

ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ імені І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ»

КОПАНИЦЯ ОКСАНА МИРОНІВНА

УДК 613.292-06:612.015.11/.32:[616.12+616.341+616.36]-091.8-092.9

**БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ПОШКОДЖЕННЯ ТКАНИН
ОРГАНІЗМУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
ЗАСТОСУВАННЯ КАРАГІНАНУ**

03.00.04 – біохімія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Державному вищому навчальному закладі «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор

Марущак Марія Іванівна, Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», завідувач кафедри функціональної і лабораторної діагностики.

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор **Лаповець Любов Євгенівна**, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, завідувач кафедри клінічної лабораторної діагностики факультету післядипломної освіти;

кандидат медичних наук, доцент **Геруш Ігор Васильович**, Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет МОЗ України», проректор з науково-педагогічної роботи, доцент кафедри біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії.

Захист відбудеться «07» грудня 2018 р. об 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 58.601.04 у Державному вищому навчальному закладі «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» за адресою: 46001, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Державного вищого навчального закладу «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» за адресою: 46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8.

Автореферат розісланий «05» листопада 2018 року.

Учений секретар спеціалізованої вченої ради

Т.Я. Ярошенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Розвиток харчової індустрії, сучасний рівень наукових досліджень у галузях теоретичної та прикладної хімії, біохімії, біотехнології, фізіології, гігієни харчування та нутриціології; динамічне зростання обсягів виробництва та асортименту продуктів харчування, а також інтенсивна інтеграція України в світову спільноту зумовлюють широке використання добавок у технології харчових продуктів (Ощипок І.М., 2015; Stryamets N. et al., 2015). Серед харчових добавок полісахариди добре відомі як функціональні добавки, які мають високу молекулярну масу, добре розчиняються у воді та використовуються для покращення текстури кінцевої продукції (Costa M. et al., 2018; González R.E. et al., 2018). В останні десятиріччя карагінани стали одними з найпопулярніших гідроколоїдів у харчовій промисловості (Mahmood W.A.K. et al., 2014). Варто зазначити, що на сьогодні карагінани мають найвищий комерційний загальний обсяг виробництва (близько 60 тис. тонн на рік), що становить 626 млн доларів США щорічного прибутку (Rhein-Knudsen N. et al., 2015). Основним їх призначенням є утворення гелів, тому карагінани широко використовують як емульгатори, стабілізатори, загущувачі (Кучерук З.І., Цуканова О.С., 2014). Карагінани належать до розчинних харчових волокон, вони беруть участь у регулюванні гомеостазу, мають імуностимулювальну й антикоагулянтну властивості, що робить цікавим їх застосування у харчових продуктах функціонального призначення (Weiner M.L., 2014).

У той же час, безпечна добова доза споживання харчових добавок неоднозначна. Незважаючи на те, що безпечність карагінану в харчових продуктах обговорюється протягом десятиріч, E407 зберігає статус безпечної добавки “Generally Regarded as Safe”. Експертний комітет з харчових добавок ФАО/ВООЗ встановив його допустиму добову дозу – до 75 мг на 1 кг маси тіла (Younes M. et al., 2018). У 2015 році Спільний експертний комітет із харчових добавок ВООЗ дійшов до висновку про безпечність застосування карагінану в дитячих сумішах (McKim J.M.Jr. et al., 2016). Карагінани також використовують у фармацевтичній, косметичній, поліграфічній і текстильній промисловості (Li L. et al., 2014; Araujo J.V. et al., 2014.).

Проте існують суперечливі дані щодо безпечності карагінану. У ряді досліджень зазначено, що він активує сигнальні запальні шляхи, що призводить до індукції прозапальних цитокінів (Bhattacharyya S. et al., 2013; Shang Q. et al., 2017). В інших дослідженнях показано, що карагінани проходять через кишковий епітелій; переносяться з порталним кровотоком до печінки; зв'язуються з TLR4 й індукують прозапальні реакції, а також пригнічують чутливість до інсуліну (Bhattacharyya S. et al., 2015). Незважаючи на велику кількість наукових доказів на користь безпечності карагінану, деякі дослідники стверджують про упередженість даних щодо безпечності застосування гідроколоїду та змову великих агрокорпорацій (Tobacman J.K., 2015).

Це умовлює необхідність глибшого вивчення в умовах експерименту біохімічних процесів, що перебігають у стінці кишки та інших органах при застосуванні різних концентрацій карагінану.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної наукової роботи ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» на тему «Біохімічні механізми порушень метаболізму за умов надходження до організму токсикантів різного генезу» (№ державної реєстрації 0116U003353). Здобувач є співвиконавцем даної наукової роботи.

Мета: з'ясувати особливості метаболічних процесів у стінці тонкої кишки, міокарді та печінці експериментальних тварин при застосуванні розчину к-карагінану.

Завдання дослідження:

1. Вивчити ступінь порушення процесів білкової та ліпідної пероксидації при застосуванні 0,5 % й 1,0 % розчину к-карагінану.
2. Оцінити показники антиоксидантної системи захисту щурів при використанні різних концентрацій к-карагінану.
3. З'ясувати рівень ендогенної інтоксикації в організмі тварин, які споживали 0,5 % й 1,0 % розчин к-карагінану.
4. Дослідити показники системи мітохондріального окиснення та стан клітинних мембран стінки тонкої кишки, легень і серця при застосуванні різних доз к-карагінану.
5. Визначити біохімічні маркери пошкодження тонкої кишки, легень і серця при застосуванні 0,5 % й 1,0 % розчину к-карагінану.
6. Встановити характер мікроскопічних змін тканин організму щурів в умовах експериментального використання к-карагінану.

Об'єкт дослідження – біохімічні процеси в організмі щура при застосуванні к-карагінану.

Предмет дослідження – показники енергозабезпечувального, вільнорадикального окиснення, стан антиоксидантної системи, виразність ендогенної інтоксикації, шляхи реалізації клітинної загибелі у щурів, які споживали 0,5 % й 1,0 % розчин к-карагінану.

Методи дослідження: експериментальні – моделювання дії к-карагінану; біохімічні – оцінка інтенсивності енергозабезпечувального окиснення, процесів білкової та ліпідної пероксидації, системи антиоксидантного захисту, стану ендогенної інтоксикації, активності амінотрансфераз; цитометричні – оцінка відсотка лейкоцитів із ознаками апоптозу та некрозу; морфологічні – аналіз ступеня структурних пошкоджень тканин тонкої кишки, печінки та міокарда; математико-статистичні – для обробки отриманих цифрових результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше проведено дослідження особливостей окиснювальних процесів і стану антиоксидантного захисту у тварин, які споживали к-карагінан у межах максимальної допустимої добової дози (0,5 % розчин) та за умови карагінанової інтоксикації (1,0 % розчин).

Уперше встановлено, що пероральне застосування 0,5 % розчину к-карагінану щурам призводить до вірогідної активації процесів вільнорадикального окиснення у стінці тонкої кишки, тоді як споживання щурами з питною водою 1,0 % к-карагінану супроводжується достовірним підвищенням показників ліпідної та білкової пероксидації у стінці тонкої кишки, тканинах міокарда та печінки.

Уперше показано, що при пероральному застосуванні 0,5 % розчину к-карагінану зростають показники ензимної й неензимної ланок антиоксидантної системи захисту в стінці тонкої кишки та печінці. При експериментальному використанні 1,0 % розчину к-карагінану активація ензимної ланки супроводжується статистично значимим виснаженням глутатіонової системи захисту в стінці тонкої кишки і печінці та активацією системи глутатіону в тканинах міокарда.

З'ясовано вплив метаболічних порушень на стан ендогенної інтоксикації, який свідчить про статистично значуще зростання загального пулу речовин низької та середньої молекулярної маси в сироватці крові за умови споживання щурами к-карагінану. Підвищення рівня досліджуваних фракцій молекул при довжинах хвиль 242, 254 і 280 нм відбувається через надмірне їх утворення в тканинах організму, в основному за рахунок катаболічного пулу, з порушенням процесів їх елімінації. При цьому застосування 1,0 % розчину к-карагінану зумовлює достовірно нижчу здатність нирок до виведення продуктів ендотоксикозу.

Експериментальне застосування к-карагінану в різних концентраціях зумовлює дезорганізацію енергозабезпечувального окиснення в ентероцитах і гепатоцитах, на що вказує зниження сукцинатдегідрогеназної й цитохромоксидазної активності в мітохондріях тонкої кишки та печінки.

Уперше виявлено, що пероральне застосування 0,5 % і 1,0 % розчинів к-карагінану в щурів супроводжується, відповідно, зростанням відсотка лейкоцитів із ознаками апоптозу. Введення 1,0 % розчину к-карагінану призводить до більш виразного підвищення активності каспази-3 у сироватці крові, порівняно з введенням 0,5 % розчину к-карагінану, що свідчить про збільшення виразності апоптичних процесів у кишечнику при зростанні дози полісахаридів.

Морфологічні дослідження вказують на картину запалення в стінці тонкої кишки за умови застосування різних концентрацій к-карагінану, тоді як пошкодження епітеліоцитів та їх дистрофія, дезорганізація сполучнотканинних елементів підслизового шару тонкої кишки при застосуванні 1,0 % к-карагінану супроводжується морфологічними змінами у печінці та серці.

Практичне значення одержаних результатів. Експериментально доведено активацію оксидативних процесів у стінці тонкої кишки за умови застосування 0,5 % розчину к-карагінану, а також додатково в печінці при експериментальному споживанні 1,0 % розчину к-карагінану, та їх взаємозв'язок із процесами клітинної загибелі, що науково обґрунтовує доцільність і перспективність комплексного вивчення впливу харчової добавки на рівні організму, а також

створює підґрунтя для перегляду рекомендацій щодо безпечної добової дози досліджуваного полісахариду.

Основні положення дисертаційної роботи можуть бути використані в навчальному процесі при викладанні медичної біохімії, клінічної лабораторної діагностики, патологічної фізіології, гастроентерології та патологічної анатомії студентам медичних навчальних закладів, а також у роботі науково-дослідних лабораторій за даною проблематикою.

Результати проведених досліджень упроваджено в наукову роботу та навчальний процес на кафедрах біологічної та медичної хімії імені академіка Г.О. Бабенка Державного вищого навчального закладу «Івано-Франківський національний медичний університет»; медичної біохімії, функціональної і лабораторної діагностики Державного вищого навчального закладу «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»; біохімії навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини»; біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет».

Особистий внесок здобувача. Здобувачем виконано патентно-інформаційний пошук, аналіз вітчизняної та зарубіжної наукової літератури з досліджуваної проблеми, самостійно проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку отриманих даних, науковий аналіз та узагальнення результатів досліджень, сформульовано основні наукові положення і висновки дисертації, написано й оформлено дисертаційну роботу. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, викладено фактичний матеріал дисертації. Експериментальну частину роботи виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», яка акредитована на право проведення вимірювань, що знаходяться в сфері державного метрологічного нагляду (свідоцтво про атестацію № 053/13 від 4 березня 2013 р.).

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційної роботи оприлюднено на X науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2017), XII науково-практичній конференції молодих вчених і студентів імені Абуалі ібні Сіно з міжнародною участю «Роль молоді у розвитку медичної науки» (Душанбе, 2017), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Синтез і аналіз біологічно-активних речовин і лікарських субстанцій» (Харків, 2018), міжнародній науково-практичній конференції «Пріоритети розвитку медичних наук у XXI столітті» (Одеса, 2018), сателітній, дистанційній, науково-практичній конференції «Фундаментальна наука в сучасній медицині 2018» (Мінськ, 2018).

Публікації. Основні положення роботи висвітлені в 11 публікаціях, із яких 5 – у фахових наукових виданнях, 1 – у періодичному іноземному виданні, 5 – у матеріалах наукових конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 162 сторінках друкованого тексту (основна частина – на 110 сторінках) і складається із таких розділів: вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, 2 розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки, список використаних джерел, що містить 217 бібліографічних описів (101 – кирилицею та 116 – латиницею), та додатки. Робота проілюстрована 21 таблицею та 23 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. Дисертаційне дослідження виконане на 72 білих безпородних статевозрілих самцях-щурах. Тварин утримували у віварії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» на стандартному раціоні, відповідно до санітарно-гігієнічних норм та вимог GLP. Усі експерименти виконано з дотриманням норм Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, що використовуються для досліджень та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Комісією з питань біоетики ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол № 46 від 23.04.2018 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Піддослідних щурів поділили на три групи по 12 тварин у кожній: 1-а група – контроль (інтактні тварини), 2-а – тварини, що споживали 0,5 % розчин к-карагіану, 3-а – тварини, що вживали 1,0 % розчин к-карагіану. 2-й і 3-й групам тварин був забезпечений вільний доступ до, відповідно, 0,5 % і 1,0 % розчину к-карагіану у питній воді протягом 1 місяця (патент України № а201014510, Моуана Т.Н., 1990). Згідно з даними ВООЗ і FAO, добова доза, дозволена для дорослої людини, становить 20–40 мг/кг маси тіла на добу, тобто в середньому 1,5 – 3,0 г/добу, тоді як у Codex Committee on Nutrition for Special Dietary Foods максимальна добова доза для немовлят становить 300–1000 мг/кг/добу, тобто у середньому 0,9–3,0 г/добу. Проведений аналіз вказує на те, що для обох вікових категорій є спільною добова доза к-карагіану, тому для дослідження було обрано 2 дози к-карагіану: 1,0 % розчин (1,0 г на 100 мл води), що становить в середньому 0,4 г/добу (проте 2000 мг/кг у перерахунку на масу щура), що ми вважали карагіановою інтоксикацією, і половину цієї дози 0,5 % (0,5 г на 100 мл води, що у перерахунку становить 1000 мг/кг), що ми вважали максимально допустимою добовою дозою к-карагіану.

Добову спожиту кількість карагіану ми розраховували за кількістю випитої рідини. Щури в експерименті за добу споживали в середньому (38,6±1,2) мл рідини.

Евтаназію тварин проводили шляхом пункції серця під глибокою анестезією, відповідно до вимог Комітету по догляду за тваринами (Резніков О., 2003). Об'єктом дослідження були кров, тканини тонкої кишки, печінки та серця.

Інтенсивність вільнорадикального окиснення та стан антиоксидантної системи оцінювали за вмістом гідропероксидів ліпідів (ГП) (Темирбулатов Р.,

Селезнев Е., 1981), ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) (Федорова Т.Н. и соавт., 1983), продуктів окиснювальної модифікації протеїнів (ОМП) (Мешишен І.Ф., 1998; Арчаков А.И., Михосоев И.М., 1998), супероксиддисмутазою (СОД; КФ 1.15.1.11) (Чевари С., 1985) і каталазою (КТ; КФ 1.11.1.6) (Королук М.А., 1988) активністю, активністю глутатіонпероксидази (ГП, КФ 1.11.1.9) (Кругликова Г.О., 1976) і глутатіон-S-трансферази (ГТ, КФ 1.5.1.18) (Habig H.W. et al., 1974), концентрацією відновленого глутатіону (ВГ) (Danielle K. et al., 2012) у крові і тканинах тонкої кишки, печінки та серця. Вміст загального білка визначали на біохімічному напівавтоматичному аналізаторі «Humalyzer» (Human, Німеччина). Синдром ендогенної інтоксикації оцінювали за вмістом речовин низької і середньої молекулярної маси в сироватці крові, еритроцитах і сечі (Малахова М.Я., 2000; Карякина Е.В., Белова С.В., 2004) та розрахунковими коефіцієнтами. Показники енергозабезпечення клітин включали визначення у мітохондріях гепатоцитів й ентероцитів активності сукцинатдегідрогенази (СДГ; КФ 1.3.99.1) (Ещенко Н.Д., Вольский Г.Г., 1982) і цитохромоксидази (ЦХО; КФ 1.9.3.1) (Кривченкова Р.С., 1977). Для визначення активності аланінамінотрансферази (АлАТ; КФ 2.6.1.2) та аспартатамінотрансферази (АсАТ; КФ 2.6.1.1) використовували метод Райтмана і Френкеля (Горячковский А.М., 1994). Оцінку апоптозу та некрозу клітин лейкоцитарної суспензії визначали методом проточної лазерної цитофлуориметрії з використанням FITC-міченого анексину V та пропідію йодид (PI) з набору реагентів «Sigma Aldrich» на апараті Epics XL («Beckman Coulter») (Maiani N.A. et al., 2004), а також за активністю каспази-3 (Hug H. et al., 1999).

Для якісного і кількісного аналізу ступеня структурних змін стінки тонкої кишки, печінки та серця проводили морфологічні і морфометричні дослідження (Гоулдстейн Дж. и соавт., 1984).

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення «Excel» («Microsoft», США) та «STATISTICA» 6.0 («Statsoft», США) з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки одержаних даних. Розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m), медіану і квартилі розподілу Me (Q₂₅–Q₇₅). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою t-критерію Стьюдента або ж U-критерію Мана–Уїтні (Гублер Е.В., 1978). Аналіз кореляційних зв'язків отриманих результатів проводили з використанням коефіцієнтів кореляції Пірсона або Спірмена. Зміни вважали достовірними при $p < 0,05$ (Зінкевич Т. та співавт., 2012).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Універсальним механізмом пошкодження клітинних мембран є активація процесів пероксидного окиснення, що вказує на розвиток патологічних процесів.

Установлено, що застосування 0,5 % розчину к-карагінану щурам у питній воді зумовлювало активацію пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у стінці тонкої кишки, зокрема, вміст ГП зростав на 12,9 %, ТБК-АП – на 17,3 %. Слід

зазначити, що досліджувані показники у міокарді та печінці статистично значимо не відрізнялись від показників норми, проте в гомогенаті печінки виявлена тенденція до зростання показників ліпопероксидації (табл. 1).

Застосування 1,0 % розчину к-карагінану щурам у питній воді зумовлювало активацію ПОЛ як у стінці тонкої кишки, так і в тканинах печінки та міокарда, проте інтенсивність їх була різною (див. табл. 1). Так, у тканинах тонкої кишки вміст ГП підвищувався на 31,2 %, у міокарді – на 12,0 %, у печінці – на 20,8 % та, відповідно, концентрація ТБК-АП підвищувалася на 32,8 %, 12,0 % і 20,6 %, ($p < 0,05$).

За умови застосування 1,0 % розчину к-карагінану активність ліпопероксидації була найвищою у стінці тонкої кишки, тоді як найменше показники ГП і ТБК-АП зростали у тканинах міокарда.

Таблиця 1 – Показники пероксидного окиснення ліпідів у стінці тонкої кишки, серці та печінці щурів за умови вживання розчину к-карагінану у питній воді протягом 1 місяця (Ме [Q25-Q75])

| Показник | Контрольна група 1 (n=12) | Дослідна група 2 (n=12) | Дослідна група 3 (n=12) |
|-------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Тканини стінки тонкої кишки | | | |
| ГП, ум. од/мг протеїну | 0,70 [0,68;0,73] | 0,79 [0,75;0,83]* | 0,92 [0,87;0,96]*# |
| ТБК-АП, мкмоль/мг протеїну | 0,33 [0,28;0,38] | 0,39 [0,36;0,41]* | 0,44 [0,42;0,47]*# |
| Тканини міокарда | | | |
| ГП, ум. од/мг протеїну | 0,89 [0,85;0,94] | 0,87 [0,81;0,93] | 1,00 [0,94;1,05]*# |
| ТБК-АП, мкмоль/мг протеїну | 0,35 [0,32;0,38] | 0,36 [0,34;0,38] | 0,40 [0,38;0,41]*# |
| Тканини печінки | | | |
| ГП, ум. од/мг протеїну | 0,80 [0,75;0,85] | 0,84 [0,79;0,89] | 0,96 [0,92;1,00]*# |
| ТБК-АП, мкмоль/мг протеїну | 0,45 [0,42;0,48] | 0,48 [0,45;0,51] | 0,54 [0,51;0,58]*# |
| Примітка 1. * – відмінність достовірна стосовно контролю ($p < 0,05$). | | | |
| Примітка 2. # – відмінність достовірна між дослідними групами ($p < 0,05$). | | | |

Порівнюючи відмінності у зростанні вільнорадикальних процесів у тварин за умови застосування різного відсотка к-карагінану ми встановили перевищення у 3-й дослідній групі вмісту ГП у тканинах стінки тонкої кишки на 18,1 %, у серці – на 14,3 %, у печінці – на 15,1 %, і відповідно, концентрації ТБК-АП на 15,5 %, 10,1 % і 13,7 % порівняно з даними 2-ї дослідної групи ($p < 0,05$).

За умови застосування 0,5 % розчину к-карагінану в експерименті встановлено достовірне зростання ОМП у стінці тонкої кишки (вміст

кетонодинітрофенілгідразонів був вищим на 14,3 % й альдегідодинітрофенілгідразонів – на 17,6 % проти контрольних значень) ($p < 0,05$). При цьому пероксидного окиснення білкових молекул практично не зазнавали тканини печінки та міокарда. За умови експериментального вживання 1,0 % розчину к-карагінану у питній воді протягом 1 місяця встановлено достовірне зростання кетонодинітрофенілгідразонів у стінці тонкої кишки (на 57,0 %) і печінці (на 23,0 %) та, відповідно, альдегідодинітрофенілгідразонів на 47,7 % і 19,1 %, проти контрольних значень ($p < 0,01$). При цьому окиснювальної модифікації більшою мірою зазнавали протеїни нейтрального характеру. Слід зазначити, що ОМП у міокарді при застосуванні к-карагінану, зареєстрована при довжині хвилі 370 нм, перевищувала на 14,3 % дані контролю ($p < 0,05$).

Порівнюючи відмінність у зростанні рівня ОМП у тварин за умови застосування різного відсотка к-карагінану, встановлено перевищення у 3-й дослідній групі вмісту кетонодинітрофенілгідразонів у тканинах стінки тонкої кишки на 42,7 %, у серці – на 10,5 %, у печінці – на 18,8 %, і відповідно, вмісту альдегідодинітрофенілгідразонів на 30,1 %, 9,8 % і 9,6 %, порівняно з даними 2-ї дослідної групи ($p < 0,05$). Порівнюючи зміни показників ОМП та ПОЛ у тканинах організму щурів слід відмітити односпрямоване зростання пероксидації, проте максимальне зростання досліджуваних показників виявлялося у гомогенаті стінки тонкої кишки.

За умови застосування 0,5 % розчину к-карагінану в експерименті встановлено достовірне зростання активності СОД у гомогенаті стінки тонкої кишки (на 17,6 %) і печінці (на 15,7 %), порівняно з контролем ($p < 0,05$). Пероральне введення 1,0 % р-ну к-карагінану також зумовлювало зростання активності СОД у гомогенаті стінки тонкої кишки (в 1,32 раза, $p < 0,05$) і печінці (в 1,30 раза, $p < 0,05$). При порівнянні відмінностей у зростанні активності СОД у тварин за умови використання різного відсотка к-карагінану встановлено вищі показники супероксиддисмутази активності у тканинах стінки тонкої кишки та печінці у 3-й дослідній групі, в середньому на 14,0 %, порівняно з даними 2-ї дослідної групи ($p < 0,05$). Як показали отримані результати, застосування 0,5 % розчину к-карагінану в експерименті веде до достовірного зростання активності каталази в гомогенаті стінки тонкої кишки (на 14,0 %) та печінці (на 9,0 %), порівняно з контролем ($p < 0,05$). Пероральне застосування 1,0 % розчину к-карагінану також зумовлювало зростання активності каталази в гомогенаті стінки тонкої кишки (в 1,18 раза, $p < 0,05$) та печінці (в 1,13 раза, $p < 0,05$). При цьому достовірних відмінностей каталазної активності між 2-ю і 3-ю дослідними групами не встановлено.

Аналізуючи динаміку змін активності досліджуваних ензимів у тканинах організму щурів при застосуванні 1,0 % розчину к-карагінану у питній воді протягом 1 місяця встановлено достовірно вищі показники СОД у тканинах тонкої кишки і печінки, проти каталази. При цьому коефіцієнт антиоксидантного захисту в стінці кишки становив 1,11 ($p < 0,05$), в міокарді – 1,0 ($p > 0,05$) і в печінці – 1,15 ($p < 0,05$). Зростання співвідношення СОД/каталаза обумовлено зниженням активності каталази.

Система глутатіону є однією з активних складових антиоксидантної системи захисту організму, яка відіграє велику роль у забезпеченні балансу між про- та антиоксидантами. У результаті аналізу результатів, отриманих у 2-й дослідній групі, встановлено зростання вмісту відновленого глутатіону (на 7,9 %, $p < 0,05$), активності ГП (на 15,8 %, $p < 0,05$) і ГТ (на 54,6 %, $p < 0,001$) у тканинах тонкої кишки. У тканині печінки щурів 2-ї дослідної групи активність ГП зменшувалася на 12,4 %, тоді як показник активності ГТ підвищувався на 12,0 %, порівняно з контролем ($p < 0,05$). У сироватці крові щурів, що вживали з питною водою 0,5 % розчин к-карагінану, виявлено статистично значимо вищий рівень ВГ (на 9,7 %, $p < 0,05$), порівняно з тваринами контрольної групи.

Аналізуючи отримані результати у 3-ій дослідній групі ми встановили зниження у гомогенаті тонкої кишки вмісту ВГ на 22,5 %, активності ГП і ГТ, відповідно, на 29,3 % і 39,8 %, порівняно з контролем. Слід зазначити, що досліджувані показники у 3-ій групі були достовірно нижчими, ніж у 2-й групі, зокрема, вміст ВГ – на 30,4 %, активність ГП – на 58,4 % і активність ГТ – на 94,4 % ($p < 0,001$). У тканинах печінки щурів 3-ї групи встановлено зниження вмісту ВГ на 16,1 %, активності ГП і ГТ, відповідно, на 21,0 % і 17,0 %, порівняно з контролем ($p < 0,01$). Слід зазначити, що досліджувані показники у 3-ій групі були достовірно нижчими, ніж у 2-й групі, зокрема, вміст ВГ – на 12,1 %, активність ГТ – на 29,0 % ($p < 0,01$). У сироватці крові при зниженні вмісту ВГ (на 17,3 %, $p < 0,01$) достовірно зростала активність ГП (на 17,4 %, $p < 0,01$) і ГТ (на 14,2 %, $p < 0,01$), порівняно з контрольними значеннями. При цьому у 3-й групі у сироватці крові вміст ВГ був нижчий на 27,0 %, а активність ГТ – вища на 10,4 %, порівняно з даними 2-ї групи ($p < 0,01$). У тканинах серця щурів 3-ї групи виявлено підвищення активності ГП (на 24,1 %, $p < 0,01$) і ГТ (на 15,1 %, $p < 0,01$), порівняно з контролем, а також тенденцію до зростання вмісту відновленого глутатіону. Аналіз показників глутатіонової системи у тканинах організму вказує на різницю змін глутатіонової антиоксидантної системи в тканинах щура, яка залежить від концентрації к-карагінану.

Підвищення активності ГП та рівня ВГ у 2-й дослідній групі, можливо, зумовлене тим, що внаслідок дії к-карагінану відбувається посилене утворення радикальних метаболітів і збільшується вміст продуктів ПОЛ насамперед у стінці кишки. За цих умов включається захисна реакція організму тварин й активується система антиоксидантного захисту. Підвищення вмісту ВГ й активності ГП у печінці, на нашу думку, обумовлено тим, що близько 90 % ВГ синтезується у печінці.

Як показали отримані результати, при надходженні 1,0 % р-ну к-карагінану до організму щурів змінюється функціонування системи кон'югації: знижується вміст ВГ, імовірно, за рахунок окиснення SH-груп пептиду, та активність ГТ у тканинах тонкої кишки та печінки і в сироватці крові. Слід також відмітити, що у сироватці крові, на фоні зниження вмісту ВГ, виявлено підвищення активності ГП й ГТ. Це, очевидно, обумовлене вичерпанням пулу ВГ за рахунок інтенсивного використання глутатіонпероксидазою й глутатіонтрансферазою. При пероральному застосуванні 1,0 % розчину к-карагінану активується глутатіонова

система у міокарді, що свідчить про залучення серця у патологічний процес. Отримані результати вказують на значні органно-тканинні різниці у ступені впливу різних концентрацій к-карагінану на стан глутатіонової системи в організмі щура.

Аналіз характеру спектрограм РНіСММ у діапазоні довжин хвиль 242–282 нм, у сироватці й на глікокаліксі еритроцитів крові експериментальних тварин свідчить про відмінність якісного складу цих речовин у порівнянні з такими у контрольній групі. Так, у венозній крові тварин, які вживали з водою 1,0 % розчин к-карагінану, значення показників екстинкції сироватки крові зростало в діапазоні 242 нм, що свідчить про підвищений вміст речовин катаболічного походження в крові таких щурів. У сироватці крові фракція речовин, що мають максимум поглинання 254 нм, достовірно більша як у 2-й (на 20,0 %), так і 3-й групах (на 66,7 %), порівняно з контролем. Варто зазначити, що показник E254 був статистично значимо вищий у дослідній групі із застосуванням 1,0 % к-карагінану, ніж у групі з використанням 0,5 % розчину к-карагінану ($p < 0,01$). Встановлено також зростання кислоторозчинної фракції речовин при довжині хвилі 280 нм у 2-й (на 47,8 %) і 3-й (на 65,2 %) дослідних групах, порівняно з контрольними значеннями.

Спектрограми еритроцитів характеризувалися зміщенням спектральних кривих у діапазоні хвиль 242 нм і 280 нм з більш високими значеннями оптичної густини. Так, показник E242 у 2-й групі був вищий на 25,0 %, у 3-й групі – на 75,0 %, показник E254 на 17,8 % і 40,0 % та показник E282 на 31,8 % і 77,3 % відповідно, порівняно з контролем ($p < 0,01$). Варто зазначити, що показники 3-ї групи були достовірно вищі, ніж аналогічні показники 2-ї групи: E242 – на 17,8 %, E254 – на 17,8 %, E282 – на 31,8 % ($p < 0,01$). Це свідчить про напруження дезінтоксикаційних резервів. Значний внесок у збільшення вмісту РНіСММ на глікокаліксі еритроцитів тварин через 1 місяць експериментального застосування 1,0 % к-карагінану відбувається за рахунок кількості речовин, які реєструються на довжині хвилі 242 нм, що свідчить про зміщення у сторону речовин, в основному, катаболічної природи (поява пулу речовин у зоні довжин хвиль 236–254 нм). Практично так само збільшилася кількість продуктів деградації протеїнів, що виявляються при довжині хвилі 280 нм. Аналізуючи РНіСММ у сечі встановлено, що фракції речовин при максимумі поглинання 236, 254 і 280 нм при використанні різних концентрацій к-карагінану не відрізнялися від таких у контрольній групі.

Аналіз розрахункових коефіцієнтів вказує на те, що загальний пул РНіСММ у сироватці крові був достовірно вищий у всіх дослідних групах, порівняно з контролем. Зростання ендогенної інтоксикації при застосуванні к-карагінану відбувалося, в основному, за рахунок катаболічного пулу РНіСММ сироватки: коефіцієнт K_k був вищий у 2-й групі на 23,8 % і в 3-й – на 82,4 %, порівняно з показником тварин контрольної групи ($p < 0,001$). Показник розподілу РНіСММ між протеїнами сироватки крові і глікокаліксом еритроцитів у щурів 3-ї дослідної групи підвищувався на 12,0 % поруч з високими значеннями досліджуваних фракцій молекул при довжинах хвиль 242, 254 і 280 нм у суспензії еритроцитів. Отримані дані свідчать про зниження адсорбційних можливостей еритроцитів,

особливо при вищій концентрації к-карагінану у 3-й дослідній групі. У всіх дослідних групах тварин достовірно знижувалася здатність нирок до виведення продуктів ендотоксикозу: показник елімінації токсичних продуктів статистично значимо зменшувався у 2-й групі на 20,2 %, у 3-й групі на 41,6 % ($p < 0,001$). При цьому застосування 1,0 % розчину к-карагінану зумовлювало достовірно нижчу здатність нирок до виведення продуктів ендотоксикозу, порівняно з 2-ю дослідною групою ($p < 0,01$). Отримані результати вказують на те, що при підвищенні концентрації к-карагінану зростає рівень РНіСММ за рахунок надмірного їх утворення в тканинах організму з порушенням процесів елімінації.

Як клінічний показник фізіологічного статусу і клінічний індикатор стресового стану часто використовують показники АсАТ і АлАТ, які відіграють важливу роль в обміні основних метаболітів клітини. Отримані результати вказують на тенденцію до підвищення активності амінотрансфераз у досліджуваних тканинах щура за умов застосування 0,5 % к-карагінану, що можна розглядати як помірну гіперферментемію внаслідок незначного зростання проникності плазмолемі і, в деякій мірі, внутрішньоклітинних мембран. Застосування 1,0 % розчину к-карагінану у питній воді призводить до достовірного підвищення активності амінотрансфераз у тонкій кишці (АлАТ на 10,7 %, АсАТ – 8,4 %), серці (АлАТ на 10,2 %, АсАТ – 5,8 %) і печінці (АлАТ на 11,3 %, АсАТ – 7,4 %). В умовах нормального травлення внаслідок кислотного гідролізу карагінан розщеплюється на низько- і високомолекулярні частинки, які запускають вільнорадикальні процеси, що зумовлює зростання проникності плазматичних мембран клітин організму та вихід внутрішньоклітинних ензимів у міжклітинний простір. Отже, порушення оксидантно-антиоксидантної системи у бік збільшення рівня продуктів ліпідної і білкової пероксидації провокують пошкодження мембран клітин організму.

Мітохондрії відіграють центральну роль у клітинному метаболізмі, забезпечуючи процес клітинного дихання, пов'язаного з генерацією АТФ. Основу мітохондріального енергетичного метаболізму складають реакції циклу Кребса і дихального ланцюга мітохондрій, одним з показників роботи яких є активність сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази. Активність сукцинатдегідрогенази в мітохондріях м'язового шару стінки тонкої кишки контрольної групи щурів становила ($5,03 \pm 0,17$) нМ сукцинату/мг протеїну на хв, відповідно, у мітохондріях печінки – ($12,06 \pm 0,12$) нМ сукцинату/мг протеїну на хв. За умови застосування к-карагінану активність досліджуваного ензиму у 2-й групі була достовірно меншою, ніж у контролі (у тонкій кишці – на 9,8 %, в печінці – на 6,6 %) ($p < 0,05$). У 3-й групі активність сукцинатдегідрогенази статистично значимо зменшувалася: в мітохондріях тонкої кишки на 20,0 % і в мітохондріях печінки – на 17,5 %, $p < 0,05$. При порівнянні відмінностей у зростанні активності СДГ у тварин за умови застосування різного відсотка к-карагінану у 3-й дослідній групі встановлено достовірно нижчі показники активності СДГ у тканинах стінки тонкої кишки і печінці, відповідно, на 10,15 % і 10,86 %, ніж у 2-й дослідній групі ($p < 0,05$).

Активність цитохромоксидази у мітохондріях м'язового шару стінки тонкої кишки контрольної групи щурів становила (4,84±0,19) нМ сукцинату/мг протеїну на хв, відповідно, у мітохондріях печінки – (10,70±0,24) нМ сукцинату/мг протеїну на хв. За умови застосування к-карагінану активність досліджуваного ензиму у 2-й групі була достовірно меншою, ніж у контролі (у тонкій кишці – на 12,99 %, в печінці – на 9,69 %) ($p < 0,05$). У 3-й групі активність ЦХО статистично значимо зменшувалася в мітохондріях тонкої кишки на 22,85 % і в мітохондріях печінки – на 15,08 % ($p < 0,01$). Порівнюючи відмінність у зростанні активності ЦХО у тварин за умови застосування різного відсотка к-карагінану, у 3-й дослідній групі встановлено достовірно нижчі показники активності ЦХО у тканинах стінки тонкої кишки і печінці, відповідно, на 9,86 % і 5,39 %, ніж у 2-й дослідній групі ($p < 0,05$).

Аналізуючи отримані показники енергозабезпечення, слід вказати на односпрямовані зміни ензиматичної активності сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази в тканинах організму щурів за умови застосування різних концентрацій к-карагінану. При цьому найнижчі цифри досліджуваних показників у мітохондріальних фракціях тонкої кишки та печінки були при застосуванні в експерименті 1,0 % розчину к-карагінану. Очевидно, при такій концентрації к-карагінану дихальний ланцюг мітохондрій стає потужним продуцентом активних форм кисню, які стимулюють запуск порушень структурно-функціональної організації хроматину.

Встановлено, що при експериментальному застосуванні к-карагінану в обох експериментальних групах статистично значимо зростає відсоток лейкоцитів з ознаками апоптозу (табл. 2).

Таблиця 2 – Показники клітинної загибелі у лейкоцитарній суспензії крові щурів при експериментальному застосуванні к-карагінану, Ме [Q25–Q75]

| Показник | Контроль | 2-а група | 3-я група |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Живі лейкоцити, % | 95,76 [95,28;96,77] | 90,05* [89,26;90,43] | 83,87*# [82,62;86,11] |
| Лейкоцити з ранніми ознаками апоптозу (V ⁺ /PI ⁻), % | 3,05 [2,20;3,68] | 5,89* [5,55;6,20] | 6,73*# [5,83;7,55] |
| Лейкоцити з пізніми ознаками апоптозу (V ⁺ /PI ⁺), % | 0,36 [0,10;0,60] | 3,19* [2,78;3,65] | 8,02*# [6,75;8,73] |
| Лейкоцити з ознаками некрозу (V ⁻ /PI ⁺), % | 0,83 [0,65;0,98] | 0,86 [0,73;0,98] | 1,39*# [1,20;1,61] |
| Примітка 1. * – відмінність між контролем і дослідною групою статистично значима ($p < 0,05$ – $0,001$). | | | |
| Примітка 2. # – відмінність між між 2-ю і 3-ю дослідними групами статистично значима ($p < 0,05$). | | | |

Так, відсоток V^+/PI^- -клітин у 2-й групі зріс в 1,9 раза, а в 3-й групі – у 2,2 раза, порівняно з контрольними значеннями ($p < 0,001$). Значно зріс відсоток лейкоцитів із пізніми ознаками апоптозу, порівняно з контролем: у 2-й групі – у 8,9 раза, у 3-й групі – в 22,3 раза ($p < 0,001$). Слід зазначити, що рівень некротизованих клітин при застосуванні 0,5 % к-карагіану практично не відрізнявся від значень встановленої норми, тоді як використання 1,0 % розчину к-карагіану у питній воді зумовлювало збільшення V^+/PI^+ -клітин в 1,7 раза ($p < 0,001$).

Враховуючи дослідження ролі вільнорадикальних процесів у механізмах пошкодження тканин організму при застосуванні к-карагіану було проведено кореляційний аналіз між концентрацією ТБК-АП і показниками клітинної загибелі лейкоцитів. Встановлено, що застосування 0,5 % розчину к-карагіану має прямий достовірний середньої сили взаємозв'язок з відсотком лейкоцитів із ознаками некрозу в стінці тонкої кишки. Отримані дані свідчать, ймовірно, про те, що така концентрація к-карагіану не має токсичної дії на організм тварини. Разом з іншими механізмами, які ми не досліджували, вільнорадикальне окиснення, очевидно, має локальну дію на стінку тонкої кишки, запускаючи захисний механізм, який проявляється, проте, некрозом, а не апоптозом, що потребує подальшого дослідження.

Застосування 1,0 % розчину к-карагіану характеризується достовірним позитивним взаємозв'язком між раннім апоптозом і некрозом у стінці тонкої кишки. При цьому за умов дії 1,0 % к-карагіану встановлений взаємозв'язок між раннім і пізнім апоптозом у печінці. Отримані дані вказують на те, що при застосуванні 1,0 % розчину к-карагіану продукти ПОЛ, проявляючи мембранодеструктивні властивості, порушують функціонування мембранозв'язаних ензимних комплексів, що призводить як до ініціації апоптичної загибелі, так і до пошкодження ДНК клітин. Варто також відмітити встановлену роль оксидативних процесів у механізмах ініціації апоптозу, що має пошкоджувальний вплив на тканину печінки.

Важливими медіаторами апоптозу є каспази, особливо каспаза-3, яка є основною ефекторною каспазою, що розщеплює клітинні субстрати. Встановлено збільшення активності ефекторної каспази-3 після 1 місяця експерименту в 1,5 раза у 2-й групі та в 2,8 раза у 3-й групі тварин, порівняно з контрольною групою, що вказує на каспазозалежний шлях апоптозу у випадку використання к-карагіану у щурів.

Найбільш виражені патоморфологічні зміни при тривалому надходженні *per os* в організм білих щурів к-карагіану відбувалися в тонкій кишці, де переважали прояви хронічного ентериту, а також визначалися ознаки дистрофії епітелію, що проявлялося збільшенням числа ушкоджених ентероцитів у 2,8–3,7 раза. Альтерація спеціалізованих клітинних структур також відбувалася у печінці та міокарді, однак була менш вираженою. В усіх досліджених органах більш розгорнута картина патологічних змін відзначалася при вживанні 1,0 % розчину к-карагіану, порівняно з меншою його концентрацією.

ВИСНОВКИ

У дисертації теоретично узагальнено і по-новому вирішено наукове завдання, що полягає у встановленні біохімічних механізмів впливу к-карагінану у різних концентраціях на тканини щура. Це наукове завдання вирішене шляхом експериментального вивчення інтенсивності процесів ліпідної і білкової пероксидації, активності системи антиоксидантного захисту, процесів енергозабезпечувального окиснення, показників клітинної загибелі у тканинах тонкої кишки, міокарді та печінці тварин.

1. Пероральне застосування 0,5 % розчину к-карагінану у щурів призводить до статистично значимої активації процесів вільнорадикального окиснення у стінці тонкої кишки (вміст гідроперекисів ліпідів зростає на 12,9 %, ТБК-активних продуктів – на 17,3 %, кетонітрофенілгідрозонів – на 24,8 %, альдегіднітрофенілгідрозонів – на 21,1 %). Споживання щурами з питною водою 1,0 % к-карагінану супроводжується достовірним підвищенням показників ліпідної і білкової пероксидації у стінці тонкої кишки, тканинах міокарда і печінки ($p < 0,05$).

2. При пероральному введенні к-карагінану вірогідно активується ензимна ланка антиоксидантної системи захисту в стінці тонкої кишки та печінці: застосування 0,5 % розчину супроводжується зростанням, відповідно, активності супероксиддисмутази (на 13,3 % і 15,7 %) та каталази (на 14,0 % і 15,3 %); введення 1,0 % розчину – підвищенням активності супероксиддисмутази (на 31,8 % і 29,7 %) та каталази (на 18,3 % і 12,9 %).

3. За умови перорального застосування 0,5 % к-карагінану вірогідно активується неензимна ланка антиоксидантної системи захисту у стінці тонкої кишки (зростає вміст відновленого глутатіону на 7,9 %, активність глутатіонпероксидази (на 15,8 %) і глутатіонтрансферази (на 54,6 %), у печінці (підвищується активність глутатіонтрансферази на 12,0 %) і сироватці крові (зростає рівень відновленого глутатіону на 9,7 %). Введення 1,0 % к-карагінану супроводжується статистично значимим виснаженням антиоксидантних резервів у стінці тонкої кишки (зниження вмісту відновленого глутатіону на 22,5 %, активності глутатіонпероксидази на 29,3 % і глутатіонтрансферази на 39,8 %) і печінці (зниження вмісту відновленого глутатіону на 16,1 %, активності глутатіонпероксидази на 21,0 % і глутатіонтрансферази на 17,0 %,) та активацією системи глутатіону в тканинах серця ($p < 0,01$).

4. Застосування 0,5 % розчину к-карагінану призводить до помірного підвищення активності амінотрансфераз у тканинах організму щура, тоді як вживання 1,0 % розчину к-карагінану зумовлює достовірну експресію активності аланін- та аспартатамінотрансферази у супернатанті гомогенату тонкої кишки (на 10,7 % і 8,4 %), серця (на 10,2 % і 5,8 %) та печінки (на 11,3 % і 7,4 %) ($p < 0,05$).

5. Аналіз характеру спектрограм речовин низької і середньої молекулярної маси у діапазоні довжин хвиль 242–282 нм у крові щурів, яким застосовували 0,5 % і 1,0 % розчини к-карагінану, свідчить про підвищений вміст речовин катаболічного походження (зростання показників у сироватці крові, в

діапазоні 242 нм, відповідно, в 1,9 і 2,1 раза, й на глікокаліксі еритроцитів у 1,6 й 1,8 раза). Спектрограми еритроцитів характеризувалися зміщенням спектральних кривих у діапазон хвиль 242 нм і 280 нм, що вказує на напруження дезінтоксикаційних резервів за умов дії к-карагінану.

6. Експериментальне застосування к-карагінану у різних концентраціях зумовлює дезорганізацію енергозабезпечувального окиснення в ентероцитах та гепатоцитах, на що вказує зниження сукцинатдегідрогеназної й цитохромоксидазної активності з максимумом при введенні 1,0 % розчину полісахариду, відповідно, у мітохондріях тонкої кишки (на 20,0 % і 22,9 %) та печінки (на 17,5 % і 15,1 %), $p < 0,01$.

7. Пероральне застосування 0,5 % і 1,0 % розчинів к-карагінану у щурів супроводжується, відповідно, зростанням кількості лейкоцитів з ранніми ознаками апоптозу (в 1,9 і 2,2 раза) та пізніми ознаками апоптозу (у 8,9 і 22,3 раза), порівняно з контролем ($p < 0,001$). Введення 1,0 % розчину к-карагінану призводить до більш виразного підвищення активності каспази-3 у крові, порівняно з введенням 0,5 % розчину к-карагінану, що свідчить про збільшення виразності апоптичних процесів у кишечнику при зростанні дози полісахаридів.

8. Морфологічні дослідження показали, що введення щурам 0,5 % розчину к-карагінану зумовлює запальні зміни у тонкій кишці (лімфоцитарно-макрофагальна інтоксикація, деформація ворсинок тонкого кишечника, відсутність базальної мембрани на деяких ділянках), проте не призводить до значних структурних змін у печінці та серці. Пошкодження епітеліоцитів та їх дистрофія, дезорганізація сполучнотканинних елементів підслизового шару тонкої кишки при застосуванні 1,0 % к-карагінану супроводжується морфологічними змінами у печінці і серці (зростання кількості ушкоджених гепатоцитів (у 3,4 раза) й кардіоміоцитів (в 1,8 раза)) ($p < 0,01$).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Kopanytsia O.M.**, Marushchak M.I., Krynyska I.Y. Carrageenan Induces Cell Death in Rats Blood. *International Journal of Medicine and Medical Research*. 2018. Vol. 4, iss. 1. P. 67-70. (Здобувач самостійно провела експериментальні дослідження, оформила статтю).

2. Marushchak M., Krynyska I., **Kopanytsia O.**, Tupol L., Savchenko I., Mazur L. The influence of carrageenan on markers of endogenous intoxication in rats. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*. 2018. Vol. 8 (3). P. 412-419. (Здобувач брала участь у проведенні експериментальних досліджень та аналізі результатів, оформленні статті).

3. **Копаниця О.М.**, Орел Ю.М., Шумеляк А.М., Марущак М.І. Морфологічні зміни тканин тонкої кишки, печінки і серця при застосуванні карагінану в експерименті. *Вісник наукових досліджень*. 2018. № 1 (90). С. 133-135. (Здобувачу належать ідея, проведення експериментальних досліджень, формулювання висновків).

4. **Копаниця О.М.**, Марущак М.І., Щербатий А.А. Метаболічні процеси у стінці тонкої кишки, серці й печінці при експериментальному застосуванні карагінану. *Медична та клінічна хімія*. 2017. № 3 (72), т. 19. С. 108-113. (Здобувач брала участь у розробці ідеї, проведенні експериментальних досліджень та аналізі результатів).

5. **Копаниця О.М.** Активність супероксиддисмутази і каталази у стінці тонкої кишки, серці і печінці щурів при експериментальному застосуванні карагінану. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2017. № 4 (32). С. 57-61.

6. Марущак М.І., **Копаниця О.М.**, Криницька І.Я., Ярошенко Т.Я. Пероксидне окиснення білків стінки тонкої кишки, міокарда та печінки щурів при експериментальному застосуванні карагінану. *Медична та клінічна хімія*. 2017. № 4 (73), т. 19. С. 109-114. (Здобувач самостійно спланувала і провела експериментальні дослідження, статистично опрацювала результати, оформила статтю).

7. **Копаниця О.М.**, Осінчук Р.Р., Шумеляк А.М., Мялюк О.П. Показники системи мітохондріального окиснення у щурів при експериментальному застосуванні карагінану. *Актуальні проблеми експериментальної та клінічної біохімії*: матеріали наук.-практ. конф. (м. Харків, 12–13 квітня 2018 р.). Харків, 2018. С. 33. (Здобувач виконала дослідження, статистично опрацювала та проаналізувала їх результати).

8. **Копаниця О.М.**, Мялюк О.П., Осінчук Р.Р., Шумеляк А.М. Вплив карагінану на активність амінотрансфераз у тканинах організму щура. *Пріоритети розвитку медичних наук у XXI столітті*: матеріали наук.-практ. конф. (м. Одеса, 16–17 березня 2018 р.). Одеса, 2018. С. 96-99. (Здобувач провела експериментальні дослідження, сформулювала висновки).

9. Марущак М.І., **Копаниця О.М.** Антиоксидантна заштита в стенке тонкой кишки при экспериментальном применении каррагинана. *Фундаментальная наука в современной медицине 2018*: материалы сателитной дистанционной науч.-практ. конф. (г. Минск, 2018 г.). Минск, 2018. С. 55-57. (Здобувачу належать ідея, планування і проведення експериментальних досліджень).

10. **Копаниця О.М.**, Габор Г.Г., Пирус И. В. Влияние каррагинана на маркеры эндогенной интоксикации у крыс. *Роль молодёжи в развитии медицинской науки*: материалы XII науч.-практ. конф. (г. Душанбе, 28 апреля 2017 г.). Душанбе, 2017. С. 437. (Здобувач виконала дослідження, статистично опрацювала результати).

11. **Копаниця О.М.**, Марущак М.І., Головатюк Л.М. Показники вільнорадикального окиснення в печінці при експериментальному застосуванні карагінану. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм*: матеріали X наук.-практ. конф. (м. Тернопіль, 05–06 жовтня 2017 р.). Тернопіль, 2017. С. 21. (Здобувач провела експериментальні дослідження, оформила тези).

АНОТАЦІЯ

Копаниця О.М. Біохімічні механізми пошкодження тканин організму за умов експериментального застосування карагінану. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.04 – біохімія. – Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», Тернопіль, 2018.

У дисертації теоретично узагальнено і по-новому вирішено наукове завдання, що полягає у встановленні біохімічних механізмів впливу к-карагінану у різних концентраціях на тканини щура. Виявлено, що пероральне застосування 0,5 % розчину к-карагінану призводить до статистично значимої активації процесів вільнорадикального окиснення у стінці тонкої кишки, тоді як споживання 1,0 % розчину к-карагінану супроводжується достовірним підвищенням показників ліпідної і білкової пероксидації у стінці тонкої кишки, тканинах міокарда та печінки щурів. При пероральному введенні 0,5 % розчину к-карагінану активуються ензимна й неензимна ланки антиоксидантної системи захисту в стінці тонкої кишки і печінці.

Експериментальне застосування к-карагінану в різних концентраціях зумовлює дезорганізацію енергозабезпечувального окиснення в ентероцитах і гепатоцитах. Виявлено, що пероральне застосування к-карагінану у щурів супроводжується активацією механізмів апоптичної загибелі лейкоцитів. Отримані зміни підтверджені морфологічно.

Ключові слова: оксидативний стрес, ендогенна інтоксикація, антиоксидантний захист, апоптоз, к-карагінан, експеримент.

АННОТАЦИЯ

Копаниця О.М. Биохимические механизмы повреждения тканей организма в условиях экспериментального применения каррагинана. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук (доктора философии) по специальности 03.00.04 – биохимия. – Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗ Украины», Тернополь, 2018.

В диссертации теоретически обобщена и по-новому решена научная задача, которая заключается в установлении биохимических механизмов влияния к-каррагинана в различных концентрациях на ткани крысы.

Пероральное применение 0,5 % раствора к-каррагинана крысам ведет к статистически значимой активации процессов свободнорадикального окисления в стенке тонкой кишки. Потребление крысами с питьевой водой 1,0 % каррагинана сопровождается достоверным повышением показателей липидной и белковой пероксидации в стенке тонкой кишки, тканях миокарда и печени ($p < 0,05$). При

пероральном введении к-каррагинана, вероятно, активируется энзимное звено антиоксидантной системы защиты в стенке тонкой кишки и печени.

При пероральном применении 0,5 % каррагинана, вероятно, активируется глутатионовая система антиоксидантной системы защиты в стенке тонкой кишки (возрастает содержание восстановленного глутатиона на 7,9 %, активность глутатионпероксидазы (на 15,8 %) и глутатионтрансферазы (на 54,6 %), в печени (повышается активность глутатионтрансферазы на 12,0 %) и сыворотке крови (возрастает уровень восстановленного глутатиона на 9,7 %). Введение 1,0 % раствора каррагинана сопровождается статистически значимым истощением антиоксидантных резервов в стенке тонкой кишки (снижение содержания восстановленного глутатиона на 22,5 %, активности глутатионпероксидазы (на 29,3 %) и глутатионтрансферазы (на 39,8 %) и печени (снижение содержания восстановленного глутатиона на 16,1 %, активности глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы, соответственно, на 21,0 % и 17,0 %,) и активацией системы глутатиона в тканях сердца ($p < 0,01$).

Применение 0,5 % раствора каррагинана ведет к умеренному повышению активности аминотрансфераз в тканях организма крыс, тогда как употребление 1,0 % раствора каррагинана приводит к достоверной экспрессии активности аланин- и аспартатаминотрансферазы в супернатанте гомогената тонкой кишки (на 10,7 % и 8,4 %), сердца (на 10,2 % и 5,8 %) и печени (на 11,3 % и 7,4 %) ($p < 0,05$).

Анализ характера спектрограмм веществ низкой и средней молекулярной массы в диапазоне длин волн 242–282 нм в крови крыс, которым вводили 0,5 % и 1,0 % раствор каррагинана, свидетельствует о повышенном содержании веществ катаболического происхождения (рост показателей в сыворотке крови в диапазоне 242 нм, соответственно, в 1,9 и 2,1 раза и на гликокаликсе эритроцитов (в 1,6 и 1,8 раза). Спектрограммы эритроцитов характеризовались смещением спектральных кривых в диапазон волн 242 нм и 280 нм, что указывает на напряжение дезинтоксикационных резервов в условиях действия к-каррагинана.

Экспериментальное применение к-каррагинана в различных концентрациях вызывает дезорганизацию энергообеспечительного окисления в энтероцитах и гепатоцитах, что сопровождается снижением сукцинатдегидрогеназной и цитохромоксидазной активности с максимумом при введении 1,0 % раствора полисахарида, соответственно, в митохондриях тонкой кишки (на 20,0 % и 22,9 %) и печени (на 17,5 % и 15,1 %) ($p < 0,01$).

Прием внутрь 0,5 % и 1,0 % растворов к-каррагинана у крыс сопровождается, соответственно, ростом процента лейкоцитов с ранними признаками апоптоза (в 1,9 и 2,2 раза), значительно повышается процент лейкоцитов с поздними признаками апоптоза (8,9 и 22,3 раза), по сравнению с контролем ($p < 0,001$). Введение 1,0 % раствора каррагинана приводит к более выразительному повышению активности каспазы-3 в сыворотке крови, относительно действия 0,5 % раствора каррагинана, что свидетельствует об увеличении выраженности апоптотических процессов в кишечнике при росте дозы полисахаридов.

Морфологические исследования показали, что введение крысам 0,5 % раствора каррагинана приводит к воспалительным изменениям в тонкой кишке, однако не ведет к значительным структурным изменениям в печени и сердце. Повреждения эпителиоцитов и их дистрофия, дезорганизация соединительнотканых элементов подслизистого слоя тонкой кишки при применении 1,0 % каррагинана сопровождается морфологическими изменениями в печени и сердце ($p < 0,01$).

Ключевые слова: оксидативный стресс, эндогенная интоксикация, антиоксидантная защита, апоптоз, каррагинан, эксперимент.

ANNOTATION

Kopynytsia O.M. Biochemical mechanisms of body tissues damage under conditions of experimental use of carrageenan. – Manuscript.

Thesis for Candidate of Medical Sciences Degree (PhD in Medicine), speciality 03.00.04 – biochemistry. – State Higher Educational Institution «I. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ministry of Public Health of Ukraine», Ternopil, 2018.

In the dissertation, it is a theoretical generalization and a newly solved scientific problem of the establishment of biochemical mechanisms of the influence of carrageenan in different concentrations on rat tissues.

The oral administration of 0.5 % k-carrageenan solution to rats leads to statistically significant activation of free radical oxidation processes in the small intestine wall, then the rats which consumed the 1,0 % of carrageenan with drinking water had a significant increase in lipid and protein peroxidation in the wall of the small intestine, myocardial and liver tissues. As to the oral administration of 0.5 % k-carrageenan, the enzyme and non-enzyme links of the antioxidant defense system in the small intestine and liver wall is likely to be activated.

It has been established that the experimental application of carrageenan at different concentrations causes the disruption of energy and supplying oxidation in enterocytes and hepatocytes. It has been established that the oral administration of k-carrageenan solution in rats is accompanied by an activation of leukocytes cell death mechanisms. This results have been confirmed morphologically.

Key words: oxidative stress, endogenous intoxication, apoptosis, carrageenan, small intestine, heart, liver, experiment.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

| | | |
|--------|---|------------------------------------------------|
| АлАТ | – | аланінамінотрансфераза |
| АсАТ | – | аспартатамінотрансфераза |
| АФО | – | активні форми кисисену |
| ВР | – | вільні радикали |
| ВГ | – | відновлений глутатіон |
| ГП | – | гідропероксици ліпідів |
| ГП | – | глутатіонпероксици |
| ГТ | – | глутатіонтрансфераза |
| Кк | – | величина катаболічного пулу РНіСММ сироватки |
| ММ | – | молекулярна маса |
| ОМП | – | окиснювальна модифікація протеїнів |
| ПОЛ | – | пероксидне окиснення ліпідів |
| РНіСММ | – | речовини низької і середньої молекулярної маси |
| СДГ | – | сукцинатдегідрогеназа |
| СОД | – | супероксиддисмутаза |
| ТБК-АП | – | активні продукти тіобарбітурової кисисоти |
| ЦХО | – | цитохромоксици |