

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

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

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

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ Ковальчук І.М.

Науковий керівник:
доктор медичних наук, професор,
член-кор. НАМН України,
Гжегоцький М.Р.

Львів 2019

АНОТАЦІЯ

Ковальчук Ірина Миколаївна. 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.

Дисертація присвячена дослідженню впливу гідроген сульфідіду та його попереднього застосування за умов дії іонізуючого випромінювання на активність регуляторних систем, функціонально-метаболічний стан міокарда і печінки на основі аналізу варіабельності серцевого ритму, змін жирнокислотного складу фосфоліпідів та загальних ліпідів, активності ензимів різних ланок окисного метаболізму експериментальних тварин. Дослідження були проведені на 90 білих нелінійних щурах-самцях масою 180-200 г, згідно чинних вимог щодо гуманного ставлення до експериментальних тварин. Розчин донора сірководню NaHS вводили щурам внутрішньочеревно дозою 7,4 мг/кг. Сумарна поглинена доза іонізуючого випромінювання, якої зазнавали тварини, становила 2 Гр.

Проведено дослідження динаміки змін параметрів варіабельності серцевого ритму (BCR) щурів у різні терміни з часу застосування донора H₂S. Встановлено, що через 30 хв після введення розчину NaHS на 78 % ($p < 0,05$) щодо контролю збільшилась загальна потужність спектру (TP), що свідчить про підвищення активності всіх ланок регуляторних систем. При цьому найбільшою мірою підвищилася активність парасимпатичного відділу автономної нервової системи, на що вказує зростання потужності високочастотних коливань (HF) у 2 рази ($p < 0,05$). Разом з тим відмічено вірогідне збільшення потужності спектру в діапазоні середньочастотних

(MF) та низькочастотних (LF) коливань, що свідчить про зростання активності симпатичних та гуморально-метаболических процесів. Збільшення рівня статистичних параметрів ВСР, зменшення величини симпто-вагусного показника на 26 % ($p < 0,05$) у цей термін дії NaHS вказує на переважання парасимпатичних регуляторних впливів на серце. На третю годину після введення донора сірководню досліджувані показники ВСР відновлювались практично до вихідного рівня; через 24 години – відзначено повторне зростання активності всіх ланок регуляторних систем з переважаючим впливом парасимпатичного відділу, при цьому ці зміни були менш виражені, ніж у ранній термін після введення донора H_2S . Через 48 год після введення NaHS зафіксовано відновлення статистичних та спектральних показників практично до вихідних значень. Таким чином, виявлено часозалежний ефект дії донора H_2S на параметри ВСР, що проявлявся у підвищенні активності регуляторних систем на 30-ту хв і через 24 години його впливу, проте менш виражений щодо першого терміну дослідження.

Дослідженнями динаміки змін параметрів ВСР у пострадіаційний період встановлено протилежної спрямованості щодо впливу донора гідроген сульфіді зміни активності регуляторних систем. Виявлено, що через 24 год за умов одноразової дії іонізуючого випромінювання (дозою 2 Гр) загальна потужність спектру зменшилася у два рази ($p < 0,05$). Відмічено також істотне зниження спектральної потужності у всіх частотних діапазонах та рівня статистичних показників. Через 72 год пострадіаційного періоду було відмічено тенденцію до поступового відновлення значень спектральних та часових параметрів, проте зазначені показники залишалися достовірно нижчими як щодо контролю, так і відносно першої доби після опромінення. Найбільш виражене пригнічення активності регуляторних процесів та автономного контуру регулювання серцевої діяльності було зафіксовано через 48 год, що проявлялось зменшенням TP на 82 % ($p < 0,05$), а також зниженням спектральної потужності у всіх частотних діапазонах, зокрема HF на 88 % ($p < 0,05$) та статистичних показників ВСР, зокрема, SDNN на 50 %

($p < 0,05$). Попереднє до дії радіації введення NaHS призводило до менш вираженого зниження TP, ніж при дії лише радіації, що вказує на підтримання вірогідно вищого рівня регуляторних процесів за цих умов порівняно з радіацією. Разом з тим відзначено істотне збільшення порівняно з впливом радіації рівнів спектральної потужності в діапазоні LF і MF. Величини часових показників достовірно збільшилися відносно впливу лише опромінення, що вказує на підтримання вищого рівня активності парасимпатичного відділу автономної нервової системи, покращення перебігу адаптаційних процесів, помірну активацію ерготропних процесів, а також на зменшення індукованого радіацією напруження регуляторних систем.

Вперше встановлено, що одним із модифікувальних ефектів дії гідроген сульфіду є його вплив на жирнокислотний склад фосфоліпідів та загальних ліпідів у печінці, міокарді та плазмі крові. Такі зміни проявлялися у зростанні вмісту ω -3 поліненасичених жирних кислот (ПНЖК), збільшенні співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК, зниженні рівня коротколанцюгових насичених жирних кислот (ЖК). Відзначено, що у всіх досліджуваних середовищах на 30-ту хв і через 24 год з часу введення NaHS зменшився рівень таких насичених ЖК фосфоліпідів: каприлової (C8:0), капринової (C10:0), лауринової (C12:0), міристинової (C14:0) та арахінової (C20:0). Встановлено зростання концентрації ейкозапентаєнової (C20:5) ω -3 ПНЖК щодо контролю на 14 % ($p < 0,05$), 12 % ($p < 0,05$) та 19 % у печінці, міокарді та плазмі крові, відповідно. У печінці та міокарді, крім цієї ПНЖК, найбільшою мірою зросла концентрація докозатриєнової кислоти (C22:3) ω -3 ПНЖК. Водночас, встановлено зменшення вмісту ω -6 ПНЖК у всіх досліджуваних середовищах – ейкозادیєнової (C20:2), ейкозатриєнової (C20:3), докозатетраєнової (C22:4) ЖК. За таких змін композиції ПНЖК співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК вірогідно зросло в печінці – на 10 % ($p < 0,05$), у міокарді – на 11 % ($p < 0,05$), у плазмі крові – на 15 % ($p < 0,05$) та залишалось достовірно вищим і через 24 години після введення донора гідроген

сульфіду. Виявлене під впливом гідроген сульфід у збільшення співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК вказує на позитивну модифікацію жирнокислотного складу фосфоліпідів біомембран і оптимізацію мембранозалежних процесів завдяки зростанню вмісту ω -3 ПНЖК.

Через 24 год після дії іонізуючого випромінювання виявлено збільшення рівня наступних насичених ЖК: каприлової (C8:0), капринової (C10:0), лауринової (C12:0), міристинової (C14:0), пальмітинової (C16:0), стеаринової (C18:0) у міокарді, печінці та плазмі крові. Водночас встановлено зменшення рівня ω -3 ПНЖК, зокрема, ейкозапентаєнової (C20:5), докозапентаєнової (C22:5) та зростання вмісту ω -6 ПНЖК, найбільшою мірою ейкозациєнової (C20:2), ейкозатриєнової (C20:3) у міокарді, печінці та плазмі крові; співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК зменшилося відносно контролю на противагу до збільшення цього коефіцієнту за впливу гідроген сульфід.

Зміни вмісту жирних кислот загальних ліпідів у досліджуваних біооб'єктах мали аналогічну спрямованість.

Відзначено, що попереднє до дії іонізуючого випромінювання введення донора сірководню зумовлює зниження рівня насичених ЖК та зростання співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК щодо дії радіації у досліджуваних середовищах. Такі зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів за попереднього до дії радіації впливу донора гідроген сульфід свідчать про позитивний модулювальний ефект H_2S на структурно-функціональний стан мембран та перебіг мембранозалежних процесів. Таким чином, вперше виявлено збільшення співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК за впливу донора гідроген сульфід, що може бути прогностично сприятливим показником конформаційних змін при активації H_2S -залежних паракринних механізмів пристосувальних процесів за дії іонізуючого випромінювання.

Дослідженнями активності ензимів різних ланок окисного метаболізму встановлено особливості включення метаболічних шляхів енергозабезпечення функцій у печінці та міокарді за умов застосування донора H_2S та дії радіації на цьому фоні. За умов впливу донора гідроген

сульфіду в міокарді відмічено значну активацію аспартатамінотрансферази (АСТ) на 65 % ($p < 0,05$) через 30 хв, мобілізація якої підтримувалася і за дії радіації на фоні попереднього введення NaHS . Водночас встановлено перевищення рівня активності малатдегідрогенази (МДГ) щодо контролю на 34 % ($p < 0,05$) через 30 хв після введення NaHS . За умов дії іонізуючого випромінювання на фоні застосування донора гідроген сульфід активність МДГ вірогідно підвищилась як відносно величин контролю (на 27 %, $p < 0,05$), так і щодо впливу іонізуючого випромінювання. Активація трансаміназного шляху одночасно із підвищенням активності МДГ забезпечує підтримання високого рівня співвідношення НАДН/НАДФН в клітинних компартментах, необхідного, зокрема, для підтримання електрохімічного градієнту протонів, а, отже, підвищення потужності дихального ланцюга, спряженого з аеробним енергосинтезом.

У печінці застосування донора H_2S , а також дія іонізуючого випромінювання на фоні його попереднього введення призводило до активації ФАД-залежного енергоутворення, про що свідчить підвищення активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) на 29 % ($p < 0,05$) спряжене з менш вираженим збільшенням активності цитохромоксидази (ЦХО) на 17 % ($p < 0,05$) щодо впливу лише радіації.

Таким чином, ефект попереднього до дії радіації введення донора гідроген сульфід виявляється в зменшенні напруження регуляторних процесів, збільшенні потужності відновних процесів, помірній активації ерготропних реакцій, особливостях оптимізації процесів енергозабезпечення у міокарді та печінці, у менш вираженому зниженні співвідношення $\omega\text{-3}/\omega\text{-6}$ ПНЖК порівняно з впливом самої лише радіації. Це доводить позитивний ефект залучення H_2S -залежних паракринних процесів до формування ефективних пристосувально-компенсаторних реакцій організму за дії іонізуючого випромінювання.

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

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. – Qualified scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences in 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 at different levels of oxidative metabolism of experimental animals.

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 by 78 % relative to the control ($p<0,05$), 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, as indicated by the increase in the power of high-frequency oscillations (2-fold, $p<0,05$). However, a significant increase in the power of spectrum in the range of mid-frequency and low-frequency oscillations was noted, which indicates an increase in the activity of sympathetic and humoral-metabolic processes. An increase in the level of HRV statistical parameters, a decrease in the value of the sympathetic vagus index (by

26 %, $p < 0,05$) during this period of NaHS influence indicates the predominance of parasympathetic regulatory effects on the heart. At the third hour after the application of the hydrogen sulfide donor, the studied HRV indicators were restored to almost baseline; 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 H_2S donor. On the second day after the application of NaHS, the recovery of statistical and spectral indices was almost reached the original values. Thus, a time-dependent effect of the action of the H_2S donor on HRV parameters was detected, which was manifested in the increase of activity of regulatory systems for the 30th minute and after 24 hours of its impact, but less pronounced in relation to the first study period.

Studies of the dynamics of changes in HRV parameters in the post-radiation period have established the opposite direction regarding the influence of the donor hydrogen sulfide on changes in the activity of regulatory systems. It was found that after 1 day under the influence of a single action of ionizing radiation (2 Gy dose) the total power of the spectrum decreased 2 times ($p < 0,05$). There was also a significant decrease in spectral power in all frequency bands and in the level of statistical indicators. On the third day of the post-radiation period, there was a tendency for the gradual recovery of spectral and time parameters, but the observed indicators remained significantly lower both in terms of control and relative to the first day after irradiation. The most pronounced inhibition of the activity of regulatory processes and inhibition of the autonomic circuit of regulation of cardiac activity was recorded on the second day, which was manifested by a decrease in TPS by 82 % ($p < 0,05$), as well as a decrease in spectral power in all frequency bands, including HF by 88 % ($p < 0,05$) and HRV indexes, for example SDNN by 50 % ($p < 0,05$). 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.

However, there is a significant increase compared to the influence of radiation of spectral power levels in the range of low-frequency and mid-frequency. The magnitudes of the time indicators significantly increased relative to the effects of irradiation alone, indicating that the activity of the parasympathetic part of the autonomic nervous system is maintained, that the course of adaptation processes is improved, that the ergotropic processes are moderately activated, and that the tension of regulatory systems influenced by radiation are reduced.

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 omega-3 polyunsaturated fatty acids, increasing the ratio of omega-3/omega-6, reducing the levels of short-chain saturated fatty acids. It was noted that in all investigated environments, the level of such saturated fatty acids of phospholipids as caprylic (C8:0), capric (C10:0), lauric (C12:0), myristic (C14:0) and arachic (C20:0) decreased in the 30 min and 1 day after the introduction of NaHS. The concentration of eicosapentaenoic (C20:5) omega-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) was found to increase by 14 % ($p<0,05$), 12 % ($p<0,05$) and 19 % compared to control in the liver, myocardium, and blood plasma, respectively. In the liver and myocardium, in addition to this PUFA, the concentration of docosatrienoic acid (C22:3) omega-3 PUFA increased the most. At the same time, the content of omega-6 PUFA was reduced in all tested environments – eicosadiene (C20:2), eicosatriene (C20:3), docosatetraic (C22:4) fatty acids. With such changes in the composition of PUFA, the ratio of omega-3/omega-6 increased significantly in the liver – by 10 % ($p<0,05$), in the myocardium – by 11 % ($p<0,05$), in the blood plasma – by 15 % ($p<0,05$) and remained significantly higher 24 hours after administration of hydrogen sulfide donor.

The increase in the ratio of ω -3/ ω -6 PUFA found under the influence of hydrogen sulfide indicates a positive modification of the fatty acid composition of the phospholipids of biomembranes and optimization of membrane-dependent processes due to the increase in the content of ω -3 PUFA.

An increase in the level of saturated fatty acids (caprylic (C8:0), capric (C10:0), lauric (C12:0), myristic (C14:0), palmitic (C16:0), stearic (C18:0)) was detected 24 hours after the action of ionizing radiation in the myocardium, liver, and blood plasma. At the same time, a decrease in the level of omega-3 PUFAs (in particular, eicosapentaenoic (C20:5), docosapentaenoic (C22:5) acids) and an increase in the content of omega-6 PUFAs, mostly eicosadiene (C20:2), eicosatrienoic (C20:3) acids) in the heart, liver and blood plasma; the ratio of omega-3/omega-6 decreased relative to the control as opposed to increasing this index under the influence of hydrogen sulfide.

Changes in fatty acid content of total lipids in the studied objects had a similar orientation.

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 omega-3/omega-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. Thus, for the first time, an increase in the ratio of omega-3/omega-6 PUFA due to the action of a hydrogen sulphide donor was detected, which can be a prognostically favorable indicator of conformational changes upon activation of H₂S-dependent paracrine mechanisms of adaptive processes by ionizing action.

Studies of the enzyme's activities at different levels of oxidative metabolism have revealed the peculiarities of inclusion of metabolic pathways of energy supply of liver and heart functions under the influence of H₂S donor and radiation exposure at this background.

Under the influence of the hydrogen sulfide donor in the heart tissue showed a significant activation of AST (65 %, $p < 0.05$) after 30 min, whose mobilization was supported by the action of radiation on the background of the application of NaHS. At the same time, MDG activity was found to be higher on 34 % ($p < 0.05$)

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 MDG significantly increased (by 27 %, $p < 0,05$) both relative to the control values and to values under the effect of ionizing radiation. Activation of the transaminase pathway, while increasing the activity of MDG, maintains a high level of NADN/NADPH ratio in cellular compartments, which is necessary, in particular, to maintain the electrochemical proton gradient, and therefore 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 SDH (by 29 %, $p < 0,05$) is associated with a less expressed increase in the COCs activity (by 17 %, $p < 0,05$) 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 omega-3/omega-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.

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.
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.
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.
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.
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, Croatia)*. 2018; 2(1): 36-43.
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.

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.

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.

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 Трав12-13; Дніпро. Дніпро; 2017. с. 10-13.

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.

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.

13. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР. Ефекти впливу донора сірководню NaHS на варіабельність серцевого ритму експериментальних тварин. *Праці НТШ. Медичні науки*. 2016; 47(2): 100-101.

14. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР, Ковальчук СМ. Зміни активності регуляторних систем під впливом гідроген сульфідів та його попереднього застосування при дії радіації. Клінічна та експериментальна патологія. 2017;3 (61, ч.2,): 52.
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.
16. Ковальчук ІМ. Модулювальні ефекти гідроген сульфідів 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. 24-6.
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.
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.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	19
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ФІЗІОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ ТА МЕХАНІЗМИ ДІЇ ГАЗОТРАНСМІТЕРА ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ (H₂S). ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	
1.1 Особливості метаболізму та ефекти впливу гідроген сульфід у різних тканинах організму.....	28
1.2 Роль гідроген сульфід у регуляції фізіологічних процесів та запальних реакцій.....	32
1.3 Вплив малих доз іонізуючого випромінювання на мембранозалежні механізми регуляторних систем.....	42
1.3.1 Роль жирнокислотного складу фосфоліпідів у визначенні функціонально-метаболічного стану клітинних і субклітинних мембран.....	42
1.3.2 Ефекти впливу іонізуючого випромінювання на енергозалежні процеси в організмі.....	45
1.3.3 Зміни регуляторних механізмів різних рівнів за дії іонізуючого випромінювання.....	49
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
2.1 Об'єкти та умови дослідження.....	51
2.2 Моделювання впливу іонізуючого випромінювання на експериментальних тварин.....	54
2.3 Метод аналізу варіабельності серцевого ритму експериментальних тварин.....	55
2.4 Методики визначення активності ензимів енергетичного обміну в гомогенатах міокарда і печінки.....	58
2.4.1 Визначення вмісту загального протеїну.....	59
2.4.2 Дослідження активності окремих ензимів у гомогенатах міокарда та печінки щурів.....	59
2.5 Методика визначення жирнокислотного складу фосфоліпідів та загальних ліпідів міокарда, печінки та плазми крові експериментальних тварин методом газорідинної хроматографії.....	62
2.5.1 Газохроматографічний метод кількісного визначення жирнокислотного складу фосфоліпідів.....	63
2.5.2 Газохроматографічний метод визначення абсолютного вмісту окремих довголанцюгових жирних кислот загальних ліпідів...	66

2.6	Статистичне опрацювання результатів досліджень.....	68
РОЗДІЛ 3 ОЦІНКА АКТИВНОСТІ РЕГУЛЯТОРНИХ СИСТЕМ		
ОРГАНІЗМУ НА ОСНОВІ АНАЛІЗУ ВАРІАБЕЛЬНОСТІ		
СЕРЦЕВОГО РИТМУ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ДОНОРА ГІДРОГЕН		
СУЛЬФІДУ NaHS ТА ЙОГО ПОПЕРЕДНЬОГО ЗАСТОСУВАННЯ		
ДО ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ		
3.1	Зміни параметрів ВСР щурів у різні терміни після впливу NaHS.....	69
3.2	Зміни параметрів ВСР експериментальних тварин за дії іонізуючого випромінювання.....	76
3.3	Вплив попереднього до дії радіації застосування донора H ₂ S на показники ВСР.....	80
РОЗДІЛ 4 ЗМІНИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ		
ФОСФОЛІПІДІВ ТА ЗАГАЛЬНИХ ЛІПІДІВ ПЕЧІНКИ, МІОКАРДА		
ТА ПЛАЗМИ КРОВІ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ДОНОРА ГІДРОГЕН		
СУЛЬФІДУ ТА ЙОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЗА ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО		
ВИПРОМІНЮВАННЯ		
4.1	Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів печінки, міокарда та плазми крові за дії донора гідроген сульфіді.....	87
4.2	Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів печінки, міокарда та плазми крові за дії донора гідроген сульфіді.....	96
4.3	Модифікація жирнокислотного складу фосфоліпідів печінки, міокарда та плазми крові щурів за попереднього до дії радіації застосування донора гідроген сульфіді.....	101
4.4	Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів печінки, міокарда та плазми крові щурів за попереднього до дії радіації застосування донора гідроген сульфіді.....	110
РОЗДІЛ 5 ОЦІНКА ПОПЕРЕДНЬОГО ДО ДІЇ РАДІАЦІЇ ВПЛИВУ		
ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НА АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ		
ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ В МІОКАРДІ ТА ПЕЧІНЦІ		
5.1	Зміни активності ензимів енергетичного обміну в міокарді та печінці експериментальних тварин за дії NaHS.....	120
5.2	Зміни активності ензимів енергетичного обміну в міокарді та печінці експериментальних тварин за впливу NaHS попередньо до дії радіації.....	124
РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ		
ДОСЛІДЖЕННЯ		
ВИСНОВКИ		
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ		
		134
		147
		150

ДОДАТОК А Інформаційний лист.....	186
ДОДАТОК Б Акти впровадження.....	189
ДОДАТОК В Відомості про апробацію дисертації.....	193
ДОДАТОК Д Наукові праці, опубліковані за темою дисертації.....	194

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- АНС – автономна нервова система
- АСТ – аспартатамінотрансфераза
- ВСР – варіабельність серцевого ритму
- ЖК – жирні кислоти
- ЖКС – жирнокислотний склад
- ЗЛ – загальні ліпіди
- ЛДГ – лактатдегідрогеназа
- ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності
- ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності
- МДГ – малатдегідрогеназа
- ПНЖК – поліненасичені жирні кислоти
- ПОЛ – перекисне окислення ліпідів
- ПСНС – парасимпатична нервова система
- СДГ – сукцинатдегідрогеназа
- СНС – симпатична нервова система
- СОД – супероксиддисмутаза
- ССС – серцево-судинна система
- ФЛ – фосфоліпіди
- ЦХО – цитохромоксидаза
- CV – коефіцієнт варіації (Coefficient of Variation)
- HF – високочастотні коливання (High Frequency)
- HR – частота серцевих скорочень (Heart rate)
- IC – індекс централізації (Index of Centralization)
- IL – інтерлейкін
- 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)

SAM – S-аденозилметіонін

SDNN – стандартне відхилення NN-інтервалів (Successful Devition)

SI – стрес-індекс (Stress Index)

TNF- α – тумор-некротичний фактор α

TRPV1-рецептори – англ. Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1

AMo – амплітуда моди

iNOS – індукцибельна NO-синтаза

Mo – мода

TP – загальна спектральна потужність (Total Power)

ω -3 ПНЖК – омега-3 поліненасичені жирні кислоти

ω -6 ЖК ПНЖК – омега-6 поліненасичені жирні кислоти

ω -3/ ω -6 ПНЖК – співвідношення омега-3/омега-6 поліненасичених жирних кислот

ВСТУП

Актуальність теми. Вивчення ролі газового медіатора – гідроген сульфіду (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 [1, 2]. 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 [3-9]. 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 [10]. Іонізуюче випромінювання викликає розвиток оксидативного стресу, зумовлює функціональні та структурні порушення стану клітинних і субклітинних мембран різних органів [11], 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 (ПОЛ), урівноважений системою антиоксидантного захисту [12]. За дії радіації значно зростає інтенсивність процесів ліпопероксидації, що може призвести до порушення жирнокислотного складу мембран, зриву енергозабезпечення компенсаторно-відновних процесів [13]. Тому, важливим критерієм оцінки стану гомеостатичних реакцій є дослідження жирнокислотного складу (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 сульфідів шляхом модифікації структурно-функціонального стану мембран. Одним із методів, які дозволяють оцінити стан регуляторних систем різних рівнів, є аналіз варіабельності серцевого ритму (ВСР) [14, 15]. Тому, актуальним є комплексне дослідження активності регуляторних систем різних ланок на основі аналізу ВСР, жирнокислотного складу біомембран різних органів, метаболічних клітинних процесів на основі активності ензимів енергетичного обміну за впливу гідроген сульфідів 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-метаболічних 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-метаболічних параметрів організму за умов адаптації до дії екстремальних чинників різної природи» (№ державної реєстрації 0116U004510, 2016-2020 рр.).

Мета роботи. Оцінка функціонально-метаболічного 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-метаболічний 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 Стюдента 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 ВСР, 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 самотійної його дії, так і попередньої до впливу радіації на вміст насичених та ненасичених 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 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 чотирьох додатків. Робота містить 25 таблиць, 25 рисунків, в т.ч. 9 графіків.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ФІЗІОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ ТА МЕХАНІЗМИ ДІЇ ГАЗОТРАНСМІТЕРА ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ (H₂S). ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Особливості метаболізму та ефекти впливу гідроген сульфід у різних тканинах організму

Останніми десятиліттями об'єктом сучасної науки та фізіології є вивчення паракринних механізмів регуляції фізіологічних функцій за участю внутрішньоклітинних сигнальних молекул, таких, як монооксид азоту (NO), монооксид вуглецю (CO) та сірководень (H₂S) [16-18]. На даний час відомо, що ці леткі неорганічні сполуки, які ще називають газотрансмітерами, беруть участь у регуляції значної кількості фізіологічних функцій організму, найменш вивченими серед яких є сірководень [1, 19, 20]. Інтерес дослідників до даної речовини зростає з огляду на його вагому роль в фізіологічних процесах живого організму, як потенційно терапевтичного засобу впливу [21-27]. Досліджено, що H₂S впливає в організмі на обмінні процеси і забезпечує регуляцію і модуляцію більшості фізіологічних і біохімічних процесів. Численні дослідження дали можливість продемонструвати значні досягнення знань науковців та дослідників про механізми впливу, шляхи синтезу H₂S, їх регулювання, розподіл у тканинах і клітинах ензимів, за участю яких синтезується гідроген сульфід. Важливим питанням є зміни H₂S та його метаболітів у розвитку патологічних станів [28, 29].

Відомо, що синтез ендогенного сірководню знаходиться під впливом фізіологічних та патофізіологічних факторів, та може реалізовуватися ферментативними та неферментативними шляхами [30]. Ендогенний сірководень виробляється в невеликих кількостях клітинами ссавців і виконує ряд важливих біологічних функцій, в тому числі сигнальні.

Фактично, MST виконує переважно функцію сірчаного носія, ніж виробника H_2S , шляхом послідовних реакцій генерується сульфанова сірка. Іншим ферментом, що здатний переносити сірку в організм, є роданаза (також відома як тіосульфатсульфуртрансфераза) – істинно мітохондріальний ензим [42-44]. Однак біологічні і фізіологічні властивості та ефекти цього ферменту в ендогенному метаболізмі H_2S продовжують вивчатися.

Цистатіонін-γ-ліаза (CSE) має більший діапазон поширеності в тканинах, ніж цистатіонін-β-синтаза (CBS) [45, 46]. Активність CSE в мозку людини в кілька разів є вищою, ніж у мозку мишей. У печінці мишей CSE є основним ензимом, відповідальним за продукування H_2S [47-50]. Ключові функції CBS проявляє у тканині мозку, де виявлено її значну активність у гіпокампі, мозочку, корі та стовбурі мозку. Активність MST відмічена у гліальних клітинах ЦНС, нейронах гіпокампа, клітинах Пуркінє, гладеньких м'язах судин, кардіоміоцитах, клітинах печінки та нирок [51-55].

Останніми дослідженнями встановлено, що CBS присутня і в судинному ендотелії. Спільність впливу цистеїнамінотрансферази і 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази також виявлені в ендотелії судин мозку, тоді як лише MST, але не CAT, знаходиться в гладеньких м'язах судин [56-58]. Нещодавно також встановлено, що синтез H_2S з цистеїну та цистеїну з гомоцистеїном забезпечують протекцію судинного ендотелію від окисного стресу та корекцію гіпергомоцистеїнемії, що може мати значення для розвитку серцево-судинних порушень [59-63, 5].

Існують інші потенційні метаболічні шляхи генерування сірководню, механізми яких продовжують активно досліджуватися [64]. Продукція ендогенного гідроген сульфідіду може відбуватися і неферментативним шляхом. Активність зазначених ферментів та контроль синтезу гідроген сульфідіду в різних тканинах організму може змінюватися за умов відхилення параметрів гомеостазу, порушення біохімічних процесів у внутрішньоклітинному середовищі. Вважається, що в тканинах організму

сірководень представлений недисоційованим у воді H_2S , аніонгідросульфідом HS^- , сульфід-аніоном S^{2-} [65, 66].

Ще одним джерелом синтезу ендogenous сірководню є мікрофлора, зокрема, сульфатвідновлювальні бактерії, які належать до нормальної мікробіоти кишківника людини і тварин [67]. У процесі своєї життєдіяльності вони здатні використовувати сульфат як кінцевий акцептор електронів та відновлювати його в кінцевому результаті до гідроген сульфиду (дисиміляторне відновлення сульфату) [68].

Значна частина досліджень пояснює катаболізм сірководню на основі екзогенно введеного H_2S . Згідно опублікованих даних, він швидко піддається окисленню в мітохондріях у тіосульфат, у результаті ряду реакцій кінцевим продуктом метаболізму H_2S є сульфат [69].

Залежно від концентрації кисню в середовищі H_2S може виконувати функцію донора електронів та брати важливу участь у окисно-відновних реакціях [70, 71]. Хімічні реакції в організмі на основі сірковмісних сполук мають фізіологічне обмеження і використовуються для контролю внутрішньоклітинного окисно-відновного гомеостазу і окисно-відновного сигналіngu. Поряд з цим, як сильний відновник, H_2S здатний реагувати з металами. На вплив сильних окисників реагує окисленням до діоксиду сірки або сірчаної кислоти, в залежності від температури, концентрації окислювача, рН розчину. Електронна конфігурація H_2S сприяє функції віддачі електронів, що має значення для зв'язування цього газу з білками організму [72]. Сірководень є ліпофільною сполукою, що дає можливість цьому газомедіатору досягати клітин-мішеней у біологічних мембранах, цитозолі клітини або органелах. Така виражена проникність, широкий діапазон впливу надає цій унікальній молекулі характеристики специфічності, селективності та властивості передачі сигналу, наслідком чого є можливість впливати на різноманітні біологічні, біохімічні, фізіологічні та патофізіологічні процеси в організмі [73]. Тому, розуміння біохімічних механізмів дії та взаємодії цих речовин мають фізіологічне та

клінічне значення. Сучасні наукові методи використовують різні рівні H_2S у плазмі крові як біомаркери для діагностики ряду патологічних станів та їх прогнозу. Крім того, точний і цілеспрямований моніторинг рівня сірководню в органах і тканинах за умов фармакологічного впливу донорів H_2S дозволяє контролювати терапевтичні ефекти їх впливу та встановлювати профілі і баланс токсичності та ефективності [74].

Отже, низка виявлених позитивних впливів гідроген сульфіду на значну кількість фізіологічних функцій в організмі дозволяє вченим синтезувати синтетичні «донори» сірководню чи блокатори його синтезу, які на етапі сьогодення використовуються в ряді експериментальних та клінічних випробовувань та є базисом для створення нових засобів терапевтичного впливу [75].

1.2 Роль гідроген сульфіду в регуляції фізіологічних процесів та запальних реакцій

З'ясування ролі сірководню як сигнальної молекули, що бере участь у регуляції функціональної активності різних тканин організму, належить японським вченим Абе та Кімурі, які у 1996 році вперше описали можливість утворення сірководню в тканинах головного мозку та вказали на його участь у регуляторних процесах та функціональній активності клітин [76].

Дані сучасної літератури відмічають участь ендогенного сірководню в регуляції судинного тону, ангіогенезу, проліферації та апоптозу [77, 78]. Такі повідомлення засвідчують кардіо-, нефро-, нейро- та цитопротекторні властивості цього газотрансмітера. Дослідженнями встановлено, що H_2S значно стимулює ріст ендотеліальних клітин і ангіогенез [79, 80]. В експериментальних умовах H_2S або донори H_2S (часто NaHS) демонструють протекторні властивості у центральній нервовій, серцево-судинній, дихальній, травній, видільній, імунній, сенсорній системах [81-83]. Ефект впливу H_2S на клітинні структури та фізіологічні функції є дозозалежним. У

мікромольних концентраціях сірководень, як правило, володіє цитопротекторними властивостями, які можуть бути пов'язані з його здатністю нейтралізувати активні форми кисню та нітрогену. У мілімольних концентраціях H_2S проявляє цитотоксичну і проапоптичну дію [84, 85].

Цитопротекторні властивості H_2S виявляє шляхом підвищення рівня глутатіону в клітинах [86, 87]. Крім того, існує ряд даних, які засвідчують протизапальні впливи гідроген сульфід, зокрема, інгібування адгезії лейкоцитів до ендотеліальних клітин судин та міграцію лейкоцитів до вогнища запалення. Порушений ендогенний синтез H_2S спричиняє втрату структурної цілісності епітелію, і, як наслідок, сприяє розвитку запальних процесів у різних органах [88].

Відзначено, що підвищення продукції ендогенного гідроген сульфід збільшувало активність мієлопероксидази в тканинах, а також концентрацію $\text{TNF-}\alpha$ у плазмі крові [89-91]. Показано також достовірне підвищення синтезу H_2S не лише за умов сепсису, а й при локалізованих формах запалення. Більшість експериментальних досліджень свідчать про те, що за різних умов H_2S може виявляти як прозапальні, так і протизапальні ефекти [92, 93]. Гідроген сульфід шляхом модуляції активності факторів транскрипції сприяє зменшенню синтезу прозапальних цитокінів, сприяє експресії компонентів антиоксидантного захисту, стимулюванню ангіогенезу та проявляє антиноцицептивний ефект [94-97].

Свої сигнальні функції сірководень здійснює шляхом модифікації та регулювання функцій клітин-мішеней через вплив на іонні канали, кіназні механізми та ядерні фактори транскрипції. АТФ-чутливі калієві канали, що широко представлені в серцево-судинній системі (ССС), ендокринній, дихальній, нервовій системах та гастро-інтестинальному тракті, є мішенями впливу гідроген сульфід. Описані різні підтипи та субодиниці каналних комплексів АТФ-чутливих калієвих каналів, які змінюють свою активність за умов впливу H_2S , що забезпечує активацію зазначених каналів і пов'язані з цим ефекти [98, 99]. Потенціал-залежні кальцієві канали також є мішенями

впливу сірководню, де він проявляє інгібувальний вплив на потенціал-залежні канали L-типу [100]. Але, цей вплив є специфічним щодо різних тканин. Встановлено також вплив сірководню на кальцій-залежні калієві канали, що проявляється ефектом вазодилатації, зокрема, в ендотелії [101]. Отже, дія гідроген сульфїду виявляється специфічно до певних підтипів іонних каналів, де вони є чітко дозозалежними, та, відповідно, їх чутливість до ендогенно синтезованого або екзогенно введених донорів [102].

Згідно сучасних повідомлень значну роль відводять H_2S -ергічним механізмам у регуляції функцій нервової системи. Встановлено, що ендогенний H_2S підвищує чутливість НМДА-рецепторів до глутамату [103] та сприяє розвитку довготривалої потенціації в гіпокампі [104]. Вважається, що H_2S модулює редокспотенціал тіолових груп на позаклітинних доменах НМДА-рецепторів і активує їх за рахунок своїх відновних властивостей. Опосередковано посилюється продукція цАМФ під впливом екзогенного сірководню в нейронах, мозочку та гліальних клітинах. цАМФ активує цАМФ-залежну протеїнкіназу, що сприяє феномену довготривалої потенціації [105, 106]. Досліджено також здатність H_2S модулювати активність ГАМКв-рецепторів. Стимуляція постсинаптичних рецепторів індукує тривале пригнічення постсинаптичної передачі. У нейронах гіпокампу H_2S потенціює потік K^+ через АТФ-чутливі калієві канали (K_{ATP}), чим індукує гіперполяризацію, а також контролює кров'яний тиск шляхом впливу на зазначені канали [107, 108]. Отже, через контроль активності ГАМКв-рецепторів гідроген сульфід бере безпосередню участь у збалансованості процесів збудження і гальмування в головному мозку [109]. За умов експерименту доведено, що H_2S має крім властивостей нейромодуляції, ще й протекторні властивості щодо нейронів, оскільки введення донора сірководню NaHS призводило до збільшення кількості глутатіону та забезпечувало захист нейронів від загибелі за умов окисного стресу [110, 111]. У астроцитах та гліальних клітинах H_2S має здатність підвищувати концентрацію внутрішньоклітинного Ca^{2+} , який є основним

засобом комунікації між астроцитами та глією [112, 113]. Існують дані, які засвідчують, що зміни стану мікрогліальних клітин можуть бути факторами, які зумовлюють розвиток таких захворювань, як хвороба Альцгеймера та Паркінсона [114, 115]. Показано, що в таких хворих є значно менший рівень активності SAM, який є алостеричним активатором CBS, при цьому відбувається одночасне збільшення у сироватці крові гомоцистеїну. Проте надлишок H_2S теж негативно позначається на рівні розумового розвитку в хворих з даною патологією [116]. Підвищення виділення тіосульфатів із сечею є характерним для синдрому Дауна, що свідчить про підвищений синтез H_2S у таких пацієнтів [117].

Дослідженнями нейрофізіологів встановлено токсичний вплив надлишку H_2S на діяльність нейронів. Пригнічення синтезу цитохромоксидази або посилення активації NMDA-рецепторів зумовлюють порушення процесів розумового розвитку [118]. Проте, виявляється і церебропротекторний ефект впливу сірководню. Збільшення рівня глутатіону за впливу H_2S сприяє захисту нейронів від оксидативного стресу, індукований підвищеним рівнем L-глутамату [119].

На сьогоднішній день виявлено численні цитопротекторні властивості впливу гідроген сульфід у гастроінтестинальному тракті у випадку шлунково-кишкових розладів, особливо запального генезу [120]. Сірководень є важливим медіатором протекції слизової оболонки травного тракту. Прийом аспіріну та нестероїдних протизапальних препаратів призводить до зниження експресії гену CSE та зниження синтезу H_2S слизовою оболонкою шлунку. Доведено, що екзогенне введення донора сірководню NaHS зменшувало ефекти, спричинені введенням цих препаратів [121, 122]. Крім того, гідросульфід натрію зменшує адгезію лейкоцитів до клітин ендотелію судин та інфільтрацію слизової оболонки лейкоцитами, також зменшує рівень експресії $TNF-\alpha$, посилює утворення простагландину E_2 , що поєднується із зниженням секреції $IL-1\beta$, $IL-6$ та $IL-8$ [123, 124]. Експериментально доведено, що введення донора сірководню NaHS зменшує

важкість перебігу рефлекс-езофагіту в щурів; інгібування CSE у цих тварин спричиняло загострення поглиблення тканинних уражень та забезпечує нейтралізацію хлористоводневої кислоти і захист слизової оболонки від механічних та хімічних чинників [125-128]. Інгібування синтезу протизапальних факторів та посилення продукування протизапальних цитокінів лежить в основі протизапальної дії H_2S .

В експериментальних моделях фармакологічне інгібування синтезу H_2S у здорових щурів призводило до зниження експресії циклооксигенази та зниження синтезу простагландинів у слизовій оболонці [129, 130]. Встановлено, що синтез H_2S у ентеральному відділі автономної нервової системи кишки впливає на сенсорні нервові закінчення TRPV1-рецепторів і призводить до змін секреторної та моторної функцій кишківника [131-134]. Введення NaHS також призводило до зниження виділення жовчі та екскреції бікарбонатів [135].

Важлива роль належить гідроген сульфіду в метаболізмі печінки, де він впливає на проліферацію та диференціацію гепатоцитів, ліпідний метаболізм. Так, з'ясовано, що порушення синтезу сірководню може призвести до розвитку фіброзу, стеатозу та цирозу печінки [136]. Підвищений вміст гомоцистеїну зумовлює дисбаланс синтезу та утилізації H_2S , що індукує окисний стрес, запальні стани та порушення функцій судинного ендотелію, сприяє розвитку патологічних процесів [137, 138]. Дані літератури засвідчують, що ендогенний та екзогенно введений сірководень активно впливає на метаболізм печінки, що проявляється розширенням внутрішньопечінкових судин, збільшенням швидкості тканинного кровоплину та покращенням кровонаповнення органу [3, 139]. Дослідженнями науковців встановлено, що нестача синтезу H_2S може бути однією з причин розвитку портальної гіпертензії [140]. Екзогенне введення попередника гідроген сульфіду призводило до нормалізації тиску в печінкових судинах та зміни реактивності судин, що сприяє оптимізації кровоплину в печінці [141, 142]. З'ясовано, що в печінковій циркуляції NO та

H_2S використовують різні сигнальні шляхи для впливу на стан судин. Саме донор H_2S проявляв гепатопротекторні властивості за рахунок реалізації антиоксидантного та антиапоптичного механізмів [143]. Згідно даних досліджень, за умов ішемії/реперфузії у печінці сірководень забезпечує реалізацію механізмів гепатопротекції, що виявляються у пригніченні окисного стресу через посилення антиоксидантного впливу, зменшення синтезу прозапальних медіаторів ($\text{TNF-}\alpha$, IL-10), зменшення апоптозу гепатоцитів [144, 145]. Захисні властивості гідроген сульфїду при ішемїчних станах, ймовїрно, ї зумовленї зменшеним запитом клїтин у киснї, чим забезпечується захист гепатоцитів вїд гїпоксїї [146, 147].

Згїдно численних досліджень, ключовї функцїї як сигнальної молекули сірководень виявляє саме у кардіоваскулярнїй системї. Основний ензим, що забезпечує синтез H_2S у CCC, є CSE, експресїя якого є найбільшою у гладеньких м'язах судин, ендотелїї та периадвентицїї жирової тканини [148, 149]. Подїбно до дїї інших газотрансмітерів, H_2S у фізіологїчних концентрацїях зумовлює розслаблення гладеньких м'язів судин. Описанї ефекти вазорелаксацїї забезпечують участь гїдроген сульфїду у регуляцїї артерїального тиску [150, 151]. В ендотелїї судин ця сигнальна молекула забезпечує контроль запальних та окисних процесів, старїння, пролїферацїї, стимулює ангїогенез [6, 152]. Спїльно їз монооксидом азоту гїдроген сульфїд дїє як ендотелїальний чинник розслаблення. Тому, зниження його ендотелїальної продукцїї позначається на ендотелїй-залежнїй релаксацїї судин резистивного русла та пов'язаними з цим змїнами судинного опору, що призводить до розвитку гїпертонїї. Завдяки властивостям, подїбним до властивостей окису азоту, ендогенний сірководень вважається одним з важливих факторів, що захищають органїзм вїд серцево-судинних захворювань [153]. Хоча ї монооксид азоту, ї сірководень здатнї розслабляти м'язи ї викликати вазодилатацїю, їх механїзми дїї на клїтини-мїшенї є рїзними [154]. У той час як нїтроген оксид активує фермент гуанїлатциклазу, сірководень активує АТФ-чутливї калїєвї канали у гладком'язових клїтинах

[155]. Суперечливими дотепер залишаються питання, як забезпечуються фізіологічні ефекти щодо регулювання тонусу судин між оксидом азоту, оксидом вуглецю і сірководнем [156-158]. Останні дослідження дозволяють припустити складні взаємообумовлені внутрішньоклітинні взаємодії між сигнальними механізмами оксиду азоту і сірководню, які показують, що вазодилататорні, спазмолітичні, протизапальні і протекторні властивості цих газів взаємозалежні, хоча NO безпосереднього впливу на синтез ендogenousого сірководню не виявляє, а CO пригнічує синтез CBS [159]. Проте, дані останніх досліджень виділяють H_2S як третій чинник ендотеліальної релаксації, поряд із NO та простагліцином [160]. Крім того, показано, що взаємодія між сірководнем та NO може викликати утворення S-нітрозотіолу – HSNO, що має вазоактивні властивості [161]. Перехресні взаємодії між H_2S і NO також продовжують вивчатися. Спочатку повідомлялося про синергічний ефект між цими обома газомедіаторами, а потім було ідентифіковано транскрипційну регуляцію ферментів, що продукують H_2S [162]. Останні дослідження вказують на регулювання продукції NO за допомогою H_2S шляхом активації або інгібування ізоформ NOS [163]. Хімічна взаємодія між H_2S і NO продовжує вивчатися на предмет одночасної присутності цих газотрансмітерів у клітинах і рівноцінних умов активації ферментів, відповідальних за синтез цих молекул [164].

Механізм дії сірководню на серцево-судинну систему визначається його впливом на стан і активність K_{ATP} -каналів, що супроводжується гіперполяризацією мембрани клітин [165, 166]. Інгібітори CSE зменшують провідність K_{ATP} -каналів, що свідчить про вплив ендogenousого H_2S у підтримці адекватного функціонування калієвих каналів за фізіологічних умов [167]. Отже, сірководень сприяє розслабленню кровоносних шляхів відкриття K_{ATP} -каналів у гладких м'язах судин: під дією H_2S відбувається витік іонів K^+ з клітин, що спричиняє гіперполяризацію мембрани гладких м'язів судин, інгібування потенціалзалежних Ca-каналів та зниження внутрішньоклітинної концентрації Ca, підвищення продукції ендотелієм NO,

ПГІ₂ та ендотелій гіперполяризувального фактора і, як наслідок, розслабленням судинної стінки [7, 8, 168]. Згідно даних літератури, H₂S навіть у низьких дозах може сприяти індукції вазоконстрикції, що опосередковано змінами рівня ендотеліального NO та цАМФ. За умов одночасного впливу донорів H₂S і NO було виявлено пригнічення судинорозширювального впливу NO *in vitro* та його гіпотензивний ефект *in vivo*. NaHS у низьких концентраціях чинить модулюючий вплив на NO-залежні ефекти [169, 170].

Певні повідомлення вказують на негативний хронотропний ефект завдяки інгібуванню пейсмекерних клітин синоатріального вузла. Було відмічено, що NaHS у концентрації 50-200 мкМ зменшував швидкість діастолічної деполяризації (фаза 4), що, ймовірно, пов'язано із відкриттям K_{ATP}-залежних каналів, низькі ж дози не мали вираженого хронотропного ефекту [171, 172].

Деякі автори передбачають регуляторні гемодинамічні ефекти H₂S шляхом впливу на барорецепторні рефлексі [173, 174]. У літературі описані дані щодо обмеження атеросклеротичних порушень шляхом інгібування агрегації тромбоцитів, а також вплив даної сполуки на судинні запальні процеси, що суттєво змінює стійкість бляшок та ймовірність їх дестабілізації [175, 176]. Також, при проведенні експериментів з моделюванням кальцифікації судин, що спостерігається при атеросклерозі з явищами артеріальної гіпертензії, зазначалося зниження експресії CSE, її активності та рівня H₂S у стінці аорти [177-179]. Натомість, введення екзогенного сірководню супроводжувалось зниженням кількості кальцію в цих судинах [180-182]. Своїми ефектами та відповідним дозозалежним впливом на міокард сірководень впливає на трофіку і забезпечує можливість фізіологічної регенерації на рівні клітин та покращення функцій і резервних можливостей на генному рівні. У підсумку такі дослідження вказують, що введення донора сірководню значно зменшує важкість перебігу гіпертонії, пошкодження судин та запобігає їх ремоделюванню. У випадку легеневої

гіпертензії дозозалежне введення NaHS супроводжувалося вираженим антигіпертензивним ефектом, зменшенням ремоделювання легеневих артерій [183, 184]. Низкою наукових досліджень встановлено, що системна гіпертензія ренального походження ефективно піддавалася лікуванню щоденним введенням NaHS дозою 30-100 мкМ шляхом інгібування ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ) [185-187].

Кардіопротекторний ефект сірководню проявляється у зменшенні пошкоджень міокарда за умов ішемії-реперфузії, оксидативного стресу [188-190]. Блокада ферментів синтезу ендогенного сірководню призводила до поширення зони інфаркту [191]. Вважається, що здатність релаксувати судини зумовлює покращення коронарного кровоплину при ішемічних станах [192, 193].

Останні дані про вплив сірководню на серце досить дискусійні: згідно одних досліджень зареєстрований негативний інотропний та хронотропний ефекти [194, 195], інші дослідження достовірно свідчать про його кардіопротекторний вплив. Зокрема, в експериментах на ізольованих серцях щурів за методом Лангендорфа було встановлено, що донор сірководню NaHS у дозі 10^{-6} М призводив до розвитку депресорної реакції міокарду і виснаженню його функціональних резервів, що супроводжувалося підвищенням чутливості кардіоміоцитів до дії іонів Ca^{2+} . Існують думки, що негативний інотропний вплив на міокард може бути зумовлений, як блокадою потенціалзалежних Ca^{2+} -каналів, так і пригніченням аденілатциклази [196, 197]. Свої сигнальні механізми H_2S виявляє в низьких концентраціях. При введенні NaHS у дозі 10^{-8} М також спостерігалась депресорна реакція міокарда. Автори даних досліджень вважають, що будь-яке перевищення фізіологічних концентрацій сірководню буде призводити до дозозалежного пригнічення функціональних механізмів серцевого м'яза [198]. Рівень функціональної активності кардіоміоцитів залежить від концентрації NaHS у межах 1-100 мкмоль/л. У мікромольних концентраціях донор сірководню має здатність нейтралізувати активні форми молекул,

забезпечуючи цитопротекторний ефект. Також було з'ясовано, що донор сірководню у дозі 7,4 мг/кг має виражений кардіопротекторний ефект, оскільки введення останнього сприяло збільшенню функціональних можливостей серцевого м'яза, при цьому збільшувався мембранний потенціал мітохондрій серця. Згідно проведених досліджень їх автори стверджують про участь мітохондріальних K_{ATP} -каналів у H_2S -залежному інгібуванні пороутворення в серці під час його реперфузії [9, 199]. Введення донора сірководню у концентрації 10^{-5} моль/л викликало незначне скорочення гладких м'язів препаратів аорти та ворітної вени, збільшення концентрації $NaHS$ до 10^{-4} моль/л призводило до незначного розслаблення гладких м'язів аорти та ворітної вени, збільшення концентрації до 10^{-3} моль/л спричиняло посилення релаксації цих судин [200, 201]. Застосування донора сірководню $NaHS$ в дозі 10^{-12} - 10^{-8} М супроводжувалося активацією мітохондріальних K_{ATP} -каналів, доза 10^{-6} - 10^{-5} М пригнічувала Ca^{2+} -індуковане відкриття мітохондріальної пори. За умов застосування $NaHS$ в дозі 10^{-9} - 10^{-8} М відмічалось збільшення спряженості процесів окиснення та фосфорилування, тобто його позитивний вплив на функціональний стан дихального ланцюга ізольованих мітохондрій серця щурів. В той час іншими дослідженнями встановлено, що перфузія ізольованого серця донором сірководню $NaHS$ в дозі 10^{-6} М призводила до розвитку пригнічення функціонального статусу серцевого м'яза, депресорної реакції та виснаженню його функціональних резервів, що супроводжувалося підвищенням чутливості мітохондріального апарату кардіоміоцитів до дії іонів Ca^{2+} . Використання зазначеного донора сірководню в дозі 10^{-8} М також супроводжувалося розвитком депресорної реакції міокарда та зростанням його чутливості до іонів Ca^{2+} . Отримані результати свідчать про негативний вплив доз 10^{-6} М та 10^{-8} М на функціональні властивості міокарда [202, 203].

Дослідженнями вітчизняних вчених доведено також, що існує дозозалежний вплив H_2S на акумуляцію кальцію у мітохондріях та кальцієву ємність [204]. Показано, що помірне накопичення кальцію в мітохондріях

супроводжувалося інгібуванням мітохондріальної пори, наслідком чого є підвищення кальцієвої ємності органел і зниження його вмісту в цитозолі, що розглядається як ефект кардіопротекції [205, 206]. Щодо судинної системи встановлені захисні антиоксидантні властивості гідроген сульфїду при порушенні редокс-статусу. Рівень показників окисного стресу знижувався за умов введення NaHS у дозі 30-90 мкМ [207, 208, 1]. Питання дозозалежності, особливостей метаболізму ендо- та екзогенного сірководню в різних тканинах залишається відкритим і продовжує активно досліджуватися [209-214].

Отже, всі наведені дані свідчать про важливу роль H_2S у процесах метаболізму практично всіх типів клітин, при цьому він здійснює потужний вплив на реалізацію значної кількості фізіологічних функцій організму.

1.3 Вплив малих доз іонізуючого випромінювання на мембранозалежні механізми регуляторних систем

1.3.1 Роль жирнокислотного складу фосфоліпідів у визначенні функціонально-метаболічного стану клітинних і субклітинних мембран

Жирні кислоти ліпідів є структурною динамічною складовою біологічних мембран і одночасно основним субстратом процесу ліпопероксидації, тому кількісні та якісні зміни жирнокислотного складу можуть бути адекватним критерієм для оцінки зрушень прооксидантно-антиоксидантного балансу в організмі і відображати можливість ефективної реалізації мембранозалежних функцій, а опосередковано і паракринних впливів [215, 216]. Особлива роль при цьому належить жирним кислотам. Зокрема, поліненасичені жирні кислоти є джерелом утворення в організмі фізіологічно активних сполук, таких як, простагландинів, тромбоксанів, лейкотрієнів та є модуляторами та регуляторами активності значної кількості ензимів, забезпечують сигнальну трансдукцію [217, 218]. Вони є

незамінними структурними елементами біологічних мембран, забезпечують взаємодію білково-ліпідного шару, від кількісного та якісного складу ліпідів залежить внутрішньоклітинний гомеостаз, цілісність клітинної мембрани, а, відповідно, здатність до захисту клітин від впливу чинників різноманітної природи [219, 220].

Завдяки впорядкованості ліпідно-білкового матриксу клітинних мембран підтримуються належні концентраційні та електрохімічні іонні градієнти, що впливає на основні процеси генерації біоелектричних потенціалів та, відповідно, процеси транспорту різних речовин через біологічну мембрану [221, 222]. Крім того, ліпіди підтримують, регулюють та модулюють активність ферментів, що впливають на процеси підтримання клітинного гомеостазу за умов впливу чинників різноманітної природи [223, 224]. Порушення нормальних співвідношень ліпідного та білкового компонентів клітинної мембрани призводить до дисбалансу складу окремих жирних кислот, що супроводжується змінами ліпідної фази і порушеннями клітинного метаболізму [224, 225].

Ліпідний компонент в складі плазматичної мембрани є основним субстратом процесу ліпідної пероксидації. Перекисні процеси, що виходять з-під контролю антиоксидантної системи, порушують цілісність та структурованість ліпідів, що вважається універсальним механізмом пошкодження при патології будь-якого генезу. Сучасними дослідженнями встановлено, що оксидативний стрес є ключовим фактором у виникненні серцево-судинних, гастроентерологічних, обмінних захворювань тощо [226, 227].

Клітинні мембрани можуть змінювати свої конформаційні властивості в процесі життєвого циклу, вони першими піддаються впливу екзогенних факторів. Ці процеси мають суттєве значення в координації обміну речовин в умовах стресу та зазнають контролю з боку мембранних систем регуляції [228, 229]. В результаті запускається каскад змін клітинного метаболізму, підвищується ступінь деполяризації мембранного потенціалу, збільшується

проникність мембран та активність енергозалежних систем транспорту, змінюється рН внутрішньоклітинного середовища. Зазначені процеси сприяють підвищенню в'язкості цитоплазми [230, 231]. Зміни ліпідного компоненту в умовах стресу, який є універсальною реакцією живого організму на дію пошкоджувальних чинників, супроводжується вивільненням ω -6 та інших есенціальних поліненасичених жирних кислот з фосфатидилінозитулу і фосфатидилхоліну під впливом фосфоліпази A₂. Ці кислоти можуть викликати репресію генів, що контролюють β -окислення жирних кислот та сприяють експресії ензимів, що відіграють роль у синтезі ліпідів *de novo* [232, 233]. Цей факт свідчить про ранні зміни в дисбалансі жирних кислот порівняно з іншими ліпідами. Відомо, що поліненасичені жирні кислоти на рівні генетичного впливу відіграють важливу роль у синтезі і катаболізмі та інших ланках метаболізму, тому дефіцит і дисбаланс жирних кислот може бути ініціаторним механізмом численних захворювань [234]. Зміни ліпідного спектру проявляються порушеннями електрофізіологічних характеристик клітинних мембран, що лежать в основі виникнення запальних процесів та інших патологічних станів. Цей факт пов'язаний з естерифікованим холестеролом, що становить практично половину ліпідів плазми крові. Так, поліненасичені жирні кислоти в ефірах холестеролу забезпечують адекватну направленість обмінних процесів та біологічну його дію [235-238].

Оскільки при різних патологічних станах відбувається порушення балансу окисників і антиоксидантів, це може спричинити виражені зміни на рівні клітин і молекул та порушення гомеостазу [239, 240]. Введення гідроген сульфідіду супроводжувалося пригніченням процесів окиснення та одночасно посиленням синтезу потужного антиоксиданта – глутатіону [241]. Отже, антиоксидантні властивості молекули H₂S забезпечують захист клітин від старіння та передчасної загибелі, спричинених окисним стресом [242, 243]. Вважається, що ліпідний профіль жирних кислот обумовлює спрямованість

та особливості адаптивної відповіді клітин на дію чинників різної природи [244].

Вплив іонізуючого випромінювання, як чинника зовнішнього середовища екстремальної природи збільшує ризик виникнення злоякісних новоутворень, імунного дисбалансу та соматичних захворювань [245]. Науковими даними підтверджено вплив малих доз радіації у виникненні патологічних станів. Ключовим чинником при цьому є дисбаланс жирнокислотного складу ліпідів біологічних мембран, що виявляється у різні терміни після дії радіації [246, 247]. Імунні реакції тісно пов'язані із оксидативним стресом, мітохондріальною дисфункцією та нестачею макроергічних сполук. Дефіцит кисню викликає пригнічення β -окиснення жирних кислот, які акумулюються в клітині та пошкоджують мембрани кардіоміоцитів [248]. Так, зміни певного складу ліпідів супроводжуються компенсаторними змінами інших класів ліпідів якісного та кількісного характеру. Розбалансованість у розподілі жирних кислот викликає порушення специфічних клітинних функцій [249-251].

1.3.2 Ефекти впливу іонізуючого випромінювання на енергозалежні процеси в організмі

Обмін речовин є невід'ємною складовою живого організму. Єдність хімічних, фізико-хімічних, біологічних та біохімічних процесів забезпечує постійний зв'язок із зовнішнім середовищем і відбувається при обов'язковій участі ензимного апарату. Порушення в цій складній системі роботи будь-якого ферменту розбалансовують взаємопов'язаний та взаємообумовлений перебіг обмінних процесів і призводить до розвитку патології. В організмі людини існують чутливі механізми регуляції метаболізму, оскільки потреба в енергетичному забезпеченні визначає синтез необхідної кількості речовин та швидкість метаболічних реакцій [252, 10, 253].

Безпосередню роль у забезпеченні організму енергією відіграють мітохондрії [254]. Активність ензимів електрон-транспортного ланцюга залежить від структурного складу фосфоліпідів біологічних мембран. Зміни біоенергетичних процесів, які виникають при модифікації дихального ланцюга мітохондрій, супроводжуються зменшенням концентрації АТФ у клітині та розладами мембранопов'язаних функцій, які є енергозалежними [255]. Отже, високою є ймовірність, що гідроген сульфід як мітохондріальний протектор захищає мітохондрії нейронів, кардіоміоцитів, гепатоцитів та інших типів клітин. Участь гідроген сульфиду в біоенергетичних процесах може використовуватися для підтримки збільшеної потреби в енергії клітин, що активно ростуть, мігрують та діляться [256-258]. Суто мітохондріальні ефекти сірководню є складними, оскільки являють собою радикально протилежні впливи – стимулювання та інгібування потоку електронів. Такий сульфідний окисно-відновний механізм є необхідним для контролю окисно-відновного балансу і передачі сигналу, основною метою яких є мітохондріальна біоенергетика різних клітин [259-261]. Оскільки розподіл ензимів CBS і CSE є залежним від типу клітин і тканин, то і біоенергетичні ефекти в різних тканинах мають певну специфічність [262-265].

Дія чинників екстремальної природи, зокрема, радіації виявляється у змінах білкового та ліпідного компоненту біомембран через активацію процесів ПОЛ, конформаційні перебудови білків у складі мембран та дисбаланс жирнокислотного складу фосфоліпідів [266]. Радіаційний чинник сприяє підвищенню рівня окисних процесів, стимулюванню енергосинтезу в адаптаційних процесах, відповідно, проявом таких стресових реакцій може бути гормональна дисфункція чи порушення ферментативної активності. Зміни активності ферментів є відповіддю організму на вплив стресора [267]. Вплив радіації супроводжується змінами в перебігу процесів ліпопероксидації та біоенергетичних процесів. Надмірна інтенсифікація реакцій ПОЛ викликає дестабілізацію та деструкцію клітинних мембран, це

супроводжується порушеннями функціонування мембранозв'язаних ензимів, що є необхідною умовою адекватного клітинного метаболізму [268]. Дуже чутливими до впливу малих доз іонізуючого випромінювання є фосфоліпіди клітин печінки та активність ферментів дегідрування. Так, вагому роль у регуляції рівнів активних форм кисню відіграє ензим СОД, яка сприяє обмеженню кисеньзалежних вільнорадикальних процесів та каталаза, що активно знешкоджує гідроген пероксид (H_2O_2). Суттєве значення в антиоксидантному захисті мають також складові глутатіонової системи, які протидіють накопиченню токсичних продуктів ПОЛ [269].

На сьогоднішній день існує багато доведених даних щодо впливу радіаційного чинника на процеси ПОЛ клітин. Особливо актуальними є дослідження впливу іонізуючого випромінювання у малих дозах, що часто має суперечливий та дискутабельний характер і вимагає подальшого з'ясування [270, 13].

Малі дози іонізуючого випромінювання спричиняють різноспрямовані ефекти впливу на енергетичний обмін клітин та активність ферментів в залежності від сумарної поглиненої дози та тривалості впливу радіації [271].

Загальновідомим є факт, що радіочутливість різних органів залежить від активності процесів проліферації та ступені диференціації органів. Так, у печінці – органі з інтенсивною регенерацією, під впливом іонізуючого випромінювання спостерігаються зміни різної вираженості в залежності від дози та тривалості впливу радіації [272]. У гепатоцитах спостерігаються пригнічення процесів фосфорилування, зростання споживання кисню. На більш пізніх стадіях розвиваються морфологічні зміни, що проявляються розладами кровообігу та лімфообігу, дегенерацією паренхіми та строми органу, порушенням глікогенсинтетичної функції печінки [12].

Серцевий м'яз має відмінні від скелетних м'язів функціональні та морфологічні характеристики, що пов'язані з наявністю великої кількості мітохондрій, високою активністю аеробних процесів. Біоенергетичні процеси в міокарді полягають у транспорті протонів із саркоплазми до мітохондрій,

чим забезпечується тканинне дихання та синтез молекул АТФ. Один з таких механізмів транспорту реалізовується за участю НАД-залежної малатдегідрогенази [273, 11, 274, 275].

Існують дані, які вказують, що активність амінотрансфераз значно зростає при дозі опромінення у 6 Гр у міокарді і печінці, що свідчить про порушення проникності цитоплазматичних мембран. Такі ж різноспрямовані зміни активності ферменту цитохром с-оксидази спостерігалися у випадку однофракційного опромінення у досліджених дозах 0,1, 0,5 і 1 Гр. Так, у разі дії радіації дозою 0,1 Гр відмічали значне зростання активності ензиму та пригнічення його активності за дії дози 0,5 та 1 Гр [276-278].

Встановлено, що активність сукцинатдегідрогенази у опромінених клітинах зростала на першу добу після опромінення, на 4-ту добу після впливу іонізуючого опромінення активність ензиму змінювалася в залежності від дози: доза 0,5 Гр зумовлювала збільшення активності ензиму, дози 5 та 10 Гр супроводжувалися пригніченням активності СДГ більш, ніж у 2 рази та залишалася низькою впродовж всього періоду культивування [279-281]. Більш високі дози радіації (5 та 10 Гр) проявлялися різноспрямованими змінами активності СДГ та α -гліцерофосфатази, що може бути пов'язана з компенсаторною активацією процесів гліколізу за дії цих доз радіації. Вплив малих доз радіації також супроводжується активацією глутаматдегідрогенази в мітохондріальній фракції печінки на фоні гальмування ферментативної активності в мітохондріальній фракції м'язової тканини [282, 283].

Загалом, згідно наукових повідомлень даного профілю відмічено, що дія іонізуючого випромінювання проявляється негативним впливом радіації на каталітичну активність ферментів енергетичного обміну, при цьому спостерігаються виснаження ферментних антиоксидантних систем, зниження енергетичного забезпечення тканин через розвиток тканинної та циркуляторної гіпоксії, що в подальшому призводить до дистрофічних та деструктивних змін в органах.

1.3.3 Зміни регуляторних механізмів різних рівнів за дії іонізуючого випромінювання

В умовах дії на живий організм факторів довкілля, зокрема, іонізуючої радіації, спостерігається низка радіобіологічних ефектів та пов'язаних з ними процесів адаптаційних змін. Як відомо, пристосувальні механізми за дії іонізуючого випромінювання мають фазовий перебіг, що визначається потужністю впливу, його тривалістю та індивідуальним комплексом ресурсів організму у випадку розвитку адаптаційного синдрому [284]. Характер індивідуальної реакції-відповіді організму залежить від вихідного рівня функціонування фізіологічних систем та ролі певного органу чи системи в підтриманні гомеостазу-гомеокінезу організму. Особливість адаптивних реакцій полягає у взаємодії та співвідношенні стрес-лімітуючих та стрес-реалізуючих систем [285-287]. Розвиток адаптаційного синдрому першочергово пов'язаний із функціонуванням серцево-судинної системи, якій належить пріоритетна роль у забезпеченні органів субстратними речовинами та киснем [288, 289]. Особливості регулювання гемодинаміки за умов іонізуючого випромінювання пов'язані зі станом автономної нервової системи (АНС), яка є віддзеркаленням адаптаційної реакції організму та знаходиться під модулювальним впливом вищих рівнів регуляції [290-292]. При цьому важливим критерієм порушень в системі регулювання є зміни серцевого ритму, який є інтегруючим показником активності пейсмекерних клітин провідної системи серця, а також впливу автономних та центральних рівнів регулювання серцево-судинної системи [293, 294]. Тому, параметри ВСР є інформативним тестом для оцінки формування адаптаційних реакцій за умов дії радіації [295-301].

Серце традиційно вважають органом з високою радіорезистентністю через значний вміст мітохондріальних структур у кардіоміоцитах, а також використання в якості субстрату великої кількості біологічно активних речовин, таких як глюкоза, жирні кислоти, кетонові тіла, піровиноградна та

молочна кислоти [302-311]. Згідно повідомлень різних джерел залишаються дискутабельними дані щодо впливу різних доз іонізуючої радіації на серцевий м'яз [312, 313, 314]. Так, існують дані, які свідчать про те, що дози радіації потужністю від 2 до 10 Гр не викликають змін у ранній та віддалений пострадіаційні періоди. Іншими дослідженнями показано, що за дії радіації дозою 0,5 Гр виникають істотні зміни в ендотелії кровоносних капілярів, що зумовлює виникнення судинної патології, індукованої дією опромінення [315]. При дослідженні ВРС експериментальних тварин встановлено, що доза радіації потужністю 0,5 Гр призводить до активації симпатичного та парасимпатичного відділів АНС, що свідчить про мобілізацію адаптаційних реакцій організму. Ефект дії радіації у дозі 1 Гр зумовлює ще більший ступінь активації симпатичної ланки АНС та одночасне пригнічення парасимпатичних впливів, що можна розцінити, як розвиток процесів дезадаптації. Опромінення у дозі 10 Гр зумовлює значний рівень активності симпатичного відділу та різке пригнічення парасимпатичної нервової системи, що вказує на стійке напруження регуляторних впливів та дисбаланс систем регуляції за даної дози радіації [315].

Отже, проведений аналіз літературних джерел свідчить про важливу роль гідроген сульфід у регулюванні фізіологічних процесів живого організму. Водночас, досліджень для оцінки стану та спрямованості адаптаційно-компенсаторних реакцій на основі вивчення змін варіабельності серцевого ритму, композиції жирнокислотного складу та активності ензимів енергетичного обміну за умов попереднього до дії іонізуючого випромінювання впливу гідроген сульфід практично не проводилося.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Методологія експериментальної частини роботи включала виконання комплексних досліджень на базі кафедри нормальної фізіології у співпраці з іншими кафедрами та науково-дослідними установами, зокрема, КНП ЛОР ЛОРЛДЦ, Інститутом біології тварин НААН України та Інститутом сільського господарства Карпатського регіону НААН України.

2.1 Об'єкт та умови дослідження

Дослідження проводили після отримання позитивного висновку комісії з питань біоетики (протокол № 1 від 20.01.2015 р.), згідно Міжнародних принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовують для експериментів і в інших наукових цілях» (Страсбург, 1986) та з дотриманням загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах, що використовують для експериментів на тваринах, ухвалених Інтернаціональним конгресом з біоетики (Київ, 2000), Закону України № 3447 IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [316]. Експериментальне дослідження проводилося на 90 білих нелінійних щурах-самцях масою 180-220 г, які утримувались в умовах віварію ЛНМУ імені Данила Галицького. Дослідні тварини утримувалися на стандартному харчовому раціоні в клітках Болмана для попередження копрофагії. Напередодні експерименту тварини були переведені на питний режим згідно до правил утримання експериментальних тварин. Для визначення необхідних параметрів у досліді була використана кількість тварин, яка б забезпечувала статистично достовірні результати.

Виконання досліджень вимагало поділу експериментальних тварин на два комплексних експерименти. В першому комплексі досліджень у щурів проводили визначення параметрів варіабельності серцевого ритму (BCP)

неінвазивно (рис. 2.1). Тварини були розділені на групи по 10 особин у кожній.

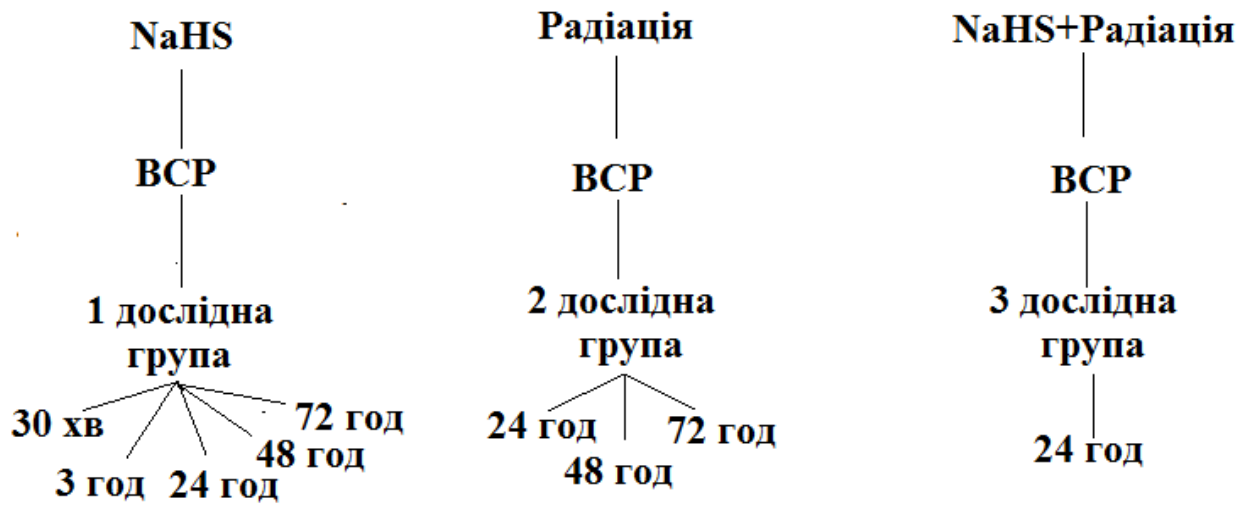


Рисунок 2.1 – Схема неінвазивної частини експерименту за умов впливу донора гідроген сульфїду, радіації та впливу NaHS попередньо до дії радіації у різні терміни дослідження

Першочергово було проведено серію досліджень, в якій у щурів визначали параметри ВСП неінвазивно.

У першій дослідній групі тварин вимірювання показників ВСП проводили через 30 хв, 3, 24, 48 та 72 год після введення донора сірководню NaHS у дозі 7,4 мг/кг внутрішньочеревно.

У другій дослідній групі – після тотального однофракційного опромінення у загальній поглинутій дозі 2 Гр через 24, 48 та 72 год.

Щурам третьої дослідної групи вводили розчин NaHS за 30 хв до опромінення та вимірювали показники ВСП через 24 год.

Контрольній групі вводили в аналогічних до дослідних груп режимах 0,9 % розчин NaCl з розрахунку 0,1 мл/100 г маси тіла щура.

Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під анестезією з використанням інгаляційного анестетика галотану. Інгаляція анестетика

проводилася під ковпаком, з вільним доступом кисню, евтаназія виконувалася при досягненні у тварин хірургічної стадії наркозу.

У другій серії комплексного дослідження в експериментальних тварин визначали показники жирнокислотного складу фосфоліпідів та загальних ліпідів у міокарді, печінці та плазмі крові та активність ензимів енергетичного обміну в міокарді та печінці (рис. 2.2).

Матеріалом для досліджень були плазма крові, міокард та печінка.

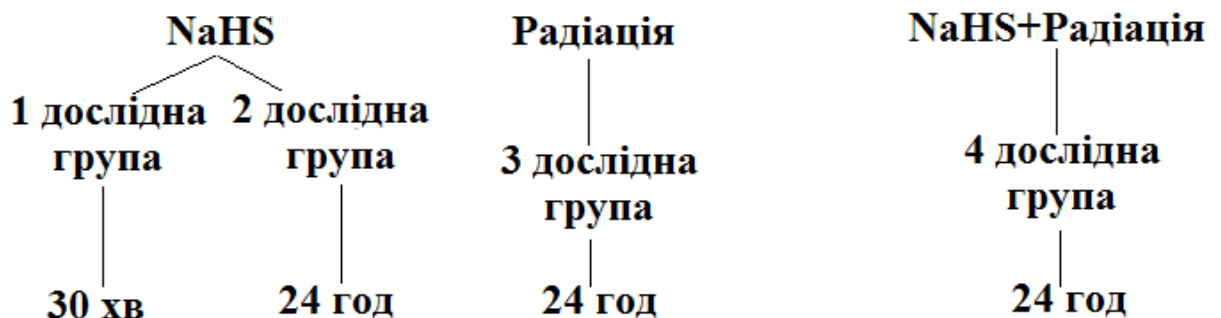


Рисунок 2.2 – Схема дослідження інвазивної частини експерименту за умов впливу NaHS, дії радіації та впливу NaHS на тлі радіації

У першій дослідній групі визначали показники ЖКС ФЛ та ЗЛ, активність ензимів енергетичного обміну через 30 хв після введення донора сірководню NaHS у дозі 7,4 мг/кг внутрішньочеревно.

У другій дослідній групі ці показники визначали через 24 год після введення NaHS.

У третій дослідній групі вищезазначені параметри визначали після тотального однофракційного опромінення у загальній поглинутій дозі 2 Гр через 24 год.

У четвертій дослідній групі вимірювання показників проводилося через 24 год на фоні попереднього до дії радіації у дозі 2 Гр введення донора NaHS.

Контрольній групі вводили 0,9 % розчин NaCl дозою 0,1 мл/100 г маси тіла щура.

Обґрунтування дози донора гідроген сульфіді NaHS .

У нашій роботі був використаний донор гідроген сульфіді NaHS («Sigma Aldrich», USA), який вводили дослідним щурам у дозі 7,4 мг/кг внутрішньочеревно, одноразово. Вибір дози препарату пов'язаний із науковими дослідженнями, проведеними групою науковців Інституту фізіології імені О.О. Богомольця під керівництвом проф. Сагача В.Ф., якими було встановлено, що донор сірководню NaHS у дозі 7,4 мг/кг має виражений кардіопротекторний ефект [196-203]. З огляду на швидкий метаболізм донора гідроген сульфіді в організмі нами були вибрані відповідні терміни дослідження, що відображають його ранні ефекти впливу та послідовні зміни різних рівнів фізіологічних процесів та регуляторних механізмів, пов'язаних із його введенням. У наших дослідженнях був використаний термін дослідження 30 хв після введення, що дозволяло прослідкувати ранні ефекти дії гідроген сульфіді в організмі, що співпадають з критичними термінами розвитку стрес-реакції, спричиненою радіаційним впливом. Подальші вибрані терміни дослідження (3 год, 24 год) дали можливість виявити динаміку змін, синхронізованих з дією радіації. Зміни параметрів досліджуваних механізмів у різні терміни після дії іонізуючого випромінювання, зокрема, через 24 год відповідало одному з критичних періодів стрес-реакції, та в динаміці (через 48 та 72 год) дозволяє виявити характер адаптаційно-приспосувальних реакцій у цей термін, а також особливості змін цих показників за дії радіації на фоні введення донора сірководню.

2.2 Моделювання впливу іонізуючого випромінювання на експериментальних тварин

Важливість вибору дози іонізуючого випромінювання визначається необхідністю прогнозування відповідних реакцій та ускладнень, які

виникають у різних системах та органах організму за умов застосування радіації з діагностичною та лікуальною метою.

Вибір дози іонізуючого опромінення, що була використана як чинник екстремальної природи у дослідженнях, пов'язаний із особливостями радіорезистентності щурів, у яких, згідно даних літературних джерел, напівлегальна доза (LD_{50}) радіації становить 8-15 Гр. Тому, для даної популяції тварин дозу опромінення 2 Гр можна розглядати як вплив малих доз радіації [317-320]. Крім того, променева терапія є одним з основних методів лікування пацієнтів з онкологічною патологією, що використовується як компонент самостійного, комплексного чи паліативного лікування [321-323].

Експериментальних тварин піддавали впливу іонізуючого випромінювання 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 становила 2 Гр. Опромінення було тотальне, однофракційне. Під час дослідження тварини поміщалися у індивідуальні клітки-фіксатори, виготовлені з тонкого деревного матеріалу.

Тварини контрольної групи знаходилися у аналогічних фіксаторах та не зазнавали впливу іонізуючого випромінювання. Після завершення експериментальної частини дослідження дослідні тварини, які не зазнали декапітації, продовжували стандартний режим перебування у віварії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

2.3 Метод аналізу варіабельності серцевого ритму експериментальних тварин

Метод ВСР знайшов широке застосування для оцінки стану серцево-судинної системи в експериментальних умовах та клінічній діагностиці.

Аналіз мінливості серцевого ритму може використовуватися як для оцінки стану автономної нервової системи, так і функціонального статусу організму в цілому [324, 325]. Ритм роботи серця є універсальною реакцією організму на вплив екзо- та ендогенних чинників та є показником функціонального стану всіх ланок регулювання фізіологічних процесів організму та параметрів гомеостазу [326].

З метою дослідження регулювальних механізмів функціонування серцево-судинної системи в дослідних тварин проводили запис параметрів ВСР, який включав аналіз спектральних та статистичних показників, а також варіаційну пульсометрію [325]. Дослідження зазначених параметрів проводилося до введення донора гідроген сульфіді чи опромінення, а також у різні терміни після застосування NaHS та дії радіації.

Імобілізацію експериментальних тварин здійснювали за допомогою спеціальної камери, виготовленої з плексиглазу, форма та розміри якої відповідали розмірам та будові щура. Після цього камеру з твариною накривали темною тканиною для відтворення «ніркового рефлексу» та з метою усунення впливу сторонніх подразників. Дане дослідження серцевого циклу дослідних тварин є неінвазивним та проводилося на ненаркотизованих щурах. Для запису серцевої діяльності використовувався фотоплетизмографічний датчик, в якому фотодіод та джерело світла знаходяться в одній площині. Датчик закріплювали біля основи хвоста щура та з'єднували з реєструючим пристроєм. Після стабілізації моторної активності щура всередині камери проводили запис кардіоінтервалів, тривалість якого становила 5 хв.

Для визначення тривалості кардіоінтервалів (AverValInterv) використовувалися швидкодіючий реєструючий пристрій (точність 10^{-6} с) та автоматичне програмне забезпечення. Проводилася побудова та запис кардіоінтервалограм, які включали динамічні ряди кардіоінтервалів. Після цього здійснювали їх аналіз та оцінку отриманих результатів.

Функціональний стан дослідних тварин оцінювали по спектральним та статистичним показникам, а також з використанням варіаційної пульсометрії.

Статистичні показники динамічного ряду кардіоінтервалів оцінювали за наступними параметрами: стандартне відхилення повного масиву кардіоінтервалів (SDNN), що характеризує сумарний ефект автономної регуляції кровообігу; корінь квадратний із суми різниць послідовного ряду кардіоінтервалів (RMSSD), що показує переважаючу активність парасимпатичного відділу автономної нервової системи (АНС); коефіцієнт варіації повного масиву кардіоінтервалів (CV), що характеризує сумарний ефект регуляції.

Для оцінки спектральних показників визначали:

- сумарну потужність спектру (TP, у c^2), що є сумарним абсолютним рівнем активності регуляторних систем;
- індекс централізації (IC), що свідчить про переважання активності центральної ланки регуляції над автономною (ступінь централізації впливу на роботу серця).

Серед параметрів варіаційної пульсометрії визначали:

- різницю між мінімальним і максимальним значенням кардіоінтервалів (MxDMn), що є відображенням максимальної амплітуди регуляторних впливів;
- моду (M_0) – показник, що найбільш ймовірно характеризує ступінь активності синусового вузла серця;
- амплітуду моди (AM_0), що є умовним показником активності симпатичного відділу автономного регулювання;
- стрес-індекс (SI, індекс напруження регуляторних систем), який характеризує переважання впливу центральних механізмів регулювання над автономними.

Аналіз спектральних компонентів ВСР здійснювали у таких частотних діапазонах:

- Low Frequency (LF) – 0,015-0,25 Гц, що відображає рівень активності вазомоторного центру;
- Mid Frequency (MF) – 0,25-0,75 Гц – характеризує симпатичний модулювальний вплив на серцево-судинну систему;
- High Frequency (HF) – 0,75-3,0 Гц, що свідчить про виражену активність парасимпатичного автономного впливу.

2.4 Методики визначення активності ензимів енергетичного обміну в гомогенатах міокарда і печінки

Активність досліджуваних ензимів визначали спектрофотометричним методом за Bergmeyer HU [327]. Після декапітації відбирали печінку та серце і готували гомогенати тканин. Печінку перфузували (NaCl – 140 mM; KCl – 4,7 mM; CaCl₂ – 1,3 mM; MgCl₂ – 1 mM – 0,05 ml (1M), глюкоза – 5 mM; HEPES – 10 mM; EGTA – 1mM; BSA – 0,2 %; pH – 7,4), при цьому серце промивали 0,9 % розчином KCl. Тканини досліджуваних органів ретельно подрібнювали і гомогенізували у гомогенізаторі Поттера у середовищі виділення мітохондрій (для печінки - сахароза – 250 mM; EGTA – 1 mM; HEPES – 10 mM, pH – 7,2; для серця - 0,3 М розчин сахарози з вмістом 10⁻² М ЕДТА, pH 7,5). Отриманий гомогенат центрифугували 10 хвилин за 5000 об/хв. Усі маніпуляції проведені за температури 0 - 4°C. Супернатант відбирали і досліджували наступні параметри:

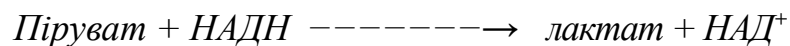
- вміст загального протеїну;
- активність лактатдегідрогенази (ЛДГ, К.Ф. 1.1.1.27);
- активність малатдегідрогенази (МДГ, К.Ф. 1.1.1.37);
- активність аспартатамінотрансферази (АСТ, К.Ф. 2.6.1.1);
- активність сукцинатдегідрогенази (СДГ, К.Ф. 1.3.99.1);
- активність цитохром-с оксидази (ЦХО, К.Ф. 1.9.3.1).

2.4.1 Визначення вмісту загального протеїну

Вміст загального протеїну в гомогенатах тканин визначали методом Лоурі (мг/мл гомогенату) [328]. Принцип методу полягає в поєднанні реакції на пептидні зв'язки та реакції Фоліна на тирозин і триптофан. Метод Лоурі вважається найбільш чутливим і точним методом кількісного визначення білка. Досліджуваний розчин зразка, що містить 10–100 мкг білка, доводили додаванням дистильованої водою до 0,4 мл. Змішували з 2 мл реактиву 3 і залишали при кімнатній температурі на 10 хв. Додавали 0,2 мл реактиву Фоліна-Чокальтеу, ретельно перемішували і через 30–40 хв вимірювали величину оптичної густини при 750 нм (на спектрофотометрі при відповідному світлофільтрі).

2.4.2 Дослідження активності окремих ензимів у гомогенатах міокарда та печінки щурів

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ, К.Ф. 1.1.1.27) каталізує відновлення пірувату у лактат, що є кінцевим продуктом гліколізу в анаеробних умовах:

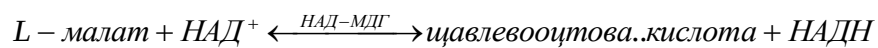


Активність лактатдегідрогенази визначали за швидкістю окиснення НАДН [329]. В ході роботи до 1,5мл 62,5 мМ Трис-НСІ буферу (рН 7,4), що містить 1,5 мМ пірувату і 6,25 мМ Na₂ЕДТА, додавали 20 мкл зразка, а в контрольну кювету – дистильовану воду. Преінкубували 3хв за 37°C, в дослідну кювету додавали 375 мкл 0,2 мМ НАДН і вимірювали абсорбцію впродовж 5 хв. Активність ензиму розраховували, з урахуванням розведення тканин в досліджуваному зразку і коефіцієнту мікромолярної абсорбції НАДН (6,22 см²/мікромоль; мкМ), в мікромоль використаного НАДН в реакції за формулою:

$$\frac{\Delta A \times V_1}{6,22 \times V \times C \times t} = (\text{мкмоль} / \text{хв} \times \text{мг протеїну}), \quad (2.1)$$

де: ΔA – зміна абсорбцій за хв; 6,22 – коефіцієнт мікромолярної абсорбції НАДН за 340 нм; V_1 – об'єм інкубаційної суміші в кюветі, мл; C – концентрація протеїну в V_1 , мг/мл; V_2 – об'єм зразка, мл, t – час інкубування, хв.

Активність малатдегідрогенази (МДГ, К.Ф. 1.1.1.37) визначали за швидкістю окиснення НАДН [329]. Як відомо, НАД-залежна МДГ є одним з центральних ензимів циклу Кребса і забезпечує каталізацію окисно-відновної реакції перетворення малату в оксалоацетат.



Принцип методу: до 2,8 мл 50 мМ Трис-НСІ буферу (рН 8,0) додавали 100 мкл 3 мМ оксалоацетату і 50 мкл зразка, в контрольну кювету – дистильованої води. Після преінкубування 3 хв за 37°C, в дослідну кювету додавали 50 мкл 0,2 мМ НАДН і вимірювали абсорбцію впродовж 15 хв. Активність ензиму визначали з урахуванням розведення біологічного матеріалу в зразку та коефіцієнту мікромолярної абсорбції НАДН за 340 нм (6,22 см²/мкМ), в мікромоль використаного в реакції НАДН за формулою:

$$\frac{\Delta A \times V_1}{6,22 \times V_2 \times C} = (\text{мкмоль} / \text{хв} \times \text{мг протеїну}) \quad (2.2)$$

де: ΔA – зміна абсорбцій за хв; 6,22 – коефіцієнт мікромолярної абсорбції НАДН за 340 нм; V_1 – об'єм інкубаційної суміші в кюветі, мл; C – концентрація протеїну в V_1 , мг/мл; V_2 – об'єм зразка, мл.

Активність аспартатамінотрансферази (АСТ, К.Ф. 2.6.1.1) визначали за Reitmann S та Frankel S [330]. АСТ міститься в клітинах більшості органів та

переносить аміногрупи від аспарагінової кислоти на альфакетоглутарову кислоту. В ході роботи до 0,25 мл субстратного розчину (0,2 М D,L-аспартат, 2 мМ 2-оксоглутарат в 0,1 М фосфатному буфері, рН 7,4) додавали 50 мкл зразка, а в контрольний зразок фізіологічного розчину та інкубували 60 хв за 37°C. Після інкубування додавали 250 мкл 1 мМ розчину 2,4-динітрофенілгідразину в 1 М НСl, а через 20 хв – 2,5 мл 0,4 М розчину NaOH та ще через 10 хв вимірювали оптичну густину за 540 нм проти дистильованої води в кюветі з довжиною оптичного шляху 10 мм. Активність АСТ визначали за допомогою калібрувальної кривої та виражали в мкмоль/хв×мг протеїну.

Активність сукцинатдегідрогенази (СДГ, К.Ф. 1.3.99.1) оцінювали за властивостями 2,3,5-трифенілтетразолію, який за дії ензиму здатний відновлюватися до червоного формагану і утворювати рожеве забарвлення, інтенсивність якого пропорційна активності СДГ [330]. До 0,1 мл супернатанту додавали 0,5 мл 0,2% розчину 2,3,5-трифенілтетразолію і 0,5 мл 0,2 М натрію сукцинату та піддавали інкубації впродовж 2 год за температури 37°C. Паралельно з дослідними зразками готували контрольні, в яких інкубували відповідні реактиви, а після завершення інкубування додавали 0,1 мл супернатанту. Після інкубування до зразків додавали 3 мл метанолу, через 15 хв 3 мл хлороформу. Верхній шар коагульованих протеїнових конгломератів відбирали за допомогою водострумінної помпи, а нижній калориметрували в кюветі товщиною робочого шару 5 мм за довжини хвилі 490 нм проти контрольного зразка. Активність СДГ визначали за допомогою калібрувальної кривої, яку будували на основі відомих концентрацій червоного формагану та виражали в мкмоль/хв×мг протеїну.

Активність цитохром-с-оксидази (ЦХО, КФ 1.9.3.1) визначали за допомогою спектрофотометричного методу за швидкістю окиснення цим ензимом відновленого цитохрому С [331]. Цей окисно-відновний ензим відіграє важливу роль у функціонуванні клітин, оскільки забезпечує процеси детоксикації при різних патологічних станах. У пробірки вносили по 0,1 мл

супернатанту в 0,01 М калій-натрій фосфатному буфері (рН 7,4) і додавали 0,2 мл 0,04 % водного розчину відновленого цитохрому-С та дистильовану воду до 1 мл. Зразки преінкубували 2 хв за 37°C та додавали 0,1 мл 0,4 % розчину диметил-п-фенілендіаміну. Зразки інкубували 5 хв за 37°C до появи червоного забарвлення, інтенсивність якого пропорційна активності цитохромоксидази. Зразки охолоджували і екстрагували забарвлення 4 мл суміші абсолютного спирту з тетрахлоретиленом (3:1). Контрольні зразки готувалися аналогічно дослідним, але після внесення цитохрому-с додавали до супернатанту 1 мл абсолютного спирту. Зразки центрифугували 3000 об./хв впродовж 5 хв, переносили зафарбований розчин у чисті пробірки та вимірювали оптичну густину за 510 нм у кюветі з довжиною оптичного шляху 10 мм проти екстрагуючої суміші.

Активність ензиму виражали мкМ/хв×мг протеїну. Для цього готували 4 ряди пробірок в які вносили від 0,1 мл до 0,9 мл 0,02 % розчину калій біхромату, по 1 мл 0,01 М калій-натрій фосфатного буферу і 0,01% розчину диметил-п-фенілендіаміну. Доводили об'єм зразків до 4 мл. До кожного ряду пробірок додавали відповідно, 0,15, 0,20, 0,25 і 0,30 мл 0,01% розчину диметил-п-фенілендіаміну. Наступні виконувані процедури проводили аналогічно визначенню активності ензиму в досліджуваних зразках. Відповідно до отриманих екстинкцій будували калібрувальну криву, перевівши одиниці оптичної густини у мікромолі.

2.5 Методика визначення жирнокислотного складу фосфоліпідів та загальних ліпідів міокарда, печінки та плазми крові експериментальних тварин методом газорідинної хроматографії

Метиллові ефіри жирних кислот досліджували з використанням газорідинного хроматографа «Chrom-5» («Laboratorní přístroje», Praha) із полум'яно-іонізаційним детектором (FID) за наступних умов: колонка (сталевна нержавіюча) із внутрішнім діаметром 3 мм, довжиною 3700 мм,

заповнена сорбентом Chromaton-N-AW з розміром частинок 60-80 меш, силанізованим HMDS (гексаметилдисилізаном); рухома фаза: азот хімічно чистий та осушений; швидкість рухомої фази - 65 мл/хв при вхідному тиску $1,5 \times 10^5$ Па. Ізотермічний режим роботи колонки з полярною рідкою фазою підтримувався при температурі 196°C, а випаровувача та детектора – при 245°C. Запис результатів хроматографічного аналізу – диференціальний.

Методом розрахунку «вуглецевих чисел» здійснювали ідентифікацію піків на хроматограмі із використанням хімічно чистих, стандартних, гексанових розчинів метилових ефірів жирних кислот.

Вміст окремих жирних кислот за результатами газохроматографічного аналізу розраховували за формулою, яка включає в себе поправкові коефіцієнти для кожної досліджуваної жирної кислоти. Поправкові коефіцієнти визначали як відношення площ піків (зокрема висот піків) пальмітинової (внутрішня норма та внутрішній стандарт) і досліджуваних жирних кислот при концентрації 1:1. Режим роботи газорідного хроматографічного апарату – ізотермічний.

2.5.1 Газохроматографічний метод кількісного визначення жирнокислотного складу фосфоліпідів

Кількісне (у відносних одиницях) газохроматографічне визначення жирнокислотного складу метилових ефірів довголанцюгових жирних кислот із досліджуваних ліпідних фракцій у тваринних тканинах та рідинах вдосконаленим медом за Рівісом Й.Ф. та ін [332].

Реалізація вдосконаленого методу базується на тому, що з біологічного матеріалу (тканин і рідин) екстрагують ліпіди з використанням хлороформ-метанольної суміші у співвідношення 2:1 по об'єму. В подальшому їх розділяють на окремі фракції методом хроматографії в тонкому шарі силікагелю з використанням системи петролейний ефір – діетиловий ефір – оцтова кислота. Із отриманих фосфоліпідів, виділяють жирні кислоти,

метилують їх та піддають газохроматографічному аналізу. Виділені окремі фракції ліпідів визначають за допомогою біхроматного методу. Результати газохроматографічних досліджень способом підлягають калібруванню, що проводять способом внутрішнього нормування.

Методика виконання. Для дослідження використовували 1,0 г тканин міокарда і печінки та 1,0 мл плазми крові експериментальних тварин. У флакони із темного скла до фрагментів біологічного матеріалу та плазми крові додавали по 20 мл хлороформ-метанольної суміші (2:1 за об'ємом). Флакони щільно закривали притертими поліетиленовими корками та встановлювали у шуттель-апарат, після чого впродовж 2-х годин інтенсивно струшували. В результаті зазначеного впливу відбулося розшарування вмісту флаконів. Верхній водно-метанольний шар відбирали за допомогою водоструминної помпи та відкидали, нижній шар переносили на паперовий фільтр та піддавали фільтруванню у скляну пробірку. Хлороформ випаровували в струмені осушеного азоту у вакуумній шафі при температурі 37 - 40⁰ С. В подальшому сухі залишки були розчинені в 1 мл гексану. Утворений гексановий розчин наносили на пластинку, яка покрита тонким активованим та охолодженим шаром силікагелю. Залишки гексану випаровують у вакуумній шафі з температурою 37 - 40⁰ С.

Дно та стінки хроматографічної камери вистилали фільтрувальним папером та додавали до неї хроматографічну систему, що складалася із петролейного ефіру – діетилового ефіру – оцтової кислоти (70:30:1 за об'ємом). Тривалість хроматографічного визначення ліпідів становила в середньому 40-60 хв. Пластинку з розділеними фракціями ліпідів поміщали на 20-30 хв у ексікатор, насичений парами йоду. Проявлені плями фосфоліпідних та інших фракцій переносили у скляні пробірки з додаванням 3 мл гексану та струшували впродовж 2 хв. Після цього вміст пробірок фільтрували в інші скляні пробірки, до яких додавали 5-6 крапель 2 Н спиртового розчину металічного натрію, знову інтенсивно струшували впродовж 2 хв. Через кілька хвилин вміст пробірок розділявся на шари. Верхні

гексанові шари відбирали та переносили у скляні пробірки з конічним дном, з них гексан випаровували в струмені осушеного азоту на водяній бані. 1 мкл гексанових розчинів з цих пробірок вводили у випаровувач газорідного хроматографа з селективною до цих метилових естерів колонкою. В результаті отримували піки довголанцюгових жирних кислот на хроматограмах, естерифіковані у відповідних класах ліпідів.

Кількісні значення отримували калібруванням результатів шляхом внутрішнього нормування. Параметри піків жирних кислот прирівнювали до норми (одиниці) параметрів піка гептадекаонату. Для цього в пробірках готували калібрувальні суміші чистих жирних кислот. Далі додавали метанол та хлористий ацетил, пробірки закривали притертими скляними корками та відправляли у переобладнаний ультратермостат. У вакуум-шафі (t 45-50⁰C) метанол випаровували та розчиняли метилові естери жирних кислот в невеликій кількості гексану. Мікрошприцом 1 мкл гексанового розчину метилових есерів жирних кислот вводили у випаровувач газорідного хроматографа з селективною колонкою. Хроматографічним методом проводили аналіз отриманих калібрувальних сумішей довголанцюгових жирних кислот та визначали параметри їх піків. Почергово перераховували отримані дані у співвідношення 1:1 та визначали поправкові коефіцієнти для кожної з довголанцюгових жирних кислот.

Кількісне дослідження відносної концентрації окремої довголанцюгової жирної кислоти визначали за наступною формулою:

$$X, \% = (A \cdot K) / S(B_1 \cdot K_1) + (C_2 \cdot K_2) + (D_n \cdot K_n) \cdot 100, \quad (2.3)$$

де: X – кількісна концентрація досліджуваної довголанцюгової жирної кислоти, %;

A – параметри піка досліджуваної довголанцюгової жирної кислоти; мм² або мм;

K – поправковий коефіцієнт для досліджуваної довголанцюгової жирної кислоти;

B_1 , C_2 , D_n – параметри піків досліджуваних довголанцюгових жирних кислот;

100 – коефіцієнт переведення у відносні одиниці (у %).

2.5.2 Газохроматографічний метод визначення абсолютного вмісту окремих довголанцюгових жирних кислот загальних ліпідів

Шляхом використання способу внутрішнього стандарту вдосконалений метод забезпечує кількісне газохроматографічне визначення абсолютного вмісту окремих довголанцюгових жирних кислот загальних ліпідів у біологічному матеріалі та рідинах .

Принцип використаного методу полягає в тому, що досліджуваний біологічний матеріал та кислоту внутрішнього стандарту у флаконі екстрагували за Фольчем із співр. (1957) хлороформ-метанольною сумішшю (2:1 за об'ємом) у співвідношенні 1:20. Екстракт звільняли від хлороформу, омилювали і метилювали виділені жирні кислоти. Отримані метилові ефіри довголанцюгових жирних кислот вводили у випаровувач газорідинного хроматографа. Результати газохроматографічних досліджень калібрували вище зазначеним способом.

Методика виконання. Для аналізу використовували по 1,0 г тканин міокарда, печінки та 5 мл плазми дослідних тварин. У флакони із темного скла до фрагментів біологічного матеріалу та плазми додавали по 20 мл хлороформ-метанольної суміші (2:1 за об'ємом) та по 14 мг гептадеканоату (внутрішнього стандарту). Флакони були закриті притертими поліетиленовими корками та встановлені у шуттель-апарат, де інтенсивно струшувалися впродовж 2-х годин. Після розшарування вмісту флаконів за допомогою водоструминної помпи відбирали верхній водно-метанольний шар, нижній шар переносили на паперовий фільтр та фільтрували в скляну термопробірку. Згодом хлороформ

випаровували в струмені осушеного азоту у вакуумній шафі при температурі 37 - 40⁰ С та додавали до вмісту пробірок 1,5 мл дистильованої води. Після 30-хвилинного кип'ятіння пробірки охолоджували під проточною водою. До вмісту пробірки додавали 5-7 крапель льодяної оцтової кислоти з метою переведення омилених жирних кислот у вільний стан. Потім жирні кислоти екстрагували двічі по 1-2 мл гексаном та переносили отриманий розчин у пробірку з шліфом. Гексан випаровували у струмені осушеного азоту у вакуум-шафі за температури 37-40⁰С та додавали до вмісту 6-8 крапель метилового спирту та 2-3 краплі хлористого ацетику. Пробірку ставили в ультратермостат, а після завершення метанол із пробірки випаровували у вакуум-шафі за температури 45 - 50⁰С. В подальшому 1 мкл гексанового розчину метилових естерів жирних кислот за допомогою мікрошприца вводили у випаровувач газорідинного хроматографа з селективною колонкою. Отримані дані калібрували вищезазначеним способом, описаним у попередньому підрозділі. Кількісне визначення досліджуваної жирної кислоти в абсолютних одиницях визначали за формулою:

$$X, \text{ г/кг або л} = [(P \cdot K \cdot C) / P_{\text{ст}}] \cdot 1000 / P \quad (2.4)$$

де X – кількісна концентрація досліджуваної довголанцюгової жирної кислоти в абсолютних одиницях, г/кг або л;

П – параметри піка (площа або висота) досліджуваної довголанцюгової жирної кислоти, мм² або мм;

K – поправковий коефіцієнт для досліджуваної довголанцюгової жирної кислоти;

C – кількість добавленого внутрішнього стандарту (гептадеканоату), мг;

P_{ст} – параметри піка (площа або висота) внутрішнього стандарту(гептадеканоату), мм² або мм;

1000 – коефіцієнт переводу в абсолютні одиниці (в кг або л);

P – наважка досліджуваного матеріалу, г або мл.

Для кожної хроматограми також визначали уточнені параметри піків довголанцюгових жирних кислот, мм^2 або мм :

$$\Pi_1 = \Pi \cdot K$$

Визначали коефіцієнт переводу в абсолютні одиниці (в г/кг):

$$K_1 = 1000/P$$

Наступним кроком розраховували кількість внутрішнього стандарту (гептадекаонату), яка повинна бути в 1000 г або мл досліджуваного матеріалу:

$$C_2, \text{ мг} = K_1 \cdot C$$

Визначали коефіцієнт переводу уточнених параметрів піків окремих довголанцюгових жирних кислот у кількісні абсолютні одиниці (в г/кг):

$$K_2 = C_2 / \Pi_{\text{ст}}$$

Розраховували кількісний абсолютний вміст окремих довголанцюгових жирних кислот у досліджуваних тканинах:

$$X, \text{ г/кг або л} = K_2 \cdot \Pi_1$$

2.6 Статистичне опрацювання результатів досліджень

Статистичний аналіз отриманих результатів досліджень проведено методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента та із 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 [333]. Отримані результати наведено або у вигляді коефіцієнтів кореляції з їхніми похибками, або у вигляді двох- чи трьохвимірних графіків.

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

РОЗДІЛ 3

ОЦІНКА АКТИВНОСТІ РЕГУЛЯТОРНИХ СИСТЕМ ОРГАНІЗМУ НА ОСНОВІ АНАЛІЗУ ВАРІАБЕЛЬНОСТІ СЕРЦЕВОГО РИТМУ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ДОНОРА ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ NaHS ТА ЙОГО ПОПЕРЕДНЬОГО ЗАСТОСУВАННЯ ДО ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

3.1 Зміни параметрів ВСР щурів у різні терміни після впливу NaHS

На сьогодні одним із інтегративних методів оцінювання функціональної активності регуляторних систем різного рівня є аналіз варіабельності серцевого ритму [291, 296, 297]. Зміни основних параметрів варіабельності серцевої діяльності характеризують діяльність серця та активність регуляторних впливів, тому дане дослідження дозволяє виявити модифікації ритму, що пов'язані зі змінами активності автономної нервової системи. Цей метод є інформативним не лише щодо оцінки змін вегетативного і гуморального статусу, але й дає можливість оцінити рівень потужності аеробного метаболізму, резервних можливостей організму, здійснювати динамічний контроль за розвитком адаптації до дії різних екстремальних чинників, зокрема іонізуючого випромінювання [334-336]. Неінвазивність методу дозволяє вивчати зміни ВСР після введення донора гідроген сульфід у різні терміни після дії радіації.

Нашими дослідженнями встановлено, що на 30-й хв з часу введення донора H_2S істотно зросла загальна потужність спектру (TP) на 78 % ($p < 0,05$) щодо вихідного рівня внаслідок збільшення спектральної потужності у всіх частотних діапазонах (рис. 3.1, табл. 3.1). Величина TP характеризує сумарний абсолютний рівень активності нейро-гуморальних регуляторних систем. Найбільшою мірою (у 2 рази, $p < 0,05$) відносно контролю зросла потужність високочастотних коливань (HF), що в основному характеризує рівень активності парасимпатичної ланки регуляції.

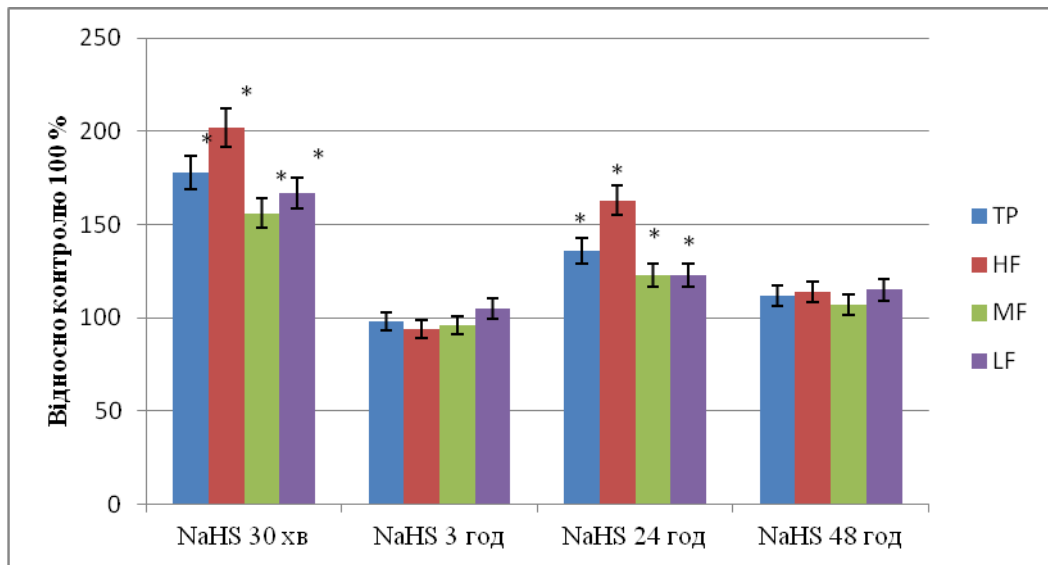


Рисунок 3.1 – Зміни спектральних показників варіабельності серцевого ритму за впливу донора сірководню NaHS

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

У діапазонах середньо- (MF) і низькочастотних (LF) також відмічено збільшення потужності спектру на 57 % ($p < 0,05$) і 68 % ($p < 0,05$), відповідно. Спектральна потужність MF коливань найбільшою мірою характеризує симпатичний модулювальний вплив на серцево-судинну систему; LF – відображає рівень активності вазомоторного центру. У внутрішній структурі спектру збільшилась частка HF (на 24 %, $p < 0,05$) і відмічено тенденцію до зниження середньо- та низькочастотних коливань. Відповідно зафіксовано зниження симпато-вагусного показника (MF/HF) на 26 % ($p < 0,05$). Встановлено, що у цей період дії NaHS існує сильний прямий кореляційний зв'язок між параметрами TP та HF ($r = 0,73$; $p = 0,05$) (рис.3.2). Крім того, відмічено сильну пряму кореляційну залежність між показниками TP та MF ($r = 0,84$; $p = 0,01$), TP і SDNN ($r = 0,91$; $p = 0,001$), тобто між рівнем загальної активності регуляторних систем і активністю парасимпатичної (HF, SDNN) та симпатичної ланок (MF) АНС.

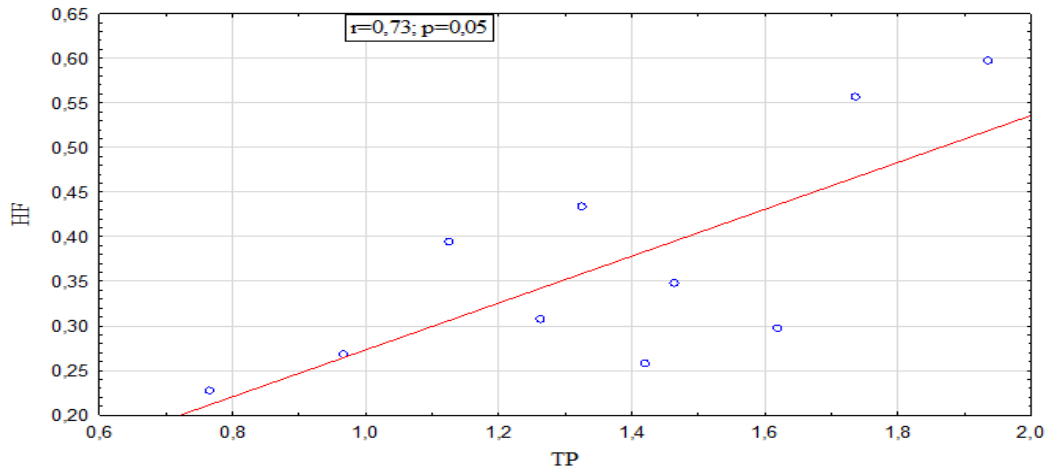


Рисунок 3.2 – Взаємозв’язок між показниками TP та HF через 30 хв після введення NaHS

Збільшення спектральної потужності в діапазоні високочастотних коливань корелювало зі зростанням CV на 75 % ($p<0,05$), SDNN на 32 % ($p<0,05$), RMSSD на 41 % ($p<0,05$), а також із зростанням MxDMn на 53 % ($p<0,05$), що загалом свідчить про активацію автономного контуру регуляції серцевої діяльності (рис. 3.3).

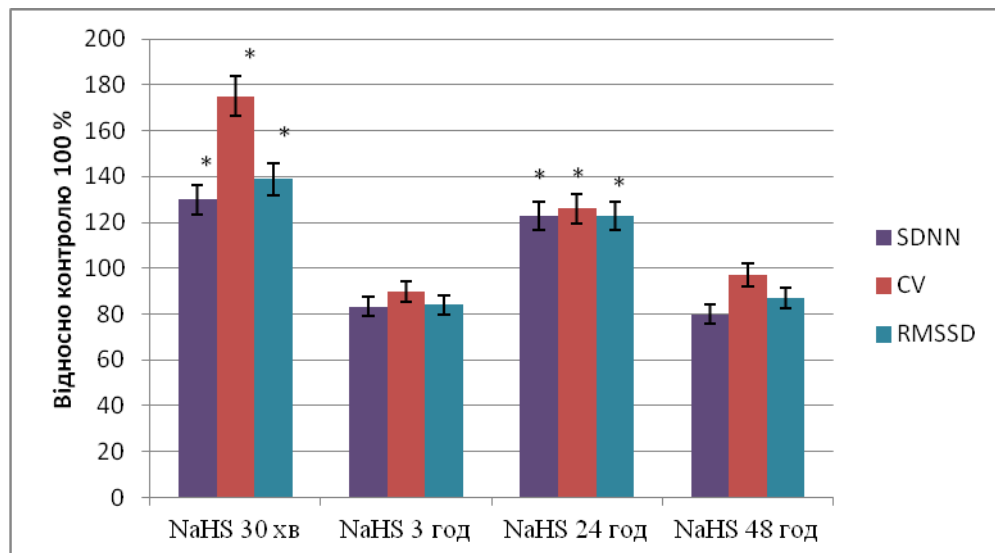


Рисунок 3.3 – Зміни статистичних показників варіабельності серцевого ритму за впливу донора сірководню NaHS

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

Зменшення АМо на 18 % ($p < 0,05$), а також MF/HF щодо вихідного рівня вказує на зниження активності симпатичної ланки АНС у цей термін після введення донора H_2S .

Встановлено також пряму сильну кореляційну залежність між величинами HF і статистичних параметрів ВСР. Виявлено, що високі значення параметра RMSSD спостерігаються при одночасному поєднанні високих значень HF ($r=0,93$; $p=0,001$) та високих показників SDNN ($r=0,91$; $p=0,001$) (рис. 3.4).

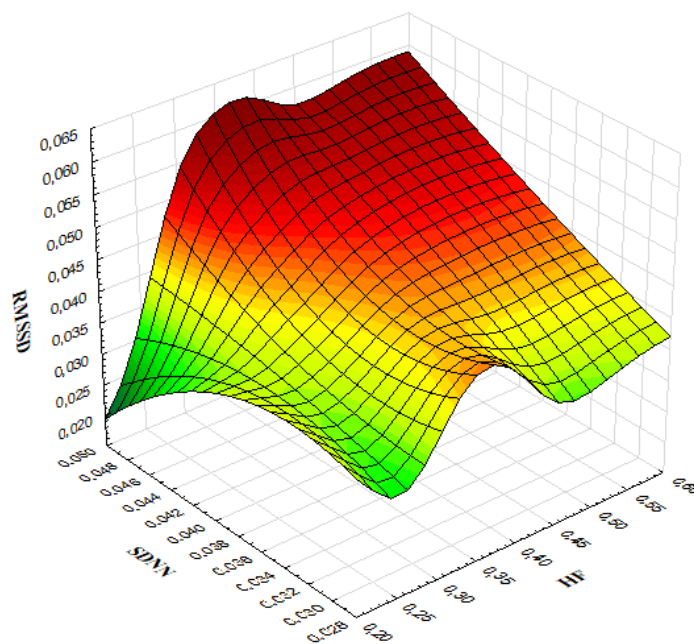


Рисунок 3.4 – Взаємозв'язок між показниками HF, SDNN, RMSSD через 30 хв після введення $NaHS$

Зменшення АМо на 18 % ($p < 0,05$), а також MF/HF щодо вихідного рівня вказує на зниження активності симпатичного відділу АНС у цей термін після введення донора H_2S .

Разом з тим, нами зафіксовано позитивний хронотропний ефект, що може зумовити збільшення серцевого викиду. Отримані нами дані узгоджуються з результатами інших дослідників, якими доведено виражений кардіопротекторний та вазодилататорний ефекти впливу H_2S на 30-й хв після введення донора гідроген сульфід [198-203].

На 3-тю год дослідження відмічено відновлення практично до вихідних значень ТР (див. табл. 3.1). Зафіксовано збільшення частки MF до початкових величин та перевищення частки LF на 12 % ($p<0,05$) відносно вихідного рівня та на 18 % ($p<0,05$) щодо попереднього терміну. Встановлено зростання MF/HF та зниження ЧСС майже до початкових величин. Відмічено також зниження щодо попереднього терміну дії гідроген сульфід у статистичних показників (CV, SDNN, RMSSD) (див. рис. 3.3), а також MxDMn до рівня контролю. Нормалізація параметрів BCP через 3 год після введення NaHS дозволяє розглядати зміни в попередній термін дослідження (30 хв) як швидку реактивну мобілізацію функціональних резервів всіх рівнів регуляторних систем.

Через 24 год після введення донора H_2S встановлено зростання ТР як щодо вихідного рівня на 36 % ($p<0,05$), так і відносно величини цього показника на 3-тю годину на 38 % ($p<0,05$), проте менше виражене порівняно з 30-ю хв після введення NaHS. У найбільшій мірі спектральна потужність зросла на 63 % ($p<0,05$) у діапазоні HF (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 – Зміни параметрів BCP у різні терміни після введення NaHS

	Контроль (вихідний рівень)	NaHS 30 хв	NaHS 3 год	NaHS 24 год	NaHS 48 год
ЧСС, ск./хв	431,4±27,3	539,3±39,7*	463,7±21,3	444,7±29,7	486,1±32,3
SDNN, с	0,030±0,003	0,039±0,003*	0,025±0,002	0,037±0,003*	0,024±0,002
CV, %	22,1±1,9	38,58±2,8*	19,9±1,7	27,9±2,3*	21,5±1,7
RMSSD, с	0,031±0,003	0,043±0,004*	0,026±0,002	0,038±0,003*	0,027±0,002
Mo, с	0,151±0,012	0,151±0,014	0,143±0,011	0,151±0,013	0,142±0,011
Amo, %	37,1±3,1	30,4±2,7*	33,4±2,9	25,4±2,1*	37,0±3,2
MxDMn, с	0,128±0,011	0,196±0,017*	0,123±0,011	0,148±0,013	0,172±0,015*
LF, c ²	0,418±0,039	0,702±0,053*	0,442±0,041	0,517±0,045*	0,481±0,034

Продовження таблиці 3.1

LF%:	31,8±2,6	29,9±2,1	34,2±2,9	28,8±2,1	32,4±3,1
MF,с ²	0,456±0,041	0,715±0,059*	0,441±0,041	0,565±0,046*	0,492±0,0419
MF%	34,7±2,3	30,7±2,1	33,7±2,2	31,53±2,1	33,1±2,1
HF,с ²	0,441±0,040	0,894±0,063*	0,415±0,032	0,719±0,056*	0,505±0,037
HF%	33,5±2,9	40,6±3,1*	32,1±2,1	41,7±3,4*	34,1±2,8
TP,с ²	1,315±0,101	2,341±0,183*	1,298±0,105	1,795±0,152*	1,485±0,127
MF/HF	1,03±0,008	0,75±0,005*	1,05±0,010	0,81±0,006*	0,96±0,007

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

Встановлено також сильний прямий кореляційний зв'язок між показниками спектральної потужності TP і HF, що становить $r=0,97$; $p=0,001$ (рис. 3.5).

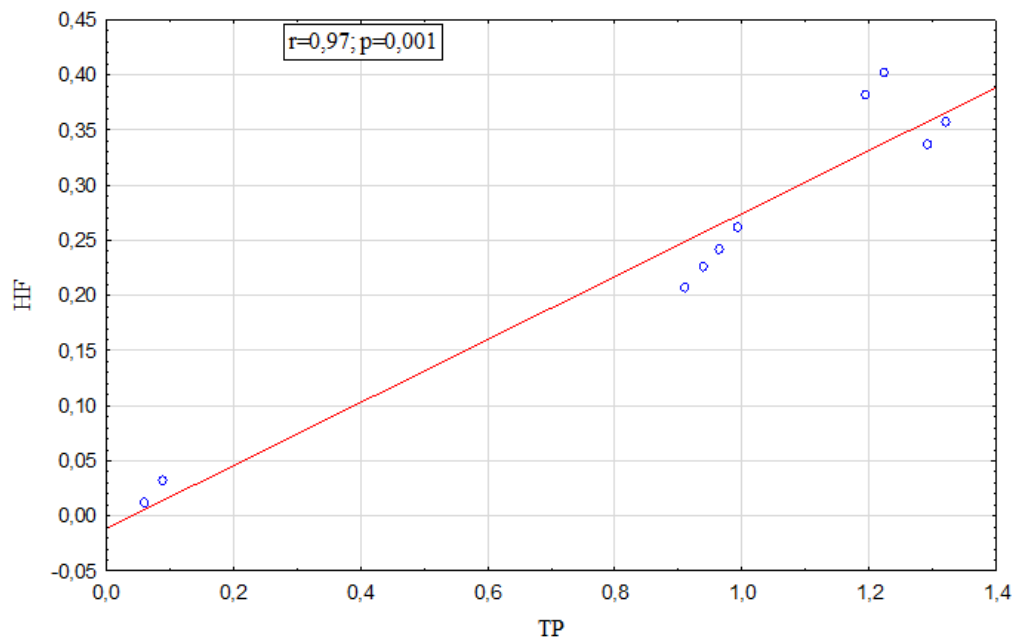


Рисунок 3.5 – Взаємозв'язок між показниками TP та HF через 24 год після введення NaHS

Спектральна потужність MF і LF збільшилася щодо контролю в середньому на 24 % ($p < 0,05$). Крім цього, відмічено тенденцію до зростання збалансованих автономних компонентів (HF+MF), зниження MF/HF, що є

прогностично сприятливою ознакою стану регуляторних систем. Зафіксовано зростання статистичних параметрів, зокрема, SDNN на 23 % ($p < 0,05$) відносно початкових величин і 48 % ($p < 0,05$) відносно 3-ї години дослідження, CV – на 26 % ($p < 0,05$) і 40 % ($p < 0,05$) відповідно, також MxDMn на 39 % ($p < 0,05$) щодо попереднього терміну. Слід відзначити, що збільшення цих показників було менш вираженим, ніж на 30-й хв. Ці зміни свідчать про активацію ПСНС, що корелює зі зростанням спектральної потужності високочастотних коливань. Через 48 год після введення NaHS встановлено зниження TP щодо першої доби, проте, відмічено тенденцію до підвищення щодо вихідного рівня. Зафіксовано нормалізацію АМо, статистичних показників, підвищенням залишається MxDMn на 35 % ($p < 0,05$) щодо початкових величин і на 16 % ($p < 0,05$) щодо першої доби після введення донора гідроген сульфід.

Отримані результати дають підстави стверджувати, що екзогенне стимулювання паракринних H_2S -залежних сигнальних процесів введенням NaHS істотно впливає на системні регуляторні механізми різних рівнів. Зміни параметрів ВСР, що свідчать про активацію різних ланок регуляторних систем з переважаючою мобілізацією ПСНС вже на 30-й хв після введення NaHS, мають фазовий характер і можуть розцінюватись як прогностично сприятливий ефект такої дози (7,4 мг/кг маси) введеної речовини. Співставлення отриманих результатів з даними літератури відповідного профілю, присвячених дослідженню ефектів впливу гідроген сульфід, дозволяє трактувати такі зміни, як вияв типового еустресу. Збільшення рівня TP, а також спектральної потужності в діапазонах HF і MF, RMSSD та інших статистичних показників ВСР, зниження MF/HF свідчать про помірну мобілізацію механізмів регуляторних процесів, а також про зростання трофотропних впливів і підвищення функціонально-метаболічних резервів під впливом H_2S через 30 хв та 24 год після введення донора гідроген сульфід.

3.2 Зміни параметрів ВСР експериментальних тварин за дії іонізуючого випромінювання

Через 24 год після однофракційного тотального опромінення дозою 2 Гр встановлено достовірне зменшення загальної потужності спектру в 2 рази ($p < 0,05$) порівняно з вихідним рівнем (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Зміни параметрів ВСР у різні терміни після дії радіації дозою 2 Гр

	Контроль (вихідний рівень)	Радіація 24 год	Радіація 48 год	Радіація 72 год
ЧСС, ск./хв	431,4±27,3	433,1±31,2	446,07±35,8	442,2±37,6
SDNN, с	0,030±0,003	0,024±0,002*	0,015±0,001*	0,020±0,002*
CV, %	22,1±1,9	17,7±1,3*	15,98±1,2*	15,82±1,2*
RMSSD, с	0,031±0,003	0,025±0,002*	0,013±0,001*	0,019±0,001*
Мо, с	0,151±0,012	0,147±0,012	0,128±0,012*	0,128±0,012*
АМо, %	37,1±3,1	36,3±3,2*	51,2±4,7*	44,1±3,2
МхDMn, с	0,128±0,011	0,138±0,012	0,115±0,010*	0,130±0,012
LF, c ²	0,418±0,039	0,194±0,017*	0,085±0,007*	0,145±0,011*
LF%,	31,8±2,6	26,7±1,9	36,9±3,1	29,2±2,1
MF, c ²	0,456±0,041	0,220±0,019*	0,093±0,007*	0,221±0,020*
MF%	34,7±2,3	36,09±2,7	41,64±3,5	42,54±3,7*
HF, c ²	0,441±0,040	0,262±0,020*	0,052±0,003*	0,137±0,011*
HF%	33,5±2,9	37,6±3,2	21,6±1,9*	28,6±2,1
TP, c ²	1,315±0,101	0,677±0,052*	0,230±0,019*	0,501±0,039*
MF/HF	1,030±0,008	1,105±0,009	1,939±0,012*	1,490±0,011*

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

Зафіксовано зниження потужності у всіх діапазонах спектру: низько- та середньочастотних коливань на 54 % ($p < 0,05$) та 52 % ($p < 0,05$), відповідно,

високочастотних – на 40 % ($p<0,05$) відносно контролю. Це вказує на істотне пригнічення активності всіх ланок регуляторних систем (рис. 3.6). За таких умов у внутрішній структурі спектру частка низькочастотних коливань зменшилася на 16 % ($p<0,05$), достовірних змін відносних величин у діапазоні середньочастотних хвиль не було відмічено.

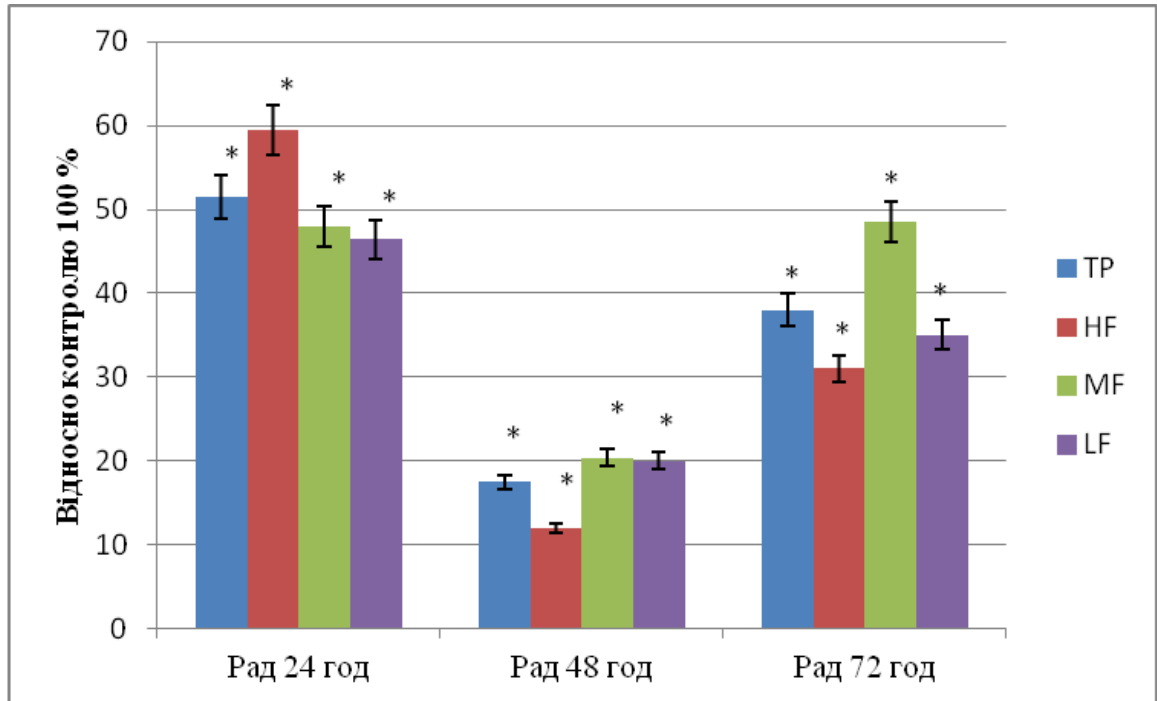


Рисунок 3.6 – Зміни спектральних показників варіабельності серцевого ритму у різні терміни за дії радіації

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

Після проведення кореляційного аналізу було встановлено також, що зниження загальної потужності спектру тісно корелювало зі зменшенням значень середньочастотних коливань ($r=0,95$; $p=0,001$) та величиною високочастотних хвиль ($r=0,90$; $p=0,001$) (рис. 3.7)

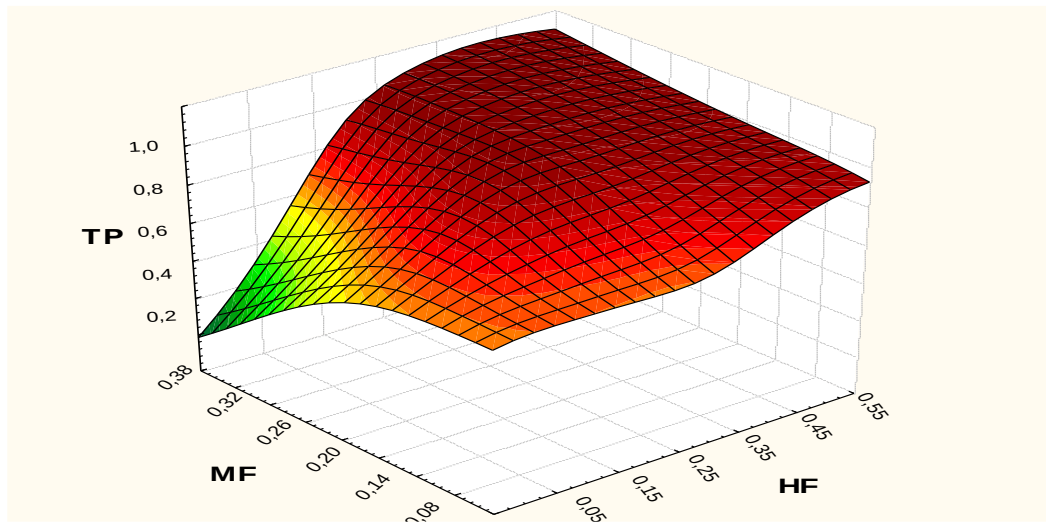


Рисунок 3.7 – Взаємозв'язок поміж показниками HF, TP, MF через 24 год після дії радіації

Відмічено зменшення часових параметрів BCP (SDNN, CV, RMSSD) в середньому на 20 % ($p < 0,05$), що характеризує пригнічення активності парасимпатичної ланки АНС (рис. 3.8).

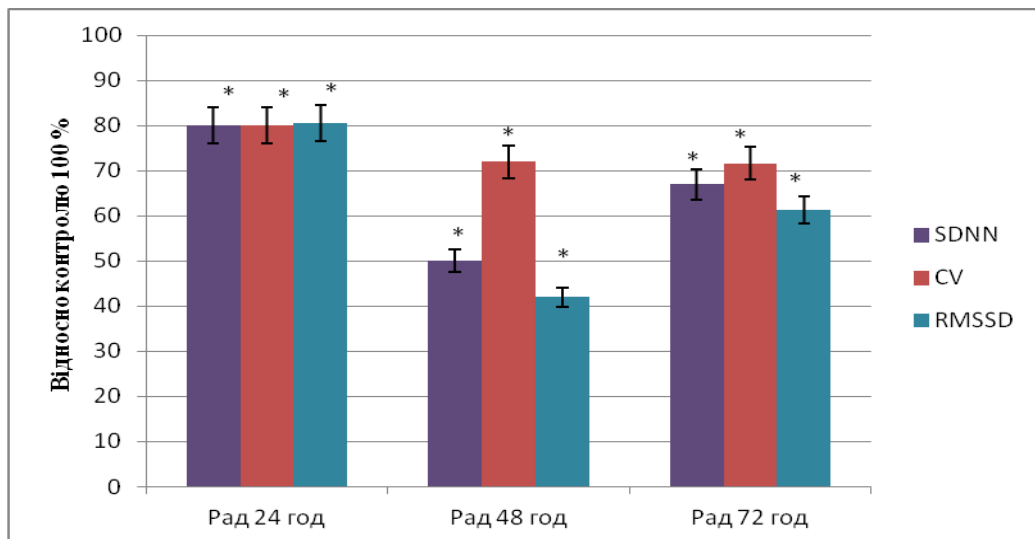


Рисунок 3.8 – Зміни статистичних показників варіабельності серцевого ритму у різні терміни після дії радіації

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

Таким чином, зниження сумарного ефекту вегетативної регуляції за показниками SDNN, RMSSD, CV корелює зі зниженим сумарним рівнем активності регуляторних процесів за спектральним показником TP і свідчить про напруження регуляторних систем за умов дії радіації.

На другу добу пострадіаційного періоду зниження активності регуляторних процесів було ще більш виражене, про що свідчить зниження TP на 82 % ($p < 0,05$) щодо контролю та на 66 % ($p < 0,05$) щодо першої доби. Спектральна потужність в діапазоні HF зменшилася на 88 % ($p < 0,05$) і 76 % ($p < 0,05$) щодо контролю і першої доби відповідно. Відмічено також істотне зниження потужності в діапазоні спектру MF і LF.

Встановлено більш виражене зниження статистичних показників, що корелює зі змінами спектральної потужності. Так, SDNN зменшився на 50 % ($p < 0,05$) щодо контролю і на 37 % ($p < 0,05$) щодо показників першої доби дослідження. Відмічено також достовірне зниження CV, MxDMn, що вказує на зменшення активності ПСНС. У внутрішній структурі спектру частка HF значно зменшилася, що достовірно вказує на пригнічення автономного контуру регулювання. Разом з тим зафіксовано зростання щодо контролю АМо на 38 % ($p < 0,05$) і 41 % ($p < 0,05$) відносно першої доби, істотне зростання симпато-вагусного показника (майже у 2 рази, $p < 0,05$), а також збільшення часток MF і LF у внутрішній структурі спектру, що свідчить про переважання активації симпатичного відділу АНС на фоні пригнічення загальної активності регуляторних систем у цей термін дослідження.

Через 72 год після іонізуючого випромінювання відмічено підвищення параметрів спектральної потужності щодо попередньої доби, проте ці показники залишалися достовірно нижчими як щодо контролю, так і відносно змін, які спостерігалися на першу добу після опромінення. Так, загальна потужність спектру зросла більш ніж у 2 рази ($p < 0,05$) щодо другої доби, проте, її рівень на 62 % ($p < 0,05$) нижчий щодо контролю. Такі ж зміни спостерігаються і в спектральній потужності різних діапазонів, зокрема, HF

на 3-тю добу збільшилася в 2,6 рази ($p < 0,05$) відносно попередньої доби, але щодо контролю є нижчою на 69 % ($p < 0,05$).

Такий же характер змін відмічено для показників SDNN, RMSSD, що полягає у збільшенні їх значень щодо другої доби, проте їх величини не досягають вихідного рівня. Зафіксовано зниження симпато-вагусного показника через 72 год щодо попереднього терміну, проте він перевищує значення контролю на 45% ($p < 0,05$).

Таким чином, через добу за впливу іонізуючого випромінювання дозою 2 Гр встановлено пригнічення всіх ланок регуляторних систем зі значним зниженням активності парасимпатичного відділу АНС. Найбільш виражене зниження активності регуляторних процесів та пригнічення автономного контуру регулювання серцевої діяльності було зафіксовано через 24 год пострадіаційного впливу. Через 72 год після дії іонізуючого випромінювання зафіксовано поступове зростання спектральних та статистичних показників щодо другої доби пострадіаційного періоду, проте їх значення залишаються достовірно нижчими щодо контролю.

3.3 Вплив попереднього до дії радіації застосування донора H_2S на показники ВСР

Встановлено, що введення NaHS за дії радіації призвело до збільшення величини часових показників відносно впливу тільки опромінення. Так, показник SDNN збільшився на 20 % ($p < 0,05$) відносно впливу лише радіації, решта параметрів (CV, RMSSD) мали тенденцію до збільшення та практично досягли вихідного рівня (табл. 3.3).

Зокрема, за дії донора гідроген сульфідіду попередньо до впливу іонізуючого випромінювання показник SDNN збільшилася на 21 % ($p < 0,05$) щодо впливу радіації, що свідчить про посилення автономної

регуляції та зниження активності симпатичного відділу автономної нервової системи (рис. 3.9).

Таблиця 3.3 – Зміни показників ВСР щурів за дії радіації та попереднього введення NaHS

Показники	Контроль	NaHS 24 год	Радіація 24 год	NaHS+Радіація 24 год
ЧСС, ск./хв	431,4±27,3	444,7±29,7	433,1±31,2	406,1±24,7
SDNN, с	0,030±0,003	0,037±0,002*	0,024±0,002*	0,029±0,002•
CV,%	22,1±1,9	27,9±2,3*	17,7±1,3*	19,0±1,5
RMSSD, с	0,031±0,003	0,038±0,003*	0,025±0,002*	0,026±0,002
Мо, с	0,151±0,012	0,151±0,013	0,147±0,012	0,151±0,013
Амо, %	37,1±3,1	25,4±2,1*	36,3±3,2*	37,2±3,4
МхDMn, с	0,128±0,011	0,148±0,013	0,138±0,012	0,122±0,014
LF,с2	0,418±0,039	0,442±0,041	0,194±0,017*	0,364±0,031•
LF%:	31,8±2,6	34,2±2,9	26,7±1,9	32,5±2,4
MF,с2	0,456±0,041	0,441±0,041	0,220±0,019*	0,363±0,035•
MF%	34,7±2,3	33,7±2,2	36,09±2,7	40,7±3,6
HF,с2	0,441±0,040	0,415±0,032	0,262±0,020*	0,273±0,021*
HF%	33,5±2,9	32,1±2,1	37,6±3,2	24,9±2,1*•
TP,с2	1,315±0,101	1,298±0,105	0,677±0,052*	0,963±0,071*•
MF/HF	1,03±0,008	1,05±0,010	1,105±0,009	1,328±0,014*

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

Відмічено також тенденцію до підвищення часових показників CV та RMSSD щодо впливу іонізуючого випромінювання.

Зростання рівня статистичних показників загалом вказує на активацію парасимпатичної ланки регулювання автономного впливу за умов попереднього до дії радіації введення донора гідроген сульфіді відносно впливу лише іонізуючого випромінювання, що є критерієм позитивного ефекту дії H_2S .

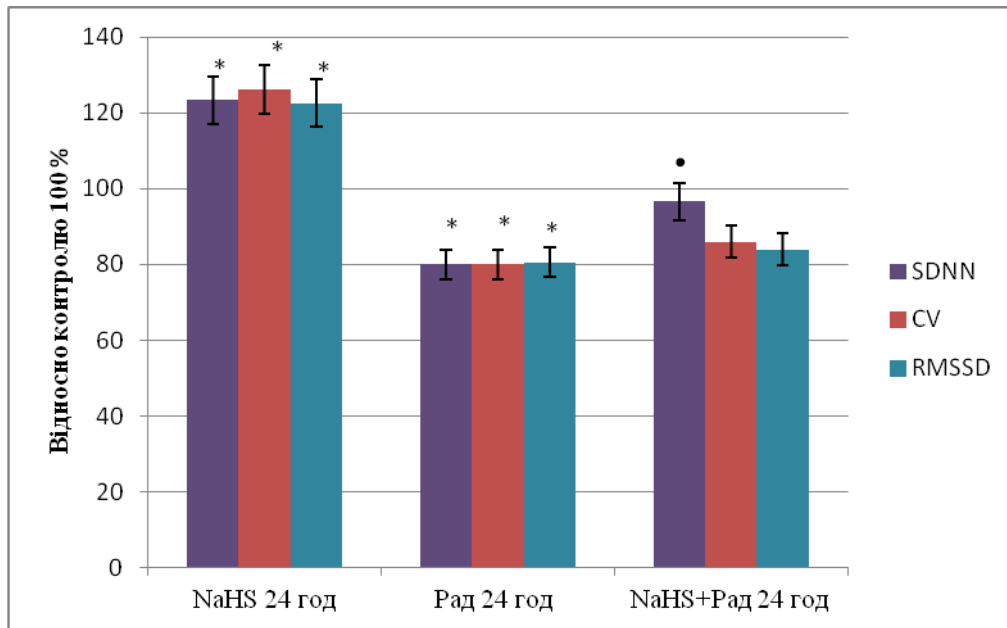


Рисунок 3.9 – Зміни статистичних показників варіабельності серцевого ритму за умов дії NaHS та його попереднього введення до дії радіації

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

• – достовірність ($p < 0,05$) щодо радіації

Попереднє до дії радіації введення NaHS призвело до менш вираженого зниження TP, ніж при дії лише іонізуючого випромінювання, що вказує на підтримання вірогідно вищого рівня регуляторних процесів за цих умов порівняно з радіацією. Так, загальна потужність спектру через 24 год після опромінення на фоні введення донора гідроген сульфід зменшилася на 27 % ($p < 0,05$) щодо вихідного рівня, але була достовірно вищою (на 42 %, $p < 0,05$), ніж при дії радіації (рис. 3.10). При цьому було відмічено істотне збільшення порівняно з впливом радіації спектральної потужності в діапазоні LF і MF, що становило 86 % ($p < 0,05$) щодо вихідного рівня. Виявлені зміни можуть вказувати на активацію барорефлекторної симпатичної ланки АНС та ерготропного впливу за умов попереднього до дії іонізуючого випромінювання введення донора гідроген сульфід.

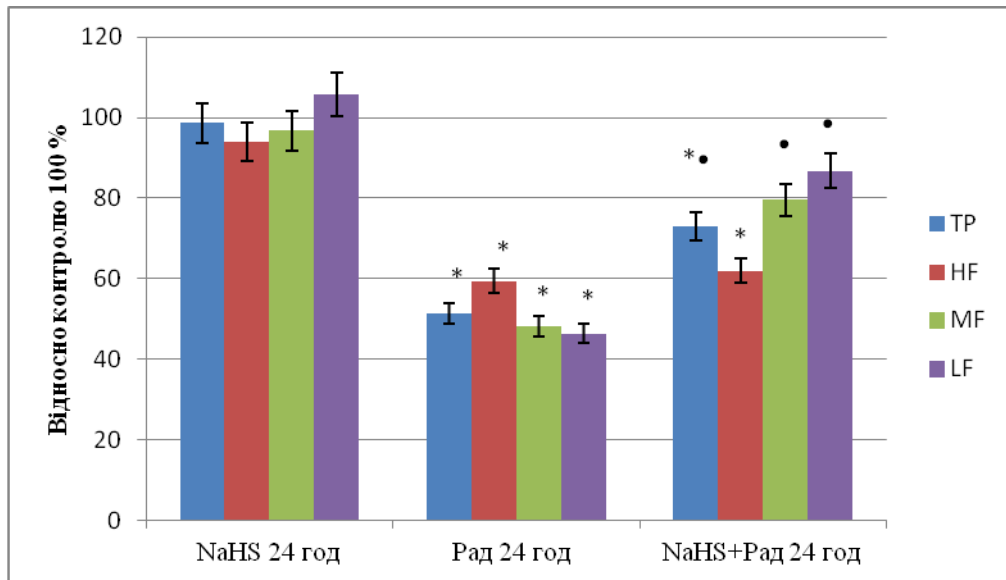


Рисунок 3.10 – Зміни спектральних показників варіабельності серцевого ритму за умов дії NaHS та його попереднього введення до дії радіації

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

• – достовірність ($p < 0,05$) щодо радіації

Величина симпато-вагусного індексу зсувається в бік переважання симпатичних впливів, що разом з активацією всіх ланок регуляторних процесів свідчить про активацію ерготропних реакцій щодо впливу іонізуючого випромінювання на фоні застосування донора гідроген сульфід.

Отже, результати проведених досліджень вказують, що екзогенне введення попередника H_2S істотно впливає на системні регуляторні механізми різних рівнів. Через 30 хв та 24 год після введення донора гідроген сульфід відмічається активація всіх ланок регуляторних систем з переважаючою мобілізацією ПСНС. Збільшення рівня TP, а також спектральної потужності в діапазонах HF і MF, зростання RMSSD та інших статистичних показників ВСР, зниження MF/HF свідчать також про підвищення функціонально-метаболических резервів під впливом H_2S у досліджувані терміни. На користь сприятливого впливу донора гідроген сульфід свідчить посилення адаптаційно-трофічної ролі блукаючих впливів

на серце, що мають захисний характер. Ефект попереднього до дії радіації введення донора гідроген сульфід у виявляється в зменшенні напруження регуляторних процесів, збільшенні потужності відновних процесів, помірній активації ерготропних реакцій через 24 год порівняно з впливом самої лише радіації. Такі зміни свідчать про підвищення стійкості організму до дії іонізуючого випромінювання за умов попереднього до дії радіації введення донора сірководню.

Таким чином, на основі аналізу отриманих нами результатів досліджень можна дійти наступних висновків:

1. Через 30 хв після введення NaHS відмічено істотне збільшення загальної потужності спектру, що характеризує зростання абсолютного рівня активності регуляторних систем. Серед спектральних показників зафіксовано підвищення потужності високочастотних коливань практично в два рази відносно контролю, що характеризує зростання активності парасимпатичної ланки автономної нервової системи. Збільшення потужності спектру в діапазоні MF та LF, менш виражене порівняно зі ступенем зростання HF, свідчить про помірну активацію симпатичних модулювальних впливів на роботу серця.

2. У внутрішній структурі спектру відмічено збільшення високочастотних коливань та тенденцію до зменшення потужності у діапазоні середньо- та низькочастотних коливань, відповідно, зменшення симпато-вагусного показника. Такий характер змін вказує на переважання активації парасимпатичного відділу автономної нервової системи, наслідком чого є посилення трофотропних впливів на серцеву діяльність у цей термін після введення донора сірководню. Одночасно зі зростанням спектральної потужності відмічено підвищення практично всіх статистичних параметрів. Такі зміни є підтвердженням посилення автономного контуру регулювання серцевої діяльності та зниження частки симпатичних впливів на серце.

3. На третю годину з часу введення донора сірководню встановлено, що рівень спектральних та статистичних показників ВСР відновлюється практично до вихідного після їх підвищення на 30-й хв дії NaHS .

4. Через 24 години після введення донора гідроген сульфід у було зафіксовано повторне зростання величини ТР щодо вихідного рівня. Найбільш вираженим було зростання потужності спектру у діапазоні високочастотних коливань. Збільшення спектральної потужності через 24 год після введення донора H_2S корелювало із зростанням всіх статистичних показників як відносно контролю, так і відносно попереднього терміну (3 год) дослідження. Виявлений характер змін свідчить про повторне зростання активності парасимпатичної ланки АНС, хоча ці зміни були менш виражені, ніж у ранній термін після введення донора H_2S .

5. На 48 год з часу введення донора гідроген сульфід у встановлено нормалізацію статистичних та спектральних показників після їх зростання через 30 хв і 24 год.

6. Через 24 год після дії іонізуючого випромінювання у дозі 2 Гр відмічено зниження загальної спектральної потужності у всіх частотних діапазонах та статистичних показників, що свідчить про пригнічення активності всіх ланок регуляторних систем, в тому числі парасимпатичного відділу автономної нервової системи.

7. Найбільш виражене зниження активності регуляторних процесів та пригнічення автономного контуру регулювання серцевої діяльності було зафіксовано на 48 год пострадіаційного періоду, про що свідчило достовірне зниження загальної спектральної потужності у всіх частотних діапазонах. Вирження цих змін корелювало із суттєвим зниженням статистичних показників, що вказує на різке зменшення активності парасимпатичної нервової системи. Водночас, зростання АМо та симпато-вагусного показника щодо вихідних значень вказує на збільшення частки впливу симпатичної нервової системи на фоні значного пригнічення загальної активності регуляторних впливів.

8. Через 72 год після дії радіації зафіксовано поступове зростання спектральних та статистичних показників щодо попереднього терміну дослідження, проте їх значення залишаються достовірно нижчими відносно контролю.

9. За умов попереднього до дії радіації введення донора гідроген сульфіді показники спектральних та часових параметрів достовірно збільшуються відносно дії лише радіації та практично досягають значень контролю. Зростання часових параметрів ВСР вказує на активацію парасимпатичного відділу АНС порівняно із впливом самого лише опромінення, що можна розцінювати як позитивний ефект дії сірководню.

10. 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.

Результати власних досліджень розділу викладені у статтях [290, 311, 335], апробовані на наукових форумах [299, 305, 307, 309, 326, 334, 336].

РОЗДІЛ 4

ЗМІНИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ФОСФОЛІПІДІВ ТА ЗАГАЛЬНИХ ЛІПІДІВ ПЕЧІНКИ, МІОКАРДА ТА ПЛАЗМИ КРОВІ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ДОНОРА ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ ТА ЙОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЗА ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

4.1 Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів печінки, міокарда та плазми крові за дії донора гідроген сульфід

Відомо, що гідроген сульфід – газовий трансміттер з високою біологічною активністю, характеризується високою дифузійною здатністю, тому в основі модулювальних властивостей H_2S можуть виявлятися впливи на конформаційні та структурно-функціональні характеристики біомембран і, отже, мембранозалежні процеси [19, 20, 30-32, 54, 55]. Одним із об'єктивних критеріїв змін стану мембран можуть бути кількісні та якісні характеристики ЖКС ФЛ клітинних мембран, параметри яких активно впливають на мембранозалежні функції, а також сприяють оптимізації метаболічних процесів за фізіологічних та екстремальних умов [165-170]. Цей фрагмент роботи присвячений дослідженню змін жирнокислотного складу фосфоліпідів і загальних ліпідів міокарді, печінці та плазмі крові за умов застосування донора гідроген сульфід, дії іонізуючого випромінювання та попереднього до дії радіації застосування донора гідроген сульфід $NaHS$.

Згідно завдань досліджень було встановлено, що вплив донора сірководню $NaHS$ через 30 хв після його введення у дозі 7,4 мг/мг призводить до зменшення щодо контролю рівня насичених ЖК ФЛ у печінці та плазмі крові (табл.4.1, 4.2, 4.3). Найменшою мірою зниження рівня показників насичених ЖК ФЛ було зафіксовано в міокарді.

Таблиця 4.1 – Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів (насичені ЖК) печінки щурів за умов введення донора сірководню (%, $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 30 хв	NaHS 24 год
Каприлова 8:0	0,142 $\pm$ 0,012	0,112 $\pm$ 0,010*	0,119 $\pm$ 0,008*
Капринова 10:0	0,201 $\pm$ 0,014	0,172 $\pm$ 0,013*	0,183 $\pm$ 0,014
Лауринова 12:0	0,293 $\pm$ 0,018	0,230 $\pm$ 0,016*	0,245 $\pm$ 0,017*
Міристинова 14:0	0,523 $\pm$ 0,021	0,459 $\pm$ 0,026*	0,484 $\pm$ 0,023
Пентадеканова 15:0	0,350 $\pm$ 0,027	0,330 $\pm$ 0,023	0,338 $\pm$ 0,025
Пальмітинова 16:0	7,241 $\pm$ 0,310	6,539 $\pm$ 0,281*	6,840 $\pm$ 0,305
Стеаринова 18:0	8,253 $\pm$ 0,407	7,799 $\pm$ 0,383	7,985 $\pm$ 0,401
Арахінова 20:0	0,197 $\pm$ 0,012	0,162 $\pm$ 0,010*	0,174 $\pm$ 0,010*
Сума насичених	17,201 $\pm$ 1,302	15,803 $\pm$ 1,274	16,368 $\pm$ 1,189

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

Зафіксовано, що у всіх досліджуваних біологічних середовищах найбільшою мірою стосовно контролю знижується рівень коротколанцюгових насичених ЖК: каприлової (C8:0) на 21 % ($p < 0,05$), 19 % ($p < 0,05$), 23 % ($p < 0,05$), відповідно, у печінці, міокарді та плазмі крові, а також капринової (C10:0), лауринової (C12:0). Вміст міристинової (C14:0) і арахінової (C20:0) кислот зменшився на 12 % ($p < 0,05$), і 18 % ($p < 0,05$), відповідно, у печінці та плазмі крові.

За введення донора сірководню у серцевому м'язі відмічено тенденцію до зменшення вмісту пальмітинової (C16:0) і стеаринової (C18:0) насичених ЖК, питома вага яких найбільша серед насичених ЖК у складі мембранних фосфоліпідів. Зафіксовано також достовірне зниження пальмітинової ЖК (C16:0) на 10 % ($p < 0,05$) як в печінці, так і в плазмі крові.

Таблиця 4.2 – Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів (насичені ЖК) міокарда щурів за умов введення донора сірководню (% , $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 30 хв	NaHS 24 год
Каприлова 8:0	0,145 $\pm$ 0,010	0,118 $\pm$ 0,009*	0,136 $\pm$ 0,011
Капринова 10:0	0,228 $\pm$ 0,014	0,175 $\pm$ 0,013*	0,184 $\pm$ 0,015*
Лауринова 12:0	0,295 $\pm$ 0,018	0,228 $\pm$ 0,014*	0,256 $\pm$ 0,015*
Міристинова 14:0	0,515 $\pm$ 0,023	0,448 $\pm$ 0,021*	0,460 $\pm$ 0,023*
Пентадеканова 15:0	0,285 $\pm$ 0,012	0,258 $\pm$ 0,011*	0,264 $\pm$ 0,013
Пальмітинова 16:0	9,738 $\pm$ 0,526	9,271 $\pm$ 0,438	9,380 $\pm$ 0,465
Стеаринова 18:0	11,355 $\pm$ 0,790	10,91 $\pm$ 0,826	11,052 $\pm$ 0,806
Арахінова 20:0	0,241 $\pm$ 0,011	0,250 $\pm$ 0,012	0,243 $\pm$ 0,012
Сума насичених	22,801 $\pm$ 1,615	21,653 $\pm$ 1,580	21,975 $\pm$ 1,120

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

Таблиця 4.3 – Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів (насичені ЖК) плазми крові щурів за умов введення донора сірководню (% , $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 30 хв	NaHS 24 год
Каприлова 8:0	0,141 $\pm$ 0,007	0,108 $\pm$ 0,006*	0,108 $\pm$ 0,007*
Капринова 10:0	0,205 $\pm$ 0,012	0,168 $\pm$ 0,010*	0,182 $\pm$ 0,010*
Лауринова 12:0	0,301 $\pm$ 0,014	0,265 $\pm$ 0,015*	0,253 $\pm$ 0,014*
Міристинова 14:0	0,515 $\pm$ 0,027	0,443 $\pm$ 0,025*	0,458 $\pm$ 0,026*
Пентадеканова 15:0	0,300 $\pm$ 0,017	0,285 $\pm$ 0,016	0,290 $\pm$ 0,017
Пальмітинова 16:0	6,960 $\pm$ 0,304	6,236 $\pm$ 0,300*	6,567 $\pm$ 0,345
Стеаринова 18:0	10,20 $\pm$ 0,650	9,64 $\pm$ 0,620	9,731 $\pm$ 0,680
Арахінова 20:0	0,360 $\pm$ 0,025	0,296 $\pm$ 0,026*	0,308 $\pm$ 0,025*
Сума насичених	18,980 $\pm$ 1,210	17,441 $\pm$ 1,115	17,897 $\pm$ 1,200

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

Таким чином, за впливу H_2S ступінь зменшення вмісту насичених ЖК та зміни окремих типів насичених ЖК у печінці та плазмі крові практично однакові.

Рівень мононенасичених ЖК після введення донора сірководню істотно не змінився, проте відбувся перерозподіл вмісту ПНЖК різних типів (табл. 4.4, 4.5, 4.6). У всіх досліджуваних об'єктах зафіксовано зростання рівня ω -3 та тенденцію до зниження вмісту ω -6 ПНЖК.

Таблиця 4.4 – Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів (ненасичені ЖК) печінки щурів за умов введення донора сірководню (% , $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 30 хв	NaHS 24 год
Пальмітоолеїнова 16:1	$0,890 \pm 0,061$	$0,897 \pm 0,067$	$0,893 \pm 0,078$
Олеїнова 18:1	$23,878 \pm 1,208$	$24,434 \pm 1,320$	$24,650 \pm 1,569$
Ейкозаснова 20:1	$0,177 \pm 0,011$	$0,167 \pm 0,012$	$0,170 \pm 0,010$
Лінолева 18:2	$16,43 \pm 1,018$	$16,129 \pm 1,139$	$16,215 \pm 1,142$
Ейкозациєнова 20:2	$0,255 \pm 0,017$	$0,210 \pm 0,013^*$	$0,205 \pm 0,014^*$
Докозациєнова 22:2	$1,290 \pm 0,073$	$1,125 \pm 0,061^*$	$1,135 \pm 0,064^*$
Ліноленова 18:3	$7,68 \pm 0,410$	$8,118 \pm 0,516^*$	$8,112 \pm 0,509$
Ейкозатриєнова 20:3	$2,03 \pm 0,091$	$1,841 \pm 0,087^*$	$1,860 \pm 0,092$
Докозатриєнова 22:3	$1,615 \pm 0,081$	$1,840 \pm 0,087^*$	$1,763 \pm 0,074$
Арахідонова 20:4	$7,450 \pm 0,521$	$7,230 \pm 0,490$	$7,310 \pm 0,549$
Докозатетраєнова 22:4	$3,573 \pm 0,112$	$3,574 \pm 0,138$	$3,574 \pm 0,141$
Ейкозапентаєнова 20:5	$2,070 \pm 0,112$	$2,362 \pm 0,123^*$	$2,307 \pm 0,114^*$
Докозапентаєнова 22:5	$6,790 \pm 0,315$	$7,310 \pm 0,385$	$7,214 \pm 0,319$
Докозагексаєнова 22:6	$8,635 \pm 0,412$	$8,971 \pm 0,469$	$8,892 \pm 0,475$

Продовження таблиці 4.4

Сума ненасичених	82,748 ± 7,319	82,210 ± 7,602	84,31 ± 7,751
Сума мононенасичених	24,945 ± 1,815	25,491 ± 1,937	25,713 ± 1,968
Сума поліненасичених	57,803 ± 4,210	58, 710 ± 4,322	58,597 ± 4,603
Індекс насиченості	0,208 ± 0,010	0,188 ± 0,08*	0,190 ± 0,009
ω-3	26,79 ± 1,562	28,601 ± 1,968	28,288 ± 2,017
ω-6	29, 736 ± 1,917	28,984 ± 1,759	29,174 ± 1,803
ω-3/ω-6	0,901 ± 0,032	0,987 ± 0,041*	0,969 ± 0,037

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

Встановлено, що на 30-й хв з часу введення NaHS зросла щодо тварин контрольної групи концентрація ω-3 типу ПНЖК – ейкозапентаєнової (C20:5) на 14 % ($p < 0,05$), 12 % ($p < 0,05$), 19 % ($p < 0,05$) у печінці, міокарді та плазмі крові, відповідно (рис. 4.1). У печінці та міокарді, крім ейкозапентаєнової (C20:5), найбільшою мірою на 14 % ($p < 0,05$) зросла концентрація докозатриєнової кислоти (C22:3). Зафіксовано тенденцію до збільшення рівня ліноленової кислоти (C18:3) – на 8,5 % у міокарді, докозапентаєнової жирної кислоти (C22:5) – на 8 % у печінці. У плазмі крові, крім ейкозапентаєнової кислоти (C20:5), достовірно збільшився вміст докозапентаєнової (C22:5) на 13 % ($p < 0,05$), ліноленової (C18:3) на 10 % ($p < 0,05$) ПНЖК. Відмічено тенденцію до зростання інших ω-3 ПНЖК: докозатриєнової (C22:3) і докозагексаєнової (C22:6) ПНЖК. Натомість відмічено тенденцію до зниження загального рівня ω-6 ПНЖК ФЛ. Серед цього класу жирних кислот значно зменшився щодо контролю вміст ейкозациєнової жирної кислоти (C20:2) у всіх досліджуваних об'єктах: на 18 % ($p < 0,05$), 20 % ($p < 0,05$), 15 % ($p < 0,05$), відповідно, у печінці, міокарді та плазмі крові (рис. 4.1).

Таблиця 4.5 – Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів (ненасичені ЖК) міокарда щурів за умов введення донора сірководню (% , $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 30 хв	NaHS 24 год
Пальмітоолеїнова 16:1	$0,972 \pm 0,073$	$0,951 \pm 0,069$	$0,984 \pm 0,090$
Олеїнова 18:1	$37,388 \pm 2,417$	$37,650 \pm 2,851$	$37,430 \pm 2,905$
Ейкозаснова 20:1	$0,175 \pm 0,010$	$0,183 \pm 0,014$	$0,187 \pm 0,015$
Лінолева 18:2	$9,455 \pm 0,627$	$9,21 \pm 0,583$	$9,263 \pm 0,614$
Ейкозадиснова 20:2	$0,330 \pm 0,017$	$0,264 \pm 0,013^*$	$0,255 \pm 0,013^*$
Докозадиснова 22:2	$1,04 \pm 0,045$	$0,966 \pm 0,067$	$0,980 \pm 0,071$
Ліноленова 18:3	$5,15 \pm 0,327$	$5,583 \pm 0,397$	$5,562 \pm 0,375$
Ейкозатриєнова 20:3	$1,66 \pm 0,079$	$1,499 \pm 0,063^*$	$1,508 \pm 0,070$
Докозатриєнова 22:3	$1,23 \pm 0,059$	$1,390 \pm 0,067^*$	$1,397 \pm 0,075^*$
Арахідонова 20:4	$4,95 \pm 0,207$	$4,72 \pm 0,236$	$4,785 \pm 0,271$
Докозатетраснова 22:4	$2,805 \pm 0,147$	$2,655 \pm 0,163$	$2,673 \pm 0,182$
Ейкозапентаєнова 20:5	$1,335 \pm 0,067$	$1,508 \pm 0,071^*$	$1,497 \pm 0,070^*$
Докозапентаєнова 22:5	$4,82 \pm 0,236$	$5,05 \pm 0,312$	$5,010 \pm 0,501$
Докозагексаєнова 22:6	$5,705 \pm 0,314$	$5,868 \pm 0,379$	$5,837 \pm 0,364$
Сума ненасичених	$77,113 \pm 5,467$	$77,796 \pm 5,833$	$77,368 \pm 5,896$
Сума мононенасичених	$38,533 \pm 2,115$	$38,783 \pm 2,361$	$38,601 \pm 2,710$
Сума поліненасичених	$38,548 \pm 2,470$	$38,713 \pm 2,590$	$38,767 \pm 2,615$
Індекс насиченості	$0,296 \pm 0,013$	$0,280 \pm 0,012$	$0,280 \pm 0,012$
ω -3	$18,24 \pm 0,963$	$19,399 \pm 1,245$	$19,303 \pm 1,110$
ω -6	$19,2 \pm 1,120$	$18,348 \pm 1,090$	$18,484 \pm 1,115$
ω -3/ ω -6	$0,95 \pm 0,038$	$1,05 \pm 0,040^*$	$1,04 \pm 0,041^*$

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

Відмічено також зниження (на 10 %, $p<0,05$) рівня ейкозатриєнової кислоти (C20:3) у міокарді та печінці, а у плазмі крові – докозатетраєнової (C22:4) ЖК на 15 % ($p<0,05$). За таких змін композиції ПНЖК співвідношення ω -3/ ω -6 достовірно зросло у печінці – на 10 % ($p<0,05$), у міокарді – на 11 % ($p<0,05$) та на 15 % ($p<0,05$) плазмі крові. Збільшення співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК під впливом H_2S є позитивною ознакою змін структурно-функціональної організації клітинних мембран, оскільки відображає покращення фізико-хімічних характеристик, що полягає у зменшенні в'язкості та збільшенні плинності мембран клітинних і субклітинних структур, а відтак покращення мікрооточення ферментів і ефективності їх дії.

Таблиця 4.6 – Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів (ненасичені ЖК) плазми крові щурів за умов введення донора сірководню (% , $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 30 хв	NaHS 24 год
Каприлова 8:0	0,141 $\pm$ 0,007	0,108 $\pm$ 0,006*	0,108 $\pm$ 0,007*
Капринова 10:0	0,205 $\pm$ 0,012	0,168 $\pm$ 0,010*	0,182 $\pm$ 0,010*
Лауринова 12:0	0,301 $\pm$ 0,014	0,265 $\pm$ 0,015*	0,253 $\pm$ 0,014*
Міристинова 14:0	0,515 $\pm$ 0,027	0,443 $\pm$ 0,025*	0,458 $\pm$ 0,026*
Пентадеканова 15:0	0,300 $\pm$ 0,017	0,285 $\pm$ 0,016	0,290 $\pm$ 0,017
Пальмітинова 16:0	6,960 $\pm$ 0,304	6,236 $\pm$ 0,300*	6,567 $\pm$ 0,345
Стеаринова 18:0	10,20 $\pm$ 0,650	9,64 $\pm$ 0,620	9,731 $\pm$ 0,680
Арахінова 20:0	0,360 $\pm$ 0,025	0,296 $\pm$ 0,026*	0,308 $\pm$ 0,025*
Пальмітоолеїнова 16:1	0,952 $\pm$ 0,065	0,932 $\pm$ 0,063	0,938 $\pm$ 0,065
Олеїнова 18:1	37,675 $\pm$ 2,540	38,205 $\pm$ 2,790	38,342 $\pm$ 2,810
Ейкозаєнова 20:1	0,210 $\pm$ 0,017	0,200 $\pm$ 0,016	0,191 $\pm$ 0,015
Лінолева 18:2	12,255 $\pm$ 0,730	12,300 $\pm$ 0,785	12,265 $\pm$ 0,760
Ейкозадиєнова 20:2	0,310 $\pm$ 0,015	0,263 $\pm$ 0,014*	0,272 $\pm$ 0,013*

Продовження таблиці 4.6

Докозациєнова 22:2	0,985 ± 0,040	0,877 ± 0,035*	0,890 ± 0,045*
Ліноленова 18:3	5,420 ± 0,230	6,010 ± 0,310*	5,831 ± 0,315
Ейкозатриєнова 20:3	1,725 ± 0,090	1,743 ± 0,125	1,730 ± 0,110
Докозатриєнова 22:3	1,190 ± 0,065	1,283 ± 0,080	1,261 ± 0,075
Арахідонова 20:4	5,430 ± 0,280	5,12 ± 0,265	5,184 ± 0,275
Докозатетраєнова 22:4	2,815 ± 0,014	2,415 ± 0,017*	2,502 ± 0,013*
Ейкозапентаєнова 20:5	1,510 ± 0,112	1,808 ± 0,124*	1,761 ± 0,135*
Докозапентаєнова 22:5	4,705 ± 0,205	5,300 ± 0,290*	5,157 ± 0,265
Докозагексаєнова 22:6	5,710 ± 0,325	6,181 ± 0,370	6,125 ± 0,345
Сума ненасичених	80,892 ± 6,320	82,621 ± 6,450	82,449 ± 6,510
Сума моно ненасичених	38,837 ± 2,425	39,332 ± 2,690	39,471 ± 2,830
Сума поліненасичених	42,055 ± 2,960	43,289 ± 3,240	42,978 ± 3,750
Індекс насиченості	0,234 ± 0,010	0,211 ± 0,011*	0,220 ± 0,011
ω-3	18,535 ± 0,840	20,571 ± 0,985*	20,135 ± 0,910
ω-6	22,535 ± 1,695	21,841 ± 1,560	21,953 ± 1,780
ω-3/ω-6	0,82 ± 0,030	0,94 ± 0,040*	0,92 ± 0,040*

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

Через 24 год після введення NaHS співвідношення ω-3/ω-6 ПНЖК ФЛ залишається достовірно вищим щодо контролю у всіх досліджуваних біосередовищах, незважаючи на тенденцію до зниження стосовно попереднього терміну дії донора сірководню. Рівень насичених жирних кислот ФЛ підвищився відносно 30-ї хв після введення, проте не досяг величин контролю. Відомо, що збільшення вмісту ω-3 ПНЖК універсально зумовлює зменшення в'язкості та збільшення плинності мембран, а відтак покращення мікрооточення ферментів та оптимізує трансмембранний транспорт за дії екстремальних чинників. Окрім того, ω-3 ПНЖК конкурують з арахідоновою кислотою у мембранних фосфоліпідах на рівні

циклооксигенази, пригнічують активність 2,6-десатурази, оптимізують регулювання синтезу ейкозаноїдів тощо [215-217] .

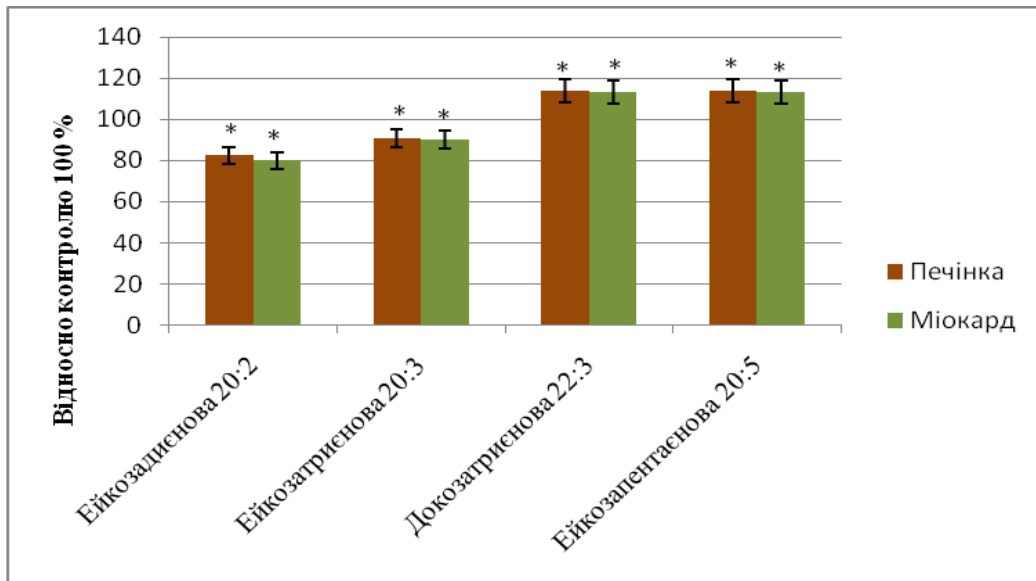


Рисунок 4.1 – Зміни окремих ω -3 і ω -6 поліненасичених жирних кислот у печінці та міокарді через 30 хв після введення NaHS

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

Зміни композиції ПНЖК вказують на позитивні ефекти впливу донора гідроген сульфід, що пов'язано із зростанням вмісту ω -3 та зменшенням вмісту ω -6 ПНЖК фосфоліпідів. Згідно з даними літератури ω -3 ПНЖК виявляють свої бенефіціальні ефекти саме у серцево-судинній системі, зокрема: нормалізація рівня артеріального тиску, модифікація ліпідного профілю, антитромботичний, антиаритмічний та протизапальний ефекти, стабілізують атеросклеротичні бляшки та покращують функціональні характеристики ендотелію [218, 219]. Водночас, такі протекторні характеристики ω -3 ПНЖК пов'язані із впливом останніх на структурно-функціональний стан клітинних мембран та мембранозалежні процеси.

Отже, введення донора сірководню супроводжується зменшенням рівня насичених ЖК ФЛ. Зокрема, у міокарді встановлено тенденцію до зниження пальмітинової (C16:0) та стеаринової (C18:0) жирних кислот, у печінці та плазмі крові зафіксовано достовірне зниження пальмітинової

(C16:0) кислоти. У міокарді, печінці та плазмі крові відмічено зростання вмісту ω -3 ПНЖК, а також тенденцію до зниження загального рівня ω -6 ПНЖК. Такі зміни супроводжуються зростанням співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК, яке залишається достовірно вищим і через 24 год після введення донора гідроген сульфід.

4.2 Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів печінки, міокарда та плазми крові за дії донора гідроген сульфід

Встановлено, що на 30-й хвилині з часу введення донора сірководню рівень насичених ЖК у складі ЗЛ знижується щодо контролю як у печінці, так і в міокарді (табл. 4.7, 4.8).

Таблиця 4.7 – Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів (насичені ЖК) печінки щурів за умов введення донора сірководню (% , $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 30 хв	NaHS 24 год
Каприлова 8:0	0,113 $\pm$ 0,008	0,075 $\pm$ 0,006*	0,0870 $\pm$ 0,007*
Капринова 10:0	0,200 $\pm$ 0,016	0,150 $\pm$ 0,013*	0,172 $\pm$ 0,011*
Лауринова 12:0	0,300 $\pm$ 0,014	0,240 $\pm$ 0,016*	0,252 $\pm$ 0,017*
Міристинова 14:0	0,488 $\pm$ 0,026	0,420 $\pm$ 0,021*	0,439 $\pm$ 0,022*
Пентадеканова 15:0	0,288 $\pm$ 0,023	0,238 $\pm$ 0,021*	0,270 $\pm$ 0,022
Пальмітинова 16:0	5,600 $\pm$ 0,380	5,190 $\pm$ 0,354	5,432 $\pm$ 0,375
Стеаринова 18:0	8,601 $\pm$ 0,422	8,090 $\pm$ 0,418	8,170 $\pm$ 0,425
Арахідова 20:0	0,200 $\pm$ 0,012	0,150 $\pm$ 0,012*	0,172 $\pm$ 0,130*
Сума насичених	15,790 $\pm$ 1,230	14,553 $\pm$ 1,260	14,994 $\pm$ 1,32

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

У печінці найбільшою мірою щодо контролю зменшується рівень: каприлової кислоти (C8:0) на 33% ($p < 0,05$), капринової (C10:0) – на 25%

($p<0,05$), лауринової (C12:0) – на 20% ($p<0,05$), міристинової (C14:0) – на 14% ($p<0,05$), пентадеканової (C15:0) – на 17% ($p<0,05$), арахінової (C20:0) – на 25% ($p<0,05$).

У серцевому м'язі відмічено вірогідне зниження вмісту капринової (C10:0) і лауринової кислот (C12:0) на 10 % ($p<0,05$), міристинової (C14:0) – на 13 % ($p<0,05$) стосовно контролю (табл. 4.8).

Таблиця 4.8 – Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів (ненасичені ЖК) міокарда щурів за умов застосування донора сірководню (% , $M\pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 30 хв	NaHS 24 год
Каприлова 8:0	0,078 $\pm$ 0,004	0,073 $\pm$ 0,005	0,074 $\pm$ 0,006
Капринова 10:0	0,190 $\pm$ 0,008	0,171 $\pm$ 0,007*	0,173 $\pm$ 0,008
Лауринова 12:0	0,300 $\pm$ 0,013	0,270 $\pm$ 0,014*	0,270 $\pm$ 0,014*
Міристинова 14:0	0,460 $\pm$ 0,021	0,402 $\pm$ 0,020*	0,409 $\pm$ 0,021*
Пентадеканова 15:0	0,290 $\pm$ 0,024	0,276 $\pm$ 0,023	0,276 $\pm$ 0,021
Пальмітинова 16:0	9,140 $\pm$ 0,721	8,96 $\pm$ 0,759	9,049 $\pm$ 0,789
Стеаринова 18:0	11,98 $\pm$ 0,921	11,74 $\pm$ 0,943	11,980 $\pm$ 0,951
Арахінова 20:0	0,310 $\pm$ 0,014	0,282 $\pm$ 0,013*	0,279 $\pm$ 0,014
Сума насичених	22,760 $\pm$ 1,810	22,174 $\pm$ 1,612	22,51 $\pm$ 1,782

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

У всіх досліджуваних біооб'єктах зафіксовано тенденцію до зменшення вмісту пальмітинової (C16:0) і стеаринової (C18:0) ЖК, питома вага яких найбільша серед насичених ЖК у складі ЗЛ.

Через 24 год з часу введення NaHS рівень зазначених насичених жирних кислот був достовірно нижчим щодо контролю. Водночас у печінці вміст каприлової кислоти (C8:0) на 16% ($p<0,05$), капринової (C10:0) – на 14% ($p<0,05$), пентадеканової (C15:0) – на 13% ($p<0,05$), арахінової (C20:0) – на 15% ($p<0,05$) перевищував їх величини порівняно з попереднім терміном. Встановлено також, що вплив NaHS у ранні терміни після його введення

(через 30 хв) призводить до зміни композиції складу ПНЖК ЗЛ різних типів щодо контролю.

У досліджуваних біосередовищах зафіксовано зростання вмісту ω -3 жирних кислот, зокрема ейкозапентаєнової (C20:5) на 12 % ($p<0,05$) і 13% ($p<0,05$), а також докозатриєнової (C22:3) на 15 % ($p<0,05$) і 11% ($p<0,05$) у печінці та міокарді відповідно (табл. 4.9, 4.10). Крім того, у печінці встановлено достовірне підвищення вмісту ліноленової (C18:3) ($p<0,05$), а також тенденцію до зростання інших ω -3 жирних кислот як у печінці, так і в міокарді.

Таблиця 4.9 – Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів (ненасичені ЖК) печінки щурів за умов введення донора сірководню (% , $M\pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 30 хв	NaHS 24 год
Пальмітоолеїнова 16:1	1,010 $\pm$ 0,080	1,007 $\pm$ 0,07	1,010 $\pm$ 0,090
Олеїнова 18:1	31,300 $\pm$ 2,705	31,800 $\pm$ 2,902	31,394 $\pm$ 3,001
Ейкозаєнова 20:1	0,163 $\pm$ 0,006	0,180 $\pm$ 0,008*	0,178 $\pm$ 0,008
Лінолева 18:2	16,350 $\pm$ 1,200	16,088 $\pm$ 1,290	16,023 $\pm$ 1,170
Ейкозادیєнова 20:2	0,306 $\pm$ 0,010	0,250 $\pm$ 0,013*	0,266 $\pm$ 0,014*
Докозادیєнова 22:2	1,200 $\pm$ 0,060	1,080 $\pm$ 0,050*	1,164 $\pm$ 0,063
Ліноленова 18:3	6,701 $\pm$ 0,315	7,360 $\pm$ 0,334*	7,170 $\pm$ 0,380
Ейкозатриєнова 20:3	2,405 $\pm$ 0,140	2,340 $\pm$ 0,160	2,284 $\pm$ 0,190
Докозатриєнова 22:3	1,412 $\pm$ 0,035	1,617 $\pm$ 0,041*	1,567 $\pm$ 0,039*
Арахідонова 20:4	6,090 $\pm$ 0,490	5,800 $\pm$ 0,510	5,846 $\pm$ 0,530
Докозатетраєнова 22:4	2,850 $\pm$ 0,017	2,680 $\pm$ 0,019	2,708 $\pm$ 0,0190
Ейкозапентаєнова 20:5	1,750 $\pm$ 0,095	1,964 $\pm$ 0,110*	1,925 $\pm$ 0,101*
Докозапентаєнова 22:5	5,480 $\pm$ 0,425	5,870 $\pm$ 0,470	5,918 $\pm$ 0,515

Продовження таблиці 4.9

Докозагексаєнова 22:6	6,805±0,315	7,173±0,480	7,145±0,475
Сума ненасичених	83,822±6,103	85,144±6,545	84,598±6,439
Сума мононенасичених	32,473±2,100	32,987±2,700	32,582±2,600
Сума поліненасичених	51,349±4,360	52,157±4,400	52,016±4,320
Індекс насиченості	0,190±0,008	0,170±0,007*	0,180±0,080
ω-3	20,736±1,700	22,367±2,030	22,158±2,010
ω-6	28,001±2,100	27,093±2,190	27,127±2,200
ω-3/ω-6	0,740±0,030	0,830±0,040*	0,820±0,040*

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

Натомість відмічено тенденцію до зниження рівня ω-6 жирних кислот ЗЛ, серед яких достовірно зменшився вміст ейкозациєнової (C20:2) на 17 % ($p < 0,05$) у печінці та на 11% ($p < 0,05$) у міокарді. При цьому співвідношення ω-3/ω-6 ПНЖК зросло щодо контролю в обох органах на 12 % ($p < 0,05$). Через 24 год після введення NaHS співвідношення ω-3/ω-6 ПНЖК залишається достовірно вищим щодо контролю у печінці та спостерігається тенденція до його збільшення в міокарді.

Отже, під впливом H₂S ступінь зменшення вмісту насичених жирних кислот і змін окремих видів насичених жирних кислот загальних ліпідів у печінці був більш виражений порівняно з міокардом. Про це також свідчить зниження стосовно контролю індексу насиченості на 11% ($p < 0,05$) у печінці, тоді як у міокарді цей показник практично не змінився.

Виявлений характер змін жирнокислотного складу загальних ліпідів міокарда, печінки та плазми крові мали подібну спрямованість, яка була встановлена у змінах жирнокислотного складу фосфоліпідів цих досліджуваних біосередовищ, що виявлялися у зменшенні вмісту насичених жирних кислот та зростанні вмісту ненасичених жирних кислот.

Таблиця 4.10 – Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів (ненасичені ЖК) міокарда щурів за умов введення донора сірководню (% , $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 30 хв	NaHS 24 год
Пальмітоолеїнова 16:1	0,980±0,07	0,983±0,079	0,980±0,075
Олеїнова 18:1	43,200±2,920	43,250±3,115	43,200±3,050
Ейкозаснова 20:1	0,180±0,011	0,184±0,012	0,182±0,012
Лінолева 18:2	7,990±0,518	7,390±0,520	7,750±0,580
Ейкозадиснова 20:2	0,290±0,013	0,258±0,014*	0,261±0,014*
Докозадиснова 22:2	0,790±0,032	0,714±0,031*	0,730±0,033
Ліноленова 18:3	4,350±0,210	4,611±0,212	4,440±0,280
Ейкозатрієнова 20:3	3,330±0,171	3,200±0,162	3,200±0,164
Докозатрієнова 22:3	0,960±0,042	1,066±0,051*	1,040±0,05
Арахідонова 20:4	4,340±0,230	4,166±0,210	4,210±0,248
Докозатетраєнова 22:4	2,060±0,120	1,936±0,110	1,957±0,125
Ейкозапентаєнова 20:5	1,170±0,042	1,322±0,050*	1,290±0,048*
Докозапентаєнова 22:5	3,290±0,212	3,650±0,237	3,389±0,254
Докозагексаєнова 22:6	4,230±0,280	4,124±0,273	4,234±0,289
Сума ненасичених	77,240±5,850	76,854±5,770	76,853±5,920
Сума мононенасичених	44,400±3,260	44,417±3,280	44,362±3,210
Сума поліненасичених	32,800±2,650	32,437±2,460	32,491±2,420
Індекс насиченості	0,290±0,010	0,290±0,010	0,290±0,010
ω -3	14,000±1,300	14,773±1,400	14,383±1,380
ω -6	18,000±1,410	16,950±1,312	17,378±1,380
ω -3/ ω -6	0,780±0,030	0,870±0,040*	0,830±0,040

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

Отже, отримані результати свідчать про аналогічну спрямованість змін жирнокислотного складу загальних ліпідів та фосфоліпідів та загальних ліпідів міокарда, печінки та плазми крові. Вплив донора сірководню призводив до зниження рівня насичених жирних кислот загальних ліпідів, зростання рівня ненасичених жирних кислот. Співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК

у досліджуваних біосередовищах залишалося вищим щодо контролю через через 24 год після введення NaHS.

4.3 Модифікація жирнокислотного складу фосфоліпідів печінки, міокарда та плазми крові щурів за попереднього до дії радіації застосування донора гідроген сульфід

Встановлено, що вплив радіації через 24 год призводить до істотного збільшення рівня коротколанцюгових насичених ЖК ФЛ – каприлової (C8:0), капринової (C10:0), лауринової (C12:0), міристинової (C14:0) щодо контролю у всіх досліджуваних біосередовищах (табл.4.11, 4.12, 4.13).

Таблиця 4.11 – Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів (насичені ЖК) печінки щурів за умов попереднього введення донора сірководню до дії радіації (%), $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 24 год	Радіація 24 год	NaHS+Радіація 24 год
Каприлова 8:0	$0,142 \pm 0,011$	$0,119 \pm 0,008^*$	$0,167 \pm 0,011^*$	$0,145 \pm 0,011^\bullet$
Капринова 10:0	$0,201 \pm 0,014$	$0,183 \pm 0,014$	$0,226 \pm 0,011^*$	$0,215 \pm 0,010$
Лауринова 12:0	$0,293 \pm 0,018$	$0,245 \pm 0,017^*$	$0,334 \pm 0,020^*$	$0,324 \pm 0,019$
Міристинова 14:0	$0,522 \pm 0,014$	$0,484 \pm 0,020$	$0,593 \pm 0,020^*$	$0,534 \pm 0,016^\bullet$
Пентадеканова 15:0	$0,350 \pm 0,027$	$0,338 \pm 0,025$	$0,373 \pm 0,029$	$0,364 \pm 0,031$
Пальмітинова 16:0	$7,241 \pm 0,310$	$6,840 \pm 0,305$	$7,915 \pm 0,342^*$	$7,535 \pm 0,315$
Стеаринова 18:0	$8,253 \pm 0,407$	$7,985 \pm 0,401$	$8,864 \pm 0,439$	$8,538 \pm 0,427$
Арахінова 20:0	$0,197 \pm 0,012$	$0,174 \pm 0,010^*$	$0,235 \pm 0,016^*$	$0,225 \pm 0,013^*$
Сума насичених	$17,201 \pm 1,302$	$16,368 \pm 1,189$	$18,701 \pm 1,411$	$17,908 \pm 1,426$

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

Зафіксовано зростання вмісту лауринової кислоти (C12:0) – на 14 % ($p<0,05$), 15 % ($p<0,05$) і 18 % ($p<0,05$) у печінці, міокарді та плазмі крові, відповідно, а також збільшення міристинової кислоти (C14:0) практично до того ж рівня. Відмічено також підвищення вмісту пальмітинової (C16:0) і стеаринової (C18:0) жирних кислот – на 10 % ($p<0,05$) у печінці та тенденцію до їх зростання у міокарді та плазмі крові (табл. 4.12, 4.13).

Таблиця 4.12 – Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів (насичені ЖК) міокарда щурів за умов попереднього введення донора сірководню до дії радіації (%), $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 24 год	Рад 24 год	NaHS+Рад 24 год
Каприлова 8:0	$0,145 \pm 0,010$	$0,136 \pm 0,011$	$0,175 \pm 0,013^*$	$0,162 \pm 0,011^*$
Капринова 10:0	$0,228 \pm 0,014$	$0,184 \pm 0,015^*$	$0,281 \pm 0,016^*$	$0,262 \pm 0,015^*$
Лауринова 12:0	$0,295 \pm 0,018$	$0,256 \pm 0,015^*$	$0,340 \pm 0,021^*$	$0,305 \pm 0,019$
Міристинова 14:0	$0,515 \pm 0,023$	$0,460 \pm 0,023^*$	$0,605 \pm 0,034^*$	$0,505 \pm 0,021^\bullet$
Пентадеканова 15:0	$0,285 \pm 0,012$	$0,264 \pm 0,013$	$0,300 \pm 0,014$	$0,290 \pm 0,013$
Пальмітинова 16:0	$9,738 \pm 0,526$	$9,380 \pm 0,465$	$9,971 \pm 0,603$	$9,843 \pm 0,640$
Стеаринова 18:0	$11,355 \pm 0,790$	$11,052 \pm 0,806$	$11,630 \pm 0,850$	$11,485 \pm 0,810$
Арахінова 20:0	$0,241 \pm 0,011$	$0,243 \pm 0,012$	$0,171 \pm 0,010^*$	$0,215 \pm 0,012^*$
Сума насичених	$22,801 \pm 1,615$	$21,975 \pm 1,120$	$22,471 \pm 1,513$	$23,065 \pm 1,650$

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

Зафіксовано істотну відмінність у змінах концентрації арахінової кислоти (C20:0) у досліджуваних середовищах, вміст якої достовірно збільшується в печінці на 19 % ($p<0,05$) та плазмі крові на 18 % ($p<0,05$) і зменшується в міокарді на 29 % ($p<0,05$).

Таблиця 4.13 – Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів (насичені ЖК) плазми крові щурів за умов попереднього введення донора сірководню до дії радіації (у %, $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 24 год	Рад 24 год	NaHS+Рад 24 год
Каприлова 8:0	0,141 $\pm$ 0,007	0,108 $\pm$ 0,007*	0,159 $\pm$ 0,009*	0,151 $\pm$ 0,009
Капринова 10:0	0,205 $\pm$ 0,012	0,182 $\pm$ 0,010*	0,295 $\pm$ 0,017*	0,265 $\pm$ 0,016*
Лауринова 12:0	0,301 $\pm$ 0,014	0,253 $\pm$ 0,014*	0,355 $\pm$ 0,017*	0,330 $\pm$ 0,016
Міристинова 14:0	0,515 $\pm$ 0,027	0,458 $\pm$ 0,026*	0,610 $\pm$ 0,030*	0,536 $\pm$ 0,030
Пентадеканова 15:0	0,300 $\pm$ 0,017	0,290 $\pm$ 0,017	0,280 $\pm$ 0,017	0,284 $\pm$ 0,018
Пальмітинова 16:0	6,960 $\pm$ 0,304	6,567 $\pm$ 0,345	7,380 $\pm$ 0,364	7,064 $\pm$ 0,390
Стеаринова 18:0	10,20 $\pm$ 0,650	9,731 $\pm$ 0,680	10,465 $\pm$ 0,735	10,323 $\pm$ 0,720
Арахінова 20:0	0,360 $\pm$ 0,025	0,308 $\pm$ 0,025*	0,425 $\pm$ 0,030*	0,379 $\pm$ 0,038
Сума насичених	18,980 $\pm$ 1,210	17,897 $\pm$ 1,200	19,97 $\pm$ 1,405	19,332 $\pm$ 1,460

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

Встановлено також зміни композиції ПНЖК ФЛ за впливу іонізуючого випромінювання. Найбільшою мірою зменшився вміст ω -3 поліненасиченої жирної кислоти ейкозапантаєнової (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. (табл. 4.14, 4.15, 4.16).

Таблиця 4.14 – Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів (ненасичені ЖК) печінки щурів за умов попереднього застосування донора сірководню до дії радіації (у %, $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 24 год	Рад 24 год	NaHS+Рад 24 год
Пальмітоолеїнова 16:1	0,890 $\pm$ 0,061	0,893 $\pm$ 0,078	0,870 $\pm$ 0,063	0,880 $\pm$ 0,071
Олеїнова 18:1	23,878 $\pm$ 1,208	24,650 $\pm$ 1,569	22,732 $\pm$ 1,430	22,846 $\pm$ 1,297

Продовження таблиці 4.14

Ейкозаснова 20:1	0,177 ± 0,011	0,170 ± 0,010	0,170 ± 0,012	0,173 ± 0,018
Лінолева 18:2	16,43 ± 1,018	16,215 ± 1,142	17,202 ± 1,148	16,705 ± 1,239
Ейкозадиснова 20:2	0,255 ± 0,017	0,205 ± 0,014*	0,295 ± 0,016*	0,272 ± 0,013
Докозадиснова 22:2	1,290 ± 0,073	1,135 ± 0,064*	1,400 ± 0,083	1,315 ± 0,087
Ліноленова 18:3	7,68 ± 0,410	8,112 ± 0,509	7,127 ± 0,438	7,376 ± 0,561
Ейкозатриснова 20:3	2,03 ± 0,091	1,860 ± 0,092	2,246 ± 0,105*	2,165 ± 0,111
Докозатриснова 22:3	1,615 ± 0,081	1,763 ± 0,074	1,491 ± 0,079	1,528 ± 0,083
Арахідонова 20:4	7,450 ± 0,521	7,310 ± 0,549	7,711 ± 0,537	7,518 ± 0,512
Докозатетраснова 22:4	3,573 ± 0,112	3,574 ± 0,141	3,837 ± 0,209	3,704 ± 0,167
Ейкозапентаснова 20:5	2,070 ± 0,112	2,307 ± 0,114*	1,809 ± 0,106*	1,953 ± 0,128
Докозапентаснова 22:5	6,790 ± 0,315	7,214 ± 0,319	6,260 ± 0,368	6,407 ± 0,513
Докозагексаснова 22:6	8,635 ± 0,412	8,892 ± 0,475	8,255 ± 0,473	8,412 ± 0,397
Сума ненасичених	82,748 ± 7,319	84,31 ± 7,751	81,405 ± 7,902	81,254 ± 7,641
Сума мононенасичених	24,945 ± 1,815	25,713 ± 1,968	23,772 ± 1,845	23,899 ± 1,923
Сума поліненасичених	57,803 ± 4,210	58,597 ± 4,603	57,633 ± 4,365	57,355 ± 4,129
Індекс насиченості	0,208 ± 0,010	0,190 ± 0,009	0,230 ± 0,011*	0,220 ± 0,010
ω-3	26,79 ± 1,562	28,288 ± 2,017	25,942 ± 1,738	25,676 ± 1,590
ω-6	29,736 ± 1,917	29,174 ± 1,803	31,32 ± 2,108	30,364 ± 2,075
ω-3/ω-6	0,901 ± 0,032	0,969 ± 0,037	0,796 ± 0,046*	0,850 ± 0,063

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

Відмічено також достовірне зниження на 12 % ($p < 0,05$) концентрації докозапентасенової кислоти (C22:5) відносно контролю як у міокарді, так і в плазмі крові, а також тенденцію до зниження вмісту інших ω-3 ПНЖК у всіх досліджуваних біооб'єктах, що може бути пов'язано із залученням ПНЖК у процеси ПОЛ, що підтверджується попередньо проведеними нами дослідженнями та вищезгаданими даними літератури [219, 220, 255].

Таблиця 4.15 – Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів (ненасичені ЖК) міокарда щурів за умов попереднього введення донора сірководню до дії радіації (у %, $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 24 год	Рад 24 год	NaHS+Рад 24 год
Пальмітоолеїнова 16:1	0,972 $\pm$ 0,073	0,984 $\pm$ 0,090	0,962 $\pm$ 0,071	0,965 $\pm$ 0,075
Олеїнова 18:1	37,388 $\pm$ 2,417	37,430 $\pm$ 2,905	37,383 $\pm$ 2,659	37,379 $\pm$ 2,145
Ейкозаснова 20:1	0,175 $\pm$ 0,010	0,187 $\pm$ 0,015	0,215 $\pm$ 0,016*	0,194 $\pm$ 0,012*
Лінолева 18:2	9,455 $\pm$ 0,627	9,263 $\pm$ 0,614	9,66 $\pm$ 0,718	9,581 $\pm$ 0,090
Ейкозадиснова 20:2	0,330 $\pm$ 0,017	0,255 $\pm$ 0,013*	0,355 $\pm$ 0,019	0,343 $\pm$ 0,020
Докозадиснова 22:2	1,04 $\pm$ 0,045	0,980 $\pm$ 0,071	1,163 $\pm$ 0,070*	1,105 $\pm$ 0,065
Ліноленова 18:3	5,15 $\pm$ 0,327	5,562 $\pm$ 0,375	5,02 $\pm$ 0,361	5,102 $\pm$ 0,380
Ейкозатриснова 20:3	1,66 $\pm$ 0,079	1,508 $\pm$ 0,070	1,801 $\pm$ 0,093	1,785 $\pm$ 0,090
Докозатриснова 22:3	1,23 $\pm$ 0,059	1,397 $\pm$ 0,075*	1,128 $\pm$ 0,065	1,185 $\pm$ 0,060
Арахідонова 20:4	4,95 $\pm$ 0,207	4,785 $\pm$ 0,271	4,965 $\pm$ 0,283	4,953 $\pm$ 0,290
Докозатетраснова 22:4	2,805 $\pm$ 0,147	2,673 $\pm$ 0,182	3,005 $\pm$ 0,147	2,902 $\pm$ 0,165
Ейкозапентаснова 20:5	1,335 $\pm$ 0,067	1,497 $\pm$ 0,070*	1,09 $\pm$ 0,058*	1,125 $\pm$ 0,070*
Докозапентаснова 22:5	4,82 $\pm$ 0,236	5,010 $\pm$ 0,501	4,23 $\pm$ 0,260*	4,560 $\pm$ 0,285
Докозагексаснова 22:6	5,705 $\pm$ 0,314	5,837 $\pm$ 0,364	5,62 $\pm$ 0,381	5,687 $\pm$ 0,390
Сума ненасичених	77,113 $\pm$ 5,467	77,368 $\pm$ 5,896	76,595 $\pm$ 5,876	76,866 $\pm$ 5,750
Сума мононенасичених	38,533 $\pm$ 2,115	38,601 $\pm$ 2,710	38,558 $\pm$ 2,305	38,538 $\pm$ 2,350
Сума поліненасичених	38,548 $\pm$ 2,470	38,767 $\pm$ 2,615	38,037 $\pm$ 2,280	38,328 $\pm$ 2,674
Індекс насиченості	0,296 $\pm$ 0,013	0,280 $\pm$ 0,012	0,30 $\pm$ 0,014	0,30 $\pm$ 0,015
ω -3	18,24 $\pm$ 0,963	19,303 $\pm$ 1,110	17,088 $\pm$ 0,920	17,659 $\pm$ 0,986
ω -6	19,2 $\pm$ 1,120	18,484 $\pm$ 1,115	19,786 $\pm$ 1,125	19,564 $\pm$ 1,148
ω -3/ ω -6	0,95 $\pm$ 0,038	1,04 $\pm$ 0,041*	0,86 $\pm$ 0,035*	0,90 $\pm$ 0,037

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

Відомо, що одним з основних субстратів процесів ліпідної пероксидації, що має місце при впливові іонізуючої радіації, є переважно ПНЖК, які першочергово зазнають окисного впливу. Такі зміни можуть зумовлювати різні порушення обміну речовин в організмі, насамперед неконтрольовану активацію вільнорадикальних реакцій та пригнічення аеробного енергосинтезу [229, 230]. Разом з тим, слід зазначити, що особливу роль процеси пероксидного окиснення ліпідів мають і за фізіологічних умов, оскільки цей багаторівневий процес, лімітований антиоксидантною системою, забезпечує постійне оновлення фосфоліпідного складу біомембран [232, 235].

Одночасно зі зменшенням вмісту ω -3 ПНЖК за дії іонізуючого випромінювання було зафіксовано зростання вмісту більшості ω -6 ПНЖК стосовно контролю. Найбільшою мірою підвищився рівень ейкозадисенової (C20:2) на 15 % ($p < 0,05$) та ейкозатриєнової (C20:3) на 10 % ($p < 0,05$) у печінці (див. табл. 4.15). У плазмі крові зафіксовано збільшення на 15 % ($p < 0,05$) вмісту лінолевої кислоти (C18:2), на 10 % ($p < 0,05$) – докозатетраєнової (C22:4) поліненасичених жирних кислот (табл. 4.16).

Таблиця 4.16 – Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів (ненасичені ЖК) плазми крові щурів за умов попереднього застосування донора сірководню до дії радіації (у %, $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 24 год	Рад 24 год	NaHS+Рад 24 год
Пальмітоолеїнова 16:1	0,952 $\pm$ 0,065	0,938 $\pm$ 0,065	0,931 $\pm$ 0,060	0,945 $\pm$ 0,065
Олеїнова 18:1	37,675 $\pm$ 2,540	38,342 $\pm$ 2,810	36,915 $\pm$ 2,620	36,730 $\pm$ 2,645
Ейкозаєнова 20:1	0,210 $\pm$ 0,017	0,191 $\pm$ 0,015	0,210 $\pm$ 0,018	0,201 $\pm$ 0,016
Лінолева 18:2	12,255 $\pm$ 0,730	12,265 $\pm$ 0,760	12,44 $\pm$ 0,610	12,371 $\pm$ 0,640
Ейкозадисенова 20:2	0,310 $\pm$ 0,015	0,272 $\pm$ 0,013*	0,395 $\pm$ 0,019*	0,344 $\pm$ 0,017*
Докозадисенова 22:2	0,985 $\pm$ 0,040	0,890 $\pm$ 0,045*	1,120 $\pm$ 0,065*	1,053 $\pm$ 0,071
Ліноленова 18:3	5,420 $\pm$ 0,230	5,831 $\pm$ 0,315	4,95 $\pm$ 0,280	5,205 $\pm$ 0,290

Продовження таблиці 4.16

Ейкозатрієнова 20:3	1,725 ± 0,090	1,730 ± 0,110	1,895 ± 0,135	1,761 ± 0,120
Докозатрієнова 22:3	1,190 ± 0,065	1,261 ± 0,075	1,065 ± 0,060	1,043 ± 0,060*
Арахідонова 20:4	5,430 ± 0,280	5,184 ± 0,275	5,711 ± 0,310	5,503 ± 0,305
Докозатетраєнова 22:4	2,815 ± 0,014	2,502 ± 0,013*	2,535 ± 0,014*	2,680 ± 0,015
Ейкозапентаєнова 20:5	1,510 ± 0,112	1,761 ± 0,135*	1,215 ± 0,120*	1,380 ± 0,015
Докозапентаєнова 22:5	4,705 ± 0,205	5,157 ± 0,265	4,120 ± 0,270*	4,507 ± 0,290
Докозагексаєнова 22:6	5,710 ± 0,325	6,125 ± 0,345	5,600 ± 0,340	5,651 ± 0,350
Сума ненасичених	80,892 ± 6,320	82,449 ± 6,510	79,101 ± 6,300	79,374 ± 6,490
Сума мононенасичених	38,837 ± 2,425	39,471 ± 2,830	38,056 ± 2,670	37,876 ± 2,630
Сума поліненасичених	42,055 ± 2,960	42,978 ± 3,750	41,045 ± 3,615	41,498 ± 3,850
Індекс насиченості	0,234 ± 0,010	0,220 ± 0,011	0,250 ± 0,01	0,240 ± 0,011
ω-3	18,535 ± 0,840	20,135 ± 0,910	16,95 ± 0,730	17,786 ± 0,810
ω-6	22,535 ± 1,695	21,953 ± 1,780	22,975 ± 1,930	22,659 ± 1,860
ω-3/ω-6	0,82±0,03	0,92±0,04*	0,73±0,035*	0,78±0,04

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

Загалом відмічена тканинна специфіка змін жирнокислотного спектру в складі ФЛ досліджуваних біосередовищ під впливом іонізуючого випромінювання. Це відповідає характеру енергогенезу даних органів, специфіка якого полягає в тому, що в міокарді як енергетичний субстрат навіть за фізіологічних умов поряд з глюкозою рівноцінно можуть використовуватися лактат та вільні жирні кислоти. У печінці основним енергосубстратом є глюкоза. За умов дії екстремальних чинників у печінці збільшується частка жирних кислот як субстрату енергопродукції, необхідної для підтримання енергетичного гомеостазу цілісного організму [235, 236].

Встановлено, що за вище наведеного профілю змін рівня ω-3 і ω-6 ПНЖК ФЛ під впливом іонізуючого опромінення співвідношення ω-3/ω-6

ПНЖК вірогідно зменшилось щодо контролю у печінці – на 12 % ($p<0,05$), у міокарді – на 9 %, у плазмі крові – на 11 % ($p<0,05$).

Такий перерозподіл змін ω -3/ ω -6 ПНЖК зумовлює зміни структурованості та плинності біомембран, а відтак і порушення реалізації мембранозалежних функцій клітинних і субклітинних структур. Важливо відзначити, що ефект дії радіації у дозі 2 Гр через 24 год спричинив модифікацію жирнокислотного складу, що маніфестувався підвищенням індексу насиченості у печінці на 11 % ($p<0,05$) та плазмі крові на 9 %. Разом з тим цей показник практично не змінюється в міокарді, що може бути однієї з причин відносно високої радіорезистентності цього органу.

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 % у плазмі крові ($p<0,05$). Встановлено також зростання рівня співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК щодо дії радіації, проте їх величини не досягають показників контролю (рис. 4.2).

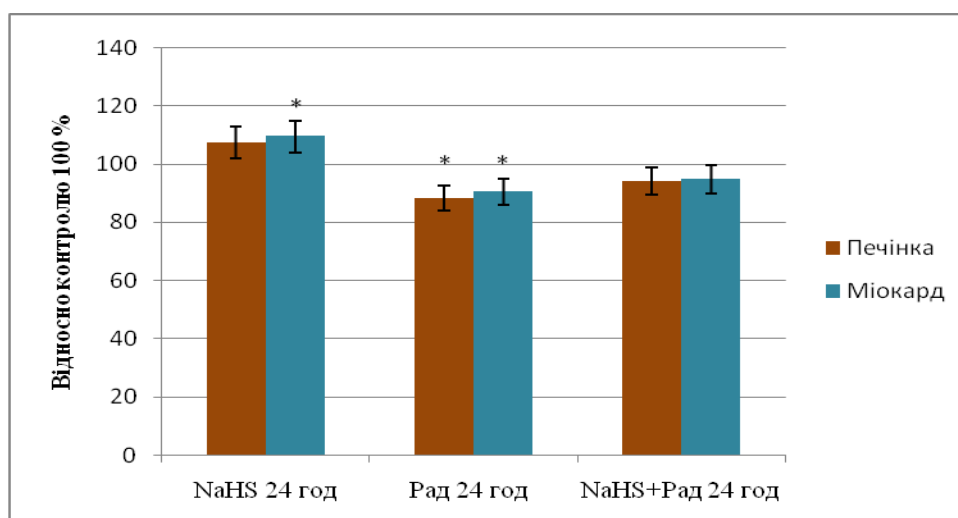


Рис. 4.2 – Зміни співвідношення ω -3/ ω -6 поліненасичених жирних кислот фосфоліпідів міокарда і печінки за умов попереднього до дії радіації введення NaHS

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

За умов впливу радіації на фоні введення NaHS у печінці відмічено достовірне зниження вмісту насичених ЖК: каприлової (C8:0) – на 13 % ($p < 0,05$), міристинової (C14:0) – на 10 % та спрямованість до зниження інших насичених ЖК відносно впливу іонізуючого опромінення. Рівень інших насичених жирних кислот знизився порівняно з їх вмістом відносно радіації, проте збереглася тенденція до підвищення їх рівня щодо контролю. У міокарді за цих умов також встановлено відновлення до величин контролю вмісту насичених ЖК, при цьому достовірно щодо дії іонізуючого випромінювання знизився (на 17 %, $p < 0,05$) рівень міристинової (C14:0) жирної кислоти.

За умов адміністрування донора гідроген сульфід у попередньо до дії іонізуючого випромінювання зафіксовано зростання вмісту практично всіх ω -3 ПНЖК щодо дії радіації.

Таким чином, ефект введення донора H_2S спричиняє модифікацію ЖКС ФЛ печінки, міокарда та плазми крові, що полягає у зростанні вмісту ω -3 ПНЖК, збільшенні співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК, зниженні рівня коротколанцюгових насичених ЖК. Дані літератури засвідчують, що збільшення вмісту ω -3 ПНЖК універсально зумовлює зменшення в'язкості та збільшення плинності мембран, а відтак покращення мікрооточення ферментів та оптимізує трансмембранний транспорт за дії екстремальних чинників. Окрім того, ω -3 ПНЖК конкурують з арахідоною кислотою у мембранних фосфоліпідах на рівні циклооксигенази, пригнічують активність 2,6-десатурази, оптимізують регулювання синтезу ейкозаноїдів тощо [230-235]. Вплив радіації дозою 2 Гр на модифікованому введенням донора H_2S фоні збільшення ω -3 ПНЖК призводить до менш вираженого зниження, індукованого радіацією, співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК. Це може бути прогностично сприятливим показником конформаційних змін при активації H_2S -залежних механізмів до пристосувальних перебудов за дії іонізуючого випромінювання. Виявлений нами профіль змін жирнокислотного складу фосфоліпідів різних тканин, що демонструє високу динамічність

мембранозалежних процесів на тлі введення H_2S , може бути одним з його модулювальних ефектів за дії радіації.

4.4 Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів печінки, міокарда та плазми крові щурів за попереднього до дії радіації застосування донора гідроген сульфід

Через 24 год після впливу іонізуючого опромінення дослідних тварин встановлено істотне підвищення щодо контролю рівня таких насичених ЖК ЗЛ у печінці та міокарді, відповідно: каприлової (C8:0) – на 37 % ($p<0,05$) і 14 % ($p<0,05$), міристинової (C14:0) – на 19 % ($p<0,05$) і 15 % ($p<0,05$), арахінової кислоти (C20:0) – на 13 % ($p<0,05$) і 15 % ($p<0,05$) (табл. 4.17, 4.18).

Таблиця 4.17 – Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів (насичені ЖК) печінки щурів за умов попереднього введення донора сірководню до дії радіації (% , $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 24 год	Радіація 24 год	NaHS+Рад 24 год
Каприлова 8:0	0,113 $\pm$ 0,007	0,0870 $\pm$ 0,007*	0,155 $\pm$ 0,012*	0,132 $\pm$ 0,011*•
Капринова 10:0	0,200 $\pm$ 0,016	0,172 $\pm$ 0,011*	0,200 $\pm$ 0,018	0,190 $\pm$ 0,017
Лауринова 12:0	0,300 $\pm$ 0,014	0,252 $\pm$ 0,017*	0,339 $\pm$ 0,020*	0,300 $\pm$ 0,016•
Міристинова 14:0	0,488 $\pm$ 0,026	0,439 $\pm$ 0,022*	0,576 $\pm$ 0,031*	0,515 $\pm$ 0,027•
Пентадеканова 15:0	0,288 $\pm$ 0,023	0,270 $\pm$ 0,022	0,290 $\pm$ 0,024	0,284 $\pm$ 0,023
Пальмітинова 16:0	5,600 $\pm$ 0,380	5,432 $\pm$ 0,375	6,030 $\pm$ 0,430	5,673 $\pm$ 0,415
Стеаринова 18:0	8,601 $\pm$ 0,422	8,170 $\pm$ 0,425	9,632 $\pm$ 0,494*	8,902 $\pm$ 0,475
Арахінова 20:0	0,200 $\pm$ 0,012	0,172 $\pm$ 0,130*	0,226 $\pm$ 0,013*	0,209 $\pm$ 0,012
Сума насичених	15,790 $\pm$ 1,230	14,994 $\pm$ 1,32	17,448 $\pm$ 1,430	16,215 $\pm$ 1,390

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

Крім того, зафіксовано вірогідне зростання вмісту лауринової (C12:0) та стеаринової (C18:0) жирних кислот ЗЛ у печінці та капринової (C10:0) у міокарді.

Таблиця 4.18 – Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів (насичені ЖК) міокарда щурів за умов попереднього введення донора сірководню до дії радіації (%), $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS І доба	Радіація І доба	NaHS+Рад І доба
Каприлова 8:0	0,078 $\pm$ 0,004	0,074 $\pm$ 0,006	0,089 $\pm$ 0,006*	0,084 $\pm$ 0,005
Капринова 10:0	0,190 $\pm$ 0,008	0,173 $\pm$ 0,008	0,228 $\pm$ 0,009*	0,209 $\pm$ 0,009*
Лауринова 12:0	0,300 $\pm$ 0,013	0,270 $\pm$ 0,014*	0,318 $\pm$ 0,015	0,306 $\pm$ 0,014
Міристинова 14:0	0,460 $\pm$ 0,021	0,409 $\pm$ 0,021*	0,529 $\pm$ 0,028*	0,476 $\pm$ 0,021•
Пентадеканова 15:0	0,290 $\pm$ 0,024	0,276 $\pm$ 0,021	0,286 $\pm$ 0,024	0,287 $\pm$ 0,025
Пальмітинова 16:0	9,140 $\pm$ 0,721	9,049 $\pm$ 0,789	9,230 $\pm$ 0,795	9,140 $\pm$ 0,753
Стеаринова 18:0	11,98 $\pm$ 0,921	11,980 $\pm$ 0,951	12,220 $\pm$ 0,987	11,980 $\pm$ 0,947
Арахідова 20:0	0,310 $\pm$ 0,014	0,279 $\pm$ 0,014	0,357 $\pm$ 0,015*	0,326 $\pm$ 0,014
Сума насичених	22,760 $\pm$ 1,810	22,51 $\pm$ 1,782	23,257 $\pm$ 1,970	22,815 $\pm$ 1,910

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

Встановлено також зміни композиції ПНЖК. Під впливом радіації найбільшою мірою зменшується щодо контролю вміст ейкозапантаєнової (C20:5) ω -3 ПНЖК ЗЛ – на 26 % ($p < 0,05$) і 12 % ($p < 0,05$) у печінці та міокарді, відповідно (рис. 4.3, табл. 4.19, 4.20).

Відмічено також достовірне зниження концентрації докозагексаєнової кислоти (C22:6) на 11 % ($p < 0,05$) у печінці та докозатриєнової кислоти (C22:3) на 12 % ($p < 0,05$) у міокарді, а також тенденцію до зниження вмісту інших ω -3 ПНЖК у гомогенатах обох досліджуваних органів. Таке зменшення їх концентрації може бути пов'язано із інтенсифікацією процесів пероксидного окиснення цих та інших поліненасичених жирних кислот за умов впливу іонізуючого випромінювання. З іншого боку, вміст ω -3 ПНЖК є одним з важливих чинників, що впливає на потужність компонентів

антиоксидантної системи та антиоксидантної відповіді, активність якої є важливим показником гомеостазу-гомеокінезу як в умовах норми, так і за дії екстремальних факторів різної природи, зокрема, іонізуючого випромінювання.

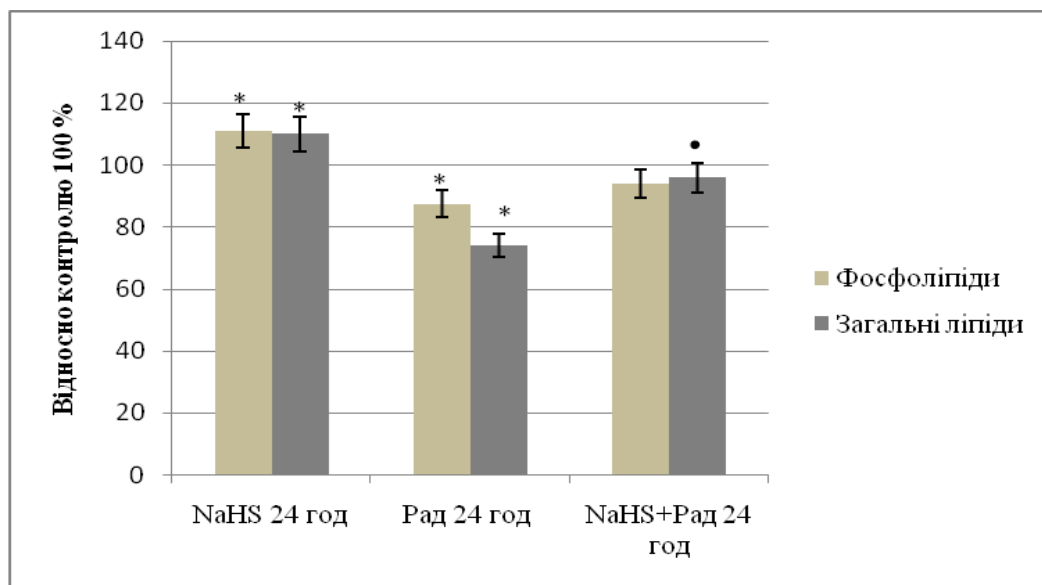


Рис. 4.3 – Зміни вмісту ейкозапентаєнної кислоти (C20:5) у складі фосфоліпідів та загальних ліпідів печінки за умов дії NaHS та його попереднього введення до дії радіації

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

• – достовірність змін ($p < 0,05$) щодо радіації

Разом з тим зафіксовано збільшення вмісту ω -6 ПНЖК у складі ЗЛ, найбільшою мірою ейкозатриєнної (C20:3), докозатетраєнної (C22:4) та ейкозадиєнної (C20:2) у печінці ($p < 0,05$).

У міокарді зафіксовано достовірне підвищення ейкозадиєнної (C20:2) ($p < 0,05$) жирної кислоти.

Загалом у наших дослідженнях була відмічена тканинна специфіка характеру змін композиції жирнокислотного спектру в складі загальних ліпідів міокарда, печінки та плазми крові за впливу іонізуючого опромінення.

Таблиця 4.19 – Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів (ненасичені ЖК) печінки щурів за умов попереднього введення донора сірководню до дії радіації (% , $M \pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 24 год	Радіація 24 год	NaHS+Рад 24 год
Пальмітоолеїнова 16:1	1,010 $\pm$ 0,080	1,010 $\pm$ 0,090	1,070 $\pm$ 0,090	1,030 $\pm$ 0,080
Олеїнова 18:1	31,300 $\pm$ 2,705	31,394 $\pm$ 3,001	30,300 $\pm$ 3,010	30,674 $\pm$ 3,115
Ейкозаєнова 20:1	0,163 $\pm$ 0,006	0,178 $\pm$ 0,008	0,170 $\pm$ 0,008	0,166 $\pm$ 0,007
Лінолева 18:2	16,350 $\pm$ 1,200	16,023 $\pm$ 1,170	16,84 $\pm$ 1,31	16,187 $\pm$ 1,260
Ейкозадієнова 20:2	0,306 $\pm$ 0,010	0,266 $\pm$ 0,014*	0,330 $\pm$ 0,013*	0,321 $\pm$ 0,016
Докозадієнова 22:2	1,200 $\pm$ 0,060	1,164 $\pm$ 0,063	1,240 $\pm$ 0,070	1,248 $\pm$ 0,074
Ліноленова 18:3	6,701 $\pm$ 0,315	7,170 $\pm$ 0,380	6,025 $\pm$ 0,353	6,433 $\pm$ 0,410
Ейкозатрієнова 20:3	2,405 $\pm$ 0,140	2,284 $\pm$ 0,190	2,860 $\pm$ 0,210*	2,742 $\pm$ 0,170*
Докозатрієнова 22:3	1,412 $\pm$ 0,035	1,567 $\pm$ 0,039*	1,023 $\pm$ 0,036*	1,384 $\pm$ 0,037
Арахідонова 20:4	6,090 $\pm$ 0,490	5,846 $\pm$ 0,530	6,310 $\pm$ 0,570	6,480 $\pm$ 0,530
Докозатетраєнова 22:4	2,850 $\pm$ 0,017	2,708 $\pm$ 0,0190	3,240 $\pm$ 0,021*	3,078 $\pm$ 0,020
Ейкозапентаєнова 20:5	1,750 $\pm$ 0,095	1,925 $\pm$ 0,101*	1,296 $\pm$ 0,105*	1,680 $\pm$ 0,125•
Докозапентаєнова 22:5	5,480 $\pm$ 0,425	5,918 $\pm$ 0,515	5,050 $\pm$ 0,415	5,425 $\pm$ 0,430
Докозагексаєнова 22:6	6,805 $\pm$ 0,315	7,145 $\pm$ 0,475	6,031 $\pm$ 0,375*	6,533 $\pm$ 0,420
Сума ненасичених	83,822 $\pm$ 6,103	84,598 $\pm$ 6,439	81,955 $\pm$ 6,257	83,052 $\pm$ 6,183
Сума мононенасичених	32,473 $\pm$ 2,100	32,582 $\pm$ 2,600	31,540 $\pm$ 2,400	31,870 $\pm$ 2,490
Сума поліненасичених	51,349 $\pm$ 4,360	52,016 $\pm$ 4,320	50,415 $\pm$ 4,340	51,182 $\pm$ 4,380
Індекс насиченості	0,190 $\pm$ 0,008	0,180 $\pm$ 0,080	0,210 $\pm$ 0,010*	0,200 $\pm$ 0,010
ω -3	20,736 $\pm$ 1,700	22,158 $\pm$ 2,010	19,425 $\pm$ 1,600	20,071 $\pm$ 1,700
ω -6	28,001 $\pm$ 2,100	27,127 $\pm$ 2,200	29,750 $\pm$ 2,300	28,479 $\pm$ 2,320
ω -3/ ω -6	0,740 $\pm$ 0,03	0,820 $\pm$ 0,04*	0,650 $\pm$ 0,03*	0,700 $\pm$ 0,03

Примітка: * – достовірність змін ($p < 0,05$) щодо контролю, • – достовірність змін ($p < 0,05$) щодо впливу радіації

Так, за дії іонізуючого випромінювання співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК у складі ЗЛ вірогідно зменшується в печінці на 12 % ($p < 0,05$), у міокарді – на 10 % ($p < 0,05$), що загалом несприятливо позначається на структурно-

метаболічних характеристиках клітинних та субклітинних мембран та пов'язаних з ними процесах та функціях систем різних рівнів організації.

За умов впливу радіації на фоні введення NaHS у печінці відмічено зниження вмісту насичених ЖК: каприлової (C8:0) на 15 % ($p<0,05$), лауринової (C12:0) – на 11 % ($p<0,05$), міристинової (C14:0) – на 10 % ($p<0,05$) стосовно дії іонізуючого опромінення, з яких лише концентрація каприлової (C8:0) кислоти залишається достовірно вищою щодо контролю. Рівень інших насичених ЖК ЗЛ знизився порівняно з впливом радіації, проте збереглася тенденція до підвищення їх вмісту щодо 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 10 % ($p<0,05$). Відмічено однотипний характер змін ейкозапентаєнової кислоти (C20:5) ω -3 ПНЖК ФЛ та ЗЛ в міокарді (рис. 4.4).

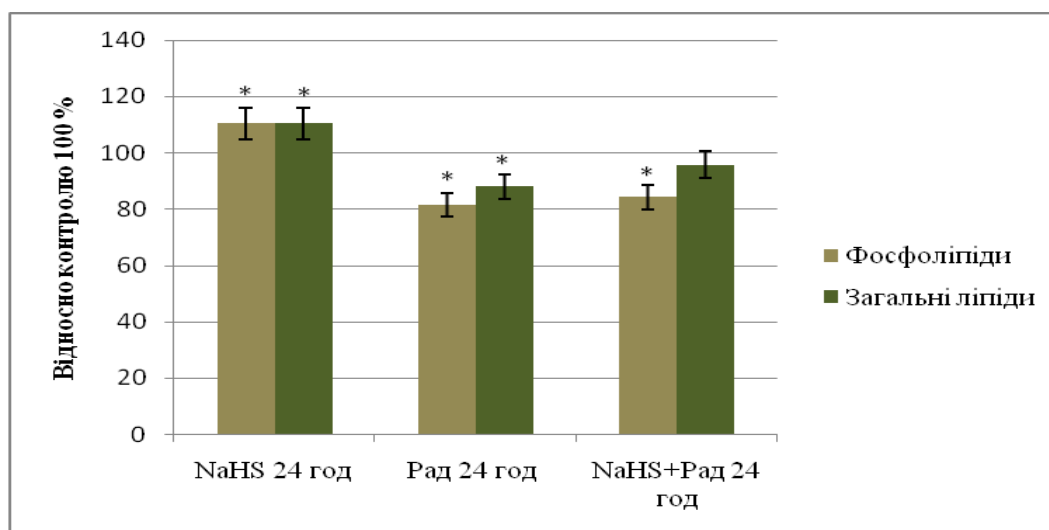


Рисунок 4.4 – Зміни вмісту ейкозапентаєнової кислоти (C20:5) у складі фосфоліпідів та загальних ліпідів міокарда за умов введення NaHS попередньо до дії радіації

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

Зафіксовано зростання вмісту ω -3 ПНЖК ЗЛ щодо впливу іонізуючого випромінювання: ейкозапентаєнової (C20:5) ЖК на 30 % ($p<0,05$) у печінці, а також докозатриєнової (C22:3) ЖК на 35 % ($p<0,05$) у міокарді та на 10 % ($p<0,05$) у печінці. Рівень ω -6 ПНЖК ЗЛ у досліджуваних середовищах знизився порівняно з групою тварин, що піддавалась дії радіації. Встановлено також зростання співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК щодо дії радіації з наближенням їх величин до рівня контролю в міокарді та печінці.

Таблиця 4.20 – Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів (ненасичені ЖК) міокарда щурів за умов попереднього введення донора сірководню до дії радіації (% , $M\pm m$, $n=6$)

Жирні кислоти, код	Контроль	NaHS 24 год	Радіація 24 год	NaHS+Рад 24 год
Пальмітоолеїнова 16:1	0,980 $\pm$ 0,07	0,980 $\pm$ 0,075	0,996 $\pm$ 0,086	0,980 $\pm$ 0,079
Олеїнова 18:1	43,200 $\pm$ 2,920	43,200 $\pm$ 3,050	43,114 $\pm$ 2,952	43,632 $\pm$ 3,911
Ейкозаєнова 20:1	0,180 $\pm$ 0,011	0,182 $\pm$ 0,012	0,184 $\pm$ 0,013	0,182 $\pm$ 0,013
Лінолева 18:2	7,990 $\pm$ 0,518	7,750 $\pm$ 0,580	8,437 $\pm$ 0,611	8,070 $\pm$ 0,615
Ейкозадієнова 20:2	0,290 $\pm$ 0,013	0,261 $\pm$ 0,014*	0,325 $\pm$ 0,016*	0,299 $\pm$ 0,015
Докозадієнова 22:2	0,790 $\pm$ 0,032	0,730 $\pm$ 0,033	0,656 $\pm$ 0,031*	0,743 $\pm$ 0,038
Ліноленова 18:3	4,350 $\pm$ 0,210	4,440 $\pm$ 0,280	4,176 $\pm$ 0,267	4,393 $\pm$ 0,269
Ейкозатриєнова 20:3	3,330 $\pm$ 0,171	3,200 $\pm$ 0,164	3,563 $\pm$ 0,180	3,360 $\pm$ 0,168
Докозатриєнова 22:3	0,960 $\pm$ 0,042	1,040 $\pm$ 0,05	0,845 $\pm$ 0,039*	0,930 $\pm$ 0,042•
Арахідонова 20:4	4,340 $\pm$ 0,230	4,210 $\pm$ 0,248	4,514 $\pm$ 0,301	4,340 $\pm$ 0,240
Докозатетраєнова 22:4	2,060 $\pm$ 0,120	1,957 $\pm$ 0,125	2,101 $\pm$ 0,139	2,060 $\pm$ 0,140
Ейкозапентаєнова 20:5	1,170 $\pm$ 0,042	1,290 $\pm$ 0,048*	1,030 $\pm$ 0,045*	1,120 $\pm$ 0,041
Докозапентаєнова 22:5	3,290 $\pm$ 0,212	3,389 $\pm$ 0,254	3,060 $\pm$ 0,210	3,158 $\pm$ 0,248
Докозагексаєнова 22:6	4,230 $\pm$ 0,280	4,234 $\pm$ 0,289	4,103 $\pm$ 0,310	4,235 $\pm$ 0,290
Сума ненасичених	77,240 $\pm$ 5,850	76,853 $\pm$ 5,920	76,631 $\pm$ 5,650	77,502 $\pm$ 6,15
Сума мононенасичених	44,400 $\pm$ 3,260	44,362 $\pm$ 3,210	43,821 $\pm$ 3,100	44,794 $\pm$ 3,520
Сума поліненасичених	32,800 $\pm$ 2,650	32,491 $\pm$ 2,420	32,810 $\pm$ 2,690	32,708 $\pm$ 2,750
Індекс насиченості	0,290 $\pm$ 0,010	0,290 $\pm$ 0,010	0,300 $\pm$ 0,150	0,290 $\pm$ 0,180
ω -3	14,000 $\pm$ 1,300	14,383 $\pm$ 1,380	13,214 $\pm$ 1,430	13,836 $\pm$ 1,490

Продовження таблиці 4.20

ω -6	18,000 $\pm$ 1,410	17,378 $\pm$ 1,380	18,940 $\pm$ 1,454	18,129 $\pm$ 1,428
ω -3/ ω -6	0,780 $\pm$ 0,03	0,830 $\pm$ 0,04	0,700 $\pm$ 0,03*	0,760 $\pm$ 0,03

Примітка: * – достовірність змін ($p < 0,05$) щодо контролю, • – достовірність змін ($p < 0,05$) щодо впливу радіації

Більш виражені зміни вмісту жирнокислотного складу загальних ліпідів у печінці, порівняно з міокардом, можуть свідчити про більшу чутливість цього органу до дії іонізуючого випромінювання на ранніх етапах пострадіаційного періоду. За умов іонізуючого опромінення співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК ЗЛ достовірно зменшилося на 12 % ($p < 0,05$) у печінці та на 10 % ($p < 0,05$) у міокарді (рис. 4.5). Виявлено також збільшення співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК ЗЛ щодо дії радіації з наближенням їх величини до рівня контролю в міокарді та печінці. Встановлено однакової спрямованості зміни співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК у складі ФЛ та ЗЛ у цих біосередовищах (рис. 4.6, 4.7). Виявлені зміни, відповідно, можуть несприятливо позначатися на реалізації обмінних реакцій клітинних і субклітинних структур, а відтак, і клітинних функціях.

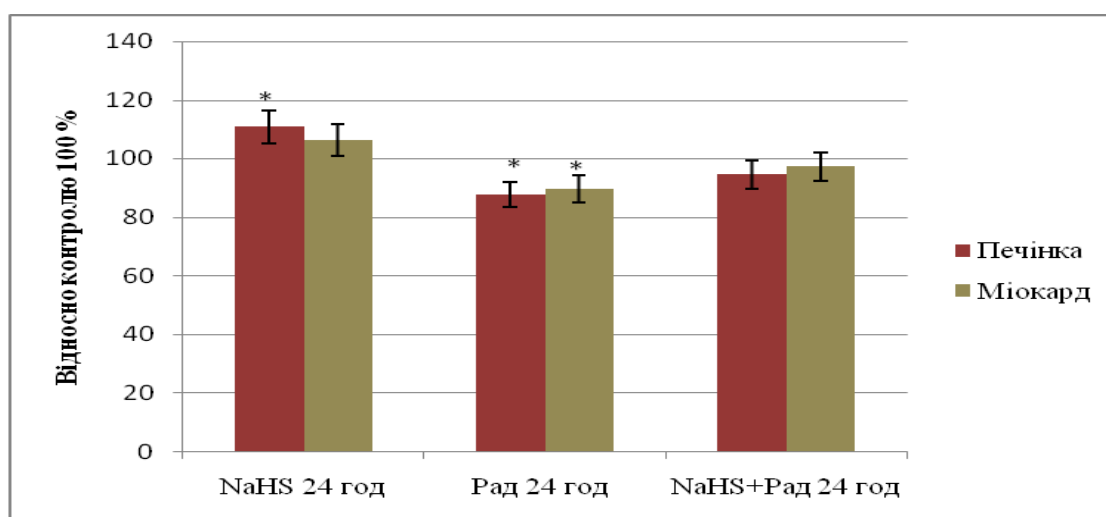


Рисунок 4.5 – Зміни співвідношення ω -3/ ω -6 поліненасичених жирних кислот загальних ліпідів печінки та міокарда за умов дії NaHS та його попереднього введення до дії радіації

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

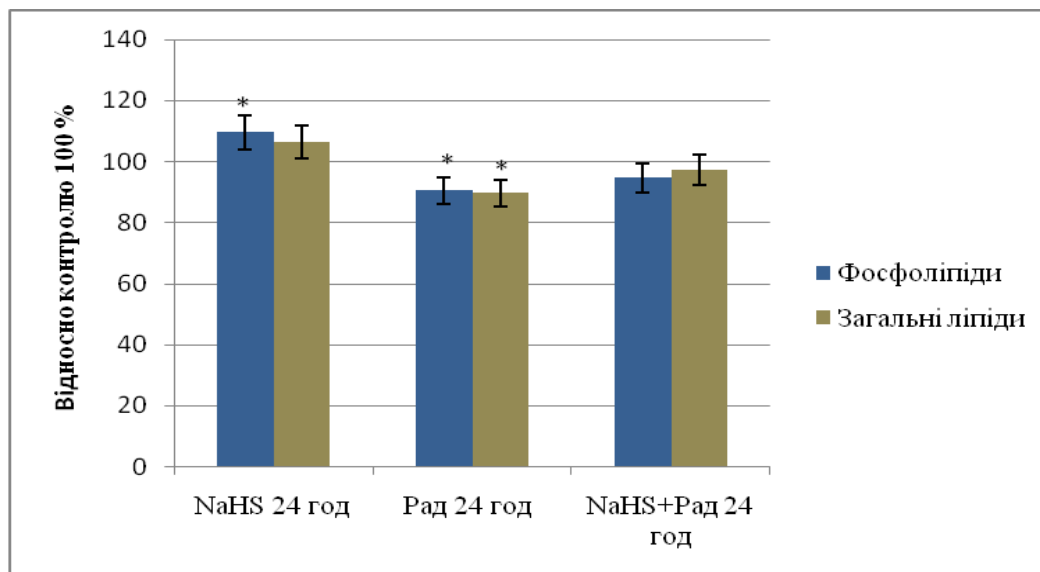


Рисунок 4.6 – Зміни співвідношення ω -3/ ω -6 поліненасичених жирних кислот фосфоліпідів та загальних ліпідів у міокарді за умов дії NaHS та його попереднього введення до дії радіації

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

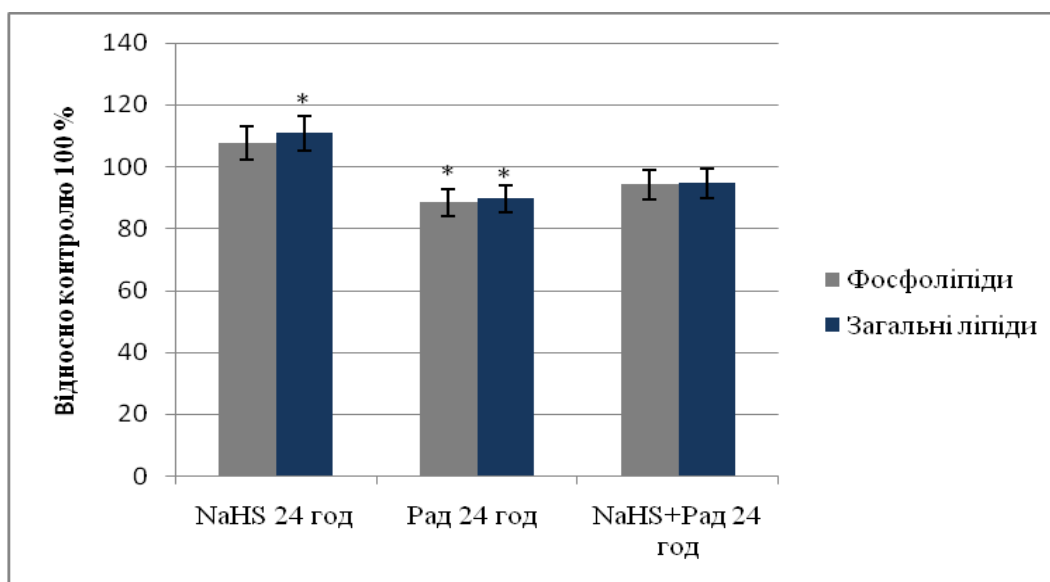


Рисунок 4.7 – Зміни співвідношення ω -3/ ω -6 поліненасичених жирних кислот фосфоліпідів та загальних ліпідів у печінці за умов дії NaHS та його попереднього введення до дії радіації

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

Таким чином, введення донора гідроген сульфід у дозу 7,4 мг/кг призводить до модифікації жирнокислотного складу загальних ліпідів тканин печінки та міокарда, що полягає у зниженні рівня окремих насичених жирних кислот, зростанні вмісту ω -3 ПНЖК, збільшенні співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК. Це є позитивною прогностичною ознакою змін композиції жирнокислотного складу і характеризує оптимізацію обмінних процесів. Ці зміни виявляються через 30 хв після введення NaHS та утримуються впродовж доби. Після опромінення дозою 2 Гр (через 24 год) виявлено зниження ω -3 ПНЖК, зменшення співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК, підвищення рівня насичених жирних кислот. Зміни жирнокислотного складу більш виражені у тканині печінки порівняно з міокардом. Попереднє до дії радіації введення NaHS зумовлює відновлення вмісту більшості поліненасичених та насичених жирних кислот, показника співвідношення ω -3/ ω -6 до значень контролю. Такий характер змін жирнокислотного складу загальних ліпідів, зумовлений попереднім до впливу радіації введенням донора H_2S , може оптимізувати ряд функціонально-метаболических процесів, що забезпечує радіопротекторну здатність гідроген сульфід за дії малих доз радіації.

Отже, узагальнюючи дані результатів досліджень, можна зробити наступні висновки:

1. Введення донора сірководню супроводжувалося зменшенням рівня насичених жирних кислот фосфоліпідів, яке найбільш виражене було у печінці та плазмі крові. У міокарді, печінці та плазмі крові відмічено зростання вмісту ω -3 ПНЖК та тенденцію до зниження загального рівня ω -6 ПНЖК. Відповідно, у всіх середовищах встановлено достовірне збільшення співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК. Через 24 год після введення донора H_2S співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК залишається достовірно вищим щодо контролю у всіх досліджуваних біосередовищах.

2. Дія іонізуючого випромінювання через 24 год призводить до суттєвого збільшення рівня насичених жирних кислот фосфоліпідів у досліджуваних органах та плазмі крові та зменшення рівня ω -3 ПНЖК, що може вказувати на те, що ПНЖК першими зазнають дії іонізуючого впливу та залучаються в процеси перекисного окислення ліпідів і пов'язані з цим вільнорадикальні реакції. Натомість, зафіксовано зростання ω -6 ПНЖК у міокарді, печінці та плазмі крові. Відповідно, співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК вірогідно зменшилося у зазначених середовищах.

3. Попереднє до дії радіації введення донора сірководню зумовлює зниження рівня насичених жирних кислот щодо впливу іонізуючого випромінювання та зростання співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК щодо дії радіації, проте ці показники не досягають значень контролю. Такі зміни свідчать про вплив гідроген сульфід на структурованість, плинність біомембран, а також на мембранозалежні процеси, що можна розцінювати як модулювальний ефект H_2S за дії радіації.

4. Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів мали аналогічну спрямованість зі змінами композиції жирнокислотного складу фосфоліпідів у міокарді, печінці та плазмі крові.

Результати власних досліджень розділу викладені у статтях [245, 335, 337, 338], апробовані на наукових форумах [227, 228, 244, 305, 336], додатково відображені в інформаційному листі [339].

РОЗДІЛ 5

ОЦІНКА ПОПЕРЕДНЬОГО ДО ДІЇ РАДІАЦІЇ ВПЛИВУ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НА АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ В МІОКАРДІ ТА ПЕЧІНЦІ

5.1 Зміни активності ензимів енергетичного обміну в міокарді та печінці експериментальних тварин за дії NaHS

У наукових роботах останніх років виявлено, що порушення синтезу ендogenous сірководню за дії чинників різноманітної природи можуть проявлятися змінами загального метаболізму та енергетичного обміну [276, 277]. Раніше було відзначено, що сірководень впливає на активність та експресію ряду ензимів у печінці, серці тощо [201-207].

У наших дослідженнях встановлено, що через 30 хв з часу введення донора H_2S у гомогенаті печінки підвищилась активність СДГ на 33 % ($p<0,05$) і ЦХО – на 17 % ($p<0,05$) щодо контролю (рис. 5.1)

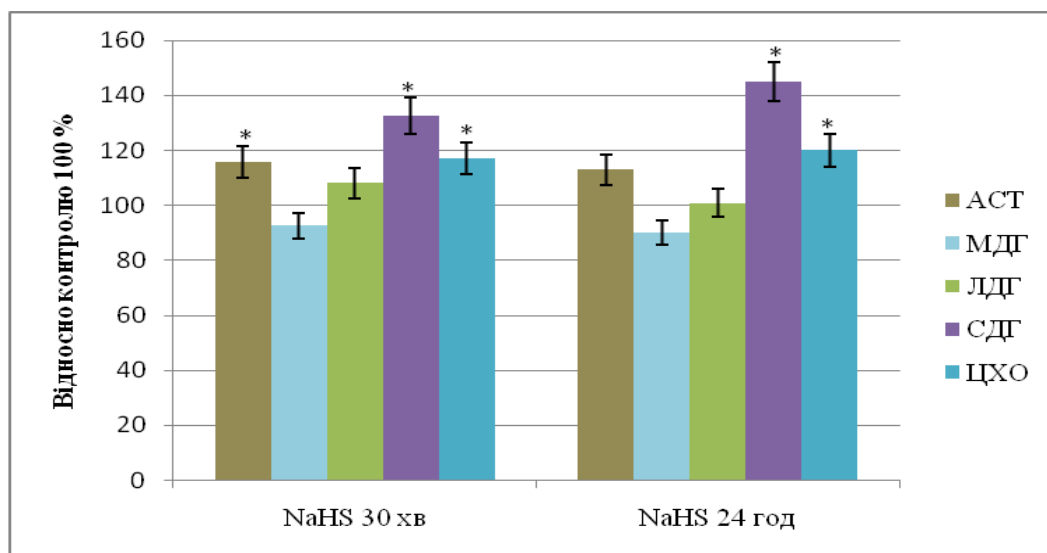


Рисунок 5.1 – Зміни активності ензимів енергетичного обміну в печінці щурів у різні терміни після введення донора сірководню

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

Через 24 год після застосування NaHS активність цих ензимів у печінці зросла ще більшою мірою – на 45 % ($p<0,05$) і 20 % ($p<0,05$), відповідно. За вказаних умов практично не змінилась активність ЛДГ, відмічена тенденція до зниження МДГ. Активність АСТ незначно підвищилась щодо величин контролю на 16 % ($p<0,05$) і 13 % ($p<0,05$), відповідно, через 30 хв і 24 год після введення донора гідроген сульфід (табл. 5.1).

Таблиця 5.1 – Зміни активності ензимів енергетичного обміну у міокарді і печінці за умов застосування донора гідроген сульфід (мкМ/хв×мг протеїну)

Ензими	Орган	Контроль	NaHS 30 хв	NaHS 24 год
АСТ	Міокард	0,0097±0,001	0,016±0,001*	0,019±0,001*
	Печінка	0,077±0,005	0,089±0,006*	0,087±0,006
МДГ	Міокард	0,047±0,002	0,062±0,003*	0,054±0,003*
	Печінка	0,313±0,024	0,290±0,021	0,282±0,022
ЛДГ	Міокард	0,027±0,001	0,027±0,001	0,019±0,001
	Печінка	0,240±0,019	0,260±0,021	0,242±0,023
СДГ	Міокард	2,30±0,13	2,68±0,21*	2,13±0,19
	Печінка	24,04±1,87	31,9±2,67*	34,83±2,94*
ЦХО	Міокард	17,05±1,28	19,1±1,32	15,52±1,12
	Печінка	16,83±1,27	19,7±1,48*	20,21±1,73*

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

У гомогенаті міокарда через 30 хв після застосування NaHS активність СДГ збільшилась на 17 % ($p<0,05$), а ЦХО – на 12 % ($p<0,05$) стосовно контролю (рис. 5.2, див. табл. 5.1). Через 24 год дії донора H_2S відмічено тенденцію до зниження активності СДГ, ЦХО, і ЛДГ щодо

контролю. Активність МДГ перевищувала значення цього ензиму в контролі на 34 % ($p<0,05$) через 30 хв дії NaHS. Встановлено значне зростання активності АСТ (на 65 %, $p<0,05$) через 30 хв та ще більше (майже в 2 рази, $p<0,05$) підвищення активності ензиму через 24 год після введення донора H_2S .

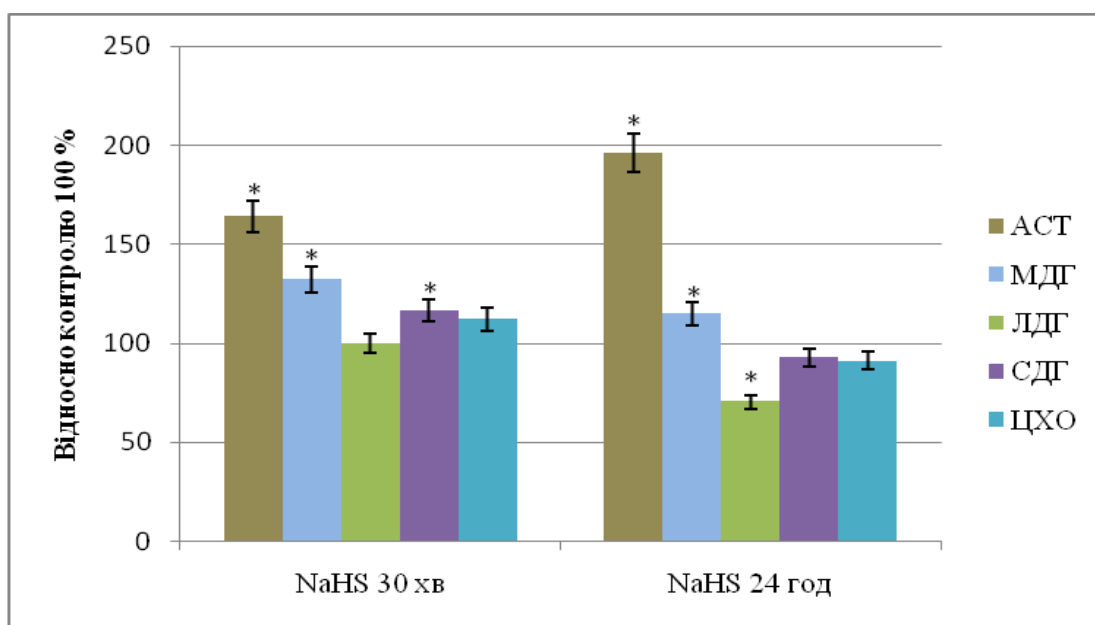


Рисунок 5.2 – Зміни активності ензимів енергетичного обміну в міокарді щурів у різні терміни після введення донора сірководню

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

У цей термін з часу введення NaHS у міокарді встановлено сильний прямий кореляційний зв'язок між активністю АСТ та вмістом ліноленової кислоти (C18:3) фосфоліпідів ($r=0,86$; $p=0,01$) (рис. 5.3), такий самий характер кореляції між цими показниками виявлений і в контрольній групі тварин ($r=0,98$; $p=0,001$). Натомість відмічено сильну зворотню кореляційну залежність між активністю ЛДГ та вмістом ліноленової кислоти (C18:3) фосфоліпідів ($r=-0,85$; $p=0,01$), а також між активністю ЦХО і вмістом цієї ж ПНЖК ($r=-0,75$; $p=0,04$). У попередній термін введення NaHS (30 хв) виявлено сильну пряму кореляційну залежність між рівнем ліноленової кислоти (C18:3) фосфоліпідів і активністю МДГ ($r=0,79$; $p=0,03$).

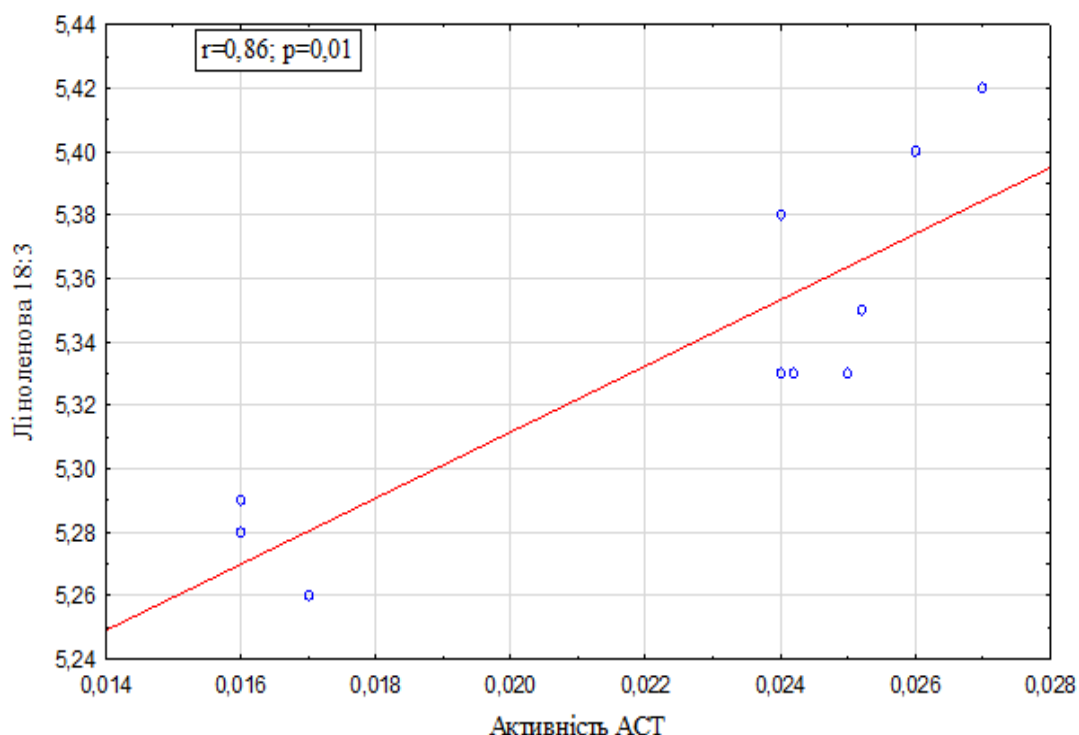


Рисунок 5.3 – Взаємозв'язок між показниками активності АСТ та жирнокислотним складом фосфоліпідів (ліноленова C18:3) міокарда щурів через 24 год після введення NaHS

Таким чином, ефект введення донора гідроген сульфідіду має тканинну специфіку метаболічних шляхів забезпечення процесів енергоутворення для адекватного перебігу адаптивних процесів. У печінці застосування донора H_2S призводить до активації ФАД-залежного енергоутворення, про що свідчить підвищення активності СДГ спряжене з менш вираженим збільшенням активності ЦХО. У тканині міокарда під впливом донора гідроген сульфідіду активується малат-аспартатний човниковий механізм, що забезпечує підтримання електрохімічного градієнту протонів, а, отже підвищення потужності дихального ланцюга, спряженого з аеробним енергосинтезом.

5.2 Зміни активності ензимів енергетичного обміну в міокарді та печінці експериментальних тварин за впливу NaHS попередньо до дії радіації

Відомо, що малі дози радіації є стресовим чинником, який стимулює розвиток адаптаційних перебудов в організмі. Провідними механізмами, в даному випадку, є активування стрес-реалізуючих систем, що призводить до підвищення рівня окисних процесів, мобілізації енергетичного статусу й стимулювання фізіологічних систем організму [293]. Поряд з вказаним, вплив випромінювання зумовлює порушення у роботі ензимного апарату клітин, що може проявлятися у зростанні або зниженні активності ензимів, розбалансуванні їх комплексної дії [294, 295].

Встановлено, що 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. 5.4, табл. 5.2).

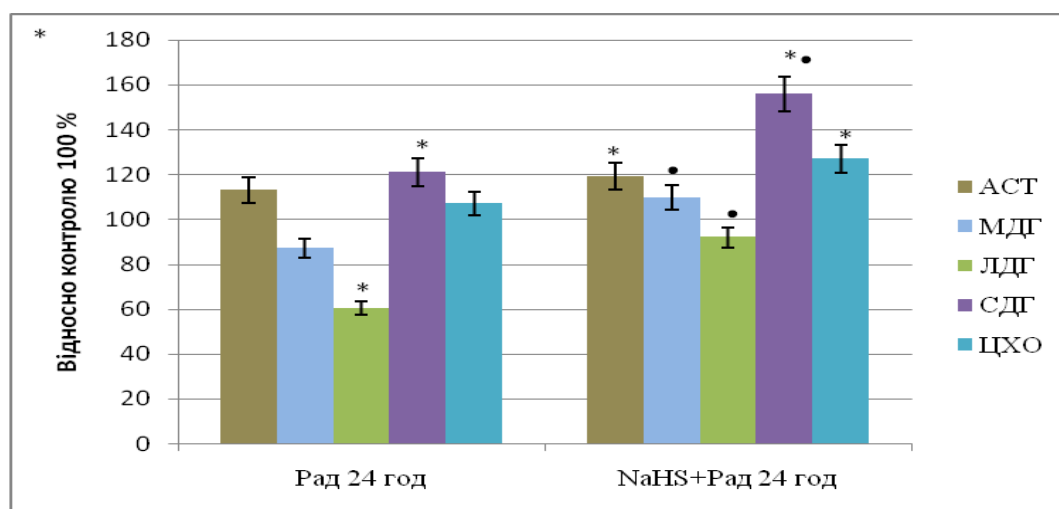


Рисунок 5.4 – Зміни активності ензимів енергетичного обміну в печінці щурів за введення донора сірководню попередньо до дії радіації

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

Відомо, що зміни інтенсивності мембранозалежних процесів енергозабезпечення можуть бути пов'язані з надмірною активацією реакцій ПОЛ, що спричиняє порушення структурно-функціонального стану клітинних та субклітинних мембран [293-295].

Відмічено також зменшення активності МДГ на 14 % ($p < 0,05$) і незначне збільшення активності АСТ (на 13 %, $p < 0,05$) стосовно контролю у печінці за впливу радіації (табл. 5.2). Збільшення активності СДГ і ЦХО одночасно з істотним зниженням активності ЛДГ може свідчити про зменшення залучення до окиснення в цикл Кребса ацетил-КоА, який утворюється з пірувату шляхом окиснювального декарбоксилювання, на тлі зростання включення метаболітів окиснення ЖК через бурштинову кислоту.

Таблиця 5.2 – Зміни активності ензимів енергетичного обміну в міокарді і печінці за умов попереднього застосування донора сірководню до дії радіації (мкМ/хв×мг протеїну)

Ензими	Орган	Контроль	NaHS 24 год	Рад 24 год	NaHS + Рад 24 год
АСТ	Міокард	0,0097±0,0002	0,019±0,001*	0,014±0,001*	0,020±0,002*•
	Печінка	0,077±0,005	0,087±0,006	0,087±0,006	0,092±0,007*
МДГ	Міокард	0,047±0,0023	0,054±0,003*	0,048±0,003	0,060±0,004*
	Печінка	0,313±0,024	0,282±0,022	0,273±0,023	0,343±0,027•
ЛДГ	Міокард	0,027±0,0013	0,019±0,001	0,028±0,002	0,032±0,002*
	Печінка	0,240±0,019	0,242±0,023	0,145±0,011*	0,221±0,019•
СДГ	Міокард	2,30±0,13	2,13±0,19	1,96±0,12*	3,04±0,26*•
	Печінка	24,04±1,87	34,83±2,94*	29,09±1,98*	37,50±3,16*•
ЦХО	Міокард	17,05±1,28	15,52±1,12	17,77±1,47	18,06±1,54
	Печінка	16,83±1,27	20,21±1,73*	18,01±1,57	21,36±1,89*•

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

За умов попереднього до дії радіації введення донора H_2S у гомогенаті печінки встановлено вірогідне, аналогічно як і за дії лише NaHS , непропорційне зростання активності СДГ і ЦХО як щодо контролю (на 56 % і 27 %, відповідно, $p < 0,05$), так і щодо впливу радіації (на 29 % і на 17 %, відповідно, $p < 0,05$) (див. рис. 5.4). Встановлено відновлення активності ЛДГ, що перевищує його значення при дії радіації в 1,5 раза ($p < 0,05$). Відмічено також активування МДГ на 26 % ($p < 0,05$) щодо ефекту впливу іонізуючого випромінювання. Рівень активності АСТ перевищував величини контролю на 20 % ($p < 0,05$).

У печінці, для якої, як відомо, характерні практично всі типи метаболічних перетворень, після введення донора H_2S відмічена активація СДГ – ензиму, що монополізує дихальний ланцюг, а також термінального ферменту дихального ланцюга ЦХО, що в комплексі свідчить про підвищення ефективності перебігу адаптивних до дії радіації процесів. Одним із джерел енергозабезпечення у цьому випадку можуть бути жирні кислоти при включенні продуктів їх окиснення у цикл Кребса на рівні СДГ, підвищення активності якої, одночасно з активацією ЦХО, встановлено також за умов дії радіації на тлі попереднього застосування NaHS .

Такий характер змін термінальних ланок клітинного метаболізму печінки відповідає змінам жирнокислотного складу, а, відповідно, структурно-функціональній організації клітинних мембран. Ці зміни, подані у вище описаних результатах наших дослідженнях, полягають у зростанні вмісту ω -3 ПНЖК, збільшенні співвідношення ω -3/ ω -6 у складі фосфоліпідів печінки за аналогічних умов. Нами встановлено сильний прямий кореляційний зв'язок між активністю СДГ та вмістом ω -3 ліноленової (C18:3) ПНЖК фосфоліпідів у печінці ($r=0,79$; $p=0,03$) (рис. 5.5).

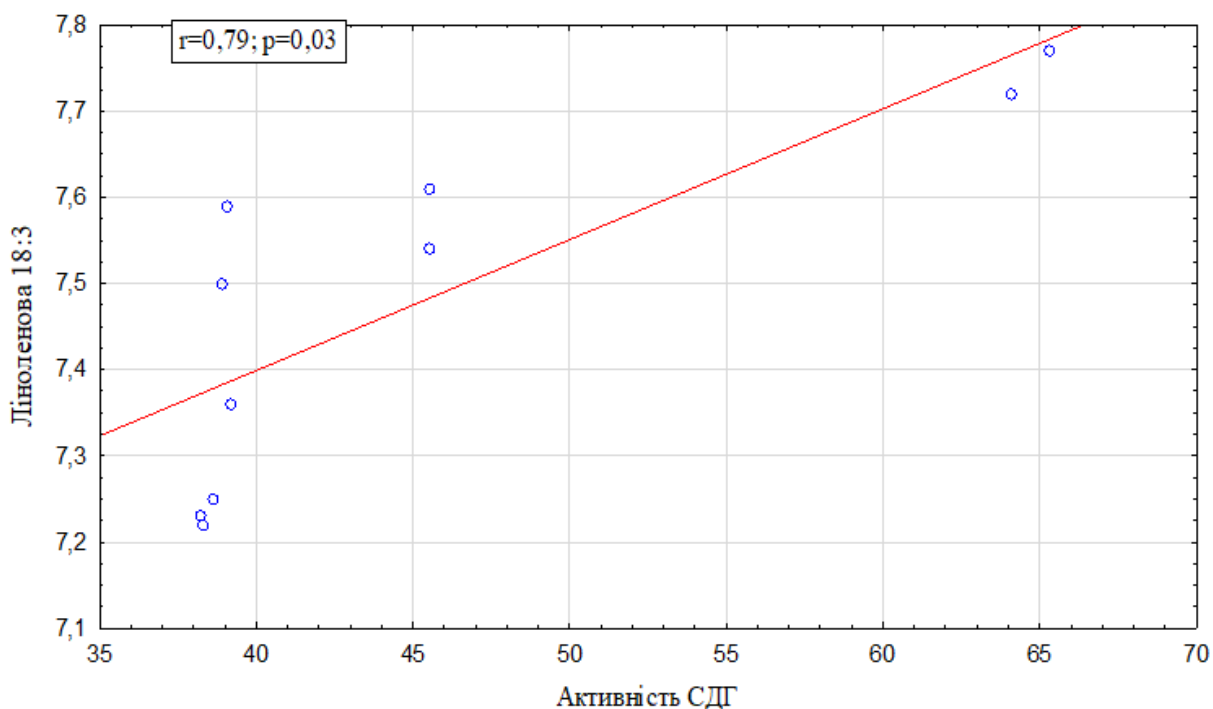


Рисунок 5.5 – Взаємозв'язок між активністю СДГ та вмістом ліноленової кислоти (C18:3) фосфоліпідів у печінці щурів за введення NaHS попередньо до дії радіації

Це забезпечує високу динамічність мембранозалежних ефектів, а отже покращення мікрооточення мультиферментних комплексів і ефективності їх дії за умов формування компенсаторно-приспосувальних процесів до дії іонізуючого випромінювання на фоні активування H_2S -ергічних регуляторних механізмів.

Встановлено також тісний зворотній кореляційний зв'язок між активністю АСТ та вмістом ліноленової кислоти (C18:3) фосфоліпідів у печінці щурів за введення NaHS попередньо до дії радіації ($r=-0,78; p=0,04$) (рис. 5.6)

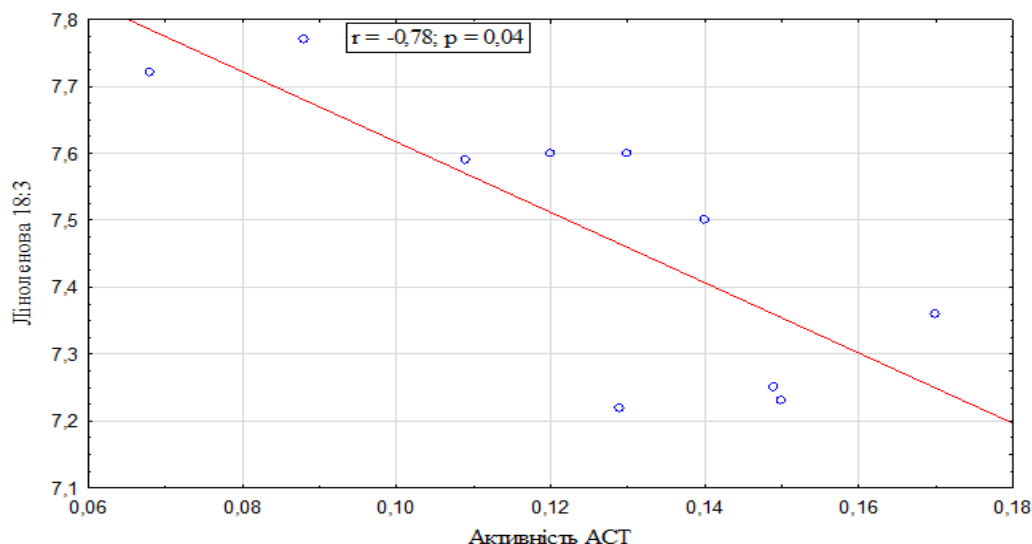


Рисунок 5.6 – Взаємозв'язок між активністю СДГ та вмістом ліноленої кислоти (С18:3) фосфоліпідів у печінці щурів за введення NaHS попередньо до дії радіації

У гомогенаті серця за впливу радіації, порівняно з контролем, встановлено зниження на 15 % ($p < 0,05$) активності СДГ, активність ЦХО, МДГ і ЛДГ практично не змінюється (рис. 5.7, див. табл. 5.2).

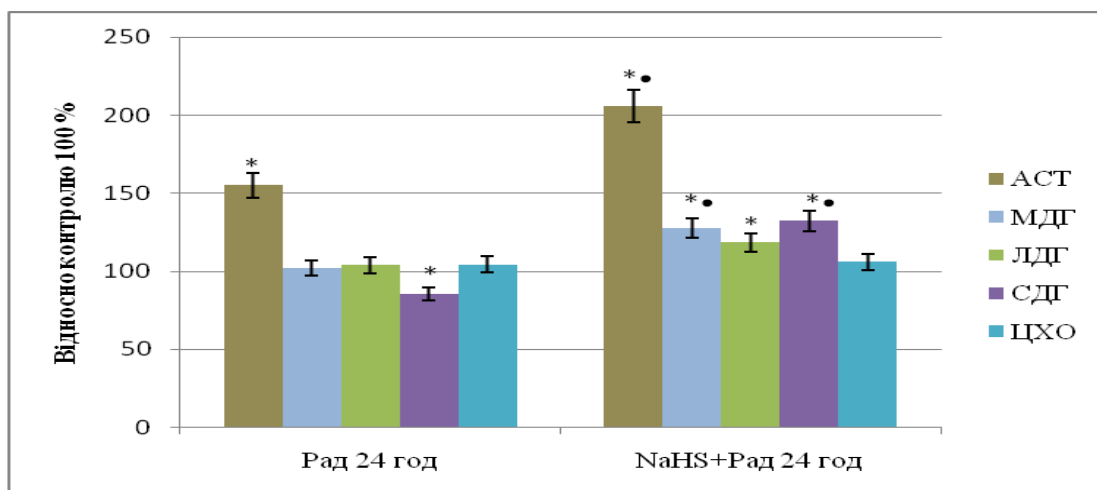


Рисунок 5.7 – Зміни активності ензимів енергетичного обміну в міокарді щурів за введення донора сірководню попередньо до дії радіації
Примітка: * – достовірність змін ($p < 0,05$) щодо контролю, • – достовірність змін ($p < 0,05$) щодо радіації

За цих умов зростає на 47 % ($p < 0,05$) активність АСТ. Виявлено, що зміни активності ензимів корелюють зі змінами вмісту ЖК ФЛ. Встановлено сильний зворотній кореляційний зв'язок між вмістом ліноленової кислоти (C18:3) фосфоліпідів і активністю ЛДГ ($r = -0,80$; $p = 0,03$) (рис. 5.8), між вмістом цієї ПНЖК і активністю МДГ ($r = -0,79$; $p = 0,03$), а також з активністю АСТ ($r = -0,77$; $p = 0,04$) і активністю ЦХО ($r = -0,68$; $p = 0,10$). На противагу виявлено прямий сильний кореляційний зв'язок між вмістом олеїнової кислоти (C18:1) фосфоліпідів і активністю ЛДГ ($r = 0,86$; $p = 0,01$), з активністю МДГ ($r = 0,93$; $p = 0,001$), з активністю АСТ ($r = 0,95$; $p = 0,001$) і активністю ЦХО ($r = 0,95$; $p = 0,001$).

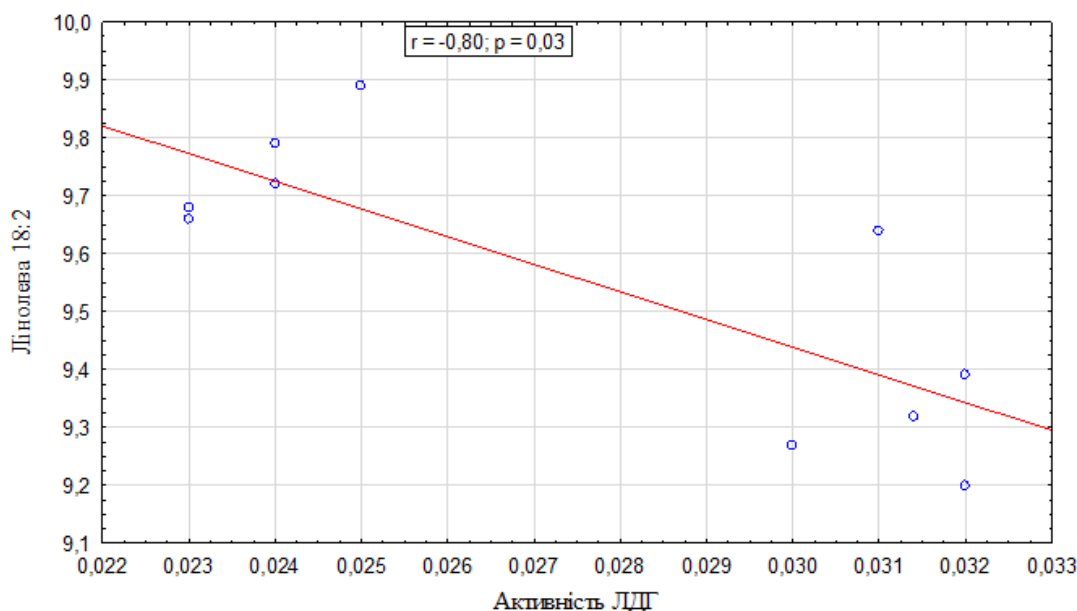


Рисунок 5.8 – Взаємозв'язок між показниками ензимів серця (активність ЛДГ) та жирнокислотним складом фосфоліпідів (лінолева C18:2) міокарда щурів через 24 год після дії радіації

Вплив іонізуючого випромінювання на фоні введення NaHS у серцевому м'язі призводить до підвищення на 32 % ($p < 0,05$) активності СДГ щодо контролю і на 55 % ($p < 0,05$) стосовно дії радіації. За вказаних умов проявляється тенденція до підвищення активності ЦХО, і збільшення активності ЛДГ на 15 % ($p < 0,05$) щодо контролю. 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 (в 2 рази, $p<0,05$) стосовно контролю і на 40 % ($p<0,05$) щодо впливу радіації. Виявлено, що активності МДГ і АСТ корелюють між собою та з вмістом ліноленової кислоти (C18:3) фосфоліпідів. Встановлено, що високі значення ліноленової кислоти (C18:3) спостерігаються у двох випадках: при одночасному поєднанні високих значень активності МДГ ($r=0,96$; $p=0,001$), що поєднується із невисокими та середніми значеннями активності АСТ; а також при одночасному поєднанні всіх значень активності АСТ ($r=0,81$; $p=0,003$), що поєднується із середніми значеннями активності МДГ (рис.5.9).

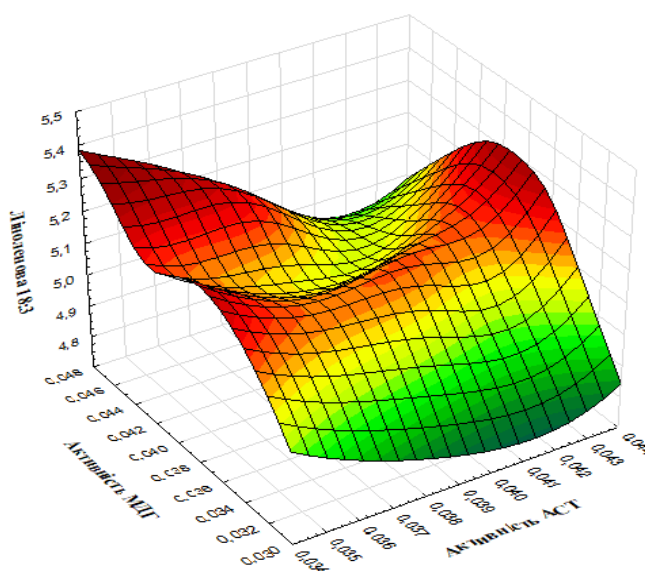


Рисунок 5.9 – Взаємозв'язок між показниками активності ензимів (МДГ та АСТ) і жирнокислотним складом фосфоліпідів (ліноленова C18:3) міокарда щурів за дії NaHS попередньо до дії радіації

Таким чином, динаміка змін активності досліджуваних ензимів у печінці та міокарді свідчить про особливості включення метаболічних шляхів енергозабезпечення специфічних функцій цих тканин за умов активації H_2S -залежних паракринних механізмів та дії радіації на цьому фоні. Відомо, що

тканини печінки і міокарда відрізняються ступенем радіостійкості, особливостями метаболізму, специфікою утворення і розпаду H_2S .

У міокарді, органі з переважаючим аеробним метаболізмом, у нормі до енергосинтезу залучаються, крім глюкози (30 %), інші субстрати окиснення, зокрема вільні жирні кислоти (34 %) та лактат (28 %), співвідношення яких за умов дії екстремальних чинників змінюється. За впливу донора гідроген сульфід у міокарді відмічено значне підвищення активності АСТ, мобілізація якої підтримується і за дії радіації після введення $NaHS$. Активація трансаміназного шляху – швидкого варіанту циклу Кребса, одночасно із підвищенням рівня активності МДГ забезпечує підтримання високого рівня співвідношення НАДН/НАДФН в клітинних компартментах, необхідного, зокрема, для забезпечення електрохімічного градієнту протонів дихального ланцюга [284, 285].

Дані про оптимізацію під впливом паракринних H_2S -залежних сигнальних процесів термінальних ланок клітинного метаболізму серця, що інтегрується у вищі рівні функціонування фізіологічних систем, узгоджуються з раніше отриманими нами результатами аналізу ВСР, що свідчать про покращення перебігу регуляторних адаптаційних процесів під впливом гідроген сульфід за дії іонізуючого випромінювання. Зокрема, нами встановлено, що ефект донора H_2S полягає в активації різних ланок регуляторних систем з переважаючою мобілізацією парасимпатичної нервової системи та помірною активацією ерготропних процесів. Попереднє до дії радіації введення $NaHS$ зменшує напруження регуляторних процесів, індукованих іонізуючим випромінюванням та збільшує потужність відновних процесів.

Отже, виявлені нами результати досліджень дозволяють зробити наступні висновки:

1. Введення донора гідроген сульфід у печінці зумовило зростання активності ензимів СДГ та ЦХО більшого ступеня вираженості підвищення їх активності на другу добу дослідження. Зміни активності інших ензимів

мали різноспрямований характер – тенденція до зниження активності МДГ та незначне зростання активності АСТ. Зростання активності СДГ та ЦХО може вказувати на активацію ФАД-залежного шляху транспорту електронів у дихальному ланцюгу та підтримання вищого рівня синтезу енергії за умов введення донора сірководню.

2. Через 30 хв після введення NaHS у гомогенаті міокарда встановлено помірне зростання активності досліджуваних ензимів, а також виявлено істотне підвищення активності АСТ та ще більше її зростання через 24 год після дії H_2S . Також достовірно збільшилася активність МДГ через 30 хв після введення NaHS. Спряженість змін активності АСТ та МДГ може бути пов'язана з активацією малат/аспартатного механізму.

3. Вплив радіації через 24 год у гомогенаті печінки призвів до істотного зниження активності ЛДГ щодо показників контролю, що може вказувати на зменшення залучення до окиснення в цикл Кребса ацетил-КоА, який утворюється з пірувату шляхом окисного декарбокслювання. У печінці встановлено також зменшення активності МДГ та помірне зростання активності АСТ. У гомогенаті міокарда під впливом іонізуючого випромінювання відмічено зростання активності АСТ, а також зниження активності СДГ відносно контролю.

4. Попереднє до дії радіації застосування донора сірководню у гомогенаті печінки призводить до зростання активності СДГ та ЦХО, тобто зміни мають аналогічну спрямованість як і за самостійного впливу донора сірководню.

5. У міокарді за впливу іонізуючого випромінювання на фоні введення донора гідроген сульфідів істотно зросла активність АСТ як щодо показників контролю, так і відносно впливу радіації. Відмічено також підвищення активності МДГ, що в комплексі зі збільшенням активності АСТ може забезпечувати підтримання оптимального співвідношення НАДН/НАДФН, що сприяє високій ефективності роботи дихального ланцюга, спряженого з аеробним енергосинтезом.

6. Встановлено особливості підвищення ефективності енергозабезпечення під впливом донора сірководню та його попереднього до дії радіації застосування у печінці та міокарді.

Результати власних досліджень розділу викладені у статті [275], апробовані на науково-практичних конференціях [256, 336].

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Останнім часом з'являється все більше наукових даних про фізіологічні ефекти молекули родини газових трансмітерів – сірководню. Результати досліджень вітчизняних та закордонних вчених свідчать про участь гідроген сульфїду у багатьох фізіологічних та численних патофізіологічних процесах [1-6, 11-14]. Головними ефектами гідроген сульфїду в організмі є нейромодуляція, цитопротекція, кардіопротекція та регуляція судинного тону́су, вплив на анги́огенез, протизапальна дія, участь у енергетичних процесах тощо [64-70].

Відомо, що вплив на роботу серця та регуляцію судинного тону́су H_2S проявляє шляхом взаємодії з іншими сигнальними медіаторами та індукторами, найбільшою мірою з оксидом азоту. Науковими дослідженнями встановлено, що гідроген сульфїд виявляє протекторні властивості за умов ішемії-реперфузії та оксидативного стресу [89-100]. Важливим питанням залишається з'ясування впливу гідроген сульфїду на мітохондріальні функції, від яких залежить енергозабезпечення скоротливої активності міокарда. Дискутабельним також є питання дозозалежного впливу H_2S на судинний тону́с. Аналогічно впливу інших сигнальних молекул, гідроген сульфїд у фізіологічних концентраціях здатний розслабляти гладкі м'язи судин та регулювати рівень артеріального тиску. Один із механізмів дії сірководню на серцево-судинну систему полягає у його впливі на стан та активність K_{ATP} -каналів, що супроводжується гіперполяризацією мембрани, інгібуванням потенціал-залежних кальцієвих каналів, зниженням внутрішньоклітинної концентрації кальцію, і, як наслідок, розслабленням судинної стінки [150-160]. Згідно наукових даних H_2S за умов підвищення його концентрації може індукувати вазоконстрикцію, опосередковану зменшенням рівня ендотеліального NO [153, 154]. Тому актуальними є дослідження механізмів дії різних концентрацій гідроген сульфїду на

фізіологічні процеси та патофізіологічні механізми розвитку різних захворювань. Сучасні наукові методи використовують варіації рівнів H_2S як біомаркери для діагностики ряду патологічних станів та їх прогнозу. Крім того, точний і цілеспрямований моніторинг рівнів сірководню в органах і тканинах за умов фармакологічного впливу донорів H_2S дозволяє розвивати та контролювати терапевтичні ефекти їх впливу та досліджувати встановлення профілів і балансу їх токсичності та ефективності [23-27].

Разом з тим, низка виявлених позитивних впливів практично на всі фізіологічні функції в організмі, обрунтовує доцільність синтезу «донорів» сірководню чи блокаторів його утворення в організмі, які на сьогодні використовуються в експериментальних дослідженнях, а також у ряді клінічних випробовувань та є основою для створення нових терапевтичних засобів [21, 22].

Як зазначалося раніше, в тканинах людини і тварин гідроген сульфід синтезується за участю трьох ключових ферментів: цистатіонін- β -синтази, цистатіонін- γ -ліази, 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази. Перші два ензими є піридоксаль-5 залежними ферментами, що як субстрат використовують цистеїн. Обидва цих ферменти є цитозоль-локалізованими і мають тканинну специфіку. Так, у печінці переважно експресується CBS. Цей ензим бере участь в ендогенному синтезі H_2S також у ЦНС, нирках, матці, плаценті, підшлунковій залозі [34-43].

У серцево-судинній системі виключну роль для синтезу сірководню відіграє CSE. Спільно з цистеїнамінотрансферазою функціонує 3-MST, які каталізують реакцію взаємодії L-цистеїну і альфа-кетоглутарату з утворенням 3-меркаптопірувату та, в кінцевому результаті – гідроген сульфіду [34-36]. Міокард і печінка відрізняються особливостями синтезу H_2S , що було однією із причин вибору цих органів для дослідження впливу H_2S на показники їх функціонально-метаболічного стану з метою розширення уявлень про механізми дії H_2S -залежних сигнальних систем.

Зважаючи на важливу роль гідроген сульфід у фізіологічних процесах організму доцільним є з'ясування його протекторних властивостей за впливу чинників екстремальної природи, зокрема іонізуючого випромінювання. Питання впливу малих доз іонізуючого випромінювання – ще одна актуальна проблема сьогодення, оскільки живий організм постійно зазнає радіаційного впливу з природних та штучно створених техногенних джерел. У медицині широкого використання набуло застосування впливу радіаційного чинника з діагностичною та лікувальною метою, що водночас може мати свої побічні наслідки.

Згідно даних літератури, іонізуюче випромінювання навіть у малих дозах може зумовити обмінно-функціональні розлади, що виявляються у порушеннях мембранозалежних та енергетичних процесів, а також призводити до напруження адаптаційно-компенсаторних механізмів на всіх рівнях організму [242-246]. Вплив малих доз іонізуючого випромінювання є однією з форм біологічного стресу, що проявляється на різних рівнях організму – від клітинного до нейрогуморальних регуляторних механізмів [247, 248]. Дослідження механізмів відповіді біологічних мембран на вплив іонізуючого випромінювання як неспецифічної ланки адаптаційного синдрому має важливе значення для вивчення практичних питань радіопротекції [250-254].

Мішенню малих доз радіації є мембрани клітинних та субклітинних структур, які є ділянками локалізації сигналу про радіаційний вплив. Важливими незамінними структурними елементами біологічних мембран є жирні кислоти, що забезпечують взаємодію білково-ліпідного шару. Від кількісного та якісного складу ліпідів залежить внутрішньоклітинний гомеостаз, цілісність клітинної мембрани та, відповідно, здатність до захисту клітин від чинників різноманітної природи, у тому числі радіації [241-243]. Жирні кислоти у складі фосфоліпідів є структурною, динамічною складовою біологічних мембран і одночасно основним субстратом ліпопероксидації, тому кількісні та якісні зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів можуть

бути адекватним критерієм оцінки змін функціонально-метаболічного стану мембран і мембранозалежних процесів, прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в організмі.

Специфічною ланкою радіаційного ефекту є система вільнорадикальних перекисних процесів. Індукована радіацією ліпопероксидація, згідно думки багатьох дослідників, може бути основою широкого спектру порушень мембранозалежних процесів [246-250].

Іонізуюче випромінювання, як і вплив інших чинників екстремальної природи, зумовлює розвиток неспецифічних та специфічних пристосувальних реакцій організму. Дія малих доз іонізуючого випромінювання виявляється у змінах активності нейрогуморальних механізмів регуляції кардіоваскулярної системи, яка є однією з найбільш чутливих до дії стресових чинників різної природи. Водночас, серце належить до органів з високою радіорезистентністю. Проте, тривала дія навіть малих доз опромінення призводить до напруження адаптаційно-компенсаторних процесів на всіх рівнях організму та розвитку синдрому дезадаптації. Одним із інтегративних способів оцінки автономного гомеостазу та гуморально-метаболічних впливів є метод варіабельності серцевого ритму. Проте, малодослідженими залишаються зміни параметрів ВСР за дії малих доз іонізуючого випромінювання та попереднього до впливу радіації застосування гідроген сульфід.

Для з'ясування ефектів впливу H_2S , а також іонізуючого випромінювання на фоні застосування гідроген сульфід нами була обрана модель, у якій використано екзогенне введення донора гідроген сульфід дозою 7,4 мг/кг внутрішньочеревно на 30 хв, що, згідно даних літератури, є оптимальним терміном дії донора H_2S щодо впливу на скоротливу функцію серця [168, 196-203]. Через 30 хв після введення розчину $NaHS$ тварини зазнавали дії іонізуючого випромінювання у сумарній поглиненій дозі 2 Гр за допомогою телегаматерапевтичного пристрою «Терагам» (джерело ^{60}Co) за

потужності дози 0,393 мЗв/с і відстані «джерело–поверхня» 0,8 м. Опромінення було однофракційне, тотальне.

Застосування аналізу ВСР, що є неінвазивним, інформативним методом, дозволило нам дослідити динаміку змін активності регуляторних процесів у різні терміни після застосування NaHS. Встановлене на 30-й хв з часу введення донора H_2S істотне щодо контролю зростання величини загальної потужності спектру (TP), що є сумарним абсолютним рівнем активності регуляторних систем, вказує на активацію всіх ланок нейрогуморального регулювання функцій організму. Найбільшою мірою відносно вихідних величин зросла потужність височастотних коливань (HF), що в основному характеризує рівень активності парасимпатичної ланки регуляції при підвищенні спектральної потужності у всіх частотних діапазонах. Збільшення спектральної потужності в діапазоні HF корелює з підвищенням статистичних показників: CV, SDNN, RMSSD, а також із зростанням MxDMn, що загалом свідчить про переважаючу активацію парасимпатичної ланки АНС. Зниження величини AMo, а також MF/HF щодо вихідного рівня вказує на менший ступінь активації симпатичного відділу АНС у цей термін після введення донора H_2S . Через три год після введення донора гідроген сульфідів відмічено повернення практично до вихідних значень параметрів ВСР, що дозволяє розглядати зміни у попередній термін дослідження (30 хв) як швидку реактивну мобілізацію функціональних резервів всіх рівнів регуляторних систем.

Через 24 год з часу застосування донора H_2S встановлено зростання TP щодо вихідного рівня, проте менше виражене порівняно з 30-ю хв після введення NaHS. У цей термін, як і на 30-ту хв, найбільшою мірою зросла спектральна потужність у діапазоні HF. Крім цього, відмічено тенденцію до зростання збалансованих автономних компонентів (HF+MF), зниження MF/HF, що є прогностично сприятливою ознакою стану регуляторних систем. Зафіксовано зростання величин SDNN, CV, MxDMn відносно контролю. Ці зміни свідчать про активацію ПНС, що підтверджується

зростанням спектральної потужності високочастотних коливань. Активація регуляторних впливів забезпечує підтримання ЧСС на вихідному рівні. Через 48 год після введення NaHS встановлено зниження TP щодо першої доби, проте, відмічено тенденцію до підвищення щодо вихідного рівня. Зафіксовано нормалізацію АМо, статистичних показників, підвищеним залишається MxDMn щодо контролю і значень на першу добу після введення донора гідроген сульфід.

Отримані результати дають підстави стверджувати, що екзогенне стимулювання паракринних H_2S -залежних сигнальних процесів введенням NaHS істотно впливає на системні регуляторні механізми різних рівнів. Зміни параметрів ВСР, що свідчать про активацію різних ланок регуляторних систем з переважаючою мобілізацією ПСНС вже на 30-й хв після введення NaHS, мають фазовий характер і можуть розцінюватись як прогностично сприятливий ефект донора гідроген сульфід, застосованого в дозі 7,4 мг/кг маси. Збільшення рівня TP, а також спектральної потужності в діапазонах HF і MF, збільшення величини RMSSD та інших статистичних показників ВСР, зниження MF/HF також свідчать про підвищення функціонально-метаболических резервів під впливом H_2S через 30 хв та 24 год після введення донора гідроген сульфід. Такі зміни можуть бути пов'язані із різними механізмами дії донора гідроген сульфід на метаболізм кардіоміоцитів. Виявлені ефекти, можливо, проявляються шляхом впливу на стан іонних каналів різних типів, що залежать від інтенсивності процесів внутрішньомембранної динаміки, змін рівня їх збудливості, змін балансу між збудливими та гальмівними нейромедіаторами у регуляторних центрах центральної нервової системи, підвищенням тону блукаючого нерва тощо. Не виключеними є можливість впливу NaHS на біосинтез медіаторів та зміни рівнів активності ензимів, що їх метаболізують.

Через 24 год після одnofракційного тотального опромінення дозою 2 Гр встановлено вірогідне зменшення TP в 2 рази порівняно з вихідним рівнем на противагу збільшенню цього показника на першу добу після

введення донора гідроген сульфід. Це в комплексі зі зниженням потужності у всіх діапазонах спектру (LF, MF, HF) вказує на істотне пригнічення активності всіх ланок регуляторних систем. Відмічене зменшення часових параметрів BCP (SDNN, CV, RMSSD) характеризує пригнічення активності ПСНС.

Таким чином, зниження сумарного ефекту вегетативної регуляції за показниками SDNN, RMSSD, CV корелювало зі зниженим сумарним рівнем активності регуляторних процесів за спектральним показником TP і свідчило про напруження регуляторних систем.

Через 48 год зниження активності регуляторних процесів було ще більш виражене порівняно з попереднім терміном пострадіаційного періоду. Разом з тим зафіксовано зростання АМо щодо контролю і значень на першу добу, істотне зростання симпато-вагусного показника, а також збільшення часток MF і LF у внутрішній структурі спектру свідчить про активацію симпатичного відділу АНС на фоні пригнічення загальної активності регуляторних систем.

Через 72 год відмічено підвищення параметрів спектральної потужності щодо попередньої доби, проте ці показники залишаються достовірно нижчими як щодо контролю, так і відносно змін, які спостерігалися на першу добу після опромінення. Аналогічний характер змін відмічено для показників SDNN, RMSSD, що полягає у збільшенні їх значень щодо другої доби, проте їх величини не досягають вихідного рівня. Симпато-вагусний показник знижується через 72 год щодо попереднього терміну, проте перевищує значення контролю. Встановлені зміни параметрів BCP під впливом іонізуючого випромінювання свідчать про пригнічення всіх ланок регуляторних систем впродовж трьох діб пострадіаційного періоду, найбільш виражене на другу добу дослідження. Радіація зумовлює найбільш суттєве зниження активності парасимпатичної ланки АНС з переважанням симпатичного стимулювання на фоні пригнічення загальної активності регуляторних впливів.

Відомо, що реакція організму на дію екстремального чинника залежить від природи, сили і тривалості дії чинника, а також від вихідного функціонально-метаболічного стану організму. Нами встановлено, що H_2S -індукована мобілізація різних ланок регуляторних систем модифікує вплив іонізуючого випромінювання дозою 2 Гр. Попереднє до дії радіації введення NaHS призводить до менш вираженого зниження ТР, ніж при дії лише радіації, що вказує на підтримання вірогідно вищого рівня регуляторних процесів за цих умов порівняно з радіацією. При цьому спостерігається істотно збільшена порівняно з впливом радіації величина спектральної потужності в діапазоні LF і MF. Величини часових показників достовірно збільшилися відносно впливу лише опромінення та майже досягли вихідного рівня, що вказує на підтримання вищої активності ПСНС порівняно з дією радіації і є критерієм позитивного ефекту дії H_2S . Разом з тим, величина симпато-вагусного індексу зсувається в бік переважання симпатичних впливів, що в комплексі з активацією всіх ланок регуляторних процесів свідчить про підвищення потужності ерготропних реакцій за дії іонізуючого опромінення на фоні застосування донора гідроген сульфідів відносно впливу лише опромінення. Виявлене під впливом гідроген сульфідів підвищення рівня ТР, HF, статистичних показників є позитивними змінами ВСР і свідчить про збільшення стійкості до дії екстремальних чинників [289-291]. Дія радіації на на цьому фоні призводить до менш вираженого зниження активності регуляторних систем порівняно із впливом лише радіації [299, 305, 307, 309, 326, 334, 335].

Отже, попереднє до дії радіації введення NaHS зменшує напруження регуляторних процесів, індуковане іонізуючим опроміненням, та призводить до покращення перебігу адаптаційних процесів, що полягає в активації різних ланок регуляторних систем з переважаючою мобілізацією парасимпатичної нервової системи та помірною активацією ерготропних процесів.

Ефекти впливу гідроген сульфід у радіації універсально залежать від структурно-функціонального стану мембран клітин. Відомо, що мішенню дії радіації у малих дозах є клітинні мембрани, на відміну від великих доз, де пешочерговими є нуклеарні ушкодження. Гідроген сульфід, біологічно активна речовина, що діє без рецептора, проникаючи через мембрану, тому його ефект залежить від структурно-функціонального стану мембран. З іншого боку – гідроген сульфід, зважаючи на особливості хімічної будови, може виконувати функції ефективного скавенджера вільних радикалів, оптимізуючи баланс між про- та антиокисними процесами, модифікувати мембранозалежні процеси тощо [317].

Стан мембран, що визначається багатьма важлими факторами, одними з яких є жирнокислотний склад фосфоліпідів, вміст холестерину, від яких залежить плинність, структурованість мембран, а отже транспортні, антиоксидантні властивості, активність мембранозалежних ензимів. Рівень функціонування мембран залежить від фізико-хімічних характеристик біліпідного шару. Ліпідна фаза при стабільній температурі, рН, хімізму зовнішньоклітинного складу забезпечує підтримання рідкого агрегатного стану біологічних мембран.

Нами встановлено, що вплив гідроген сульфід на структурно-функціональні характеристики клітинних мембран у міокарді, печінці та крові виявляється у зниженні рівня окремих насичених жирних кислот, зростанні ω -3 поліненасичених жирних кислот, збільшенні співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК. Встановлено, що через 30 хв з часу введення NaHS у всіх досліджуваних середовищах зросла концентрація ейкозапентаєнової (C20:5) ω -3 ПНЖК щодо контролю. У печінці та міокарді, крім цієї ПНЖК, найбільшою мірою зросла концентрація докозатриєнової кислоти (C22:3). Зафіксовано тенденцію до збільшення рівня ліноленової (C18:3) – у міокарді, докозапентаєнової (C22:5) – у печінці. Виявлене під впливом гідроген сульфід збільшення співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК вказує на позитивну модифікацію жирнокислотного складу фосфоліпідів у біомембранах клітин

міокарда, печінки і крові, що характеризує оптимізацію трансмембранних процесів завдяки збільшенню ω -3 ПНЖК [227, 228]. Одним із позитивних механізмів ω -3 ПНЖК є здатність попереджувати набухання мітохондрій в серці, пригнічувати інтенсивність процесів ПОЛ, активувати ферментативну ланку антиоксидантного захисту. Відомо також, що ω -3 ПНЖК знижують утворення продукції арахідонової кислоти та її прозапальних похідних лейкотрієну C_4 і тромбоксану B_2 , впливають на експресію генів, що регулюють активність метаболічних процесів та імунної відповіді. На думку багатьох дослідників ω -3 ПНЖК формують адекватну відповідну реакцію клітин організму на дію зовнішніх патогенних факторів, регулюють ліпідний обмін, запобігають розвитку запалення, утворенню тромбів, порушенню серцевого ритму [229-232]. Крім того, ПНЖК мають гіпотензивну й антиаритмічну дію, знижуючи чутливість до агоністів адренорецепторів. Водночас, такі протекторні характеристики ω -3 ПНЖК пов'язані із впливом останніх на структурно-функціональний стан клітинних мембран та мембранозалежні процеси.

Встановлено, що ω -3 ПНЖК здатні конкурентно заміщувати у фосфоліпідах клітинних мембран арахідонову кислоту [233-239]. Продукти перетворення арахідонової кислоти – лейкотрієни, простагландини та тромбоксани мають потужні біологічні ефекти та можуть впливати на перебіг патологічних процесів, зокрема виявляють протромботичну, проагрегатну, прозапальну та вазоконстрикторну дії.

Через 24 год після опромінення дозою 2 Гр встановлено істотне зменшення співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК, що зумовлює порушення мікров'язкості, плинності та рухомості ліпідної фази, наслідком яких є зміни мембранозалежних функціонально-метаболічних процесів. Найбільшою мірою у печінці, міокарді та плазмі крові зменшився вміст ейкозапентаєнової ($C_{20:5}$) ω -3 поліненасиченої жирної кислоти щодо контролю. Відмічено також достовірне зниження концентрації докозапентаєнової кислоти ($C_{22:5}$) як у міокарді, так і в плазмі крові, а також тенденцію до зниження вмісту

інших ω -3 жирних кислот у всіх досліджуваних біооб'єктах. Це зменшення може бути пов'язано із залученням цих та інших ненасичених жирних кислот у процеси ліпопероксидації, що підтверджується попередньо проведеними нами дослідженнями та даними літератури. Відомо, що одним з основних субстратів процесів ПОЛ, що має місце при впливі іонізуючої радіації, є переважно поліненасичені жирні кислоти, які першочергово зазнають окисного впливу і можуть зумовлювати різні порушення обміну речовин в організмі, насамперед неконтрольовану активацію вільнорадикальних реакцій та пригнічення аеробного енергосинтезу [256, 257]. Разом з тим, слід зазначити особливу роль перекисного окиснення ліпідів і у фізіологічних умовах, оскільки цей багаторівневий процес, лімітований антиоксидантною системою, забезпечує постійне оновлення фосфоліпідного складу біомембран [219-223].

Відмічена тканинна специфіка змін жирнокислотного спектру в складі фосфоліпідів досліджуваних біосередовищ під впливом іонізуючого випромінювання відповідає характеру енергогенезу даних органів, особливість якого полягає в тому, що в міокарді як енергетичний субстрат навіть за фізіологічних умов поряд з глюкозою рівноцінно можуть використовуватися лактат та вільні ЖК. За умов дії екстремальних чинників збільшується частка жирних кислот як субстрату енергопродукції, необхідної для підтримання енергетичного гомеостазу цілісного організму [225, 226]. Вплив радіації дозою 2 Гр на модифікованому введенням донора H_2S фоні збільшення ω -3 ПНЖК призводить до менш вираженого зниження, індукованого радіацією, співвідношення ω -3/ ω -6. Це може бути прогностично сприятливим показником конформаційних змін при активації H_2S -залежних механізмів до пристосувальних перебудов за дії іонізуючого випромінювання [305, 335]. Виявлений нами профіль змін жирнокислотного складу фосфоліпідів різних тканин, що демонструє високу динамічність мембранозалежних процесів на тлі введення H_2S , може бути одним з його модулювальних ефектів за дії радіації [336-339].

Динаміка змін активності АСТ, МДГ, ЛДГ, СДГ, ЦХО у печінці та серці свідчить про особливості включення метаболічних шляхів енергозабезпечення специфічних функцій цих тканин за умов активації H_2S -залежних паракринних механізмів та дії радіації на цьому фоні. Відомо, що тканини печінки і серця відрізняються ступенем радіостійкості, особливостями метаболізму, специфікою утворення і розпаду H_2S [270-274].

У печінці (для якої, як відомо, характерні практично всі типи метаболічних перетворень) після введення донора H_2S відмічена активація СДГ – ензиму, що монополізує дихальний ланцюг, а також термінального ферменту дихального ланцюга ЦХО, що в комплексі свідчить про підвищення ефективності перебігу адаптивних до дії радіації процесів. Одним із джерел енергозабезпечення у цьому випадку можуть бути жирні кислоти при включенні продуктів їх окиснення у цикл Кребса на рівні СДГ, підвищення активності якої, одночасно з активацією ЦХО, встановлено також за умов дії радіації на тлі попереднього застосування NaHS .

У міокарді, органі з переважаючим аеробним метаболізмом, під впливом донора гідроген сульфід у серці відмічено значну активацію АСТ, мобілізація якої підтримується і за дії радіації після введення NaHS . Активація трансаміназного шляху – швидкого варіанту циклу Кребса, одночасно із підвищенням активності МДГ забезпечує підтримання високого рівня співвідношення НАДН/НАДФН в клітинних компартментах, необхідного, зокрема, для забезпечення електрохімічного градієнту протонів дихального ланцюга. Дані про оптимізацію під впливом паракринних H_2S -залежних сигнальних процесів термінальних ланок клітинного метаболізму серця, що інтегрується у вищі рівні функціонування фізіологічних систем, узгоджуються з отриманими нами результатами аналізу ВСР, що свідчать про покращення перебігу регуляторних адаптаційних процесів під впливом гідроген сульфід за дії радіації [275, 305, 335, 336].

Ефект попереднього до дії радіації введення донора гідроген сульфід у виявляється в зменшенні напруження регуляторних процесів, збільшенні

потужності відновних процесів, помірній активації ерготропних реакцій, оптимізації процесів енергозабезпечення, менш вираженого зниження співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК порівняно з впливом самої лише радіації. Це доводить позитивний ефект залучення паракринних регуляторних систем сірководню до формування ефективної пристосувально-компенсаторної реакції організму за дії радіації.

Таким чином, встановлено, що введення донора гідроген сульфід дозою 7,4 мг/кг супроводжувалося сприятливими змінами композиції жирнокислотного складу ФЛ і ЗЛ досліджуваних органів, що, зокрема, полягали в збільшенні вмісту ω -3 ПНЖК, зменшенні рівня ω -6 ПНЖК і відповідно підвищенні співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК, 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 $NaHS$, забезпечує адекватну мобілізацію органоспецифічних шляхів енергетичного забезпечення адаптивно-пристосувальних процесів за досліджуваних умов.

Загалом, судячи з отриманих результатів, можна зробити заключення, що паракринні механізми дії гідроген сульфід 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 константують зменшення напруження регуляторних процесів, індукованих іонізуючим опроміненням, збільшення потужності відновних процесів у спосіб переважаючої мобілізації парасимпатичної ланки АНС та помірною активацією 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 сульфідусвідчить про оптимальне стимулювання H_2S -залежних паракринних механізмів, що залучає інші ланки системних регуляторних реакцій і запобігає розвитку порушень, індукованих іонізуючим випромінюванням.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Nagpruve BV, Bian JS. Interaction of hydrogen sulfide with nitric oxide in the cardiovascular system. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:6904327.
2. Shabo C, Ransy C, Modis K, Andriamihaja M, Murghes B, Coletta C, et al. Regulation of mitochondrial bioenergetic function by hydrogen sulfide. Part 1. Biochemical and physiological mechanisms. *Br J Pharmacol*. 2014;171(8):2099-122.
3. Dong-Dong Wu, Da-Dong Wang, Hui-Min Li, Jian-Cheng Guo, Shao-Feng Duan, Xin-Ying Ji. Hydrogen sulfide as novel regulatory factor in liver health and disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 Jan 20;2019:3831713.
4. Giuffrè A, Vicente JB. Hydrogen sulfide biochemistry and interplay with other gaseous mediators in mammalian physiology. *Oxidative medicine cellular longevity*. 2018;2018:6290931.
5. Сагач ВФ. Сірководень та реакції серцево-судинної системи. *Фізіол. журн*. 2019;65(3, дод.):84.
6. Мись ЛА, Струтинська НА, Струтинський ВР, Сагач ВФ. Активація синтезу ендогенного сірководню пригнічує відкривання мітохондріальної пори та відновлює спряження конститутивної NO-синтази у серці старих щурів. *Фізіол. журн*. 2017;63(3):16-23.
7. Лучкова АЮ, Струтинська НА, Сагач ВФ. Сірководень підвищує акумуляцію кальцію в мітохондріях та пригнічує відкривання циклоспорин А-чутливої мітохондріальної пори в серці щурів. *Фізіол. журн*. 2017;63(3):9-15.
8. Лучкова АЮ, Струтинська НА, Коркач ЮП, Сагач ВФ. Інгібування мітохондріального синтезу сірководню посилює окисний стрес та погіршує роботу електронно-транспортного ланцюга. *Фізіол. журн*. 2018;64(6):9-16.
9. Драчук КО, Дорофєєва НО, Сагач ВФ. Вплив донора сірководню NaHS на показники кардіогемодинаміки у старих щурів. *Фізіол. журн*. 2019;65(3, дод.):85.

10. Boerma M, Sridharan V, Xiao-Wen Mao, Nelson GA, Cheema AK, Koturbach I, et al. Effects of ionizing radiation on the heart. *Mutat Res.* 2016 Oct - Dec;770(Pt B):319-27.
11. Ifigeneia VM, Danae AL, Frey B, et al. Key mechanisms involved in ionizing radiation-induced systemic effects. A current review. *Toxicol Res.* 2016;5(1):12-33.
12. Hamada R, Kaminaga K, Suzuki K, Yokoya A. Mitochondrial membrane potential, morphology and ATP production in mammalian cells exposed to x-rays. *Radiat Prot Dosimetry.* 2019 May 1;183(1-2):98-101.
13. Tang FR, Loke WK. Molecular mechanisms of low dose ionizing radiation in order to control bionegative effects to the organism and related human diseases. *Int J Radiat Biol.* 2015 Jan;91(1):13-27.
14. Shaffer F, Ginsberg JP. An overview of heart rate variability. Metrics and norms. *Front Public Health.* 2017 Sep 28;5:258.
15. Khan AA, Lip GYH, Shantsiva A. Heart rate variability in atria fibrillation: the balance between sympathetic and parasympathetic nervous system. *Eur J Clin Invest.* 2019 Nov;49(11):e13174.
16. Березовський ВЯ, Плотнікова ЛМ. Роль ендогенного сірководню в регуляції фізіологічних функцій організму. *Медична гідрологія та реабілітація.* 2013;11(1):117-22.
17. Вараксин АА, Пущина ЕВ. Сероводород как регулятор системных функций у позвоночных. *Нейрофизиология.* 2011;43(1):73-84.
18. García-Mata C, Lamattina L. Hydrogen sulfide, a novel gasotransmitter involved in guard cells signaling. *New phytologist.* 2010;188(4):977-84.
19. Kimura H. Signaling molecules: hydrogen sulfide and polysulfide. *Antioxidants redox signaling.* 2014;22(5):362-76.
20. Li Q, Lancaster JR Jr. Chemical foundations of hydrogen sulfide biology. *Nitric Oxide.* 2013;35:21-34.
21. Камінський ДВ, Крицишин АП, Єлісєєва ОП, Лесик РБ. Донори H₂S у створенні інноваційних лікарських засобів. *Журнал органічної та*

- фармацевтичної хімії. 2017;15(2):27-46.
22. Yoo D, Jupiter RC, Pankey EA, Reddy VG, Edward JA, Swan KW, et al. Analysis of cardiovascular responses to the H₂S donors Na₂S and NaHS in the rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015;309(4):H605-14.
 23. Lee ZW, Teo XY, Tay EYW, Tan CH, Hagen T, Moore PK, et al. Utilizing hydrogen sulfide as a novel anti-cancer agent by targeting cancer glycolysis and pH imbalance. *Br J Pharmacol*. 2014;171(18):4322-36.
 24. Roger T, Raynaud F, Bouillaud F, Ransy C, Simonet S, Crespo C, et al. New biologically active hydrogen sulfide donors. *Chembiochem*. 2013;14(17):2268-71. doi:10.1002/cbic.201300552.
 25. Szabo C. Hydrogen sulfide and its therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov*. 2007;6(11):917-35.
 26. Wallace JL, Wang R. Hydrogen sulfide-based therapeutics: exploiting a unique but ubiquitous gasotransmitter. *Nat Rev Drug Discov*. 2015;14(5):329-45.
 27. Zhang Y, Tang ZH, Ren Z, Qu SL, Liu MH, Liu LS, et al. Hydrogen sulfide, the next potent preventive and therapeutic agent in aging and age-associated diseases. *Mol Cell Biol*. 2013;33(6):1104-13.
 28. Li L, Rose P, Moore PK. Hydrogen sulfide and cell signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2011;51:169-87.
 29. Benetti LR, Campos D, Gurgueira SA, Vercesi AE, Guedes CV, Santos KL, et al. Hydrogen sulfide inhibits oxidative stress in lungs from allergic mice in vivo. *Eur J Pharmacol*. 2013;698(1-3):463-69. doi: 10.1016/j.ejphar.2012.11.025.
 30. Kimura H. Production and physiological effects of hydrogen sulfide. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(5):783-93.
 31. Asimakopoulou A, Panopoulos P, Chasapis CT, Coletta C, Zhou Z, Cirino G, et al. Selectivity of commonly used pharmacological inhibitors for cystathionine beta synthase (CBS) and cystathionine gamma lyase (CSE). *Br J Pharmacol*. 2013;169(4):922-32.

32. Caliendo G, Cirin G, Santagada V, Wallace JL. Synthesis and biological effects of hydrogen sulfide (H₂S): development of H₂S-releasing drugs as pharmaceuticals. *J Med Chem.* 2010;53(17):6275-86.
33. Bearden SE, Beard RS Jr, Pfau JC. Extracellular transsulfuration generates hydrogen sulfide from homocysteine and protects endothelium from redox stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010;299(5):H1568-76.
34. Sen U, Vacek TP, Hughes WM, Kumar M, Moshal KS, Tyagi N, et al. A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells. *Nat Commun.* 2013;4:1366.
35. Dickhout JG, Carlisle RE, Jerome DE, Mohammed-Ali Z, Jiang H, Yang G, et al. Integrated stress response modulates cellular redox state via induction of cystathionine γ -lyase: cross-talk between integrated stress response and thiol metabolism. *J Biol Chem.* 2012;287(10):7603-14.
36. Hwang SY, Sarna LK, Siow YL. High-fat diet stimulates hepatic cystathionine β -synthase and cystathionine γ -lyase expression. *Can J Physiol Pharmacol.* 2013;91(11):913-9.
37. Kabil O, Banerjee R. Enzymology of H₂S biogenesis, decay and signaling. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20(5):770-82.
38. Kimura H. Hydrogen sulfide and polysulfides as signaling molecules. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2015;91(4):131-59.
39. Yang G, Tang G, Zhang L, Wu L, Wang R. The pathogenic role of cystathionine γ -lyase/hydrogen sulfide in streptozotocin-induced diabetes in mice. *Am J Pathol.* 2011;179(2):869-79.
40. Chiku T, Padovani D, Zhu W, Singh S, Vitvitsky V, Banerjee R. H₂S biogenesis by human cystathionine γ -lyase leads to the novel sulfur metabolites lanthionine and homolanthionine and is responsive to the grade of hyperhomocysteinemia. *J Biol Chem.* 2009 Apr 24;284(17):11601-12.
41. Shibuya N, Mikami Y, Kimura Y, Nagahara N, Kimura H. Vascular endothelium expresses 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase and produces hydrogen sulfide. *J Biochem.* 2009 Nov;146(5):623-6.

42. Shibuya N, Tanaka M, Yoshida M, Ogasawara Y, Togawa T, Ishii K, et al. 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase produces hydrogen sulfide and bound sulfane sulfur in the brain. *Antioxid Redox Signal*. 2009 Apr;11(4):703-14.
43. Yadav PK, Yamada K, Chiku T, Koutmos M, Banerjee R. Structure and kinetic analysis of H₂S production by human mercaptopyruvate sulfurtransferase. *J Biol Chem*. 2013 Jul 5;288(27):20002-13.
44. Modis K, Coletta C, Erdelyi K, Papapetropoulos A, Szabo C. Intramitochondrial hydrogen sulfide production by 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase maintains mitochondrial electron flow and supports cellular bioenergetics. *FASEB J*. 2013 Feb;27(2):601-11.
45. Kimura H. Metabolic turnover of hydrogen sulfide. *Front Physiol*. 2012 Apr 18;3:101.
46. Li L, Xie R, Hu S, Wang Y, Yu T, Xiao Y, et al. Upregulation of cystathionine beta-synthetase expression by nuclear factor-kappa B activation contributes to visceral hypersensitivity in adult rats with neonatal maternal deprivation. *Mol Pain*. 2012 Dec 18;8:89.
47. Mikami Y, Shibuya N, Ogasawara Y, Kimura H. Hydrogen sulfide is produced by cystathionine γ -lyase at the steady-state low intracellular Ca(2+) concentrations. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Feb 8;431(2):131-5.
48. Roy A, Khan AH, Islam MT, Prieto MC, Majid DS. Interdependency of cystathionine γ -lyase and cystathionine β -synthase in hydrogen sulfide-induced blood pressure regulation in rats. *Am J Hypertens*. 2012 Jan;25(1):74-81.
49. Paul BD, Snyder SH. H₂S signalling through protein sulfhydration and beyond. *Nature reviews. Mol Cell Biol*. 2012;13:499-507.
50. Pan J, Carroll KS. Persulfide reactivity in the detection of protein S-sulfhydration. *ACS Chem Biol*. 2013;8(6):1110-6.
51. Shen Y, Shen Z, Luo S, Guo W, Zhu YZ. The cardioprotective effects of hydrogen sulfide in the heart diseases: from molecular mechanisms to therapeutic potential. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:925167.

52. Łowicka E, Bełtowski J. Hydrogen sulfide (H₂S)– the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacol Rep.* 2007 Jan-Feb;59(1):4-24.
53. Moataz MG, Snyder SH. Hydrogen sulfide as a gasotransmitter. *J. Neurochem.* 2010;113:14-26.
54. Olson KR. A practical look at the chemistry and biology of hydrogen sulfide. *Antioxid Redox Signal.* 2012 Jul 1;17(1):32-44.
55. Olson KR. Hydrogen sulfide as an oxygen sensor. *Antioxid Redox Signal.* 2015 Feb 10;22(5):377-97.
56. Wang R. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. *Physiol Rev.* 2012 Apr;92(2):791-896.
57. Wang R. The gasotransmitter role of hydrogen sulfide. *Antioxid Redox Signal.* 2003 Aug;5(4):493-501.
58. Wedmann R, Bertlein S, Macinkovic I, Boeltz S, Miljkovic J, Munoz L, et al. Working with “H₂S”: facts and apparent artifacts. *Nitric Oxide.* 2014 Sep 15;41:85-96.
59. Заїчко НВ, Платонова ТМ, Чернищенко ТМ, Гриненко ТВ, Юсова ОІ. Вплив гідроген сульфїду на систему гемостазу щурів. Медичні перспективи. 2010;15(1):15-20.
60. Zaichko NV, Melnik AV, Yoltukhivskyy MM, Olhovskiy AS, Palamarchuk IV. Hydrogen sulfide: metabolism, biological and medical role. *Ukr Biochem J* 2014;86(5):5-25.
61. Мясоедова ОА, Коржов ВІ. Роль сероводорода в реализации физиологических функций организма. *Журн. НАМН Украины.* 2011;17(3):191-9.
62. Zaichko NV, Pentiuk NA, Melnik AV, Shtatko EI, Andrushko II. Production of hydrogen sulfide in organs of rats. *Medical chemistry.* 2009;11(4):7-13.
63. Барна ОМ, Снігир НВ. Сірководень – важлива сигнальна молекула в патогенезі серцево-судинних захворювань: можливості терапевтичного впливу. *Ліки України.* 2017;(4):23-5.

64. Olson KR, Donald JA, Dombkowski RA, Perry SF. Evolutionary and comparative aspects of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulfide. *Respir Physiol Neurobiol*. 2012 Nov 15;184(2):117-29.
65. Szabo C, Coletta C, Chao C, Módis K, Szczesny B, Papapetropoulos A, et al. Tumor-derived hydrogen sulfide, produced by cystathionine- β synthase, stimulates bioenergetics, cell proliferation, and angiogenesis in colon cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Jul 23;110(30):12474-9.
66. Bruce King S. Potential biological chemistry of hydrogen sulfide (H₂S) with the nitrogen oxides. *Free Radic Biol Med*. 2013 Feb;55:1-7.
67. Фоменко ІС, Корнійчук ОП, Гураль АР, Шикуча РГ, Ільків П, Складов ОЯ. Роль циклооксигенази у модифікації мікрофлори кишки при стресі. *Фізіол журн*. 2015;61(1):42-9.
68. Thauer RK, Stackbrandt E, Hamilton WA. Energy metabolism and phylogenetic diversity of sulphate-reducing bacteria. *Environment Engineered System*. 2007:1-10.
69. Bouillaud F, Blachier F. Mitochondria and sulfide: a very old story of poisoning, feeding, and signaling? *Antioxid Redox Signal*. 2011 Jul 15;15(2):379-91.
70. Cuevasanta E, Denicola A, Alvarez B, Möller MN. Solubility and permeation of hydrogen sulfide in lipid membranes. *PLoS One*. 2012;7(4):e34562.
71. Riahi S, Rowley CN. Why can hydrogen sulfide permeate cell membranes? *J Am Chem Soc*. 2014 Oct 29;136(43):15111-3.
72. Guo W, Kan JT, Cheng ZY, Chen JF, Shen YQ, Xu J, et al. Hydrogen sulfide as an endogenous modulator in mitochondria and mitochondria dysfunction. *Oxid Med Cell Longev*. 2012;2012:878052.
73. Zhao Y, Wang H, Xian M. Cysteine-activated hydrogen sulfide (H₂S) donors. *J Am Chem Soc*. 2011 Jan 12;133(1):15-7.
74. Zhong GZ. Hydrogen Sulfide-a potent multichannel anti-arrhythmic drug. *J Cardiovasc Dis Res*. 2010 Jan;1(1):37-9.

75. Wallace JL, de Nucci G, Sulaieva O. Toward more GI-friendly anti-inflammatory medications. *Curr Treat Options Gastroenterol*. 2015 Dec;13(4):377-85.
76. Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci*. 1996 Feb 1;16(3):1066-71.
77. Мись ЛА, Будько АЮ, Струтинська НА, Сагач ВФ, Піридоксаль-5-фосфат відновлює синтез сірководню та редокс-статус тканин серця і судин старих щурів. *Фізіол. журн*. 2017;63(1):3-10.
78. Katsouda A, Bibli SI, Pyriochou A, Szabo C, Papapetropoulos A. Regulation and role of endogenously produced hydrogen sulfide in angiogenesis. *Pharmacol Res*. 2016 Nov;113(Pt A):175-85.
79. Tang G, Yang G, Jiang B, Ju Y, Wu L, Wang R. H₂S is an endothelium-derived hyperpolarizing factor. *Antioxid Redox Signal*. 2013 Nov 10;19(14):1634-46.
80. Calvert JW, Elston M. Genetic and pharmacologic hydrogen sulfide cardioprotection induced by ischemic postconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;295(3):1330-40.
81. Chen Y, Wang R. The message in the air: hydrogen sulfide metabolism in chronic respiratory diseases. *Respir Physiol Neurobiol*. 2012 Nov 15;184(2):130-8.
82. Wang R. Gasotransmitter: growing pains and joys. *Trends Biochem Sci*. 2014 May;39(5):227-32.
83. Ilkan Z, Mustafa F, Apostoli G, Solomon A, Whiteman M, Emerson M. Hydrogen sulfide inhibits human platelet aggregation. *Nitric Oxide*. 2013;31(Supp 2):26.
84. Yin J, Tu C, Zhao J, Ou D, Chen G, Liu Y, et al. Exogenous hydrogen sulfide protects against global cerebral ischemia/reperfusion injury via its antioxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects in rats. *Brain Res*. 2013 Jan 23;1491:188-96.

85. Chen Y, Zhao J, Du J, Xu G, Tang C, Geng B. Hydrogen sulfide regulates cardiac sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} uptake via K(ATP) channel and PI3K/Akt pathway. *Life Sci.* 2012 Sep 17;91(7-8):271-8.
86. Kimura Y, Goto Y, Kimura H. Hydrogen sulfide increases glutathione production and suppresses oxidative stress in mitochondria. *Antioxid Redox Signal.* 2010 Jan;12(1):1-13.
87. Fitzgerald R, DeSantiago B, Lee DY, Yang G, Kim JY, Foster DB, et al. H₂S relaxes isolated human airway smooth muscle cells via the sarcolemmal K(ATP) channel. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014 Mar 28;446(1):393-8.
88. Kondo K, Bhushan S, King AL, Prabhu SD, Hamid T, Koenig S, et al. H₂S protects against pressure overload-induced heart failure via upregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation.* 2013 Mar 12;127(10):1116-27.
89. Napetschnig J, Wu H. Molecular basis of NF- κ B signaling. *Annu Rev Biophys.* 2013;42:443-68.
90. Calvert JW, Jha S, Gundewar S, Elrod JW, Ramachandran A, Pattillo CB, et al. Hydrogen sulfide mediates cardioprotection through Nrf2 signaling. *Circ Res.* 2009 Aug 14;105(4):365-74.
91. Sklyarova Y, Fomenko I, Lozynska I, Lozynskyi A, Lesyk R, Sklyarov A. Hydrogen sulfide releasing 2-mercaptoacrylic acid-based derivative possesses cytoprotective activity in a small intestine of rats with medication-induced enteropathy. *Sci Pharm.* 2017;85(4):1-12.
92. Chen YH, Wu R, Geng B, Qi YF, Wang PP, Yao WZ, et al. Endogenous hydrogen sulfide reduces airway inflammation and remodeling in a rat model of asthma. *Cytokine.* 2009 Feb;45(2):117-23.
93. Chai Q, Lu T, Wang XL, Lee HC. Hydrogen sulfide impairs shear stress-induced vasodilation in mouse coronary arteries. *Pflugers Arch.* 2015 Feb;467(2):329-40.
94. Bryan NS, Bian K, Murad F. Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2009 Jan 1;14:1-18.

95. Liu F, Liu GJ, Liu N, Zhang G, Zhang JX, Li LF. Effect of hydrogen sulfide on inflammatory cytokines in acute myocardial ischemia injury in rats. *Exp Ther Med*. 2015 Mar;9(3):1068-74.
96. McCarty MF, DiNicolantonio JJ. The molecular biology and pathophysiology of vascular calcification. *Postgrad Med*. 2014 Mar;126(2):54-64.
97. Wallace JL, Ferraz JG, Muscara, MN. Hydrogen sulfide: an endogenous mediator of resolution of inflammation and injury. *Antioxid Redox Signal*. 2012 Jul 1;17(1):58-67.
98. Wallace JL, Blackler RW, Chan MV, Da Silva GJ, Elsheikh W, Flannigan KL, et al. Anti-inflammatory and cytoprotective actions of hydrogen sulfide: translation to therapeutics. *Antioxid Redox Signal*. 2015 Feb 10;22(5):398-410.
99. Wallace JL. Mechanisms, prevention and clinical implications of nonsteroidal anti-inflammatory drug-enteropathy. *World J Gastroenterol*. 2013 Mar 28;19(12):1861-76.
100. Zhang G, Wang P, Yang G, Cao Q, Wang R. The inhibitory role of hydrogen sulfide in airway hyperresponsiveness and inflammation in a mouse model of asthma. *Am J Pathol*. 2013 Apr;182(4):1188-95.
101. Streeter E, Ng HH, Hart JL. Hydrogen sulfide as a vasculoprotective factor. *Med Gas Res*. 2013 Apr 29;3(1):9.
102. Pan LL, Liu XH, Zheng HM, Yang HB, Gong QH, Zhu YZ. S-propargyl-cysteine, a novel hydrogen sulfide-modulated agent, attenuated tumor necrosis factor- α -induced inflammatory signaling and dysfunction in endothelial cells. *Int J Cardiol*. 2012 Mar 8;155(2):327-32.
103. Kamat PK, Kalani A, Tyagi SC, Tyagi N. Hydrogen sulfide epigenetically attenuates homocysteine-induced mitochondrial toxicity mediated through NMDA receptor in mouse brain endothelial (bEnd3) cells. *J Cel Physiol*. 2015 Feb;230(2):378-94.
104. Kamat PK, Kalani A, Tyagi N. Role of hydrogen sulfide in brain synaptic remodeling. *Methods Enzymol*. 2015;555:207-29.

105. Ishigami M, Hiraki K, Umemura K, Ogasawara Y, Ishii K, Kimura H. A source of hydrogen sulfide and a mechanism of its release in the brain. *Antioxid Redox Signal*. 2009 Feb;11(2):205-14.
106. Kimura H. Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Jan 7;267(1):129-33.
107. Han J, Chen ZW, He GW. Acetylcholine and sodium hydrosulfide-induced endotheliumdependent relaxation and hyperpolarization in cerebral vessels of global cerebral ischemia-reperfusion rat. *J Pharmacol Sci*. 2013;121(4):318-26.
108. Tang X-Q, Zhuang Y-Y, Zhang P, Fang H-R, Zhou C-F, Gu H-F, et al. Formaldehyde impairs learning and memory involving the disturbance of hydrogen sulfide generation in the hippocampus of rats. *J Mol Neurosci*. 2013 Jan;49(1):140-9.
109. Kimura H. Physiological role of hydrogen sulfide and polysulfide in the central nervous system. *Neurochem Int*. 2013 Nov;63(5):492-7.
110. Kimura Y, Dargusch R, Schubert D, Kimura H. Hydrogen sulfide protects HT22 neuronal cells from oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*. 2006 Mar-Apr;8(3-4):661-70.
111. Kimura Y, Mikami Y, Osumi K, Tsugane M, Oka J, Kimura H. Polysulfides are possible H₂S-derived signaling molecules in rat brain. *FASEB J*. 2013 Jun;27(6):2451-7.
112. Nagai Y, Tsugane M, Oka J, Kimura H. Hydrogen sulfide induces calcium waves in astrocytes. *FASEB J*. 2004 Mar;18(3):557-9.
113. Kamat PK, Kalani A, Givvmani S, Sathnur PB, Tyagi SC, Tyagi N. Hydrogen sulfide attenuates neurodegeneration and neurovascular dysfunction induced by intracerebral-administered homocysteine in mice. *Neuroscience*. 2013 Nov 12;252:302-19.
114. Hu LF, Lu M, Tiong CX, Dawe GS, Hu G, Bian JS. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide on Parkinson's disease rat models. *Aging Cell*. 2010;9:135-46.

115. Giuliani D, Ottani A, Zaffe D, Galantucci M, Strinati F, Lodi R, et al. Hydrogen sulfide slows down progression of experimental Alzheimer's disease by targeting multiple pathophysiological mechanisms. *Neurobiol Learn Mem.* 2013 Sep;104:82-91.
116. Nagpure BV, Bian JS. Brain, learning, and memory: role of H₂S in neurodegenerative diseases. *Handb Exp Pharmacol.* 2015;230:193-215.
117. Kamoun P, Belardinelli MC, Chabli A, Lallouchi K, Chadeaux-Vekemans B. Endogenous hydrogen sulfide overproduction in Down syndrome. Endogenous hydrogen sulfide overproduction in Down syndrome. *J. Med Genet.* 2003 Jan 30;116A(3):310-1.
118. Lim E, Mbowe O, Lee AS, Davis J. Effect of environmental exposure to hydrogen sulfide on central nervous system and respiratory function: a systematic review of human studies. *Int J Occup Environ Health.* 2016 Jan;22(1):80-90.
119. Nath N, Prasad HK, Kumar M. Cerebroprotective effects of hydrogen sulfide in homocysteine-induced neurovascular permeability: Involvement of oxidative stress, arginase, and matrix metalloproteinase-9. *J Cell Physiol.* 2019 Mar;234(3):3007-19.
120. Calvert JW, Coetzee WA, Lefer DJ. Novel insights into hydrogen sulfide-mediated cytoprotection. *Antioxid Redox Signal.* 2010 May 15;12(10):1203-17.
121. Kimura H. Hydrogen polysulfide signaling along with hydrogen sulfide (H₂S) and nitric oxide (NO). *J Neural Transm (Vienna).* 2016 Nov;123(11):1235-45.
122. Денисенко НВ, Фоменко ІС, Федевич ЮМ, Склярів ОЯ. H₂S-зв'язаний нестероїдний протизапальний препарат АТБ-346 володіє зниженою гастротоксичністю порівняно з впливом його структурного аналога напроксену. *Медична та клінічна хімія.* 2014;16(4):26-9.
123. Склярів ОЯ, Фоменко ІС, Денисенко НВ, Склярів ПО, Лозинська ІІ. Газові медіатори (нітрогену оксид та гідрогену сульфід) у регуляції

процесів цитопротекції органів травної системи. Фізіол. журн. 2019;65(3, дод.):114.

124. Blackler RW, Gemici B, Manko A, Wallace, JL. NSAID-gastroenteropathy: new aspects of pathogenesis and prevention. *Curr Opin Pharmacol*. 2014 Dec;19:11-6.
125. Takeuchi K, Aihara E, Kimura M, Dogishi K, Hara T, Hayashi S. Gas mediators involved in modulating duodenal HCO_3^- secretion. *Curr Med Chem*. 2012;19(1):43-54.
126. Chan, MV, Wallace, JL. Hydrogen sulfide-based therapeutics and gastrointestinal diseases: translating physiology to treatments. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2013 Oct 1;305(7):G467-73.
127. Fomenko IS, Sklyarov OYa. Action of H_2S -releasing NSAIDs on the parameters of nitric oxide system in gastric mucosa of rats under stress conditions. *Dig Des Sci*. 2014;59(8):1654-5.
128. Magierowski M, Magierowska K, Hubalewska-Mazgaj M, Adamski J, Bakalarz D, Sliwowski Z, et al. Interaction between endogenous carbon monoxide and hydrogen sulfide in the mechanism of gastroprotection against acute aspirin-induced gastric damage. *Pharmacol Res*. 2016 Dec;114:235-50.
129. Magierowski M, Magierowska K, Kwiecien S, Brzozowski T. Gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulfide in the mechanism of gastrointestinal integrity, protection and ulcer healing. *Molecules*. 2015 May 19;20(5):9099-123.
130. Martin GR, McKnight GW, Dicay MS, Coffin CS, Ferraz JG, Wallace JL. Hydrogen sulphide synthesis in the rat and mouse gastrointestinal tract. *Dig Liver Dis*. 2010 Feb;42(2):103-9.
131. Sklyarova Y, Fomenko I, Lozynska I, Lozynskyi A, Lesyk R, Sklyarov A. Hydrogen sulfide releasing 2-mercaptoacrylic acid-based derivative possesses cytoprotective activity in a small intestine of rats with medication-induced enteropathy. *Sci Pharm*. 2017 Oct 24;85(4). pii: E35.

132. Wallace JL. Physiological and pathophysiological roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract. *Antioxid Redox Signal*. 2010 May 1;12(9):1125-33.
133. Wallace, JL, Caliendo G, Santagada V, Cirino G. Markedly reduced toxicity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of naproxen (ATB-346). *Br J Pharmacol*. 2010 Mar;159(6):1236-46.
134. Ільків П, Панасюк ОБ, Білецька ЛП, Склярів ОЯ. Дія H₂S-вмісного напроксену на стан NO-синтаза/аргіназа за умов стресу в тонкій кишці. *Мед. хімія*. 2014;16(4):18-21.
135. Lagoutte E, Mimoun S, Andriamihaja M, Chaumontet C, Blachier F, Bouillaud F. Oxidation of hydrogen sulfide remains a priority in mammalian cells and causes reverse electron transfer in colonocytes. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Aug;1797(8):1500-11.
136. Wallace JL, Vong L, McKnight W, Dickey M, Martin GR. Endogenous and exogenous hydrogen sulfide promotes resolution of colitis in rats. *Gastroenterology*. 2009 Aug;137(2):569-78, 578.e1.
137. Yeomans ND. Consensus about managing gastrointestinal and cardiovascular risks of nonsteroidal anti-inflammatory drugs?. *BMC Med*. 2015 Mar 19;13:56.
138. Янчук ПІ, Слободяник ЛО. Роль сірководню у регуляції кровообігу в печінці. *Фізіол. журн*. 2015;61(3):28-34.
139. Fiorucci S, Distrutti E, Cirino G, Wallace JL. The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. *Gastroenterology*. 2006 Jul;131(1):259-71.
140. Mani S, Cao W, Wu L, Wang R. Hydrogen sulfide and the liver. *Nitric Oxide*. 2014 Sep 15;41:62-71.
141. Norris EJ, Culbertson CR, Narasimhan S, Clemens MG. The liver as a central regulator of hydrogen sulfide. *Shock*. 2011 Sep;36(3):242-50.
142. Schie IW, Wu J, Weeks T, Zern MA, Rutledge JC, Huser T. Label-free imaging and analysis of the effects of lipolysis products on primary hepatocytes. *J Biophotonics*. 2011 Jun;4(6):425-34.

143. Tan G, Pan S, Li J, Dong X, Kang K, Zhao M, et al. Hydrogen sulfide attenuates carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity, liver cirrhosis and portal hypertension in rats. *PLoS One*. 2011;6(10):e25943.
144. Wu D, Zheng N, Qi K, Cheng H, Sun Z, Gao B, et al. Exogenous hydrogen sulfide mitigates the fatty liver in obese mice through improving lipid metabolism and antioxidant potential. *Med Gas Res*. 2015 Jan 10;5(1):1.
145. Yan Y, Chen C, Zhou H, Gao H, Chen L, Chen L, et al. Endogenous hydrogen sulfide formation mediates the liver damage in endotoxemic rats. *Res Vet Sci*. 2013 Jun;94(3):590-5.
146. Янчук ПІ, Слободяник ЛО. Роль сірководню у регуляції кровообігу в печінці. *Фізіол. журн*. 2015;61(3):28-34.
147. Zhang Q, Fu H, Zhang H, Xu F, Zou Z, Liu M, et al. Hydrogen sulfide preconditioning protects rat liver against ischemia/reperfusion injury by activating Akt-GSK-3 β signaling and inhibiting mitochondrial permeability transition. *PLoS One*. 2013;8(9):e74422. doi:10.1371/journal.
148. Elsey DJ, Fowkes RC, Baxter GF. Regulation of cardiovascular cell function by hydrogen sulfide (H₂S). *Cell Biochem Funct*. 2010 Mar;28(2):95-106.
149. Huang Y, Tang C, Du J, Jin H. Endogenous sulfur dioxide: A new member of gasotransmitter family in the cardiovascular system. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:8961951.
150. Hayden MR, Tyagi SC. Cardioprotective role of sodium thiosulfate on chronic heart failure healing in rats. *FASEB J*. 2007;21:4070-6.
151. Wagner CA. Hydrogen sulfide: a new gaseous signal molecule and blood pressure regulator. *J Nephrol*. 2009 Mar-Apr;22(2):173-6.
152. Liu YH, Yan CD, Bian JS. Hydrogen sulfide: a novel signaling molecule in the vascular system. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2011 Dec;58(6):560-9.
153. Altaany Z, Yang G, Wang R. Crosstalk between hydrogen sulfide and nitric oxide in endothelial cells. *J Cell Mol Med*. 2013 Jul;17(7):879-88.

154. Ali MY, Ping CY, Mok YY, Ling L, Whiteman M, Bhatia M, et al. Regulation of vascular nitric oxide in vitro and in vivo; a new role for endogenous hydrogen sulphide? *Br J Pharmacol*. 2006 Nov;149(6):625-34.
155. Bhatia M. Hydrogen sulfide as a vasodilator. *IUBMB Life*. 2005;57(9):603-6.
156. Cacanyiova S, Berenyiova A, Kristek F. The role of hydrogen sulphide in blood pressure regulation. *Physiol Res*. 2016;65(Suppl 3):273-89.
157. Lu M, Liu YH, Goh HS, Wang JJ, Yong QC, Wang R, et al. Hydrogen sulfide inhibits plasma renin activity. *J Am Soc Nephrol*. 2010 Jun;21(6):993-1002.
158. King AL, Polhemus DJ, Bhushan S, Otsuka H, Kondo K, Nicholson CK, et al. Hydrogen sulfide cytoprotective signaling is endothelial nitric oxide synthase-nitric oxide dependent. *Proc Nat Acad Sci*. 2014 Feb 25;111(8):3182-7.
159. Kubo S, Doc I, Kurokawa Y, Nishikawa H, Kawabata A. Direct inhibition of endothelial nitric oxide synthase by hydrogen sulfide: contribution to dual modulation of vascular tension. *Toxicology*. 2007 Mar 22;232(1-2):138-46.
160. Wu D, Hu Q, Zhu D. An update on hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in the cardiovascular system. *Oxid Med Cell Longev*. 2018 Sep 9;2018:4579140.
161. Yong QC, Cheong JL, Hua F, Deng LW, Khoo YM, Lee HS. Regulation of heart function by endogenous gaseous mediators-crosstalk between nitric oxide and hydrogen sulfide. *Antioxid Redox Signal*. 2011 Jun;14(11):2081-91.
162. Bełtowski J, Jamroz-Wiśniewska A. Hydrogen sulfide and endothelium-dependent vasorelaxation. *Molecules*. 2014;19(12):21183-99.
163. Broniowska KA, Hogg N. The chemical biology of S-nitrosothiols. *Antioxid Redox Signal*. 2012 Oct 1;17(7):969-80.
164. Filipovic MR, Eberhardt M, Prokopovic V, et al. Beyond H₂S and NO interplay: hydrogen sulfide and nitroprusside react directly to give nitroxyl

- (HNO). A new pharmacological source of HNO. *J Med Chem.* 2013 Feb 28;56(4):1499-508.
165. Lavu M, Bhushan S, Lefer DJ. Hydrogen sulfide-mediated cardioprotection: mechanisms and therapeutic potential. *Clin Sci.* 2011;120(6):219-29.
 166. Jang G, Wu L, Liang W, Wang R. Direct stimulation of K(ATP) channels by exogenous and endogenous hydrogen sulfide in vascular smooth muscle cells. *Mol Pharmacol.* 2005 Dec;68(6):1757-64.
 167. Jiang B, Tang G, Cao K, Wu L, Wang R. Molecular mechanism for H₂S-induced activation of K(ATP) channels. *Antioxid Redox Signal.* 2010 May 15;12(10):1167-78.
 168. Струтинська НА, Семенихіна ОМ, Чорна СВ, Вавілова ГЛ, Сагач ВФ. Сірководень пригнічує кальцій індуковане відкривання мітохондріальної пори у серці дорослих і старих щурів. *Фізіол. журн.* 2011;57(6):3-14.
 169. Lefer DJ. A new gaseous signaling molecule emerges: Cardioprotective role of hydrogen sulfide. *PNAS.* 2007;104(46):17907-8.
 170. Rong-na L, Xiang-jun Z, Yu-han C, Ling-qiao L, Gang H. Interaction between hydrogen sulfide and nitric oxide on cardiac protection in rats with metabolic syndrome. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao.* 2011 Feb;33(1):25-32.
 171. Del Rio R, Marcus NJ, Shultz HD. Inhibition of hydrogen sulfide restores normal breathing stability and improves autonomic control during experimental heart failure. *J Appl Physiol.* 2013;114 (9):1141-50.
 172. Geng B, Yang J, Qi Y, Zhao J, Pang Y, Du J, Tang C. H₂S generated by heart in rat and its effects on cardiac function. *Biochem Biophys Res Com.* 2004 Jan 9;313(2):362-8.
 173. Li H, Teng X, Yang R, Guo Q, Xue H, Xiao L, et al. Hydrogen sulfide facilitates the impaired sensitivity of carotid sinus baroreflex in rats with vascular calcification. *Front Pharmacol.* 2017 Sep 12;8:629.

174. Mani S, Untereiner A, Wu L, Wang R. Hydrogen sulfide and the pathogenesis of atherosclerosis. *Antioxid Redox Signal*. 2014 Feb 10;20(5):805-17.
175. Mani S, Li H, Untereiner A, Wu L, Yang G, Austin RC, et al. Decreased endogenous production of hydrogen sulfide accelerates atherosclerosis. *Circulation*. 2013 Jun 25;127(25):2523-34.
176. Xu S, Liu Z, Liu P. Targeting hydrogen sulfide as a promising therapeutic strategy for atherosclerosis. *Int J Cardiol*. 2014 Mar 15;172(2):313-7.
177. Yang G, Wu L, Jiang B, Yang W, Qi J, Cao K, et al. H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase. *Science*. 2008 Oct 24;322(5901):587-90.
178. Дорофєєва НО, Кузьменко МО, Сагач ВФ. Вплив донора сірководню на функцію серця спонтанно гіпертензивних щурів. *Таврич. мед.-биол. вестн*. 2012;15(3):92-4.
179. Kanagy NL, Szabo C, Papapetropoulos A. Vascular biology of hydrogen sulfide. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2017 May 1;312(5):C537-C549.
180. Yang G, Wang R. H₂S and blood vessels: an overview. *Handb Exp Pharmacol*. 2015;230:85-110.
181. Munaron L, Avanzato D, Moccia F, Mancardi D. Hydrogen sulfide as a regulator of calcium channels. *Cell Calcium*. 2013 Feb;53(2):77-84.
182. Sen U, Vacek TP, Hughes WM, Kumar M, Moshal KS, Tyagi N, et al. Cardioprotective role of sodium thiosulfate on chronic heart failure by modulating endogenous H₂S generation. *Pharmacology*. 2008;82(3):201-13.
183. Shao M, Zhuo C, Jiang R, Chen G, Shan J, Ping J, et al. Protective effect of hydrogen sulphide against myocardial hypertrophy in mice. *Oncotarget*. 2017 Apr 4;8(14):22344-52.
184. Струтинська НА, Дорофєєва НО, Вавілова ГЛ, Сагач ВФ. Підвищена чутливість мітохондріальної пори до Ca²⁺ у серці щурів зі спонтанною гіпертензією. *Фізіол. журн*. 2012;58(6):3-8.

185. Струтинська НА, Коцюрuba АВ, Будько АЮ, Мись ЛА, Сагач ВФ. Порушення функціонування мітохондрій у серці при старінні супроводжується неспряженням конститутивних NO-синтаз на тлі оксидативного та нітрозативного стресу. Фізіол. журн. 2016;62(2):3-11.
186. Zhao X, Zhang LK, Zhang CY, Zeng XJ, Yan H, Jin Tang CS, et al. Regulatory effect of hydrogen sulfide on vascular collagen content in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res.* 2008 Aug;31(8):1619-30.
187. Zhao Y, Bhushan S, Yang C, Otsuka H, Stein JD, Pacheco A, et al. Controllable hydrogen sulfide donors and their activity against myocardial ischemia-reperfusion injury. *ACS Chem Biol.* 2013;8(6):1283-90.
188. King AL, Lefer DJ. Cytoprotective actions of hydrogen sulfide in ischaemia-reperfusion injury. *Exp Physiol.* 2011 Sep;96(9):840-6.
189. Шиманська ТВ, Гошовська ЮВ, Семеніхіна ОМ, Сагач ВФ. Вплив сірководню на реакції ізольованого серця щурів при навантаженні об'ємом і ішемії–реперфузії. Фізіол. журн. 2012;58(6):57-66.
190. Elrod JW, Calvert JW, Morrison J, Doeller JE, Kraus DW, Tao L. Hydrogen sulfide attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by preservation of mitochondrial function. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Sep 25;104(39):15560-5.
191. Polhemus DJ, Calvert JW, Butler J, Lefer DJ. The cardioprotective actions of hydrogen sulfide in acute myocardial infarction and heart failure. *Scientifica (Cairo).* 2014;2014:768607.
192. Polhemus DJ, Lefer DJ. Emergence of hydrogen sulfide as an endogenous gaseous signaling molecule in cardiovascular disease. *Circ Res.* 2014 Feb 14;114(4):730-7.
193. Qipshidze N, Metreveli N, Mishra PK, et al. Hydrogen sulfide mitigates cardiac remodeling during myocardial infarction via improvement of angiogenesis. *Int J Biol Sci.* 2012;8(4):430-41.

194. Liu YH, Lu M, Hu LF, Wong PT, Webb GD, Bian JS. Hydrogen sulfide in the mammalian cardiovascular system. *Antioxid Redox Signal*. 2012 Jul 1;17(1):141-85.
195. Lim JJ, Liu YH, Khin ES, Bian JS. Vasoconstrictive effect of hydrogen sulfide involves downregulation of cAMP in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2008 Nov;295(5):C1261-70.
196. Гошовська ЮВ, Шиманська ТВ, Семенихіна ОМ, Сагач ВФ. Кардіопротекторні ефекти донора сірководню. *Фізіол. журн*. 2012;58(6):3-15.
197. Лучкова АЮ, Струтинська НА, Сагач ВФ. Вплив іонів кальцію на дихальний ланцюг мітохондрій у серці старих щурів. *Фізіол. журн*. 2018;64(5):16-25.
198. Семенихіна ОМ, Базілюк ОВ, Коркач ЮП, Сагач ВФ. Механізми впливу сірководню на скоротливу активність гладеньких м'язів судин щурів. *Фізіол. журн*. 2011;57(4):3-11.
199. Сагач ВФ, Шиманська ТВ, Гошовська ЮВ. Вплив стимуляції та блокади синтезу ендogenous сірководню на функцію серця в умовах ішемії-реперфузії. *Фізіол. журн*. 2013;59(4):8-15.
200. Семенихіна ОМ, Струтинська НА, Будько АЮ, Вавілова ГЛ, Сагач ВФ. Вплив донора сірководню NAHS на функціональний стан дихального ланцюга мітохондрій серця щурів. *Фізіол. журн*. 2013;59(2):9-17.
201. Шиманская ТВ, Гошовская ЮВ, Сагач ВФ. Влияние сероводорода на функциональное состояние и резервные возможности миокарда. *Доп. НАН України*. 2013;(1):156-61.
202. Shimanskaya TV, Goshovska YV, Semenykhina OM, Sagach VF. Effect of hydrogen sulfide on reaction of isolated rat heart under volume load and ischemia-reperfusion. *Int J Physiol Patophysiol*. 2013;4(3):201-2.
203. Гошовська ЮВ, Федічкіна РА, Корнелюк ОІ, Сагач ВФ. Ендотеліальний моноцитаактивуючий поліпептид II та його попередник

проЕМАР/Р43 зменшують порушення функції ізольованого серця після ішемії-реперфузії. *Фізіол.журнал*. 2018;64(5):7-15.

204. Sun YG, Cao YX, Wang WW, Ma SF, Yao T, Zhu YC. Hydrogen sulphide is an inhibitor of L-type calcium channels and mechanical contraction in rat cardiomyocytes. *Cardiovasc Res*. 2008 Sep 1;79(4):632-41.
205. Skovgaard N, Gouliaev A, Aalling M, Simonsen U. The role of endogenous H₂S in cardiovascular physiology. *Curr Pharm Biotechnol*. 2011 Sep;12(9):1385-93.
206. Tang G, Zhang L, Yang G, Wu L, Wang R. Hydrogen sulfide-induced inhibition of L-type Ca²⁺ channels and insulin secretion in mouse pancreatic β cells. *Diabetologia*. 2013 Mar;56(3):533-41.
207. Wang Y, Boerma M, Zhou D. Ionizing radiation-induced endothelial cell senescence and cardiovascular diseases. *Radiat Res*. 2016 Aug;186(2):153-61.
208. Coletta C, Papapetropoulos A, Erdelyi K, Olah G, Modis K, Panopoulos P, et al. Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Jun 5;109(23):9161-6.
209. Martelli A, Testai L, Breschi MC, Lawson K, McKay NG, Miceli F, et al. Vasorelaxation by hydrogen sulphide involves activation of Kv7 potassium channels. *Pharmacol Res*. 2013 Apr;70(1):27-34.
210. Szabo C, Papapetropoulos A. Hydrogen sulphide and angiogenesis: mechanisms and applications. *Br J Pharmacol*. 2011 Oct;164(3):853-65.
211. Szabo G, Veres G, Radovits T, Gero D, Modis K, Miesel-Groschel C, et al. Cardioprotective effects of hydrogen sulfide. *Nitric Oxide*. 2011 Aug 1;25(2):201-10.
212. Webb GD, Lim LH, Oh VM, Yeo SB, Cheong YP, Ali MY, et al. Contractile and vasorelaxant effects of hydrogen sulfide and its biosynthesis in the human internal mammary artery. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008 Feb;324(2):876-82.

213. Xu Y, Dai X, Zhu D, Xu X, Gao C, Wu C. An exogenous hydrogen sulphide donor, NaHS, inhibits the apoptosis signaling pathway to exert cardio-protective effects in a rat hemorrhagic shock model. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Jun 1;8(6):6245-54.
214. Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. *EMBO J*. 2001 Nov 1;20(21):6008-16.
215. Гиріна ОМ, Карлова ОО, Брюзгина ТС. Вивчення змін ліпідних показників у плазмі крові у хворих на метаболічний синдром та гіпертонічну хворобу. *Буковин. мед. вісн*. 2004;8(3-4):27-9.
216. Гопаненко ОО, Рівіс ЙФ. Жирнокислотний склад фосфоліпідів плазми крові і тканин за гострого аргінінового панкреатиту та його корекції. *Експерим. та клініч. фізіол. та біохім*. 2013;(2):22-7.
217. Дябога ЮЗ, Рівіс ЙФ. Жирнокислотний склад фосфоліпідів плазми крові, печінки і скелетних м'язів щурів за експериментальної гіперхолестеринемії та впливу риб'ячого жиру. *Біол. студії*. 2011;(2):73-84.
218. Дябога ЮЗ. Вплив риб'ячого жиру на жирнокислотний склад моноацилгліцеролів і діацилгліцеролів плазми крові, печінки та скелетних м'язів щурів за експериментальної гіперхолестеринемії. *Наук. вісн. Ужгород. ун-ту*. 2012;(32):160-67.
219. Гула НМ, Маргітич ВМ. Жирні кислоти та їх похідні при патологічних станах. Київ: Наук думка;2009. 336 с.
220. Гула НМ, Лизогуб ВГ, Хоменко ЖА. Вазоактивні метаболіти арахідонової кислоти в патогенезі гіпертонічної хвороби із супутнім ожирінням: можливі механізми та клінічне значення. *Укр. кардіол. журн*. 2002;(5):38-41.
221. Калачнюк Л, Мельничук Д, Калачнюк Г. Молекулярні механізми регулювання синтезу, метаболізму й секреції ліпопротеїдів у клітинах печінки. *Вісн. Львів. ун-ту*. 2004;(38):3-20.

222. Рівіс ЙФ, Янович НЄ. Обмін жирних кислот у печінці та ріст коропів за різного рівня цинку та міді у комбікормі. Наук. вісн. ЛНУВМБГ ім. Гжицького. 2014;(3):264-73.
223. Шадрін ОГ, Гайдучик ГА. Жирно-кислотний спектр крові та шляхи корекції його порушень у дітей раннього віку з харчовою алергією. Современ. педиатрия. 2016;(1):111-115.
224. Fernandez ML, West KL. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. J Nutr. 2005 Sep;135(9):2075-8.
225. Gillies PJ, Bhatia SK, Belcher LA, Hannon DB, Thompson JT, Vanden Heuvel JP. Regulation of inflammatory and lipid metabolism genes by eicosapentaenoic acid-rich oil. J Lipid Res. 2012 Aug;53(8):1679-89.
226. Heyningen C, Cozma I, Heyningen C, Arasaradnam M. Lipoprotein-lipase deficiency: treatment with omega-3 fatty acids and colestyramine for severe gestational hypertriglyceridaemia and follow up over twenty years. Int J Case Rep Med. 2013;7:1-7.
227. 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.
228. Ковальчук ІМ, Ковальчук СМ, Ривіс ЙФ. Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів тканин міокарда, печінки та плазми крові щурів за умов введення донора гідроген сульфід. В: Збірник тез наук. робіт учасників міжнар. наук.-практ. конф. Здоров'я людини у сучасному світі: питання медичної науки та практики; 2017 Трав 19-20; Одеса. Одеса; 2017. с. 97-100.
229. Jump DB, Depner CM, Tripathy S. Omega-3 fatty acid supplementation and cardiovascular disease. J Lipid Res. 2012 Dec;53(12):2525-45.
230. Kar S, Wong M, Rogozinska E, Thangaratinam S. Effects of omega-3 fatty acids in prevention of early preterm delivery: a systematic review and meta-

- analysis of randomized studies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016 Mar;198:40-6.
231. Kusunoki C, Yang L, Yoshizaki T, Nakagawa F, Ishikado A, Kondo M, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid has an anti-oxidant effect via the Nrf-2/HO-1 pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013 Jan 4;430(1):225-30.
232. Liu X, Xue Y, Liu C, Lou Q, Wang J, Yanagita T, et al. Eicosapentaenoic acid-enriched phospholipid ameliorates insulin resistance and lipid metabolism in diet-induced-obese mice. *Lipids Health Dis.* 2013 Jul 23;12:109.
233. Muir R, Ballan J, Clifford B, McMullen S, Khan R, Shmygol A, et al. Modelling maternal obesity: the effects of a chronic high-fat, high-cholesterol diet on uterine expression of contractile-associated proteins and *ex vivo* contractile activity during labour in the rat. *Clin Sci.* 2016;130(3):183-92.
234. Okuyama H. High n-6 to n-3 ratio of dietary fatty acids rather than serum cholesterol as a major risk factor for coronary heart. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2001;103(418):418-22.
235. Siasos G, Tousoulis D, Oikonomou E, Zaromitidou M, Verveniots A, Plastiras A, et al. Effects of omega-3 fatty acids on endothelial function, arterial wall properties, inflammatory and fibrinolytic status in smokers: a cross over study. *Int J Cardiol.* 2013 Jun 20;166(2):340-6.
236. Scislowski V, Durand D, Gruffat D, Bauchart D. Dietary linoleic acid-induced hypercholesterolemia and accumulation of very light HDL in steers. *Lipids.* 2004 Feb;39(2):125-33.
237. Wong-Ekkabut J, Xu Z, Triampo W, Tang IM, Tieleman DP, Monticelli L. Effect of lipid peroxidation on the properties of lipid bilayers: a molecular dynamics study. *Biophys J.* 2007 Dec 15;93(12):4225-36.
238. Yang YC, Lii CK, Wei YL, Li CC, Lu CY, Liu KL, Chen HW. Docosahexaenoic acid inhibition of inflammation is partially via cross-talk between Nrf2/heme oxygenase 1 and IKK/NF- κ B pathways. *J Nutr Biochem.* 2013;24(1):204-12.

239. Benes LB, Bassi MH, Davidson NS. Omega-3 carboxylic acids monotherapy and combination with statins in the management of dyslipidemia. *Vasc Health Risk Manag.* 2016 Dec 12;12:481-90.
240. Bełtowski J. Endogenous hydrogen sulfide in perivascular adipose tissue: role in the regulation of vascular tone in physiology and pathology. *Can J Physiol Pharmacol.* 2013 Nov;91(11):889-98.
241. Corre I, Niaudet C, Paris F. Plasma membrane signaling induced by ionizing radiation. *Mutat Res.* 2010 Apr-Jun;704(1-3):61-7.
242. Іванушко ЯГ, Гриневич ЮП. Дія різних доз рентгенівського випромінювання на вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів у печінці щурів. *Ядерна фізика та енергетика.* 2009;10(2):193-5.
243. Ільницька ХМ, Дацюк ЛО, Склярів ОЯ. Вплив стресу на тлі низькоінтенсивного рентгенівського опромінювання на нітрозо-оксидативні процеси органів травлення та корегуючи дія вітаміну Е у щурів. *Клініч. та експерим. патол.* 2017;16:125-31.
244. 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: SMARTLION 2018. Program and Abstracts book 2nd Symposium on innovation in medicine; 2018 Okt 11-13; Lviv, Ukraine. Lviv; 2018. p. 69-70.
245. 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. *Експерим. і клініч. медицина.* 2018;(2-3):5-15.
246. Костюк С, Бусенко О. Вплив гама-опромінювання на жирнокислотний склад загальних ліпідів шкіри кролів. *Вісн. Київ. нац. ун-ту ім. Тараса Шевченка. Біологія.* 2014;(3):34-6.
247. Савчук ГГ, Мардар ГІ, Гриневич ЮП. Динаміка змін біохімічних показників сироватки крові щурів за дії малих доз рентгенівського

- опромінення та препарату Ерсол. Радіоекологія та радіобіологія. 2002;(1):131-8.
248. Журавльов О, Швайко С, Дмитроца О, Бурбан Л. Особливості реакції серцево-судинної системи на дію іонізуючого випромінювання. Наук. вісн. Східноєвроп. нац. ун-ту імені Лесі Українки. Біологічні науки. 2016;(7):184-94.
249. Іванушко ЯГ, Гриневич ЮП, Чоботько ГМ. Окиснювальна модифікація білків печінки щурів за умов дії рентгенівського випромінювання. Збірник Наукових праць Інституту ядерних досліджень. 2005;(3):144-8.
250. Серкіз ЯІ, Лавренчук ГЙ, Індик ВМ, Родіонова НК, Липська АІ, Дрозд ІП, та ін. Біологічна дія малих доз іонізуючої радіації. В: Шляхи та перспективи розвитку експериментальної онкології в Україні. Київ: ДІА; 2001. с. 177-90.
251. Baker JE, Fish BL, Su J, Haworth ST, Strande JL, Komorowski RA, et al. Gy total body irradiation increases risk of coronary sclerosis, degeneration of heart structure and function in a rat model. *Int J Radiat Biol.* 2009 Dec;85(12):1089-100.
252. Basselet B, Rombouts C, Mohammed AB, Baatout S, Aerts A. Cardiovascular diseases related to ionizing radiation exposure, oxidative stress and epigenetic programming of health and disease. *Radiation Res.* 2017;188(4.2):525-38.
253. Caetano J, Delgado Alves J. Heart rate and cardiovascular protection. *Eur J Int Med.* 2015;26(4):217-22.
254. Ezz MK, Ibrahim NK, Said MM, Farrag MA. The beneficial radioprotective effect of tomato seed oil against gamma radiation-induced damage in male rats. *J Diet Suppl.* 2018 Nov 2;15(6):923-38.
255. Бабінець ЛС, Галабіцька ІМ. Оксидативний стрес і система антиоксидантного захисту в патогенезі формування терапевтичної патології. Здобутки клініч. і експерим. мед. 2013;(1):7-10.

256. Гжегоцький МР, Ковальчук ІМ, Ковальчук СМ. Вплив різних доз радіації на показники вільнорадикального гомеостазу різних органів. В: Збірник матеріалів міжнар. наук.-практ. конф. Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики; 2015 Бер 13-14; Дніпропетровськ. Дніпропетровськ; 2015. с. 59.
257. Колесова Н.А., Коршун М.М., Омельчук С.Т. Особенности изменения энергообразующих метаболических путей и структуры жизненно важных органов экспериментальных животных при действии на организм комплекса вредных факторов окружающей среды. Довкілля та здоров'я. 2001;(3):9-12.
258. Коломійчук ТВ, Макаренко ОА, Чернов НК. Стан антиоксидантної системи організму щурів в умовах опромінення. Фізіол. журн. 2019;65(3, дод):108.
259. Коршун ММ, Колесова НА, Ткаченко П, Литвиненко ВІ. Закономірності вільно-радикального окиснення та енергетичного обміну в життєво важливих органах експериментальних тварин при тривалій поєднаній дії малих доз іонізуючої радіації та хімічних забруднювачів ґрунту. Соврем. пробл. токсикол. 2001;(1):32-8.
260. Костюк СС. Вплив гама-опромінення на активність ферментів антиоксидантної системи кролів. Біологія та валеологія. 2014;(16):16-20.
261. Grippo AJ, Johnson AK. Stress, depression, and cardiovascular dysregulation; a review of neurobiological mechanisms and the integration of research from preclinical disease models. Stress. 2009 Jan;12(1):1-21.
262. Курас АМ, Ерстенюк АМ. Активність ферментів енергетичного обміну в експериментальних тварин за умов дії ксенобіотиків. Біологія тварин. 2014;16(14):193.
263. Мардашко ОО, Дімова АА, Степанов ГФ, Макулькін РФ. Човникова функція малатдегідрогеназ у м'язах експериментальних тварин. Одеський мед. журн. 2011;(2):9-13.
264. Чоботько ГМ, Лавренчук ГЙ, Гурандо СР, Теплухіна ЗГ, Іванушко

- ЯГ, Галичська НЮ, та ін. Експериментальні дослідження мітохондріальної дисфункції в умовах впливу іонізуючого випромінювання. В: Віддалені наслідки впливу іонізуючого випромінювання. Київ: НІЧЛАВА; 2007. с. 71.
265. Coleman MA, Sasi SP, Onufrak J, Natarajan M, Manickam K, Schwab J, Low-dose radiation affects cardiac physiology: gene networks and molecular signaling in cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015 Dec 1;309(11):H1947-63.
266. Семенихіна ОМ, Струтинська НА, Будько АЮ, Вавілова ГЛ, Сагач ВФ. Вплив донора сірководню NaHS на функціональний стан дихального ланцюга мітохондрій серця щурів. *Фізіол. журн*. 2013;59(2):9-17.
267. Wang X, Wang Q, Guo W, Zhu YZ. Hydrogen sulfide attenuates cardiac dysfunction in a rat model of heart failure: a mechanism through cardiac mitochondrial protection. *Biosci Rep*. 2011;31(2):87-98.
268. Stein A, Bailey SM. Redox biology of hydrogen sulfide: implications for physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Redox Biol*. 2013;1(1):32-39.
269. Fu M, Zhang W, Wu L, Yang G, Li H, Wang R. Hydrogen sulfide (H₂S) metabolism in mitochondria and its regulatory role in energy production. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Feb 21;109(8):2943-8.
270. Feinendegen LE. Quantification of adaptive protection following low-dose irradiation. *Health Phys*. 2016 Mar;110(3):276-80.
271. Yang G, Li W, Jiang H, Liang X, Zhao Y, Yu D, et al. Low-dose radiation may be a novel approach to enhance the effectiveness of cancer therapeutics. *Int J Cancer*. 2016 Nov 15;139(10):2157-68.
272. Wang B, Katsube T, Begum N, Neno M. Revisiting the health effects of psychological stress-its influence on susceptibility to ionizing radiation: a mini-review. *J Radiat Res*. 2016 Jul;57(4):325-35.
273. Kutik S, Guiard B, Meyer HE, Wiedemann N, Pfanner N. Cooperation of translocase complexes in mitochondrial protein import. *J Cell Biol*. 2007 Nov 19;179(4):585-91.

274. Lanz C, Ledermann M, Slavík J, Idle JR. The production and composition of rats sebum is unaffected by 3 Gy gamma radiation. *Int J Radiat Biol.* 2011 Apr; 87(4): 360-71.
275. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР, Ковальчук СМ, Остапів ДД. Активність ензимів енергетичного обміну в тканинах печінки та міокарда тварин за дії донора сірководню та радіації. *Експерим. та клініч. фізіол. та біохім.* 2019;(1):18-25.
276. Nicholls P, Marshall DC, Cooper CE, Wilson MT. Sulfide inhibition of and metabolism by cytochrome c oxidase. *Biochem Soc Transactions.* 2013;41:1312-6.
277. Olson KR, Gao Y, DeLeon ER, Arif M, Arif F, Arora N, et al. Catalase as a sulfidesulfur oxido-reductase: An ancient (and modern?) regulator of reactive sulfur species (RSS). *Redox Biol.* 2017;12:325-39.
278. Mavragani IV, Laskaratou DA, Frey B, Candéias SM, Gaipf US, Lumniczky K, et al. Key mechanisms involved in ionizing radiation-induced systemic effects. A current review. *Toxicol Res (Camb).* 2016 Jan 1;5(1):12-33.
279. Pan LL, Liu XH, Shen YQ, Wang NZ, Wu D, Xiong QH, et al. Inhibition of NADPH oxidase 4-related signaling by sodium hydrosulfide attenuates myocardial fibrotic response. *Int J Cardiol.* 2013;168(4):3770-8.
280. Reisz JA, Bansal N, Qian J, Zhao W, Furdui CM. Effects of ionizing radiation on biological molecules – mechanisms of damage and emerging methods of detection. *Antioxid Redox Signal.* 2014 Jul 10;21(2):260-92.
281. Pollycove M, Feinendegen LE. Biologic responses to low doses of ionizing radiation: detriment versus hormesis. *J Nuclear Med.* 2001;42(9):26N-36N.
282. Panagaki T, Randi EB, Augsburg F, Szabo C. Overproduction of H₂S, generated by CBS, inhibits mitochondrial Complex IV and suppresses oxidative phosphorylation in Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019 Sep 17;116(38):18769-71.

283. Puukila S, Lemon JA, Lees SJ, Tai TC, Boreham DR, Khaper N. Impact of ionizing radiation on the cardiovascular system: A Review. *Radiat Res.* 2017 Oct;188(4.2):539-46.
284. Rodionova N, Ganzha O, Makovetska L, Druzhyna M, Muzalov I, Mikhailenko V. Effect of low dose ionising radiation and nitric oxide on the state of animal blood system. *Probl Radiac Med Radiobiol.* 2013;(18):366-372.
285. Іванушко ЯГ, Хомко ЛП. Вплив іонізуючого та лазерного випромінювання на стан печінки. *Медицина транспорту України.* 2009;(4):81-5.
286. Ruhm W, Azizova TV, Bouffler SD, Little MP, et al. Dose-rate effects in radiation biology and radiation protection. *Ann ICRP.* 2016 Jun;45(1, suppl):262-79.
287. Ruhm W, Woloschak GE, Shore RE, Azizova TV, Grosche B, Niwa O, et al. Dose and dose-rate effects of ionizing radiation a discussion in the light of radiological protection. *Radiat Environ Biophys.* 2015 Nov;54(4):379-401.
288. Tang FR, Loke WK. Molecular mechanisms of low dose ionizing radiation-induced hormesis, adaptive responses, radioresistance, bystander effects, and genomic instability. *Int J Radiat Biol.* 2015 Jan;91(1):13-27. doi: 10.3109/09553002.2014.937510.
289. Morgan WF, Bair WJ. Issues in low dose radiation biology: the controversy continues. A perspective. *Radiat Res.* 2013 May;179(5):501-10.
290. Гжегоцький МР, Ковальчук ІМ, Ковальчук СМ. Оцінка активності регуляторних систем на основі аналізу варіабельності серцевого ритму щурів за умов введення донора сірководню NaHS. *Експерим. та клініч. фізіол. та біохім.* 2016;(2):40-4.
291. Sgoifo A, Carnevali L, Alfonso Mde L, Amore M. Autonomic dysfunction and heart rate variability in depression. *Stress.* 2015;18(3):343-52. doi: 10.3109/10253890.2015.1045868.
292. Suzuki K, Yamachita S. Low-dose radiation exposure and carcinogenesis. *Jpn J Clin Oncol.* 2012 Jul;42(7):563-8.

293. Грищенко ВА, Хижняк СВ, Томчук ВА, Степанова ЛІ, Войціцький ВМ. Активність ферментів електронтранспортного ланцюга мітохондрій еритроцитів тонкої кишки і гепатоцитів при дії екзогенних чинників та використанні ліпосом. Сучасні пробл. токсикол. 2013;(1-2):59-62.
294. Graupner A, Eide DM, Instanes C, Andersen JM, Brede DA, Dertinger SD, et al. Gamma radiation a human relevant low doses rate is genotoxic in mice. *Sci Rep*. 2016 Sep 6;6:32977.
295. Kultanov BZh, Edil'baeva TT, Turmukhambetova AA, Dosmagambetova RS. Oxidative metabolism in radiation injury. *Медицина труда и промышленная экология*. 2014;(11):29-32.
296. Apaijai N, Pintana H, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Effects of vildagliptin versus sitagliptin, on cardiac function, heart rate variability and mitochondrial function in obese insulin-resistant rats. *Br J Pharmacol*. 2013 Jul;169(5):1048-57.
297. Von Borel E, Langbein J, Despres G, Hansen S, Leterrier C, Marchant-Forde J, et al. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals. A review. *Physiol Behav*. 2007 Oct 22;92(3):293-316.
298. Brown DR, Cassis LA, Silcox DL, Brown LV, Randall DC. Empirical and theoretical analysis of the extremely low frequency arterial blood pressure power spectrum in unanesthetized rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 Dec;291(6):H2816-24.
299. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР, Ковальчук СМ. Зміни параметрів варіабельності серцевого ритму експериментальних тварин у різні терміни після введення донора сірководню NaHS. В: Збірник матеріалів міжнар. наук.-практ. Конф. Сучасний вимір медичної науки та практики; 2017 Трав 12-13; Дніпро. Дніпро; 2017. с. 10-3.
300. Мукич ВВ, Ляшенко ВП, Лукашов СМ. Вегетативне забезпечення діяльності серцево-судинної системи щурів різної статі за показниками варіабельності серцевого ритму. *Фізіол. журн*. 2019;65(3, дод.):74.

301. Voronych SM, Pavlykivs'ka BM, Voronych-Semchenko NM. Physiological aspects of analysis of heart rate variability parameters in adolescents with latent hypothyroidism. *Int J of Physiol and Patophysiol*. 2012; 3(1): 29-38.
302. Hillebrand SI, Gast KB, de Mutsert R, Swenne CA, Jukema JW, Middeldorp S, et al. Heart rate variability and first cardiovascular event in populations without known cardiovascular disease: meta-analysis and dose-response meta-regression. *Europace*. 2013;15(5):742-9. doi: 10.1093/europace/eus341.
303. Renner J, Cavus E, Meybohm P, Gruenewald M, Steinfath M, Sholz J, et al. Pulse pressure variation during different loading conditions in a paediatric animal model. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2008 Mar;52(3):374-80.
304. Коваленко СО. Характеристика та теоретичні основи методів аналізу варіабельності серцевого ритму. *Укр. журн. мед., біол. та спорту*. 2017;(2): 223-33.
305. Ковальчук ІМ. Модулювальні ефекти гідроген сульфідів на жирнокислотний склад фосфоліпідів мембран міокарда та варіабельність серцевого ритму щурів за умов дії малих доз радіації. В: Вадзюка СН, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. Довкілля і здоров'я; 2018 Квіт 26-27; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018. с. 24-6.
306. Shalamay UP, Pavlykivska BM, Voronych-Semchenko NM. State of autonomus heart regulation in adolescent with light iodine deficiency and latent iron deficiency. *Deutscher Wissenschaftsherold. German Sci Herald*. 2017;4:52-7.
307. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР. Ефекти впливу донора сірководню NaHS на варіабельність серцевого ритму експериментальних тварин. *Праці НТШ. Медичні науки*. 2016;47(2):100-1.
308. Reyes del Paso GA, Langewitz W, Mulder LJ, van Roon A, Duschek S. The utility of low frequency heart rate variability as an index of sympathetic

- cardiac tone: a review with emphasis on a reanalysis of previous studies. *Psychophysiology*. 2013 May;50(5):477-87. doi: 10.1111/psyp.12027.
309. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР, Ковальчук СМ. Зміни активності регуляторних систем під впливом гідроген сульфіду та його попереднього застосування при дії радіації. В: Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з між народ. участю «Фізіологія і патологія нейроімуноендокринної регуляції»: тези доповіді. Чернівці; 2017, Том XVI, (3, ч.2):52.
310. Sacha J. Interaction between heart rate and heart rate variability. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2014 May;19(3):207-16.
311. 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 Eur Med J*. 2018;2(1): 36-43.
312. Sayin H, Chapuis B, Chevalier P, Barrios C, Julien C. Assessment of cardiac autonomic tone in conscious rats. *Auton Neurosci*. 2016 Jan;194:26-31.
313. Шиш НА. Параметри спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму у щурів. *Пробл. кріобіол. і кріомед*. 2015;25(3):235-45.
314. Воронич СМ, Павликівська БМ, Воронич-Семченко НМ. Фізіологічні аспекти аналізу показників варіабельності серцевого ритму підлітків з латентним гіпотиреозом. *Фізіол. журнал*. 2010, 65(5):53-61.
315. Клес ОВ. Функціонально-метаболічні особливості кардіоваскулярної системи за дії різних рівнів іонізуючого випромінювання (експериментальне дослідження) [автореферат]. Львів: Львів. нац. мед. ун-т імені Данила Галицького; 2008. 21 с.
316. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. *Ендокринологія*. 2003;8(1):142-43.
317. Sharma S, Singla n, Chadha VD, Dhavan DK. A concept of radiation hormesis: stimulation and antioxidant machinery in rats by low dose ionizing radiation. *Hell J Nucl Med*. 2019 Jan-Apr;22(1):43-8.

318. Abdelrazaak AB, El-Missiry MA, Ahmed MT, Elnady BF. Effects of low dose X-rays on the liver of whole-body irradiated rat. *Int J Radiat Biol.* 2019 Mar;95(3):264-73.
319. Maqsdur Rashid A, Ramaligman L, Al-Javadi A, Moustaid-Moussa N, Moussa H. Low dose radiation, inflammation, cancer and chemoprevention. *Int J Radiat Biol.* 2019 Apr;95(4):506-15.
320. Khizhniak SV, Stepanova LI, Grubskaya LV, Voitsitskiy VM. The functional state of the mitochondrial respiratory chain of the small intestine enterocytes of the rats under the low dose rate X-ray total external exposure. *Radiat Biol Radioecol.* 2013 Nov-Dec;53(6):592-7.
321. Кіркiлевський СІ, Фридель РІ, Крахмальов ПС, Кондрацький ЮМ. Сучасні підходи до неад'ювантної терапії хворих на рак стравоходу. *Клініч. онкологія.* 2015;(3):18-22.
322. Сафронова ОВ, Удатова ТВ, Кметюк ЛВ. Можливості використання даних магнітно-резонансної томографії для планування променевої терапії у хворих на рак передміхурової залози. *Радіологічний вісник.* 2017;(3-4):91.
323. Галай ОО, Процик ВС. Вплив основних прогностичних факторів на ефективність передопераційної консервативної терапії у хворих з місцево-розповсюдженим раком слизової оболонки порожнини рота і ротоглотки. *Клініч. онкологія.* 2014;(3):50-2.
324. Баєвський РМ, Іванов ГГ. Варіабельність серцевого ритму: теоретичні аспекти та можливість клінічного застосування. *Ультразвук. та функціонал. діагностика.* 2001;(3):108-27.
325. Гжегоцький МР, Паніна ЛВ, Ковальчук СМ. Метод оцінки функціонального стану експериментальних тварин на основі аналізу варіабельності серцевого ритму. *Укр. мед. альманах.* 2009;12(2, дод.):187-90.
326. 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. 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.
327. Bergmeyer HU, editors. Methods of enzymatic analysis. New York: Verlag Chemie; 1983. Vol. 2. p. 273-86.
328. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr A, Randall RJ. Protein measurement with the Folin Fenol reagent. J Biol Chem. 1951 Nov;193(1):265-75.
329. Кочетов ГА. Практическое руководство по энзимологии. М.: Высшая школа; 1980. 272 с.
330. Влізло ВВ, Федорук РС, Ратич ІБ, Макар ІА, Віщур ОІ, Шаран ММ, та ін. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів; 2012. 762 с.
331. Орехович ВН. Современные методы в биохимии. Москва: Медицина; 1977. 392 с.
332. Рівіс ЙФ, Шелевач АВ, Федак ВВ, Гопаненко ОО, Саранчук П. Кількісні хроматографічні методи визначення окремих ліпідів і жирних кислот у біологічному матеріалі. Львів: Сполом; 2017. 160 с.
333. Rodgers JL, Nicewander WA. Thirteen ways to look at the correlation coefficient. Am statist. 1988;42(1):59-66.
334. 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 applications in various fields of research; 2018 Jun 18-22; Ohrid. Ohrid; 2018. p. 271.
335. 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. Вісн. пробл. біол. і мед. 2018;(3):118-24.
336. Ковальчук ІМ, Гжегоцький МР, Ковальчук СМ. Ефекти застосування донора сірководню за умов впливу малих доз іонізуючого випромінювання. Фізіол. журн. 2019;65(3, дод.: Матеріали 20-го з'їзду

Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю.):75.

337. 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. Вісн. пробл. біол. та мед. 2018;2(1):130-37.
338. 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. Експерим. та клініч. фізіол. та біохім. 2018;(3):76-83.
339. Гжегоцький МР, Ковальчук ІМ. Оцінка ефективності дії гідроген сульфід у впливу радіації на основі показників жирнокислотного складу фосфоліпідів різних органів: інформаційний лист № 189-2019/ЛНМУ. Київ, 2019. 4 с.

Додаток А

Інформаційний лист

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Український центр наукової медичної інформації
та патентно-ліцензійної роботи
(Укрмедпатентінформ)

ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СФЕРІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№ 189 - 2019

Випуск 1 з проблеми

«Лабораторна діагностика»

Підстава: рецензія експерта з групи
експертів МОЗ України

НАПРЯМ ВПРОВАДЖЕННЯ:
ДІАГНОСТИКА

і
і
і
і
і
і
і
і

**ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ДІЇ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ ЗА ВПЛИВУ РАДІАЦІЇ НА ОСНОВІ
ПОКАЗНИКІВ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ФОСФОЛІПІДІВ РІЗНИХ ОРГАНІВ**

УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ

МОЗ УКРАЇНИ

А В Т О Р И:

ГЖЕГОЦЬКИЙ М.Р.

КОВАЛЬЧУК І.М.

м. Київ

Суть впровадження: спосіб оцінки ефективності дії гідроген сульфід у впливу радіації на основі показників жирнокислотного складу фосфоліпідів тканин міокарда, печінки та плазми крові.

Пропонується для впровадження в науково-дослідних лабораторіях вищих медичних навчальних закладів як чутливий метод оцінки ефективності впливу гідроген сульфід на жирнокислотний склад фосфоліпідів тканин міокарда, печінки та плазми крові за дії іонізуючого випромінювання.

Гідроген сульфід, який належить до газомедіаторів, може реалізовувати свої ефекти через вплив на мембранозалежні процеси. Функціонально-метаболічний стан мембран, в свою чергу, значною мірою визначається співвідношенням різного типу насичених і ненасичених жирних кислот у складі фосфоліпідів. Ліпідний компонент біомембран забезпечує не лише структурні особливості функціонування клітин, а також створює оптимальні умови для метаболізму мультиензимних та транспортних систем. Дисбаланс жирнокислотного складу може бути ланкою патогенетичного механізму розвитку функціонально-метаболічних розладів.

Дія низьких доз іонізуючого випромінювання проявляється значними змінами структури та динамічної активності жирнокислотного складу, міжліпідних та білково-ліпідних взаємодій. Клітинні та субклітинні структури першими зазнають впливу пошкоджувальних чинників, зокрема, іонізуючого випромінювання у малих дозах. Тому актуальним є дослідження можливості модифікації компенсаторно-приспосувальних реакцій за дії радіації при залученні паракринних регуляторних H_2S -залежних механізмів.

Методика визначення.

Експериментальне дослідження проводилося на 30-ти статевозрілих щурах. У тварин дослідних і контрольної груп визначали показники жирнокислотного складу фосфоліпідів тканин міокарда, печінки та плазми крові за методикою Й. Ф. Рівіса з використанням газорідинного хроматографа «Chrom-5». Дослідження проводили через 30 хв (I група), і 1 добу (II група) після введення донора гідрогенсульфіду NaHS; через 1 добу після опромінення (III група) та через 1 добу після введення NaHS + радіація (IV група). NaHS вводили інтраперитонеально дозою 7,4 мг/кг (Sigma Aldrich, USA). Тварини відповідних дослідних груп піддавали однофракційному тотальному опроміненню поглиненою сумарною дозою 2 Гр. Тваринам контрольної групи вводили 0,9 % NaCl в аналогічному дослідним групам режимі.

За 30 хв з часу введення NaHS у всіх тканинах встановлено зростання рівня омега-3 поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) і тенденцію до зниження омега-6 ПНЖК, що виявляється у вірогідному збільшенні співвідношення омега-3/омега-6 у тканині печінки – на 10 %, у тканині міокарда – на 11 %, у плазмі крові – на 15 % щодо контролю. У всіх досліджуваних тканинах найбільшою мірою зріс рівень ейкозапентаєнової кислоти (C20:5) – омега-3 типу ПНЖК. Через 1 добу після введення NaHS співвідношення омега-3/омега-6 залишається достовірно вищим щодо контролю, незважаючи на тенденцію до зменшення стосовно попереднього терміну дії донора сірководню.

Вплив радіації дозою 2 Гр через 1 добу призводить до протилежних змін, а саме, зниження вмісту омега-3 ПНЖК, зменшення співвідношення омега-3/омега-6 відносно контролю у тканині печінки – на 12 %, у тканині міокарда – на 9 %, у плазмі крові – на 11 %.

За умов попереднього до дії радіації введення NaHS відмічено зростання рівня співвідношення омега-3/омега-6 щодо дії радіації, проте їх величини у цей термін дії не досягають показників контролю.

Висновок: збільшення співвідношення омега-3/омега-6 під впливом H_2S є позитивною ознакою змін структурно-функціональної організації клітинних мембран. Попереднє до дії радіації введення донора гідроген сульфід зумовлює часткове покращення профілю поліненасичених жирних кислот фосфоліпідів тканин міокарда, печінки та плазми крові дослідних тварин. Це може бути прогностично сприятливим показником конформаційних змін при активації H_2S -залежних механізмів пристосувальних перебудов за дії іонізуючого випромінювання.

Інформаційний лист є фрагментом НДР «Дослідження ролі системних та паракринних регуляторних механізмів у забезпеченні гомеостатування функціонально-метаболических параметрів організму за умов адаптації до дії екстремальних чинників різної природи», 0116U004510, 2016 – 2020 рр.

За додатковою інформацією звертатися до укладачів листа: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, кафедра нормальної фізіології, д-р мед. наук, проф. Гжегоцький М.Р.,

ас. Ковальчук І.М., тел. +380673719363.

Відповідальний за випуск: О. Мислицький2

Підписано до друку 17.07.2019. Друк, арк. 0,13. Обл.-вид. арк. 0,08. Тир. 112 прим.

Замовлення № 86. Фотоофсетна лаб. Укрмедпатентінформ МОЗ України,

04655, Київ, проспект Степана Бандери, 19 (4 поверх).

Додаток Б
Акти впровадження



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Зміни жирнокислотного складу тканин міокарда та варіабельність серцевого ритму за умов застосування донора сірководню.
2. **Установа, автор:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра нормальної фізіології, м. Львів, 79010, вул. Пекарська, 69, ас. Ковальчук І.М., проф. Гжегоцький М.Р.
3. **Джерело інформації:** І.М. Ковальчук, М.Р. Гжегоцький, С.М. Ковальчук. 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 – Вип. 3 (145), ст.118-124.
4. **Де впроваджено:** в навчальний процес, лекційний курс кафедри фізіології ДВНЗ Івано-Франківський національний медичний університет.
5. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань фізіологічних механізмів впливу гідрогенсульфіду на жирнокислотний склад фосфоліпідів мембран та варіабельність серцевого ритму.
6. **Термін впровадження:** 2018-2019 навчальний рік.
7. **Зауваження:** немає.

«8» квітня 2019 р.

Відповідальний за впровадження

Зав. кафедри фізіології

д.мед.н.,

проф. Воронич-Семченко Н.М.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Вплив гідрогенсульфіду на жирнокислотний склад фосфоліпідів тканин міокарда, печінки та плазми крові.
2. **Установа, автор:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра нормальної фізіології, м. Львів, 79010, вул. Пекарська, 69, ас. Ковальчук І.М., проф. Гжегоцький М.Р.
3. **Джерело інформації:** І.М. Ковальчук, М.Р. Гжегоцький, С.М. Ковальчук. 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, Харків, 2018, № 2-3 (79-80), ст. 5-15.
4. **Де впроваджено:** в навчальний процес, лекційний курс кафедри фізіології імені Я.Д. Кіршенבלата Буковинського державного медичного університету.
5. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань фізіологічних механізмів впливу гідрогенсульфіду на жирнокислотний склад фосфоліпідів мембран.
6. **Термін впровадження:** 2018- 2019 навчальний рік.
7. **Зауваження:** немає.

«24» квітня 2019 р.

Відповідальний за впровадження

Зав. кафедри фізіології
ім. Я.Д. Кіршенבלата
д.мед.н., проф. Ткачук С.С.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної роботи
ДВНЗ Тернопільський державний медичний університет
ім. І.Я.Горбачевського МОЗ України
д.мед.н., проф. Шульгай А.Г.



2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів дисертаційної роботи на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) Ковальчук Ірини Миколаївни «Вплив донора сірководню на функціонально-метаболічний стан міокарда і печінки та варіабельність серцевого ритму експериментальних тварин за умов дії іонізуючого випромінювання» (нормальна фізіологія – 14.03.03) у навчальний процес кафедри фізіології з основами біоетики та біобезпеки ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я.Горбачевського МОЗ України».

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я Укрмедпатентінформу МОЗ України № «Вплив гідрогенсульфіду на жирнокислотний склад фосфоліпідів тканин міокарда, печінки та плазми крові».
2. **Установа, автор:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра нормальної фізіології, м. Львів, 79010, вул. Пекарська, 69, ас. Ковальчук І.М., проф. Гжегоцький М.Р.
3. **Де впроваджено:** в навчальний процес, лекційний курс кафедри фізіології ДВНЗ Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я.Горбачевського
4. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань фізіологічних механізмів впливу гідрогенсульфіду на жирнокислотний склад фосфоліпідів мембран.
5. **Термін впровадження:** 2018-2019 навчальний рік.
6. **Зауваження:** немає.

«15» квітня 2019 р.

Відповідальний за впровадження

Зав. кафедри фізіології
з основами біоетики та
біобезпеки

д.мед.н., проф. Вадзюк С.Н.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор ДЗ

«Дніпропетровська медична

Академія МОЗ України»

Член-кор. НАМН України,

д.мед.н. проф. Перцева Т.О.



«25» серпень 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Оцінка активності регуляторних впливів автономної нервової системи на основі аналізу ВСР за умов дії гідрогенсульфіду.
2. **Установа, автор:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра нормальної фізіології, м. Львів, 79010, вул. Пекарська, 69, ас. Ковальчук І.М., проф. Гжегоцький М.Р.
3. **Джерело інформації:** Гжегоцький М.Р., Ковальчук І.М., Ковальчук С.М. 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), ст. 40-44.
4. **Де впроваджено:** в навчальний процес, лекційний курс кафедри фізіології Дніпропетровської медичної академії.
5. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань фізіологічних механізмів впливу гідрогенсульфіду на показники варіабельності серцевого ритму.
6. **Термін впровадження:** 2018-2019 навчальний рік.
7. **Зауваження:** немає.

«25» серпень 2019 р.

Відповідальний за впровадження

Зав. кафедри фізіології

ДЗ «ДМА»

д.мед.н., проф. Родинський О.Г.

Додаток В

Відомості про апробацію дисертації

1. Міжнародна науково-практична конференція «Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики» (Дніпропетровськ, Україна, 2015 р.) – публікація тез.
2. Fourth international conference on radiation and application in various fields of research. (Niš, Serbia, 2016) – abstract, poster session.
3. Міжнародна науково-практична конференція «Сучасний вимір медичної науки та практики» (Дніпро, Україна, 2017 р.) – публікація тез.
4. Міжнародна науково-практична конференція «Здоров'я людини у сучасному світі: питання медичної науки та практики» (Одеса, Україна, 2017 р.) – публікація тез.
5. 2 Regional Congress of the Physiological Societies and 4 Congress of Croatian Physiological Society (Dubrovnik, Croatia, 2017) – abstract, poster session.
6. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Фізіологія і патологія нейроімуноендокринної регуляції» (Чернівці, Україна, 2017 р.) – публікація тез.
7. Sixth international conference RAD 2018 (Macedonia, 2018) – abstract.
8. Науково-практична конференція «Здоров'я і довкілля» (Тернопіль, Україна, 2018 р.) - публікація тез.
9. 2nd Symposium on innovation in medicine SMART LION (Lviv, Ukraine, 2018) – abstract.

Додаток Д

НАУКОВІ ПРАЦІ, ОПУБЛІКОВАНІ ЗА ТЕМОЮ ДИСТЕРТАЦІЇ**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати 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 пубкацію 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 із співавторами визначено мету роботи та напрямок дослідження, виконано експериментальну частину та проведено статистичний аналіз отриманих даних, сформульовано висновки та підготовлено статтю до друку).

Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

8. Гжегоцький МР, Ковальчук ІМ, Ковальчук СМ. Вплив різних доз радіації на показники вільно радикального 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. In: 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. Праці НТШ. Медичні науки. 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 сульфідів та його попереднього застосування при дії радіації. Клінічна та експериментальна патологія. 2017; 3 (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. Модулювальні ефекти гідроген сульфідів на жирнокислотний склад фосфоліпідів мембран міокарда та варіабельність

серцевого ритму щурів за умов дії малих доз радіації. В: Вадзюк 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; 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).*

Праці, які додатково відображають наукові результати дисертації

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).*