

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

КОВАЛЬЧУК ІРИНА МИКОЛАЇВНА

УДК: 612.172+612.35):612.014.1:577.115:(546.221.1+612.014.482)]-092.9

**ВПЛИВ ДОНОРА СІРКОВОДНЮ НА ФУНКЦІОНАЛЬНО-
МЕТАБОЛІЧНИЙ СТАН МІОКАРДА І ПЕЧІНКИ ТА ВАРІАБЕЛЬНІСТЬ
СЕРЦЕВОГО РИТМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ ДІЇ
ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ**

14.03.03 – Нормальна фізіологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Львів 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор,
член-кореспондент НАМН України,
заслужений діяч науки і техніки України
Гжегоцький Мечислав Романович,
Львівський національний медичний
університет імені Данила Галицького МОЗ України,
професор кафедри нормальної фізіології.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор,
член-кореспондент НАН України
Сагач Вадим Федорович,
Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України,
завідувач відділу фізіології кровообігу;

доктор медичних наук, професор
Воронич-Семченко Наталія Миколаївна,
Івано-Франківський національний медичний
університет МОЗ України, завідувач кафедри фізіології.

Захист відбудеться «12» березня 2020 р. о 13³⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.600.03 у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького (79010, м. Львів, вул. Пекарська, 52).

З дисертацією можна ознайомитись у Науковій бібліотеці Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (79000, м. Львів, вул. Січових Стрільців, 6).

Автореферат розісланий «07» лютого 2020 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

Томашова С.А.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Вивчення ролі газового медіатора – гідроген сульфід (H_2S) у регуляції фізіологічних та патофізіологічних процесів у різних органах і тканинах, механізмів його впливу на клітини-мішені є одним з пріоритетних напрямків сучасних наукових досліджень (Nagpure BV, 2016; Giuffre A, Joalo B. Vicente, 2018). Наукові публікації цього профілю свідчать про важливу роль H_2S у процесах метаболізму практично всіх типів клітин, при цьому цей паракринний месенджер здійснює потужний вплив на регулювання функцій нервової, серцево-судинної, травної, імунної, ендокринної, сенсорних систем тощо (Szabo C, Ranse C, 2014; Wu D, 2019; Сагач ВФ та співавт, 2017-2019). Відомо, що свої ключові функції сірководень виявляє у серцево-судинній системі, тому важливим та актуальним завданням для сучасної науки є вивчення механізмів його впливу на регуляцію роботи серця і стан судинної системи та пов'язані з ними зміни мембранозалежних процесів, а також процеси енергосинтезу.

Важливим аспектом життя людей є вплив різних екстремальних факторів навколишнього середовища і, зокрема, радіаційного опромінення (Boerma et al, 2016). Іонізуюче випромінювання викликає розвиток оксидативного стресу, зумовлює функціональні та структурні порушення стану клітинних і субклітинних мембран різних органів (Ifigeneia VM, Danae AL, Frey B at al, 2016), проте, зміни регуляторних механізмів серцевої діяльності, енергетичних процесів та жирнокислотний склад мембран міокарда і печінки за дії радіації вивчені недостатньо. Відомо, що для нормального перебігу біохімічних та фізіологічних процесів в організмі необхідним є оптимальний рівень процесів перекисного окиснення ліпідів, урівноважений системою антиоксидантного захисту (Hamada R at al, 2019). За дії радіації значно зростає інтенсивність процесів ліпопероксидації, що може призвести до порушення жирнокислотного складу (ЖКС) мембран, зриву енергозабезпечення компенсаторно-відновних процесів (Tang FR, Loke WK, 2015). Тому, важливим критерієм оцінки стану гомеостатичних реакцій є дослідження ЖКС фосфоліпідів (ФЛ) та загальних ліпідів (ЗЛ), а також мембранозалежних процесів, зокрема, активності ензимів різних ланок метаболізму органів з різною радіорезистентністю.

На сьогодні практично не дослідженим є ймовірний паракринний регуляторний вплив гідроген сульфід шляхом модифікації структурно-функціонального стану мембран. Одним із методів, які дозволяють оцінити стан регуляторних систем різних рівнів, є аналіз варіабельності серцевого ритму (BCP) (Shaffer F, Ginsberg JP, 2017; Khan AA, Lip GYH, Shantsiva A, 2019). Тому, актуальним є комплексне дослідження активності регуляторних систем різних ланок на основі аналізу BCP, жирнокислотного складу біомембран різних органів, метаболічних клітинних процесів на основі активності ензимів енергетичного обміну за впливу гідроген сульфід та його попереднього застосування до дії радіації.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема кандидатської дисертації затверджена на засіданні Вченої ради медичного факультету №2 Львівського національного медичного університету (ЛНМУ)

імені Данила Галицького МОЗ України 15 квітня 2015 р., протокол №7 та уточнена на засіданні Вченої ради медичного факультету №2 ЛНМУ імені Данила Галицького МОЗ України 17 жовтня 2018 р., протокол №2. Дисертаційна робота є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт кафедри нормальної фізіології ЛНМУ імені Данила Галицького «Дослідження функціонально-метаболических резервів стрес-лімітуючих систем організму за екстремальних умов з метою виявлення ефективних засобів корекції» (№ державної реєстрації 0111U000121, 2011-2015 рр.), «Дослідження ролі системних та паракринних регуляторних механізмів у забезпеченні гомеостазування функціонально-метаболических параметрів організму за умов адаптації до дії екстремальних чинників різної природи» (№ державної реєстрації 0116U004510, 2016-2020 рр.).

Мета роботи. Оцінка функціонально-метаболического статусу міокарда і печінки та варіабельності серцевого ритму в щурів за впливу донора сірководню та його попереднього застосування до дії іонізуючого випромінювання.

Завдання дослідження. Для реалізації мети були поставлені наступні завдання:

1. Дослідити вплив донора сірководню NaHS у різні терміни після його введення на параметри варіабельності серцевого ритму.
2. З'ясувати характер адаптаційно-компенсаторних механізмів регуляторних процесів за умов дії малих доз радіації та попереднього до дії радіації введення донора сірководню на основі аналізу варіабельності серцевого ритму.
3. Вивчити характер змін жирнокислотного складу фосфоліпідів міокарда, печінки та плазми крові за умов введення NaHS, впливу іонізуючого випромінювання та попереднього до дії радіації застосування донора сірководню.
4. Дослідити характер змін жирнокислотного складу загальних ліпідів міокарда, печінки та плазми крові за умов введення NaHS, впливу іонізуючого випромінювання та попереднього до дії радіації застосування донора сірководню.
5. Вивчити зміни активності ензимів енергетичного обміну міокарда і печінки за умов введення NaHS, впливу іонізуючого випромінювання та попереднього до дії радіації застосування донора сірководню.
6. Виявити комплекс змін варіабельності серцевого ритму, жирнокислотного складу фосфоліпідів та загальних ліпідів, а також особливості енергетичних процесів у міокарді та печінці для обґрунтування попередження негативних наслідків іонізуючого випромінювання.

Об'єкт дослідження: фізіологічні механізми компенсаторно-приспосувальних реакцій організму експериментальних тварин за впливу донора сірководню, дії іонізуючого випромінювання та впливу донора сірководню попередньо до дії радіації.

Предмет дослідження: функціонально-метаболический стан мембран, рівень енергетичних процесів у міокарді та печінці, активність різних ланок регуляторних систем за впливу донора сірководню, дії малих доз іонізуючого випромінювання та застосування за цих умов донора сірководню.

Методи дослідження: фізіологічні – аналіз варіабельності серцевого ритму; біохімічні – спектрофотометричне визначення активності ензимів енергетичного обміну в міокарді та печінці; біофізичні – метод газорідинної хроматографії визначення вмісту жирних кислот фосфоліпідів та загальних ліпідів у міокарді, печінці та плазмі крові; статистичні – визначення достовірності за t-критерієм Стьюдента та коефіцієнту кореляції методом Пірсона.

Наукова новизна отриманих результатів. На основі комплексного підходу виявлені нові аспекти впливу донора гідроген сульфід (NaHS) та рентгенівського опромінення на регуляцію серцевої діяльності, модулювання жирнокислотного складу мембран міокарда, печінки і плазми крові, а також зміни активності ензимів енергетичного обміну в міокарді та печінці. Автором доведено часозалежний вплив донора H_2S на параметри варіабельності серцевого ритму, при цьому встановлено зростання активності всіх ланок регуляторних систем з переважаючою активацією парасимпатичного відділу автономної нервової системи через 30 хв та 24 години з часу введення донора гідроген сульфід. Вперше встановлено, що попереднє до впливу радіації застосування донора гідроген сульфід призводить до підтримання вищого рівня активності регуляторних систем, включаючи трофо- і ерготропні процеси, ніж за дії лише іонізуючого випромінювання, що свідчить про покращення перебігу адаптаційних процесів у пострадіаційний період на фоні введення донора H_2S .

Вперше встановлено модулювальний ефект гідроген сульфід як за умов самостійної його дії, так і попередньої до впливу радіації на вміст ненасичених та насичених жирних кислот фосфоліпідів та загальних ліпідів у печінці, міокарді та плазмі крові, що виявлявся у збільшенні рівня ω -3 і зменшенні вмісту ω -6 поліненасичених жирних кислот.

Встановлено, що вплив донора гідроген сульфід на активність ензимів, що беруть участь в енергозабезпеченні, в печінці та міокарді має органну специфіку. Виявлено, що попереднє до дії радіації введення NaHS зумовлювало зростання у міокарді активності аспартатамінотрансферази та малатдегідрогенази, порівняно з впливом радіації, що свідчить про активацію малат/аспартатного механізму, який забезпечує підтримання оптимального співвідношення НАДН/НАДФН. У печінці за цих умов встановлено підвищення активності сукцинатдегідрогенази, спряжене з менш вираженим збільшенням активності цитохромоксидази, що свідчить про активацію ФАД-залежного енергоутворення.

Практичне значення отриманих результатів. Матеріали дисертації сприятимуть з'ясуванню механізмів впливу гідроген сульфід на розвиток пристосувальних функціонально-метаболических процесів у міокарді та печінці за дії малих доз іонізуючого випромінювання. Отримані результати можуть бути використані як наукова основа для обґрунтування та розробки критеріїв оцінки міри пошкоджувального впливу іонізуючого випромінювання, а також якості пристосувальних процесів, вибору засобів профілактики та корекції за умов дії радіації.

На основі отриманих даних розроблено інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я – Гжегоцький МР, Ковальчук ІМ. Оцінка ефективності дії гідроген сульфід за впливу радіації на основі показників

жирнокислотного складу фосфоліпідів різних органів: № 189-2019 / ЛНМУ. Київ, 2019.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-дослідну роботу та навчальний процес профільних кафедр нормальної фізіології Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Гобачевського, Івано-Франківського національного медичного університету, Буковинського державного медичного університету, Дніпропетровської медичної академії.

Особистий внесок здобувача. Загальне керівництво науковою роботою проводилося д.мед.н., проф., чл.-кор. НАМН України Гжегоцьким Мечиславом Романовичем. Дисертаційна робота є завершеним дослідженням, яке виконане автором відповідно до програми експериментальних досліджень, спланованих, проведених і узагальнених впродовж 2015-2019 рр. Дисертант особисто проводила інформаційний пошук та аналіз літератури, розробляла методологію експериментальних досліджень, формулювала положення дисертації та виконала статистичне опрацювання результатів, також визначала напрямки наукового пошуку. Дослідження ВСР експериментальних тварин виконувалося на кафедрі нормальної фізіології ЛНМУ імені Данила Галицького за участю кандидата біологічних наук, доцента Ковальчук С.М. Визначення жирнокислотного складу загальних ліпідів та фосфоліпідів у міокарді, печінці та плазмі крові дослідних тварин проводилося у співпраці з доктором сільськогосподарських наук, старшим науковим співробітником Рівісом Й.Ф. (Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААНУ). Дослідження активності ензимів енергетичного обміну у міокарді та печінці було виконано сумісно з доктором сільськогосподарських наук, старшим науковим співробітником Остапівим Д.Д. (Інститут біології тварин НААНУ). Опромінення дослідних тварин здійснювали у співпраці з доктором медичних наук, професором Фецичем Т.Г. та кандидатом медичних наук, доцентом Дукачем В.А. (кафедра онкології ЛНМУ імені Данила Галицького). Представлений у роботі матеріал опрацьований автором самостійно, разом з науковим керівником узагальнено результати досліджень та сформульовано висновки. Матеріали даної роботи не були використані в інших дисертаціях.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на вітчизняних і зарубіжних конференціях та конгресах, серед яких: Міжнародна науково-практична конференція «Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики» (Дніпропетровськ, Україна, 2015); Fourth international conference on radiation and application in various fields of research (Niš, Serbia, 2016); Міжнародна науково-практична конференція «Сучасний вимір медичної науки та практики» (Дніпро, Україна, 2017); Міжнародна науково-практична конференція «Здоров'я людини у сучасному світі: питання медичної науки та практики» (Одеса, Україна, 2017); 2 Regional Congress of the Physiological Societies and 4 Congress of Croatian Physiological Society (Dubrovnik, Croatia, 2017); Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Фізіологія і патологія нейроімуноендокринної регуляції» (Чернівці, Україна, 2017); Sixth international conference RAD 2018 (Macedonia, 2018); Науково-практична

конференція «Здоров'я і довкілля» (Тернопіль, Україна, 2018); 2nd Symposium on innovation in medicine SMART LION (Lviv, Ukraine, 2018); XX З'їзд Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка (Київ, Україна, 2019).

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 18 наукових праць: 7 статей – у фахових виданнях, рекомендованих МОН України (в т.ч. 6 включено до міжнародних наукометричних баз, одна стаття – в іноземному виданні); 11 робіт – у матеріалах міжнародних та всеукраїнських наукових конференцій; оформлено один інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 198 сторінках тексту і складається з розділів: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали та методи дослідження», «Результати досліджень», «Аналіз та узагальнення результатів дослідження», «Висновки», «Список використаних джерел» (339 найменувань) та 4 додатків. Робота містить 25 таблиць, 9 графіків та проілюстрована 25 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Експериментальне дослідження виконано на 90-та білих нелінійних щурах-самцях масою 180-220 г, які утримувались в умовах віварію ЛНМУ імені Данила Галицького, відповідно до положень університетського комітету з біоетики (протокол № 1 від 20.01.2015 р.), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986) та Міжнародних принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовують для експериментів і в інших наукових цілях» (Страсбург, 1986) з дотриманням загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах, ухвалених Інтернаціональним конгресом з біоетики (Київ, 2000), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» і загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним Конгресом України з біоетики (2001).

Першочергово було проведено серію досліджень, в якій у щурів визначали параметри ВСР неінвазивно. У першій дослідній групі тварин показники ВСР вимірювали через 30 хв, 3, 24, 48 та 72 год після введення донора сірководню NaHS. У другій – через 24, 48 та 72 год після тотального однофракційного опромінення. У третій – через 24 год після опромінення щурів, яким за 30 хв до цього вводили розчин NaHS. Контрольній групі щурів вводили 0,9 % розчин NaCl в аналогічних до дослідних тварин режимах з розрахунку 0,1 мл/100 г маси.

Донор гідроген сульфід NaHS («Sigma Aldrich», USA) вводили внутрішньочеревно дозою 7,4 мг/кг маси (Семенихіна ОМ та ін, 2014). Експериментальних тварин піддавали впливу іонізуючого опромінення з використанням телегаматерапевтичного пристрою «Терагам» (джерело 60^{Co}) при потужності дози 0,393 мЗв/с і відстані «джерело–поверхня» 0,8 м. Сумарна поглинена доза – 2 Гр. Опромінення здійснювали тотально, однофракційно. Під час дослідження тварин поміщали в індивідуальні клітки-фіксатори. Щурі

контрольної групи знаходилися в аналогічних фіксаторах та не зазнавали впливу радіації.

Наступним комплексом досліджень було визначення показників ЖКС ФЛ та ЗЛ у міокарді, печінці та плазмі крові та активності ензимів енергетичного обміну в міокарді та печінці. У першій дослідній групі визначали показники ЖКС ФЛ та ЗЛ, активність ензимів енергетичного обміну через 30 хв після введення донора сірководню. У другій – ці ж показники досліджували через 24 год після введення NaHS; у третій – через 24 год після опромінення; у четвертій – через 24 год після опромінення на фоні введення донора сірководню. Тварин виводили з експерименту під загальною анестезією з використанням інгаляційного анестетика галотану шляхом швидкої декапітації.

Аналіз ВСР, який включав спектральні, статистичні показники, а також показники варіаційної пульсометрії здійснювали методом Гжегоцького М.Р. та співавт (2009). Оцінювали наступні статистичні показники динамічного ряду кардіоінтервалів: стандартне відхилення повного масиву кардіоінтервалів (SDNN); корінь квадратний із суми різниць послідовного ряду кардіоінтервалів (RMSSD); коефіцієнт варіації повного масиву кардіоінтервалів (CV). Серед спектральних показників визначали: сумарну потужність спектру (TP, с^2); потужність спектру в діапазоні низькочастотних хвиль (0,015-0,25 Гц) – Low Frequency (LF); середньочастотних (0,25-0,75 Гц) – Mid Frequency (MF) та високочастотних коливань (0,75-3,0 Гц) – High Frequency (HF), а також симпато/вагусний показник MF/HF. Серед параметрів варіаційної пульсометрії визначали: різницю між мінімальним і максимальним значенням кардіоінтервалів ($MxDMn$, с); моду (M_0 , с); амплітуду моди (AM_0 , %).

Дослідження метилових ефірів жирних кислот проводили на газорідинному хроматографі «Chrom-5» («Laboratorni pristroje», Praha) із полум'яно-іонізаційним детектором (FID). Для дослідження фрагменти міокарда та печінки, а також 1,0 мл відцентрифугованої плазми крові фіксували у хлороформ-метанольній суміші. Визначення ЖКС ФЛ та ЗЛ міокарда, печінки та плазми крові дослідних тварин проводили за методикою Рівіса Й.Ф. та співавт (2016).

У гомогенатах міокарда та печінки визначали активність лактатдегідрогенази (ЛДГ, К.Ф. 1.1.1.27), малатдегідрогенази (МДГ, К.Ф. 1.1.1.37), аспартатамінотрансферази (АСТ, К.Ф. 2.6.1.1), сукцинатдегідрогенази (СДГ, К.Ф. 1.3.99.1), цитохром-с-оксидази (ЦХО, К.Ф. 1.9.3.1). Активність досліджуваних ензимів визначали спектрофотометричним методом за Bergmeyer HU (1983).

Статистичний аналіз отриманих результатів досліджень проведено методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента та застосуванням персонального комп'ютера (програма Microsoft Excel 2011, версія 14.4.0 (140226)). Різницю між середніми арифметичними значеннями вважали статистично вірогідною при $p < 0,05$. Для дослідження взаємозв'язку поміж аналізованими ознаками було проведено розрахунок парних коефіцієнтів кореляції за методом Пірсона.

Прилади, що були використані в ході експериментальних досліджень, підлягали метрологічному контролю.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Оцінка активності регуляторних систем організму на основі аналізу варіабельності серцевого ритму за умов впливу донора гідроген сульфідіду NaHS та його застосування за дії іонізуючого випромінювання. Встановлено, що на 30-й хв з часу введення донора H_2S істотно зросла щодо вихідного рівня загальна потужність спектру на 78 % ($p < 0,05$) внаслідок збільшення спектральної потужності у всіх частотних діапазонах (рис.1). Найбільшою мірою відносно контролю зросла потужність високочастотних коливань (HF), що в основному характеризує рівень активності парасимпатичної ланки регуляції. У діапазонах середньо- (MF) і низькочастотних (LF) хвиль також відмічено збільшення потужності спектру на 57 % і 68 % ($p < 0,05$) відповідно.

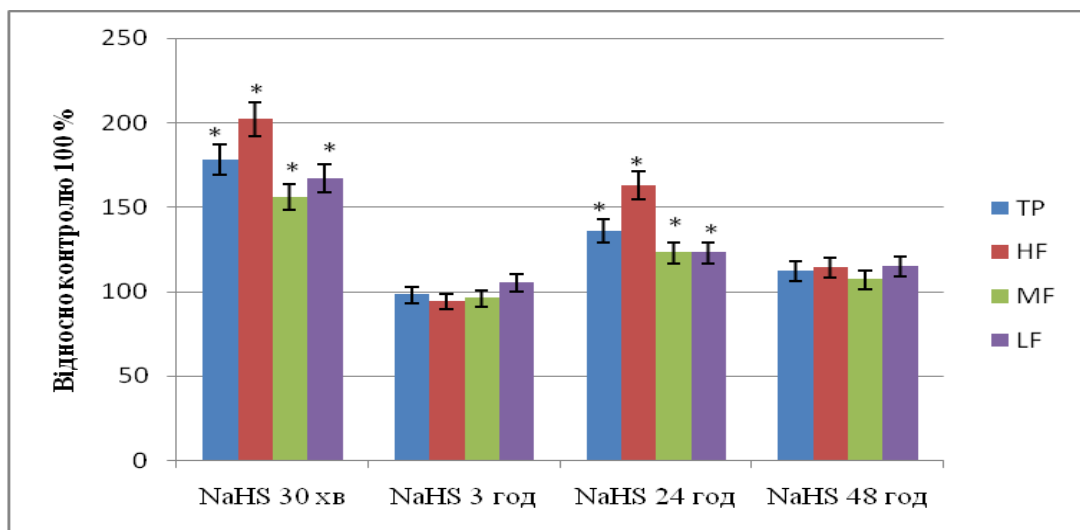


Рисунок 1 – Зміни спектральних показників варіабельності серцевого ритму за впливу донора сірководню NaHS

Примітка: * – достовірність ($p < 0,05$) відносно контролю

Збільшення спектральної потужності в діапазоні HF супроводжувалося зростанням CV на 75 % ($p < 0,05$), SDNN – на 32 % ($p < 0,05$), RMSSD – на 41 % ($p < 0,05$), а також MxDMn – на 53 % ($p < 0,05$), що загалом вказує на активацію автономного контуру регуляції серцевої діяльності. Зазначені зміни показників ВСР свідчать про мобілізацію всіх ланок регуляторних систем з переважанням парасимпатичної ланки автономної нервової системи (АНС).

На третю годину дослідження відмічено відновлення практично до вихідних значень спектральних та статистичних показників. Через 24 год після введення донора H_2S встановлено повторне зростання TP як щодо вихідного рівня на 36 % ($p < 0,05$), так і відносно величини цього показника на третю годину на 38 % ($p < 0,05$), проте менше виражене порівняно з 30-ю хв після введення NaHS . У найбільшій мірі спектральна потужність зросла у діапазоні HF – на 63 % ($p < 0,05$).

Встановлено також сильний прямий кореляційний зв'язок між показниками спектральної потужності TP і HF ($r=0,91$; $p=0,001$). Спектральна потужність MF і LF збільшилася щодо контролю в середньому на 24 % ($p<0,05$). Відмічено тенденцію до зростання компонентів (HF+MF), зниження MF/HF, що є прогностично сприятливою ознакою стану регуляторних систем. Ці зміни свідчать про активацію парасимпатичного відділу АНС, що корелювало зі зростанням спектральної потужності в діапазоні HF. Через 48 год після введення NaHS встановлено зниження TP щодо першої доби, проте, відмічено тенденцію до підвищення цього показника щодо вихідного рівня. Зафіксовано також нормалізацію АМо, статистичних показників.

Через 24 год після однофракційного тотального опромінення дозою 2 Гр було встановлено вірогідне зменшення TP у два рази ($p<0,05$) порівняно з вихідним рівнем. Зафіксовано зниження потужності у всіх діапазонах спектру, що вказує на істотне пригнічення активності всіх ланок регуляторних систем. Зменшення статистичних показників у комплексі зі зниженням спектральних параметрів свідчить про напруження регуляторних систем за умов дії радіації (рис. 2).

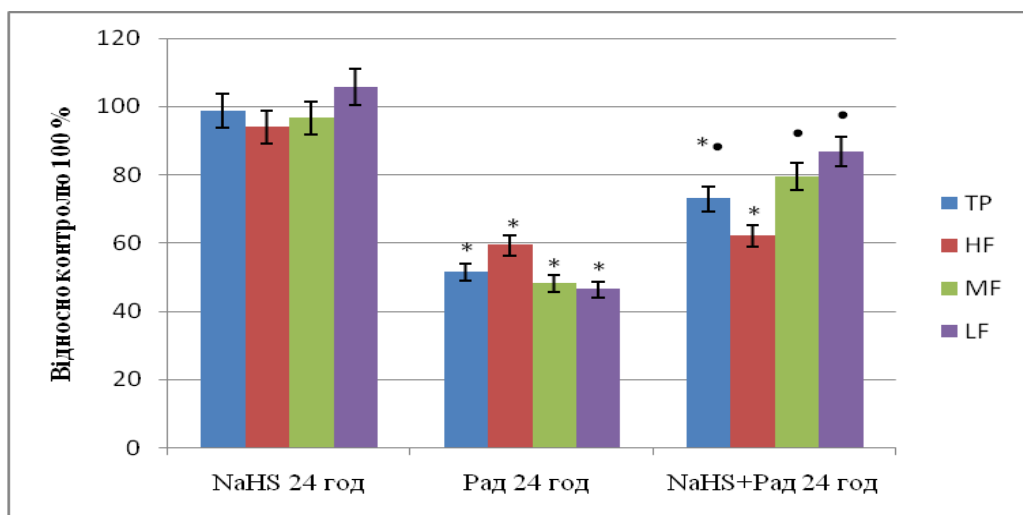


Рисунок 2 – Зміни спектральних показників варіабельності серцевого ритму за умов дії NaHS та його попереднього введення до дії радіації

Примітка: * – достовірність ($p<0,05$) щодо вихідного рівня; • – достовірність ($p<0,05$) щодо радіації

Через 48 год зниження активності регуляторних процесів було ще більш виражене, про що свідчило зниження TP на 82 % ($p<0,05$) щодо контролю і на 66 % ($p<0,05$) щодо першої доби та зменшення інших спектральних і статистичних показників.

Попереднє до дії радіації введення NaHS призвело до менш вираженого зниження TP, ніж при дії лише іонізуючого опромінення, що вказує на підтримання достовірно вищого рівня регуляторних процесів за цих умов, порівняно з радіацією. Так, TP через 24 год після опромінення на фоні введення

донора гідроген сульфід у зменшилася на 27 % ($p < 0,05$) щодо вихідного рівня, але була достовірно вищою (на 42 %, $p < 0,05$), ніж при дії радіації. Було відмічено істотне збільшення порівняно з впливом радіації спектральної потужності в діапазоні середньо- та низькочастотних коливань, що становило 86 % ($p < 0,05$) щодо вихідного рівня. Попереднє до дії радіації введення донора сірководню зумовлює виражене покращення перебігу адаптаційних процесів, що полягає в активації різних ланок регуляторних систем з переважаючою мобілізацією парасимпатичної нервової системи та помірною активацією ерготропних процесів, а також зменшує напруження регуляторних систем, зумовлене впливом радіації.

Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів та загальних ліпідів міокарда, печінки та плазми крові за умов впливу донора гідроген сульфід та його застосування за дії іонізуючого випромінювання. Встановлено, що вплив донора сірководню NaHS через 30 хв після його введення проявлявся зменшенням щодо контролю рівня насичених жирних кислот (ЖК) ФЛ у всіх досліджуваних біологічних середовищах. Найбільшою мірою знижувався рівень коротколанцюгових насичених ЖК: каприлової (C8:0) на 21 % ($p < 0,05$), 19 % ($p < 0,05$), 23 % ($p < 0,05$) у міокарді, печінці та плазмі крові відповідно. Зафіксовано зменшення вмісту капринової (C10:0) та лауринової (C12:0) ЖК. Відмічено перерозподіл вмісту поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) різних типів (рис. 3).

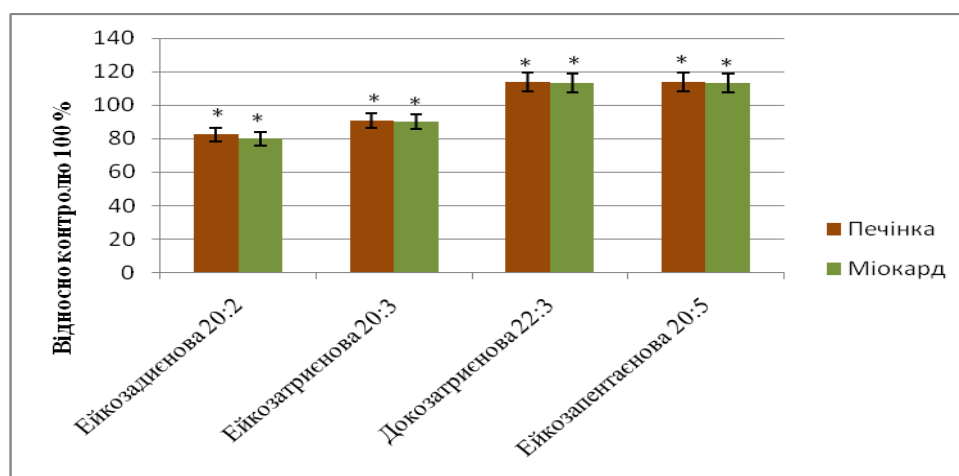


Рисунок 3 – Зміни ω -3 і ω -6 поліненасичених жирних кислот у печінці та міокарді через 30 хв після введення NaHS

Примітка: * – достовірність змін ($p < 0,05$) відносно контролю

У всіх досліджуваних тканинах зафіксовано зростання рівня ω -3 і тенденцію до зниження ω -6 ПНЖК. Встановлено, що на 30-й хв з часу введення NaHS зросла концентрація вмісту ω -3 типу ПНЖК – ейкозопентаєнової (C20:5) на 14 % ($p < 0,05$), 12 % ($p < 0,05$), 19 % ($p < 0,05$) щодо тварин контрольної групи у печінці, міокарді та плазмі крові, відповідно. У печінці та міокарді, крім ейкозопентаєнової (C20:5), найбільшою мірою зросла концентрація докозатрієнової кислоти (C22:3) (на 14 %, $p < 0,05$) та відмічено тенденцію до

зниження загального рівня ω -6 ПНЖК ФЛ. За таких змін композиції ПНЖК співвідношення ω -3/ ω -6 достовірно зросло у печінці – на 10 % ($p < 0,05$), у міокарді – на 11 % ($p < 0,05$), у плазмі крові – на 15 % ($p < 0,05$). Через добу після введення NaHS співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК залишалося достовірно вищим щодо контролю у всіх досліджуваних біосередовищах ($p < 0,05$), незважаючи на тенденцію до зниження стосовно попереднього терміну дії донора сірководню. Було встановлено, що вплив іонізуючого випромінювання через 24 год призводив до істотного збільшення рівня коротколанцюгових насичених ЖК ФЛ щодо контролю у всіх досліджуваних біосередовищах. Встановлено також зміни композиції ПНЖК за впливу радіації. Найбільшою мірою зменшився вміст ω -3 ПНЖК: ейкозапентаєнової (C20:5) на 13 % ($p < 0,05$), 18 % ($p < 0,05$) і 20 % ($p < 0,05$) щодо контролю, відповідно, у печінці, міокарді та плазмі крові. Було відмічено достовірне зниження на 12 % ($p < 0,05$) концентрації докозапентаєнової кислоти (C22:5) відносно контролю як у міокарді, так і в плазмі крові, а також відзначено тенденцію до зниження вмісту інших ω -3 ПНЖК у всіх досліджуваних біооб'єктах. Одночасно зі зменшенням вмісту ω -3 ПНЖК за дії іонізуючого випромінювання було зафіксовано збільшення вмісту ω -6 ПНЖК, найбільшою мірою ейкозатриєнової (C20:3) та ейкозатетраєнової (C22:4). У плазмі крові, крім того, збільшився на 15 % ($p < 0,05$) рівень лінолевої кислоти (C18:2), на 10 % ($p < 0,05$) – докозатетраєнової (C22:4) ПНЖК.

За умов попереднього до дії радіації введення NaHS у печінці відмічено достовірне зниження рівня насичених ЖК щодо впливу іонізуючого опромінення, зокрема, капринової (C10:0) кислоти – на 14 % ($p < 0,05$) у міокарді та на 29 % ($p < 0,05$) у плазмі крові. Встановлено також збільшення співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК щодо дії радіації, проте їх величини не сягають показників контролю. У міокарді за цих умов також встановлено відновлення до величин контролю вмісту насичених ЖК, при цьому достовірно щодо дії радіації знизився рівень міристинової (C14:0) кислоти (на 17%, $p < 0,05$). Зафіксовано зростання вмісту практично всіх досліджуваних ω -3 ПНЖК щодо впливу радіації. Вплив іонізуючого випромінювання на модифікованому введенням донора H_2S фоні зумовлював зростання ω -3 ПНЖК, а також призводив до менш вираженого зниження, індукованого радіацією, співвідношення ω -3/ ω -6. Такі зміни композиції ЖКС ФЛ під впливом гідроген сульфідів сприятливо впливають на мембранозалежні функції, що можна розцінювати як модулювальний протекторний ефект H_2S до дії радіації. Відмічено аналогічний характер змін ЖКС ЗЛ у досліджуваних біосередовищах, що виявляється у зростанні вмісту ω -3 та зниженні вмісту ω -6 ПНЖК під впливом гідроген сульфідів. Це забезпечує підтримання вищого співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК за дії радіації на фоні введення донора H_2S порівняно з дією лише іонізуючого випромінювання (рис. 4).

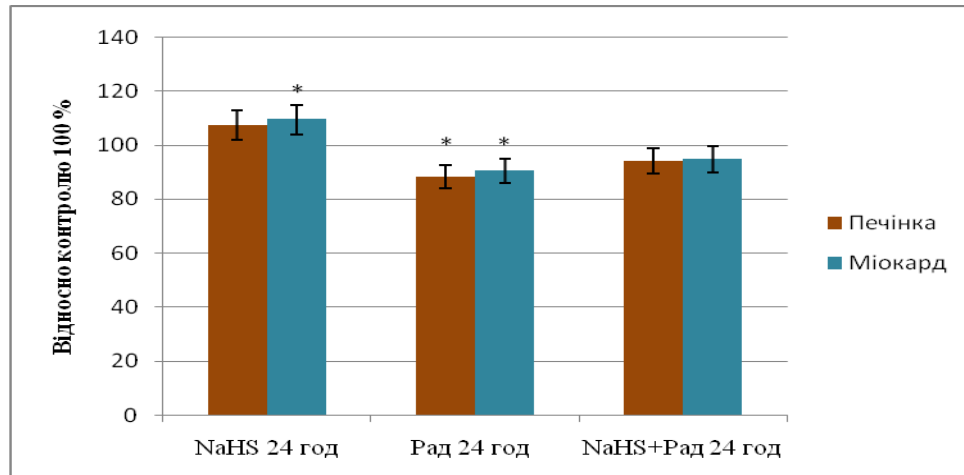


Рисунок 4 – Зміни співвідношення ω -3/ ω -6 поліненасичених жирних кислот фосфоліпідів міокарда і печінки за умов попереднього до дії радіації введення NaHS

Примітка: * – достовірність ($p < 0,05$) щодо контролю

Оцінка попереднього до дії радіації впливу гідроген сульфід у на активність ензимів енергетичного обміну в печінці та міокарді. Через 24 год після впливу іонізуючого випромінювання дозою 2 Гр у печінці встановлено зростання активності СДГ на 21 % ($p < 0,05$), тенденцію до збільшення активності ЦХО, а також істотне зниження активності ЛДГ (на 40 %, $p < 0,05$) щодо контролю (рис. 5а). Такий характер змін активності вказаних ензимів може свідчити про зменшення залучення до окиснення в циклі Кребса ацетил-КоА, який утворюється з пірувату шляхом окиснювального декарбоксилювання, на тлі зростання включення метаболітів окиснення ЖК через бурштинову кислоту.

За умов попереднього до дії радіації введення донора H_2S у гомогенаті печінки встановлено достовірне, аналогічно як і за дії лише NaHS, непропорційне зростання рівня активності СДГ і ЦХО щодо впливу радіації (на 29 % і на 17 %, відповідно, $p < 0,05$). У гомогенаті міокарда за дії іонізуючого випромінювання, порівняно з контролем, встановлено зниження на 15 % ($p < 0,05$) активності СДГ, активність ЦХО, МДГ і ЛДГ достовірно не змінювалися (рис. 5б). За цих умов зростала на 47 % ($p < 0,05$) активність АСТ. Вплив радіації за попереднього введення NaHS у міокарді призводив до підвищення на 55 % ($p < 0,05$) активності СДГ щодо дії радіації. За вказаних умов активність МДГ вірогідно підвищилась як відносно величин контролю (на 27 %, $p < 0,05$), так і щодо впливу іонізуючого випромінювання. Відмічено також істотне збільшення активності АСТ на 40 % ($p < 0,05$) відносно дії радіації.

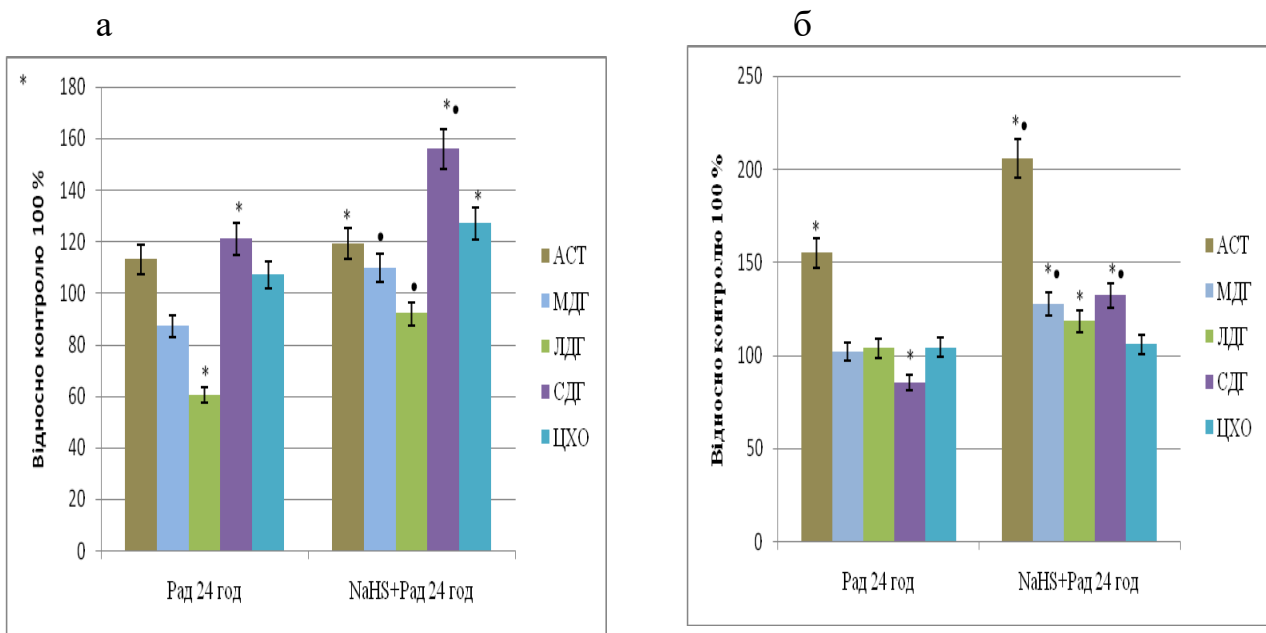


Рисунок 5 – Зміни активності ензимів енергетичного обміну в печінці (а) та міокарді (б) щурів за умов введення донора сірководню попередньо до дії радіації
Примітка: * – достовірність змін ($p < 0,05$) щодо контролю, • – достовірність змін ($p < 0,05$) щодо радіації

Дані літературних джерел вказують на дозозалежний вплив сірководню на інтенсивність ензимів різних ланок енергосинтезу, що виявляється у різноспрямованих змінах активності окремих ензимів енергетичного обміну за малих і великих доз H_2S (Nicholls P at al, 2013; Olson KR at al, 2017). Отримані нами результати свідчать, що ефект введення донора гідроген сульфіді має тканинну специфіку забезпечення процесів енергоутворення для адекватного перебігу адаптивних процесів. У печінці застосування донора H_2S , а також дія радіації на фоні його попереднього введення призводить до активації ФАД-залежного енергоутворення, на що вказує підвищення активності СДГ, спряжене з менш вираженим збільшенням активності ЦХО. У міокарді вплив донора гідроген сульфіді за дії іонізуючого випромінювання супроводжується активацією малат-аспартатного човникового механізму, який забезпечує підтримання оптимального співвідношення НАДН/НАДФН, а, отже, підвищення потужності дихального ланцюга, спряженого з аеробним енергосинтезом.

Таким чином, встановлено, що застосування донора H_2S дозою 7,4 мг/кг супроводжувалося сприятливими змінами композиції жирнокислотного складу ФЛ і ЗЛ досліджуваних органів, що, полягали в збільшенні вмісту ω -3, зменшенні рівня ω -6 ПНЖК і, відповідно, підвищенні співвідношення ω -3/ ω -6, а загалом оптимізації внутрішньомембранної динаміки за дії радіації на фоні введення донора H_2S . Аналіз характеру змін активності ензимів, що визначають стан енергосинтезу печінки та міокарді, доводить, що покращення структурно-

функціональної організації біомембран, відмічене нами за умов попереднього до дії радіації введення NaHS, сприяє адекватній мобілізації органоспецифічних шляхів енергетичного забезпечення адаптивно-приспосувальних процесів за досліджуваних умов.

Загалом, судячи з отриманих результатів, можна зробити заключення, що паракринні механізми дії гідроген сульфід у можуть інтегруватися у вищі рівні регуляторних систем, сприяючи оптимізації перебігу пристосувально-компенсаторних процесів цілісного організму. На користь цього висновку свідчать результати аналізу параметрів ВСР, що констатують зменшення напруження регуляторних процесів, індукованих іонізуючим опроміненням, збільшення потужності відновних процесів у спосіб переважаючої мобілізації парасимпатичної ланки АНС та помірної активації ерготропних енергопродукуючих процесів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено нове вирішення актуальної в галузі фізіології наукової задачі щодо встановлення механізмів впливу донора сірководню на параметри варіабельності серцевого ритму, композицію жирнокислотного складу фосфоліпідів, активність ензимів енергетичного обміну окремих органів експериментальних тварин, а також обґрунтування доцільності попереднього застосування NaHS за умов впливу іонізуючого випромінювання.

1. За результатами аналізу варіабельності серцевого ритму встановлено, що через 30 хв після введення донора гідроген сульфід дозою 7,4 мг/кг маси істотно зросла загальна потужність спектру (на 78 % щодо контролю, $p < 0,05$) внаслідок збільшення спектральної потужності у всіх частотних діапазонах, що свідчить про підвищення активності регуляторних систем. При цьому найбільшою мірою (у два рази, $p < 0,05$) зросла потужність високочастотних коливань, що у комплексі зі збільшенням коефіцієнту варіації (на 75 %, $p < 0,05$) та інших статистичних показників вказує на переважаючу активацію парасимпатичної ланки автономної нервової системи. Відмічено фазовий характер змін параметрів варіабельності серцевого ритму з поверненням до вихідного рівня через 3 год і повторної, але меншого ступеня вираженості, активації на першу добу.

2. Через 24 год після однофракційного тотального опромінення дозою 2 Гр встановлено зменшення в два рази ($p < 0,05$) загальної потужності спектру порівняно з вихідним рівнем, що вказує на істотне пригнічення активності всіх ланок регуляторних систем. Попереднє до дії радіації введення NaHS призводить до зростання загальної спектральної потужності на 42 % ($p < 0,05$) щодо дії радіації, що вказує на зменшення напруження регуляторних процесів за цих умов порівняно з впливом іонізуючого випромінювання.

3. Встановлено, що одним із модифікуючих ефектів дії NaHS є його вплив на жирнокислотний склад фосфоліпідів тканин печінки, міокарда та плазми крові, що виражається у зростанні вмісту ω -3 поліненасичених жирних кислот, збільшенні співвідношення ω -3/ ω -6, зниженні рівня коротколанцюгових насичених жирних кислот. У всіх досліджуваних тканинах найбільшою мірою

зростає рівень ейкозапентаєнової кислоти (C20:5). Вплив радіації дозою 2 Гр призводить до протилежних змін, а саме: зниження вмісту ω -3 поліненасичених жирних кислот, зменшення співвідношення ω -3/ ω -6. Виявлено однотипні зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів і загальних ліпідів у міокарді та печінці. Встановлено, що найбільш чутливою до дії досліджуваних чинників виявляється ейкозапентаєнова кислота (C20:5), про що свідчать збільшення її вмісту щодо контролю після введення NaHS та зменшення в усіх органах за умов дії радіації.

4. Доведено, що попереднє до дії радіації введення донора сірководню зумовлює відновлення до значень контролю вмісту більшості поліненасичених і насичених жирних кислот фосфоліпідів та загальних ліпідів, показника співвідношення ω -3/ ω -6 поліненасичених жирних кислот. Це може бути прогностично сприятливим показником конформаційно-функціональних змін біологічних мембран при активації H_2S -залежних механізмів у процесі пристосувальної перебудови за дії іонізуючого випромінювання.

5. Встановлено особливості включення метаболічних шляхів енергозабезпечення специфічних функцій у печінці та міокарді за умов активації H_2S -залежних паракринних механізмів та дії радіації на цьому фоні. За умов впливу донора гідроген сульфід у міокарді відмічено значну активацію аспартатамінотрансферази, зростання активності якої підтримується і за дії радіації на фоні введення NaHS. У печінці під впливом донора H_2S , а також дії радіації на фоні попереднього введення NaHS відмічено активацію ФАД-залежного енергоутворення, про що свідчить підвищення активності сукцинатдегідрогенази спряжене з менш вираженим збільшенням активності цитохромоксидази.

6. Встановлений комплекс змін енергозалежних процесів у міокарді та печінці, структурно-функціонального стану мембран цих органів, регуляторних процесів різного рівня під впливом донора гідроген сульфід свідчить про оптимальне стимулювання H_2S -залежних паракринних механізмів, що залучає інші ланки системних регуляторних реакцій і запобігає розвитку порушень, індукованих іонізуючим випромінюванням.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Гжегоцький МР, Ковальчук ІМ, Ковальчук СМ. Оцінка активності регуляторних систем на основі аналізу варіабельності серцевого ритму щурів за умов введення донора сірководню NaHS. *Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія*. 2016;2(74):40-44. (Дисертантом проведено аналіз літературних джерел, виконано експериментальне дослідження, спільно з науковим керівником сформульовано висновки, підготовлено публікацію до друку).

2. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР, Рівіс ЙФ, Ковальчук СМ. Модифікація жирнокислотного складу фосфоліпідів тканин печінки, міокарда та плазми крові під впливом іонізуючого випромінювання та при попередньому застосуванні донора сірководню. *Вісник проблем біології та медицини*. 2018;2(1):130-137. (Дисертант виконала підготовку матеріалу для експериментальної частини

роботи, брала участь у проведенні експерименту, провела статистичну обробку даних, сформулювала висновки та подала роботу до друку).

3. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР, Ковальчук СМ. Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів тканин печінки і міокарда щурів за умов попереднього застосування донора сірководню під впливом малих доз іонізуючого випромінювання. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2018;(2-3):5-15. (Дисертант виконала підготовку матеріалу для дослідження, брала участь у проведенні експерименту, разом із співавторами провела статистичне опрацювання та узагальнення отриманих даних, підготувала статтю до друку).

4. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР, Ковальчук СМ. Вплив донора сірководню на варіабельність серцевого ритму і жирнокислотний склад фосфоліпідів міокарда щурів за умов дії малих доз іонізуючого випромінювання. *Вісник проблем біології і медицини*. 2018;(3):118-124. (Дисертантом розроблено основний принцип даного дослідження, у співпраці виконано експериментальну частину роботи, разом із науковим керівником та співавторами проведено статистичний аналіз отриманих даних, сформульовано висновки роботи та підготовлено статтю до друку).

5. Kovalchuk I, Gzhegotskyi M, Kovalchuk S, Dukach V. The use of hydrogen sulfide donor in cardiac control during low doses of ionizing radiation (Experimental study). *Southeastern European Medical Journal (SEEMEDJ)*. 2018;2(1):36-43. (Дисертантом проведено експериментальну частину дослідження, виконано статистичне опрацювання даних експерименту, підготовлено додаткові матеріали та оформлено статтю до друку).

6. Ковальчук ІМ. Порівняльна характеристика жирнокислотного складу фосфоліпідів і загальних ліпідів у тканинах міокарда, печінки та плазми крові щурів за умов дії радіації та попереднього застосування донора сірководню. *Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія*. 2018;3(83):76-83.

7. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР, Ковальчук СМ, Остапів ДД. Активність ензимів енергетичного обміну в тканинах печінки та міокарда тварин за дії донора сірководню та радіації. *Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія*. 2019;1(85):18-25. (Дисертантом разом зі співавторами визначено мету роботи та напрямок дослідження, виконано експериментальну частину та проведено статистичний аналіз отриманих даних, сформульовано висновки та підготовлено статтю для друку).

8. Гжегоцький МР, Ковальчук ІМ, Ковальчук СМ. Вплив різних доз радіації на показники вільнорадикального гомеостазу різних органів. В: Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики»; 2015 Бер 13-14; Дніпропетровськ. Дніпропетровськ; 2015. с. 59. (Дисертант провела аналіз літератури, разом із співавторами сформулювала висновки, підготувала матеріал до друку).

9. Kovalchuk I, Gzhegotsky M, Dukach V. The impact of radiation on the fatty acid composition of phospholipids of the blood plasma, myocardium and liver tissue of rats. In: Book of Abstracts. Fourth international conference on radiation and application in various fields of research; 2016 May 23-27; Niš, (Serbia). Niš; 2016. p. 203.

(Дисертант виконала підготовку матеріалу для експериментального дослідження, разом із співавторами узагальнила отримані результати та виконала статистичну обробку даних, підготувала матеріал до друку).

10. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР, Ковальчук СМ. Зміна параметрів варіабельності серцевого ритму експериментальних тварин у різні терміни після введення донора сірководню NaHS. В: Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Сучасний вимір медичної науки та практики»; 2017 Трав 12-13; Дніпро. Дніпро; 2017. с. 10-13. *(Дисертант провела експериментальне дослідження, виконала статистичну обробку даних досліджень, сформулювала висновки та підготувала роботу до друку).*

11. Ковальчук ІМ, Ковальчук СМ, Рівіс ЙФ. Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів тканин міокарда, печінки та плазми крові щурів за умов введення донора гідроген сульфід. В: Збірник тез наукових робіт «Здоров'я людини у сучасному світі: питання медичної науки та практики»; 2017 Трав 19-20; Одеса. Одеса; 2017. с. 97-100. *(Дисертант брала участь у проведенні експерименту, разом із співавторами проаналізувала отримані результати, сформулювала узагальнення та висновки, підготувала роботу до друку).*

12. Kovalchuk IM, Gzhegotsky MR, Kovalchuk SM, Dukach VA. Effects of hydrogen sulfide (H₂S) donor NaHS on the heart rate variability (HRV) changes under irradiation influence. Abstracts book. In: 2 Regional Congress of the Physiological Societies and 4 Congress of Croatian Physiological Society; 2017 Sep 21-24; Dubrovnik, Croatia. Dubrovnik. 2017. p. 60. *(Дисертант виконала експериментальне дослідження та статистичну обробку даних дослідження, підготувала роботу до друку).*

13. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР. Ефекти впливу донора сірководню NaHS на варіабельність серцевого ритму експериментальних тварин. В: Праці НТШ. Медичні науки, тези доп. 2016;47(2):100-101. *(Дисертант виконала експериментальне дослідження та статистичну обробку отриманих даних, підготувала роботу до друку).*

14. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР, Ковальчук СМ. Зміни активності регуляторних систем під впливом гідроген сульфід та його попереднього застосування при дії радіації. Клінічна та експериментальна патологія. 2017;(61,ч.2):52. *(Дисертант провела аналіз літературних джерел, виконала експериментальне дослідження, разом із співавторами проаналізувала отримані результати, сформулювала узагальнення та висновки, підготувала роботу до друку).*

15. Kovalchuk I, Gzhegotskyi M. Influence of radiation on heart rate variability (HRV) of rats at different terms of post-radiation period. In: Book of Abstracts. Sixth international conference on radiation and application in various fields of research; 2018 Jun 18-22; Ohrid. Ohrid; 2018. p. 271. *(Дисертант виконала експериментальне дослідження, разом із співавторами проаналізувала отримані результати, сформулювала узагальнення та висновки, підготувала роботу до друку).*

16. Ковальчук ІМ. Модульовальні ефекти гідроген сульфід на жирнокислотний склад фосфоліпідів мембран міокарда та варіабельність серцевого ритму щурів за умов дії малих доз радіації. В: Вадзюка СН, редактор. Матеріали

науково-практичної конференції «Здоров'я і довкілля»; 2018 Квіт 26-27; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018. с. 24-26.

17. Kovalchuk IM. The corrective action of hydrogen sulphide donor on the functional and metabolic state of rats' heart under the influence of the low doses of radiation. In: SMART LION 2018. Program and Abstracts book. 2nd Symposium on innovation in medicine; 2018 Oct 11-13; Lviv, Ukraine. Lviv; 2018. p. 69-70.

18. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР, Ковальчук СМ. Ефекти застосування донора сірководню за умов впливу малих доз іонізуючого випромінювання. Фізіологічний журнал. 2019;65(3, дод.: Матеріали 20-го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю):75. *(Дисертант провела аналіз літературних джерел, разом із співавторами проаналізувала отримані результати, сформулювала узагальнення та висновки, виконала статистичний аналіз та підготувала роботу до друку).*

19. Гжегоцький МР, Ковальчук ІМ. Оцінка ефективності дії гідроген сульфідів за впливу радіації на основі показників жирнокислотного складу фосфоліпідів різних органів: інформаційний лист № 189-2019/ЛНМУ. Київ, 2019. 4 с. *(Дисертант провела аналіз літературних джерел даного профілю, взяла участь у виконанні експериментального дослідження, разом з науковим керівником узагальнила отримані дані дослідження, провела статистичне опрацювання даних дослідження, сформулювала висновки, підготувала інформаційний лист та супровідні документи до друку).*

АНОТАЦІЯ

Ковальчук І.М. Вплив донора сірководню на функціонально-метаболічний стан міокарда і печінки та варіабельність серцевого ритму експериментальних тварин за умов дії іонізуючого випромінювання. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.03 «Нормальна фізіологія» (222 – Медицина) – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, 2019.

Представлені результати досліджень механізмів впливу гідроген сульфідів за умов дії іонізуючого випромінювання на варіабельність серцевого ритму, жирнокислотний склад фосфоліпідів і загальних ліпідів та активність ензимів енергетичного обміну в міокарді та печінці. Встановлено фазовий характер змін параметрів варіабельності серцевого ритму в різні терміни після введення NaHS дозою 7,4 мг/кг. Позитивний ефект донора H₂S полягає в активації різних ланок регуляторних систем з переважаючою мобілізацією парасимпатичної нервової системи та помірною активацією ерготропних процесів. Це супроводжується зміною композиції жирнокислотного складу фосфоліпідів і загальних ліпідів, що виявляється в збільшенні вмісту ω-3 і зменшенні рівня ω-6 поліненасичених жирних кислот. Попереднє до дії радіації введення NaHS зменшує напруження регуляторних процесів, індукованих іонізуючим опроміненням, збільшує потужність відновних процесів, оптимізує органоспецифічні шляхи енергозабезпечення в міокарді та печінці.

Ключові слова: сірководень, донор сірководню, іонізуюче випромінювання, міокард, печінка, варіабельність серцевого ритму, жирнокислотний склад, активність ензимів, енергетичний обмін.

АННОТАЦИЯ

Ковальчук И.Н. Влияние донора сероводорода на функционально-метаболическое состояние миокарда и печени и вариабельность сердечного ритма экспериментальных животных в условиях действия ионизирующего излучения. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 «Нормальная физиология» (222 – Медицина) – Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Львов, 2019.

Представлены результаты исследований механизмов влияния гидроген сульфида при действии ионизирующего излучения на вариабельность сердечного ритма, жирнокислотный состав фосфолипидов и общих липидов и активность ферментов энергетического обмена в миокарде и печени. Установлено фазовый характер изменений параметров вариабельности сердечного ритма в разные строки после введения NaHS в дозе 7,4 мг/кг. Положительный эффект донора H₂S заключается в активации различных звеньев регуляторных систем с преобладающей мобилизацией парасимпатической нервной системы и умеренной активацией эрготропных процессов. Это сопровождается изменением композиции жирнокислотного состава фосфолипидов и общих липидов, заключающееся в увеличении содержания ω-3 и уменьшении уровня ω-6 полиненасыщенных жирных кислот. Предварительное к действию радиации введение NaHS уменьшает напряжение регуляторных процессов, индуцированных ионизирующим облучением, увеличивает мощность восстановительных процессов, оптимизирует органоспецифические пути энергообеспечения в миокарде и печени.

Ключевые слова: сероводород, донор сероводорода, ионизирующее излучение, миокард, печень, вариабельность сердечного ритма, жирнокислотный состав, активность ферментов, энергетический обмен.

SUMMARY

Kovalchuk Iryna Mykolajivna. Influence of hydrogen sulfide donor on functional and metabolic state of myocardium and liver and variability of heart rate of experimental animals under the influence of ionizing radiation. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences (PhD) on the specialty 14.03.03 «Normal Physiology» (222 – Medicine) – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, 2019.

The dissertation is devoted to the study of the influence of hydrogen sulfide and its preliminary application under the influence of ionizing radiation on the activity of

regulatory systems, functional and metabolic state of the myocardium and liver on the basis of analysis of heart rate variability (HRV), changes of fatty acid composition of phospholipids and total lipids, activity of enzymes in the heart and liver of rats.

The studies were performed on 90 white non-linear male rats weighing 180-200 g, in accordance with current requirements for humane attitude with experimental animals. A solution with NaHS (hydrogen sulfide donor) was administered intraperitoneally to rats at a dose of 7,4 mg/kg. The total absorbed dose of ionizing radiation experienced by animals was 2 Gy.

The dynamics of changes in the HRV parameters of rats at different times since the application of the H₂S donor was investigated. It was found that 30 min after the administration of NaHS solution, the total power of the spectrum (TPS) increased, which indicates an increase in the activity of all units of regulatory systems. The activity of parasympathetic part of the autonomic nervous system increased the most.

24 hours later, there was marked increase in activity of all units of the regulatory systems with the predominant influence of the parasympathetic part, with these changes being less pronounced than in the early period after the introduction of the H₂S donor. It was found that after 1 day under the influence of a single action of ionizing radiation the TPS decreased. The most pronounced inhibition of the regulatory processes activity was recorded on the second day. The application of NaHS before exposure to radiation resulted in a less pronounced decrease in TPS than in the case of radiation alone, which indicates that the regulatory processes under these conditions are maintained at a substantially higher level compared to radiation.

It was first established that one of the modifying effects of hydrogen sulfide is its effect on the fatty acid composition of phospholipids and total lipids in the liver, myocardium, and blood plasma, which is manifested in the increase in ω -3 polyunsaturated fatty acids (PUFA), increasing the ratio of ω -3/ ω -6, reducing the levels of short-chain saturated fatty acids.

An increase in the level of saturated fatty acids was detected 24 hour after the action of ionizing radiation in the myocardium, liver, and blood plasma. At the same time, a decrease in the level of ω -3 PUFAs and an increase in the content of ω -6 PUFAs, the ratio of ω -3/ ω -6 decreased relative to the control.

It is noted that application of hydrogen sulfide donor previously to exposure of radiation causes a decrease in the level of saturated fatty acids and an increase in the ratio of ω -3/ ω -6 PUFA in the investigated environments. Such changes in the fatty acid composition of phospholipids during the pre-radiation exposure of the hydrogen sulfide donor indicate a positive modulating effect of H₂S on the structural and functional state of membranes and the course of membrane-dependent processes.

Under the influence of the hydrogen sulfide donor in the heart showed a significant activation of aspartataminotransferase (AST) after 30 min, whose mobilization was supported by the action of radiation on the background of the application of NaHS. At the same time, malate dehydrogenase (MDH) activity was found to be higher compared to control values after 30 min of application of NaHS. Under the influence of ionizing radiation after the use of a hydrogen sulphide donor, the activity of AST and MDG significantly increased both relative to to values under the effect of ionizing radiation. Activation of the transaminase pathway maintains a high

level of NADN/NADPH ratio in cellular compartments, which is necessary to increase the capacity of the respiratory chain coupled with aerobic energy synthesis. In the liver, the use of H₂S donor, as well as the effect of ionizing radiation on the background of its previous introduction leads to the activation of FAD-dependent energy generation, as evidenced by an increase in activity of succinate dehydrogenase is associated with a less expressed increase in the cytochrome oxidase's activity regarding the effect of radiation alone.

Thus, the effect of application hydrogen sulfide donor before exposure of radiation is manifested in reducing the tension of regulatory processes, increasing the power of restorative processes, moderate activation of ergotropic reactions, features of optimization of energy supply processes in the myocardium and liver, and less expressed decrease in the ration of ω -3/ ω -6 compared to the effects of radiation alone. This proves the positive effect of application of H₂S-dependent paracrine processes in the formation of effective adaptive-compensatory reactions of the organism under the action of ionizing radiation.

Key words: hydrogen sulfide, hydrogen sulfide donor, ionizing radiation, myocardium, liver, heart rate variability, fatty acid composition, enzyme activity, energy metabolism.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АНС – автономна нервова система
АСТ – аспартатамінотрансфераза
ВСР – варіабельність серцевого ритму
ЖК – жирні кислоти
ЖКС – жирнокислотний склад
ЗЛ – загальні ліпіди
ЛДГ – лактатдегідрогеназа
МДГ – малатдегідрогеназа
ПНЖК – поліненасичені жирні кислоти
СДГ – сукцинатдегідрогеназа
ФЛ – фосфоліпіди
ЦХО – цитохромоксидаза
CV – коефіцієнт варіації (Coefficient of Variation)
HF – високочастотні коливання (High Frequency)
LF – низькочастотні хвилі (Low Frequency)
MF – коливання середньої частоти (Mid Frequency)
MxDMn – варіаційний розкид (різниця між Mx – максимальним,
Mn – мінімальним значеннями кардіоінтервалів)
RMSSD – квадратний корінь із суми квадратів різниці величин послідовних пар
NN-інтервалів (Root Mean Sum Successful Devition)
SDNN – стандартне відхилення NN-інтервалів (Successful Devition)
АМо – амплітуда моди
Мо – мода
TP – загальна спектральна потужність (Total Power)
ω-3 ПНЖК – омега-3 поліненасичені жирні кислоти
ω-6 ПНЖК – омега-6 поліненасичені жирні кислоти
ω-3/ω-6 ПНЖК – співвідношення омега-3/омега-6 поліненасичених жирних
кислот