

The research of peritrichous ciliates population density dependence on environment active reaction is done. In the research period pH index varied within 6,05-8,51. The dependence of population density on environment active reaction is not proved statistically ( $r = -0,25$ ,  $p = 0,83$ ).

So, optimum conditions for peritrichia functioning in the river Uzh were temperature within 14-22 °C and dissolved oxygen content 8,4-10,3 mg/dm<sup>3</sup>. The direct dependence of peritrichous ciliates population density on the temperature ( $r = 0,74$ ,  $p = 0,005$ ) and the dissolved oxygen content ( $r = 0,51$ ,  $p = 0,001$ ) was established.

*Key words: peritrichous ciliates, peritrichia, population density, correlation coefficient, physical and chemical parameters of water*

Рекомендує до друку

Надійшла 01.02.2017

В. З. Курант

УДК 615.9+616.692+613.84]-092.4

П. Г. ЛИХАЦЬКИЙ, Л. С. ФІРА

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

## **ЕНДОГЕННА ІНТОКСИКАЦІЯ У СТАРЕЧИХ ЩУРІВ, ОДНОЧАСНО УРАЖЕНИХ ТЮТЮНОВИМ ДИМОМ ТА НІТРИТОМ НАТРІЮ**

В експерименті на старечих щурах доведено, що ураження нітритом натрію на тлі 15 денної інтоксикації тютюновим димом призводить до вираженого збільшення вмісту нітрит-йону у всіх органах досліджуваних тварин. Розвиток вільнорадикального процесу утворення нітрит-йону супроводжується порушенням проникності еритроцитарних мембран та збільшенням вмісту метгемоглобіну у крові. Найбільш виражені зміни спостерігаються через 72 год після потрапляння нітриту натрію в організм тварин, отруєних тютюновим димом. Такі порушення призводять до поглиблення ендогенної інтоксикації, на що вказує підвищений вміст молекул середньої маси у сироватці крові. Доведено, що отруєння тютюновим димом значно підсилює токсичний вплив нітриту натрію на організм.

*Ключові слова: тютюновий дим, нітрит натрію, метгемоглобіє, еритроцитарні мембрани, ендогенна інтоксикація*

**Вступ.** Куріння цигарок серед населення щороку зростає. Сьогодні у світі налічується біля 1,3 млрд. людей, що курять, у країнах СНД — біля 29% дорослого населення, у країнах Європи — до 28%. За споживанням цигарок Україна посідає 17 місце серед усіх країн світу, за останні 10 років воно збільшилося у 5 разів. В Україні курить кожен другий чоловік і кожна п'ята жінка [3, 7]. За повідомленнями Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), від такої найбільш поширеної шкідливої звички, як тютюнопаління, у світі щорічно помирають 6,8 млн людей, в тому числі в Україні — 120 тис. Активні і пасивні курці вдихають однакову кількість токсинів, що однаково впливає на здоров'я людини [1].

В умовах прогресування техногенного забруднення довкілля одним із пріоритетних напрямків токсикології та медицини залишається вивчення особливостей та механізмів комбінованої дії ксенобіотиків - факторів ризику багатьох екологічно залежних хвороб. Серед найпоширеніших ксенобіотиків, як свідчать дані епідеміологічних досліджень, - пестициди, нітрити та нітрати, солі важких металів, галогенопохідні, гідразин та інші [6]. У сучасній літературі достатньо широко висвітлені особливості, характер та механізм дії подвійних та потрійних комбінацій зазначених вище речовин на рівні смертельних доз. Однак накопиченої

інформації недостатньо для прогнозування наслідків дії їх складних багатокомпонентних комбінацій на рівні порогових та підпорогових доз, під впливом яких знаходиться населення.

Надлишкове використання азотних добрив і викиди азоту промисловими підприємствами призводять до забруднення навколишнього середовища нітратами, які легко перетворюються в нітриту. Різко зростає їх вміст у харчових продуктах, воді. Цьому сприяє і широке використання нітратів у харчовій промисловості та побуті [6]. Натрію нітрит - класичний метгемоглобіноутворювач, за його дії на організм розвивається гемічна гіпоксія. Згідно з деякими даними, натрію нітрит у контакті з оксигемоглобіном призводить до утворення активних радикалів, що пошкоджують біологічні системи, проявляють виражену цитотоксичну дію та ініціюють процеси пероксидного окиснення [10, 11].

Враховуючи вищесказане, доцільним було вивчити вплив нітриту натрію на організм щурів, отруєних тютюновим димом.

Метою дослідження було вивчення рівня показників ендогенної інтоксикації у старечих щурів, уражених нітритом натрію на тлі 15 денної інтоксикації тютюновим димом.

### Матеріал і методи досліджень

Для проведення досліджень використовували білих безпородних щурів-самців, які утримувались на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету.

Щури були розділені на дві групи: 1-а інтактний контроль, 2 - старечі тварини (дослідна група) масою тіла 300-320 г. Дослідні тварини були поділені ще на 3 групи. Одній із них за 24 год до закінчення експерименту вводили натрію нітрит у дозі 45 мг/кг маси тіла, другій - натрію нітрит вводили за 72 год до евтаназії. Третя група щурів піддавалась токсичному впливу тільки тютюнового диму. Модель залежності від хронічної дії тютюнового диму створювали за допомогою герметичної камери об'ємом 30 літрів, що дозволило обкурювати тварин у вільній поведінці. Тютюновий дим, що утворювався від горіння 6 сигарет «Прима срібна (синя)» і(з вмістом 0,6 мг нікотину та 8 мг смоли), через отвори у камері подавався всередину неї. У камері одночасно знаходилося 6 тварин протягом 6 хвилин. Тварини контрольної групи також знаходилися на протязі 6 хвилин у герметичній камері, але не підлягали дії тютюнового диму.

Через 15 діб від початку ураження тварин тютюновим димом їх виводили з експерименту шляхом евтаназії під тіопенталовим наркозом.

Для дослідження брали кров, сироватку крові, печінку, легені, нирки та міокард тварин. Із дослідних тканин готували 10 % гомогенат на фізіологічному розчині.

Вміст нітрит-йону ( $\text{NO}_2^-$ ) визначали за реакцією Гріса [10], вміст метгемоглобіну (MetHb) оцінювали в реакції з ацетонціангідрином [14], цитоліз еритроцитарної мембрани досліджували за еритроцитарним індексом інтоксикації (ЕІІ) [13], вміст молекул середньої маси ( $\text{CM}_1$  та  $\text{CM}_2$ ) в реакції осадження трихлороцтовою кислотою [9].

При проведенні досліджень користувались загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001) та узгодженими з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, Франція, 1985) [5]. Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою програми "STATISTICA 6,0" з використанням параметричного критерію Стьюдента та непараметричного критерію Вілкоксона для зв'язаних вибірок. Зміни вважали достовірними при  $p \leq 0,05$  [8].

### Результати досліджень та їх обговорення

Надходження в організм нітратів і нітритів супроводжується утворенням надмірної кількості оксиду азоту (NO). Високі концентрації NO здатні ініціювати ланцюгові вільнорадикальні реакції, які створюють передумови для утворення інших активних форм нітрогену (пероксинітриту,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}_3$  та ін.), здатних викликати гіпоксичний та вільнорадикальний некробіоз. Одночасно тютюновий дим викликає активацію вільнорадикальних реакцій, зниження активності біоенергетичних процесів та розвиток гіпоксичного стану в організмі [6,12,15].

Після ураження щурів нітритом натрію на тлі 15 денної інтоксикації тютюновим димом у всіх органах старечих щурів відмічалось збільшення вмісту нітрит-йону (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст нітрит-йону в органах старечих щурів, уражених нітритом натрію на тлі 15-денної інтоксикації тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=24$ )

Групи щурів	Досліджувані тканини				
	сироватка крові, нмоль/л	печінка, нмоль/кг	нирки, нмоль/кг	легені, нмоль/кг	міокард, нмоль/кг
Інтактні щури	8,80±0,56	9,90±0,39	10,40±0,32	1,70±0,19	1,80±0,15
Уражені ТД, 15 доба	10,70±0,29*	10,50±0,38	20,30±0,63*	2,70±0,28*	2,40±0,23
Уражені ТД+24 год НН	12,80±0,25*	11,90±0,40*	20,50±0,87*	3,60±0,21*	2,90±0,15*
Уражені ТД+72 год НН	14,00±0,45*	15,80±0,66*	24,70±1,00*	3,90±0,21*	3,20±0,25*

Примітка: тут і в наступних таблицях \* - вірогідні зміни між інтактними щурами та щурами, ураженими токсикантами ( $p \leq 0,05$ )

В останній термін дослідження при комбінованій дії обох токсикантів даний показник зріс у сироватці крові та печінці на 59 %, у нирках – на 137 %, у легенях – на 129 % і в міокарді на 77 %. Всі зміни виявились вірогідними ( $p \leq 0,05$ ).

Відомо, що нітратвмісні сполуки, як сильні окисники, проявляють вплив на гематологічні показники, переводячи двовалентне залізо гемі в тривалентне, утворюючи при цьому патологічну форму гемоглобіну – метгемоглобін чи геміглобін, який неспроможний зворотньо приєднувати кисень, що в подальшому викликає гіпоксію, і є основним маркером ступеня вираженості інтоксикації нітрогенвмісними сполуками [14].

При тривалому палінні змінюються кисневий баланс крові та утилізація кисню тканинами. Окис вуглецю блокує міоглобін і призводить до порушення транспорту кисню до мітохондрій. У крові збільшується концентрація НbСО, що сприяє виникненню тканинної гіпоксії [11].

Окрім того, нормальне функціонування органів залежить від стану цитоплазматичних мембран клітин, зміна структури і функції яких порушує їх бар'єрну здатність [10] і є причиною виникнення патологічних процесів.

Доцільним, на нашу думку, було дослідити вміст метгемоглобіну та еритроцитарний індекс інтоксикації (який є маркером цілісності еритроцитарної мембрани) у крові старечих щурів, отруєних нітритом натрію на тлі інтоксикації тютюновим димом. Результати, отримані при вивченні даного показника, наведені у табл. 2.

Таблиця 2

Вміст метгемоглобіну (г/л) та еритроцитарний індекс інтоксикації (%) у крові старечих щурів, уражених нітритом натрію на тлі 15-денної інтоксикації тютюновим димом ( $M \pm m$ ;  $n=24$ )

Групи щурів	Досліджувані показники	
	Метгемоглобін	Еритроцитарний індекс інтоксикації
Інтактні щури	1,41±0,07	32,91±2,36
Уражені ТД, 15 доба	1,86±0,09*	42,50±2,04*
Уражені ТД+24 год НН	2,97±0,06*	48,75±1,07*
Уражені ТД+72 год НН	3,24±0,06*	69,37±2,36*

У всіх групах тварин спостерігалось вірогідне підвищення ( $p \leq 0,05$ ) вмісту метгемоглобіну, максимум якого відмічено на 72 год після потрапляння в організм токсикованих димом щурів нітриту натрію. Даний показник підвищився в 2,3 раза порівняно з групою інтактного контролю.

У цей же період на 36,5 % збільшилась проникність плазматичної мембрани еритроцитів. Ми спостерігали підвищення ЕП у всіх групах тварин, але найвищим він був після отруєння двома токсикантами у кінцевий термін дослідження (72 год після поступлення нітриту натрію в організм уражених димом щурів).

Таким чином, пошкодження клітинних мембран при дії токсичних чинників на організм приводить до виходу ряду ферментів, які часто руйнують власні структури клітини [10], а також компонентів, які постійно присутні у клітині в кров. В організмі відбувається деградація біомакромолекул, що призводить до утворення токсичних речовин, які несприятливо діють на інші органи й системи. За таких умов поглиблюється ендогенна інтоксикація, маркерами якої є молекули середньої маси.

У таблиці 3 наведені результати дослідження вмісту МСМ обох фракцій СМ<sub>1</sub> та СМ<sub>2</sub>.

Таблиця 3

Вміст молекул середньої маси (ум.од/л) у сироватці крові старечих щурів, уражених нітритом натрію на тлі 15-денної інтоксикації тютюновим димом (M±m; n=24)

Групи щурів	Досліджувані показники	
	СМ <sub>1</sub>	СМ <sub>2</sub>
Інтактні щури	13,66±0,61	15,33±0,67
Уражені ТД, 15 доба	18,00±1,55	20,33±1,82
Уражені ТД+24 год НН	32,00±0,73*	24,67±0,84*
Уражені ТД+72 год НН	38,33±0,91*	27,33±0,84*

У щурів, які піддавались ураженню тютюновим димом, відмічалась тенденція до підвищення вмісту МСМ обох фракцій, але вірогідних змін не виявлено. Після впливу нітриту натрію на токсикованих димом щурів, вміст даних показників вірогідно зростає (p≤0,05) і до кінця експерименту фракція СМ<sub>1</sub> підвищилась у 2,8 раза, СМ<sub>2</sub>- у 1,8 раза порівняно з нормою.

Вважається, що значне підвищення вмісту МСМ у крові при різних видах патології є прогностично несприятливим показником, тому що продукти деградації біополімерів можуть чинити виражений токсичний вплив на різні органи та тканини [2]. МСМ порушують фізико-хімічні властивості клітинних мембран і роблять їх більш доступними для різного роду пошкоджуючих впливів [4]. Вони мають різну природу, проте більшість учених вважає, що головними компонентами цієї групи сполук є пептиди, похідні глюкуронової кислоти й олігоспиртів, кініни, енкефаліни, фрагменти колагену, серотонін. Зазвичай, поява цих речовин пов'язана з інтоксикацією організму.

Таким чином, виявлене нами вірогідне збільшення вмісту даних продуктів у сироватці крові може слугувати діагностичним тестом при отруєнні організму тютюновим димом та нітритом натрію.

### Висновки

Отруєння щурів нітритом натрію на тлі 15-денної інтоксикації тютюновим димом викликає активацію вільнорадикальних процесів, зокрема у всіх органах щурів збільшується вміст нітрит-йону. Встановлено, що під дією досліджуваних токсикантів порушується проникність еритроцитарних мембран і збільшується вміст метгемоглобіну в крові, що може призвести до розвитку тканинної гіпоксії. В даних умовах нагромаджуються ендогенні токсичні продукти, які поглиблюють інтоксикацію організму. Маркерами останньої є молекули середньої маси, вміст яких виражено збільшується за дії обох токсичних чинників. Результати наших досліджень підтверджують сумачію токсичного впливу використаних ксенобіотиків.

1. Андреева Т. И. Табак и здоровье / Т. И. Андреева, К. С. Красовский. — К., 2004. — 224 с.
2. Андрейчин С. М. Сучасні уявлення про метаболічну ендогенну інтоксикацію / С.М. Андрейчин, Т.М. Голомаша // Інфекційні хвороби. — 2012. — №1 (67). — С. 84—88.
3. Балакірева О. М. Рівень поширення і тенденції вживання тютюну, алкогольних напоїв, наркотичних речовин серед учнівської молоді України: 2011 / [О. М. Балакірева, Т. В. Бондар, Ю. П. Галіч та ін.]. — К.: Укр. ін-т соц. дослідж. ім. О. Яременка. — ТОВ ВПК «ОБНОВА», 2011. — 176 с.

4. *Биохимический* аспект рассмотрения роли молекул средней массы в организме / Никольская В.А., Данильченко Ю.Д., Меметова З.Н. // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского Серия «Биология, химия». — Т. 26 (65). — 2013. № 1. — С. 139—145.
5. *Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках* // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. — 2003. — № 2 (22). — С. 108—109.
6. *Иргашев Т. А.* Влияние нитратов на организм человека и животных / Т.А. Иргашев, А. И. Каримов / (обзор). — Душанбе, «Нодир», — 2009. — 58 с.
7. *Красовський К. С.* Наслідки глобальної тютюнової епідемії / К. С. Красовський // СЕС. Профілактична медицина. — 2009. — № 4. — С. 72—74.
8. *Лапач С. Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. — К.: Морин, 2000. — 320 с.
9. *Николайчик В. В.* „Средние молекулы” — образование и способы определения / [В. В. Николайчик, В. В. Кирковский, В. М. Маини др.] // Лаб. дело. — 1989. — № 8. — С. 31—33.
10. *Паніна Л. В.* Функціональний стан еритроцитарних мембран за умов нітритної інтоксикації та профілактичного застосування олії амаранту і періодичного гіпоксичного тренування / Л.В. Паніна, М.Р. Гжегоцький, О.І. Терлецька, С.М. Ковальчук // Таврический медико-биологический вестник. — 2004. — Т. 7, № 1. — С. 43—46.
11. *Паніна Л. В.* Оцінка ендогенної інтоксикації організму за умов експериментальної гемічної гіпоксії / [Л.В. Паніна, С.М. Терлецька, С.М.Ковальчук та ін] // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. — 2008. — № 2. — С. 72—76.
12. *Пікас О. Б.* Про стан куріння цигарок у сучасних умовах, його вплив на виникнення захворювань в організмі людини / О.Б. Пікас // Буковинський медичний вісник. — 2015. — Т. 19, № 4 (76). — С. 227—230.
13. *Способ* диагностики эндогенной интоксикации / [А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун и др.] // Лаб. дело. — 1988. — № 9. — С. 22—24.
14. *Титов В. Ю.* Предполагаемый механизм развития нитрит-индуцированной метгемоглобинемии / В.Ю. Титов, Ю.М. Петренко // Биохимия. — 2005. — Т. 70, № 4. — С. 575—587.
15. *Respiratory diseases related to passive smoking* / [N. Wirth et al]. // Rev Mal Respir. - 2009. — Vol. 26, № 6. — P. 667—678.

*П. Г. Лихацький, Л. С. Фіра*

ГВУЗ “Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МОЗ Украины”

#### ЭНДОГЕННАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ У СТАРЫХ КРЫС, ОДНОВРЕМЕННО ПОРАЖЕННЫХ ТАБАЧНЫМ ДЫМОМ И НИТРИТОМ НАТРИЯ

В эксперименте на старых крысах доказано, что поражение нитритом натрия на фоне 15 дневной интоксикации табачным дымом приводит к выраженному увеличению содержания нитрит-иона во всех органах исследуемых животных. Развитие свободнорадикального процесса образования нитрит-иона сопровождается нарушением проницаемости эритроцитарных мембран и увеличением содержания метгемоглобина в крови. Наиболее выраженные изменения наблюдаются через 72 ч после попадания нитрита натрия в организм животных, отравленных табачным дымом. Такие нарушения приводят к углублению эндогенной интоксикации, на что указывает повышенное содержание молекул средней массы в сыворотке крови. Доказано, что отравления табачным дымом значительно усиливает токсическое воздействие нитрита натрия на организм.

*Ключевые слова:* табачный дым, нитрит натрия, метгемоглобин, эритроцитарные мембраны, эндогенная интоксикация

*P. G. Lykhatskyi, L. S. Fira*

I. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine

#### ENDOGENOUS INTOXICATION IN SENILE RATS, SIMULTANEOUSLY AFFECTED BY TOBACCO SMOKE AND SODIUM NITRITE

The experiments on senile rats proved that lesions of sodium nitrite along with the 15-day exposure to tobacco smoke intoxication leads to a pronounced increase in the content of nitrite-ion in all organs of treated animals. In 72 hours as a result of exposure to smoke the values for nitrite-ion increased in the serum and liver of 59 %, in the kidneys by 137 %, in lungs by 129 % in the myocardium to 77 %. All changes were significant ( $p \leq 0.05$ ).

It is known that proper organ functioning depends on the state of cytoplasmic cell membranes in general and changes in their structure and function in particular.

Our study focused on the content of methemoglobin and erythrocyte index of intoxication (which is a marker of the integrity of erythrocyte membrane) in the blood of senile rats intoxicated with sodium nitrite along with exposure to tobacco smoke intoxication.

All animal groups demonstrated a significant increase ( $p \leq 0.05$ ) in content of methemoglobin, the maximum of which was marked in 72 h after the exposure to smoke. This figure was 2.3 times higher than of the control group.

Over the same period the permeability of the plasma membrane of erythrocytes got increased by 36.5 %. The study revealed an increase of EII in all animal groups, but it reached its peak at the final stage of the experiment (in 72 hours).

Continuous exposure to toxic substances (toxicans) has adverse effects on all the organs and systems of the body. It leads to endogenous intoxication.

Rats exposed to tobacco smoking showed a tendency to higher content of MSM both fractions, but significant changes were not revealed. After exposure to sodium nitrite of toxicomane smoke, the contents of these indicators increased significantly ( $p \leq 0.05$ ) and by the end of the experiment, the fraction molecules of average weight (MAW1) increased by 2.8 times, (MAW2) – by 1.8 times compared to the norm.

Thus, we have seen a significant increase in the content of these products in the serum serving as a diagnostic test for the poisoning of the body by tobacco smoke and sodium nitrite.

The results of the study demonstrate that the poisoning by tobacco smoke significantly magnifies the toxic effects of sodium nitrite on the body.

*Key words: tobacco smoke, sodium nitrite, methemoglobin, erythrocyte membrane, endogenous intoxication*

Рекомендує до друку

Надійшла 09.02.2017

В. В. Грубінко

УДК 631.811.98:581.142:582.477

Ю. С. НАЗАРЧУК, О. Б. ПАУЗЕР

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Шампанський провулок, 2, Одеса, 65058

## **ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ РАДІФАРМ НА ПОДОЛАННЯ СПОКОЮ НАСІННЯ КИПАРИСА АРИЗОНСЬКОГО (*CUPRESSUS ARIZONICA* PARL.) ТА КИПАРИСОВИКА ЛАВСОНА (*CHAMAECYPARIS LAWSONIANA* GREENE)**

Досліджено вплив препарату Радіфарм на подолання спокою насіння *C. arizonica* та *Ch. lawsoniana* в комбінації з різноманітними способами передпосівної обробки. Показано, що при вологій стратифікації достовірно збільшується кількість загиблого насіння (до 32 %), використання сфагнуму в якості субстрату призводить до зниження енергії проростання та схожості. Збільшення схожості в 1,3 та 2,9 разів для *C. arizonica* та *Ch. lawsoniana*, відповідно, та зменшення кількості загиблого насіння виявлено при комбінації сухої стратифікації з подальшою обробкою насіння препаратом Радіфарм.

*Ключові слова: Cupressus arizonica, Chamaecyparis lawsoniana, стимулятори росту, Радіфарм, стратифікація, спокій насіння*