

## ПОКАЗНИКИ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ В ЩУРІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО УРАЖЕННЯ ТЮТЮНОВИМ ДИМОМ

*В експерименті на щурах різних вікових груп, уражених тютюновим димом, відмічено активацію процесів ліпопероксидації, яка підтверджується вірогідним збільшенням у сироватці крові, печінці та легенях вмісту ТБК-активних продуктів на 30 і 45 доби дослідження. Інтенсифікація цього процесу призводить до пригнічення активності мітохондріальних ензимів, зокрема сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази, які є ключовими маркерами процесів енергозабезпечення в організмі. Виявлено, що найбільш чутливими до дії тютюнового диму є статевонезрілі тварини.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тютюновий дим, щури, біоенергетичні процеси, вільнорадикальні процеси.

ВСТУП. За офіційною статистикою, в Україні щороку від хвороб, пов'язаних із курінням, помирає 120 тисяч чоловік. Тютюновий дим належить до найбільш агресивних "прооксидантних полютантів". Крім нікотину, в організм людини надходить понад 4000 різноманітних токсичних речовин. Сигаретний дим містить велику кількість оксидантів, до яких належать гідроксильний радикал, оксид азоту і пероксид водню [9, 12, 13]. При тривалому курінні 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 розвитку гострої циркуляторної недостатності м'язової тканини, виникнення тканинної гіпоксії [10, 11, 14].

Однією з основних причин пошкодження і загибелі клітини внаслідок дії АФК на сьогодні вважають пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) [1, 8]. Відомо, що вільні радикали відіграють важливу роль у транспорті електронів у дихальному ланцюзі, індукції утворення пор у мітохондріальній мембрані, окисному фосфорилуванні. Окисні процеси з участю активованих кисневих метаболітів – невід'ємна умова існування живих організмів. Вони виконують функцію між- і внутрішньоклітинних месенджерів, модуляторів та індукторів у біохімічній регуляції і реалізації метаболічних процесів, є найпершою та найбільш

мобільною ланкою в адаптаційній перебудові організму при екстремальних впливах [2].

Дослідженням ензимів, які беруть участь у процесах мітохондріального окиснення, приділяє увагу багато дослідників. Активність біоенергетичних процесів в організмі при різних патологічних станах вивчено досить глибоко [2, 4]. Проте в літературі немає чітких даних про активність мітохондріальних ферментів у щурів різних вікових груп за умов тривалої дії на них тютюнового диму.

Метою даної роботи було дослідити рівень процесів ліпопероксидації та активність мітохондріальних ензимів у динаміці ураження щурів різного віку тютюновим димом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для проведення досліджень використовували білих безпородних щурів-самців, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського. Тварин було поділено на три вікові категорії: перша – статевонезрілі масою 60–80 г; друга – статевозрілі масою 180–200 г; третя – старечі масою 300–320 г. Кожна вікова група складалася з двох підгруп: інтактного контролю та дослідної групи. Щурів дослідних груп протягом 45 днів піддавали впливу тютюнового диму. Модель залежності від хронічної дії тютюнового диму створювали за допомогою герметичної камери об'ємом 30 л, що дозволило обкурювати

© П. Г. Лихацький, Л. С. Фіра, О. І. Качур, 2016.

тварин у вільній поведінці. Тютюновий дим, що утворювався від горіння 6 сигарет "Прима срібна (синя)" (із вмістом 0,6 мг нікотину та 8 мг смоли), через отвори в камері подавали всередину неї. У камері одночасно перебувало 6 щурів протягом 6 хв. Тварин контрольної групи також утримували протягом 6 хв у герметичній камері, але вони не підлягали дії тютюнового диму.

Через 15, 30 та 45 діб від початку ураження тварин тютюновим димом їх виводили з експерименту шляхом евтаназії під тіопенталовим наркозом.

Для дослідження брали сироватку крові, печінку та легені тварин. Із тканини печінки та легень готували 10 % гомогенат на фізіологічному розчині.

Активність процесів ліпопероксидації оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [8] у сироватці крові, печінці та легенях піддослідних тварин. Біоенергетичні процеси оцінювали за активністю сукцинатдегідрогенази (СДГ) [4] і цитохромоксидази (ЦО) [5] в печінці та легенях щурів після 45-денного ураження тютюновим димом.

При проведенні досліджень застосовували загальні принципи експериментів на тваринах, схвалені на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001) та узгоджені з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, Франція, 1985) [3]. Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою програми STATISTICA 6,0 з використанням параметричного критерію Стьюдента [6] та непараметрич-

ного критерію Вілкоксона для зв'язаних вибірок. Зміни вважали достовірними при  $p \leq 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У наш час кількісне визначення продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові набуло важливого діагностичного значення, оскільки активація ПОЛ відіграє суттєву роль у розвитку багатьох захворювань, а також у реакціях організму на вплив різноманітних чинників довкілля. На думку ряду дослідників, про інтенсивність процесів ліпопероксидації доцільно судити за рівнем продуктів ПОЛ (ТБК-АП) [1, 7].

Ураження щурів тютюновим димом протягом 45 днів призводило до активації процесів ліпопероксидації у всіх органах піддослідних тварин (табл. 1).

Відмічено, що на 15 добу після інтоксикації вміст ТБК-АП у сироватці крові зріс в 1,3 раза у статевонезрілих, в 1,9 раза у статевозрілих та в 1,6 раза у старечих щурів. Аналогічні зміни відбувались у такі терміни дослідження – на 30 та 45 доби після ураження тютюновим димом. У кінці експерименту вміст даного продукту ПОЛ збільшився в сироватці крові піддослідних тварин максимально (у статевонезрілих та статевозрілих щурів – у 2 рази, у старечих – в 1,8 раза).

У печінці цих же тварин максимальний вміст ТБК-АП зареєстровано через 45 днів від початку експерименту. Найбільше він зріс у статевонезрілих щурів – у 3,2 раза перевищував рівень норми. У легенях статевонезрілих тварин до кінця експерименту даний показник перевищував рівень інтактного контролю у 2,4 раза, статевозрілих – у 2 рази, старечих – у 2,3 раза.

Таблиця 1 – Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові (мкмоль/л) та органах (мкмоль/кг) щурів, уражених тютюновим димом ( $M \pm m$ ,  $n=72$ )

Термін дослідження, доби	Група піддослідних тварин		
	статевонезрілі	статевозрілі	старечі
	Сироватка крові		
Інтактні щури	3,28±0,23	1,85±0,14	2,35±0,14
15 доба ураження	4,28±0,31	3,47±0,29*	3,71±0,28*
30 доба ураження	4,85±0,36*	4,28±0,31*	4,42±0,28*
45 доба ураження	6,62±0,08*	3,94±0,27*	4,23±0,17*
	Печінка		
Інтактні щури	15,49±1,28	14,42±0,71	16,55±0,98
15 доба ураження	18,69±1,28	23,50±1,35*	25,12±2,09*
30 доба ураження	30,86±1,55*	28,73±0,78*	29,06±1,46*
45 доба ураження	49,66±3,38*	26,49±1,51*	29,69±2,39*
	Легені		
Інтактні щури	18,66±0,60	21,82±1,51	21,36±2,13
15 доба ураження	21,47±0,79	34,18±2,29*	39,53±1,97*
30 доба ураження	32,48±1,08*	40,92±1,22*	42,30±1,53*
45 доба ураження	44,87±2,34*	43,69±3,61*	48,61±2,17*

Примітка. Тут і в наступних таблицях: \* – вірогідні зміни між інтактними тваринами та щурами, ураженими тютюновим димом ( $p \leq 0,05$ ).

Значна активація процесів ліпопероксидації може бути наслідком оксидативного стресу в організмі під дією екзогенних токсикантів, у нашому випадку це викликано впливом тютюнового диму на щурів різних вікових груп.

Відомо, що радикали і продукти вільнорадикального окиснення впливають на імунітет, структуру та функцію біологічних мембран, акумуляцію і біотрансформацію енергії [1, 2].

Звідси доцільним було дослідити активність мітохондріальних ферментів, які беруть участь у процесах енергозабезпечення організму. Тяжкі форми гострих отруєнь, як правило, супроводжуються вираженими проявами кисневого голодування організму. В цих випадках гіпоксія є фактором, який робить перебіг основної патології тяжчим. Слід зазначити, що за патологій, які супроводжуються гіпоксією, в мітохондріях печінки щурів спостерігають зниження активності сукцинатдегідрогенази – ключового ензиму комплексу II дихального ланцюга, що відіграє роль посередника між ФАД-залежними субстратами та електронотранспортним ланцюгом [4].

Результати наших досліджень засвідчили зниження активності даного ензиму в групах щурів усіх вікових категорій (табл. 2).

Вірогідні зміни відмічено на 30 та 45 доби експерименту як у печінці, так і в легенях ураже-

них тварин. Так, на 45 добу дослідження активність СДГ знизилась на 46 % у печінці статевонезрілих тварин, на 43 % – у статевозрілих, на 42 % – у старечих.

Після тютюнової інтоксикації протягом 45 днів відмічено найбільше зниження активності СДГ у легенях молодих тварин (на 44 %). Менш чутливими були щури старечого віку (зниження становило 33 % від норми). Найбільш стійкими щодо даного показника виявились статевозрілі тварини, активність СДГ у їх легенях лише на 27 % була нижчою від активності в інтактних щурів.

Важливе місце в енергетичному забезпеченні клітини належить ЦО, активність якої паралельно залежить від активності СДГ. Цитохромоксидаза – векторний фермент внутрішньої мембрани мітохондрій, що відіграє ключову роль у регуляції швидкості окисного фосфорилування та є надзвичайно чутливим до токсикантів різної природи.

Після 45-денної інтоксикації тютюновим димом відмічено вірогідне зниження активності даного ензиму в печінці щурів усіх дослідних груп порівняно з інтактними тваринами (табл. 3).

У статевонезрілих щурів активність ЦО в печінці вірогідно знизилась на 30 та 45 доби експерименту і до кінця дослідження становила  $(22,43 \pm 1,14)$  мкмоль/кг·год порівняно з

Таблиця 2 – Активність сукцинатдегідрогенази в печінці та легенях щурів (мкмоль/кг·год), уражених тютюновим димом ( $M \pm m$ ,  $n=72$ )

Термін дослідження, доби	Група піддослідних тварин		
	статевонезрілі	статевозрілі	старечі
	Печінка		
Інтактні щури	33,66±1,20	38,00±1,15	34,66±0,99
15 доба ураження	30,66±1,33	36,66±1,20	31,33±1,76
30 доба ураження	26,33±0,80*	34,66±1,33	29,67±1,08*
45 доба ураження	18,33±0,56*	21,67±0,67*	20,16±0,65*
	Легені		
Інтактні щури	28,00±0,73	31,00±0,86	28,67±0,67
15 доба ураження	24,00±0,73	30,00±0,89	27,33±0,84
30 доба ураження	20,33±0,56*	26,67±1,33*	23,00±0,86*
45 доба ураження	15,83±0,79*	22,66±0,84*	19,17±0,31*

Таблиця 3 – Активність цитохромоксидази в печінці та легенях щурів (мкмоль/кг·год), уражених тютюновим димом ( $M \pm m$ ,  $n=72$ )

Термін дослідження, доби	Група піддослідних тварин		
	статевонезрілі	статевозрілі	старечі
	Печінка		
Інтактні щури	39,28±1,11	47,14±1,32	46,53±2,18
15 доба ураження	32,88±2,62	43,85±2,79	41,74±0,84
30 доба ураження	26,72±1,81*	41,72±0,40*	37,80±0,76*
45 доба ураження	22,43±1,14*	39,47±1,31*	33,26±1,18*
	Легені		
Інтактні щури	32,03±0,89	34,45±0,66	32,63±0,66
15 доба ураження	26,29±0,77*	27,80±0,76*	26,59±0,76*
30 доба ураження	20,24±0,86*	26,89±0,86*	25,68±0,73*
45 доба ураження	15,71±0,76*	19,63±0,55*	18,13±0,66*

(39,28±1,11) мкмоль/кг·год в інтактних тварин. У старечих щурів після ураження димом даний показник у печінці в 1,4 раза був меншим від інтактного контролю. Найбільш стійкими до змін даного ензиму виявились зрілі тварини (активність ЦО знизилась в 1,2 раза).

У легенях щурів спостерігали аналогічне зниження активності ЦО після інтоксикації. У цьому органі вірогідні зміни відмічали в усі терміни дослідження, починаючи з 15 доби експерименту. Найбільш чутливими щодо даного показника виявились статевонезрілі щури, активність ЦО в їх легенях знизилась у 2 рази порівняно з нормою на 45 добу дослідження. У статевозрілих тварин це зниження становило 43 %, у старечих – 44 %.

Отже, 45-денна інтоксикація щурів тютюновим димом призводить до пригнічення активності

ферментних систем, які забезпечують окиснення субстратів і транспорт електронів дихальним ланцюгом мітохондрій, що супроводжується зниженням утворення енергії та використання її клітинами.

**ВИСНОВКИ.** Ураження щурів різних вікових груп тютюновим димом протягом 45 днів викликає активацію процесів ліпопероксидації в сироватці крові та органах тварин, на що вказує підвищений вміст ТБК-активних продуктів у печінці й легенях після інтоксикації. Це спричиняє пригнічення процесів енергозабезпечення в щурів, що проявляється зниженням активності мітохондріальних ензимів, зокрема сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази, за даного патологічного стану.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Біохімічні та молекулярно-біологічні механізми хімічної загибелі клітин за ураження високотоксичними ксенобіотиками / Ю. І. Губський, Є. Л. Левицький, О. В. Задорина [та ін.] // Буков. мед. вісн. – 2005. – 9, № 2. – С. 76–77.
2. Жиденко А. А. Влияние глифосата на энергетический обмен в органах карпа / А. А. Жиденко, У. В. Бибчук, Е. В. Барбухо // Укр. біохім. журн. – 2013. – 85, № 3. – С. 22–29.
3. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експерим. та клініч. фізіологія та біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.
4. Ещенко Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // Методы биохимических исследований. – Л. : Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. – С. 207–210.
5. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий / Р. С. Кривченкова // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 47–49.
6. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Экспериментальные исследования. Клинические испытания. Анализ фармацевтического рынка / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2000. – 320 с.
7. Лісничук Н. Є. Дослідження параметрів вільнорадикального окиснення та стан антиоксидної системи білих щурів з експериментальним токсичним

ураженням печінки / Н. Є. Лісничук // Вісн. проблем біології і медицини. – 2007. – Вип. 2. – С. 83–85.

8. Луцк В. І. Показники оксидативного стресу. Тіобарбітурактивні продукти і карбонільні групи білків / В. І. Луцк, Т. В. Багнюкова, О. В. Луцк // Укр. біохім. журн. – 2004. – 26. – С. 136–141.

9. Оцінка динаміки поширеності тютюнокуріння в Україні // Вісн. соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України / К. С. Красовський, Т. І. Андреева, А. А. Григоренко, Н. А. Бутильська. – 2009. – № 2. – С. 91–99.

10. Пікас О. Б. Про стан куріння цигарок у сучасних умовах, його вплив на виникнення захворювань в організмі людини (огляд літератури) / О. Б. Пікас // Буков. мед. вісн. – 2015. – 19, № 4 (76). – С. 227–230.

11. Пономаренко В. М. Шляхи подолання епідемії тютюнопаління в Україні / В. М. Пономаренко, Ф. П. Ринда // Сучасні підходи до профілактики тютюнокуріння, алкоголізму, наркоманії та СНІДУ : матеріали конф. – К., 2003. – С. 15–20.

12. Сахарова Г. М. Противодействие табачной эпидемии – сохранение здоровья людей / Г. М. Сахарова, Н. С. Антонов // Профилактическая медицина. – 2010. – 13, № 6. – С. 3–7.

13. Тяжка О. В. Пасивне куріння дітей раннього віку / О. В. Тяжка, Т. О. Ванханова // Медицина транспорту України. – 2012. – № 1. – С. 93–99.

14. Wirth N. Respiratory diseases related to passive smoking / N. Wirth // Rev. Mal. Respir. – 2009. – 26, № 6. – P. 667–678.

## ПОКАЗАТЕЛИ ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЯ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ТАБАЧНЫМ ДЫМОМ

### Резюме

В эксперименте на крысах разных возрастных групп, пораженных табачным дымом, отмечено активацию процессов липопероксидации, которая подтверждается достоверным увеличением в сыворотке крови, печени и легких содержания ТБК-активных продуктов на 30 и 45 сутки исследования. Интенсификация этого процесса приводит к угнетению активности митохондриальных ферментов, в частности сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы, которые являются ключевыми маркерами процессов энергообеспечения в организме. Выявлено, что наиболее чувствительными к действию табачного дыма являются неполовозрелые животные.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: табачный дым, крысы, биоэнергетические процессы, свободнорадикальные процессы.

P. H. Lykhatskyi, L. S. Fira, O. I. Kachur  
I. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

## ENERGY INDEXES IN RATS IN CHRONIC CONDITIONS OF TOBACCO SMOKE

### Summary

In an experiment on rats of different age groups affected by tobacco smoke we marked the activation of lipid peroxidation, which is supported by probable increase in serum, liver and lung content of TBA-active products at 30 and 45 days of the study. The intensification of this process leads to inhibition of mitochondrial enzymes, including cytochromeoxidase and succinated hydrogenase, which are key markers of energy processes in the organism. It was found that the most sensitive to tobacco smoke is for immature animals.

KEY WORDS: **smoke, rats, bioenergetic processes, free radical processes.**

Отримано 08.11.16

Адреса для листування: П. Г. Лихацький, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: luhatskuy@tdmu.edu.ua.