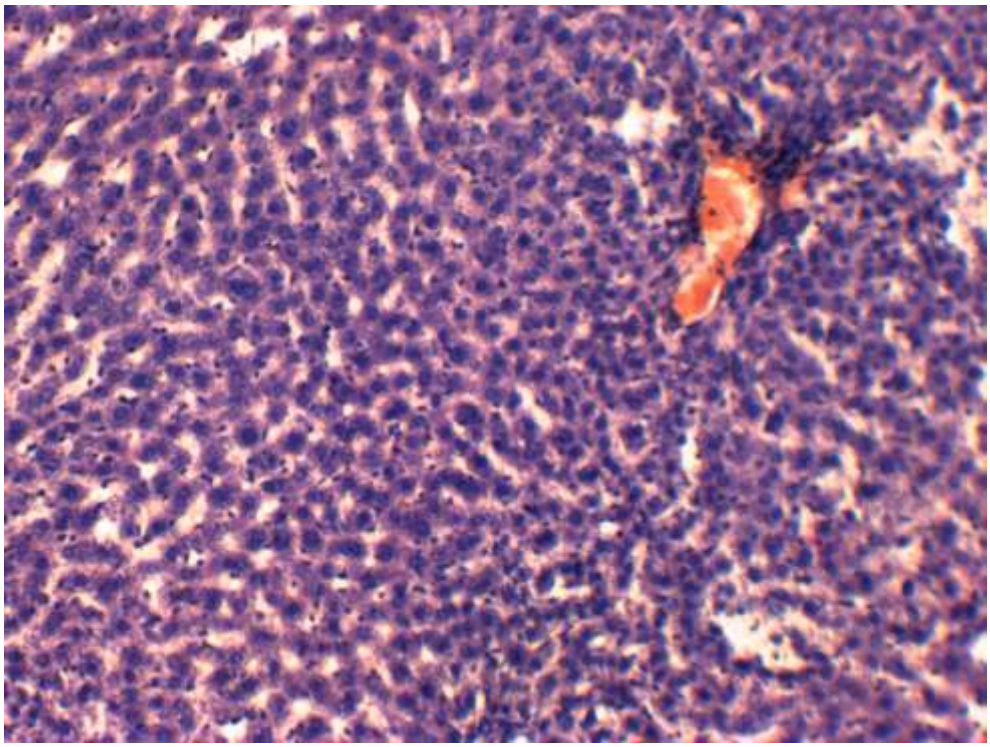

Рис. 3.28. Повнокрів'я вени портального тракту із склеюванням (сладж-феномен) еритроцитів та розширення перисинусоїдальних просторів Діссе. Забарвлення гематоксиліном та еозином. × 180.

Структура печінкової часточки була порушеною. В переважної більшості клітин цитоплазма клітин виглядала зернистою, ядра мали різну форму та розміри із нерівномірним розподілом хроматину. В частині досліджуваних випадків переважали дистрофічні та дегенеративні зміни. Такі клітини

розміщувалися перважно центролобулярно. Вони мали різні розміри, та були значно збільшеними в об'ємі. Цитоплазма окремих клітин ставала виразно еозинофільною та матово-скловидною. Виявлялося також незначне відкладання зерен бурого пігменту ліпофусцину. Гепатоцити нерівномірно фарбувалися гематоксилін-еозином, що створювало картину мозаїчності забарвлення: світлі ділянки чергувалися з більш темними, в цитоплазмі спостерігалася дрібна білкова зернистість. Білкові зерна мали тенденцію до злиття у більш масивні гранули (рис. 3.29). Балкова організація гепатоцитів була порушеною, просвіти синусоїді розширювались, макрофагальна активність була помірною.

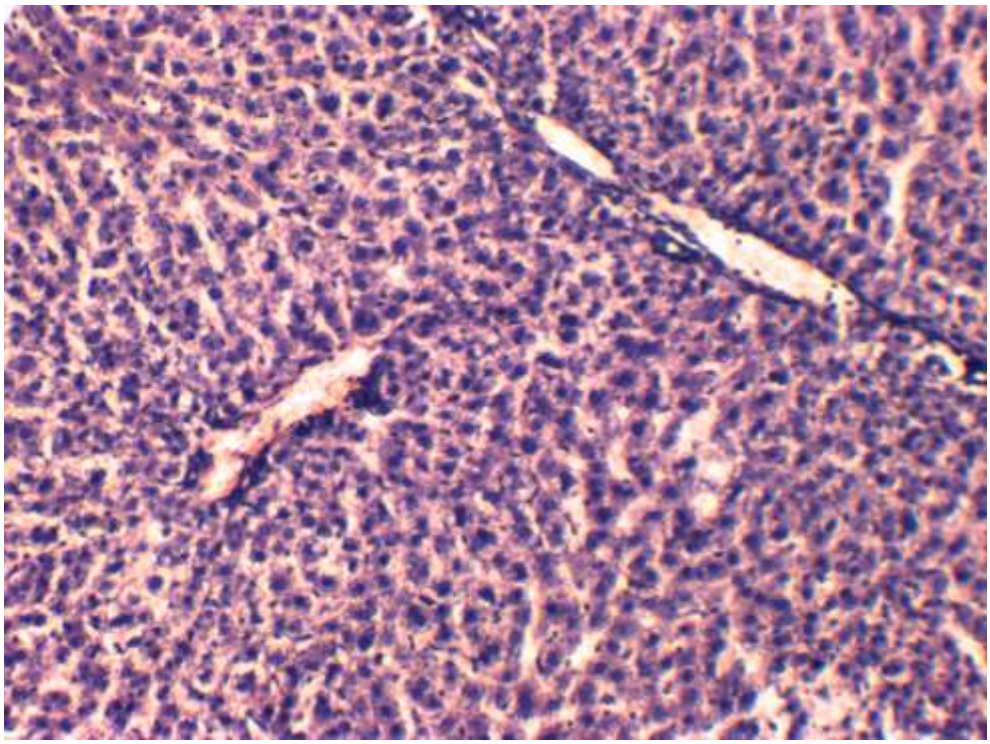

Рис. 3.29. Гепатоцити збільшені з еозинофільною матово-скловидною цитоплазмою. Нерівномірне забарвлення цитоплазми, поліморфізм та гіперплазія ядер. Мембрани клітин нечітко контуровані. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×180.

Цитоплазма клітин центролобулярних зон та середньої третини часточки була неоднорідною, місцями фрагментувалась на дольки різних розмірів. У

цитоплазмі частини гепатоцитів з’являлися вакуолі, виповнені цитоплазматичною рідиною. В таких клітинах виявляли конденсацію хроматину та набухання ядер. В інших клітинах спостерігалися ознаки "еозинофільної дегенерації": ядра зменшені, пікнотичні (рис. 3.30). Іноді ці зміни переходили в коагуляційний некроз, який мав вигляд дрібних осередків (рис. 3.31).

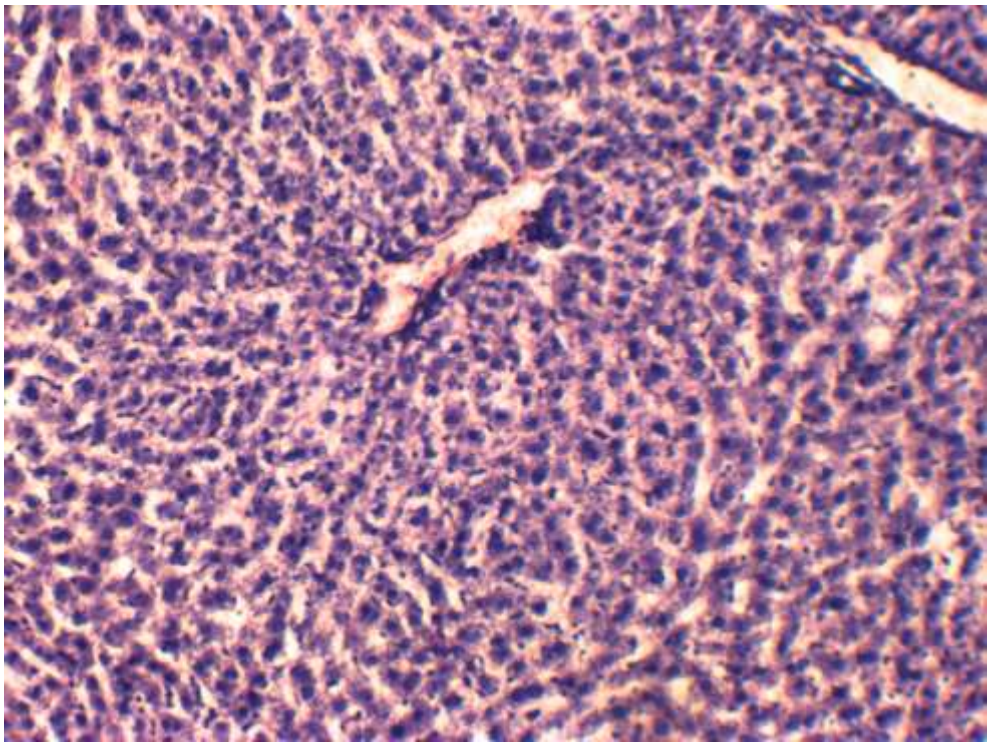

Рис. 3.30. Дифузні дистрофічні зміни гепатоцитів: цитоплазма гепатоцитів розпадається на грудочки різних розмірів, ядра змінені, окремі - пікнотичні. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×180.

У більшості випадків дистрофічно-некротичні зміни супроводжувалися поліморфноклітинною запальною реакцією з присутністю в інфільтратах лімфоцитів, моноцитів і еозинофілів. Прояви запальної реакції не обмежувалися портальними трактами, а поширювались по всій величині часточки (рис. 3.32).

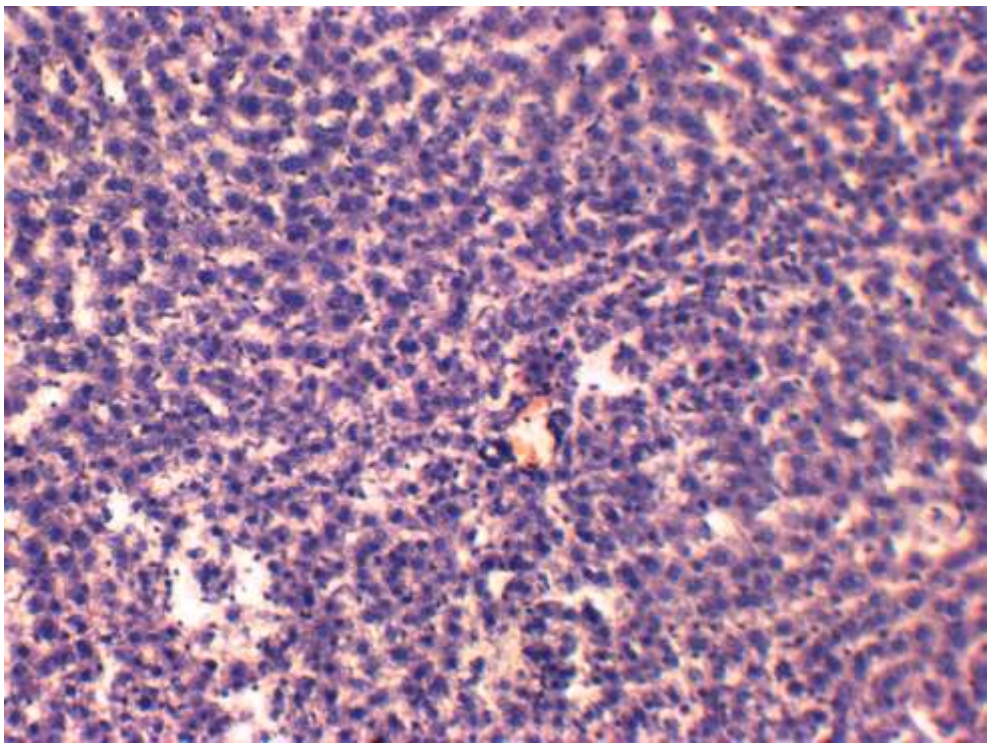

Рис. 3.31. Вогнищевий некроз гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×180.

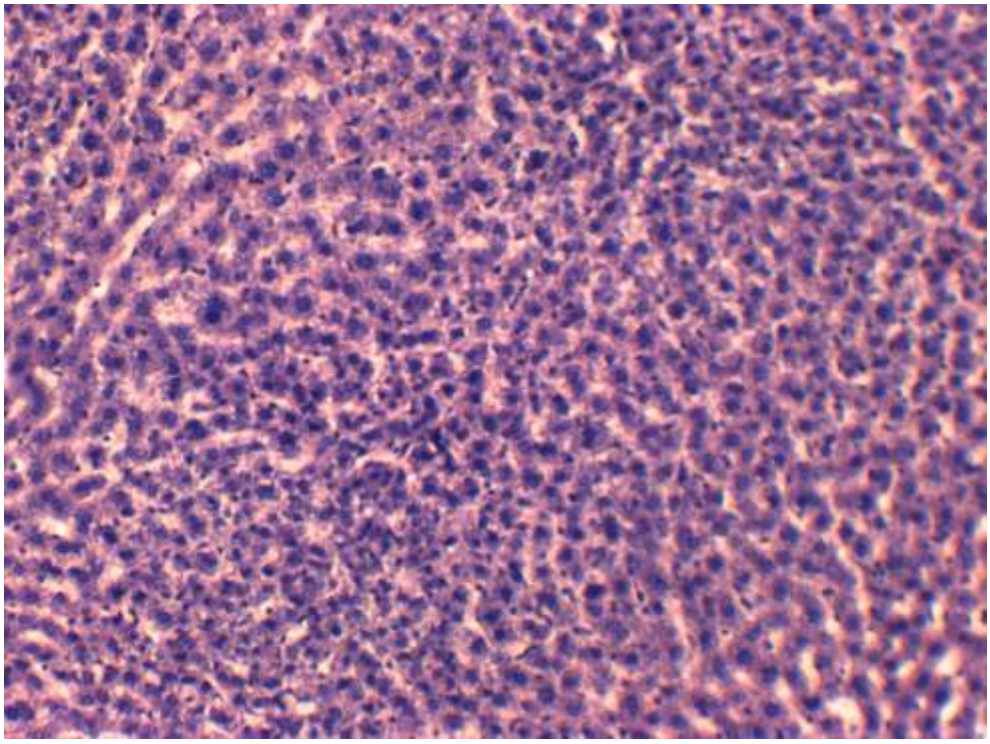

Рис. 3.32. Поліморфноклітинна запальна інфільтрація портального тракту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×180.

Узагальнюючи результати розділу, можна зробити такі висновки:

1. У тварин з гострим отруєнням парацетамолом спостерігається виражена активація процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і білків, що проявляється достовірним зростанням вмісту ДК, ТБК-активних продуктів, показників окиснювальної модифікації білків.

2. Інтенсивність процесів оксигенації ліпідів і білків за умов комбінованої дії ксенобіотиків переважає інтенсивність за ізольованого уведення, що свідчить про потенціювання прооксидантної дії парацетамолу нітритами.

3. Поєднана дія парацетамолу та натрій нітриту супроводжувалась зростанням вмісту МСМ і підвищенням ЕІІ протягом всього експерименту. Ймовірно ці дані свідчать про посилення катаболічних процесів та порушення структури і функції клітинних мембран, що супроводжується наростанням ендогенної інтоксикації організму. Особливості змін маркерів ендогенної інтоксикації були близькими між собою за спрямованістю та ступенем вираженості, що свідчить про сумацію токсичних ефектів парацетамолу та натрій нітриту.

4. Гостре отруєння парацетамолом після попереднього семиразового уведення натрій нітриту значно більше пригнічувало активність ферментів мітохондрій печінки і ендоплазматичного ретикулуму, що приводило до порушення процесів енергозабезпечення гепатоцитів і зниження швидкості детоксикації ендогенних і екзогенних субстратів печінковими клітинами.

Результати розділу опубліковані у наукових працях автора:

1. Пацкань Л. О. Вплив парацетамолу на активність процесів ліпопероксидації і стан антиоксидантної системи щурів на тлі тривалого застосування нітритів / Л. О. Пацкань, І. М. Кліщ // Медична хімія. – 2012. – Т. 14, № 2 (51). – С. 87–91

2. Пацкань Л. О. Стан ендогенної інтоксикації у щурів з гострим отруєнням парацетамолу на тлі тривалого застосування нітритів /

Л. О. Пацкань, І. М. Кліщ // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 3, т. 2 (95). – С. 96–99.

3. Пацкань Л. О. Стан ферментної ланки антиоксидантної системи за умов гострого отруєння парацетамолом на тлі попереднього введення субтоксичних доз натрій нітриту / Л. О. Пацкань // Медична хімія. – 2011. – Т. 13, № 4 (49). – С. 227.

4. Пацкань Л. О. Стан глутатіонової ланки антиоксидантної системи за умов гострого отруєння парацетамолом на тлі попереднього введення субтоксичних доз натрій нітриту / Л. О. Пацкань // Проблеми екології та медицини. – 2012. – Т. 17, № 1–2. – С. 33.

5. Пацкань Л. Вплив гострого отруєння парацетамолом на процеси пероксидного окиснення ліпідів в крові та печінці білих щурів / Л. Пацкань, Х. Погорецька // XVI міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, присвячений 55-річчю Тернопільського державного медичного університету імені. І.Я. Горбачевського, 23-25 квітня 2012 р. : матеріали конгр. – Тернопіль, 2012 – С. 200.

6. Пацкань Л. О. Стан глутатіонової ланки антиоксидантної системи за умов гострого отруєння парацетамолом на тлі попереднього введення субтоксичних доз натрій нітриту / Л. О. Пацкань // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2012. – № 1 (16). – С. 191.

7. Пацкань Л. Вплив гострого отруєння парацетамолом на тлі попереднього уведення субтоксичних доз натрій нітриту на процеси пероксидного окиснення ліпідів в крові і печінці білих щурів / Л. Пацкань, Х. Погорецька // Інноваційні технології в стоматології : наук.-практ. конф., 28 вересня 2012 р. : матеріали конфр. – Тернопіль, 2012 – С. 9-10.

8. Пацкань Л. О. Вплив парацетамолу на тлі тривалого застосування нітритів на стан ендогенної інтоксикації у щурів / Л. О. Пацкань // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2012. – № 2 (17). – С. 197.

РОЗДІЛ 4
КОРЕКЦІЯ ТІОТРИАЗОЛІНОМ ПОРУШЕНЬ МЕТАБОЛІЗМУ У ТВАРИН ЗА УМОВ ГОСТРОГО ОТРУЄННЯ ПАРАЦЕТАМОЛОМ НА ТЛІ НІТРИТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Як видно з результатів, наведених у розділі 3, введення тваринам парацетамолу на тлі 7-ми денної нітритної інтоксикації супроводжується глибоким порушенням метаболізму. В механізмах токсичної дії як парацетамолу, так і нітритів важлива роль належить порушенням вільнорадикального окиснення.

Зважаючи на це, важливого значення набуває пошук нових середників з антиоксидантними та мембраностабілізуючими властивостями. У цьому розділі наведені результати корекції тіотриазоліном метаболічних порушень, викликаних токсичною дією парацетамолу на тлі попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту.

З даних літератури відомо, що тіотриазолін за класифікацією віднесений до засобів, що стимулюють метаболічні процеси. Він зменшує пригнічуючий вплив токсичних факторів на процеси окиснення в циклі три карбонових кислот зі збереженням резервів АТФ. Препарат активує антиоксидантну систему і гальмує процеси окиснення ліпідів. Має доведену репаративну активність. Тіотриазолін також покращує реологічні властивості крові за рахунок активації фібринолітичної системи, що має важливе значення в перебігу патологічного процесу.

Антиоксидантні властивості тіотриазоліну проявляються завдяки наявності в структурі молекули тіотриазоліну тіолу сірки, що надає йому окиснювально-відновної активності, і третинного азоту, який зв’язує надлишок йонів гідрогену. Тіотриазолін реагує з активними формами оксигену і ліпідними радикалами за рахунок виражених відновних властивостей тіольної групи і попереджує ініціювання активних форм оксигену шляхом реактивації

антирадикальних ферментів – супероксиддисмутази, каталази і глутатіонпероксидази.

У доступній нам літературі ми не зустрічали повідомлень про вивчення ефективності застосування тіотриазоліну при комбінованій дії парацетамолу і натрій нітриту, що і спонукало нас провести дослідження, покладені в основу цього розділу. Нами використано тіотриазолін ВАТ «Галичфарм», який вводили у вигляді 2,5 % розчину внутрішньом'язово з розрахунку 50 мг/кг щоденно з першого дня уведення парацетамолу до завершення експерименту.

4.1 Вплив тіотриазоліну на показники ліпопероксидації у тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації

Описані в підрозділі 3.1. результати свідчать, що гостре отруєння парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації призводить до розвитку виражених змін ліпопероксидаційної системи.

Введення корегуючого чинника тіотриазоліну знижувало високу концентрацію ДК (табл. 4.1) в сироватці крові і печінці тварин, уражених парацетамолом після попереднього 7-ми разового уведення натрій нітриту. На 1-шу добу спостереження в сироватцікрові показник вірогідно знизився на 9,6 % ($p<0,05$) порівняно з ураженими тваринами і максимально був наближений до контрольного показника. Концентрація ДК в сироватцікрові на 3-тю та 5-ту доби дослідження становила 86,7 та 77,9 % від рівня уражених тварин ($p<0,001$) (рис. 4.1).

Уведення отруєним тваринам тіотриазоліну спричинилося до вірогідного зменшення концентрації ДК у гомогенаті печінки (рис. 4.2) на 73,3, 74,1 та 73,7 % ($p<0,001$) у відповідні терміни дослідження і на 5-ту доби наближалась до рівня інтактних тварин.

Таблиця 4.1

Динаміка вмісту дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів в сироватці крові і гомогенаті печінки щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі попередньої нітритної інтоксикації та корекції тіотриазоліном, (M±m)

Показник	Біологічна рідина	інтактні n=10	Група тварин					
			Уражені парацетамолом та нітритами			Корекція тіотриазоліном		
			1 доба n=7	3 доба n=8	5 доба n=8	1 доба n=8	3 доба n=8	5 доба n=8
ТБК – активні продукти, мкмоль /л	Сироватка крові	4,75 ± 0,14	10,72± 0,78 p_1<0,001	17,94± 0,63 p_1<0,001	14,89± 0,46 p_1<0,001	8,68± 0,14 p_1<0,001 p_2<0,05	13,35± 0,22 p_1<0,001 p_2<0,001	7,69± 0,18 p_1<0,001 p_2<0,001
ДК, ум.од. /мл	Сироватка крові	2,04 ± 0,04	4,79± 0,14 p_1<0,001	5,17± 0,07 p_1<0,001	4,39± 0,04 p_1<0,001	4,33± 0,11 p_1<0,001 p_2<0,05	4,48± 0,05 p_1<0,001 p_2<0,001	3,42± 0,04 p_1<0,001 p_2<0,001
ТБК-активні продукти, мкмоль /кг	Гомонат печінки	1,16 ± 0,07	2,61± 0,17 p_1<0,001	3,29± 0,03 p_1<0,001	3,08± 0,08 p_1<0,001	2,27± 0,14 p_1<0,001 p_2>0,05	2,6± 0,09 p_1<0,001 p_2<0,001	1,79± 0,09 p_1<0,001 p_2<0,001
ДК, ум.од./г	Гомонат печінки	0,86 ± 0,03	1,61± 0,03 p_1<0,001	2,39± 0,032 p_1<0,001	2,43± 0,33 p_1<0,001	0,43± 0,006 p_1<0, 01 p_2<0,001	0,62± 0,027 p_1<0,001 p_2<0,001	0,64± 0,046 p_1<0, 01 p_2<0,001

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей у порівнянні з тваринами, ураженими парацетамолом та нітритами.

Позитивно впливав тіотриазолін і на концентрацію ТБК-активних продуктів в сироватці крові і в печінці тварин, уражених нітритами та парацетамолом. В сироватці крові (рис. 4.3) показник вірогідно знизився на 1-

шу, 3-тю та 5-ту доби експерименту на 19 (p<0,05), 26 та на 48 % (p<0,001) відповідно, порівняно з аналогічним показником у тварин III групи.

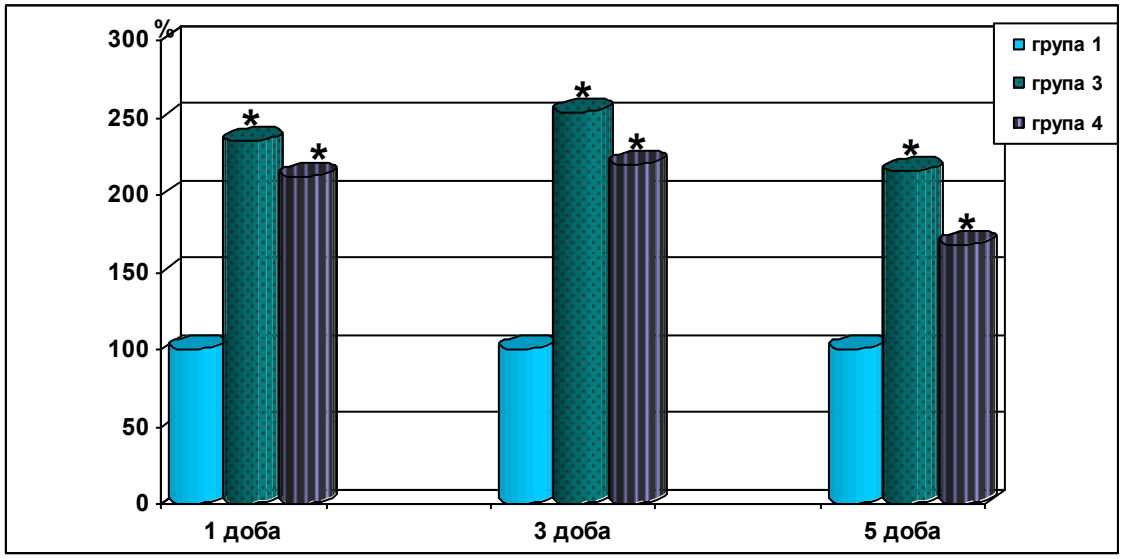

Рис. 4.1. Зміна вмісту ДК в сироватці крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

Примітка. Тут і надалі позначка * – різниця вірогідна, порівняно з контролем.

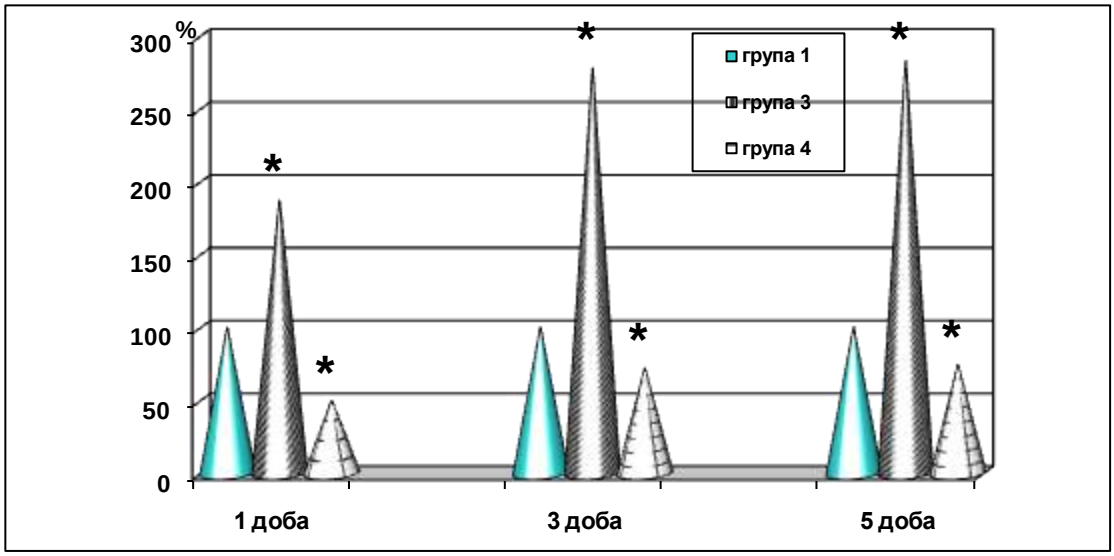

Рис. 4.2. Зміна вмісту ДК в тканині печінки щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

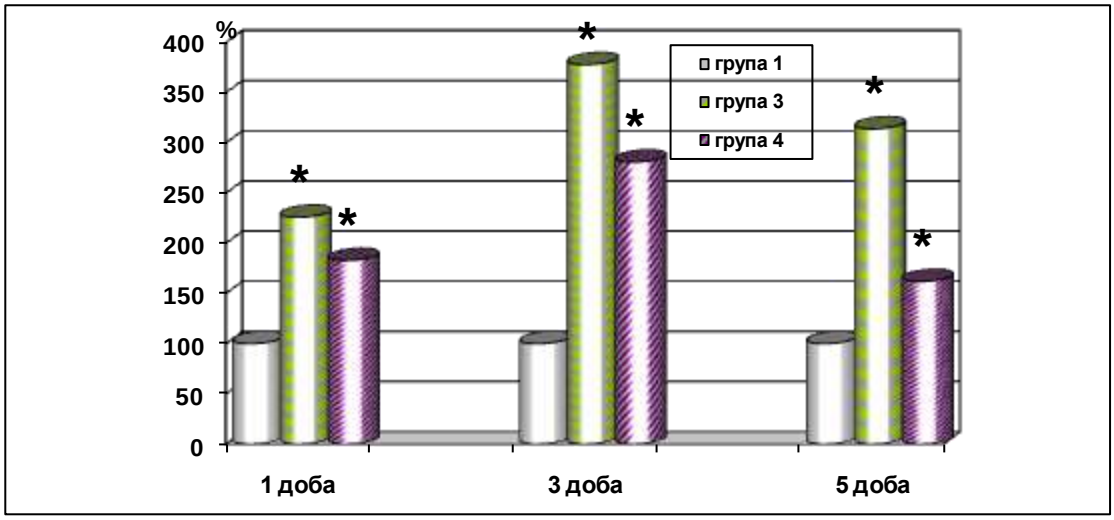

Рис. 4.3. Зміна активності ТБК-активних продуктів в сироватці крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

У гомогенаті печінки (рис. 4.4) концентрація ТБК-активних продуктів вірогідно знизилась на 21 % ($p<0,001$) через три доби після припинення отруєння тварин і введення їм тіотриазоліну, та на 42 % ($p<0,001$) на 5-ту добу дослідження. Показники у зазначені терміни вірогідно відрізнялись від аналогічного показника групи тварин, яким не проводили корекцію.

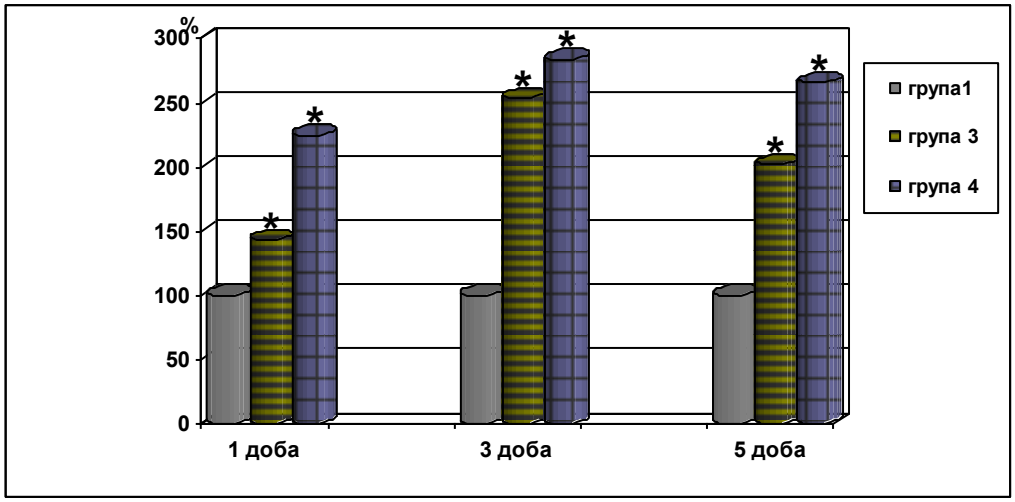

Рис. 4.4. Зміна активності ТБК-активних продуктів в тканині печінки щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

4.2 Вплив тіотриазоліну на стан окиснювальної модифікації білків у тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації

Застосування тіотриазоліну мало позитивний вплив на досліджувані нами показники. Ми зафіксували зниження інтенсивності процесів окиснювальної модифікації білків у тварин, яким проводили корекцію тіотриазоліном (табл. 4.2). Концентрація похідних нейтрального характеру в сироватці крові на 1-шу добу експерименту знизилась на 48,5 %, на 3- тю добу – на 53,2 %, а до 5-ї знизилась до 63 %, що вірогідно нижче ($p<0,001$), ніж в уражених тварин, яким корекція не проводилась (рис. 4.5).

Таблиця 4.2

Динаміка вмісту альдегідо- та кетонопохідних нейтрального /ОМБ$_{370нм}$/ і основного /ОМБ$_{430нм}$/ характеру в сироватці крові та гомогенаті печінки щурів з токсичним ураженням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації та за корекції тіотриазоліном, (M±m)

Показник	Біологічна рідина	Інтактні n=10	Група тварин					
			Уражені парацетамолом та нітритами			Корекція тіотриазоліном		
			1 доба n=7	3 доба n=8	5 доба n=8	1 доба n=8	3 доба n=8	5 доба n=8
ОМБ$_{370}$, ммоль/г	Сироватка крові	0,76± 0,03	2,37± 0,06 $p_1<0,001$	2,52± 0,08 $p_1<0,001$	2,48± 0,07 $p_1<0,001$	1,56± 0,05 $p<0,001$	1,68± 0,07 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	1,62± 0,06 $p_1<0,01$ $p_2<0,001$
ОМБ$_{430}$ ммоль/г	Сироватка крові	0,44± 0,01	1,38± 0,03 $p_1<0,001$	1,67± 0,04 $p_1<0,001$	1,55± 0,05 $p_1<0,001$	0,92± 0,02 $p<0,001$	1,12± 0,02 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	1,08± 0,03 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$
ОМБ$_{370}$ ммоль/г	Гомонат печінки	1,42± 0,04	2,35± 0,05 $p_1<0,001$	2,66± 0,06 $p_1<0,001$	2,54± 0,07 $p_1<0,001$	2,36± 0,06 $p<0,001$	2,48± 0,05 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	2,41± 0,06 $p_1<0,01$ $p_2<0,001$
ОМБ$_{430}$ ммоль/г	Гомонат печінки	0,72± 0,02	2,43± 0,05 $p_1<0,001$	2,54± 0,07 $p_1<0,001$	2,51± 0,08 $p_1<0,001$	1,75± 0,03 $p<0,001$	1,89± 0,04 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	1,81± 0,05 $p_1<0,001$ $p_2<0,001$

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей порівняно з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей порівняно з тваринами, ураженими парацетамолом та нітритами.

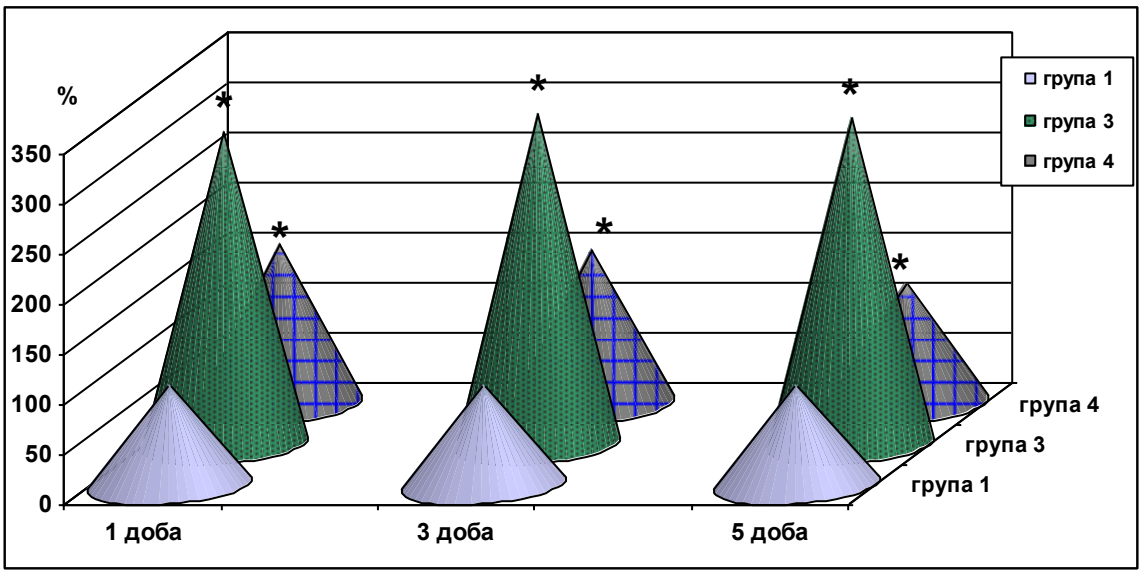

Рис. 4.5. Динаміка вмісту ОМБ$_{370нм}$ у сироватці крові у щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

Концентрація похідних основного характеру в сироватці крові на 1-шу та 3-тю доби експерименту становила 52,2 і 46,7 % ($p<0,001$) порівняно з ураженими тваринами. (рис. 4.6).

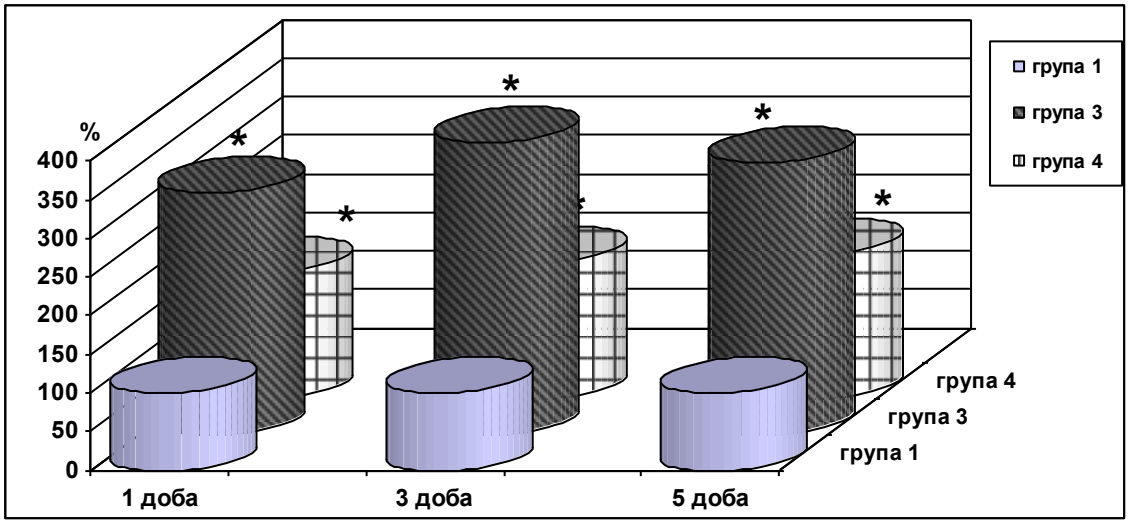

Рис. 4.6. Динаміка вмісту ОМБ$_{430нм}$ у сироватці крові у щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

У гомогенаті печінки показники ОМБ як нейтрального, так і основного характеру, зазнавали аналогічних змін і були вірогідно (p<0,001) нижчими впродовж всього експерименту (рис 4.7). Проте, порівняно з інтактними тваринами показники ОМБ були вірогідно вищими навіть на 5-ту добу дослідження.

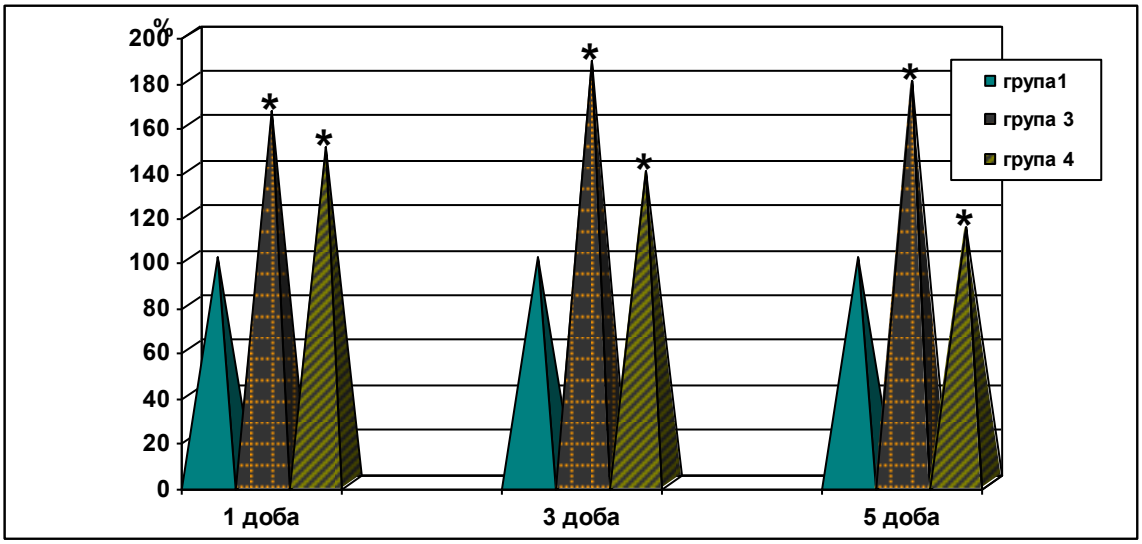

Рис. 4.7. Динаміка вмісту $ОМБ_{370нм}$ в гомогенаті печінки у щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

4.3 Вплив тіотриазоліну на стан антиоксидантної системи тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації

Досліджуючи вплив тіотриазоліну на глутатіонову систему нами встановлено, що застосування препарату призвело до вірогідних змін активності ГП та ГР і спричинило зростання обох ферментів, а також концентрації G-SH (табл. 4.3).

У тварин, яким проводилась корекція тіотриазоліном активність ГП зросла (рис. 4.8) на 1-шу, 3-тю та 5-ту доби відповідно на 13,2 (p<0,01), 44,1 та 69,5 % (p<0,001), порівняно з аналогічним показником уражених тварин, яким корекція не проводилась і наближалась до показника групи контролю.

Таблиця 4.3

Динаміка показників глутатіонової ланки антиоксидантної системи щурів з токсичним ураженням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації та за корекції тіотриазоліном, (M±m)

Показник	інтактні n=10	Група тварин					
		Уражені парацетамолом та нітритами			Корекція тіотриазоліном		
		1 доба n=7	3 доба n=8	5 доба n=8	1 доба n=8	3 доба n=8	5 доба n=8
G-SH, ммоль/г	3,99± 0,15	2,91± 0,04 p_1<0,001	2,48± 0,03 p_1<0,001	1,72± 0,007 p_1<0,001	4,29± 0,13 p_1>0,05 p_2<0,001	2,94± 0,04 p_1<0,001 p_2<0,001	2,56± 0,07 p_1<0,001 p_2<0,001
ГП, ммоль/ (хв×кг)	1,036 ± 0,015	0,71± 0,018 p_1<0,001	0,513± 0,008 p_1<0,001	0,407± 0,009 p_1<0,001	0,804± 0,018 p_1<0,001 p_2<0,01	0,739± 0,012 p_1<0,001 p_2<0,001	0,69± 0,017 p_1<0,001 p_2<0,001
ГР, ммоль/ (хв×кг)	13,15 ± 0,41	7,05± 0,38 p_1<0,001	4,58± 0,12 p_1<0,001	2,51± 0,24 p_1<0,001	9,26± 0,14 p_1<0,001 p_2<0,001	9,89± 0,16 p_1<0,001 p_2<0,001	11,02± 0,26 p_1<0,002 p_2<0,001

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей порівняно з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей порівняно з тваринами, ураженими парацетамолом та нітритами.

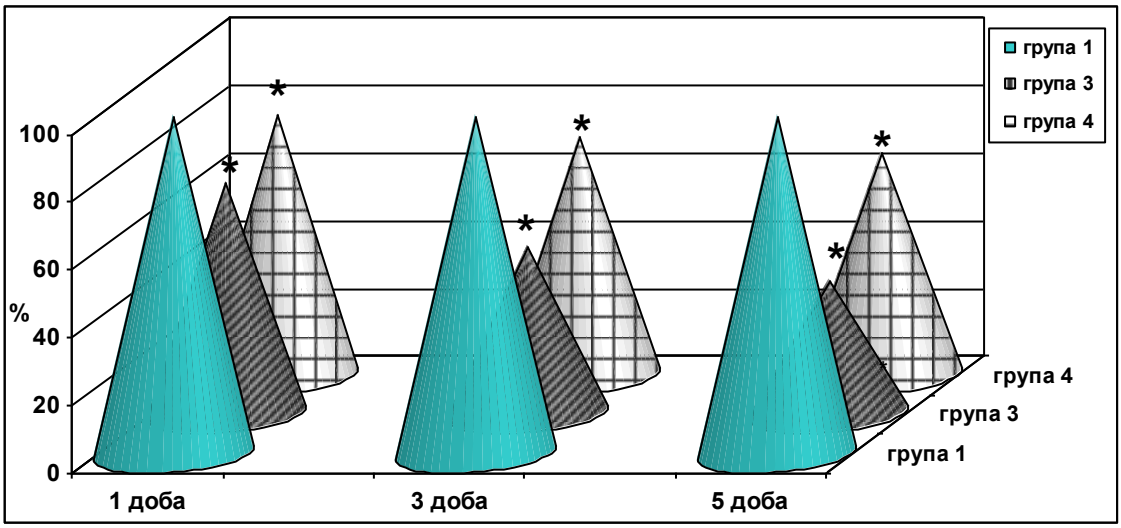

Рис. 4.8. Зміна глутатіопероксидазної активності у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

Активність ГР вірогідно зростала (рис. 4.9) у 1,3 раза (p<0,001) на 1-шу добу експерименту, у 2,2 та 4,4 раза (p<0,001) на 3-тю та 5-ту доби від дня припинення уведення тіотриазоліну. Всі дані були статистично вірогідні по відношенню до аналогічного показника у групі тварин, яким тіотриазоліну не вводили.

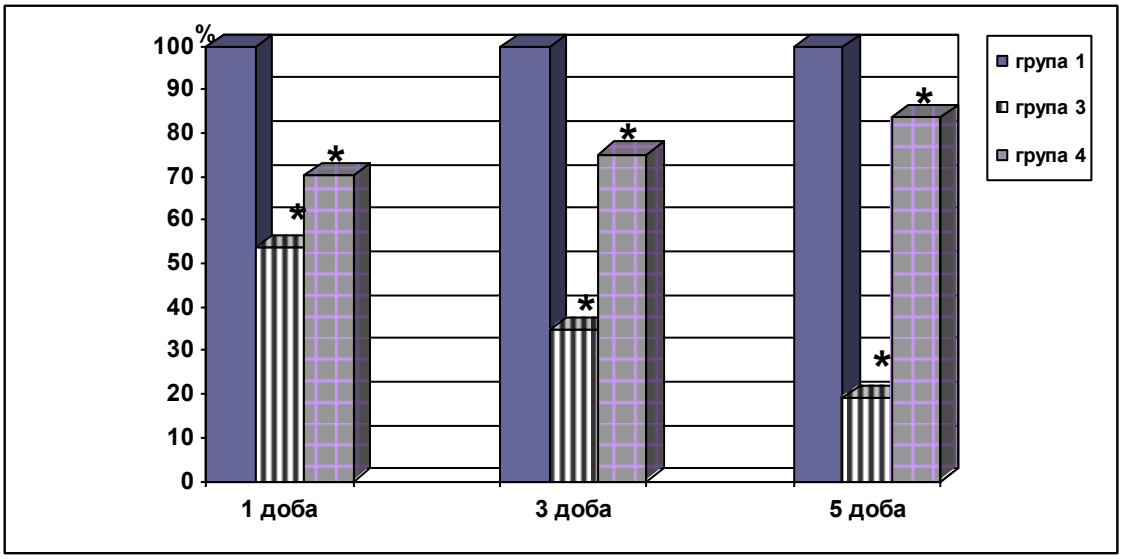

Рис. 4.9. Зміна активності глутатіонредуктази у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

Такий ефект можна вважати наслідком нейтралізації дії тіотриазоліном парацетамолу та продуктів його розпаду, а також натрій нітриту, що призводить до зменшення вмісту відновлених форм нікотинамідних коферментів, які беруть участь у забезпеченні протонами гідрогену процесу відновлення глутатіону. На це вказує і вірогідне зростання концентрації відновленого глутатіону у групі тварин, яким проводили корекцію по відношенню до групи нелікованих тварин. Так, на 1-шу добу спостереження концентрація G-SH зросла (рис. 4.10) на 47 % (p<0,001), на 3-тю та 5-ту доби – на 19 і 49 % (p<0,001).

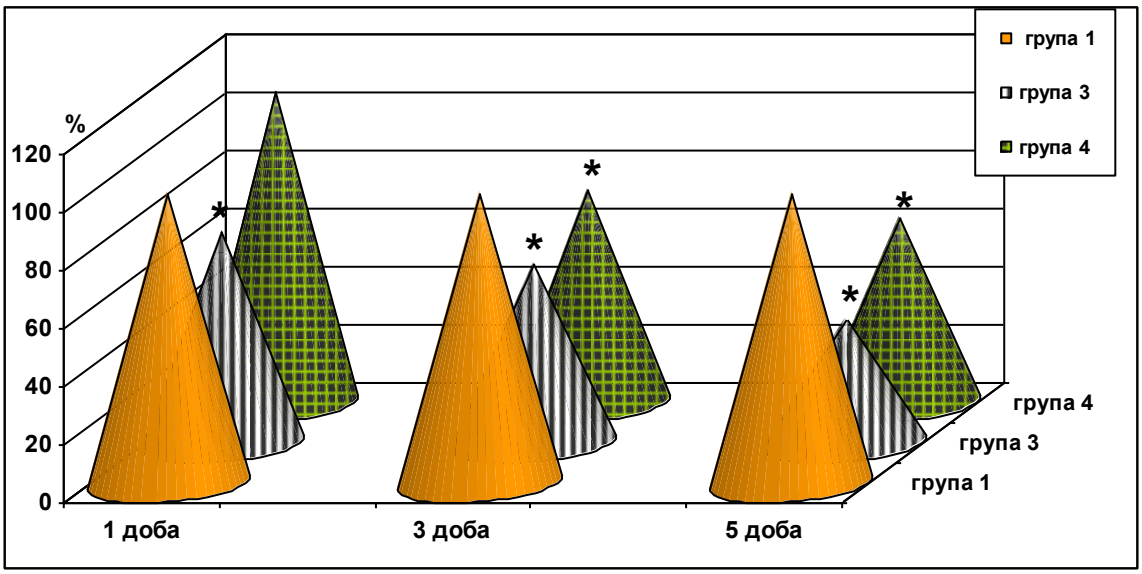

Рис. 4.10. Концентрація відновленого глутатіону у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

Як видно з рис. 4.11 і табл. 4.4, змінювались і показники ферментної ланки антиоксидантної системи – активність СОД у печінці поступово збільшувалась і на 5-ту добу сягнула 197 % ($p<0,001$) від рівня уражених тварин, на 3-тю добу показник зріс на 65 %.

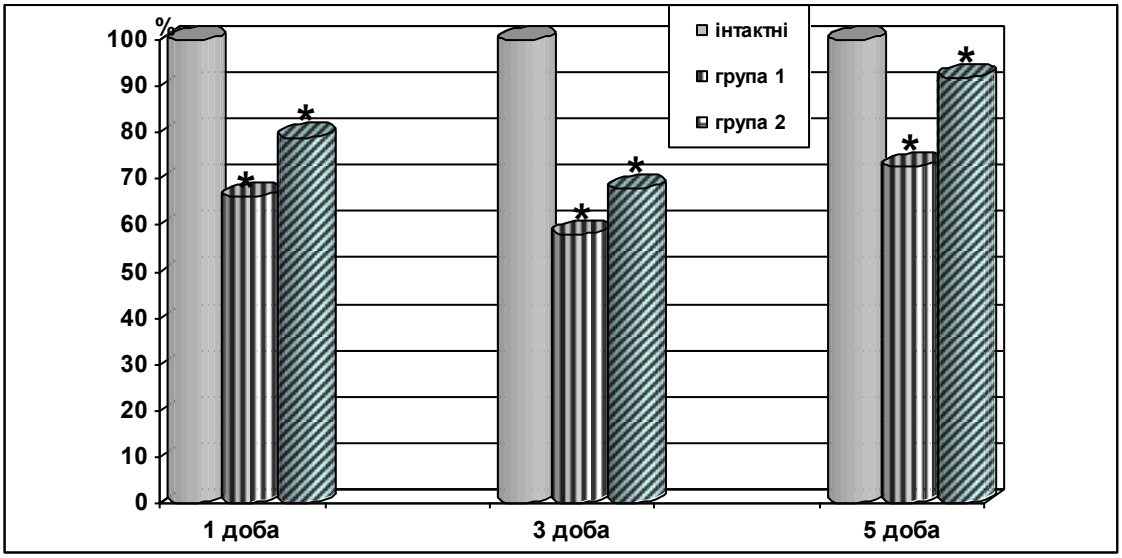

Рис. 4.11. Динаміка активності СОД в крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

Аналогічні зміни відбувались і у крові, активність СОД збільшилася на 1-шу, 3-тю та 5-ту доби на 20, 17 та 27 % (p<0,001) стосовно показника тварин уражених парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації

Таблиця 4.4

Динаміка стану ферментативної ланки антиоксидантної щурів з токсичним ураженням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації та за корекції тіотриазоліном, (M±m)

Показник	Біологічна рідина	інтактні n=10	Група тварин					
			Уражені парацетамолом та нітритами			Корекція тіотриазоліном		
			1 доба n=7	3 доба n=8	5 доба n=8	1 доба n=8	3 доба n=8	5 доба n=8
СОД, ум.од.	Кров	0,62± 0,006	0,48± 0,005 p_1<0,001	0,45± 0,005 p_1<0,001	0,52± 0,007 p_1<0,001	0,41± 0,005 p_1<0,001 p_2<0,001	0,36± 0,005 p_1<0,001 p_2<0,001	0,45± 0,013 p_1<0,001 p_2<0,001
СОД, ум.од./г	Гомогенат печінки	3,88± 0,2	3,36 ± 0,16 p_1>0,05	2,82± 0,14 p_1<0,002	2,97± 0,24 p_1<0,02	1,69± 0,24 p_1<0,001 p_2<0,001	1,43± 0,07 p_1<0,001 p_2<0,001	1,49± 0,06 p_1<0,001 p_2<0,001
Кат, мкат/л	Кров	0,153 ± 0,011	0,043 ± 0,008 p_1<0,001	0,048± 0,006 p_1<0,02	0,057± 0,005 p_1<0,05	0,132± 0,005 p_1>0,05 p_2<0,001	0,077± 0,007 p_1<0,001 p_2<0,01	0,131± 0,005 p_1>0,05 p_2<0,001
Кат, мкат/кг	Гомогенат печінки	5,79± 0,23	2,72± 0,37 p_1<0,002	2,01± 0,19 p_1<0,002	2,82± 0,16 p_1>0,05	3,68± 0,14 p_1<0,001 p_2<0,05	3,89± 0,11 p_1<0,001 p_2<0,001	4,86± 0,16 p_1<0,01 p_2<0,001
ЦП, мг/л	Сироватка крові	246,4 ± 5,6	156,2± 6,0 p_1<0,001	123,7± 2,1 p_1<0,001	130,4± 5,3 p_1<0,001	189,4± 3,2 p_1<0,001 p_2<0,001	130,8± 2,4 p_1<0,001 p_2>0,05	163,4± 3,3 p_1<0,001 p_2<0,001

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей у порівнянні з тваринами, ураженими парацетамолом та нітритами.

Ми спостерігали також корегуючий вплив тіотриазоліну на активність антиоксидантного ферменту першої лінії захисту –каталази (рис. 4.12). На 1-шу та 5-ту доби у крові показник зріс у 3,1 та 2,3 раза (p<0,001) порівняно з тваринами II групи і вірогідно не відрізнявся від рівня інтактних тварин. У гомогенаті печінки каталазна активність зросла на 35 % (p<0,05) на 1-шу добу та на 94 і 72 % (p<0,001) на 3-тю та 5-ту доби відповідно.

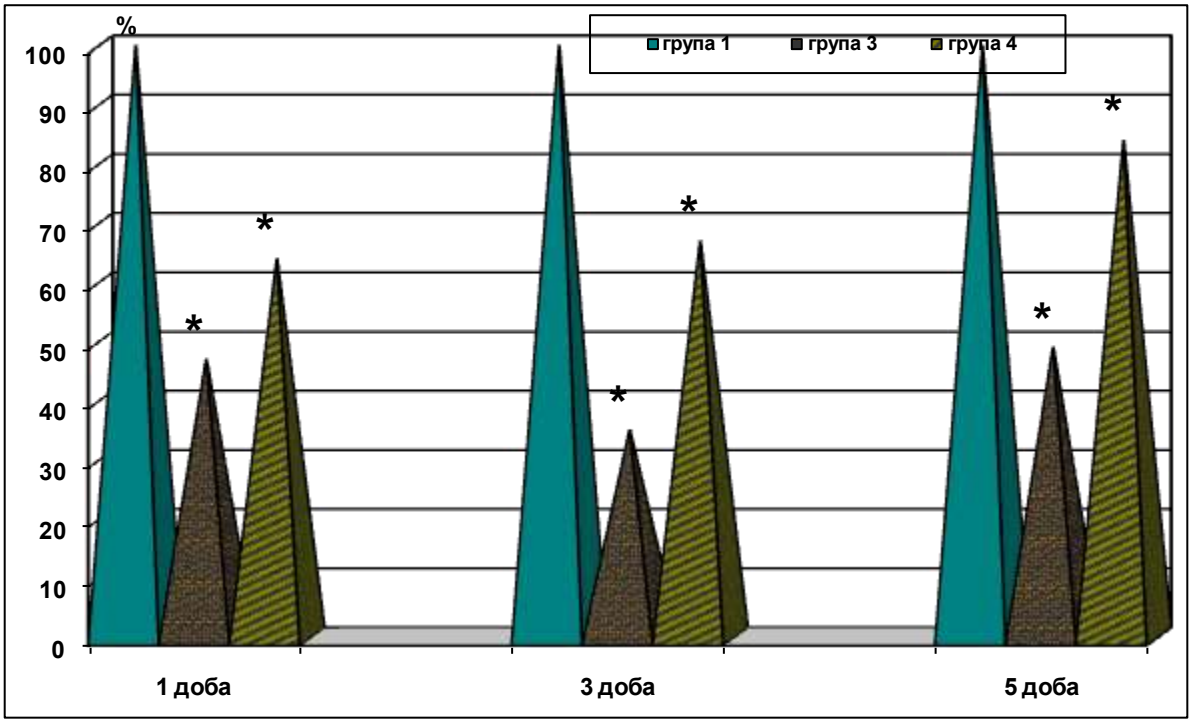

Рис. 4.12. Динаміка активності каталази у крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

.

Вміст ЦП у тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі інтоксикації нітритами за корекції тіотриазоліном вірогідно зростав протягом усього дослідження та був наближеним до рівня інтактних тварин (табл. 4.4). Так, на 1-шу та 5-ту доби показник збільшився у 1,2 і 1,3 (p<0,001) раза відносно показника тварин, яким корекція не проводилась.

4.4 Вплив тіотриазоліну на розвиток ендогенної інтоксикації у тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації

Як показано у попередніх розділах, ураження організму ксенобіотиками призводять до розвитку синдрому ендогенної інтоксикації, порушення структури і функції гепатоцитів, цілісності плазматичних і лізосомальних мембран. Свідченням цього є підвищення вмісту молекул середньої маси (МСМ), еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ). З метою корекції виявлених порушень ми використали тіотриазолін.

З наведених даних видно (табл. 4.5), що введення тіотриазоліну зумовило зниження рівня МСМ у крові уражених щурів.

Таблиця 4.5

Динаміка вмісту МСМ у сироватці крові та ЕІІ в крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації та за корекції тіотриазоліном, (M±m)

Показник	Біологічна рідина	Інтактні, n=10	Група тварин					
			Уражені парацетамолом та нітритами			Корекція тіотриазоліном		
			1 доба n=7	3 доба n=8	5 доба n=8	1 доба n=8	3 доба n=8	5 доба n=8
$МСМ_1$, ум.од. екст.	Сироватка крові	0,36± 0,02	0,84± 0,05 p_1<0,001	0,89± 0,06 p_1<0,001	0,85± 0,08 p_1<0,001	0,54± 0,04 p_1<0,001 p_2<0,001	0,46± 0,04 p_1<0,05 p_2<0,001	0,42± 0,02 p_1>0,05 p_2<0,001
$МСМ_2$, ум.од. екст	Сироватка крові	0,13± 0,01	0,38± 0,03 p_1<0,001	0,45± 0,04 p_1<0,001	0,41± 0,03 p_1<0,001	0,21± 0,02 p_1<0, 01 p_2<0,001	0,17± 0,01 p_1<0,02 p_2<0,001	0,14± 0,01 p_1>0,05 p_2<0,001
ЕІІ, %	Кров	33,83 ± 1,62	74,46± 2,28 p_1>0,05	82,76± 2,83 p_1<0,001	80,14± 2,32 p_1<0,001	52,36± 1,23 p_1<0,001 p_2<0,001	46,24± 1,11 p_1<0,001 p_2<0,001	42,32± 1,08 p_1<0,002 p_2<0,001

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей у порівнянні з тваринами, ураженими парацетамолом та нітритами.

Так, при введенні ураженим тваринам тіотриазоліну спостерігалося чітке зниження рівня МСМ у крові протягом усіх діб експерименту. Під дією тіотриазоліну в крові отруєних парацетамолом і натрій нітритом тварин найкращий корегуючий ефект спостерігався на 5-ту добу експерименту (рис. 4.13, 4.14). На цю добу рівень $МСМ_1$ у крові лікованих тварин відповідно становив 49 % ($p<0,001$) від рівня уражених тварин, а $МСМ_2$ – 34 % ($p<0,001$), та вірогідно ($p>0,05$) не відрізнявся стосовно інтактних щурів. На 1-шу та 3-тю добу показник $МСМ_1$ становив 150 та 128 % ($p<0,001$) від рівня тварин III групи. Що стосується рівня $МСМ_2$, то даний показник у відповідні доби зріс у 1,8 та 2,6 рази ($p<0,001$) стосовно тварин уражених парацетамолом після 7-ми денної інтоксикації натрій нітритом.

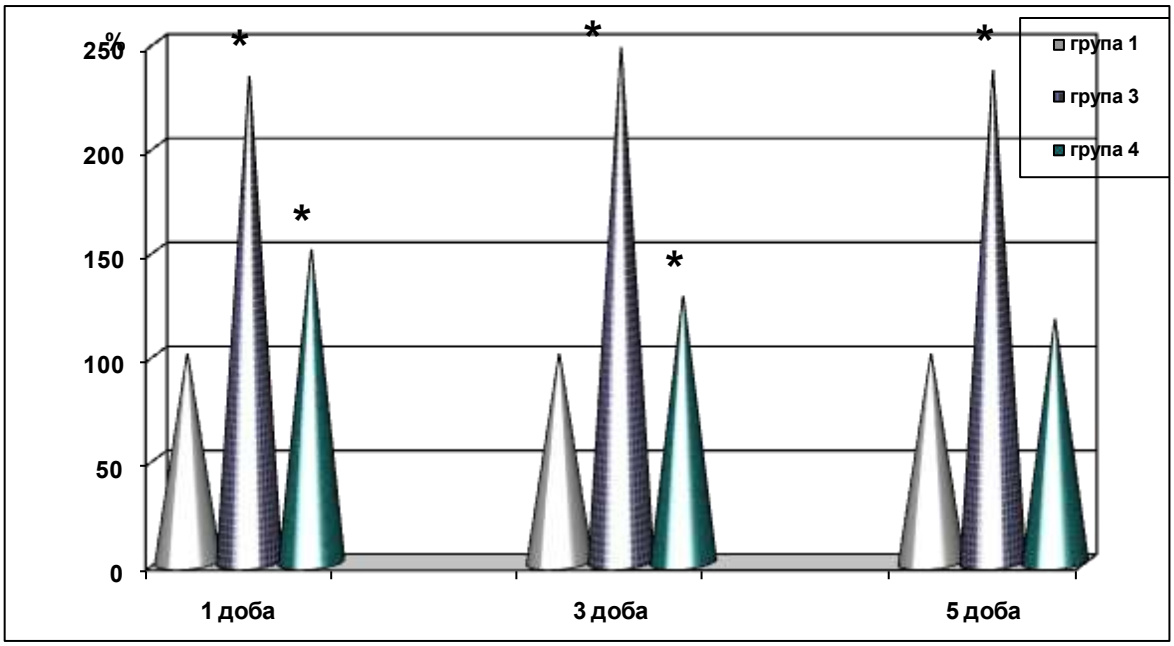

Рис. 4.13. Динаміка вмісту МСМ 1 в сироватці крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

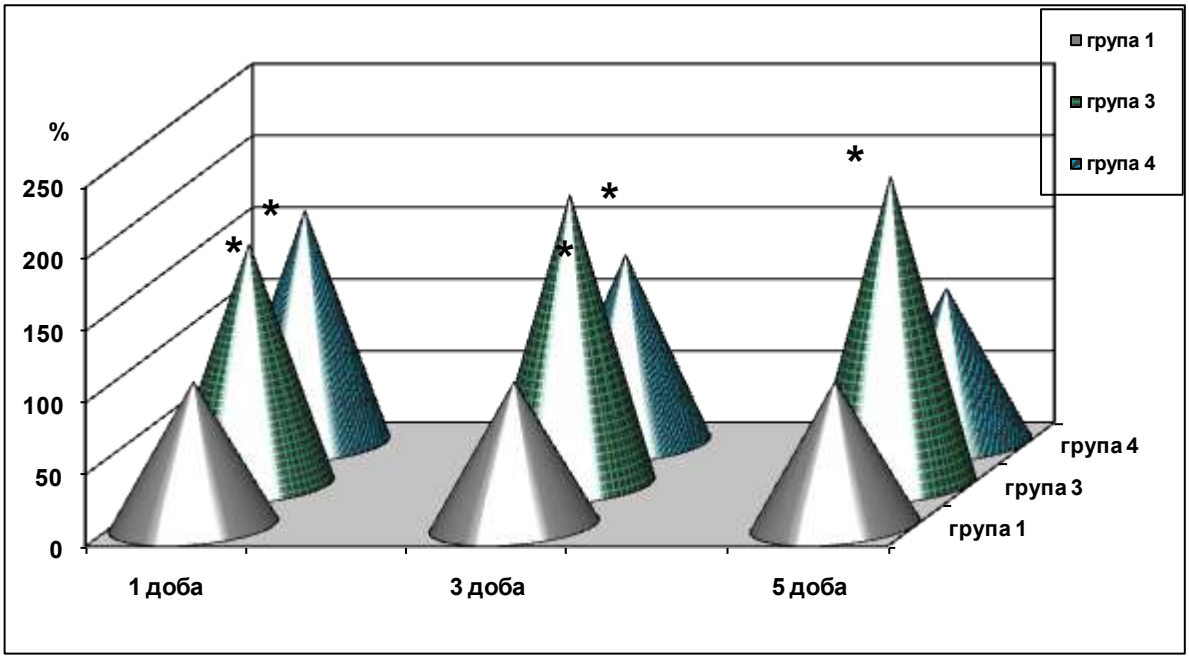

Рис. 4.14. Динаміка вмісту МСМ 2 в сироватці крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

На зниження ступеня ендогенної інтоксикації за дії тіотриазоліну вказує і зниження ЕІІ (рис. 4.15). В табл. 4.5 наведені результати зміни еритроцитарного індексу інтоксикації за корекції порушень, викликаних введенням парацетамолом, натрій нітриту.

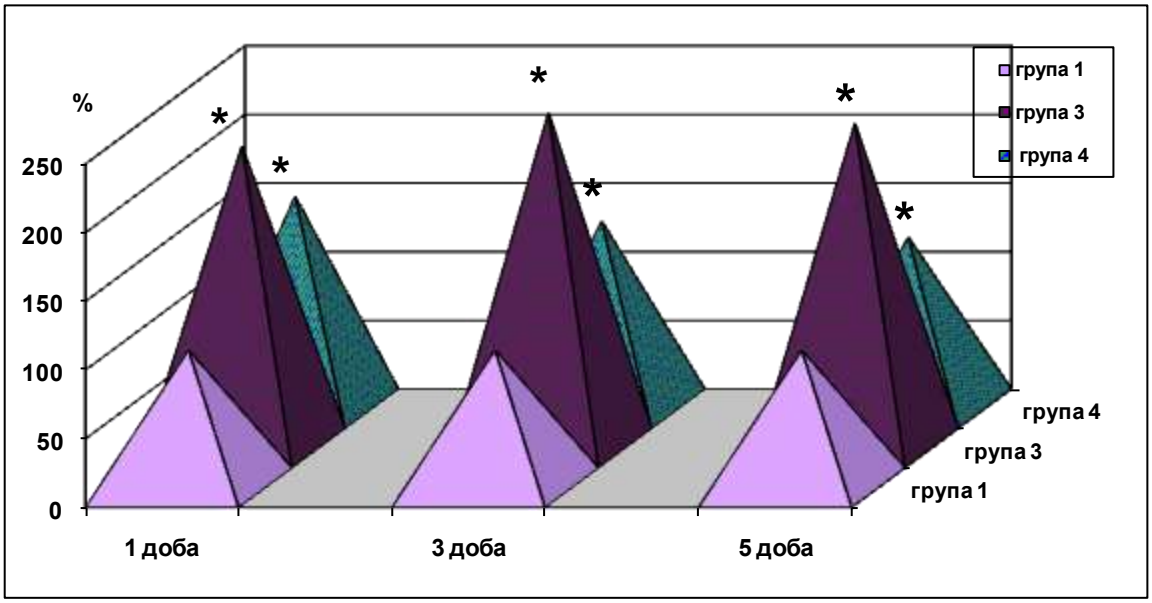

Рис.4.15. Динаміка змін ЕІІ у крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

З одержаних результатів видно, що при введенні тіотриазоліном вже на 3-тю добу експерименту еритроцитарний індекс інтоксикації знизився на 44 % ($p<0,001$) від рівня уражених тварин.

Найкращий ефект при застосуванні даного середника для корекції спостерігався на 5-ту добу з моменту припинення введення токсинів. У цю добу ЕІІ знизився на 47,2 % ($p<0,001$) від рівня уражених тварин.

4.5 Вплив тіотриазоліну на стан плазматичних мембран у тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації

Введення тіотриазоліну позитивно впливало на зміни ще одного органоспецифічного ферменту АлАТ. Як видно з нижче наведених даних (табл. 4.6), ферментативна активність АлАТ в крові тварин уражених парацетамолом після 7-ми денного уведення натрій нітриту під впливом тіотриазоліну зазнала змін у бік зниження.

Активність ферменту в сироватцікрові лінійно зменшувалася впродовж усього експерименту. Активність АлАТ максимально знизилась (рис. 4.16) на 3-тю добу і становила відповідно 78 % ($p<0,001$) у порівнянні з ураженими тваринами, що, очевидно, свідчить про зменшення ступеня синдрому ендогенної інтоксикації, та часткового відновлення функцій і цілісності сироваткатичних мембран гепатоцитів.

На пригнічення цитолітичних процесів у гепатоцитах під впливом тіотриазоліну вказує також зменшення активності АсАТ в сироватці крові. Максимальні зміни зафіксовано на 1-шу добу експерименту коли ензимна активність становила 72 % ($p<0,001$) порівняно з показником уражених тварин (рис.4.17). Аналогічні зміни відбувались і у гомогенаті печінки (рис. 4.18).

Таблиця 4.6

Активність АлАТ та АсАТ в сироватці крові щурів з токсичним ураженням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації та за корекції тіотриазоліном, (M±m)

Показник	Біологічна рідина	інтактні n=10	Група тварин					
			Уражені парацетамолом та нітритами			Корекція тіотриазоліном		
			1 доба n=7	3 доба n=8	1 доба n=7	3 доба n=8	1 доба n=7	3 доба n=8
АлАТ, Од/л	Сироватка крові	33,15±6,54	96,52±2,95 p_1<0,001	100,42±3,38 p_1<0,001	77,52±3,44 p_1<0,001	87,23±4,03 p_1<0,001 p_2>0,05	78,22±4,33 p_1<0,001 p_2<0,001	86,2±2,01 p_1<0,001 p_2>0,05
АлАТ, ммоль/(кг · год)	Гомогенат печінки	1,648±0,021	0,203±0,020 p_1<0,001	0,068±0,019 p_1<0,001	0,047±0,013 p_1<0,001	0,673±0,022 P_2<0,001	0,648±0,020 P_2<0,001	0,788±0,018 P_2<0,001
АсАТ, Од/л	Сироватка крові	73,27±4,63	173,92±6,83 p_1<0,001	151,37±13,95 p_1<0,001	127,67±2,23 p_1<0,001	124,52±7,37 p_1<0,001 p_2<0,001	150,13±9,79 p_1<0,001 p_2>0,05	140,35±1,95 p_1<0,001 p_2<0,002
АсАТ, ммоль/(кг · год)	Гомогенат печінки	1,790±0,017	0,047±0,012 p_1<0,001	0,057±0,008 p_1<0,001	0,052±0,011 p_1<0,001	0,788±0,018 p_1<0,001 p_2<0,001	0,817±0,007 p_1<0,001 p_2<0,001	0,795±0,014 p_1<0,001 p_2<0,001
ЛФ, мккат/л	Сироватка крові	21,62±0,07	41,66±3,28 p_1<0,001	43,78±2,12 p_1<0,001	40,25±3,21 p_1<0,001	37,42±2,17 p_1<0,001 p_2<0,001	32,85±0,12 p_1<0,001 p_2<0,001	26,64±0,11 p_1<0,001 p_2<0,001

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей у порівнянні з тваринами, ураженими парацетамолом та нітритами.

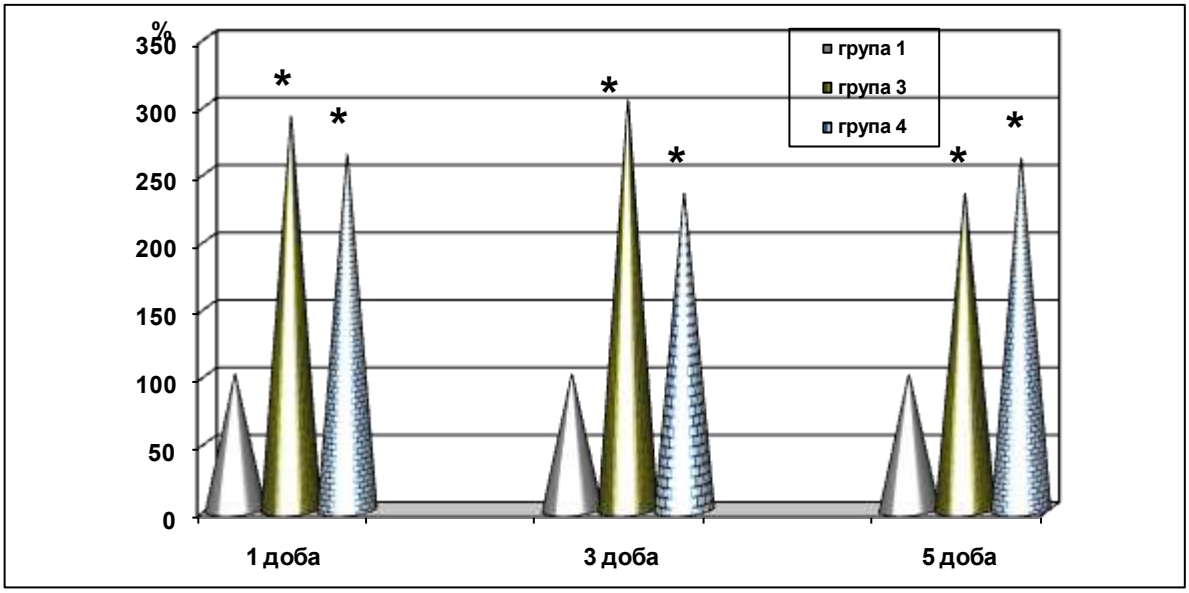

Рис. 4.16. Зміна активності АлАТ в сироватці крові у щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

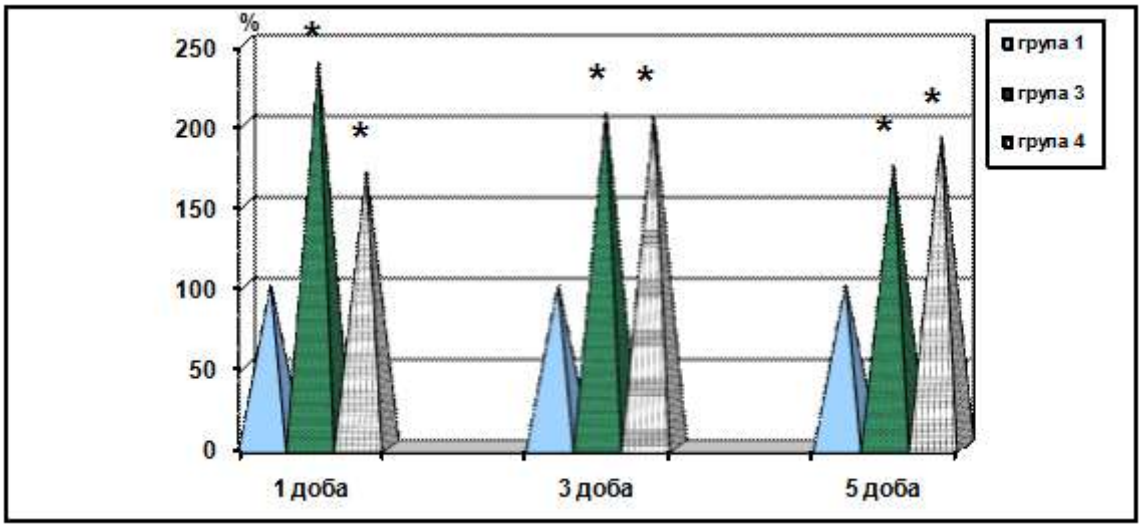

Рис. 4.17. Зміна активності АсАТ в сироватці крові у щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

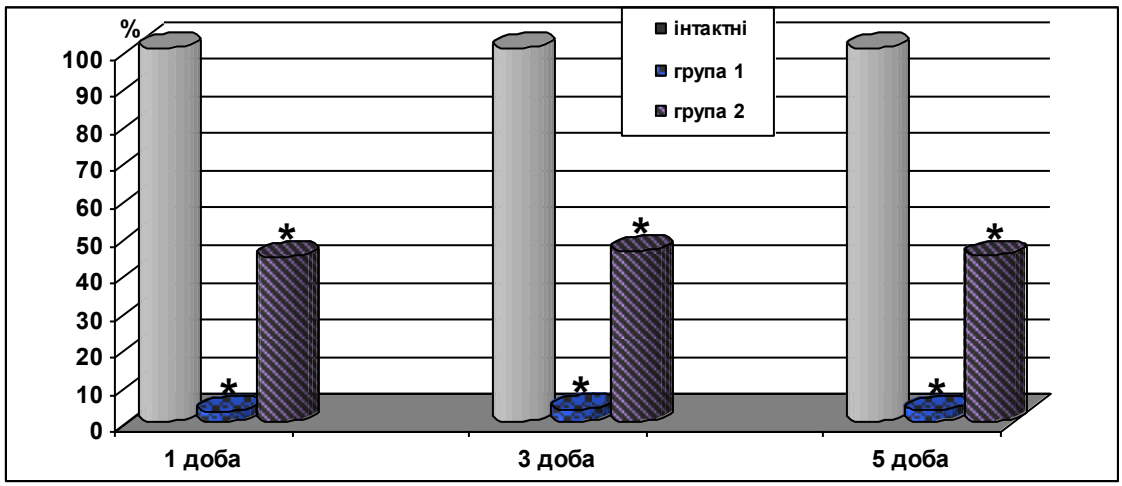

Рис. 4.18. Зміна активності АсАТ в гомогенаті печінки у щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

Показники лужної фосфатази також змінювались (рис. 4.19) протягом всього експерименту. В групі обстежуваних за корекції тіотриазоліном на 3-тю добу становили 152 % (p<0,001), на 5-ту добу-123 % (p<0,001) від рівня інтактних,і були статистично достовірними.

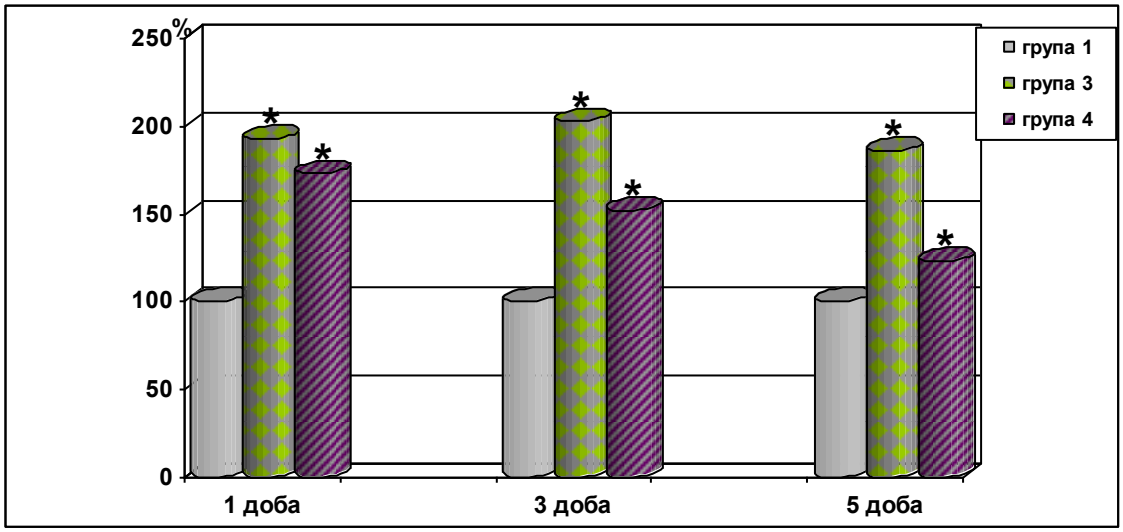

Рис. 4.19. Зміна активності ЛФ в сироватці крові у щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

4.6 Вплив тіотриазоліну на процеси енергозабезпечувального окиснення у печінці тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації

Нашим завданням було дослідження активності ферментів, які забезпечують процеси тканинного дихання та окиснювального фосфорилювання у мітохондріях, виділених з печінки уражених тварин, яким проводилась корекція тіотриазоліном. Із представлених у табл. 4.7 результатів видно, що препарат сприяє вірогідному ($p<0,001$) підвищенню активності СДГ у піддослідних тварин (рис. 4.20). Це може свідчити про переважання у енергетиці гепатоцитів використання в якості субстрату бурштинової кислоти як альтернативного джерела тканинного дихання, окиснення якого не залежить від співвідношення окисненої та відновленої форм нікотинамідних коферментів.

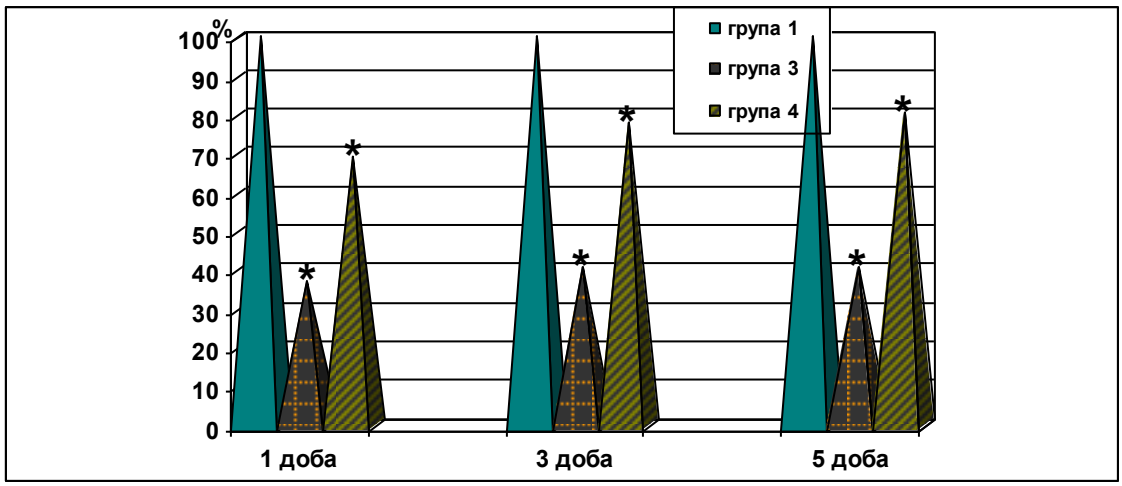

Рис. 4.20. Динаміка активності СДГ у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

Вірогідно під впливом тіотриазоліну зростала активність цитохромоксидази. До закінчення експерименту цитохромоксидазна активність

у печінці білих щурів становила 187 % (p<0,001) відносно показника групи тварин, уражених парацетамолом на фоні нітритної інтоксикації.

Таблиця 4.7

Активність мітохондріальних ферментів у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації та за корекції тіотриазоліном, (M±m)

Показник	інтактні n=10	Група тварин					
		Уражені парацетамолом та нітритами			Уражені парацетамолом та нітритами		
		1 доба n=7	3 доба n=8	5 доба n=8	1 доба n=8	3 доба n=8	5 доба n=8
СДГ, ммоль/(кг×хв)	8,82 ± 0,19	3,26±0,15 p_1<0,001	3,59±0,11 p_1<0,001	3,57±0,17 p_1<0,002	6,34±0,16 p_1<0,001 p_2<0,001	7,18±0,19 p_1<0,001 p_2<0,001	7,42±0.24 p_1<0,002 p_2<0,001
ЦХО, ммоль/(кг×хв)	9,06 ± 0,11	3,90±0,21 p_1<0,001	2,84±0,11 p_1<0,001	4,03±0,20 p_1<0,001	6,52±0,18 p_1<0,001 p_2<0,001	7,46±0,20 p_1<0,001 p_2<0,001	7,54±0.21 p_1<0,001 p_2<0,001
H^+-АТФ-аза ммоль/(кг×хв)	345,0 ± 13,4	825,2±8,2 p_1<0,001	633,8±9,3 p_1<0,001	375,4±8,3 p_1<0,001	558,3± 12,1 p_1<0,001 p_2<0,001	436,3± 11,7 p_1<0,001 p_2<0,001	368,5± 12,4 p_1<0,001 p_2<0,001

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей у порівнянні з тваринами, ураженими парацетамолом та нітритами.

Активність протонної АТФ-ази за умови застосування тіотриазоліну вірогідно знижувалась у порівнянні з ураженими щурами в усі терміни експерименту (рис. 4.21). На 1-шу та 3-тю добу вона становила відповідно 32,3 та 31,2 % (p<0,001) від рівня ураженої групи тварин парацетамолом та натрій нітритом. До п’ятої доби показники практично досягли рівня інтактних тварин.

Отже, застосування тіотриазоліну спричиняло відновлення активності ферментних систем, котрі забезпечують окиснення субстратів, транспорт електронів дихальним ланцюгом та перетворення трансмембранного потенціалу у енергію макроергічних зв’язків, сприяло нормалізації показників

поглинання кисню та поліпшенню енергозабезпечення уражених парацетамолом на фоні нітритної інтоксикації, мітохондрій гепатоцитів.

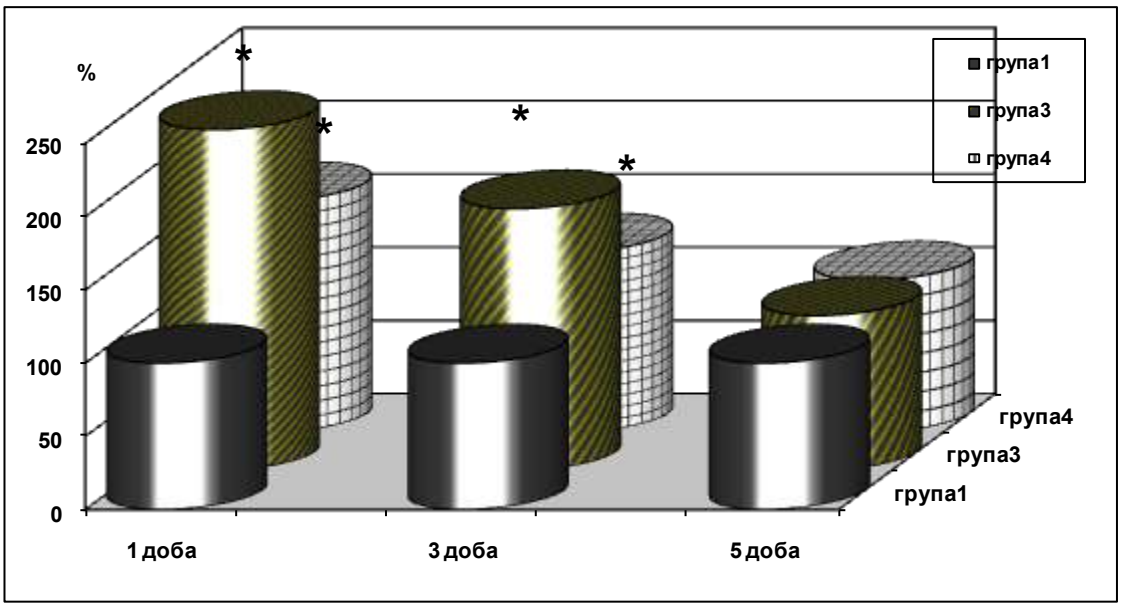

Рис. 3.21. Активність H^+-АТФ-ази у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

4.7 Корекція тіотриазоліном окиснювальних процесів у мікросомах щурів з токсичним ураженням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації

Із результатів, наведених у табл. 4.8, видно, що швидкість N-деметилювання ДМА та р-гідроксилювання аніліну зростала під впливом тіотриазоліну. Найкращий результат від його застосування ми отримали на 3-тю та 5-ту доби експерименту для N-деметилазної активності, яка була лише на 10 % ($p>0,05$) нижчою від норми, а на 1-шу добу даний показник зріс на 24 % ($p<0,01$) порівняно з показником у тварин, уражених ксенобіотиками (рис. 4.22).

Пара-гідроксилазна активність при застосуванні корегуючого чинника також зазнавала змін і її показник зріс у 1,3 раза ($p<0,01$) на 1-шу та 5-ту доби

експерименту та в 1,4 (p<0,001) раза на 3-тю добу відносно показника тварин III групи (рис. 4.23).

Таблиця 4.8

N-деметилазна та р-гідроксилазна активність у мікросомах печінки щурів з токсичним ураженням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації та за корекції тіотриазоліном, (M±m)

Показник	Ітактні n=10	Група тварин					
		Уражені парацетамолом та нітритами			Корекція тіотриазоліном		
		1 доба n=7	3 доба n=8	5 доба n=8	1 доба n=8	3 доба n=8	5 доба n=8
N-деметилазна активність, ммоль/ (кг×хв)	2,29± 0,03	1,53± 0,07 p_1<0,001	1,39± 0,06 p_1<0,001	1,92 ±0,09 p_1<0,01	1,9± 0,09 p_1<0,01 p_2<0,01	2,05± 0,11 p_1>0,05 P_2<0,001	2,15± 0,09 p_1>0,05 p_2>0,05
Пара-гідроксилазна активність ммоль/ (кг×хв)	0,33± 0,02	0,19± 0,01 p_1<0,001	0,18± 0,01 p_1<0,001	0,21± 0,01 p_1<0,001	0,24± 0,01 p_1<0,01 p_2<0,01	0,25± 0,01 p_1<0,01 P_2<0,01	0,28± 0,01 p_1<0,05 p_2<0,001
Тіопенталовий сон (хв.)	89,2± 3,0	132,7± 5,0 p_1<0,001	144,2± 5,9 p_1<0,001	139,3± 4,3 p_1<0,001	108,8± 5,6 p_1<0,02 p_2<0,01	106,3± 9,8 p_1>0,05 p_2<0,01	99,7± 5,4 p_1>0,05 p_2<0,001

Примітки:
1. p_1 – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей у порівнянні з тваринами, ураженими парацетамолом та нітритами.

При дослідженні тривалості тіопенталового сну ми отримали результати, які корелюють із показниками функціонування мікросом (табл. 4.7). Введення тіотриазоліну на першу добу експерименту призводило до зниження показника на 18 % (p<0,01), на 3-тю та 5-ту доби – на 26 (p<0,01) і 28 % (p<0,001) стосовно показників уражених тварин. Порівняно із здоровими тваринами тривалість тіопенталового сну на 3-тю та 5-ту добу вірогідно (p>0,05) не відрізнялася.

Таким чином, застосування тіотриазоліну мало сприятливий вплив на функціональну активність систем окиснення у мікросомах печінки щурів, уражених парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації.

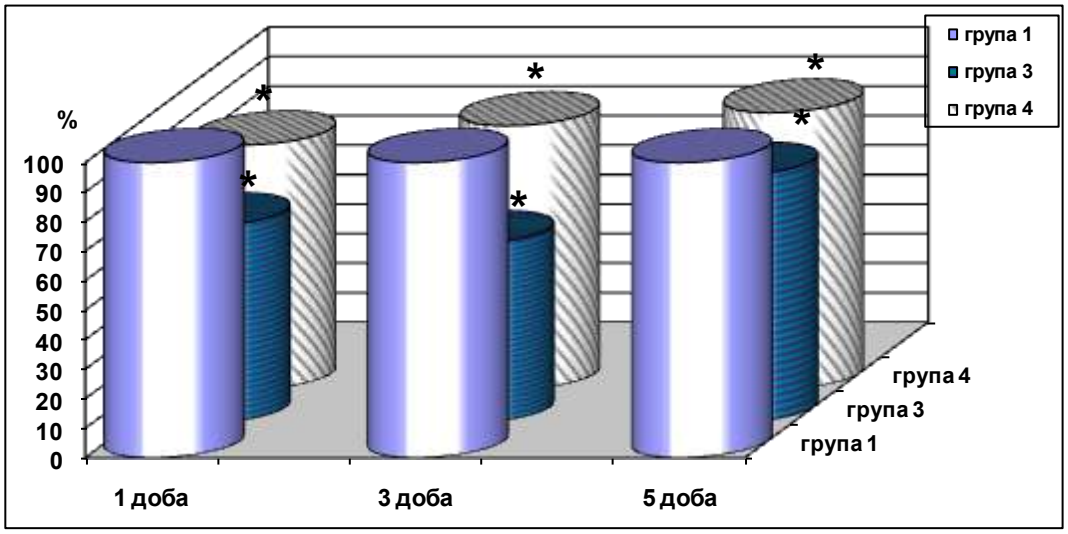

Рис. 4.22. Зміна N деметилазної активності у щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

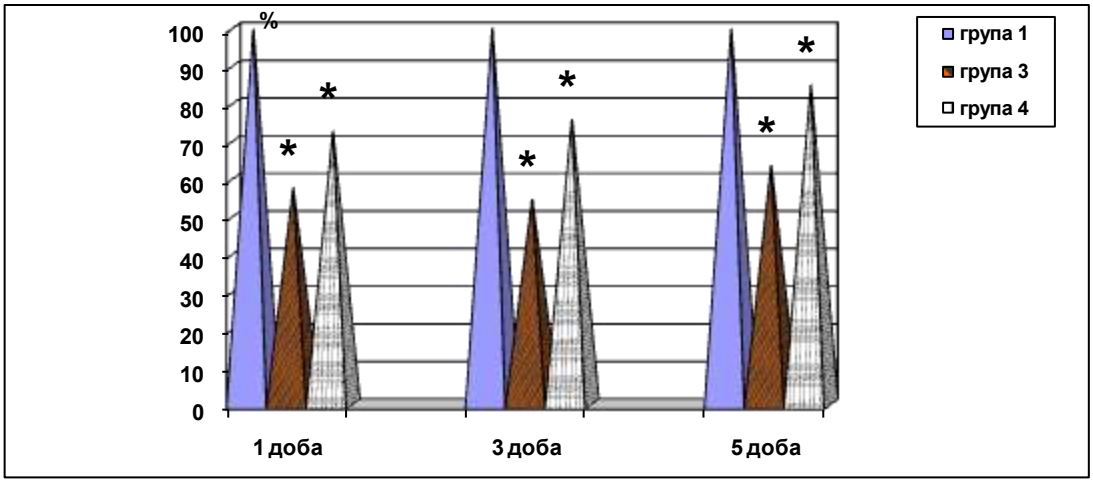

Рис. 4.23. Зміна р-гідроксилазної активності у печінці щурів з токсичним ураженням парацетамолом після попереднього 7-ми денного уведення натрій нітриту і за корекції тіотриазоліном.

Узагальнюючи результати розділу, можна зробити такі висновки:

1. Застосування тіотриазоліну мало інгібуючий вплив на інтенсивність пероксидації ліпідів і білків. Одним з ймовірних механізмів зниження інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення може бути нормалізація тіотриазоліном активності антиоксидантної системи захисту.

2. Уведення тваринам з гострим отруєнням парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації тіотриазоліну сприяло відновленню активності

органоспецифічних ферментів, функції і структури плазматичних мембран та мембран органел. Введення тіотриазоліну суттєво покращило стан детоксикуючої системи та сприяло зменшенню токсичного синдрому.

3. Застосування тіотриазоліну спричиняло відновлення активності ферментних систем, котрі забезпечують окиснення субстратів, транспорт електронів дихальним ланцюгом та перетворення трансмембранного потенціалу у енергію макроергічних зв'язків, сприяло нормалізації показників поглинання кисню та поліпшенню енергозабезпечення гепатоцитів, уражених парацетамолом на фоні нітритної інтоксикації.

Результати розділу опубліковані у наукових працях автора:

1. Пацкань Л. О. Показники енергозабезпечення у тварин з токсичним ураженням парацетамолом на тлі тривалої дії натрій нітриту і корекції тіотриазоліном / Л. О. Пацкань, І. М. Кліщ // Практична медицина. – 2012. – Т. XVIII, № 5. – С. 39–43.

2. Пацкань Л. О. Метаболічні порушення у тварин за умов гострого отруєння парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації та їх корекції тіотриазоліном / Л. О. Пацкань, І. М. Кліщ // Клінічна та експериментальна патологія. – 2012. – Т. XI, № 4 (42). – С. 105–109.

3. Пацкань Л. О. Вплив тіотриазоліну на процеси вільнорадикального окиснення білків сироватки крові та печінки щурів при гострому отруєнні парацетамолом на тлі нітритної інтоксикації / Л. О. Пацкань // Медична хімія. – 2012. – Т. 14, № 4. – С. 125–129.

4. Пацкань Л. А. Влияние тиотриазолина на метаболические нарушения у животных при острых отравлениях парацетамолом на фоне интоксикации нитритов / Л. А. Пацкань // Экология Центрально-Черноземной области Российской Федерации. – 2012. – № 2 (29). – С. 195–200.

5. Погорецька Х. В. Вплив тіотриазоліну на показники антиоксидантної системи у щурів з гострим парацетамоловим гепатитом / Х. В. Погорецька, Л. О. Пацкань // Здобутки клінічної та експериментальної медицини : підсумкова науково-практична конференція, 17 квітня 2012 р. : зб. матеріалів конф. – Тернопіль, 2012. – С. 206.

РОЗДІЛ 5
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Інтенсивний розвиток промислового виробництва, хімізація побуту, часте, а іноді й безконтрольне вживання лікарських засобів, які мають гепатотоксичну дію, зловживання алкогольними напоями, забруднення довкілля та ряд інших факторів – супутників цивілізації, спричиняють значне навантаження на печінку, в якій з високим ступенем інтенсивності здійснюються процеси детоксикації ендо-, та екзогенних токсикантів, що відіграє основну роль у підтриманні гомеокінезу [65]. Цим пояснюється постійне зростання токсичних уражень печінки та пригнічення функціональної активності органа, що спричиняє погіршення перебігу патологічних процесів у ньому за умови дії інших патогенних чинників.

Хвороби печінки та системи жовчовиділення складають біля 40 % нозологічних форм, що відносяться до патології травної системи [14]. Значну кількість серед них займають токсичні ураження і цей показник не має тенденції до зниження. І хоча розшифруванню патогенетичних механізмів цих процесів на клітинному і молекулярному рівнях присвячена значна кількість робіт вітчизняних та зарубіжних учених, необхідність подальших досліджень у цьому напрямку очевидна, оскільки багато питань залишаються не вивченими, фрагментарними, а іноді дослідники наводять прямо протилежні результати. Саме тому, як вказує ряд гепатологів [16, 28, 50], актуальним на сьогодні є створення єдиної теоретичної концепції, в рамках якої можна було б пояснити основні закономірності розвитку хімічних уражень, в тому числі й печінки.

З літературних джерел відомо, що патологічний процес, який розвивається у печінці в результаті надходження в організм гепатотоксичних ксенобіотиків, характеризується порушенням структурно-функціональних особливостей гепатоцитів, дискоординацією ферментних систем, порушенням активності оксидаційних процесів [47], проте вираженість цих змін залежить

від цілого ряду факторів – природи ксенобіотика, дози, способу поступлення в організм, що вимагає подальших досліджень.

Серед побічних ефектів лікарських засобів медикаментозні ураження печінки посідають провідне місце. Вказується, що понад 1000 фармакологічних середників, здатні спричиняти пошкоджувальний вплив на печінку, серед них більше 200 є потенційно гепатотоксичними речовинами [99]. Згідно зі статистикою, в США у 2-5 % хворих, що поступили в клініку з приводу жовтяниці, у подальшому діагностується медикаментозне ураження печінки, а від 15 до 30 % випадків фульмінантної печінкової недостатності і близько 40 % випадків гострого гепатиту в осіб похилого і старечого віку пов’язані із застосуванням ліків [164, 202].

У різних країнах світу частота медикаментозних уражень печінки неоднакова і залежить від структури споживання ліків. Так, у Росії гострі ураження печінки медикаментозного ґенезу виявляються у 2,7 % госпіталізованих хворих і частіше за все пов’язані з протитуберкульозними, антибактерійними препаратами, анальгетиками, гормональними, цитостатичними, антигіпертензивними і антиаритмічними засобами [22]. У Великобританії перше місце в етіології фульмінантної печінкової недостатності посідає парацетамол, витіснивши на друге місце гострі вірусні гепатити [163]. У цій країні щорічно гострі отруєння парацетамолом, що потребують госпіталізації, реєструються з частотою 200 на 100000 населення, в Ізраїлі – 57, у США – 29 [165, 171]. Більшість токсичних уражень печінки має прихований перебіг, клінічно їх важко відрізнити від інших захворювань цього органа. Якщо медикаментозні ураження печінки вчасно не діагностовані і прийом гепатотоксичного медикамента триває, тяжкість ураження багаторазово зростає [176, 185]. Летальність при токсичних гепатопатіях досягає 5 % [168], а при отруєннях парацетамолом навіть у невисоких дозах (4-12 г) – 19 % [184].

Печінка є головним органом метаболізму ксенобіотиків і схильна до їх токсичного впливу. Окиснювальний метаболізм речовин каталізується цитохром Р450-залежною монооксигеназною системою та іншими ферментами

[167]. Цитохром Р-450 представлений набором білків (більше 100 родин), близьких за будовою, але різних за субстратною специфічностю [78]. Залежно від ступеня окиснення багато ксенобіотиків, первинно нетоксичних для печінки, здатні перетворюватися на токсичні метаболіти [146]. В реакціях другої фази утворені метаболіти кон'югуються з ендогенними молекулами, що призводить до зменшення токсичності, підвищення водорозчинності і полегшує виведення ксенобіотиків нирками [12, 35, 36, 37].

Багато ксенобіотиків (барбітурати, антиконвульсанти, анальгетики, деякі психотропні засоби, антибіотики, протигрибкові, гіполіпідемічні, антигістамінні препарати тощо) здатні посилювати синтез ферментів, що беруть участь у метаболічних процесах [21]. Хоча індукція має пристосувальне значення і спрямована на якнайшвидше видалення ксенобіотика з організму, можливі і інші варіанти, а саме утворення значно більшої кількості токсичних метаболітів індукованими ферментами.

Більшість ксенобіотиків викликають загибель клітин за механізмами некрозу і апоптозу, що, зокрема, показано на прикладі парацетамолу, а співвідношення між цими процесами визначається дозою, застосуванням протекторів та іншими факторами [26, 27]. Запускають ці механізми активні форми оксисену, які можуть з'являтися як продукт каталітичного циклу цитохрому Р-450, NADPH-редуктази, синтетази оксиду нітрогену та інших ензимних процесів, або внаслідок участі семіхінонових метаболітів ксенобіотиків в реакціях одноелектронного переносу з оксигеном [33, 35, 36, 37, 38], а також внаслідок активації макрофагів ксенобіотиками, що, зокрема, має місце для парацетамолу [39, 40].

Крім наведених вище, механізм токсичної дії ряду ксенобіотиків може бути пов'язаним з утворенням високореакційних метаболітів [8, 12, 41]. Зокрема, цитохром Р450-залежне окиснення ряду ксенобіотиків призводить до утворення електрофільних інтермедіатів, що утворюють ковалентні аддукти з тіолами мембранних білків, які регулюють гомеостаз кальцію. Неконтрольоване зростання рівня внутрішньоклітинного кальцію веде до

загибелі клітини. Залежно від дози ксенобіотика, некроз гепатоцитів може проявлятися від безсимптомного підвищення активності сироваткових трансаміназ до печінкової недостатності. Відомим прикладом є дозозалежний некроз печінки, викликаний парацетамолом [8, 12, 42, 43]. Метаболізм препарату включає його окиснення лізоформами цитохрому Р-450 – $2E_1$, 1А2 і 3А, його глюкуронування або сульфатацію і кон'югацію з глутатіоном його електрофільного інтермедіата – N-ацетил-р-бензохіноніміну. У нормі активність глюкуроніл- і сульфотрансфераз досить висока і лише невелика частина парацетамолу метаболізується цитохромами Р-450. Якщо кількість препарату перевищує ємність цих ферментів, активний метаболіт N-ацетил-р-бензохінонімін ковалентно зв'язується з макромолекулами клітини, порушуючи функції мітохондрій і ядра. Кон'югація з глутатіоном сприяє перетворенню метаболіта в нетоксичний продукт – меркаптурову кислоту, яка екскретується нирками. При передозуванні парацетамолу або підвищеної чутливості у окремих осіб (обумовленої індукцією цитохрому Р-450, виснаженням відновленого глутатіону, ослабленням глюкуронування і сульфатації), системи детоксикації вичерпуються, і N-ацетил-р-бензохінонімін проявляє шкідливу дію. Ще один шлях реалізації токсичності парацетамолу полягає в активації утворення активних форм оксигену та монооксиду нітрогену [29, 35, 39].

Токсичні ушкодження печінки мають певні топографічні особливості, що відображає структурну і функціональну неоднорідність цього органа. У першій зоні ацинуса гепатоцити прилягають до портального тракту й отримують більше оксигену і поживних речовин, в порівнянні з гепатоцитами другої і, особливо, третьої зони [11]. Перипортальні гепатоцити (зона 1) містять більше мітохондрій і в них інтенсивніше перебігають метаболічні процеси. У перивенозних гепатоцитах (зона 3) більшою мірою представлені процеси окисного метаболізму ксенобіотиків при відносному дефіциті антиоксидантних і кон'югучих ферментів. Внаслідок цього в гепатоцитах зони 3 утворюється більша кількість реакційноздатних метаболітів і вони гірше знешкоджуються. Тому пошкодження печінки ксенобіотиками, як втім і запальне, ішемічне,

вірусне ушкодження, частіше мають центролобулярну локалізацію, зачіпаючи гепатоцити перивенозної зони [3, 12, 51]. Переважно центролобулярне ураження викликають більшість класичних гепатотоксинів: тетрахлорметан, хлороформ, галоман отщо [2, 52].

З літератури відомо, що полютанти, потрапляючи в організм, негативно впливають на метаболічні процеси та стан систем життєзабезпечення, спричиняють оксидаційий стрес, викликають імунодефіцит, порушення детоксикуючої функції печінки, пошкодження органів, тканин і організму в цілому. Крім того, екзотоксикози, спричинені різними ксенобіотиками, характеризуються неспецифічним синдромом ендогенної інтоксикації, який не лише супроводжує гостру і хронічну патологію, але й сам є важливим фактором їх патогенезу, визначає перебіг та наслідки захворювання [132]. Тому вивчення механізмів захисту організму від впливу хімічних речовин має велике значення для медицини та біології.

Зростання обсягів використання мінеральних добрив, зумовило різке зростання в останні роки залишкової кількості нітратів та нітритів у довкіллі, а в кінцевому результаті – збільшення нітритного навантаження на людину. Солі нітратної кислоти є достатньо токсичними сполуками, які здатні вступати в природний цикл нітрогену [125]. Беручи участь в різноманітних біохімічних реакціях, нітросполуки підлягають подальшим перетворенням, в результаті яких утворюються нові речовини, в тому числі реакційно здатні вільні радикали: диоксид нітрогену (NO_2) і монооксид нітрогену (NO) [30, 115]. Можливі два шляхи токсичної дії солей нітратної кислоти при їх надходженні в організм – метгемоглобіноутворення та зміна стаціонарних концентрацій фізіологічних радикальних метаболітів O_2^-, $O^{\cdot}H$, $HO_2^{\cdot}$ [7, 11, 28, 145, 156]. Останні мають виразний активуючий вплив на метаболічні процеси, взаємодіючи з SH-групами білків, відновленими формами коферментів, поліненасиченими біологічно активними сполуками, викликають їх оксидацію, що супроводжується втратою чи порушенням їхньої функції [78].

У сучасній літературі достатньо широко висвітлені особливості, характер та механізм взаємодії зазначених вище речовин за одномоментного та послідовного надходження в організм [3, 9, 36, 65, 85, 102, 142, 156, 203, 209, 218]. Однак майже відсутні відомості про вплив складних багатокомпонентних комбінацій зазначених ксенобіотиків. Крім цього, накопичена інформація недостатня для прогнозування наслідків їх дії на рівні порогових та допорогових доз, під впливом яких знаходиться сучасна людина. Труднощі такого прогнозування пов’язані з рядом причин, в тому числі особливостями біотрансформації екзогенних хімічних речовин в організмі та неоднозначною роллю в цих процесах мікросомальних монооксигеназ, навіть коли відомі молекулярні механізми токсичності окремих хімічних речовин [26, 32, 77, 85, 92, 110, 125].

Важливим, на наш погляд, є вивчення особливостей токсичного впливу ксенобіотиків у динаміці, що дає змогу прогнозувати перебіг патологічного процесу та дозволяє вивчити ефективність застосовування методів корекції на різних етапах розвитку інтоксикації.

Таким чином, наявні в літературі дані з досліджуваних питань часто розрізнені, не систематизовані, не враховують багатьох аспектів вирішуваної проблеми. Вирішення цих питань буде сприяти впровадженню в токсикологію нових підходів до терапії токсичних уражень за умови комбінованої дії ксенобіотиків.

Одним із провідних механізмів патологічних змін в печінці за дії пошкоджувальних чинників різної етіології є активація процесів ліпідної і білкової пероксидації. Надмірне утворення вільних радикалів, що має місце в цих умовах, спричиняє пошкодження ліпідних компонентів біологічних мембран, порушення структур сполучної тканини, прямого пошкоджувального впливу на внутрішньоклітинні структури гепатоцитів, порушення ферментних структур клітин [134].

Антиоксидантна система, що протистоїть впливу вільних радикалів, за умов ушкодження печінки перебуває у пригніченому стані, зменшується й

надходження природних антиоксидантів із їжею внаслідок порушення процесів травлення і всмоктування в шлунково-кишковому тракті. Антиоксиданти, що є біорегуляторами гомеостазу, мають відігравати важливу роль у терапії гепатитів. До синтетичних гепатопротекторів, що мають антиоксидантну дію, належить і вітчизняний препарат тіотриазолін. В експериментальних та клінічних дослідженнях було доведено, що препарат має регулюючий вплив на білковий, ліпідний, вуглеводний, енергетичний обмін, сприяє збереженню АТФ в тканинах, має виражену антиоксидантну активність, імуномоделюючу дію, підвищує реологічні властивості крові [7]. Широкий спектр дії препарату, антиоксидантна, мембраностабілізуюча, протиішемічна, імуномодулююча, протизапальна, стимулююча регенерацію клітин активність тіотриазоліну дозволили випробувати його в гепатології [2].

В останні роки експериментально підтверджено ефективність застосування тіотриазоліну при різноманітних ураженнях печінки (тетрацикліновому, ізоніазидному, рифампіциновому, доксорубіциновому, алкогольному, тетрахлорметановому тощо) завдяки антиоксидантному впливу, запобіганню проявам цитолізу [6, 14, 15, 16].

Виходячи з наведеного вище, ми поставили собі за мету з’ясувати патогенетичні особливості перебігу гострого отруєння парацетамолом за умов попереднього протягом 7-ми діб уведення натрій нітриту, а також встановити ефективність корекції цих порушень тіотриазоліном.

Для досягнення поставленої мети ми оцінювали активність процесів ліпідної і білкової пероксидації за концентрацією дієнових кон’югатів, ТБК-активних продуктів, окиснено-модифікованих білків, стан ферментної і неферментної ланок антиоксидантної системи за активністю супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, відновленого глутатіону, стан енергозабезпечувального окиснення за активність сукцинатдегідрогенази, цитохромоксидази, протонної АТФ-ази, стан детоксикуючої системи за тривалість тіопенталового сну, N-деметилазною і пара-гідроксилазною активність, вираженість синдрому ендогенної інтоксикації

за еритроцитарним індексом інтоксикації, концентрацією молекул середньої маси, а також стан плазматичних і субклітинних мембран за активністю аланін- і аспартаттрансферази, лужної фосфатази.

Отримані в результаті проведених досліджень показники вказують, що гостре отруєння парацетамолом після попереднього уведення натрій нітриту протягом 7-ми діб супроводжувалося достовірним, як по відношення до інтактних тварин, так і до тварин II групи, зростанням концентрації початкових продуктів ліпідної пероксидації – дієнових кон'югатів. Найвищі показники в сироватці крові спостерігались на 3-тю добу – 253 % ($p<0,001$), а в гомогенаті печінки – 278 % ($p<0,001$) від рівня інтактних тварин.

Ми провели також дослідження, в яких визначали інтенсивність нагромадження ТБК-активних продуктів у сироватці крові і тканині печінки дослідних тварин. В групі уражених парацетамолом ТБК-активні продукти в сироватці крові максимуму сягнули на 5-ту добу, що становило 285 % ($p<0,001$), на 1-шу і 3-тю доби зміни були меншими – відповідно 148 та 254 % ($p<0,001$). В гомогенаті печінки на 3-тю та 5-ту доби показник підвищився до 254 та 202 % ($p<0,001$). У групі тварин, яким ураження парацетамолом моделювали після попереднього 7-ми разового уведення натрій нітриту зміни були більш вираженими. У сироватці крові нами відмічено зростання вмісту продуктів, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою у 1,5 раза на 1-шу та 5-ту доби дослідження, що вірогідно вище, ніж у тварин II групи.

Зростання активності вільнорадикального окиснення поліненасичених жирних кислот за попередньої дії натрій нітриту пов'язане, ймовірно, з надмірним утворення пероксинітриту в реакції монооксиду нітрогену, продукту метаболізму нітритів, і пероксиду гідрогену. Пероксинітрит є сильним прооксидантом іздатен ініціювати ланцюгові реакції пероксидації ліпідів.

З літератури відомо [25], що активні форми оксигену, що утворюються в процесі метаболізму ксенобіотиків, зумовлюють не лише пероксидацію ліпідів, але й окиснювальну модифікацію білків. Ми також зафіксували зростання концентрації ОМБ як нейтрального, так і основного характеру, яке було значно

вищим у тварин, яким гостре отруєння парацетамолом моделювали після попереднього уведення натрій нітриту. Спостерігалось лінійне зростання вмісту альдегідо- і кетонопохідних нейтрального та основного характеру протягом всіх днів експерименту. Вже на 1-шу добу з моменту припинення введення ксенобіотиків рівень альдегідо- і кетонопохідних нейтрального та основного характеру в крові уражених тварин сягнув 152 % та 150 % ($p<0,001$) від норми, а в гомогенаті печінки для $ОМБ_{430}$ 139 % ($p<0,001$) відповідно. Але найвищий вміст досліджуваних показників відмічено на 3-тю добу експерименту, що складало відповідно 332 та 380 % ($p<0,001$) від рівня здорових тварин для $ОМБ_{370}$ та $ОМБ_{430}$ у сироватці крові і аналогічно 187 та 353 % ($p<0,001$) у гомогенаті печінки, що вказує на виражену активацію пероксидації не тільки ліпідів, а й білків. Ініціація білкової пероксидації є важливою ланкою токсичного пошкодження клітин через інактивацію цитоплазматичних ферментів та мембранних іонних помп із наступним запуском різноманітних механізмів руйнування клітин. Як відомо, оксинено модифіковані білки зазнають подальшої деградації, що може стати причиною зростання концентрації середньо молекулярних пептидів. Крім того, визначення продуктів деструкції білків є більш надійним маркером пошкодженння тканин, ніж аналітів ліпопереокиснення, оскільки вони більш стабільні порівняно з тими, які утворюються в процесі ліпідної пероксидації.

Отже, ми можемо констатувати, що інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення за дії парацетамолу після 7-ми денного введення натрій нітриту достовірно зростає. Причиною цього може бути як надмірне утворення вільнорадикальних продуктів, так і порушення їх знешкодження антиоксидантною системою. З цією метою ми провели визначення стану ферментної і неферментної ланок антиоксидантної системи.

Отримані нами результати показали, що активність СОД у крові достовірно знижується. Як показали наші дослідження, динаміка активності СОД змінювалась у всіх дослідних групах, найбільш вираженого зниження сягнула в групі з комбінованою інтоксикацією нітритами та парацетамолом.

Так, в крові на 3-тю добу активність СОД максимально знизилась в 1,3 раза ($p<0,001$), на 1-шу та 5-ту доби – в 1,2 раза ($p<0,001$), а у гомогенаті печінки на 3-тю добу – в 1,97 раза, на 1-шу та 5-ту доби – у 2 рази ($p<0,001$) порівняно з аналогічними показниками у тварин II групи. Найбільш ймовірною причиною зниження супероксиддисмутазної активності є вплив пероксинітриту, оскільки відомо, що реагуючи з йонами металів, які входять в склад СОД, він утворює реактивні і високотоксичні йони нітрозонію (NO_2^+), що здатені реагувати з фенольними групами з утворенням нітрофенолів, які мають виражену цитотоксичність.

Для забезпечення повноцінної захисної функції СОД необхідні механізми, які б знешкоджували гідрогену пероксид, оскільки його акумуляція в клітині значно пригнічує активність фермента. Каталізує реакцію розщеплення гідроген пероксиду і, таким чином, разом з СОД ще на стадії зародження блокує ланцюг пероксидного окиснення, фермент каталаза. У групі щурів, яким моделювали гостре отруєння парацетамолом спостерігали достовірне зниження каталазної активності у крові в 1,5 раза ($p<0,01$) на 1-шу, у 2,2 раза – на 3-тю і у 2 рази ($p<0,001$) на 5-ту добу дослідження. За попереднього уведення натрій нітриту спостерігалось значно більше пригнічення ензимної активності у крові – показник становив 28, 31 і 37 % ($p<0,001$) від рівня здорових тварин. Каталазна активність у печінці також вірогідно знижувалась, причому більш виразно у тварин III групи з максимумом на 3-тю добу (показник склав 35 % ($p<0,001$) від норми).

Знижувалась також концентрація мідьвмісного білка церулоплазміну, який є одним із основних антиоксидантів плазми крові. У тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі інтоксикації нітритами вже на 1-шу добу досліду вказаний показник вірогідно зменшувався на 36,6 % ($p<0,001$). На 3-тю добу експерименту рівень ЦП вірогідно відрізнявся від такого ж в контрольній групі і був меншим на 49,8 % ($p<0,001$), а на 5-ту добу експерименту рівень ЦП був меншим відносно контролю на 47,1 % ($p<0,001$). Зважаючи на той факт, що ЦП повністю синтезується мембранозв’язаними полісомами гепатоцитів і

враховуючи гострі некрозо-дистрофічні зміни в печінці, що відбуваються за отруєння піддослідних тварин парацетамолом, ймовірним є зниження його концентрації внаслідок пригнічення синтезу.

Значних змін зазнавала глутатіонова ланка антиоксидантної системи. Зокрема, гостре отруєння парацетамолом після 7-денного застосування натрій нітриту призвело до достовірного зниження глутатіонпероксидазної активності печінки майже у 2 рази ($p<0,001$) на 3-тю добу, а ураженні парацетамолом на 3-тю добу – у 1,5 рази ($p<0,001$), що знов таки, достовірно нижче як від показника здорових щурів.

Аналогічні зміни ми спостерігали і стосовно активності ГП у тварин групи III (зниження відповідно у 1,4 ($p<0,001$) і 1,6 раза ($p<0,01$) на 1-шу та 3-тю доби відносно тварин, уражених парацетамолом).

Таке зниження ензимної активності відобразилось і на концентрації відновленого глутатіону: за умови уведення парацетамолу його концентрація вірогідно зменшувалась на 1-шу та 5-ту доби в 1,2 ($p<0,02$) та 2,3 раза ($p<0,001$) відносно контрольних щурів. У тварин, яким парацетамолу вводили після попередньої інтоксикації натрій нітритом протягом 7-ми діб на 1-шу добу показник знизився на 13,1 % ($p<0,02$), на 3-тю добу – на 18,4 % ($p<0,05$) відносно тварин II групи, і також вірогідно відрізнявся від показника здорових щурів. Результати, отримані нами, узгоджуються з даними інших авторів, які вказують, що за умов токсичного ураження печінки проходить порушення синтезу коферментів глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази, а також зниження вмісту відновленого глутатіону внаслідок деструктивної дії ксенобіотиків на мембрани ендоплазматичної сітки та рибосоми [234]. Зменшення вмісту відновленого глутатіону за ураження печінки парацетамолом також може бути наслідком порушення його синтезу з метіоніну в печінці. Відомо, що процеси біосинтезу цистеїну з метіоніну і глутатіону з цистеїну є АТФ залежними. Під впливом парацетамолу значно порушуються біоенергетичні процеси і зменшується вміст АТФ у печінці, тож правомірно вважати, що порушення мітохондріального окиснення відіграє суттєву роль у

пригнічені системи глутатіонпероксидази. У свою чергу, зниження вмісту відновленого глутатіону суттєво позначається на токсичності парацетамолу, метаболіт якого N-ацетил-бензохінонімін, як відомо, знешкоджується шляхом утворення парних сполук з глутатіоном [221].

Нами досліджувались також показники ендогенної інтоксикації. Зокрема, ми зафіксували зростання еритроцитарного індекса інтоксикації на 5-ту добу у 2,4 раза у тварин 3-ї групи, що достовірно ($p<0,001$) вище від інтактних, а також тварин II групи.

Аналогічні зміни виявлені і стосовно молекул середньої маси, причому зростання зафіксовано як щодо $МСМ_1$ так і $МСМ_2$, що вказує на суттєву деградацію білкових молекул.

Наслідком активації процесів ліпідної пероксидації, є порушення цілісності клітинних мембран і руйнування гепатоцитів. Про це свідчить різке зростання активності амінотрансфераз у плазмі крові. У тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі інтоксикації нітритами спостерігались найбільш виражені зміни активності АлАТ та АсАТ. Активність амінотрансфераз у сироватці крові збільшилась на 41 % ($p<0,01$) (АлАТ) і 39 % ($p<0,001$) (АсАТ) на 5-ту добу експерименту, порівняно з показниками тварин, уражених парацетамолом. Варто відзначити, що активність АсАТ у відсотковому відношенні перевищувала аналогічний показник АлАТ. Значне переважання змін активності АсАТ над АлАТ може бути обумовлене виходом у кров як цитозольного ізоферменту АсАТ, так і мітохондріального, що спостерігається за умов пошкодження не лише плазматичних, а й мітохондріальних мембран, що вказує на руйнування мітохондрій гепатоцитів, Зростала також активність ЛФ, яка є маркером холестазу.

Активність амінотрансфераз у гомогенаті печінки лінійно знижувалася протягом усіх діб експерименту, зокрема на 5-ту добу активність АлАТ зменшилася у 35 разів ($p<0,001$), активність АсАТ – у 9 разів ($p<0,01$) відносно показників у інтактних щурів.

Під впливом парацетамолу на тлі попереднього уведення натрій нітриту знижувалась і активність ферментів енергозабезпечення. За умов гострого ураження тварин парацетамолом активність СДГ була нижчою від норми на 1-шу добу на 50 % ($p<0,001$). На 3-тю та 5-ту доби активність ферменту знижувалася ще більше і становила 49 і 53 % ($p<0,001$) від норми відповідно. У тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі інтоксикації нітритами показник СДГ зазнав ще більших змін. За інтоксикації парацетамолом на фоні введення натрій нітриту активність ЦО зазнавала різкого пригнічення в усі доби експерименту. Так, на 1-шу та 3-тю доби цитохромоксидазна активність у печінці щурів достовірно знижувалась на 38 та 56 % ($p<0,001$), відносно показників у групі тварин уражених парацетамолом. Згідно з отриманими нами результатами активність H^+-АТФ-ази за введення тваринам парацетамолу різко підвищувалася у всі строки дослідження. Таке парадоксальне, на перший погляд, підвищення активності фермента можна пояснити зниженням мембранного потенціалу і оберненням АТФ-синтазної реакції на АТФ-азну, тобто, розпад АТФ тут використовується як джерело енергії для підтримання трансмембранного потенціалу внутрішньої мітохондріальної мембрани на певному критичному рівні.

Спостерігалось пригнічення детоксикуючої функції печінки під впливом парацетамолу на тлі нітритної інтоксикації, яке проявлялось зростанням тривалості тіопенталового сну, – результат негативного впливу ксенобіотиків на мікросомну ферментну систему печінки, що бере участь у біотрансформації токсичних сполук. Це підтвердилось і при проведенні досліджень N-деметилазної та р-гідроксилазної активності. У тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі інтоксикації натрій нітритом вже на 1-шу добу досліду швидкість деметилювання диметиланіліну зменшувалась на 22 % ($p<0,001$) відносно показника тварин, уражених парацетамолом, а на 3-тю добу експерименту – на 26 % ($p<0,02$). На 5-ту добу рівень N-деметилазної активності був меншим на 16 % ($p<0,001$) відносно показника здорових тварин. Пара-гідроксилазна активність вже на 1-шу добу досліду вірогідно

зменшувалась у 1,3 раза ($p<0,05$) відносно показника тварин уражених парацетамолом, та у 1,4 рази на 3-тю добу експерименту.

Використання з метою корекції порушень, викликаних впливом парацетамолу на тлі 7-ми денного уведення натрій нітриту тіотриазоліну позитивно впливало на активність процесів ліпідної пероксидації, зокрема, нами зафіксовано зниження концентрації ДК на 86,7 та 77,9 % ($p<0,001$) від рівня уражених тварин в плазмі крові на 3-тю та 5-ту доби дослідження і ТБК-активних. У плазмі крові показник вірогідно знизився на 1-шу, 3-тю та 5-ту доби експерименту на 19 ($p<0,05$), 26 та на 48 % ($p<0,001$) відповідно, порівняно з аналогічним показником у тварин III групи. У тканині печінки концентрація ТБК-активних продуктів вірогідно знизилась на 21 % ($p<0,001$) через три доби після припинення отруєння тварин і введення їм тіотриазоліну, та на 42 % ($p<0,001$) на 5-ту добу дослідження.

На зменшення інтенсивності пероксидного окиснення білків вказує зниження вмісту ОМБ. Вміст похідних нейтрального характеру у плазмі крові на 1-шу добу експерименту зменшився на 48,5 %, на 3- тю добу – на 53,2 %, а до 5-ї знизилась до 63 %, що вірогідно нижче ($p<0,001$), ніж в уражених тварин, яким корекція не проводилась

Корегувальний вплив тіотриазоліну ми спостерігали і стосовно показників антиоксидантних ферментів першої лінії захисту – СОД і каталази. Вміст ЦП у тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі інтоксикації нітритами за корекції тіотриазоліном був наближеним до рівня інтактних тварин.

За корекції тіотриазоліном наближалась до норми глутатіонпероксидазна і глутатіонредуктазна активність та концентрація відновленого глутатіону, що, ймовірно, зумовлене здатністю тіотриазоліну віддавати свої сульфгідрильні групи, запобігаючи цим надмірному використанню відновленого глутатіону для знешкодження токсичних метаболітів парацетамолу.

При введенні ураженим тваринам тіотриазоліну спостерігалося чітке зниження рівня МСМ у крові протягом усіх діб експерименту, причому на 5-ту

добу показники наближались до рівня інтактних тварин. Про пониження ступеня ендогенної інтоксикації за дії тіотриазоліну вказує і зниження ЕІІ, який до 5-ї доби був меншим на 47,2 % ($p<0,001$) від рівня уражених тварин.

На пригнічення цитолітичних процесів у гепатоцитах під впливом тіотриазоліну вказує зменшення активності АлАТ і АсАТ у плазмі крові. Максимальні зміни зафіксовано на 1-шу добу експерименту коли ензимна активність становила відповідно 78 і 72 % ($p<0,001$) порівняно з показником уражених тварин, а також активність ЛФ. Яка до 5-ї доби на 23 % перевищувала норму.

За коригуючого впливу тіотриазоліну у піддослідних тварин достовірно ($p<0,001$) зросла активність СДГ. Це може свідчити про переважання у енергетиці гепатоцитів використання в якості субстрату бурштинової кислоти як альтернативного джерела тканинного дихання, окиснення якого не залежить від співвідношення окисненої та відновленої форм нікотинамідних коферментів. Зростала також активність цитохром оксидази, яка становила 187 % ($p<0,001$) відносно показника тварин 3-ї групи. Активність протонної АТФ-ази за умови застосування тіотриазоліну достовірно знижувалась порівняно з ураженими щурами в усі терміни експерименту і до п’ятої доби досягла рівня інтактних тварин.

Корекція тіотриазоліном спричинилася до вірогідного зростання швидкості N-деметилювання диметиланіліну та р-гідроксилювання аніліну, а також зниження тривалості тіопенталового сну, що вказує на відновлення детоквикаційної функції печінки. Найкращий результат від його застосування ми отримали на 3-тю та 5-ту доби експерименту для N-деметилазної активності, яка була лише на 10 % ($p>0,05$) нижчою від норми.

Отже, результати проведених нами досліджень вказують на те, що попереднє уведення натрій нітриту протягом 7-ми діб посилює токсичний вплив парацетамолу, на що вказує більш інтенсивна активація ліпідної пероксидації і окислювальної модифікації білків, значніші порушення функціонального стану ферментної і неферментної ланок антиоксидантної

системи, виразніше зростання ендотоксемії, дезінтеграція мембранних структур гепатоцитів. Застосування тіотриазоліну з метою корекції метаболічних порушень, викликаних отруєнням парацетамолом після 7-ми денного введення натрій нітриту, засвідчує перспективність його подальшого дослідження з метою можливого застосування в клініці гепатології для корекції порушень обмінних процесів та послаблення токсичної дії парацетамолу.

ВИСНОВКИ

У дисертації теоретично узагальнено і по-новому вирішено наукове завдання, що знайшло своє відображення у встановленні особливостей перебігу токсичного ураження парацетамолом після 7-ми разового введення натрій нітриту. Це наукове завдання вирішене шляхом експериментального вивчення інтенсивності процесів ліпідної пероксидації і окиснювальної модифікації білків, активності ферментної і неферментної ланок антиоксидантної системи, стану ендогенної інтоксикації, активності ферментів енергозабезпечення та мікросомного окиснення. Запропоновано нові підходи до корекції порушень, викликаних застосованими токсикантами, з використанням тіотриазоліну.

1. Ураження парацетамолом супроводжується вірогідним зростанням інтенсивності вільнорадикального окиснення ліпідів і білків, що підтверджується підвищенням концентрації дієнових кон’югатів, ТБК-активних продуктів, окисно-модифікованих білків у сироватці крові і тканині печінки уражених тварин, а попереднє семиразове уведення натрій нітриту призводить до більшого зростання значень цих показників, що вказує на підсилення ним токсичної дії парацетамолу.

2. За гострого отруєння парацетамолом на тлі 7-ми разового уведення натрій нітриту порушується стан ферментної і неферментної ланок антиоксидантної системи, на що вказує зниження супероксиддисмутазної і каталазної активності в тканині печінки, пригнічення глутатіонової ланки (зниження активності глутатіонпероксидази у 2,5 раза, глутатіонредуктази у 5,2 раза, концентрації відновленого глутатіону у 2,3 раза ($p<0,001$) на 5-ту добу дослідження) по відношенню до інтактних тварин.

3. Попереднє 7-ми денне уведення натрій нітриту призводить до достовірного пригнічення процесів енергозабезпечення гепатоцитів, викликаних отруєнням парацетамолом, на що вказує зниження в тканині печінки сукцинатдегідрогеназної активності на 26 %, цитохромоксидазної

активності на 56 % ($p<0,001$) і зростання H^+-АТФ-азної активності в 1,8 раза від рівня тварин, яким вводили парацетамол у дозі 1250 мг/кг.

4. Гостре отруєння парацетамолом, а особливо на фоні 7-ми денного введення натрій нітриту призводить до порушення цілісності мембран гепатоцитів і виходу в кров внутрішньоклітинних ферментів – АлАТ, АсАТ і лужної фосфатази, активність яких у сироватці крові перевищувала норму у 3,1 раза (АлАТ), 2,4 раза (АсАТ) і 2,1 раза (ЛФ).

5. Семиденне уведення натрій нітриту призводить до достовірного зростання показників, що характеризують вираженість ендогенної інтоксикації, зокрема еритроцитарний індекс інтоксикації на 3-тю добу дослідження зріс на 14 % ($p<0,02$), $МСМ_1$ – на 31 % ($p<0,05$), $МСМ_2$ – на 61 % ($p<0,01$) порівняно з показниками тварин, отруєних парацетамолом.

6. Гостре ураження парацетамолом на тлі 7-ми разового введення натрій нітриту призводить до достовірного пригнічення окиснювальних процесів в ендоплазматичному ретикулумі печінки щурів, що підтверджується зниженням N-деметилазної активності на 26 %, р-гідроксилазної – на 22 % ($p<0,05$) на 3-тю добу дослідження і зростання тривалості тіопенталового сну в 1,2 раза порівняно з тваринами, яким вводили лише парацетамол.

7. Застосування тіотриазоліну з метою корекції порушень метаболічних процесів викликаних гострим отруєнням парацетамолом на тлі 7-ми разового уведення натрій нітриту супроводжується частковим зниженням інтенсивності процесів ліпідної пероксидації, відновленням активності антиоксидантної системи, процесів мікросомного і енергозабезпечувального окиснення, покращенням стану плазматичних і субклітинних мембран гепатоцитів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абрамова О. Вплив гіпоксії та адаптація до неї на активність ферментів метаболізму глутатіону у щурів / О. Абрамова // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2006. – № 42. – С. 22–25.

2. Антиокислительные ферменты в печени, мозге, серце и эритроцитах крыс при амиачной интоксикации / Н. И. Венедиктова, О. В. Лопата, А. С. Погосян [и др.] // Биомедицинская химия. – 2005. – Т. 51, № 2. – С. 185–191.

3. Антиоксидантні засоби – необхідні компоненти комплексної фармакотерапії / Н. О. Горчакова, С. А. Олійник, К. Г. Гаркава [та ін.] // Фітотерапія в Україні. – 2000. – № 1. – С. 7–13.

4. Арутюнян А. В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма (методические рекомендации) / А. В. Арутюнян, Е. Е. Дубинина, Н. Н. Зыбина. – СПб. : ИКФ «Фолиант», 2000. – 100 с.

5. Ахвледнани М. В. Взаимосвязь некоторых липидов и ферментативной активности сиворотки на разных стадиях жировой дистрофии печени / М. В. Ахвледнани, Г. Ш. Сванидзе, М. В. Миртиашвили // Клин. лаб. диагностика. – 2001. – № 10. – С. 31.

6. Бакалюк О. Й. Синдром ендогенної інтоксикації, механізм виникнення, методи ідентифікації / О. Й. Бакалюк, Н. Я. Панчишин, С. В. Дзига // Вісник наук. досл. – 2000. – № 1. – С. 11–13.

7. Белоусов Ю. Б. Подходы к выбору дозы лекарственных препаратов у пациентов с циррозом печени / Ю. Б. Белоусов, Н.Ю. Ханина // Фарматека. – 2006. – № 1 (116). – С. 76–84.

8. Беляева О. А. Применение энтеросорбции в комплексной терапии различных заболеваний печени / О. А. Беляева, В. Г. Семенов // Мистецтво лікування. – 2003. – № 2. – С. 57.

9. Биохимические методы исследования в клинике / Под ред. А. А. Покровского. – М. : Изд-во «Медицина», 1969. – 652 с.

10. Блюгер А. Ф. Моделирование патологических процесов в печени / А. Ф. Блюгер, О. Я. Карташова // Экспериментальная патология печени. – Рига : Зинатне, 1983. – С. 9–16.

11. Блюгер А. Ф. Проблемы перекисного окисления липидов в гепатологии / А. Ф. Блюгер, А. Я. Майоре // Проблемы гепатологии. – 1978. – № 7. – С. 22–54.

12. Борис М. І. Морфометрична оцінка структурної перебудови печінки дослідних тварин при інтоксикації натрію нітритом / М. І. Борис, М. С. Гнатюк // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені В. Гнатюка. Серія: Біологія. – 2008. – № 1 (35). – С. 35–39.

13. Борис М. І. Особливості уражень судин печінки при інтоксикації організму солями свинцю, кадмію та нітритом натрію / М. І. Борис, М. С. Гнатюк // Довкілля і здоров’я : всеукр. наук.-практ. конф., 27-28 квітня 2006 р. : матеріали конф. — Тернопіль, 2006. — С. 7–8.

14. Буеверов А. О. Лекарственные поражения печени / А. О. Буеверов // РМЖ. – 2001. – Т. 9, № 13 – С.14.

15. Буеверов А. О. Место гепатопротекторов в лечении заболеваний печени / А. О. Буеверов // БОП. – 2001. – Т. 3, № 1. – С. 7–11.

16. Буеверов А. О. Общие представления о лекарственных поражениях печени / А. О. Буеверов // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2002. – № 4. – С. 7–11.

17. Буеверов А.О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени / А.О. Буеверов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2002. – № 4. – С. 21–25.

18. Васильев А. В. Изменение кинетических характеристик супероксид-дисмутазы и глутатионпероксидазы в печени и эритроцитах крыс с дефицитом белка и дополнительном введении в рацион Cu, Zn, Mn и Se /

А. В. Васильев, В. И. Ивахненко // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, № 4. – С. 384–393.

19. Венгеровский А. И. Методические указания по изучению гепатозащитной активности фармакологических веществ / А. И. Венгеровский, И. В. Маркова, А. С. Саратиков // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М. : Медицина, 2005. – С. 683–691.

20. Вивчення дезінтоксикаційних властивостей фібрабету на тваринах за умов комбінованої дії тетрахлорметану, нітриту натрію та рентгенівського опромінення / Л. С. Фіра, О. В. Благодарова, Б. Р. Бойчук, Д. В. Козак // Наукові записки Тернопільського педуніверситету імені В. Гнатюка. Серія: Біологія. – 2000. – Вип. 4 (11). – С. 83–86.

21. Виноградов Н. А. Выделение нитратов и нитритов с мочой при вирусных гепатитах / Н. А. Виноградов, И. А. Журавлева, Р. Ф. Максимова // Гастроэнтер., гепатол., колопроктол. – 2001. – № 3. – С. 30–34.

22. Виноградова С. В. Молекулярно-генетические основы гепатотоксичности некоторых лекарственных препаратов / С. В. Виноградова, Н.А. Кравченко // Современные проблемы токсикологии. – 2007. – № 3. – С. 30–38

23. Виявлення метаболічних порушень в організмі щурів при поєднаній дії тетрахлорметану, нітриту натрію та рентгенівського опромінення / Л. С. Фіра, О. І. Кривокульський, С. Ю. Соснієнко, Л. В. Головатюк // Екол. та ноосферол. – 2002. – Т. 11, № 1–2. – С. 26–32.

24. Викторов А. П. Проблемы применения анальгетиков-антиперетиков в соответствии с критериями их безопасности / А. П. Викторов, В. Г. Кучер, А. В. Кашуба // Український ревматологічний журнал. – 2006. – № 2 (24). – С.4–9.

25. Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М., 1972. – 252 с.

26. Воробьев К. П. Методология и технология оценки функционального состояния организма во время ГБО / К. П. Воробьев // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2000. – № 3. – С. 65–74.

27. Воронина Т. А. Изучение антистресорного и анальгетического еффектов мексидола, диазепама, парацетамола и их комбинации / Т. А. Воронина, Г. М. Молдавкин, И. И Бабаев // Експерементальная и клиническая фармкология. – 2006. – Т. 69, № 4. – С. 6–9.

28. Вплив ацетамінофену на активність процесів ліпопероксидація і стан антиоксидантної системи статевозрілих щурів –самок на тлі тривалого застосування прогестинів та естрогенів / І. Б. Івануса, І. М. Кліщ, І. З. Кернична, Н. А. Василишин // Медична хімія. – Тернопіль, 2011. – № 2. – С. 56–62.

29. Вплив ізольованих гепатоцитів на деякі показники пероксидного окиснення ліпідів і стан антиоксидантної системи та ендогенної інтоксикації у щурів з комбінованим ураженням організму хлоридами кадмію, свинцю і нітритом натрію / Я. І. Гонський, М. І. Куліцька, С. Р. Підручна, П. І. Липка // Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 3. – С. 136–141.

30. Вплив інгібітора цитохрому Р-450 на гепатотоксичність парацетамолу / О. О. Пентюк, А. П. Андрєєв, О. В. Паламарчук [та ін.] // Ліки. – 2000. – № 5. – С. 26–31.

31. Вплив тіотриазоліну на показники функції нирок у щурів за умов спонтанного добового діурезу / О. В. Геруш, І. В. Геруш, Ю. Є. Роговий // Клінічна та експериментальна патологія. – 2005. – Т. 4, № 3. – С. 28–33.

32. Гепатопротекторные свойства бальзама «Гербамарин – печеночный» и гидролизатов морских гидробионтов при токсическом гепатите и этанольной интоксикации организма / О. Б. Веселова, Т. И. Бурцева, Н. В. Семенова [и др.] // Биомедицинская химия. – 2005. – Т. 51, № 2. – С. 192–198.

33. Глушко Л. В. Використання парацетамолу в комплексному лікуванні хронічного панкреатиті з метою корекції порушень продукції

інтерлейкіну-6 / Л. В. Глушко, І. Т. Гаврик // Врачебная практика. – 2005. – № 4. – С. 63–65.

34. Гнатюк М. С. Морфологічні зміни печінки та їх корекція при змодельованій обтураційній жовтяниці / М. С. Гнатюк, І. М. Кліщ, М. М. Галей // Шпитальна хірургія. – 2008. – № 4. – С. 78–82.

35. Гоженко А. И. Методика определения нитрит-нитратной экологической нагрузки на организм человека / А. И. Гоженко // Мед. тр. и пром. экол. – 2002. – № 3. – С. 38–39.

36. Гоженко А. І. Вплив гострої нітритної інтоксикації на гемостаз / А. І. Гоженко, С. Г. Котюжинська, А. Л. Котюжинський // Медична хімія. – 2003. – Т. 2, № 4. – С. 51–53.

37. Головата Т. К. Морфологія печінки щурів при тривалому впливі терапевтичних доз парацетамолу / Т. К. Головата, І. Б. Івануса, Я. Я. Боднар // XIII конгрес світової федерації українських лікарських товариств, 30 вересня – 03 жовтня 2010 року : матеріали конгр. – Львів–Київ–Чікаго, 2010 – С. 678.

38. Головко Л. Л. Стан захисних систем організму за умови комбінованої дії солей свинцю, кадмію та нітритів і корекція їх порушень за допомогою металокомплексу та ентеросорбенту „Фібросил” : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04 «Патологічна фізіологія» / Л. Л. Головко. – Тернопіль, 2005. – 20 с.

39. Головко Л. Л. Вплив поєднаного введення нітритів та солей важких металів на стан захисних систем організму в експерименті / Л. Л. Головко, Я. І. Гонський, І. М. Кліщ // Вісник наукових досліджень. – 2004. – № 3 (36). – С. 122–124.

40. Головко Л. Л. Стан захисних систем організму за умов поєднаної дії солей кадмію і свинцю та нітриту натрію / Л. Л. Головко // Медична хімія. – 2004. – Т. 6, № 3. – С. 176.

41. Гонський Я. І. Біохімія людини / Я. І. Гонський, Т. П. Максимчук, М. І. Калинський. – Тернопіль : «Укрмедкнига», 2002. – 744 с.

42. Гонський Я. І. Використання гістидинату міді для корекції метаболічних порушень за умов гострого токсичного ураження організму / Я. І. Гонський, О. І. Острівка, С. Р. Підручна // Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 103–107.

43. Гонський Я. І. Вплив гістидинату міді на деякі показники крові тварин різного віку з хімічним ураженням печінки / Я. І. Гонський, С. С. Гранківська, М. М. Михалків // Буковинський медичний вісник. – 2002. – Т. 6, № 3. – С. 163–166.

44. Гонський Я. І. Динаміка показників пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи у щурів, уражених натрію нітритом і кадмію хлоридом / Я. І. Гонський, М. І. Борис // Медична хімія. – 2007. – Т. 9, № 4. – С. 58–61.

45. Гонський Я. І. Зміни антиоксидантної системи у щурів за умов комбінованого токсичного ураження хлоридом свинцю та нітритом натрію / Я. І. Гонський, М. І. Куліцька // Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 80–83.

46. Гонський Я. І. Корекція порушень ендогенної інтоксикації при експериментальному токсикозі, викликаному поєднаною дією нітриту натрію та тетрахлорметану / Я. І. Гонський, С. С. Гранківська // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2002. – № 3. – С. 12–16.

47. Гріднєв О. Є. Перекисне окислення ліпідів і печінка / О.Є. Гріднєв // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 5 (25). – С. 80–83.

48. Губский Ю. И. АТФ-азная активность митохондрий печени крыс при остром отравлении тетрахлорметаном / Ю. И. Губский // Укр. биохим. журн. – 1982. – № 1. – С. 46–50.

49. Гудима А. А. Вплив тіотриазоліну на гепатотоксичні прояви лансопразолу, метронідазолу і кларитроміцину на тлі гострої виразки шлунка в експерименті / А. А. Гудима, В. В. Підгірний // Здобутки клінічної і експериментальної медицини : підс. наук.-практ. конф., 8 червня 2007 р. : зб. матеріалів. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2007. – С. 134–135.

50. Гудима А. А. Патогенетичне обгрунтування шляхів підвищення адаптаційних можливостей організму до токсичного ураження печінки в експерименті : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : спец. 14.03.04 «Патологічна фізіологія» / А. А. Гудима. – Одеса, 2001. – 33 с.

51. Де-Пьер Ж. Выделение, субфракционирование и характеристика эндоплазматической сети / Ж. Де-Пьер, Г. Дальнер // Биохимическое исследование мембран. – М. : Мир, 1979. – Р. 75–123.

52. Дмухальська Є. Б. Детоксикаційна функція печінки у щурів різного віку за ураження кадмію хлоридом і солянокислим гідразином та способи їх корекції : автореф. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 14.00.04 «Біохімія» / Є. Б. Дмухальська. – Львів, 2003. – 19 с.

53. Експериментальне вивчення механізмів комбінованої дії малих доз пестицидів, нітратів, солей свинцю та кадмію / М. М. Коршун, Н. А. Колесова, М. І. Веремій [та ін.] // Современные проблемы токсикологии. – 2001 – № 3. – С. 46–50.

54. Ентеросорбція – ефективний і доступний метод корекції токсичного гепатиту / Я. І. Гонський, С. О. Ястремська, С. С. Рябоконь, Є. Б. Дмухальська // Медична хімія. – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 6–10.

55. Ещенко Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // Методы биохимических исследований. – Л. : Изд–во Ленинградского университета, 1982. – С. 207–210.

56. Зміни показників ендогенної інтоксикації у тварин різного віку при хімічному ураженні печінки / Я. І. Гонський, Є. Б. Дмухальська, М. М. Михалків, Р. М. Кубант // Екологія і ноосферологія. – 2002. – Т. 12, № 3–4. – С. 95–102.

57. Ивашкин В. Т. Болезни печени и желчевыводящих путей : руководство для врачей / В. Т. Ивашкин. – 2-е изд. – М. : Издат. дом "М-Вести", 2005. – 536 с.

58. Ивашкин В. Хронические заболевания печени сегодня и завтра / В. Ивашкин, А. Буеверов // Врач. – 2000. – № 6. – С. 4–6.

59. Интенсивность свободнорадикального окисления и каталитические свойства NADP-изоцитратдегидрогеназы в печени крыс в норме и при токсическом гепатите / Л. В. Матасова, Е. М. Андреещева, Т. Н. Попова [и др.] // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, № 2. – С. 153–160.

60. Івануса І. Б. Вплив тіотриазоліну на деякі показники антиоксидантної системи, вільнорадикального окиснення та ендогенної інтоксикації у щурів з токсичним ураженням ацетамінофеном на тлі тривалого введення естрогенів і прогестинів / І. Б. Івануса // Медична хімія. – 2011. – № 3. – С. 75–80

61. Івануса І. Б. Вплив тіотриазоліну на стан печінки при її ураженні ацетамінофеном на фоні тривалого введення естрогенів та прогестинів / І. Б. Івануса // XIV міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, 13–15 квітня 2010 року : матеріали конгр. – Тернопіль, 2010 – С. 229.

62. Івануса І. Б. Гістологічне дослідження печінки тварин при отруєнні ацетамінофеном на фоні тривалого введення прогестинів та естрогенів / І. Б. Івануса, І. М. Кліщ // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : 3-я науково-практична конференція, 1-2 жовтня 2009 року : матеріали конф. – Тернопіль, 2009. – С. 116.

63. Івануса І. Б. Деякі показники енергозабезпечувального та вільнорадикального окиснення у самок щурів з ураженням парацетамолом на фоні тривалого введення естрогенів та прогестинів / І. Б. Івануса, М. І. Михалків, І. М. Кліщ // XIII міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, 27 – 29 квітня 2009 р. : матеріали конгр. – Тернопіль, 2009. – С. 242.

64. Івануса І. Б. Дослідження показників антиоксидантної системи при введенні тваринам суміші етинілестрадіолу та левоноргестрелу / І. Б. Івануса, І. М. Кліщ // Досягнення і перспективи експериментальної і клінічної біохімії

: всеукраїнська науково-практична конференція, 8–9 жовтня : матеріали конф. – Тернопіль, 2009. – С. 159.

65. Івануса І. Б. Окиснювальна модифікація білків і стан ендогенної інтоксикації при гострому токсичному ураженні ацетамінофеном на фоні довготривалого введення естрогенів та прогестинів / І. Б. Івануса, І. Р. Бекус, М. М. Михалків // Клінічна та експериментальна патологія. – 2012. – № 1. – С. 66–75

66. Івануса І. Б. Морфологічне дослідження гепатопротекторної ефективності тіотриазоліну при застосуванні ацетамінофену в комбінації з прогестинами та естрогенами в екснерименті / І. Б. Івануса, Т. К. Головата, І. З. Кернична // Вісник наукових досліджень. – 2011. – № 2. – С. 130–132.

67. Івануса І. Б. Особливості структурних змін печінки щурів при впливі естрогенів та прогестинів на тлі застосування ацетамінофену / І. Б. Івануса, Т. К. Головата // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 2. – С. 261–263.

68. Казимирко В. К. Антиоксидантная система и ее функционирование в организме человека / В. К. Казимирко, В. И. Мальцев // Здоров’я України. – 2007. – № 5. – С. 15–24.

69. Калачнюк Л. Активність мітохондріальних ензимів у разі порушень ліпідного метаболізму в гепатоцитах / Л. Калачнюк, Д. Мельничук, Г. Калачник // Вісник Львівського університету: Серія біологічна. – 2005. – Вип. 39. – С. 340–46.

70. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М. : МЕДпресс-информ, 2004. – 911 с.

71. Карузина И. И. Выделение микросомальной фракции печени и характеристика ее окислительных систем / И. И. Карузина, А. И. Арчаков // Современные методы в биохимии ; под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 49–62.

72. Кіцула Л. М. Біологічна дія сумішей нітрату та нітриту натрію зі свинцем на організм білих щурів / Л. М. Кіцула // Гигиена населенных мест. – 2001 – Т. 1, вып. 38. – С. 284–285.

73. Кішко Т. О. Роль ксантиноксидази у відновленні та виявленні цитотоксичної дії нітрату та нітриту в організмі щурів / Т. О. Кішко, М. П. Дмитренко // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74. – № 4а. – С. 43–44.

74. Кметь Т. І. Особливості стану печінки з різними типом метаболізму за умов нітритно-кадмієвої інтоксикації / Т. І. Кметь, Л. І. Власик // Сучасні проблеми токсикології. – 2004. – № 2. – С. 2–4.

75. Ковалев Г. А. Показатели прооксидантно-антиоксидантной системы печени самок крыс при алкогольном поражении / Г. А. Ковалев, Д. В. Черкашина, А. Ю. Петренко // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 4 (24). – С. 51–53.

76. Козлова О. Л. Влияние длительного ингаляционного контакта с ксенобиотиками на состояние имунной системы работников химических предприятий / О. Л. Козлова // Мед. тр. и пром. экол. – 2003. – № 2. – С. 39–42.

77. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С Камышников. – М. : Минск, 1982. – 311 с.

78. Колесова О. Е. Перексидное окиснение липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова, А. А. Маркин, Т. Н. Федорова // Лаб. дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.

79. Коржов В. И. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты (обзор литературы) / В. И. Коржов, В. Н. Жадан, М. В. Коржов // Журнал АМН України. – 2007. – Т. 13, № 1. – С. 3–19.

80. Коробейникова Е. Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Е. Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8–9.

81. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.

82. Коршун М. М. Експериментальне вивчення механізмів комбінованої дії малих доз пестицидів, нітратів, солей свинцю та кадмію / М. М. Коршун // Современные проблемы токсикологии. – 2001. – № 3. – С. 46–50.

83. Коршун М. М. Проблема комбінованої дії на організм пріоритетних хімічних забруднювачів грунту / М. М. Коршун // Довкілля та здоров’я. – 2002. – № 4 (23). – С. 51–56.

84. Костенко В. А. Токсическое действие нитратов и нитритов на организм человека и теплокровных животных / В. А. Костенко, Л. Ю. Глебова // Вест. пробл. биологии и медицины. – 1996. – № 11. – С. 1–14.

85. Костюк І. Ф. Професійні хвороби / І. Ф. Костюк, В. А. Капустник. – К. : Здоров'я, 2003. – С. 203–213.

86. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий // Современные методы в биохимии ; под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 47–49.

87. Круглікова Г. О. Глутатіонпероксидазна та глутатіонредуктазна активність печінки щурів після введення селеніту натрію / Г. О. Круглікова, І. М. Штутман // Укр. біохім. журн. – 1976. – № 2. – С. 227–233.

88. Кубант Р. М. Порушення вільнорадикального та енергозабезпечувального процесів у патогенезі токсичного гепатиту при інтоксикації хлоридом кадмію і солянокислим гідразином та їх корекція : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04 «Патологічна фізіологія» / Р. М. Кубант. – Тернопіль, 2002. – 18 с.

89. Куліцька М. Вплив ентеросорбенту Ентеросгель на процеси вільнорадикального окиснення у щурів з токсичним ураженням організму ксенобіотиками / М. Куліцька, М. Чорна // XIII Міжнародний медичний

конгрес студентів та молодих вчених, 27-29 квітня 2009 р. : матеріали конгресу. – Тернопіль, 2009. – С. 244.

90. Куліцька М. Стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу при токсичному ураженні печінки / М. Куліцька // XII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, 31 березня – 2 квітня 2008 р. : матеріали конгр. – Тернопіль, 2008. – С. 178.

91. Куліцька М. І. Вплив ентеросорбенту Ентеросгель та гістидинату міді на показники пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи у щурів з комбінованим ураженням печінки хлоридами кадмію і свинцю на тлі гострого нітритного отруєння / М. І. Куліцька // Наукові записки Терн. нац. пед. ун-ту імені В. Гнатюка. Серія: Біологія. – 2008. – № 4 (38). – С. 122–127.

92. Куліцька М. І. Вплив комбінованої дії натрію нітриту та кадмію хлориду на морфометричні параметри печінки / М. І. Куліцька, М. С. Гнатюк // Довкілля і здоров’я: всеукр. наук.–практ. конф., 24-25 квітня 2008 р.: матеріали конф. – Тернопіль, 2008. – С. 53–55.

93. Куліцька М. І. Вплив комбінованої дії натрію нітриту та кадмію хлориду на показники антиоксидантної системи організму щурів / М. І. Куліцька // Здобутки клінічної та експериментальної медицини : підсумк. наук.-практ. конф., 13 червня 2008 р. : зб. матеріалів конф. – Тернопіль, 2008. – С. 122–123.

94. Куліцька М. І. Вплив комбінованої дії хлоридів кадмію, свинцю і нітриту натрію на показники ендогенної інтоксикації організму щурів / М. І. Куліцька, І. Я. Криницька // Довкілля і здоров’я: всеукр. наук.-практ. конф., 24-25 квітня 2009 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2009. – С. 59–60.

95. Куліцька М. І. Вплив нітриту натрію на показники антиоксидантної системи та пероксидного окиснення ліпідів в організмі щурів / М. І. Куліцька, М. В. Чорна, Я. І. Гонський // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 130–131.

96. Куліцька М. І. Коригуючий вплив ізольованих гепатоцитів на показники антиоксидантної системи у щурів з гострим хімічним ураженням / М. І. Куліцька, Я. І. Гонський // Здобутки клінічної та експериментальної медицини : підсумк. наук.-практ. конф., 4 червня 2009 р.: збірник матер. конф. – Тернопіль, 2009. – С. 126–127.

97. Куліцька М. І. Показники пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи у щурів з комбінованим ураженням печінки хлоридами кадмію і свинцю на тлі гострого нітритного отруєння / М. І. Куліцька // Вісник проблем біол. і мед. – 2008. – Вип. 4. – С. 72–76.

98. Куліцька М. І. Ремоделювання артерій печінки за умов комбінованого ураження нітритом натрію та хлоридами кадмію і свинцю / М. І. Куліцька, М. С. Гнатюк // Морфологічний стан тканин і органів систем організму в нормі та патології : наук.-практ. конф., 10-11 червня 2009 р. : зб. матеріалів конф. – Тернопіль, 2009. – С. 102–104.

99. Кундиев Ю. И. Химическая безопасность в Украине / Ю. И. Кундиев, И. М. Трахтенберг. – К. : Авиценна, 2007. – 71 с.

100. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – К. : Морион, 2000. – 320 с.

101. Лапшин Д. Є. Застосування ліпосомальних форм коректорів нейропептидів з метою відновлення антиоксидантного балансу в тканині печінки та підшлункової залози при гострому експериментальному гепатиті / Д. Є. Лапшин // Вісник морської медицини. – 2006. – № 4. – С. 7–12.

102. Лісничук Н. Є. Дослідження параметрів вільнорадикального окиснення та стан антиоксидної системи білих щурів з експериментальним токсичним ураженням печінки / Н. Є. Лісничук // Вісник проблем біол. і мед. – 2007. – Вип. 2. – С. 83–86.

103. Лужников Е. А. Острые отравления : руководство для врачей / Е. А. Лужников, Л. Г. Костомарова. – 2-е изд. переработ. и доп. – М. : Медицина, 2000. – 444 с.

104. Лущак В. І. Показники оксидативного стресу. 2. Пероксиди ліпідів / В. І. Лущак, Т. В. Багнюкова, Л. І. Лужна // Український біохімічний журнал. – 2006. – Т. 78, № 6. – С. 113–119.

105. Ляхович В. В. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксиданто-респонсивный элемент / В. В. Ляхович, В. А. Вавилин // Биохимия. – 2006. – Т. 71, № 9. – С. 1183–1197.

106. Майер К. П. Гепатит и последствия гепатита : практическое руководство / К. П. Майер ; пер. с нем. под ред. А.А. Шептулина. – М. : Гэотар-Мед., 2000. – 432 с.

107. Маєвська О. Вплив карнозину на процеси дихання та окиснювального фосфорилювання у мітохондріях печінки щурів за гіпоксії, індукованої нітритом натрію / О. Маєвська, М. Бойко, П. Хороший // Вісник Львівського університету. Серія Біологічна. – 2004. – Вип. 35. – С. 66–70.

108. Метаболизм нитратов в организме человека / О. И. Цыганенко, М. В. Набока, В. С. Лапченко [и др.] // Гиг. и санит. – 1989. – № 2. – С. 55–58.

109. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму : методичні рекомендації / М. А. Андрейчин, М. Д. Бех [та ін.]. – К., 1998. – 31 с.

110. Мещишен І. Ф. Глутатіонова система організму за норми та патології / І. Ф. Мещишен, Н. П. Григор’єва // Український біохімічний журнал. – 2002. – Т. 74, № 4а (додаток 1). – С. 103–106.

111. Мещишен І. Ф. Глутатіонова система організму за норми та патології / І. Ф. Мещишен, Н. П. Григор’єва // Укр. біохім. журн.. – 2002. – Т. 74, № 4а (додаток 1). – С. 103–106.

112. Мещишен І. Ф. Метод визначення HS-груп у крові / І. Ф. Мещишен, Н. П. Григор’єва // Буковинський медичний вісник. – 2002. – Т. 6, № 2. – С. 190–192.

113. Мещишен І. Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І. Ф. Мещишен // Буковинський медичний вісник. – 1998. – Т. 6, № 1. – С. 156–158.

114. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. – Л. : Медицина, 1969. – 423 с.

115. Миляков М. Н. Возможный механизм и патофизиологическая значимость регуляции активности супероксиддисмутазы свободными радикалами кислорода / М. Н. Миляков, В. В. Шабанов // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, № 2. – С. 130–137.

116. Мурадян Х. К. Корелятивные связи между активностю супероксидредуктазы, каталазы и глутатионпероксидазы печени крыс / Х. К. Мурадян, Н. А. Утко // Український біохімічний журнал. – 2003. – Т. 75, № 1. – С. 33–37.

117. Нариси вікової токсикології / За ред. І. М. Трахтенберга. – К. : Авіцена, 2005. – 256 с.

118. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова]. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.

119. Никитин И. Г. Лекарственные поражения печени / И. Г. Никитин, Г. И. Сторожаков, А. О. Буеверов // Болезни печени и желчевыводящих путей : руководство для врачей ; под ред. В.Т. Ивашкина. – М. : ООО «Издат. дом «М. Вести», 2005. – С. 217–223.

120. Николаев А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. – [3-е изд., перераб. и доп.]. – М. : МИА, 2004. – 566 с.

121. Ніколаєнко О. О. Вплив загальної верикальної вібрації та парацетамолу на клітини печінки щурів / О. О. Ніколаєнко, О. В. Паламарчук // Таврический медико-биологический вестник. – 2002. – № 3. – С. 126–128.

122. Особливості дії тетрахлорметану і натрію нітриту у тварин із різною стійкістю до гіпоксії / К. А. Посохова, І. Ю. Бережна, І. М. Кліщ, О. М. Олещук // Буковинський медичний вісник. – 2000. – Т. 4, № 2. – С. 207–211.

123. Острівка О. І. Вплив поєднаної дії металокомплексу гістидинату міді та ентеросорбенту «Фібрабет» на показники білкового обміну за умов

ураження хлоридом кадмію та нітритом натрію на тлі рентгенівського опромінення / О. І. Острівка // Медична хімія. – 2006. – Т. 8, № 3. – С. 85–88.

124. Острівка О. І. Особливості обміну білків в оганізмі білих щурів, уражених кадмієм, нітритом і низькими дозами радіації та способи їх корекції : автореф. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 14.00.04 «Біохімія» / О. І. Острівка. – Львів, 2007. – 20 с.

125. Паламарчук О. В. Зміни макрометричних показників печінки при її ураженні парацетамолом і аніліновим спиртом та корекції цих змін антиоксидантами / О. В. Паламарчук // Вісник Вінницького медичного університету. – 2002. – № 6.2. – С. 409–411.

126. Панчук С. Н. Лекарственная безопасность / С. Н. Панчук, Н. И. Яблучанский // Medicus Amicus. – 2002. – № 6. – С. 12–13.

127. Підгірний В. Вплив тіотриазоліну на гепатотоксичні прояви противиразкових препаратів на тлі хронічного гепатиту в експерименті / В. Підгірний // XI ювілейний Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих учених, 10-12 травня 2006 р. : матеріали конгр. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2007. – С. 238.

128. Пікуль К. В. Аномалії розвитку у дітей з нітратно-забрудненої території / К. В. Пікуль // Довкілля та здоров’я. – 2003. – № 2 (25). – С. 18–22.

129. Пішак В. П. Протинабрякова дія тіотриазоліну та його вплив на вміст води та іонів натрію у внутрішніх органах / В. П. Пішак, О. В. Геруш, Ю. Є. Роговий // Вісник фармації. – 2005. – № 2 (42). – С. 75–78.

130. Почерняев В. Ф. Прооксидантно-антиоксидантный гомеостаз / В. Ф. Почерняев, О. И. Цержбинский, Н. В. Шиш // Буковинський медичний вісник. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 212–214.

131. Почерняев В. Ф. Прооксидантно-антиоксидантный гомеостаз / В. Ф. Почерняев, О. И. Цержбинский , Н. В. Шиш // Буковинський медичний вісник. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 212–214.

132. Процеси ліпідної пероксидації при хронічних ураженнях печінки / О. О. Абрагамович, О. І. Грабовська, О. І. Терлецька [та ін.] // Медична хімія. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 5–8.

133. Процеси ліпідної пероксидації при хронічних ураженнях печінки / О. О. Абрагамович, О. І. Грабовська, О. І. Терлецька [та ін.] // Медична хімія. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 5–8.

134. Разыграев А. В. Определение глутатионпероксидазной активности в сыроватке крови человека с использованием пероксида водорода и 5,5-дитиобис(2-нитробензойной кислоты) / А. В. Разыграев, А. В. Арутонян // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 6. – С. 13–15.

135. Роль среднемолекулярных пептидов крови в розвитии кардиодепресии при термических ожогах / Р. И. Лифшиц, Б. М. Вальдман, И. А. Волчегорский, А. С. Лужевский // Бюл. эксперим. биологии и медецини. – 1986. – Т. 101, № 3. – С. 280–282.

136. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / В. К. Казимирко, В. И. Мальцев, В. Ю. Бутылин, Н. И. Горобец. – К. : Морион, 2004. – 160 с.

137. Сопоставление различных подходов к определению продуктов ПОЛ в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И. А. Волчегорский, А. Г. Налимов, Б. Г. Яровинский, Р. И. Лифшиц // Вопросы мед. химии. – 1989. – № 1. – С. 127–131.

138. Стародуб Є. М. Використання антиоксидантів в лікуванні хронічних захворювань печінки / Є. М. Стародуб, О. Є. Самогальська // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики : зб. наук. ст. – 2002. – № 8. – С. 3–11.

139. Стеценко С. О. Стан окислювального гомеостазу в білих щурів за умов впливу різних груп ксенобіотиків / С. О. Стеценко, О. А. Наконечна // Український біохімічний журнал. – 2002. – Т. 74, № 4а (додаток1). – С. 181–182.

140. Тимочко М. Ф. Вільнорадикальні реакції та їх метаболічна роль / М. Ф. Тимочко, Л. І. Кобилінська // Вісник Львівського університету. Серія Біологічна. – 2006. – № 1. – С. 23–26.

141. Тогайбаев А. А. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.

142. Трахтенберг І. М. Принципи токсиколого-гігієнічної оцінки і класифікації відходів хімічного походження / І. М. Трахтенберг, М. П. Вашкулат, А. І. Костенко // Довкілля та здоров'я. – 2002. – № 4 (23). – С. 28–32.

143. Трегубова Н. В. Активність глутатіонзалежної ферментативної антиоксидантної системи печінки та крові морських свинок різного віку обох статей / Н. В. Трегубова // Медична хімія. – 2003. – № 1. – С. 40–43.

144. Трубич Н. Я. Вплив ентеросорбента "Альгісорб " на показники ліпідної пероксидації і стан антиоксидантної системи організму щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі тривалого введення солей кадмію та свинцю / Н. Я. Трубич // Клінічна та експериментальна патологія. – 2011. – № 2 (частина 1). – С. 118–121.

145. Трубич Н. Я. Вплив ентеросорбенту Альгісорб на показники антиоксидантної системи організму білих щурів за умов гострого отруєння парацетамолом на тлі тривалого введення солей кадмію та свинцю / Н. Я. Трубич, І. М. Кузьмак // XIV міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, 13-15 квітня 2010 р. : матеріали конгр. – Тернопіль, 2010. – С. 245.

146. Трубич Н. Я. Вплив парацетамолом на стан антиоксидантної системи білих щурів на фоні тривалої інтоксикації солями кадмію та свинцю / Н. Я. Трубич // Досягнення і перспективи експериментальної і клінічної біохімії : Всеукраїнська науково-практична конференція, 28 лист. 2009 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2009. – С. 172.

147. Трубич Н. Я. Вплив парацетамолом на стан мембран гепатоцитів білих щурів на фоні тривалої інтоксикації солями кадмію та свинцю / Н. Я. Трубич // Досягнення і перспективи експериментальної і клінічної біохімії : Всеукраїнська науково-практична конференція, 28 лист. 2009 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2009. – С. 171.

148. Трубич Н. Я. Вплив тіотриазоліну на інтенсивність антиоксидантної системи щурів за умов отруєння парацетамолом на тлі тривалого введення солей кадмію та свинцю / Н. Я. Трубич // Працюємо, творимо, презентуємо : науково-практична конференція студентів і молодих учених за участю міжнародних спеціалістів, 7 квітня 2011 р. : матеріали конф. – Івано-Франківськ, 2011. – С. 48.

149. Трубич Н. Я. Вплив тіотриазоліну на інтенсивність вільно радикального окиснення і стан ендогенної інтоксикації щурів за умов отруєння парацетамолом на тлі хронічного ураження солями кадмію та свинцю / Н. Я. Трубич, І. М. Кліщ // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2011. – Т. 1, № 2. – С. 38–40.

150. Трубич Н. Я. Вплив тіотриазоліну на показники антиоксидантної системи за умов гострого отруєння парацетамолом на фоні тривалої інтоксикації солей кадмію та свинцю / Н. Я. Трубич // Актуальні питання сучасної медицини : міжнародна конференція студентів та молодих вчених, 24-26 березня 2011 р. : матеріали конф. – Харків, 2011. – С. 175.

151. Трубич Н. Я. Динаміка змін показників ендогенної інтоксикації за умов гострого отруєння парацетамолом на тлі тривалого введення солей кадмію та свинцю/ Н. Я.Трубич // XV міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, 27-28 квітня 2011 р. : матеріали конгр. – Тернопіль, 2011. – С. 245.

152. Трубич Н. Я. Динаміка показників ендогенної інтоксикації у щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі тривалого введення солей кадмію та свинцю / Н. Я. Трубич, І. Я. Криницька // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія "Медицина". – 2010. – Вип. 39 – С. 31–35.

153. Трубич Н. Я. Зміни антиоксидантної системи у щурів при комбінованому токсичному ураженні парацетамолом та солями важких металів / Н. Я. Трубич // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2011. – Т 8, № 3. – С. 91–95.

154. Ушкалова Е. А. Лекарственные поражения печени / Е. А. Ушкалова // Фарматека. – 2003. – № 10. – С. 94–103.

155. Хазанов А. И. Особенности лекарственных и вирусно-лекарственных поражений печени / А. И. Хазанов, О. Н. Румянцев, А. В. Калинин, С. В. Скворцов // Клин. вестн. – 2000. – № 1. – С. 83–88.

156. Харченко Н. В. Порівняльна характеристика сучасних гепатопротекторів / Н. В. Харченко // Вісник фармакології та фармації. – 2001. – № 3–4. – С. 18–25; 55–68.

157. Чаплик В. В. До питання ендогенної інтоксикації / В. В. Чаплик, В. Г. Литвинчук // Клінічна фізіологія та біохімія. – 2006. – № 3. – С. 65–67.

158. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окиснительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.

159. Чекман І. С. Клінічна фармакологія гепатопротекторів / І. С. Чекман // Лікарська справа. – 2001. – № 1. – С. 15–19.

160. Шевченко І. М. Гістопатологія та деякі показники імунітету при експериментальному токсичному ураженні печінки на фоні корекції гептралом / І. М. Шевченко // Буковинський медичний вісник. – 2004. – Т. 8, № 3. – С. 176–180.

161. Янчук В. В. Особливості комбінованої дії натрію нітрату та свинцю ацетату на рівні смертельних доз у щурів різного віку / В. В. Янчук, Л. І. Власик // Буковинський медичний вісник. – 2002. – Т. 6, № 1. – С. 173–175.

162. Янчук В. В. Особливості комбінованої дії нітрату натрію та ацетату свинцю в підгострому експерименті на щурах різного віку / В. В. Янчук, Л. І. Власик // Буковинський медичний вісник. – 2003. – Т. 7, № 4. – С. 163–167.

163. Acetaminophen toxicity in mice lacking NADPH oxidase activity: role of peroxynitrite formation and mitochondrial oxidant stress / L. P. James, S. S. McCullough, T. R. Knight [et al.] // Free Radic. Res. – 2003. – Vol. 37, № 12. – P. 1289–1297.

164. Acetaminophen: old drug, new warnings / M. Coon, A. Schilling, R. Corey, B. Eghtesad, // Cleveland Clin. J. Med. – 2001. – Vol. 77, № 1. – P. 19–27.

165. Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study / A. M. Larson, J. Polson, R. J. Fontana, [et al.] // Hepatology. – 2005. – Vol. 42, № 6. – P. 1364–1372.

166. Adjunctive analgesia with intravenous propacetamol does not reduce morphine-related adverse effects / F. Aubrun, F. Kalfon, P. Mottet [et al.] // Br. J. Anaesth. – 2003. – Vol. 90, № 3. – P. 314–319.

167. Allosteric activation of cytochrome P450 3A4 by alpha-naphthoflavone: branch point regulation revealed by isotope dilution analysis / C. M. Woods, C. Fernandez, K. L. Kunze, W.M. Atkins // Biochemistry. – 2011. – Vol. 50, № 46. – P. 10041–10051.

168. Aminotransferase elevations in healthy adults receiving 4 grams of acetaminophen daily: a randomized controlled trial / P. B. Watkins, N. Kaplowitz, J. T. Slattery [et al.] // JAMA. – 2006. – Vol. 296, № 1. – P. 87–93.

169. An overview of animal models for investigating the pathogenesis and therapeuticstrategies in acute hepatic failure / M. J. Tunon, M. Alvarez, J. M. Culebras, J. Gonzalez-Gallego // World J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 15, № 25. – P. 3086–3098.

170. Angalakuditi M. V. Children's acetaminophen exposures reported to a regional poison control center / M. V. Angalakuditi, K. C. Coley, E. P. Krenzelok // Am. J. Health Syst. Pharm. – 2006. – Vol. 15, № 63(4). – P. 323–326.

171. Antipyretic Efficacy and Safety of Ibuprofen and Acetaminophen in Children / R.D. Goldman, K. Ko, L. J. Linett, D. Scolnik // The Annals of Pharmacotherapy. – 2003. – Vol. 38, № 1. – P. 146–150.

172. Atkins W. M. Non-michaelis-Menten kinetics in cytochrome P450-catalyzed reactions / W. M. Atkins // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2005. – Vol. 45, № 10. – P. 291–310.

173. Bailey B. Fulminant hepatic failure secondary to acetaminophen poisoning: a systematic review and meta-analysis of prognostic criteria determining the need for liver transplantation / B. Bailey, D. K. Amre, P.Gaudreault // Crit Care Med. – 2003. – Vol. 31, № 1. – P. 299-305.

174. Bannwarth B. Phramacological rationale for the clinical use of paracetamol: phamacokinetic and pharmacodynamic issues / B. Bannwarth, F. Pehourcq // Drugs. – 2003. – Vol. 63, №2. – P. 5-13.

175. Berezhna L. Hepatoprotective effect of a new polyvitamin composition with metabolytic acting under usage of antituberculosis drugs / L. Berezhna // Abstract book of 16th European Students Conference – Berlin, 2005. – P. 275.

176. Bessems J. G. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches / J. G. Bessems, N. P. Vermeulen // Crit Rev. Toxicol. –2001. – Vol. 31, № 1. – P. 55–138.

177. Bhatia V. Predictive value of arterial ammonia for complications and outcome in acute liver failure / V. Bhatia, R. Singh, S. K. Acharya // Gut. –2006. – Vol. 55, № 1. – P. 98–104.

178. Birrer R. Hypoxic hepatopathy: pathophysiology and prognosis / R. Birrer, Y. Takuda, T. Takara // Intern Med. – 2007. – Vol. 46, № 14. – P. 1063–1070.

179. Blood lactate as an early predictor of outcome in paracetamol-induced acute liver failure: a cohort study / W. Bernal, N. Donaldson, D. Wyncoll, J. Wendon // Lancet. – 2002 – Vol. 359, № 9306. – P. 558–563.

180. Carson S. M. Alternating acetaminophen and ibuprofen in the febrile child: examination of the evidence regarding efficacy and safety/ S. M.Carson // Pediatr. Nurs. – 2003. – Vol. 29, № 5. – P. 379–382.

181. Comparison of Oral Versus Normal and High-Dose Rectal Acetaminophen in the Treatment of Febrile Children / D. Scolnik, E. Kozer, S. Jacobson, S. Diamond, N.L. Young // PEDIATRICS. – 2002. – Vol. 110, № 3. – P. 553–556.

182. Czaja A. J. Corticosteroids or not in severe acute or fulminant autoimmune hepatitis: therapeutic brinksmanship and the point beyond salvation / A. J. Czaja // Liver Transpl. – 2007. – Vol. 13, № 7. – P. 953–955.

183. Dargan P. I. Accidental staggered paracetamol overdoses in the UK: epidemiology and outcome / P. I. Dargan, A. L. Jones // Emerg. Med. J. – 2002. – Vol. 19, № 3. – P. 202–205.

184. Dargan P. I. Measuring paracetamol concentrations in all patients with drug overdose or altered consciousness: does it change outcome? / P. I. Dargan, S. L. Ladhani, A. L. Jones // Emerg. Med. J. – 2001. – Vol. 18. № 3. – P. 178–182.

185. Diclofenac and/or propacetamol for postoperative pain management after cesarean delivery in patients receiving patient controlled analgesia morphine / S. M. Siddik, M. T. Aouad, M. I. Jalbout [et al.] // Reg. Anesth. Pain Med. – 2001. – Vol. 26, № 4. – P. 310–315.

186. Ding G. K. Evidence and consequences of spectrum bias in studies of criteria for liver transplant in paracetamol hepatotoxicity/ G. K. Ding, N. A. Buckley // QJM. – 2008. – Vol. 101, № 9. – P. 723-729.

187. Effect of N-acetylcysteine on acetaminophen toxicity in mice: relationship to reactive nitrogen and cytokine formation / L. P. James, S. S. McCullough, L. W. Lamps [et al.] // Toxicol. Sci. – 2003. – Vol. 75, № 2. – P. 458–467.

188. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on patient-controlled analgesia morphine side effects: meta-analysis of randomized controlled trials / E. Marret, O. Kurdi, P. Zufferey, F. Bonnet // Anesthesiology. – 2005. – Vol. 102, № 6. – P. 1249–1260.

189. Effects of postoperative, nonsteroidal, antiinflammatory drugs on bleeding risk after tonsillectomy: meta-analysis of randomized, controlled trials /

E. Marret, A. Flahault, C. M. Samama, F. Bonnet // Anesthesiology. – 2003. – Vol. 98, № 6. – P.1497–1502.

190. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. of Bioch. and Biophys. – 1959. – Vol. 82, № 1. – P. 70–77.

191. Estimates of acetaminophen (paraceatmol)-associated overdoses in the United States / P. Nourjah, S. R. Ahmad, C. Karwoski, C. Willy // Pharmacopidem Drug Safety. – 2006. – Vol. 15, № 6. – P. 398–405.

192. Forget P. Therapeutic dose of acetaminophen may induce fulminant hepatitis in the presence of risk factors: a report of two cases/ P. Forget, X. Wittebole, P. F. Laterre // Brit. J. Anaesthesia. – 2009. – Vol. 103, № 6. – P. 899–900.

193. Forrest J. Clinical pharmacokinetics of paracetamol / J. Forrest, J. Clements, L. Prescott // Clin. Pharmacokinet. – 1982. – Vol. 7, № 2. – P. 93–107.

194. Graham G. G. Mechanisms of action of paracetamol and related analgesics/ G. G. Graham, K. F. Scott // Inflammopharmacology. – 2003. – Vol. 11, № 4. – P. 401–413.

195. Grossman M. Transplantation of genetically autologous hepatocytes into nonhuman primates:feasibility and short-term toxicity / M. Grossman, S. Raper, J. Wilson // Hum. Gene. Ther. – 1992. – Vol. 3, № 5. – P. 501–510.

196. Guidelines for the management of paracetamol poisoning in Australia and New Zealand – explanation and elaboration / F. F. Daly, J. S. Fountain, L. Murray [et al.] // Med. J. Aus. – 2008. – Vol. 188, № 5. – P. 296–301.

197. Gyamlani G. G. Acetaminophen toxicity: suicidal vs accidental / G. G. Gyamlani, C. R. Parikh // Crit. Care. – 2002 – Vol. 6, № 2. – P. 155–159.

198. Heard K. J. Acetylcysteine for acetaminophen poisoning / K. J. Heard // N. Engl. J. Med. – 2008. – Vol. 359, № 17. – P. 285–292.

199. Hepatocellular transplantation in acute hepatic failure and targeting genetic markers to hepatic cells / F. D. Ledley, S. L. Woo, G. D. Ferry [et al.] // Hum. Gene Ther. – 1991. – Vol. 2, № 4. – P. 331–358.

200. Intensive care of patients with acute liver failure: recommendations of the US AcuteLiver Failure Study Group / R. T. Stravitz, A. H. Kramer, T. Davern [et al.] // Crit Care Med. – 2007. – Vol. 35, № 11. – P. 2498–2508.

201. Interindividual variability in acetaminophen sulfation by human fetal liver: implications for pharmacogenetic investigations of drug-induced birth defects / A. A Adjei, A Gaedigk, S. D Simonт [et al.] // Birth. Def. Res. –2008. – Vol. 82. – P. 155–165.

202. Intrasplenic transplantation of hepatocytes in spf-ash mice with congenital ornithine transcarbamylase deficiency / J. L. Michel, D. Rabier, C. Rambaud [et al.] // Chirurgie. – 1994. – Vol. 119, № 10. – P. 666–671.

203. Intravenous administration of propacetamol reduces morphine consumption after spinal fusion surgery / J. Hernandez-Palazon, J. A. Tortosa, J. F. Martinez-Lage [et al.] // Anesth. Analg. – 2001. – Vol. 92, № 6. – P. 1473–1476.

204. Intravenous N-acetylcysteine improves transplant-free survival in early stage non acetaminophen acute liver failure / W. M. Lee, L. S. Hynan, L. Rossaro, [et al.] // Gastroenterology. – 2009. – Vol. 137, № 3. – P. 856–864.

205. Jaeschke H. Mechanisms of Hepatotoxicity / H. Jaeschke, G. J. Gores, A. I. Cederbaum // Toxicol. Sci. – 2002. – Vol. 65, № 2. – P. 166–176.

206. Jalan R. Acute liver failure: current management and future prospects / R. Jalan // J. Hepatol. – 2005 – Vol. 42, № l. – P. 115–123.

207. Jensen L. S. The quantification of paracetamol, paracetamol glucuronide and paracetamol sulphate in plasma and urine using a single high-performance liquid chromatography assay / L. S. Jensen, R. W. Milne, A. M. Evans // J. Pharamaceut. Biomed. Anal. – 2004. – Vol. 34, № 3. – P. 585–593.

208. Kasai S. Hepatocyte transplantation / S. Kasai // Hokkaaido. Igaku. Zasshi. – 1995. – Vol. 70, № 2. – P. 227–232.

209. Kolacinski Z. Paracetamol: therapeutic action, pathogenesis and treatment of acute poisonings complicated by severe liver damage / Z. Kolacinski, P. Rusinski // Pizegl. Lek. – 2003. – Vol. 60, № 4. – P. 218–222.

210. Krenzelok E. P. Acetaminophen dosing changes based on NO evidence in adults / E. P. Krenzelok, M. A. Royal // Drugs. – 2012, – Vol. 12, № 2.– P. 45–48.

211. Kuntz E. Hepatology. Principles and practice: history, morphology, biochemistry, diagnostics, clinic, therapy / E. Kuntz, H.-D. Kuntz. – 2-nd edition. – Springer Medizin Verlag Heidelberg, 2005. – 902 p.

212. Mathematical modeling of liver injury and dysfunction after acetaminophen overdose: early discrimination between survival and death / C. H. Remien, F. R. Adler, L. Waddoups [et al.] // Hepatology. – 2012. – Vol. 56, № 2. – P. 727–734.

213. Mode of cell death after acetaminophen overdose in mice: apoptosis or oncotic necrosis? / J. S. Gujral, T. R. Knight, A. Farhood [et al.] // Toxicol. Sci. – 2002. – Vol. 67, №2. – P. 322–328.

214. Mohd Zain Z. Characteristics and outcomes of paracetamol poisoning cases at a general hospital in Northern Malaysia / Zain Z. Mohd, A. I. Fathelrahman, A. F. Rahman // Singapore Med. J. – 2006 – Vol. 47, № 2. – P. 134–137.

215. O'Grady J. Modern management of acute liver failure / J. O'Grady // Clin. Liver Dis. – 2007. – Vol. 11, № 2. – P. 291–303.

216. Ohbayashi H. Twelve-month chronic administration of polyenephosphatidylcholine (EPL) for improving hepatic function of fatty liver patients / H. Ohbayashi // Progr. Med. – 2004. – Vol. 24. – P. 1751–1756.

217. Onodera K. Hepatocellular transplantation in rats with congenital ascorbic acid deficiency / K. Onodera, S. Kasai, M. Mito // Nippon. Geka. Gakkai. Zasshi. – 1995. – Vol. 96, № 5. – P. 301–308.

218. Oscier C. Paracetamol - A review of three routes of administration / C. Oscier, N. Bosley, Q. Milner // Updates Anaesth. – 2007. – Vol. 23, № 5. – P. 112-114.

219. Paracetamol in therapeutic dosages and acute liver injury: causality assessment in a propective case series / M. Sabate, L. Ibanez, E. Perez [et al.] // BMC Gastroenterol. – 2011. – Vol. 11, № 5. – P. 80–84.

220. Paracetamol induced hepatotoxicity / S. B. Mahadevan, P. J. McKiernan, P. Davies, D. A. Kelly // Archives of Disease in Childhood. – 2006. – Vol. 91, № 7. – P. 598-603.

221. Paracetamol toxicity: epidemiology, prevention and costs to the health-care system / C. L. Sheen, J. F. Dillon, D. N. Bateman, K. J. Simpson // Q. J. Med. – 2002. – Vol. 95, № 9. – P. 609–619.

222. Pettersson P. H. Intravenous acetaminophen reduced the use of opioids compared with oral administration after coronary artery bypass grafting / P. H. Pettersson, J. Jakobsson, A. Owall // Cardiothorac. Vasc. Anesth. – 2005. – Vol. 19, № 3. – P. 306–309.

223. Plasma phospholipid fatty acid pattern in severe liver disease / J. O. Clemmesen, C. E. Hoy, P. B. Jeppesen, P. Ott // J. Hepatol. – 2000 – Vol. 32, № 3. – P. 481–487.

224. Population-based surveillance for acute liver failure / W. A Bower, M. Johns, H. S Margolis [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2007. – Vol. 102, № 11. – P. 2459–2463.

225. Progress and prospects of adsorption therapy on the treatment of postradiation neurosomatic polypathia / M. P. Zakharash, A. I. Ivanova, V. N. Maslenny [et al.] // Int J Rad Med. – 2003. – Vol. 51, № 1–2. – P. 256–262.

226. Randomised controlled trial of combined paracetamol and ibuprofen for fever / Erlewyn-Lajeunesse, K. Coppens , L. P. Hunt [et al.] // Arch. Dis. Child. – 2006. – Vol. 91, № 5. – P. 414–416.

227. Remy C. Effects of acetaminophen on morphine side-effects and consumption after major surgery: meta-analysis of randomized controlled trials / C. Remy, E. Marret, F. Bonnet // Br. J. Anaesthesia. – 2005. – Vol. 94, № 4. – P. 505–513.

228. Rikans L. E. Effect of aging on enzymatic antioxidant defenses in rat liver mitochondria / L. E. Rikans, C.D. Snowden, D. R. Moore // Gerontology. – 1992. – Vol. 88, № 3. – P. 133–138

229. Sass D. A. Fulminant hepatic failure/ D. A. Sass, A. O. Shakil // Liver Transpl. – 2005. – Vol. 11, № 6. – P. 594–605.

230. Schmidt L. E. Serum phosphate is an early predictor of outcome in severe acetaminophen-induced hepatotoxicity / L. E. Schmidt, K. Dalhoff // Hepatology. – 2002. – Vol. 36, № 3. – P. 659–665.

231. Schmitt B. D. Concerns over alternating acetaminophen and ibuprofen for fever / B. D. Schmitt // Arch. Pediatr. Adolesc. Med. – 2006. – Vol. 160, № 7. – P. 757–757.

232. Simon L. S. COX-2 inhibitors. Are they nonsteroidal anti-inflammatory drugs with a better safety profile / L. S. Simon // Gastroenterol. Clin. North Am. – 2001. – Vol. 30, № 4. – P. 1011–1025.

233. Simon T. Combined glutathione-S-transferase M1 and T1 genetic polymorphism and tacrine hepatotoxicity / T. Simon, L. Becquemont, M. Mary-Krause, C. Funck-Brentano // Clin. Pharmacol. Ther. – 2000. – Vol. 67, № 4. – P. 432–437.

234. Simon T. Combined glutathione-S-transferase M1 and T1 genetic polymorphism and tacrine hepatotoxicity / T. Simon, L. Becquemont, M. Mary-Krause // Clin. Pharmacol. Ther. – 2000. – Vol. 67, № 4. – P. 432–437.

235. Simultaneous modelling of the Michaelis-Menten kinetics of paracetamol sulphation and glucuronidation / D. Reith, N. J. Medlicott, L. Yang [et al.] // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2009. – Vol. 36, № 1. – P. 35–42.

236. The impact of therapeutic doses of paracetamol on serum total anti-oxidant capacity / S. L. Nuttall, J. N. Kahn, G. H. Thorpe [et al.] // J. Clin. Pharmacol. Therapeut. – 2003. – Vol. 28, № 4. – P. 289–294.

237. The relation between paracetamol use and asthma: a GA2LEN European case-control study / S. Shaheen, J. Potts, L. Gnatiuc [et al.] // Eur. Resp. J. – 2008. – Vol. 32, № 5. – P. 1231–1236.

238. The systemic inflammatory response syndrome is predictive of renal dysfunction in patients with non paracetamol-induced acute liver failure / J. A. Leithead, J. W. Ferguson, C. M. Bates [et al.] // Gut. – 2008. – Vol. 58, № 3. – P. 443–449.

239. The utilization of liver transplantation in the management of acute liver failure: comparison between acetaminophen and nonacetaminophen etiologies / K. J. Simpson, C. M. Bates, N. C. Henderson [et al.] // Liver Transpl. – 2009. – Vol. 15, № 6. – P. 600–609.

240. Tong Q. Study on the correlation of plasma NO, ET-1 and ALT in the patients with chronic hepatitis and cirrhosis / Q. Tong, L. Zeng // J. Tohgij. Med. Univ. – 2000. – Vol. 3, № 20. – P. 203–204.

„Затверджую"
Проректор з науково –
педагогічної роботи
Вінницького національного
медичного університету
імені М.І. Пирогова
проф. Думінський Ю.Й.
23 жовтня 2012 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Пацкань Л.О. у навчальний процес

1.Назва пропозиції для впровадження: " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції ".

2.Ким запропоновано: Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра клініко – лабораторної діагностики, здобувач Пацкань Л.О.

3.Джерело інформації: матеріали дисертаційної роботи Пацкань Л.О. " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції ", які представлені у наступній роботі:

Пацкань Л.О. Вплив парацетамолу на активність процесів ліпопероксидації і стан антиоксидантної системи щурів на тлі тривалого застосування нітритів./ Пацкань Л.О., Кліщ І.М. // Медична хімія. – 2012.- Т.14. № 2 - С.87

4.Де та коли впроваджено: на кафедрі патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова при проведенні практичних занять та лекцій по темах: „Патологічна фізіологія печінки"

5.Результати впровадження: Застосування результатів досліджень Пацкань Л.О. дозволять поглибити знання студентів про патофізіологічні механізми порушень функції печінки при гострому гепатиті та методи їх корекції.

6.Зауваження та пропозиції: не внесено

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри патологічної фізіології,
д-р мед. наук, професор Рикало Н.А.

„Затверджую"
Перший проректор
Тернопільського державного
медичного університету
ім. І.Я.Горбачевського
проф. Мисула І.Р.

„ 17 " жовтня 2012 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Пацкань Л.О. у навчальний процес

6. **Назва пропозиції для впровадження:** " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції "
7. **Ким запропоновано:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра клініко – лабораторної діагностики, здобувач Пацкань Л.О.

3.Джерело інформації: матеріали дисертаційної роботи Пацкань Л.О. " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції ", які представлені у наступній роботі:

Пацкань Л.О. Вплив парацетамолу на активність процесів ліпопероксидації і стан антиоксидантної системи щурів на тлі тривалого застосування нітритів./ Пацкань Л.О., Кліщ І.М. // Медична хімія. – 2012.- Т.14, № 2 - С.87

4.Де та коли впроваджено: на кафедрі загальної гігієни та екології Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського при проведенні практичних занять та лекцій по темах " Влив нітросполук на життєдіяльність людей ".

5.Результати впровадження: Застосування результатів досліджень Пацкань Л.О., дозволять поглибити знання студентів про патогенетичні механізми токсичної дії натрію нітриту.

6.Зауваження та пропозиції: не внесено

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри
загальної гігієни та екології,
д. мед. наук, проф. Кашуба М.О.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Перший проректор з науково- педагогічної роботи
Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
член. кор НАМНУ проф. М.Р.Гжегоцький
«23» жовтня 2012 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
Матеріалів наукових досліджень Пацкань Л.О. у навчальний процес

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції».
2. **Ким запропоновано:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра клініко – лабораторної діагностики, здобувач Пацкань Л.О.
3. **Джерело інформації:** матеріали дисертаційної роботи Пацкань Л.О. «Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції», які представлені у наступній роботі:
Пацкань Л.О. Вплив парацетамолу на активність процесів ліпопероксидації і стан антиоксидантної системи щурів на тлі тривалого застосування нітритів. / Пацкань Л.О., Кліщ І.М. //Медична хімія. – 2012. – Т.14, № 2 – С.87
4. **Де та коли впровадження:** на кафедрі патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, при проведенні практичних занять та лекцій по темах: «Патофізіологія печінки».
5. **Результати впровадження:** Застосування результатів досліджень Пацкань Л.О. дозволять поглибити знання студентів про патофізіологічні механізми порушень функції печінки при гострому гепатиті, про модулятори активності ферментів.
6. **Зауваження та пропозиції:** не внесено

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри патологічної фізіології
ЛНМУ ім. Данила Галицького,
доктор медичних наук, професор М.С. Регеда

„Затверджую"
Перший проректор
Тернопільського державного
медичного університету
ім. І.Я.Горбачевського
проф. Мисула І.Р.

„17" жовтня 2012 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Пацкань Л.О. у навчальний процес

1. **Назва пропозиції для впровадження:** " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції "
2. **Ким запропоновано:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра клініко – лабораторної діагностики, здобувач Пацкань Л.О.

3.Джерело інформації: матеріали дисертаційної роботи Пацкань Л.О. " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції ", які представлені у наступній роботі:

Пацкань Л.О. Показники енергозабезпечення у тварин з токсичним ураженням парацетамолом на тлі тривалої дії натрію нітриту і корекції тіотриазоліном./ Пацкань Л.О., Кліщ І.М. // Практична медицина. – 2012.- Т.18, № 5 - С.39

4.Де та коли впроваджено: на кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського при проведенні практичних занять та лекцій по темах: "Побічна дія ліків".

5.Результати впровадження: Застосування результатів досліджень Пацкань Л.О., дозволять поглибити знання студентів про токсичність парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації, а також ефективність тіотриазоліну, як засобу корекції гепатиту.

6.Зауваження та пропозиції: не внесено

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри фармакології з
клінічною фармакологією,
д. мед. наук, проф. Посохова К. А.

„Затверджую"
Перший проректор
Тернопільського державного
медичного університету
ім. І.Я.Горбачевського
проф. Мисула І.Р.

„ 17 " жовтня 2012 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Пацкань Л.О. у навчальний процес

4. **Назва пропозиції для впровадження:** " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції "
5. **Ким запропоновано:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра клініко – лабораторної діагностики, здобувач Пацкань Л.О.

3.Джерело інформації: матеріали дисертаційної роботи Пацкань Л.О. " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції ", які представлені у наступних роботах:

Пацкань Л.О. Вплив парацетамолу на активність процесів ліпопероксидації і стан антиоксидантної системи щурів на тлі тривалого застосування нітритів./ Пацкань Л.О., Кліщ І.М. // Медична хімія. – 2012.- Т.14, № 2 - С.87

4.Де та коли впроваджено: на кафедрі патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського при проведенні практичних занять та лекцій по темах „Патологічна фізіологія печінки"

5.Результати впровадження: Застосування результатів досліджень Пацкань Л.О., дозволять поглибити знання студентів про патофізіологічні механізми порушень функції печінки при медикаментозних ураженнях, на фоні нітритної інтоксикації.

6.Зауваження та пропозиції: не внесено

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри
патологічної фізіології,
д. мед. наук, проф. Бондаренко Ю.І.

Затверджую"
Перший проректор
Тернопільського державного
медичного університету
ім. І.Я.Горбачевського
проф. Мисула І.Р.

„17" жовтня 2012 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Пацкань Л.О. у навчальний процес

1. **Назва пропозиції для впровадження:** " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції ".

2. **Ким запропоновано:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра клініко – лабораторної діагностики, здобувач Пацкань Л.О.

3. **Джерело інформації:** матеріали дисертаційної роботи Пацкань Л.О. " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції ", які представлені у наступних роботах:

Пацкань Л.О. Стан ендогенної інтоксикації у щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі тривалого застосування нітритів./ Пацкань Л.О., Кліщ І.М. // Вісник проблем біології та медицини. – 2012.- Т.2, № 3 - С.96

4. **Де та коли впроваджено:** на кафедрі патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського при проведенні практичних занять та лекцій по темах „Патологічна фізіологія печінки"

5. **Результати впровадження:** Застосування результатів досліджень Пацкань Л.О. дозволять поглибити знання студентів про патофізіологічні механізми порушень функції печінки при гострому гепатиті, про модулятори активності ферментів.

6. **Зауваження та пропозиції**: не внесено

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри
патологічної фізіології,
д. мед. наук, професор Бондаренко Ю.І.

„Затверджую"
Перший проректор
Тернопільського державного
медичного університету
ім. І.Я.Горбачевського
проф. Мисула І.Р.

„ 17 " жовтня 2012 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Пацкань Л.О. у навчальний процес

1. Назва пропозиції для впровадження: " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції ".

2. Ким запропоновано: Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра клініко – лабораторної діагностики, здобувач Пацкань Л.О.

3. Джерело інформації: матеріали дисертаційної роботи Пацкань Л.О. " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції ", які представлені у наступній роботі:

Пацкань Л.О. Вплив парацетамолу на активність процесів ліпопероксидації і стан антиоксидантної системи щурів на тлі тривалого застосування нітритів./ Пацкань Л.О., Кліщ І.М. // Медична хімія. – 2012.- Т.14, № 2 - С.87

4. Де та коли впроваджено: на кафедрі медичної біохімії Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського при проведенні практичних занять та лекцій.

5. Результати впровадження: Застосування результатів досліджень Пацкань Л.О. дозволять поглибити знання студентів про активність процесів ліпопероксидації і стан антиоксидантної системи на тлі тривалого застосування нітритів та парацетамолу.

6. Зауваження та пропозиції: не внесено

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри медичної біохімії,
д-р мед. наук, професор Корда М. М.

„Затверджую"
Проректор з науково –
педагогічної роботи
Буковинського державного
медичного університету
доц. Герун І. В.

„ 19 " 09 2012 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Пацкань Л.О. у навчальний процес

1. Назва пропозиції для впровадження: " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції "

2. Ким запропоновано: Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра клініко – лабораторної діагностики, здобувач Пацкань Л.О.

3.Джерело інформації: матеріали дисертаційної роботи Пацкань Л.О. " Патогенетичні особливості гепатотоксичності парацетамолу на фоні нітритної інтоксикації і методи фармакологічної корекції ", які представлені у наступній роботі:

Пацкань Л.О. Стан ендогенної інтоксикації у щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі тривалого застосування нітритів./ Пацкань Л.О., Кліщ І.М. // Вісник проблем біології та медицини. – 2012.- Т.2. № 3 - С.96

4.Де та коли впроваджено: на кафедрі патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету при проведенні практичних занять та лекцій по темах: „Патологічна фізіологія печінки"

5.Результати впровадження: Застосування результатів досліджень Пацкань Л.О., дозволять поглибити знання студентів про патофізіологічні механізми порушень функції печінки при медикаментозних ураженнях, на фоні нітритної інтоксикації.

6.Зауваження та пропозиції: не внесено

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри
патологічної фізіології,
д-р мед. наук, проф. Роговий Ю.С.