

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**ІМЕНІ І.І. МЕЧНИКОВА**

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**НІКОЛАЄВА ОЛЕНА ВОЛОДИМИРІВНА**

УДК: 46.719:54. 024:577.151:616-006.69

**ДИСЕРТАЦІЯ  
СТАН СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У  
ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ  
М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ**

03.00.04 біохімія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук. Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ Ніколаєва Олена Володимирівна

Науковий керівник Петров Сергій Анатолійович, д.б.н., професор

Одеса – 2019

## АНОТАЦІЯ

Ніколаєва О.В.. Стан системи антиоксидантного захисту в м'язовій тканині при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини у щурів. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.04 «Біохімія». – Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, 2018.

Особливу актуальність набувають дослідження антиоксидантного захисту організму. Питання змін показників антиоксидантної системи в трансплантології м'язових тканин не з'ясовано. Система антиоксидантного захисту організму є складною і розгалуженою сукупністю біохімічних процесів, головною функцією яких є знешкодження біохімічних наслідків оксидативного стресу. Вона складається з ферментів і певних речовин з антиоксидантними властивостями.

Загальна послідовність і механізми реалізації процесів, що входять в цю систему, добре відомі. Однак, особливості функціонування і регулювання цих процесів при алотрансплантації ембріональних тканин майже не досліджені.

Особлива складність таких досліджень полягає в необхідності диференціювати зміни антиоксидантного статусу тканини в наслідок суто взаємодії з ембріональною тканиною від наслідків, які відбуваються за рахунок хірургічного втручання.

В теперішній час все ширше розповсюджується метод лікування ураження різних тканин шляхом застосування ембріональних клітин. Але досліджень змін антиоксидантного статусу тканин при застосуванні такого методу на жаль в літературі не зустрічається.

З літератури відомо, що активні форми кисню генеруються в скелетних м'язах як під час загальної, так і скорочувальної активності. Міогенні клітини забезпечені антиоксидантними ферментами, такими як супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза та інші. Ці ферменти не лише нейтралізують

надлишок активних форм кисню, але також впливають на міогенну регенерацію у декілька етапів: впливають на запальну реакцію після травми, підвищують життєздатність і проліферацію м'язових клітин і міобластів і впливають на їх диференціацію. Антиоксидантні ферменти регулюють також процеси, супроводжуючі регенерацію м'язів - індукують ангиогенез і зменшують фіброз.

Зрив антиоксидантного захисту характеризується розвитком вільнорадикальних пошкоджень різних компонентів клітини і тканин, складаючих синдром пероксидації та включає наступні зміни: пошкодження мембран; інактивацію або трансформацію ферментів; пригнічення поділу клітин; накопичення в клітині інертних продуктів полімеризації. Періодично повторюючийся синдром пероксидації стає фактором патогенезу ряду захворювань, що послужило приводом виділення їх у групу вільнорадикальних патологій.

Актуальність такого дослідження полягає в можливості на основі аналізу змін біохімічних процесів, що відбуваються в тканинах після підсадки ембріональної тканини, прогнозувати біохімічний статус тканини – реципієнта після підсадки ембріональної тканини і, як наслідок, можливість своєчасно корегувати небажані біохімічні зміни.

Метою роботи було дослідити вплив алотрансплантації ембріональної м'язової тканини на стан антиоксидантної системи, як в стегновій, так і в черевній м'язових тканинах донора та реципієнта.

В ході роботи було проведено 3 вида операційного втручання: 1 – алотрансплантація ембріональних м'язових тканин; 2 – трансплантація м'язових тканин, вилучених у щурів одного посліду; 3 – удавана операція. Експерименти проводили на базі лабораторії кафедри біохімії ОНУ ім. І.І. Мечникова. Щурів утримували на стандартному раціоні харчування віварію.

Для алотрансплантації ембріональних м'язових тканин використовували ембріонів строком 2 – 3 тижні. Під ефірним наркозом в асептичних умовах тварину фіксували до хірургічної дошки у положенні лежачи на спині,

операційне поле виголювали та трічі обробляли антисептиком (йодобак). В мезогастральній області повздовжнім розрізом пошарово розтинали черевну стінку.

У ембріонів вилучали черевну м'язову тканину, яку фіксували лігатурою до черевної стінки дорослого щура. Рану пошарово зашивали щільно вузловим швом. Операційну область обробляли йодобаком. Загоєння рани відбувалося первинним натягом. Використану алотрансплантацію проводили згідно хірургічних правил операцій на м'язах. Аналогічну операцію проводили із стегноюю м'язовою тканиною. Розріз проводили по внутрішній середній третині стегна. Алотрансплантат – стегнова м'язова тканина ембріона. Трансплантацію м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду проводили по такій самій схемі, як і алотрансплантацію. Донором стегнової та черевної м'язової тканини слугували щури - самці з одного посліду.

Удавану операцію проводили для порівняння впливу хірургічного втручання на досліджувані показники. Контролем слугувала м'язова тканина щура, яка не підлягала хірургічним втручанням.

В післяопераційний період кожна група утримувалась в окремих клітках при однакових умовах. Досліджувані показники визначались на першу, третю та сьому добу після операційного втручання.

Встановлено, що отримані результати кількості малонового діальдегіду та загальної оксидантної активності при використаних хірургічних втручаннях свідчать про виникнення окислювального стресу. У відповідності зі стадіями стресу (за Сел'є) в організмі теж по різному протікають процеси оксидативного стресу. В основному це позначається на ліпідах і отримало відповідно з цим термін пероксидне окислення ліпідів (ПОЛ). По цьому на ранніх термінах стресу, хвилини і навіть секунди впливу стрес-агента, відбувається активація ПОЛ. При чому активація ПОЛ тим вище, чим вище рівноваги впливу, при цьому тривалість спалаху ПОЛ невелика і служить сигналом для мобілізації власних захисних властивостей клітини

повернутися в стан рівноваги порушеного гомеостазу. Одночасно відбувається включення захисних механізмів, і це відбувається тим швидше, чим сильніше пошкодження, нанесене клітині стрес-агентом. В результаті спалах ПОЛ «збудження» змінюється «гальмуванням» цього процесу (пероксидного окислення ліпідів): вміст активних форм ПОЛ знижуються нижче рівня фізіологічного спокою. Якщо після цього продовжується вплив стресу, то захисні системи клітини виснажуються, антиоксидантні ресурси вичерпуються, і в цьому випадку запускається вторинна активізація ПОЛ і збільшується дія прооксидантів. При цьому активні форми кисню викликають оксидативну деструкцію структур клітини. Вторинна активація ПОЛ, при тривалому стресі, розвивається в основному як наслідок виснаження ендогенних антиоксидантних резервів. В результаті йде окислювальна вільнорадикальна атака мембранних клітинних структур, виведення з ладу частини з них і як результат цього-зниження стійкості клітини до триваючого стресу. Це відповідає вже другій стадії стресу за Сел'є. При цьому зміни йдуть вже не тільки на рівні клітини, а вже у всьому організмі: ураження шлунково-кишкового тракту (виразки шлунка), серцево-судинної системи (зниження скорочувальної здатності міокарда), кровотворної системи (лімфоцитопенія, еозінофілія, тромбоцитопенія), імунної системи (пригнічення кіллерної активності). У підсумку первинна активація ПОЛ - це тільки сигнал для запуску стрес-реакції, в той час як вторинна активація ПОЛ -це фактор розвитку патогенезу, тобто причина розвитку стресових захворювань і поразок. Після чого процес переходить у третю стадію по Сел'є і при цьому процеси зміни в клітинах вже практично незворотні.

Перша лінія антиоксидантного захисту реагує наступним чином. Встановлено, що на першу добу дослідження лише підсадка стегнової м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду призводить до достовірного зниження відносно контролю активності супероксиддисмутази в тканині реципієнта. На третю та сьому добу дослідження жодне з

використаних хірургічних втручань не призвело до змін в активності супероксиддисмутази в стегновій м'язовій тканині реципієнта. На першу та третю добу дослідження отримані дані свідчать про те, що використані в даній роботі хірургічні втручання впливають однаково на активність супероксиддисмутази в черевній м'язовій тканині реципієнта. На сьому добу дослідження можна стверджувати, що саме алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводить до достовірного зниження активності супероксиддисмутази відносно контролю в черевній м'язовій тканині реципієнта. Таке зниження активності супероксиддисмутази свідчить про зниження антиоксидантного захисту клітин в черевній м'язовій тканині реципієнта к сьомій добі після алотрансплантації. Зрив антиоксидантного захисту характеризується розвитком вільнорадикальних пошкоджень різних компонентів клітини і тканин, складаючих синдром пероксидації та включає наступні зміни: пошкодження мембран; інактивацію або трансформацію ферментів; придушення поділу клітин; накопичення в клітині інертних продуктів полімеризації. Синдром пероксидації є фактором патогенезу ряду захворювань, що послужило приводом виділення їх у групу вільнорадикальних патологій.

Отримані дані свідчать, що на першу добу дослідження алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона та трансплантація стегнової м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду призвели до підвищення активності каталази в тканині реципієнта. На третю добу дослідження алотрансплантація призводить до зниження активності каталази в тканині реципієнта. На сьому добу дослідження алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призводить до утримання активності каталази на рівні контрольних значень.

Таким чином, на першу добу дослідження алотрансплантація ембріональної черевної м'язової тканини не призводить до змін активності каталази в тканині реципієнта та залишає її приблизно на рівні контрольних значень. На третю добу досліджень алотрансплантація не впливає на зміни в

активності каталази в тканині реципієнта. На сьому добу дослідження алотрансплантація ембріональної черевної м'язової тканини тримає активність каталази в тканині реципієнта на рівні контрольних значень. Представлену картину можна розглядати, як реакцію організму, направлену на захист клітини від окисної деструкції.

Встановлено, що синтез відновленого глутатіону в досліджуваних ембріональних м'язових тканинах відбувається інтенсивніше, ніж в тканинах дорослих щурів, але алотрансплантація черевного м'язу ембріона призводить до втрати цієї можливості в тканині ембріона. В черевній м'язовій тканині на першу та третю доби дослідження можна зробити висновок, що алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводить до збільшенні рівня відновленого глутатіону в тканині реципієнта. Тоді як при удаваній та підсадці черевної м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду, рівень відновленого глутатіону зменшувався. На сьому добу дослідження отримані данні свідчать про те, що до збільшенню рівня відновленого глутатіону сприяє хірургічне втручання, а не алотрансплантація, тоді як підсадка черевної м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду, призвела до зменшення його рівня.

Таким чином, на першу добу дослідження алотрансплантація стегнової ембріональної м'язової тканини призводить до зменшення рівня окисленого глутатіону. На третю добу дослідження збільшення рівня окисленого глутатіону є наслідком трансплантації стегнової м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду. На сьому добу дослідження як алотрансплантація ембріональної тканини, так і тканини, взятої у щурів з одного посліду, призвели до достовірного збільшення рівня окисленого глутатіону в тканині реципієнта. Алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводить до стабілізації рівня окисленого глутатіону в тканині реципієнта, в той час як при удаваній операції та підсадці генетично спорідненої тканини відбувається зростання його рівня.

Визначивши вміст відновленого та окисленого глутатіону в тканинах реципієнта при алотрансплантації ембріональної стегнової та черевної м'язових тканин, ми спостерігали збільшення їх кількості, що свідчить про виникнення окиснення SH-груп білка, при цьому відновлений глутатіон вступає в захист, перетворюючись в окислений. Алотрансплантація здатна нормалізувати активність глутатіонпероксидази в черевному м'язі щурів.

Отримані дані свідчать, що на першу добу дослідження алотрансплантація ембріональної стегнової м'язової тканини та трансплантація стегнової м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду призвели до того, що активність глутатіонредуктази залишалась майже на рівні з контрольним показником, тоді як при удаваній операції зростала. На третю та сьому добу досліджень достовірних змін активності глутатіонредуктази встановлено не було при жодному хірургічному втручанні. Тому можна зробити висновок, що алотрансплантація ембріональної стегнової м'язової тканини не спричинила достовірної зміни активності глутатіонредуктази в тканині реципієнта. Встановлено, що алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона, трансплантація черевної м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду та удавана операція призводять до достовірного збільшення активності глутатіонредуктази в тканині реципієнта по відношенню до контролю в усі строки дослідження. Різниця є лише в ступені збільшення активності, тому стверджувати, що таким змінам сприяла саме алотрансплантація ембріональної тканини ми не можемо.

Визначено, що на першу добу дослідження алотрансплантація стегнової ембріональної м'язової тканини впливає як фактор збереження активності глутатіонпероксидази на рівні контролю. Про що свідчить те, що активність глутатіонпероксидази залишалась в межах контрольних значень, тоді як при удаваній операції збільшувалась, а при підсадці генетично спорідненої тканини знижувалась. На першу та третю добу дослідження встановлено, що лише трансплантація стегнової м'язової тканини призвела до зниження



активності досліджуваного фермента. На третю та сьому добу дослідження отримані дані свідчать про те, що сама алотрансплантація не впливає на зміни активності глутатіонпероксидази в тканині реципієнта, про що свідчать отримані результати. Досліджуючи активність глутатіонпероксидази в черевній м'язовій тканині реципієнта на першу добу дослідження ми встановили, що не алотрансплантація призвела до збільшення активності досліджуваного ферменту. На третю добу дослідження всі три види хірургічного втручання, які використані в даній роботі сприяли майже однаково на активність глутатіонпероксидази в тканині реципієнта. К сьомій добі дослідження встановлено, що алотрансплантація черевної ембріональної м'язової тканини та трансплантація черевної м'язової тканини здійснюють однаковий вплив на активність глутатіонпероксидази в тканині реципієнта, залишаючи її приблизно на рівні контрольного значення, тоді як при удаваній операції активність глутатіонпероксидази достовірно знижується в черевній м'язовій тканині реципієнта. Таким чином, варіабельність показників глутатіонметаболізуючої системи в м'язових тканинах після хірургічних втручань, використаних в даній роботі може бути пов'язана зі змінами інтенсивності окисно-відновних процесів і, відповідно, з утворенням активних форм кисню.

**Ключові слова:** глутатіон, супероксиддисмутаза, каталаза, ТБК-активні продукти, оксидативний стрес, алотрансплантація, донор, реципієнт, ембріональна тканина, м'язи.

Список публікацій:

1. Кулибаба Е.В. (Ніколаєва О.В.), Разумнова А.Ю., Петров С.А. Изучение активности трансаминаз и содержание белка при аллотрансплантации эмбриональных и сформированных мышечных тканей // Научный журнал «Учёные записки» ТНУ им. В.И. Вернадского. Симферополь. - 2012. - Том 25(64). - №3.- С.103-108. (Особистий внесок: збір і визначення частини матеріалу, підготовка статті до друку).

2. O.V. Kulibaba (Nikolaeva O.V.), S.A. Petrov. Condition of glutathione (GSH) metabolism system at allotransplantation of embryonic muscle tissue at rats // European Scientific Journal. - November 2014. - SPECIAL edition. - vol.2 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.-P. 203-207. (Особистий внесок: збір частини матеріалу, написання значної частини тексту)

3. Кулібаба О.В. (Ніколаєва О.В.), Козішкурт С.М., Дузенко О.О., Вовчук І.Л., Петров С.А. Стан глутатіонметаболізуючої системи при трансплантації м'язових тканин однопослідних щурів // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. – 2015. - 6(1). -С. 23-28. (Особистий внесок: збір і визначення частини матеріалу, підготовка статті до друку).

4. Кулібаба О.В. (Ніколаєва О.В.) Вміст малонового діальдегіду при алотрансплантації ембріональних м'язових тканин у щурів // Одеський медичний журнал. – 2015. - №5 (151). - С. 11-14.

5. Кулібаба О.В. (Ніколаєва О.В.), Петров С.А. Рівень окисненого глутатіону при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини у щурів //Досягнення біології та медицини. - 2015, №2 (26), С. 8 – 10. (Особистий внесок: збір і визначення частини матеріалу, підготовка статті до друку).

6. Кулібаба О.В. (Ніколаєва О.В.), Петров С.А. Активність супероксиддисмутази та каталази при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини у щурів //Одеський медичний журнал. – 2016. - №1 (153). - С. 8 – 13. (Особистий внесок: збір і визначення частини матеріалу, підготовка статті до друку).

7. Ніколаєва О.В., Петров С.А. Загальна антиоксидантна активність при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини у щурів // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія «Біологія». – 2018. - випуск 31. - С. 25-30 (Особистий внесок: збір і визначення частини матеріалу, підготовка статті до друку).

8. Ніколаєва О.В., Петров С.А. Загальна оксидантна та антиоксидантна активності при алотрансплантації ембріональної черевної м'язової тканини у

щурів // Медична та клінічна хімія. – 2019. - 1(78), том 21. - С. 80-86. (Особистий внесок: збір і визначення частини матеріалу, підготовка статті до друку).

9. Кулибаба Е.В. (Ніколаєва О.В.), Разумнова А.Ю., Козишкурт С.Н., Петров С.А. Состояние глутатионметаболизирующей системы при аллотрансплантации эмбриональной ткани // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології» - Харків. – 2013. – С. 63-64. (Особистий внесок: збір і визначення частини матеріалу, підготовка статті до друку).

10. Kulibaba O.V. (Nikolaeva O.V.), Petrov S.A. Condition of glutathione (GSH) metabolism system at Allotransplantation of embryonic muscle tissue at rats // 2nd Eurasian Multidisciplinary Forum, EMF. – 2014. -Vol.2. - P. 202-206 (Особистий внесок: збір і визначення частини матеріалу, підготовка статті до друку).

11. Ніколаєва О.В. Вміст відновного глутатіону в стегновій м'язовій тканині дорослого щура при хірургічних маніпуляціях // Матеріали XII міжнародної конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери», ( м. Харків, 29 листопада – 1 грудня 2017). – Харків. - 2017. - С. 12-13.(Особистий внесок: збір і визначення частини матеріалу, підготовка статті до друку)

12. Ніколаєва О.В., Кобильник С.М., Кагльок М.Д., Петров С.А. Визначення загальної оксидантної активності при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Розвиток природничих наук: проблеми та рішення», (м. Брно, Чеська Республіка, 27-28 квітня 2018 року). – Брно. - 2018. - С. 199-202.(Особистий внесок: збір і визначення частини матеріалу, підготовка статті до друку)

13. Ніколаєва О.В., Кагльок М.Д., Петров С.А. Загальна оксидантна та антиоксидантна активності при алотрансплантації ембріональної черевної м'язової тканини у щурів. // Матеріали XII Українського біохімічного

конгресу, присвяченому 165-й річниці від дня народження І. Я. Горбачевського, Тернопіль/ Медична та клінічна хімія.- 2019. – 3(80), том 21. - С. 118-119. (Особистий внесок: збір і визначення частини матеріалу, підготовка статті до друку).

### **ANNOTATION**

Nikolaeva O.V. State of the system of antioxidant defence in muscular fabric at alotransplantation of embryo muscular fabric for rats. it is Qualifying scientific work on rights for a manuscript.

Dissertation on the receipt of scientific degree of candidate of biological sciences(Ph.D.) after speciality a 03.00.04 "Biochemistry". it is the Odesa national university of the name of I.I. Mechnikov, Odesa, 2018.

Special actuality acquire research of antioxidant defence of organism. The question of changes of indexes of the antioxidant system in transplantology of muscular fabrics is not found out. The system of antioxidant defence of organism is difficult and ramified totality of biochemical processes the main function of that is rendering of biochemical consequences of oxidative stress harmless. She consists of enzymes and certain substances with antioxidant properties.

A general sequence and mechanisms of realization of processes that is included in this system are well known. However, the features of functioning and adjusting of these processes at аЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ of embryo fabrics are not almost investigational.

The special complication of such researches consists in a necessity to differentiate the changes of antioxidant status of fabric in a consequence especially co-operating with embryo fabric from consequences that take place due to surgical interference.

In present tense all wider the method of treatment of defeat of different fabrics spreads by application of embryo cages. But researches of changes of antioxidant status of fabrics at application of such method unfortunately in literature not.

The breakdown of antioxidant defense is characterized by the development of free radical damage to various components of the cell and tissues that make up the peroxidation syndrome and includes the following changes: damage to the membranes; inactivation or transformation of enzymes; inhibition of cell division; accumulation of

inert polymerization products in a cell. Periodically repeated peroxidation syndrome becomes a factor in the pathogenesis of a number of diseases, which led to the allocation of them into a group of free radical pathologies.

The urgency of such research is the ability, based on the analysis of changes in biochemical processes occurring in the tissues after submammary embryonic tissue, to predict the biochemical status of the recipient tissue after submucosal embryonic tissue and, as a consequence, the possibility of timely correction of unwanted biochemical changes.

The purpose of the work was to investigate the effect of allotransplantation of embryonic muscle tissue on the state of the antioxidant system, both in the femoral and in the abdominal muscular tissues of the donor and the recipient.

During the course of the work there were 3 types of surgical intervention: 1 - allotransplantation of embryonic muscle tissues; 2 - transplantation of muscle tissue removed from rats of the same litter; 3 - false operation. Experiments were conducted on the basis of the laboratory of the Department of Biochemistry of the ONU by name's I.I. Mechnikov. The rats were kept on a standard diet of vivarium.

For allotransplantation of embryonic muscle tissue, embryos were used for 2 to 3 weeks. Under anesthetic anesthesia under aseptic conditions, the animal was fixed to the surgical board in the position lying on the back, the operating field was shaved and three times treated with an antiseptic (iodine). In the mesogastric region, a longitudinal incision is gradually cut through the abdominal wall.

The embryos removed the abdominal muscle tissue, which was fixed by the ligature to the abdominal wall of the adult rat. The wound was seamed in a layer of tightly knotted seam. The operating area was treated with iodine. Wound healing was the primary tension. The allotransplantation used was performed according to the surgical rules of operations on the muscles. A similar operation was performed with femoral muscle tissue. The incision was performed on the inner middle third of the thigh. Allotransplant - fetal muscle tissue of the embryo. Transplantation of muscle tissue removed from rats of the same litter was performed according to the same scheme as allotransplantation. Dosages of the femur and abdominal muscle tissue were

rats - males from the same litter. The successful operation was performed to compare the effect of surgical intervention on the studied parameters. The control was muscle tissue of the rat, which was not subject to surgical intervention. In the postoperative period, each group was kept in separate cells under the same conditions. The investigated parameters were determined on the first, third and seventh day after surgery. It was established that the obtained results of the amount of malondialdehyde and total oxidant activity in the used surgical interventions indicate the occurrence of oxidative stress. It was established that the obtained results of the amount of malondialdehyde and total oxidant activity in the used surgical interventions indicate the occurrence of oxidative stress. In accordance with the stages of stress (for Selie) in the body, too, various processes of oxidative stress occur. It mainly affects the lipids and received, in accordance with this term, peroxide lipid oxidation (LPO). Therefore, in the early stresses, minutes, and even seconds of the stress agent's action, activation of the LPO is taking place. In addition, the activation of the LPAs is higher, the higher the equilibrium of exposure, with the duration of the flash of LPL is small and serves as a signal to mobilize its own protective properties of the cell to return to the state of equilibrium of disturbed homeostasis. At the same time, there is the inclusion of protective mechanisms, and this happens the sooner, the stronger the damage caused by the cell stress agent. As a result, an outbreak of LPO "excitation" changes "inhibition" of this process (peroxide lipid oxidation): the content of active forms of LPO is lowered below the level of physiological rest. If after that stress is continued, then the cellular defense systems are exhausted, antioxidant resources are exhausted, and in this case the secondary activation of the LPO is started and the effect of the prooxidants increases. In this case, active forms of oxygen cause oxidative destruction of cell structures. Secondary activation of LPA, with prolonged stress, develops mainly as a result of the exhaustion of endogenous antioxidant reserves. The result is an oxidative free radical attack of membrane cell structures, disabling of some of them, and as a result of this, reducing the cell's resistance to continuing stress. This is already the second stage of stress for Selie. At the same time, changes are not only at the level of the cell, but already throughout the body: lesions of the gastrointestinal tract (ulcers of the stomach),

the cardiovascular system (reducing the contractile capacity of the myocardium), the hematopoietic system (lymphocytopenia, eosinophilia, thrombocytopenia), the immune system (depression of killer activity). As a result, the primary activation of the LPA is just a signal for triggering a stress reaction, while secondary activation of LU is a factor in the development of pathogenesis, that is, the cause of the development of stress diseases and lesions. After that, the process passes to the third stage by Selje, and thus the processes of change in the cells are virtually irreversible.

The first line of antioxidant protection reacts as follows. It was established that on the first day of the study, only submachine femoral muscle tissue taken in rats from a single litter leads to a significant decrease in the control of the activity of superoxide dismutase in the recipient's tissue. On the third and seventh day of the study, none of the surgical interventions used did not lead to changes in the activity of superoxide dismutase in the recipient's fetal muscle tissue. On the first and third days of the study, the data obtained suggest that the surgical interventions used in this work have the same effect on the activity of superoxide dismutase in the recipient's abdominal muscle. On the seventh day of the study it can be argued that it is the allotransplantation of the abdominal muscle tissue of the embryo that leads to a significant decrease in the activity of superoxide dismutase relative to control in the abdominal muscle tissue of the recipient. Such a decrease in the activity of superoxide dismutase indicates a decrease in antioxidant cell defense in the recipient's abdominal muscle tissue by the seventh day after allotransplantation. The breakdown of antioxidant defense is characterized by the development of free radical damage to various components of the cell and tissues that make up the peroxidation syndrome and includes the following changes: damage to the membranes; inactivation or transformation of enzymes; suppression of cell division; accumulation of inert polymerization products in a cell. The syndrome of peroxidation is a factor in the pathogenesis of a number of diseases, which led to the allocation of them in a group of free radical pathologies. The obtained data indicate that on the first day of the study allotransplantation of the femoral muscle tissue of the embryo and the transplantation of the femoral muscle tissue taken in the rats from one suckling led to an increase in the activity of catalase in the recipient's

tissue. On the third day of the study, allotransplantation leads to a decrease in the activity of catalase in the recipient's tissue. On the seventh day, the study of allotransplantation of the femoral muscle tissue of the embryo leads to the maintenance of catalase activity at the level of control values. Thus, on the first day of the study, allotransplantation of embryonic abdominal muscle tissue does not lead to changes in the activity of catalase in the recipient's tissue and leaves it at about the level of control values. In the third day of research, allotransplantation does not affect the changes in catalase activity in the recipient's tissue. On the seventh day of the study, the allotransplantation of the embryonic abdominal muscle tissue holds the activity of catalase in the recipient's tissue at the level of control values. The presented picture can be considered as an organism's reaction aimed at protecting the cell against oxidative degradation.

It has been established that the synthesis of reduced glutathione in the investigated embryonic muscle tissues is more intense than in adult rat tissues, but allograft ablation of the embryo leads to the loss of this ability in the embryo tissue. In the abdominal muscle tissue for the first and third days of the study, it can be concluded that allotransplantation of the abdominal muscle tissue of the embryo leads to an increase in the level of reduced glutathione in the recipient's tissue. At the same time, when fever and submandation of abdominal muscle tissue from rats from one litter, the level of reduced glutathione was reduced. On the seventh day of the study, the data obtained suggest that upward glutathione levels are enhanced by surgical intervention, rather than by allotransplantation, where as abdominal muscle contraction in rats from one litter has led to a decrease in its level.

Thus, on the first day of the study allotransplantation of the femoral embryonic muscle tissue leads to a decrease in the level of oxidized glutathione. On the third day, the study of an increase in the level of oxidative glutathione is a consequence of transplantation of the femoral muscle tissue taken from single litter rats. On the seventh day, the study of both allotransplantation of embryonic tissue and tissue taken from rats from one litter led to a significant increase in the level of oxidized glutathione in the recipient's tissue. Allotransplantation of the abdominal muscle tissue of the embryo



leads to the stabilization of the level of oxidized glutathione in the recipient's tissue, while during the false operation and the transplantation of the genetically related tissue there is an increase in its level.

Determining the content of reduced and oxidized glutathione in recipient tissues during allotransplantation of embryonic femoral and abdominal muscle tissues, we observed an increase in their numbers, indicating the onset of oxidation of the SH group of protein, with the recovered glutathione entering into protection, turning into oxidized. Allotransplantation is able to normalize the activity of glutathione peroxidase in the abdominal muscle of rats. The obtained data indicate that on the first day of the study allotransplantation of the embryonic femoral muscle tissue and the transplantation of the femoral muscle tissue taken from the one litter rats led to the fact that the activity of glutathione reductase remained almost at the level with the control index, whereas during the false operation grew. On the third and seventh day of studies of reliable changes in the activity of glutathione reductase was not established in any surgical intervention. Therefore, it can be concluded that allotransplantation of the embryonic femoral muscle tissue did not lead to a significant change in the activity of glutathione reductase in the recipient's tissue. It has been established that allotransplantation of the abdominal muscle tissue of the embryo, transplantation of the abdominal muscle tissue taken in the rats from one suckling and false operation lead to a significant increase in the activity of glutathione reductase in the recipient's tissue in relation to the control at all stages of the study. The difference is only in the degree of activity increase, so we can not say that such changes were due to the allotransplantation of embryonic tissue.

It was determined that on the first day of the study allotransplantation of the femoral embryonic muscle tissue affects as a factor for maintaining the activity of glutathione peroxidase at the control level. That is evidenced by the fact that the activity of glutathione peroxidase remained within the control values, while during false operation increased, and at the subcutaneous site of genetically related tissue decreased. On the first and third day of the study, it was found that only transplantation of the femoral muscle tissue led to a decrease in the activity of the enzyme under study. On the third and seventh day of study, the data obtained indicate that allotransplantation

does not affect the activity of glutathione peroxidase in the recipient's tissue, as evidenced by the results obtained. Investigating the activity of glutathione peroxidase in the recipient's abdominal muscle tissue on the first day of the study, we found that non-allograft resulted in an increase in the activity of the enzyme under study. On the third day of the study, all three types of surgical interventions that were used in this work contributed almost equally to the activity of glutathione peroxidase in the recipient's tissue. By the seventh day of the study it was found that allograft ablation of the embryonic muscle tissue and transplantation of the abdominal muscle tissue had the same effect on the activity of glutathione peroxidase in the recipient's tissue, leaving it at about the control level, whereas during the false operation, the activity of glutathione peroxidase was significantly lower in the abdominal muscle tissue of the recipient. Thus, the variability of the parameters of the glutathione metabolizing system in the muscle tissues after the surgical interventions used in this work may be related to changes in the intensity of oxidative-reducing processes and, consequently, to the formation of active forms of oxygen.

**Keywords:** glutathione, superoxiddismutase, catalase, TBA-active products, oxidative stress, allotransplantation, donor, recipient, embryo tissues, muscles.

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВСТУП	22
РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	28
1.1. Застосування ембріональних тканин та клітин у медицині	28
1.2. Стовбурові клітини при клітинній трансплантації	30
1.3. Біохімія стресу як загального адаптивного синдрому	36
1.4. Особливості перебігу оксидативного стресу у м'язах при регенерації	41
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	46
2.1. Модель дослідження	46
2.2. Методи визначення показників системи глутатіона	50
2.2.1. Методи визначення активності ГР та ГП	50
2.2.2. Метод визначення відновленого глутатіону	51
2.2.3. Метод визначення окисненого глутатіону	52
2.3. Метод визначення активності супероксиддисмутази	52
2.4. Визначення загальної оксидантної активності	53
2.5. Метод визначення активності каталази	54
2.6. Метод визначення загальної антиоксидантної активності	54
2.7. Метод визначення ТБК-активних продуктів	55
2.8. Метод визначення білка по Лоурі	56
2.9. Статистична обробка результатів	57
РОЗДІЛ 3. РІВЕНЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В М'ЯЗОВИХ ТКАНИНАХ ПРИ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ	58
3.1. Вміст ТБК-активних продуктів при різних видах хірургічних втручань	58
3.2. Загальна оксидантна активність при різних видах хірургічних втручань	68
3.3. Загальна антиоксидантна активність при різних видах хірургічних	

втручань	71
3.4. Визначення білка по Лоурі при різних видах хірургічних втручань	75
РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В М'ЯЗОВИХ ТКАНИНАХ ДОНОРА ТА РЕЦИПІЄНТА ПРИ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ	79
4.1. Активність супероксиддисмутази при різних видах хірургічних втручань	79
4.2. Активність каталази при різних видах хірургічних втручань	88
РОЗДІЛ 5. СТАН СИСТЕМИ ГЛУТАТІОНА ПРИ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ	99
5.1. Рівень відновленого глутатіона при різних видах хірургічних втручань	99
5.2. Рівень окисненого глутатіона при різних видах хірургічних втручань	110
5.3. Активність глутатіонредуктази при різних видах хірургічних втручань	119
5.4. Активність глутатіонпероксидази при різних видах хірургічних втручань	129
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	139
ВИСНОВКИ	149
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	151

## ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

АОС – антиоксидантна система

АТФ – аденозинтрифосфат

АФК – активні форми кисню

БАО – біоантиоксиданти

Г-6-Ф-ДГ – глюкозо – 6 – фосфатдегідрогеназа

ГП – глутатіонпероксидаза

ГР – глутатіонредуктаза

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ЗАА – загальна антиоксидантна активність

ЗОА – загальна оксидантна активність

МДА – малоновий диальдегід

ПОЛ – перекисне окислення ліпідів

РНК – рибонуклеїнова кислота

СОД – супероксиддисмутаза

ФАС – фізіологічна антиоксидантна система

цАМФ – циклічний аденозинмонофосфат

GSH – відновлений глутатіон

GSSG – окиснений глутатіон

NAD- нікотинаміддинуклеотид

NADF – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат фосфорильований

## ВСТУП

**Актуальність роботи.** Система регуляції метаболізму в ембріональному періоді є авторегульованою та відрізняється від регуляції обміну в сформованих тканинах за особливостями перебігу біохімічних реакцій [1, 2]. Для ембріонального періоду характерним є високий темп росту, інтенсивне накопичення білкової маси, а також виражена диференціація клітин органів [3]. Ембріональним тканинам притаманні морфологічні та біохімічні особливості. В основному, ембріональні тканини складаються з бластних та стовбурових клітин, які мають низьку антигенність та здатні диференціюватися в усі спеціалізовані ембріональні тканини [4, 5]. Завдяки цьому ембріональні тканини та клітини є потенційним матеріалом для регенеративної медицини і заміщення тканин після поранень чи хвороб [6, 7, 8, 9, 10, 11].

Регенераційні процеси забезпечують як відновлення дефекту тканин при їх пошкодженні, так і є структурною основою відновлення клітинних та тканинних функцій [12]. У зв'язку з цим інтенсивність і характер регенераційних процесів суттєво впливають на резистентність організму до дії різних чинників.

Сучасними дослідниками в галузі експериментальної та клінічної медицини створені серйозні передумови для трансплантації ембріональних тканин і клітин з метою стимуляції та відновлення порушених функцій тканин [13]. Встановлено позитивний вплив ембріональних трансплантатів на репараційні процеси в тканинах за рахунок покращення енергозабезпечення [14].

В останні десятиріччя в імунології, ембріології та трансплантології успішно розробляють методи трансплантації ембріональних тканин та клітин характерні тільки для клітин та тканин, що знаходяться на ранніх стадіях цитогенетичного розвитку [15, 16, 17]. Терапія з використанням ембріональних тканин оснований на специфічних та неспецифічних механізмах, які ґрунтуються на модуляції процесів регенерації, репарації,

проліферації та диференціювання і реалізуються на генетичному та епігеномному рівнях. Розкриття цих механізмів може бути вирішальною умовою для розробки нових методів терапії патологічних станів, пов'язаних із порушенням морфогенезу, і, насамперед, при онкологічних захворюваннях [18, 19].

Стрес є одним з найбільш активно досліджуваних фізіологічних станів організму, який стосується всіх рівнів його організації, і, в першу чергу, клітинного. Велику увагу в сучасній фізіології клітин приділяється реакціям молекулярних систем, які забезпечують стійкість клітин і тканин до дії стрес-факторів [20]. Особливу актуальність набувають дослідження антиоксидантного захисту організму. Питання змін показників антиоксидантної системи в трансплантології м'язових тканин не з'ясовано. Система антиоксидантного захисту організму є складною і розгалуженою сукупністю біохімічних процесів, головною функцією яких є знешкодження біохімічних наслідків індукованих оксидативним стресом. Вона складається з ферментів і певних речовин з антиоксидантними властивостями. Загальна послідовність і механізми реалізації процесів, що входять в цю систему, добре відомі. Однак, особливості функціонування і регулювання цих процесів при алотрансплантації ембріональних тканин майже не досліджені.

Особлива складність таких досліджень полягає в необхідності відрізнити зміни антиоксидантного статусу тканини внаслідок суто взаємодії з ембріональною тканиною від наслідків, які відбуваються за рахунок хірургічного втручання.

В теперішній час все ширше розповсюджується метод лікування ураження різних тканин шляхом застосування ембріональних клітин. Але досліджень щодо антиоксидантного статусу цих тканин при застосуванні такого методу в літературі не зустрічається.

Разом з тим, актуальність цих досліджень є безперечною, оскільки дасть можливість на основі аналізу змін біохімічних процесів, що відбуваються в тканинах після підсадки ембріональної тканини,

прогнозувати біохімічний статус тканини – реципієнта, що дозволить своєчасно корегувати появу небажаних біохімічних змін.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана на кафедрі біохімії Одеського національного університету імені І. І. Мечникова. Дослідження проведені в рамках наукової тематики кафедри № 201 з 2011 по 2013 роки: «Регуляція біоенергетичних та пластичних процесів в ембріональних клітинах ссавців» (№ державної реєстрації 0109U002679).

**Мета та завдання дослідження.**

**Метою роботи** було дослідити вплив алотрансплантації ембріональної м'язової тканини на стан антиоксидантної системи в стегновій та в черевній м'язових тканинах донора та реципієнта.

Для досягнення мети необхідно було вирішити наступні завдання:

1. Оцінити вплив алотрансплантації ембріональної м'язової тканини на вміст ТБК-активних продуктів в тканині реципієнта.
2. Дослідити загальну оксидантну активність м'язової тканини в тканині реципієнта за алотрансплантації.
3. Визначити активності супероксиддисмутази та каталази в тканині реципієнта за алотрансплантації ембріональної м'язової тканини .
4. Оцінити вплив алотрансплантації ембріональної м'язової тканини на стан системи глутатіону.
5. З'ясувати вплив алотрансплантації ембріональної м'язової тканини на загальну антиоксидантну активність в тканині реципієнта.

**Об'єкт дослідження:** стан антиоксидантного захисту при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини.

**Предмет дослідження:** роль ферментативної і неферментативної ланок антиоксидантної системи у щурів при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини.

**Методи дослідження:** біохімічні, спектрофотометричні, колориметричні, статистичні, хірургічні.



**Наукова новизна одержаних результатів.** Наукова новизна дисертаційної роботи полягає в з'ясуванні впливу алотрансплантації ембріональної м'язової тканини на стан антиоксидантної системи в стегновій та в черевній м'язових тканинах донора та реципієнта. Встановлена активація окисидативного стресу в черевній та стегновій м'язових тканинах щура при алотрансплантації ембріональної тканини, свідченням чого є отримані результати оцінки рівня загальної оксидантної активності. При оцінці показників антиоксидантного захисту в м'язових тканинах щурів було встановлено, що рівень активності супероксиддисмутази знизилась на 7 добу дослідження майже в 2 рази відносно контролю в тканині реципієнта. При порівнянні використаних операцій, встановлено, що алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призвела до зниження активності каталази в тканині реципієнта на 3 добу дослідження. Зокрема вперше встановлено, що алотрансплантація стегнової та черевної м'язових тканин ембріона призвела до збільшення рівня відновленого глутатіону в тканині реципієнта на ранніх післяопераційних термінах (1 та 3 доби). Це свідчить про те, що алотрансплантація ембріональних м'язових тканин має позитивний вплив саме на ранніх термінах дослідження на рівні підтримання рівня відновленого глутатіону за окисної деструкції тканин. Проведені експерименти з використанням трьох видів хірургічних втручань дали змогу за отриманими показниками їх порівняти. При цьому було встановлено, що застосування як удаваної операції, так і підсадки сформованої тканини найбільш ефективною була алотрансплантація ембріональних тканин судячи з показників антиоксидантної системи.

**Практичне значення отриманих результатів.** Отримані результати мають важливе значення для медицини та токсикології, оскільки розширюють та поглиблюють уявлення щодо стану системи антиоксидантного захисту у м'язових тканинах щурів за алотрансплантації ембріональних м'язових тканин, що сприятиме вдосконаленню методичних підходів при хірургічних втручаннях. Результати досліджень впроваджені на кафедрі біохімії Одеського

національного університету імені І.І. Мечникова до лекційної програми спецкурсу «Біохімія онтогенезу», а також впроваджені в програми дисциплін на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології та кафедрі медичної хімії Одеського національного медичного університету. Рекомендації у вигляді висновків з роботи запропоновані для використання в практиці трансплантологів а також для профілактичних засобів перед хірургічним втручанням. Зокрема вважаємо доцільним рекомендувати оцінювати антиоксидантний стан в організмі хворого перед оперативним втручанням.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота виконана автором і є самостійним, закінченим дослідженням. Основний об'єм експериментальної роботи, статистична обробка та аналіз отриманих результатів виконано безпосередньо здобувачем. Автором проаналізована сучасна наукова література за темою роботи, визначено основні підходи аналізу антиоксидантного захисту організму. Планування основних напрямків роботи, обговорення отриманих результатів та їх узагальнення було здійснено під керівництвом наукового керівника, завідувача кафедрою біохімії Одеського національного університету ім. І.І.Мечникова, доктора біологічних наук, професора Петрова Сергія Анатолійовича.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертації доповідались на Шостій Всеукраїнській науковій конференції студентів і молодих учених з міжнародною участю «Хімічні проблеми сьогодення» (Донецьк, 2012), VIII Міжнародній науково-технічній конференції «Актуальні питання біологічної фізики та хімії» (Севастополь, 2012), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології» (Харків, 2013), 2nd Eurasian Multidisciplinary Forum, EMF 2014(23-26 October, Tbilisi, Georgia), XII міжнародній конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери» (м. Харків, 29 листопада – 1 грудня 2017), міжнародній науково-практичній конференції «Розвиток природничих наук: проблеми та рішення», (м. Брно, Чеська Республіка, 27-28 квітня 2018 року), XII Українському біохімічному конгресі,

присвяченому 165-й річниці від дня народження І. Я. Горбачевського (30 вересня – 4 жовтня 2019, м. Тернопіль).

**Публікації.** По тематиці дисертації надруковано 13 робіт: 8 статей (4 статті у виданнях, які входять до переліку фахових виданнях України, 3 статті, які додатково відображають наукові результати дисертаційної роботи та 1 стаття в зарубіжному виданні), а також 5 тез доповідей у збірниках матеріалів наукових конференцій.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних літературних джерел, що містить 228 найменувань. Матеріали дисертаційної роботи викладені на 175 сторінках машинописного тексту, ілюстровані 29 таблицями та 41 рисунками.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Застосування ембріональних тканин та клітин у медицині

Однією з проблем, що стоять перед біомедичною наукою, є її власна підготовка, а саме - прогресивне збільшення тривалості життя. Все більша кількість людей потребує лікування, і самі методи лікування повинні працювати довше. Тому необхідна зміна акценту на біологічні підходи, включаючи регенерацію тканин. [21]. Більшість клінічних застосувань тканинної інженерії все ще слід розглядати як експериментальні, хоча шкірні замітники та хрящові трансплантати успішно використовуються протягом років. Ембріональним тканинам характерні унікальні властивості:

1. Здатність до адаптації, яка реалізується за рахунок росту, міграції, утворення міжклітинних контактів, що відбувається за рахунок великої кількості бластних клітин.

2. Імунокомпетентні клітини стимулюють фактори росту, афетопротейни, антиоксиданти, адаптогени, протизапальні та бактеріостатичні сполуки, пептиди.

3. Мають високу стійкість до гіпоксії за рахунок використання гліколізу.

4. Певні тканини плода не мають маркерів поверхневих клітин, виявлених у зрілій тканині, які індукують реакції імунної системи у реципієнтів трансплантатів і призводять до відторгнення тканин.

5. Плід, знаходячись у матці, захищений від дії мікроорганізмів, тому є стерильний.

Терапія з використанням ембріональних тканин основана на специфічних та неспецифічних механізмах, які ґрунтуються на модуляції процесів регенерації, репарації, проліферації та диференціювання і реалізуються на генетичному та епігеномному рівнях. Розкриття цих механізмів може бути вирішальною умовою для розробки нових методів

терапії патологічних станів, пов'язаних із порушенням морфогенезу, і, насамперед, при онкологічних захворюваннях [22, 23].

При травмах, опіках, трофічних виразках, хронічних гнійних процесах, хронічних хворобах центральної та периферичної нервових систем (паркінсонізм, епілепсія, дитячий церебральний параліч, пігментна дегенерація сітківки, сенсоневральна приглухуватість); патологіях печінки та підшлункової залози (гепатити, цукровий діабет та ін.), злоякісних пухлин - можливе застосування ембріональних тканин, належать [23].

Алотрансплантація ембріональної тканини є одним з актуальних напрямків в сучасній теоретичній та медичній біохімії, який розробляється для стимуляції та відновлення функцій організму [23]. Алотрансплантацію ембріональної тканини розглядають як можливу альтернативу традиційним, консервативним методам лікування, а також як методологічну основу експериментальних розробок [24].

Ця обставина підкреслює актуальність проблеми в експериментальній та клінічній біохімії, та перспективність використання пересадки ембріональних тканин [25].

Одним із важливих питань, які мають медико-біологічне значення є питання функціонування та збільшення життєдіяльності трансплантата. В цьому відношенні відомо, що після трансплантації ембріональної тканини, трансплантат росте та диференціюється, проростає кровоносними судинами, утворюючи тим самим умови для оксигенації і енергетичного забезпечення своєї діяльності [26].

Основним механізмом реалізації відповіді на дію стрес-факторів в клітині є активізація процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [27]. Важливою системою захисту клітини від окислювальної деструкції є антиоксидантна система [28]. Антиоксидантний захист представляє собою багатокомпонентний комплекс різних сполук, ферментів та їх систем, який забезпечує зв'язування чи перетворення вільних радикалів, обрив ланцюгового процесу вільнорадикального окислення.

## 1.2. Стовбурові клітини при клітинній трансплантації

Стовбурава клітина має здатність до розмноження і диференціювання в різні спеціалізовані клітини під впливом епігенетичних факторів. Вона є універсальним джерелом для регенеративних і репаративних процесів організму, тому що їй належить роль замітника загиблої клітини [29].

Виходячи з теорії виснаження стовбурових можливостей організму, кількість стовбурових клітин в органах і тканинах обмежена і детермінована генетично. Тому з роками в організмі відбуваються порушення, які сам він не в змозі виправити [30].

Здібності стовбурових клітин мігрувати в область пошкодження тканинних зон організму, вбудовуватися в них і диференціюватися в різні спеціалізовані клітини дозволяють використовувати їх в клінічній практиці, відкриваючи перспективу в лікуванні таких тяжких захворювань, як гіпертонічна хвороба, хвороба Паркінсона, хвороба Альцгеймера, захворювання крові, імунної системи і багатьох інших. Крім цього, стовбурава клітина може стати тим знаряддям, за допомогою якого людству відкриється можливість збільшення тривалості життя [30,31].

Пластичний потенціал стовбурових клітин вивчений ще не до кінця. Сьогодні вже відомо багато факторів, що впливають на диференціювання стовбуравої клітини в ту чи іншу клітинну лінію. Зміна оточення веде до активації нової генетичної програми клітини і забезпечує зміну її спеціалізації. Досліди на тваринах показують можливість використання гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку, які можуть диференціюватися в міоцити і судинні структури, для лікування інфарктів та інших захворювань серцево-судинної системи. Але сприятливий ефект спостерігався тільки при їх трансплантації сублетально опроміненим тваринам, або тваринам, чия імунна система піддалася іншим змінам. Є відомості про можливість м'язових клітин-сателітів, що представляють собою м'язову популяцію стовбурових клітин, і міобластів, виділених з скелетного м'яза трансформуватися в кардіоміоцити [30, 32].

Є також дані про можливість диференціювання соматичних клітин в плюрипотентні стовбурові клітини. Так, попередники олігодендроцитів оптичного нерва в певних умовах *in vitro* набувають характеристики нейральних стовбурових клітин [33, 34]

Сьогодні відомо про існування ембріональних і регіональних стовбурових клітин. По здатності надавати початок клітинним лініям, стовбурові клітини класифікують на тоті-, плюрі-, мульти-, полі-, бі - і уніпотентні [35].

Використання того чи іншого типу стовбурових клітин обумовлено їх можливістю репарації пошкодженої тканини. Найпершою і самою примітивною стовбуровою клітиною організму є запліднена яйцеклітина і її нащадки, які перетерпіли два поділи. Ці клітини є поліпотентними і вони здатні формувати ембріон і трофобласт. Через 4 дні після запліднення утворюється бластоциста, що має клітини внутрішньої клітинної маси, які здатні диференціюватися в усі типи клітин трьох зародкових листків, і клітини зовнішньої клітинної маси, що утворюють трофобласт [36, 37]. Також ембріональні стовбурові клітини можуть бути отримані шляхом диференціювання *in vitro* первинних статевих клітин постімплантаційного ембріона. Вони мають здатність відтворити запрограмований генетично організм в цілому [38, 39]. У тканинах більш пізніх ембріонів, плодів і дорослих стовбурові резерви представлені мультипотентними регіональними стовбуровими клітинами, що дають початок певного типу клітинної лінії. Це недиференційовані клітини і більшість з них важко ідентифікувати морфологічно. Вони типові для тканини, в якій розташовуються.

Стовбурові клітини соматичних тканин можуть тривалий час перебувати в стані, що покоїться, а під дією специфічного тканинного оточення диференціюватися в спеціалізовані, підтримуючи таким чином клітинні компартменти, типові для тканини, в якій вони розташовуються. В регенеративно-пластичній медицині використовуються гемопоетичні, мезенхімальні, нейральні, міогенні, статеві, епідермальні, стовбурові клітини

печінки, стовбурові клітини екскреторного відділу підшлункової залози та ін. Якщо потенціал ембріональних стовбурових клітин людина використовує давно, то аутологічні клітини, тобто клітини, виділені з власного організму людини, почали вивчати і використовувати порівняно недавно. Клітинна терапія за допомогою цих клітин виключає розвиток реакції відторгнення. Але й при цьому виникають деякі інші труднощі. Недоліком трансплантації аутологічних стовбурових гемопоетичних клітин є ймовірність реінфузії клітин пухлини з трансплантатом і відсутність іммуноопосередкованого ефекту «трансплантат проти пухлини», що підвищує частоту рецидивів злоякісного захворювання крові [40, 41].

В клітинній терапії найчастіше використовують алогенні клітини. В процесі диференціювання стовбурових клітин відбувається експресія антигенів МНС (Major Histocompatibility Complex - головний комплекс гістосумісності). Молекули цього комплексу були виявлені завдяки здатності викликати сильну реакцію відторгнення трансплантата при пересадці тканини в межах одного виду тварин. Комплекс генів МНС присутній у хребетних усіх видів. Спектр цих молекул унікальний для кожного організму і визначає його біологічну індивідуальність. У людини гени МНС розташовані в короткому плечі шостої хромосоми і названі HLA (Human Leukocyte Antigens - система лейкоцитарних антигенів). Їх роль полягає у зв'язуванні антигену і поданні його на поверхні клітини. Тільки в такому вигляді Т-лімфоцит його впізнає [42].

Існує три класи молекул МНС: МНС класу I (HLA-A, HLA-B і HLA-C), які експресують більшість ядерних клітин, МНС класу II (HLA-D, HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR), які експресують антигенпрезентуючі клітини (В-ліфоцитів, активовані макрофаги, дендритні клітини), і МНС класу III. Розпізнавання молекул МНС класу II сприяє утворенню ефекторів, специфічних відносно молекул МНС класу I. Крім цього, неіммунокомпетентні соматичні клітини можуть аномально експресувати білки МНС класу I. Це можуть спровокувати деякі цитокіни [38, 42].



В результаті відмінностей за антигенами головного комплексу гістосумісності виникає несумісність клітин донора з клітинами реципієнта. Таким чином, при трансплантації алогенних клітин необхідно подолати бар'єр гістонесумісності [37, 42].

Зрозуміло, що забезпечити повну сумісність по всіх відомих антигенах HLA неможливо. Необхідно підібрати донора і реципієнта сумісних по 3-4 антигенам системи HLA. Максимальної сумісності вдасться досягти, підібравши пару донор-реципієнт, ідентичну по MHC класу II (особливо, якщо це антигени HLA-DR) [43, 36, 38].

Необхідно враховувати, що інші антигени гістосумісності, так звані «мінорні», також викликають реакцію з боку імунної системи, хоча і менш сильну. Але в разі поєднання кількох таких антигенів може виникнути гостра реакція відторгнення [38]. Останнім часом активно ведуться дослідження застосування клітин ксеногенного походження при трансплантації. Спочатку ксеногенний матеріал застосовували в експериментальних дослідженнях для вивчення імунних реакцій організму. З розвитком технологій використання стовбурових клітин і розширенням уявлень про імунну систему його почали використовувати і в терапевтичних цілях.

Важливою проблемою при клітинній трансплантації є імунологічна несумісність стовбурових клітин донора з тканинами реципієнта, яка є причиною відторгнення трансплантованого матеріалу і реакції «трансплантат проти хазяїна» (РТПХ). Механізм РТПХ полягає в тому, що реципієнт не здатний відторгнути імунокомпетентні Т-клітини донора, які в свою чергу приживляються і починають реагувати на відмінності за антигенами гістосумісності. Вона може бути гострою або хронічною. Одним із сприятливих факторів для виникнення РТПХ є імунодефіцитні стани, які нерідко викликають спеціально, щоб забезпечити приживлення трансплантованого матеріалу. Реакція залежить від генетичних відмінностей між клітинами донора і реципієнта, кількості донорських клітин та їх фенотипу. У разі гострої РТПХ розвивається цитотоксична клітинна реакція,

спрямована проти тканин реципієнта, і яка веде до його загибелі, а при хронічній РТПХ відбувається поліклональна стимуляція В-лімфоцитів реципієнта, при якій спостерігається збільшення кількості клітин селезінки [44, 42, 38].

З іншого боку, цікаво відзначити, що схожа за механізмом реакція трансплантат проти лейкозу (РТПЛ) є одним з методів лікування хронічного мієлолейкозу. Трансплантат реагує на антигени лімфоїдних і мієлоїдних клітин. Лейкозні клітини є для нього клітинами-мішенями. Розвиток і ефективність цієї реакції залежать від кількості введених донорських клітин і від особливостей лейкозних клітин. Тому виникає необхідність у підтримці балансу між РТПЛ і лейкозних клітин. Експериментальні дослідження показали, що таким чином досягнутий гемопоетичний химеризм сприяє успішній реалізації РТПЛ. Хороших результатів можна досягти в разі значного донорського химеризма ( $> 80\%$ ) [45]. За деякими даними існує ще й тимчасова несумісність між трансплантованим матеріалом і організмом реципієнта. Пацієнту можуть не підійти клітини, взяті у нього кілька років тому. Слід зауважити, що організм - це функціональна система. Протягом усього життя його клітини піддаються змінам, зумовленим як зовнішніми, так і внутрішніми чинниками, які згодом виражаються в їх антигенній структурі.

Відомо, що за певних умов деякі гени експресуються. Зміна умов може призвести до активації генів, що мовчать і репресії активно працюючих. Теоретично, це може привести до серйозних перебудов організму. Особливо важливими виявляються будь-які зміни в молекулах головного комплексу гістосумісності, тому саме ці зміни призведуть до несумісності трансплантованого матеріалу з тканинами реципієнта [42, 46].

При застосуванні алогенних гемопоетичних клітин сумісних за антигенами HLA часто виникають іммуногематологічні і трансфузійні ускладнення. Вони пов'язані з несумісністю донора і реципієнта за групами крові, тому антигени HLA успадковуються незалежно від групи крові. При

цьому виділяють «велику» несумісність, для якої характерно передіснування у реципієнта антитіл проти антигенів еритроцитів донора, і «малу», коли у донора є антитіла проти антигенів еритроцитів реципієнта. У деяких випадках ці дві форми можуть поєднуватися. Якщо основна причина відторгнення - це розбіжності за антигенами гістосумісності, то чому тоді організм матері протягом дев'яти місяців не відторгає плід, експресуючий батьківські трансплантаційні антигени? На думку деяких учених, народження плода уподібнюється реакції відторгнення трансплантата. Чому ж тоді термін виношування плоду становить 280 днів, і при цьому не спостерігається ніякої залежності від стану імунної системи матері?

Організм вагітної володіє механізмом індукції імунологічної толерантності. За деякими даними, імунологічна толерантність забезпечується завдяки наявності трофобласта. Молекули HLA-G, експресовані на ньому, являють собою ефективні інгібітори NK-цитотоксичності, які забезпечують стійкість до всіх типів NK-клітин (нормальним клітинам-кілерам) [47].

Останні дослідження свідчать про роль таких імуносупресивних молекул, як цитокіни і протеїни в запобіганні відторгнення плоду. Здатністю захисту клітин від NK-цитотоксичності володіють ще і продукти гена HLA-C. Розпізнавання рецептором NK-клітини цієї молекули гальмує цитотоксичну активність NK-клітин і захищає клітину [48].

Таким чином, продукти генів HLA-G і HLA-C мають здатність індукувати імунну толерантність до клітин, на яких вони містяться. Не виключено, що, створивши лінію клітин, що володіють цими генами, вдасться вирішити проблему відторгнення, що забезпечить ефективність клітинної терапії.

Своєю цитотоксичністю T-і NK-клітини зобов'язані наявності в своїх гранулах перфोरина, мономерного білка, що викликає утворення пор в мембрані цитоплазми в присутності  $Ca^{2+}$ . Інший білок, що міститься в їх гранулах, гранзим, викликає в клітинах-мішенях запуск програми апоптозу

(на поверхні клітин-мішеней ідентифікована група молекул, зв'язування з якими служить сигналом до запуску цієї програми). Наявність в гранулах хондроїтинсульфата А, протеоглікана, стійкого до протеїнази і має високий негативний заряд, забезпечує захист цих клітин від автолізу [49].

Можливо, використавши механізм самозахисту Т- і НК-клітин за допомогою хондроїтинсульфата А, вдається нейтралізувати цитотоксичну дію перфоринової гранзи на клітини реципієнта при гострій РТПХ. Хороші результати для запобігання РТПХ показало застосування препаратів тканин хоріона. Цей факт вказує на те, що клітини хоріона мають виражену імуносупресивну дію. При трансплантації клітини хоріона здатні тривалий час продукувати біоактивні речовини, у тому числі й імуномодулюючі фактори. Амніохоріальна оболонка утворюється шляхом злиття амніона і хоріона. Їх клітини багаті ліпідами, полісахаридами, глікогеном, глікозаміногліканами, ферментами та імуномодельючими речовинами. Під час відходження вод ця оболонка розривається. Найімовірніше, що води, які відійшли, містять клітини амніона і хоріона, що мають імуносупресивну дію [50].

### **1.3. Біохімія стресу як загального адаптивного синдрому**

Розглянемо як відбувається генерація активних форм кисню в скелетних м'язах. Активні форми кисню (АФК), високореактивні молекули, із-за наявності неспареного електрона широко генеруються в еукаріотичних клітинах в результаті неповного одноелектронного відновлення  $O_2$  в мітохондріях. Незв'язана передача електрона з комплексу I і III в транспортному ланцюзі електронів призводить до появи супероксидного радикала ( $O_2^{\cdot-}$ ), який є основним членом АФК [51]. Під час скорочення м'язів спостерігається збільшення споживання кисню, велика частина якого використовується в електронному ланцюзі і знижується до  $H_2O$ , але до 5%  $O_2$  оцінювалося як конвертоване до  $O_2^{\cdot-}$  [52]. Тому спочатку мітохондрії вважалися переважаючим і основним джерелом АФК в тканині скелетних

м'язів. Проте свіжіші дані показують, що швидкість витоку електронів в електронному ланцюзі під час скорочувальної активності насправді значно нижче, що дозволяє понизити тільки 0,15% загального споживання кисню до  $O_2^{\cdot-}$  [53].

Незалежно від місця виробництва  $O_2^{\cdot-}$  має відносно тривалий період напіввиведення і не реагує безпосередньо з білками, вуглеводами або нуклеїновими кислотами, але може служити в якості субстрату для генерації вторинної АФК.  $O_2^{\cdot-}$  - може бути ферментативний або спонтанно дисмутований і стає таким чином основним клітинним джерелом перекису водню.  $H_2O_2$  є нерадикальною АФК з тривалим періодом напіврозпаду, що дозволяє його дифузюю як усередині клітини, так і через клітинні мембрани.  $H_2O_2$  є слабкішим окисником, ніж його похідне, отримане у присутності відновлених перехідних металів, найбільш реакційноспрямованої АФК, гідроксильного радикала ( $HO^{\cdot}$ ). Незважаючи на це,  $H_2O_2$  реагує з багатьма різними сполуками, що на додаток до його здатності дифундувати робить його важливою сигнальною молекулою [54, 55, 56, 57].

Під стресом прийнято розуміти неспецифічну відповідь організму на запропоновані йому зовнішні або внутрішні вимоги. Дане поняття було запропоновано канадським фізіологом Гансом Сельє. При цьому будь-яка умова або дія може викликати стрес. Чинники, що викликають стрес, і які отримали назву стресори, різні і вони запускають в хід однакову біологічну реакцію, тобто відповідь організму на дію зовнішнього середовища. Основне значення стресу можна визначити як неспецифічну відповідь організму на любую дію, яка несе загрозу порушення гомеостазу [57, 58]. Реалізація стрес-реакції передбачає такі зміни організму, які налаштовані на мобілізацію його захисних резервів і підтримці гомеостазу на всіх рівнях – організму, систем, органів, клітин, клітинних органел [59]. Важливо підкреслити, що неспецифічна реакція, виникаюча у відповідь на любую дію, реалізується, в першу чергу на клітинному рівні [60].

З погляду стресової реакції не має значення, приємна чи неприємна ситуація, з якою організм зіткнувся. Має значення лише інтенсивність потреби в перебудові або адаптації. При цьому організм протиставляє впливу пошкоджуючого агента насамперед свою здатність гнучко пристосовуватися і давати відповідну реакцію [ 61, 62].

Оксидативний стрес виникає в наслідок надмірного надходження в організм активних форм кисню [ 63, 64]. При цьому розвивається комплекс неспецифічних змін метаболізму, тобто активація аденілат- і гуанілатциклазної систем і каскадне утворення та функціонування вторинних месенджерів, які, в свою чергу, стимулюють діяльність великої кількості протеїнкіназ, а також інших внутрішньоклітинних ферментів. Для цього виду стресу характерно роз'єднання тканинного дихання і окисного фосфорилування, у механізмі якого важливу роль відіграють пошкодження мітохондріальних мембран і втрата клітиною неорганічного фосфату. В результаті розвивається часткова деенергізація клітини, посилення анаеробного гліколізу, накопичення молочної кислоти, активація мітохондріальної АТФази, вихід і активація лізосомальних гідролаз, збільшується утворення аміаку, розпад глікогену, порушується мембранний транспорт іонів, медіаторів. А також найважливішим є утворення та накопичення в клітині особливих стресових білків-це кислі білки з великою молекулярною масою [65].

У відповідності зі стадіями стресу (за Сел'є) в організмі теж по різному протікають процеси оксидативного стресу [66]. В основному це позначається на ліпідах і отримало відповідно з цим термін пероксидне окислення ліпідів (ПОЛ). По цьому на ранніх термінах стресу, хвилини і навіть секунди впливу стрес-агента, відбувається активація ПОЛ [67]. При чому активація ПОЛ тим вище, чим вище рівноваги впливу, при цьому тривалість спалаху ПОЛ невелика і служить сигналом для мобілізації власних захисних властивостей клітини повернутися в стан рівноваги порушеного гомеостазу. Одночасно відбувається включення захисних механізмів, і це відбувається тим швидше,

чим сильніше пошкодження, нанесене клітині стрес-агентом. В результаті спалах ПОЛ «збудження» змінюється «гальмуванням» цього процесу (пероксидного окислення ліпідів): вміст активних форм ПОЛ знижуються нижче рівня фізіологічного спокою. Якщо після цього продовжується вплив стресу, то захисні системи клітини виснажуються, антиоксидантні ресурси вичерпуються, і в цьому випадку запускається вторинна активізація ПОЛ і збільшується дія прооксидантів [68, 69]. При цьому активні форми кисню викликають оксидативну деструкцію структур клітини. Вторинна активація ПОЛ, при тривалому стресі, розвивається в основному як наслідок виснаження ендогенних антиоксидантних резервів. В результаті йде окислювальна вільнорадикальна атака мембранних клітинних структур, виведення з ладу частини з них і як результат цього-зниження стійкості клітини до триваючого стресу. Це відповідає вже другій стадії стресу за Сел'є. При цьому зміни йдуть вже не тільки на рівні клітини, а вже у всьому організмі: ураження шлунково-кишкового тракту (виразки шлунка), серцево-судинної системи (зниження скорочувальної здатності міокарда), кровотворної системи (лімфоцитопенія, еозінофілія, тромбоцитопенія), імунної системи (пригнічення кіллерної активності). У підсумку первинна активація ПОЛ - це тільки сигнал для запуску стрес-реакції, в той час як вторинна активація ПОЛ - це фактор розвитку патогенезу, тобто причина розвитку стресових захворювань і поразок. Після чого процес переходить у третю стадію по Сел'є і при цьому процеси зміни в клітинах вже практично незворотні [70, 71].

З цього випливає, що вплив різноманітних стресових агентів призводить до: індукування в організмі активації пероксидного окиснення ліпідів; зсуву в прооксидантно-антиоксидантній рівновазі; збільшення активних продуктів пероксидного окислення ліпідів [ 72, 73].

Пероксидне окислення ліпідів служить сигналом для запуску ланцюга подальших змін в організмі [74, 75, 76]. Прооксидантами в цьому випадку будуть слугувати первинні та вторинні продукти пероксидного окислення

ліпідів. Первинні продукти ПОЛ: вільні окисні радикали наприклад: супероксид  $O_2$ , гідропероксид  $HO_2$  і гідроксил  $OH$ , гідроперекиси, ліпідні перекиси, епоксиди, дієнові кон'югати. Вторинні продукти ПОЛ: альдегіди (малоновий діальдегід), деградування жирних кислот (після розриву подвійних зв'язків), шиффові основи [77, 78].

Великий вміст продуктів ПОЛ в плазмі крові виявлено при атеросклерозі [79], стенокардії [80], інфаркті міокарда [81]. Встановлено, що активація ПОЛ веде до порушення скорочувальної функції міокарду [82]. Як відомо, вільнорадикальне окислення - важливий для життєдіяльності клітини процес. Вільні радикали в умовах норми беруть участь у багатьох життєво важливих функціях клітин, зокрема в реакціях окисного фосфорилування, біосинтезу простагландинів і нуклеїнових кислот, в регуляції ліпідного обміну, в процесах мітозу, а також метаболізму катехоламінів [83-87]. Однак надмірне утворення вільних радикалів, високореактогенних молекул, призводить до пошкодження клітинних структур, порушенню функціональної активності клітин [88]. У нормальних умовах у людини вміст ферментних антиоксидантів не залежить від віку, статі, маси тіла. У той же час при різних патологічних станах концентрація і активність ферментів антиоксидантної системи може змінюватися в різних напрямках [89, 90, 91].

В нормі в організмі тварин існує фізіологічно низький рівень ПОЛ, необхідний для нормального функціонування клітин і тканин [92, 93, 94, 95, 96], а також рухлива рівновага між інтенсивністю ПОЛ і АО активністю [97, 98, 99, 100]. В умовах звичайної життєдіяльності цю рівновагу віднесено в сторону АО системи над процесами ПОЛ. Однак під впливом ряду фізіологічних чи патологічних факторів відбувається посилення інтенсивності вільнорадикального окиснення, в результаті чого можливий зсув рівноваги в сторону активації ПОЛ. Такий зсув тканинного балансу антиоксидантних та прооксидантних процесів називають окисним стресом (ОС) [95, 87]. ОС може розвиватися не тільки при зниженні рівня АО захисту на фоні посилення ПОЛ, а й при великій кількості як про-, так і



антиоксидантів [101]. Інтенсивність процесів ПОЛ залежить від стану систем АО захисту, а також від так званої буферної ємності прооксидантної та АО систем [102, 103]

Результатом ОС являється порушення функцій захисних систем і розвитку окисного порушення клітин та тканин [104, 96]. Між них найбільш небезпечна для клітин деструкція ліпідів мембран, білків, нуклеїнових кислот і глікозаміногліканів [105, 106, 107].

Дія продуктів ПОЛ на ліпиди виражається, перш за все, в порушенні структурної цілісності та зміні фізико-хімічних та біологічних властивостей біомембран. В результаті виникнення в ліпідному біслої переокислених жирних кислот відбувається їх витиснення з гідрофобного оточення, що може призвести до порушення мембран, утворенню в них гідрофільних пор. Це, в свою чергу, призводить до виходу з клітини цитоплазматичних ферментів, активації протеїназ та інших негативних ефектів, які можуть призвести до загибелі клітини.

Деструктивні зміни в фосфоліпідних шарах мембран не можуть не впливати на протікання мембранозв'язаних процесів в клітині, і в першу чергу на роботу електронотранспортних ланцюгів (ЕТЛ) [108]. В результаті накопичення великої кількості ліпоперекисів може відбуватися інактивація важливих ферментів клітини – РНК-ази, сукцинатдегідрогенази, ацетілхолінестерази, малатдегідрогенази і багатьох інших.

Таким чином, стан антиоксидантної системи в стегновій та черевній м'язових тканинах майже не досліджений, тому наші експерименти спрямовані саме на з'ясування цього питання. Також не з'ясований стан антиоксидантної системи при алотрансплантації м'язової тканини як в тканині донора, так і в тканині реципієнта.

#### **1.4. Особливості перебігу оксидативного стресу у м'язах при регенерації**

Окислювальний стрес є однією з причин апоптичної смерті пращурів і зрілих клітин скелетних м'язів, оскільки АФК ініціюють ранні події в

апоптичному шляху [109]. АФК змінює конформацію мітохондріальних пір для посилення вивільнення проапоптотичних білків (наприклад, цитохрому с), а також впливають на чинники транскрипції, необхідні для експресії як про-, так і антиапоптичних генів. Оскільки накопичення АФК в матриці обмежене антиоксидантними ферментами, в основному СОД і ГП, вони безпосередньо впливають на загибель клітин, індукованих АФК [110].

Усі поновлюючі групи основних клітинних макромолекул можуть бути націлені на АФК. Ліпіди у м'язах найбільш сприйнятливі до  $\text{HO}^\cdot$ , що, взаємодіючи з поліненасиченими залишками жирних кислот, утворюють пероксильний радикал, який призводить до змін властивостей клітинних мембран. Пуринові і піримідинові основи і дезоксирибоза ДНК також сприйнятливі до  $\text{HO}^\cdot$ . Нарешті,  $\text{HO}^\cdot$  може направляти амінокислотні залишки білків, особливо лізину, аргініну, гістидину, проліну і треоніну, викликаючи утворення білкових карбонилів. Крім того, сірковмісні амінокислоти схильні до зворотнього або безповоротного окислення сульфгідрильних груп [111]. Отже, помірні рівні АФК можуть модифікувати шляхи передачі сигналу в міогенних клітинах. Одночасно, серин - і треонінфосфатази, а також фосфотирозинфосфатази схильні до окислювально-індукованої інактивації. Ці дві комбіновані АФК-продвинуті події активують різноманітні транскрипційні фактори і сигнальні шляхи. Тому кожне порушення окисно-відновного контролю, іменується як окисний стрес, може призводити не тільки до макромолекулярного окисного порушення, але й до великих змін в передачі сигналу [112].

Дегенерація м'язових волокон і супутнє гостре запалення починаються в перші декілька годин після травми. Якраз після ушкодження м'язів, розриву сарколем і міофібри, відбувається некроз, що відбивається у збільшенні рівнів м'язових білків плазми (тобто креатинкінази, важкому ланцюгу міозину). Це викликано вивільненням кальцію з саркоплазматичного ретикулума, що стимулює кальцій-залежний протеоліз і призводить до дегенерації тканин [113]. М'язовий некроз активує резидентні огрядні

клітини, які, у свою чергу, виділяють цитокіни для прийому, що циркулюють запальні клітини м'язів з навколишньої васкулятури. Першими мієлоїдними клітинами, які вторгаються в пошкоджений м'яз, є поліморфноядерні лейкоцити, в основному нейтрофіли, які з'являються вже через 1 годину після травми і залишаються, принаймні, впродовж наступних 48 годин. Вони сприяють прозапальному середовищу, необхідному для очищення клітинного сміття, але також виділяють хемокіни, щоб викликати міграцію моноцитів в місце ушкодження. Впродовж перших декількох днів запальної реакції переважають лейкоцити, експресуючі прозапальні цитокіни і сприяючі таким чином подальшому набору моноцитів, а також проліферації міогенних клітин [114]. Коли моноцити вторгаються в тканину, вони починають диференціювання в макрофаги, які можна аналогічним чином класифікувати на два основні підтипи. Прозапальні і фагоцитарні макрофаги M1, які спочатку є присутніми в пошкодженій тканині, супроводжуються другою хвилею протизапальних макрофагів M2. Хоча ці субпопуляції не є винятковими і можуть бути присутніми в регенерації м'язів в один і той же час, вони мають різні функції і локалізацію : макрофаги M1 стимулюють проліферацію міогенних клітин і взаємодіють з ними, тоді як M2 знижує цитолітичний збиток, викликаний нейтрофілами і макрофагами M1, збільшується диференціація міогенного клітини-попередника і зростання міофібр, сприяє ремоделюванню тканини і може бути виявлений у безпосередній близькості від диференціювання міоцит [115]. На цих стадіях м'язової регенерації АФК генеруються масово, переважно в нейтрофілах і макрофагах, що важливо для фагоцитозу. Хоча цей процес потрібний для успішного відновлення м'язів, а АФК, створений у безпосередній близькості від м'язових клітин, активує сигнальні шляхи, пов'язані з регенерацією м'язів, коли окислювальний стрес посилюється, він також може привести до вторинного ушкодження раніше не пошкоджених м'язових волокон. Можна відмітити, що індукована АФК безпосередньо індукує м'язову захисну реакцію. Ферментативні антиоксидантні захисні системи індукуються АФК в

перші дні після травми: експресія СОД і ГР значно збільшується в пошкодженому м'язі вже через 12 годин після ушкодження кардіотоксином [116].

Не тільки запальні клітини можуть впливати на рівень утворення АФК під час регенерації м'язів, але і АФК, що виробляється в скелетному м'язі, може регулювати запалення після травми. Osteoактивний редокс-дисбаланс асоціювався із загостреною запальною реакцією після гострого ушкодження. Обробка скелетних м'язів неферментативними антиоксидантами, ГП-імітуюче з'єднання і, нарешті, фармакологічне стимулювання СОД призводить до зменшення запалення в скелетних м'язах після травми. Це може у свою чергу привести до скорочення м'язової травми [117].

Цікаво, що протилежні ефекти антиоксидантного дефіциту на запалення під час м'язової регенерації спостерігалися у мишей. У СОД-дефіцитних тварин була менш виражена інфільтрація м'язів лейкоцитами і макрофагами. Це може бути пов'язано з тим, що міелоїдні клітини також експресують антиоксидантні ферменти, щоб захистити себе від загибелі клітин, викликану АФК. Тому цілком імовірно, що значне порушення редокс-гомеостаза у мишей СОД3 дефіцитом могло призвести до апоптозу запальних клітин [118].

Вплив окислювального стресу і антиоксидантних ферментів на функцію макрофагів і поляризацію при регенерації скелетних м'язів ще не дослідженню. Проте є деякі ознаки того, що АФК і ферменти захисту клітин можуть грати певну роль в цих процесах. АФК активують експресію прозапальних цитокінів і TLR- ініційований шлях в макрофагах і, отже, вони потрібні для правильної активності цих клітин [119].

Представлені тут докази показують, що окислювальний стрес є важливим модулятором регенерації скелетних м'язів після травми. Делікатний баланс між експресією АФК і експресією та активністю антиоксидантних ферментів відіграє важливу роль в підтримці м'язового гомеостазу. На першому етапі регенерації скелетних м'язів АФК є

ключовими гравцями в індукції видалення некротичних м'язових волокон і послаблення м'язової травми. Пізніше антиоксидантні ферменти, а також АФК можуть також впливати на проліферацію, диференціювання і остаточне дозрівання клітин-попередників м'язів. Крім того, вважається, що антиоксидантні ферменти беруть участь в регуляції фіброзу скелетних м'язів.

Передбачається, що посилений окислювальний стрес є основним механізмом ушкодження м'язів і слабкістю дефіциту дистрофіна. В якості маркера захворювання можна використати підвищену експресію антиоксидантних ферментів. Профілактика окислювального стресу розглядається як мета для терапевтичного лікування м'язової дисфункції. Проте через складність причетності до окислювального стресу в м'язовому гомеостазі ще багато питань потребують подальшого дослідження, щоб пояснити точну роль окислювального стресу в м'язовій регенерації.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Модель дослідження

Посттравматичне відновлення скелетних м'язів є актуальною медико-біологічною проблемою. Як правило, після глибоких м'язових пошкоджень повноцінного відновлення тканини не відбувається. На його місці формується грубоволокнистий рубець, що призводить до порушення функціонування органа. Існуючі технології корекції даних дефектів - м'язова аутопластика, алопластика, ксенопластика, клітинні технології, генна терапія є трудомісткими, травматичними і пов'язані з ускладненнями. При використанні галогенного губчастого матеріалу спостерігалось відновлення скелетної м'язової тканини на місці втраченої, в той час як в контрольній групі без застосування біоматеріалу відбувалося формування неповноцінного сполучно-жиротканинного регенерату.

Вільна пересадка органів і тканин (трансплантація) широко представлена в сучасній хірургії. Вона застосовується для усунення складних дефектів, деформацій різних локалізацій і може поєднуватися як з пластикою клаптями на живильній ніжці, так і з місцево-пластичними операціями. Завдяки накопиченому досвіду попередніх поколінь пластичних хірургів, поглибленого вивчення біологічних основ і принципів пересадки тканин, вдосконалення оперативно-технічних прийомів, розробки та використання сучасних інструментів, складних технологічних і операційних систем (в тому числі із застосуванням мікрохірургічних, оптичних, комп'ютерних, генно-інженерних, нано- та біотехнологій), досягненням в фармакології і забезпеченні всіх етапів хірургічного відновлювального лікування, в даний час при трансплантації з метою ліквідації дефектів і деформацій можуть використовуватися практично будь-які тканини з урахуванням принципу органотипічності (шкіра, фасції, жирова тканина, м'язи, нерви, судини, хрящі,

кістки, слизова оболонка, волосяні фолікули та ін.) як у вигляді монотканини, так і у вигляді складних їх поєднань.

Залежно від походження і антигенних властивостей використовуваного транспланта розрізняють декілька видів трансплантацій. Саме в нашій роботі використана алотрансплантація - пересадка тканин або органів з організму від одного генетично різного індивідуума іншому того ж біологічного виду [120-122].

Експериментальне дослідження виконане на 648 самцях дорослих білих нелінійних щурах, масою 180 – 250г.. В ході роботи було проведено 3 вида операційного втручання: 1 – алотрансплантація ембріональних м'язових тканин; 2 – трансплантація м'язових тканин, вилучених у щурів одного посліду; 3 – удавана операція. Експерименти проводили на базі лабораторії кафедри біохімії ОНУ ім. І.І. Мечникова. Щурів утримували на стандартному раціоні харчування віварію.

Для алотрансплантації ембріональних м'язових тканин використовували ембріонів строком 2 – 3 тижні. Під ефірним наркозом в асептичних умовах тварину фіксували до хірургічної дошки у положенні лежачи на спині, операційне поле виголювали та тричі обробляли антисептиком (йодобак). В мезогастральній області повздовжним розрізом пошарово розтинали черевну стінку (Рис. 2.1А).

У ембріонів вилучали черевну м'язову тканину (Рис. 2.1В), яку фіксували лігатурою до черевної стінки дорослого щура (Рис. 2.1С). Рану пошарово зашивали щільно вузловим швом (Рис. 2.1D) [123; 124]. Операційну область обробляли йодобаком. Загоєння рани відбувалося первинним натягом. Використану алотрансплантацію проводили згідно хірургічних правил операцій на м'язах [125].

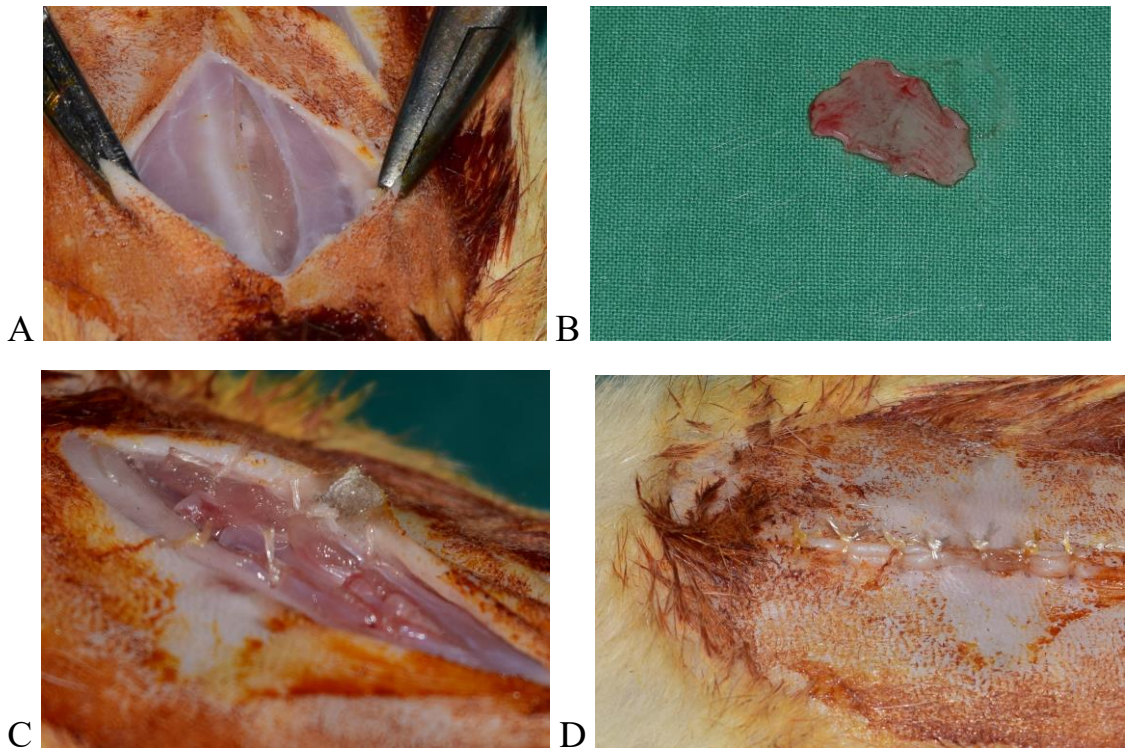


Рис. 2.1. Етапи алотрансплантації черевної ембріональної м'язової тканини.

Аналогічну операцію проводили із стегноюю м'язовою тканиною. Розріз проводили по внутрішній середній третині стегна (Рис. 2.2 А, С, D). Алотрансплантат – стегнова м'язова тканина ембріона (Рис. 2.2 В).





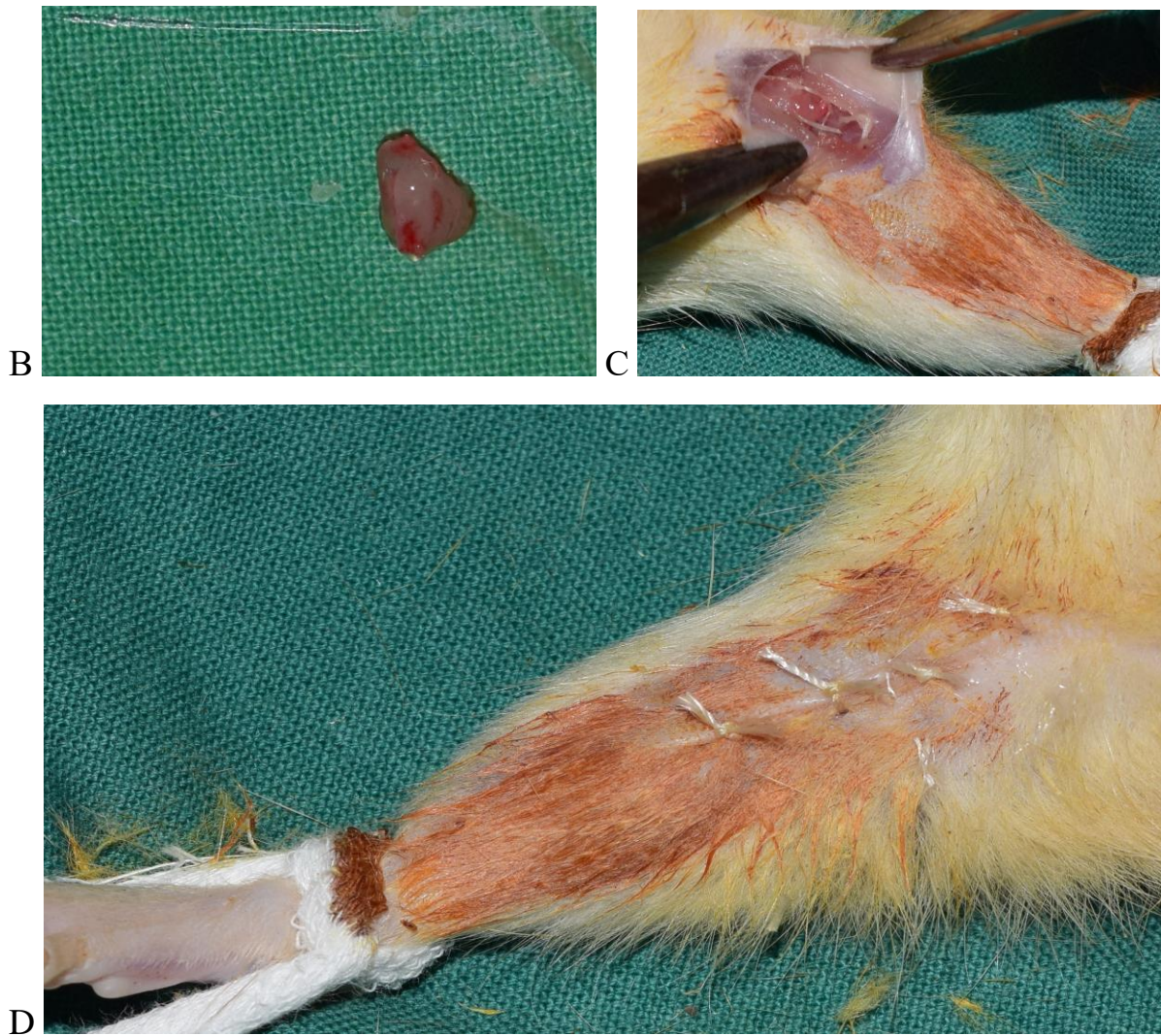


Рис. 2.2. Етапи алотрансплантації стегнової ембріональної м'язової тканини.

Трансплантацію м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду проводили по такій самій схемі, як і алотрансплантацію. Донором стегнової та черевної м'язової тканини слугували щури - самці з одного посліду.

Удавану операцію проводили для порівняння впливу хірургічного втручання на досліджувані показники. Контролем слугувала м'язова тканина щура, яка не підлягала хірургічним втручанням.

В післяопераційний період кожна група утримувалась в окремих клітках при однакових умовах. В роботі строго дотримані етичні принципи проведення експериментальних досліджень з урахуванням положень Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1998) та Закону

України «Про захист тварин від жорстокого поводження».. Тварин виводили з експерименту шляхом пропускання електричного струму через довгастий мозок. Досліджувані показники визначались на першу, третю та сьому добу після операційного втручання.

## **2.2 Методи визначення показників системи глутатіона**

Однією з важливих систем є і система обміну глутатіону [126]. Вона бере участь в реалізації цілого ряду найважливіших фізіологічних процесів: детоксикації та антиоксидантного захисту, в біохімічних перетвореннях вітамінів С, Е, ліпоєвої кислоти та убіхінона; в регуляції тіол-дисульфідної рівноваги; в процесі транспорту амінокислот; у підтримці відновлення середовища клітини; в регуляції вуглеводного, ліпідного, білкового та нуклеїнового обмінів; у підтримці гемоглобіну еритроцитів у відновленому стані і оптимального стану та функцій біологічних мембран; в регуляції клітинної проліферації; в обміні ряду ейкозаноїдів - простагландинів і лейкотрієнів; глутатіон виступає і як резерв цистіна в клітці; бере участь в регуляції функціональної активності лімфоцитів та забезпеченні імунної відповіді організму [127].

### **2.2.1 Методи визначення глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази**

Визначення активності глутатіонредуктази оснований на реєстрації зменшення НАДФН [128, 129]. Використовували реакційну суміш, яка містила 2 мл 0,05М фосфатного буфера (рН 8,0), 0,2 мл 1мМ EDTA, 0,5 мл 7,5 мМ GSSG, 0,1 мл 1,2мМ НАДФН, 0,05-0,2 мл KCl-супернатанта тканини. Активність ферменту визначали по зменшенню вмісту НАДФН на протязі 5 хвилин при довжині хвилі 340 нм. Розрахунки проводили за калібрувальною кривою зі стандартними розчинами.

Активність глутатіонпероксидази визначали по накопиченню окисленого глутатіону. В склад реакційної суміші входили 1 мл 0,3 М

фосфатного буфера (рН 7,4), вміщуючого 12мМ азиду натрію та 6 мМ EDTA, 0,5 мл 2,5 мМ відновленого глутатіону, 0,5 мл 1,8 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 20-200мкл КСІ - супернатанта тканини. Запуск реакції здійснювали внесенням гідроген пероксиду та зупиняли через 2 хвилини 1 мл 10% ТХО. Після центрифугування при 3000 g. 15 хвилин визначали екстинкцію окисненого глутатіону при довжині хвилі 260 нм. Розрахунки проводили за калібрувальною кривою зі стандартними розчинами

### 2.2.2 Метод визначення відновленого глутатіону

**Принцип метода.** Відновлений глутатіон при взаємодії з реактивом Елмана (5',5'-дитіобіс-2-нітробензойна кислота) утворює сполуку (2-нітро-6-меркаптобензойна кислота), забарвлену в жовтий колір, інтенсивність забарвлення якого пропорційна вмісту глутатіону [130]. Отримання гомогенатів тканини: виділену тканину відмивали від крові охолодженим до + 4 °С 0,9% розчином NaCl, гомогенізували при + 4 °С з 0,9% розчином NaCl (у співвідношенні 1:10), що містить 3 мМ EDTA.

**Хід роботи.** Гомогенат тканин в об'ємі 2,0 мл додавали до дослідної проби, в холосту пробу замість гомогенату додавали дистильовану воду. До дослідної та холостої проб додавали осаджуючий реактив по 3,0 мл. Перемішували і витримували при кімнатній температурі, потім центрифугували 15 хвилин при 3000-3500 g, після чого відбирали надосадову рідину по 2,0 мл. Далі додавали 8,0 мл 0,3 М  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  та 0,1 мл реактиву Елмана.

Через 5 хвилин колориметрували дослідну пробу проти холостої проби при довжині хвилі 412 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм. Розрахунок кількості відновленого глутатіону проводили за калібрувальною кривою, яку будували з використанням стандартних розчинів. Вміст відновленого глутатіону виражали в ммоль/г тканини.

### 2.2.3 Метод визначення окисненого глутатіону

**Принцип методу** заснований на тому, що окислений глутатіон при надлишку реактиву Елмана реагує з ним з утворенням забарвленого продукту з максимумом поглинання при 480 нм [131, 132].

**Хід роботи.** В дослідну пробірку додавали 2,5 мл  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,3 мл реактиву Елмана і 0,2 мл безбілкового центрифугату. Через 5 хв дослідну пробу спектрофотометрували проти контрольної проби (що не містить безбілковий фільтрат), при довжині хвилі 480 нм. Розрахунок окисненого глутатіону визначали за раніше побудованою, за стандартними розчинами окисненого глутатіону (до 2 ммоль / л), калібрувальною кривою і перераховували на обсяг біологічного матеріалу. Вміст окисненого глутатіону виражали в ммоль/г тканини.

### 2.3 Метод визначення активності супероксиддисмутази

**Принцип метода.** Нітротетразолій відновлюється супероксидними радикалами, які утворюються при реакції між феназінметасульфатом та відновленою формою нікотинамідаденіндинуклеотида (NADH) [133]. Утворення нітроформаза, продукта відновлення нітротетразолію, блокується вмістом у пробі СОД. На підставі кількості нітроформаза можна судити об активності СОД.

**Хід роботи.** До 1 мл гомогенату для усунення заважаючого впливу гемоглобіну додавали 0,5 мл абсолютного етилового спирту, 0,25 мл хлороформа та 300 мг  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Інтенсивно перемішували та центрифугували 30 хвилин при 5000 об/хв. В контрольну та дослідну проби додавали по 1,5 мл інкубаційного розчину, 0,05 мл розчину NADH та 0,1 мл супернатанта в дослідну пробу, а в контрольну пробу – 0,1 мл дистильованої води. Колориметрували контрольну та опитну проби при довжині хвилі 540 нм в 10 мм кюветі проти води. Розрахунки проводили за калібрувальною кривою зі стандартними розчинами нітросинього тетразолію. Результати виражали в мкмоль нітросинього тетразолію/г тканини \* 1хв.

## 2.4 Визначення загальної оксидантної активності

В клінічній практиці важливе значення надають комплексній оцінці показників як оксидантного, так і антиоксидантного статусу хворих [130]. Для характеристики оксидантного статусу рекомендується досліджувати загальну оксидантну активність (ЗОА).

**Принцип.** Загальна оксидантна активність оцінюється по накопиченню в реакційній суміші кінцевого продукта перекисного окиснення – ТБК-активних продуктів [124]. В якості субстрату використовували твін – 80, а в якості ініціатора – гомогенат тканини.

**Хід роботи.** В посуду з темного скла с притертими пробками об'ємом 200 мл вносили по 2 мл твіна – 80. В дослідну пробу додавали 0,2 мл гомогената тканини, а в контрольну – 0,2 мл дистильованої води. Після інкубації при 40 °С на протязі 48 годин в проби добавляли по 1 мл ТХО і залишали при кімнатній температурі на 60 хвилин. Потім центрифугували при 8000 об / хв 15 хвилин. Супернатант – 2 мл, перемішували з 2 мл ТБК та кип'ятіли 15 хвилин. При цьому ТБК реагує з ТБК-активними продуктами з утворенням триметинового комплексу, який має рожевий колір. Проби охолоджували та колориметрували при 532 нм в 10мм кюветі проти дистильованої води.

Розрахунки результатів проводять по формулі:

$$C=(E_o - E_k) \times V / \varepsilon \times K \times V_0$$

де

C – ЗОА (моль МДА/г тканини)

$\varepsilon$  - коефіцієнт молярної екстинкції комплексу малоновий діальдегід-ТБК,  $1,56 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}/\text{cm}^{-1}$ ;

K - коефіцієнт розведення біологічного матеріалу;

$V_0$  – об'єм біологічного матеріалу в пробі;

$V$  - об'єм первинного біологічного матеріалу (г тканини).

$E_k$  та  $E_o$  – екстинкції відносно контрольної та дослідної проб.

## 2.5. Метод визначення активності каталази

**Принцип.** Гідроген пероксид утворює з молібденом перекисні сполуки жовтого кольору, інтенсивність якого залежить від кількості незруйнованого каталазою гідроген пероксиду в розчині, тобто від активності каталази в пробі [134].

**Хід роботи.** Для дослідження використовували гомогенат тканини. В дослідну та контрольну проби добавляли по 2 мл розчину перекису водню, в дослідну – 0,01 мл гомогенату, в контрольну – 0,01 мл дистильованої води. В кожну пробу добавляли по 1 мл розчину молібдата натрію, перемішували і вимірювали екстинкцію при довжині хвилі 410 нм в кюветі 10 мм проти води.

Розрахунок результатів виконували по формулі:

$$A = (E_k - E_{op}) \times K \times V / V_0 \times xв$$

де

$A$  – активність каталази в ммоль/хв<sup>1</sup> × г;

$E$  – оптична щільність контрольної та опитної проб;

$V_0$  – об'єм вносимої проби, 0,1 мл;

$V$  – об'єм первинного гемолізату гомогената 1 г ткани;

$K$  – коефіцієнт мілімолярної екстинкції перекису водню, дорівнюючий  $22,2 \times 10^3$  ммоль<sup>-1</sup> × см<sup>-1</sup>

## 2.6. Метод визначення загальної антиоксидантної активності

**Принцип.** ЗАА оцінюється по ступеню інгібування аскорбатом - в феронідуцированого окиснення твіна – 80 до МДА [130].

**Хід роботи.** В дві склянки з темного скла (для дослідної та контрольної проб) з притертими пробками об'ємом 200мл вносять по 2 мл твіна – 80, 0,2мл сульфата заліза, 0,2 мл розчину аскорбінової кислоти 0,2 мл гемолізату.

В контрольну пробу замість біологічного матеріалу вносять дистильовану воду в таких самих об'ємах. Інкують 48 годин при 40 °С, потім добавляють 2 мл до суміші добавляють 1 мл ТХО, через 60 хвилин центрифугують при 8000 г/хв 15 хвилин. Охолоджують. Колориметрують при довжині хвилі 532 нм в кюветі з товщиною стінки 10мм проти дистильованої води.

Розрахунок результатів виконували по формулі:

$$C = (E_k - E_o) \times V / \epsilon \times K \times V_0$$

де

C – ЗАА (моль ТБК-активних продуктів/г тканини)

$\epsilon$  - коефіцієнт молярної екстинкції комплексу малонового діальдегід-ТБК,  $1,56 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}/\text{cm}^{-1}$ ;

K - коефіцієнт розведення біологічного матеріалу;

$V_0$  – об'єм біологічного матеріалу в пробі;

V – об'єм первинного біологічного матеріалу (г тканини).

$E_k$  та  $E_o$  – екстинкції відносно контрольної та опитної проб.

## **2.7. Метод визначення ТБК-активних продуктів за допомогою тіобарбітурової кислоти**

При високій температурі в кислому середовищі малоновий діальдегід реагує з 2 – тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений триметиновий комплекс, з максимумом поглинання при 532 нм [135, 136].

**Хід роботи.** Наважку тканини заморожували в рідкому азоті, розтирали в холодній фарфоровій ступці, 1 г отриманого тканинного порошку гомогенізували в 3 мл віщевказоого буферного розчину (рН 7,4). Гомогенат 2,5 мл поміщали в центрифужні пробірки та осаджували білок додаванням 1 мл 17% розчину трихлороцтової кислоти. Осад, що утворився відділяли центрифугуванням на протязі 10 хвилин при 4000 об/хв. Надосадову рідину

по 2 мл переносили в пробірки, добавляли по 1 мл 0,8% водного розчину ТБК та поміщали проби на 10 хвилин в кип'ячу водяну баню. В якості контролю використовували проби, які містять замість надосаду буферний розчин (рН 7,4). Після розвитку рожевого кольору проби охолоджували до кімнатної температури та вимірюють оптичну щільність при 532 нм проти контрольної проби. Розрахунок кількості МДА проводили з урахуванням розведення по формулі  $C = E/\xi$ , де  $E$  – оптична щільність проби,  $\xi$  – молярний коефіцієнт екстинкції, дорівнюючий  $1,56 \cdot 10^{-5}$  моль<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>,  $C$  – концентрація МДА (мкмоль / г тканини).

## 2.8. Метод визначення білка по Лоурі

Метод заснований на вимірюванні інтенсивності забарвлення, яку дає розчин білка в кольорових реакціях - біуретової та реакції Фоліна [137].

При взаємодії білка з лужним розчином мідного купоросу утворюються комплексні сполуки (біуретова реакція), які своїми тирозиновими і цистеїновими радикалами відновлюють суміш фосфорно-вольфрамової і фосфорно-молібденової кислот з утворенням комплексної сполуки синього кольору (реакція Фоліна). Інтенсивність забарвлення комплексу, яка залежить від кількості білка в досліджуваній пробі, вимірюється на фотоелектроколориметрі з червоним світлофільтром.

Щоб визначити вміст білка в досліджуваній пробі, необхідно побудувати калібрувальну криву (залежність інтенсивності забарвлення комплексу від кількості білка). Для побудови калібрувальної кривої використовують ряд розчинів сироваткового альбуміну з відомими концентраціями. Для цього спочатку готують вихідний розчин з концентрацією білка 0,5 мг в 1 мл, розчиняючи 5 мг альбуміну в 10 мл дистильованої води. Потім з цього розчину готують розбавлені розчини, наливаючи в пробірку №1-6 задану кількість вихідного розчину білка і води.

**Хід роботи.** К 0,2 мл проби, в якій визначають концентрацію білка, добавляють 2 мл реактиву С та 0,2 мл реактиву Фоліна. Через 30 хвилин



вимірювали екстинкцію проти контролю (0,2 мл фіз. Розчину + 2 мл реактиву С + 0,2 мл рективу Фоліна).

## 2.9 Статистична обробка результатів

Отримані дані обробляли статистично за Ст'юдентом [138].

Спочатку обчислювали середньоарифметичне значення ( $M_{cp}$ ):

$$M_{cp} = \frac{\sum a_i}{n},$$

де

$M_{cp}$  - середнє арифметичне;

$a_i$  - варіанта;

$n$  - число дослідів.

Далі розраховували середньоквадратичне відхилення ( $m$ ):

$$m = \sqrt{\frac{\sum (M_{cp} - a_i)^2}{n \cdot (n - 1)}}$$

Для розрахунку  $t$  (коефіцієнт Ст'юдента) використовували формулу:

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}},$$

де

$t$  – показник різниць;

$M_1$  – середнє арифметичне дослідної групи;

$M_2$  – середнє арифметичне контрольної групи;

$m_1$  – середня арифметична похибка дослідної групи;

$m_2$  – середня арифметична похибка контрольної групи.

Використовуючи таблицю Ст'юдента і значення  $t$ , визначали рівень значущості  $p$ . Відмінності між середніми значеннями вважали достовірними при  $p \leq 0,05$ .

**РОЗДІЛ 3**  
**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ**  
**РІВЕНЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В М'ЯЗОВИХ ТКАНИНАХ**  
**ПРИ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ**

**3.1. Вміст ТБК-активних продуктів при різних видах хірургічних втручань.**

Протягом останніх десятиліть вчені докладали зусиль, щоб використовувати основу класичних знань про трансплантацію ембріональних тканин та клітин для досягнення терапевтичної мети. [139]. Ембріональна тканина унікальна тим, що швидко розростається і має меншу можливість відторгнення від імунної системи господаря, ніж клітини дорослих. Розкриття всіх механізмів може бути вирішальною умовою для розробки нових методів терапії патологічних станів, пов'язаних із порушенням морфогенезу, і, насамперед, онкологічних захворювань [140].

Тіобарбітурат-реакційні продукти (малоновий діальдегід) - вторинні продукти перекисного окиснення ліпідів. Як відомо, малоновий діальдегід (МДА) утворюється тільки з жирних кислот. Негативна роль малонового діальдегіду полягає в тому, що він зшиває молекули ліпідів і знижує лабільність мембрани. Внаслідок цього мембрана стає більш крихкою [141, 142]. Порушуються процеси, пов'язані зі зміною поверхні мембрани: фагоцитоз, піноцитоз, клітинна міграція та ін. [143]. Утворення значної кількості МДА, як правило, свідчить про високий ступінь ендотоксикозу.

При удаваній операції спостерігалось достовірне зменшення кількості МДА на третю та сьому добу дослідження як в стегновій, так і в черевній м'язових тканинах дорослої тварини відносно контролю (Таблиця 3.1).

Таблиця 3.1

**Вміст ТБК-активних продуктів при удаваній операції ( мкмоль/г  
тканини)**

Доба \ Тканини	Стегнова м'язова тканина дорослої тварини	Черевна м'язова тканина дорослої тварини
Контроль (без підсадки)	195,75 ± 34,74	177,81 ± 22,40
1 доба	251,78 ± 8,54 p<0,05	56,78 ± 4,28* p<0,01
3 доба	59,02 ± 3,91* p<0,01	12,70 ± 1,38* p<0,01
7 доба	71,71 ± 7,24* p<0,01	89,65 ± 12,94* p<0,05

*Примітка:* \*P ≤ 0,05 – достовірно відносно контролю

При трансплантації стегнової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду на першу та сьому добу дослідження відбувалося достовірне зменшення вмісту ТБК-активних продуктів як в тканині донора, так і в тканині реципієнта (Таблиця 3.2). На третю добу після трансплантації стегнової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду в тканині реципієнта достовірних змін вмісту досліджуваного показника відносно контрольного значення не спостерігалось, тоді як в тканині донора відбувалось зниження.

В черевній м'язовій тканині реципієнта на першу добу дослідження вміст ТБК-активних продуктів в 4,5 рази став нижче по відношенню до контролю. На третю добу дослідження зниження вмісту досліджуваного показника відносно контролю спостерігалось лише в тканині донора. В черевній м'язовій тканині реципієнта та донора достовірних змін відносно контролю на сьому добу дослідження не відбувалось.

Таблиця 3.2

**Вміст ТБК-активних продуктів при трансплантації м'язової  
тканини, вилученої у щурів одного посліду (мкмоль/г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина реципієнта	Стегнова м'язова тканина донора	Черевна м'язова тканина реципієнта	Черевна м'язова тканина донора
Контроль (без підсадки)	195,75 ± 34,74	195,75 ± 34,74	177,81 ± 22,40	177,81 ± 22,40
1 доба	94,14 ± 4,17 * p<0,05	24,66 ± 2,52* p<0,01**	38,10 ± 2,52 * p<0,01	129,25 ± 6,89 p<0,05**
3 доба	168,85 ± 17,77 p>0,3	82,93 ± 10,01* p<0,05**	166,61 ± 11,88 p>0,3	11,21 ± 1,92 * p<0,01**
7 доба	104,60 ± 14,94 * p<0,05	99,37 ± 3,91* p<0,05	183,04 ± 21,20 p>0,3	175,57 ± 13,47 p>0,5

*Примітка:* \* P≤0,05 – достовірно відносно контролю;

\*\* P≤0,05 – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта

В наступній серії дослідження ми порівняли вміст ТБК-активних продуктів між стегновими м'язовими тканинами та черевними м'язовими тканинами донора та реципієнта при трансплантації м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду в усі терміни дослідження.

Порівнявши кількість ТБК-активних продуктів між стегновими м'язовими тканинами донора та реципієнта, можна відмітити збільшення на першу та третю добу дослідження в стегновій м'язовій тканині реципієнта (Рис. 3.1). На сьому добу дослідження достовірної різниці між тканинами встановлено не було.

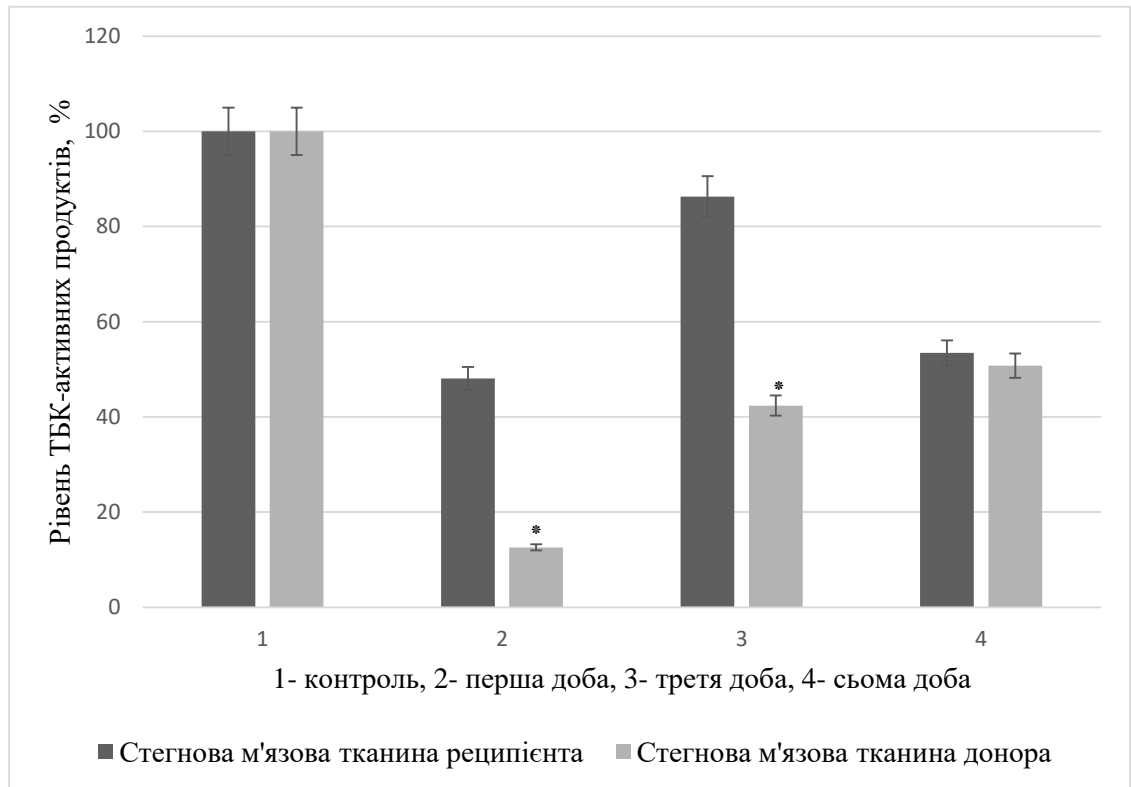


Рис. 3.1. Динаміка рівня ТБК-активних продуктів (%) в стегнових м'язових тканинах донора та реципієнта при трансплантації м'язової тканини, вилюченої у щурів одного посліду.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між донором та реципієнтом

При порівнянні рівня ТБК-активних продуктів між черевними м'язовими тканинами донора та реципієнта встановлено, що в тканині реципієнта його вміст був в 3 рази нижче ніж в тканині донора (Рис. 3.2). На третю добу дослідження в черевній м'язовій тканині реципієнта вміст ТБК-активних продуктів майже в 15 разів перевищував його вміст в тканині донора, але к сьомій добі достовірних змін між тканинами не встановлено.

Кінцевим продуктом деградації жирних кислот при ПОЛ є МДА [144]. Це хімічно дуже активна речовина, яка своїми альдегідними групами здатна взаємодіяти з аміногрупами білків, викликаючи їх необоротну денатурацію [145]. Як відомо, малоновий діальдегід (МДА) утворюється тільки з жирних кислот з трьома і більше подвійними зв'язками. МДА належить важлива роль у синтезі простагландинів, прогестерону і інших стероїдів. Негативна роль

малонового діальдегіду полягає в тому, що він зшиває молекули ліпідів і знижує проникність мембрани. Внаслідок цього мембрана стає більш крихкою [146, 147]. Порушуються процеси, пов'язані зі зміною поверхні мембрани: фагоцитоз, піноцитоз, клітинна міграція та ін. [148].

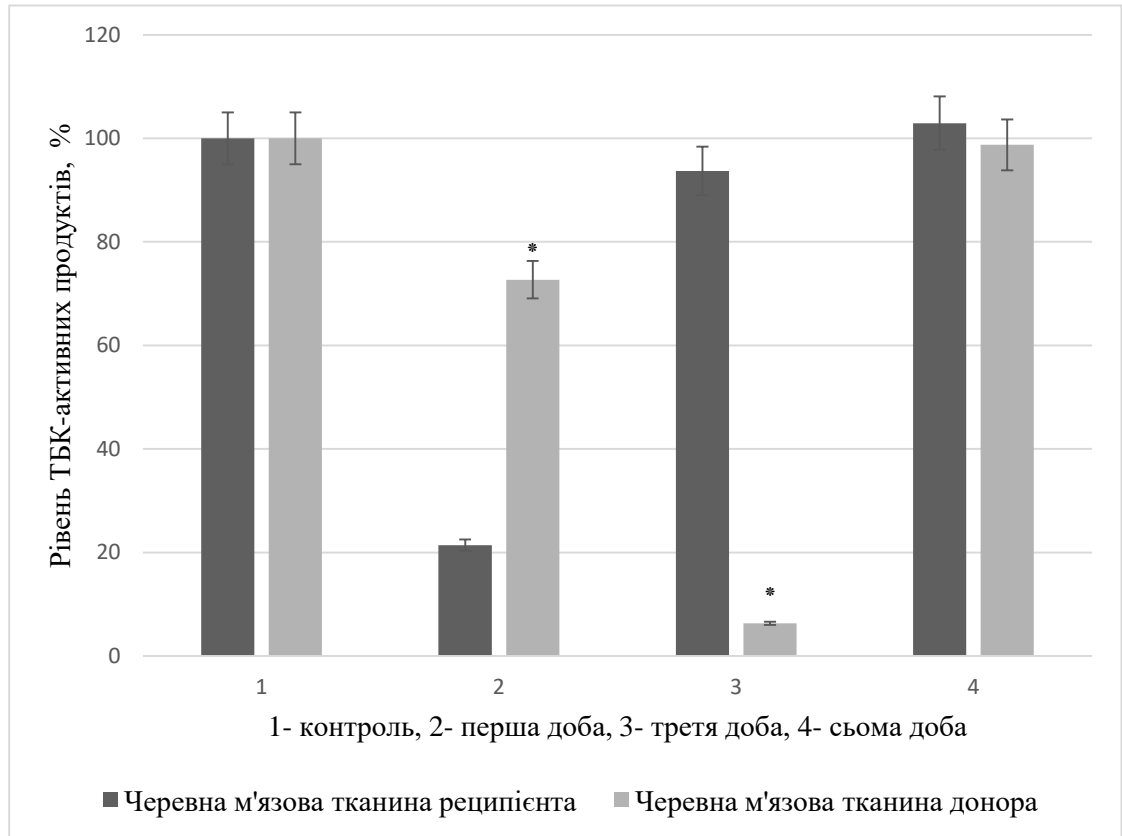


Рис. 3.2. Динаміка рівня ТБК-активних продуктів (%) в черевних м'язових тканинах донора та реципієнта при трансплантації м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між донором та реципієнтом

В наступній серії досліджень була проведена алотрансплантація стегнової та черевної ембріональних м'язових тканин та визначений вміст ТБК-активних продуктів в досліджуваних тканинах.

Досліджуючи кількість ТБК-активних продуктів в стегновій м'язовій тканині дорослого щура при алотрансплантації ембріональної стегнової м'язової тканини (Таблиця 3.3) можна відмітити достовірне зменшення, відносно контролю приблизно в 7 разів на третю добу дослідження. В стегновій м'язовій тканині ембріона на першу добу дослідження відбувалося

достовірно збільшення досліджуваного показника приблизно в 4 рази відносно контролю. На третю добу дослідження цей показник достовірно знизився відносно контролю та був менше в 1,5 рази. В черевній м'язовій тканині дорослого щура після алотрансплантації спостерігалось достовірно зменшення вмісту ТБК-активних продуктів на першу та третю добу дослідження відносно контролю. В черевній м'язовій тканині ембріона навпаки досліджуваний показник ступінчасто збільшувався та на сьому добу перевищував контрольне значення в 11 разів.

Таблиця 3.3

**Вміст ТБК-активних продуктів при алотрансплантації  
ембріональної м'язової тканини (мкмоль/г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина дорослого щура	Стегнова м'язова тканина ембріона	Черевна м'язова тканина дорослого щура	Черевна м'язова тканина ембріона
Контроль (без підсадки)	195,75 ± 34,74 **	121,55 ± 12,75	177,81 ± 22,40	74,71 ± 5,98 **
1 доба	124,02 ± 12,50 p<0,05	499,27 ± 52,55* p<0,05**	98,62 ± 20,21 * p<0,05	206,93 ± 30,40 * p<0,01**
3 доба	26,15 ± 3,91 * p<0,05	78,71 ± 8,16 * p<0,05**	67,24 ± 8,18 * p<0,05	397,20 ± 20,95 * p<0,01**
7 доба	127,01 ± 43,56 p>0,1	192,36 ± 40,36 p<0,05	225,63 ± 11,95 p<0,05	844,00 ± 103,20* p<0,01**

*Примітка:* \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю;

\*\* P≤0,05 – достовірно між м'язовими тканинами дорослого щура та ембріона

Якщо порівняти кількість ТБК-активних продуктів між стеговими м'язовими тканинами дорослого щура та ембріона, то можна відмітити, що в тканині дорослого щура рівень малонового діальдегіду достовірно перевищував його рівень в тканині ембріона ( в 1,6 рази) (Рис. 3.3). На першу добу, після алотрансплантації в стеговій м'язовій тканині дорослого щура досліджуваний показник в 4 рази достовірно знизився, відносно його

показника в ембріональній тканині. На третю добу дослідження рівень ТБК-активних продуктів в стегновій м'язовій тканині дорослого щура був в 3 рази нижче, але к сьомій добі дослідження достовірних змін між тканинами не встановлено.

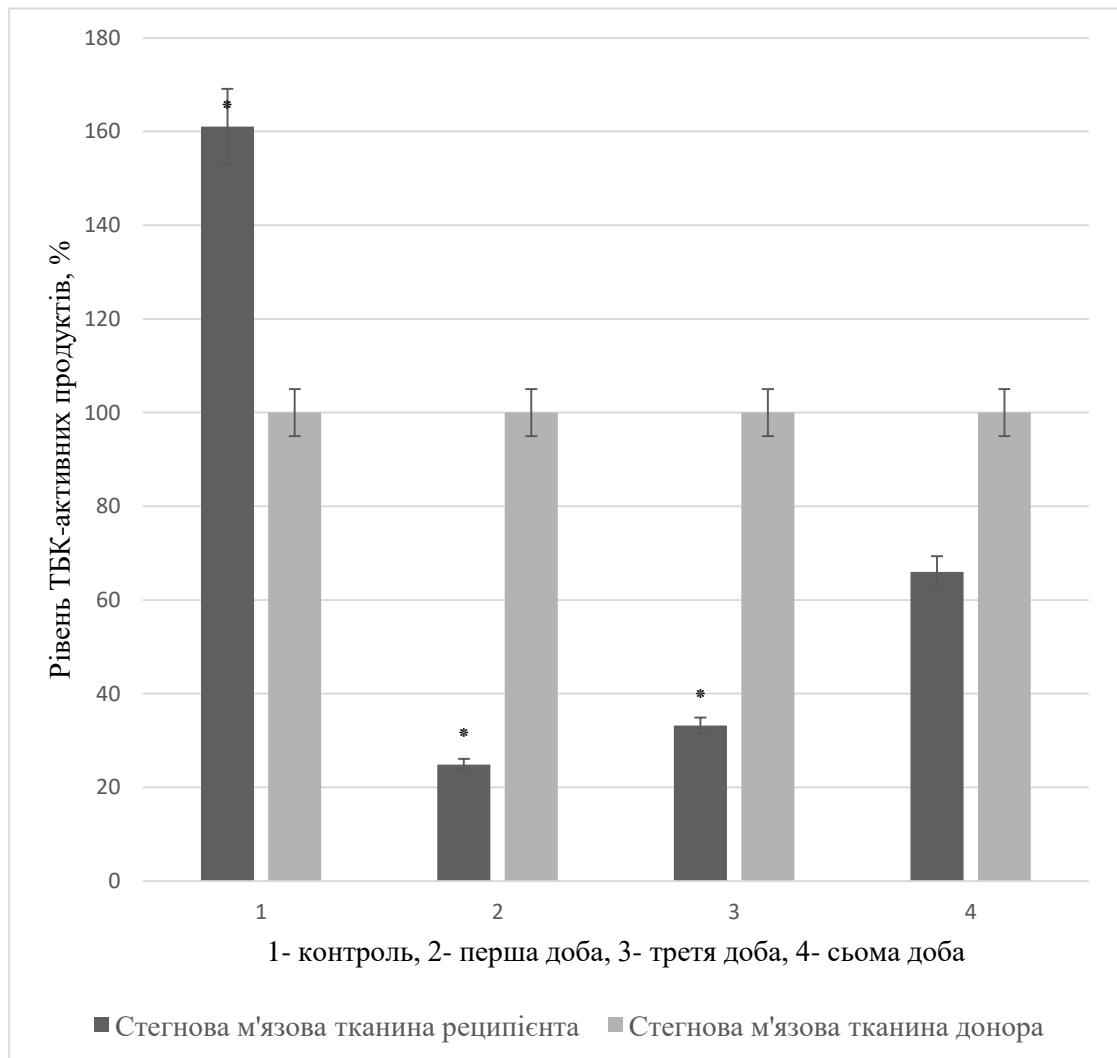


Рис.3.3. Динаміка рівня ТБК-активних продуктів (%) в стегнових м'язових тканинах донора та реципієнта при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між донором та реципієнтом

При порівнянні рівня ТБК-активних продуктів між черевними м'язовими тканинами донора та реципієнта при алотрансплантації черевної м'язової тканини, можна відмітити, що в черевній м'язовій тканині дорослого щура його рівень більше ніж в 2 рази достовірно перевищував його показник в тканині ембріона (Рис. 3.4). На першу добу дослідження



рівень досліджуваного показника в черевній м'язовій тканині дорослого щура був в 2 рази достовірно нижче його рівня в ембріональній тканині. На третю добу після алотрансплантації черевної м'язової тканини ембріона рівень ТБК-активних продуктів в черевній м'язовій тканині дорослого щура був в 6 разів нижче його рівня в ембріональній тканині. На сьому добу після алотрансплантації черевної м'язової тканини ембріона рівень цього показника в черевній м'язовій тканині дорослого щура був в 4 раз нижче його рівня в ембріональній тканині.

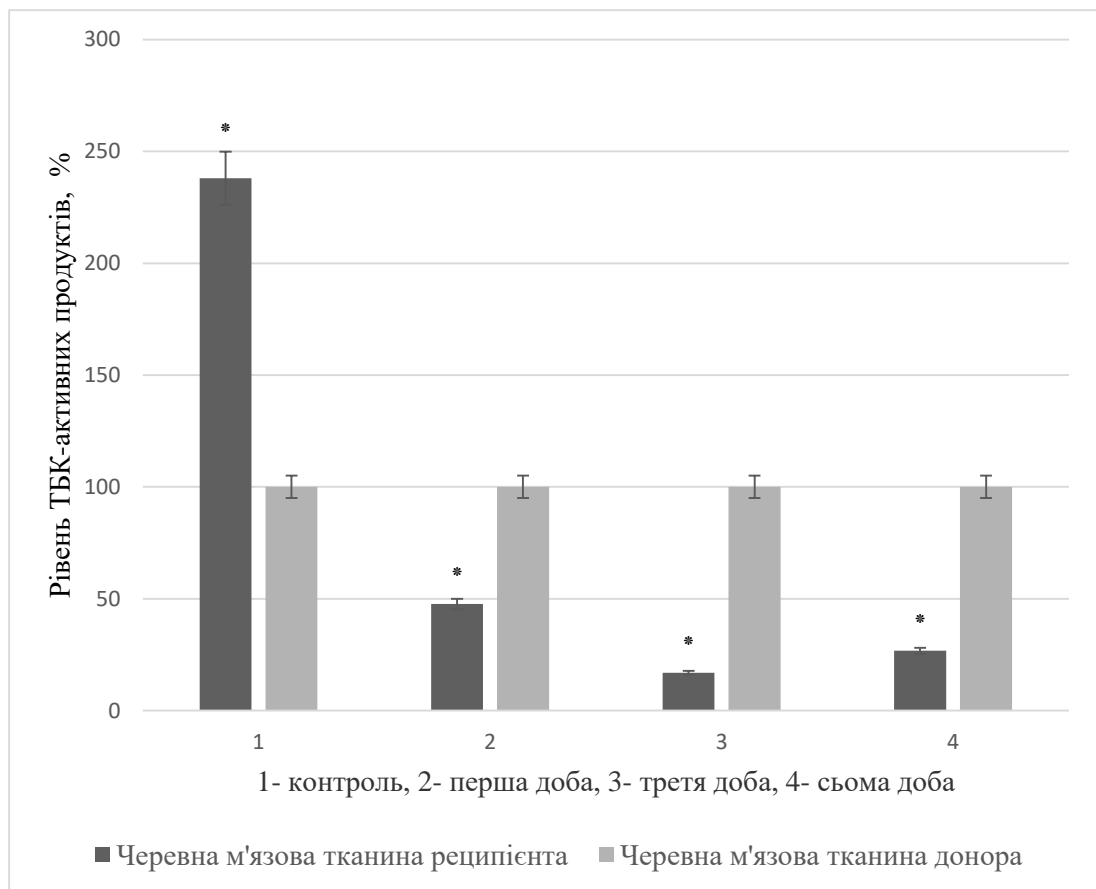


Рис. 3.4. Динаміка рівня ТБК-активних продуктів (%) в черевних м'язових тканинах донора та реципієнта при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між донором та реципієнтом

Таким чином, на першу добу дослідження алотрансплантація стегнової м'язової тканини не впливає на рівень ТБК-активних продуктів в тканині реципієнта (Рис. 3.5). На третю добу дослідження стверджувати, що саме

алотрансплантація призвела до зниження рівня ТБК-активних продуктів в тканині реципієнта ми не можемо, так як при удаваній операції його вміст також знижувався.

На цьому добу дослідження можна стверджувати, що саме алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призвела до збереження рівня ТБК-активних продуктів на рівні контрольного показника, тому що удавана операція та трансплантація стегнової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду призвели до достовірного зниження його вмісту відносно контрольного значення.

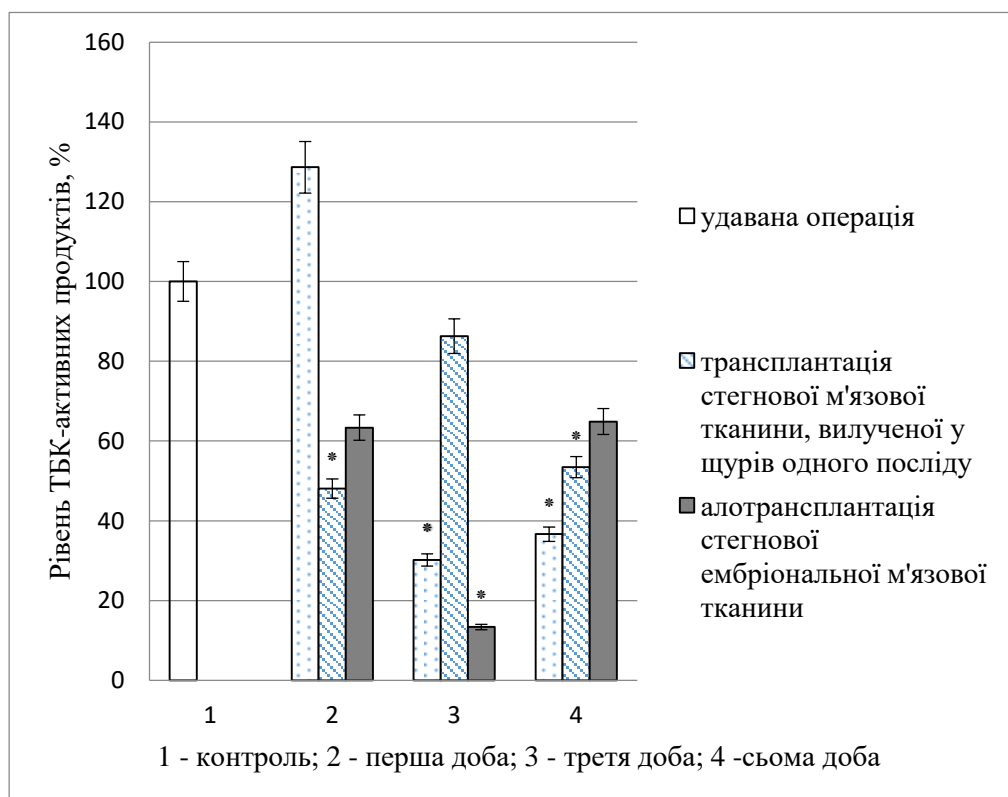


Рис. 3.5. Порівняльна динаміка рівня малонового діальдегіду (%) в стегновій м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

Таким чином, на першу добу дослідження стверджувати, що алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призвела до зменшення рівня ТБК-активних продуктів в тканині реципієнта не можна, тому що при удаваній операції та при трансплантації черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду спостерігалась така ж сама

тенденція (Рис. 3.6). На третю добу дослідження алотрансплантація та удавана операція призвели до однакових змін вмісту ТБК-активних продуктів в тканині реципієнта, тоді як підсадка черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду, призвела до зсуву дослідженого показника до рівня контрольного значення. На сьому добу дослідження отримані дані свідчать про те, що саме хірургічне втручання призвело до зменшення рівня ТБК-активних продуктів в тканині реципієнта, тоді як алотрансплантація та трансплантація черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду не впливала на досліджуваний показник.

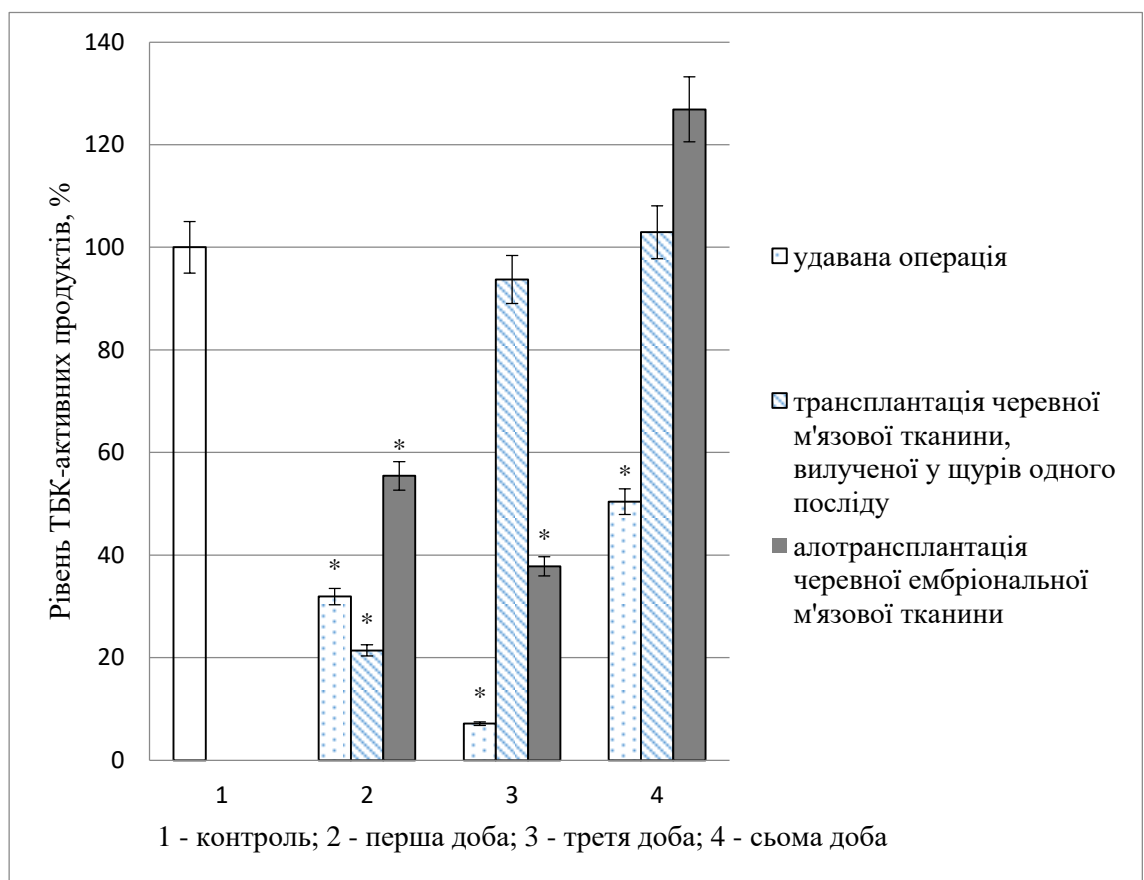


Рис.3.6. Порівняльна динаміка рівня ТБК-активних продуктів (%) в черевній м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

Таким чином, алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона к сьомій добі дослідження призвела до збереження кількості ТБК-активних продуктів на рівні контрольного значення [список публікацій - 4].

### **3.2. Загальна оксидантна активність при різних видах хірургічних втручань.**

Захист організму від шкідливої дії кисню і окиснення в ході еволюції здійснювався шляхом створення спеціалізованих антиоксидантних механізмів - за рахунок створення спеціалізованих ферментних систем - антиоксидантних ферментів, буферних систем, здатних підтримувати прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у внутрішньоклітинних, міжклітинних і ліпідних структурах мембран [149, 150]. Антиоксидантно-прооксидантна система організму представлена сукупністю факторів, які генерують активні форми кисню (АФО) [151; 152], і факторів, що гальмують їх утворення або ж сприяють їх знешкодженню [153; 154].

Значна частина кисню піддається в клітинах двох - і тетраелектронному відновленню на внутрішній мембрані мітохондрій за участю систем цитохромів і цитохромоксидази. Джерелом активних форм кисню можуть бути реакції, що каталізуються цитохромом Р-450 в мікросомальних фракціях клітин, особливо в гепатоцитах. У цитозолі клітин супероксидний аніон-радикал генерується від ксантинооксидази [155-159].

Тіоловою БАО (біоантиоксидант) - цистеїн або ерготионеїн - в ФАС (фізіологічна антиоксидантна система) переважно виконують роль відновників окисленої форми аскорбата за рахунок передачі відновних еквівалентів від фонду  $\text{NADH} + \text{NADFH}$ , хоча в неклітинних утвореннях, зокрема в спермі, вони можуть виконувати функції БАО прямої дії. До БАО непрямой дії відноситься рибофлавін, що є компонентом глутатіонредуктази [160].

Порушення балансу між впливом прооксидантних факторів і функціональними можливостями фізіологічної антиоксидантної системи організму веде до надмірного неферментного вільнорадикального окиснення [152, 161]. По-перше, знижується надходження біоантиоксидантів - токоферолу, аскорбата, біофлавоноїдів, ерготионеїну та ін. Цей фактор щорічно виявляється в помірних і полярних широтах в зимово-весняний

період, коли продукти харчування людини різко збіднюються біоантиоксидантами. При стресах різного походження, коли одночасно під впливом катехоламінів і кортикостероїдів в кров надходить надлишок жирних кислот і кисню; надходження в організм прооксидантів, до числа яких відносяться пестициди, ліки-окислювачі, фотохімічні продукти смогу і т.д .; надлишкове споживання жирів і вуглеводів при недостатньому витрачання їх; гіпокінезія з її низьким рівнем біологічного ферментативного окислення, тобто пониженням відновлення піридиннуклеотидів; фізичні фактори - радіоактивний фон, ультрафіолетове опромінення, електромагнітне поле; вікове зниження активності антиоксидантних ферментів та їх вроджені ензимопатії [152].

Накопичення активних форм кисню та інших пероксидантів може викликати так званий оксидативний стрес. Виражений оксидативний стрес пошкоджує мембрани і клітину в цілому, ускладнює перебіг багатьох найбільш поширених хвороб і станів або навіть бере участь у їх патогенезі. Таких захворювань описано вже понад 60, хоча як і раніше дискутувалося питання, чи є пероксидні радикали стреспричиною або наслідком пошкодження тканин [152].

Перекисне окислення ліпідів біологічних мембран супроводжується порушенням їх проникненості та зміною функцій [162]. Воно активується під впливом гіпероксії, впливу іонізуючої радіації та УФ – радіації, різноманітних патологічних процесів і може розглядатися як одні з проявів стрес-реакції [152].

Таким чином основною функцією антиоксидантної системи є зменшення кількості вільних радикалів до мінімально можливого рівня [163].

В наступній серії досліджень ми визначали загальну оксидантну активність в досліджуваних тканинах при удаваній операції в усі строки дослідження.

При удаваній операції ЗОА визначалась на сьому добу, після операції, як в стегновій, так і в черевній м'язових тканинах, що свідчить про

виникнення оксидантного стресу, після оперативного втручання. (Таблиця 3.4)

Таблиця 3.4

**Визначення ЗОА при удаваній операції  $M \pm m$  (моль ТБК-активних продуктів/г тканини )**

Доба \ Тканини	Стегнова м'язова тканина дорослого щура	Черевна м'язова тканина дорослого щура
Контроль (без підсадки)	Не визначається	Не визначається
1 доба	Не визначається	Не визначається
3 доба	Не визначається	Не визначається
7 доба	$0,19 \pm 0,04 *$	$0,29 \pm 0,03 *$ $p > 0,05$

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

В контролі ЗОА не визначалась як в стегновому, так і в черевному м'язі дорослого щура та ембріона (Таблиця 3.5). Алотрансплантація м'язових тканин ембріона призвела до появи ЗОА на сьому добу дослідження в усіх досліджуваних тканинах. Достовірної різниці між тканинами донора та реципієнта не виявлено.

Таким чином ЗОА виявляється лише к сьомій добі дослідження як при удаваній операції, так і при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини в усіх досліджуваних тканинах. Утворення вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів к 7 добі зростає, що веде до багатьох негативних наслідків.

Таблиця 3.5

**Визначення ЗОА при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини,  $M \pm m$ , (моль ТБК-активних продуктів/г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина дорослого щура (реципієнт)	Стегнова м'язова тканина ембріона (донор)	Черевна м'язова тканина дорослого щура (реципієнт)	Черевна м'язова тканина ембріона (донор)
Контроль (без підсадки)	Не визначається	Не визначається	Не визначається	Не визначається
1 доба	Не визначається	Не визначається	Не визначається	Не визначається
3 доба	Не визначається	Не визначається	Не визначається	Не визначається
7 доба	$0,52 \pm 0,06 *$	$0,56 \pm 0,01 *$ $p > 0,3$	$0,38 \pm 0,13 *$	$0,41 \pm 0,01 *$ $p > 0,3$

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю;

\*\*  $P \leq 0,05$  – достовірно між м'язовими тканинами дорослого щура та ембріона

ЗОА не визначалась в досліджуваних тканинах при трансплантації м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду на всіх термінах дослідження. Підсадка генетично споріднених м'язових тканин не спричиняла виникненню ЗОА.

Таким чином, алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призводила до виникнення ЗОА, як в тканині донора, так і в тканині реципієнта. ЗОА виникала в стегновій м'язовій тканині дорослого щура і при удаваній операції на сьому добу дослідження, але приблизно в 3 рази нижче, ніж при алотрансплантації стегнової м'язової тканини ембріона.

### **3.3. Загальна антиоксидантна активність при різних видах хірургічних втручань.**

З таблиці 3.6 видно, що удавана операція призводила до збільшення загальної антиоксидантної активності в досліджуваних тканинах в усі

терміни дослідження відносно контролю. Можна припустити, що удавана операція призводить до підвищення антиоксидантного статусу в тканинах.

Таблиця 3.6

**Визначення ЗАА при удаваній операції,  $M \pm m$  (ммоль ТБК-активних продуктів/г тканини)**

Доба \ Тканини	Стегнова м'язова тканина дорослого щура	Черевна м'язова тканина дорослого щура
Контроль (без підсадки)	$0,15 \pm 0,02$	Не визначається
1 доба	$0,30 \pm 0,01^*$ $p < 0,01$	$0,49 \pm 0,03^*$
3 доба	$0,33 \pm 0,02^*$ $p < 0,01$	$0,31 \pm 0,03^*$
7 доба	$0,19 \pm 0,01^*$ $p > 0,05$	$0,10 \pm 0,02^*$

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

В наступній серії досліджень ми визначали загальну антиоксидантну активність в стегновій та черевній м'язових тканинах при трансплантації м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду на першу, третю та сьому добу дослідження.

Загальна антиоксидантна активність при трансплантації стегнової та черевної м'язових тканин, вилученої у щурів одного посліду збільшувалась, як в тканинах донора, так і в тканинах реципієнта, що свідчить про появу токсичних сполук кисню в тканинах та активному включенню антиоксидантного захисту клітин (Таблиця 3.7).



Таблиця 3.7

**Визначення ЗАА при трансплантації м'язової тканини, вилученої у шурів одного посліду,  $M \pm m$  (ммоль ТБК-активних продуктів/г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина реципієнта	Стегнова м'язова тканина донора	Черевна м'язова тканина реципієнта	Черевна м'язова тканина донора
Контроль (без підсадки)	0,15 ± 0,02	0,15 ± 0,02	Не визначається	Не визначається
1 доба	0,22 ± 0,01 * p<0,05	0,23 ± 0,01 * p<0,01	0,21 ± 0,02 *	0,24 ± 0,01 *
3 доба	0,17 ± 0,02 p>0,3 **	0,27 ± 0,02 * p<0,01	0,21 ± 0,01 *	0,22 ± 0,02 *
7 доба	0,33 ± 0,01 * p<0,01	0,31 ± 0,01 * p<0,01	0,29 ± 0,01 *	0,31 ± 0,02 *

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю;

\*\* P≤0,05 – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта

В стегновій м'язовій тканині дорослого щура ЗАА майже в 2 рази перевищувала її активність в стегновій м'язовій тканині ембріона (Таблиця 3.8). Алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призводила до зниження ЗАА на третю добу дослідження відносно контролю (в 2 рази). В стегновій м'язовій тканині ембріона ЗАА збільшувалась на сьому добу дослідження відносно контролю (в 3 рази). При порівнянні ЗАА між стегновими м'язовими тканинами донора та реципієнта, можна відмітити, що на сьому добу дослідження ЗАА донора в 2,5 рази перевищувала її активність в тканині реципієнта. В черевній м'язовій тканині донора та реципієнта ЗАА не визначалась. Алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводила до появи ЗАА в усі терміни дослідження, як в тканині донора, так і в тканині реципієнта.

Таблиця 3.8

**Визначення ЗАА при алотрансплантації ембріональної м'язової  
тканини,  $M \pm m$  (ммоль ТБК-активних продуктів/г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина дорослого щура (реципієнт)	Стегнова м'язова тканина ембріона (донор)	Черевна м'язова тканина дорослого щура (реципієнт)	Черевна м'язова тканина ембріона (донор)
Контроль (без підсадки)	0,15 ± 0,02 **	0,08 ± 0,02	Не визначається	Не визначається
1 доба	0,09 ± 0,02 p>0,05	0,09 ± 0,01 p>0,3	0,07 ± 0,01 *	0,09 ± 0,01 *
3 доба	0,07 ± 0,01 * p<0,05	0,06 ± 0,01 p>0,3	0,10 ± 0,02 *	0,08 ± 0,02 *
7 доба	0,10 ± 0,03 p>0,1 **	0,25 ± 0,03 * p<0,01	0,09 ± 0,01 * **	0,16 ± 0,03 *

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю;

\*\* P≤0,05 – достовірно між м'язовими тканинами дорослого щура та ембріона

Таким чином, на першу добу дослідження алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона не призводила до достовірних змін загальної антиоксидантної активності в тканині реципієнта, тим саме залишає її приблизно на рівні контрольних значень (Рис. 3.7). На третю добу дослідження алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призводила до достовірного зниження загальної антиоксидантної активності в тканині реципієнта, що може свідчити про зрив антиоксидантного захисту, який характеризується розвитком вільнорадикальних пошкоджень різних компонентів клітини і тканин, складаючих синдром пероксидації та включає наступні зміни: пошкодження мембран; інактивацію або трансформацію ферментів; придушення поділу клітин; накопичення в клітині інертних продуктів полімеризації. На сьому добу дослідження алотрансплантація

стегнової м'язової тканини ембріона призводила до стабілізації загальної антиоксидантної активності, залишаючи її в межах контрольних значень.

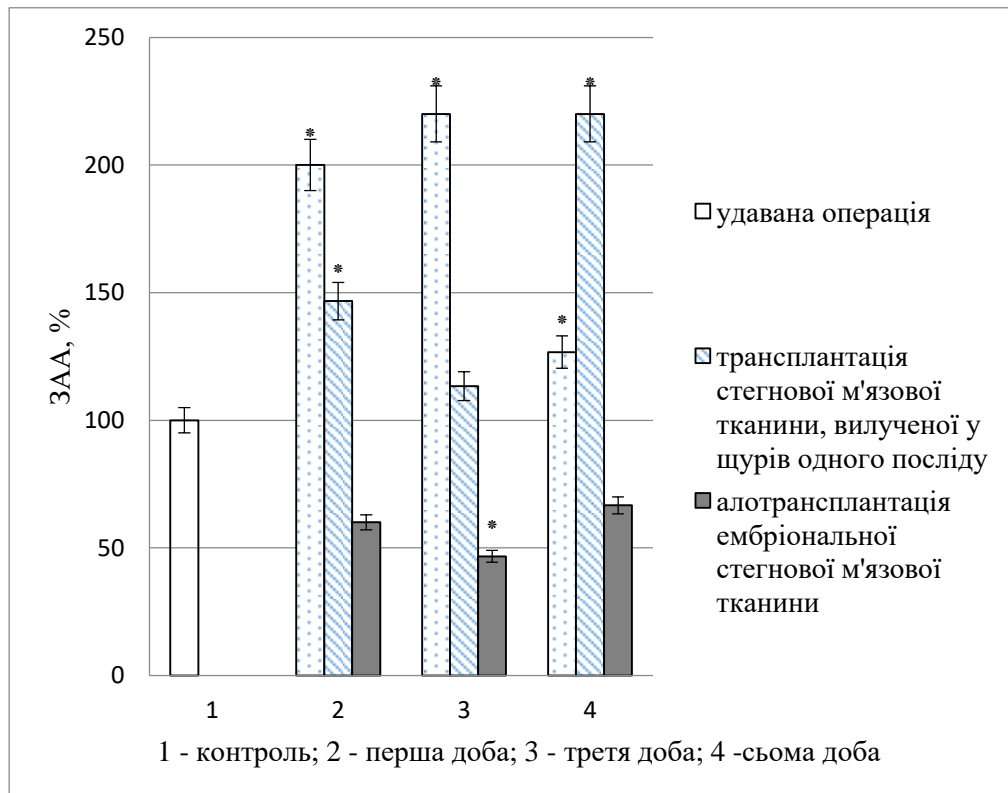


Рис. 3.7. Динаміка ЗАА в стегновій м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань. (%).

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

При всіх хірургічних маніпуляціях використаних в даній роботі, спостерігалась поява загальної антиоксидантної активності в черевній м'язовій тканині реципієнта, що свідчить про виникнення вільних радикалів в досліджуваних тканинах.

Таким чином вище наведені результати свідчать, що хірургічне втручання як і сама алотрансплантація призводили до розвитку оксидативного стресу.

#### **3.4. Вміст білка в досліджуваних тканинах при використаних хірургічних втручаннях.**

Добре відомо, що оксидативний стрес призводить до суттєвих змін в системі біосинтезу білка, тому в наступній серії ми досліджували вплив застосованих видів операцій на вміст білка в м'язах.

З таблиці 3.9 видно, що удавана операція призводила до збільшення вмісту білка як в стегновій, так і в черевній м'язових тканинах відносно контролю. В стегновій м'язовій тканині к сьомій добі дослідження кількість білка збільшувалась в 2 рази відносно контролю. В черевній м'язової тканини досліджуваний показник перевищував контрольні значення в 2,5 рази к сьомій добі після оперативного втручання.

Таблиця 3.9

**Вміст білка при удаваній операції,  $M \pm m$  (мг білка/г тканини)**

Доба \ Тканина	Стегнова м'язова тканина дорослого щура	Черевна м'язова тканина дорослого щура
Контроль (без підсадки)	3,9±0,1	3,3±0,2
1 доба	5,7±0,8 * p<0,05	6,4±0,6 * p<0,01
3 доба	6,7±0,7 * p<0,05	6,6±0,6 * p<0,01
7 доба	8,6±0,2 * p<0,01	8,9±0,5 * p<0,01

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю

У таблиці 3.10 представлені результати визначення вмісту білка при підсадженні тканини, вилученої у щурів одного посліду, що показують збільшення вмісту білка в усі терміни дослідження, як в тканинах донора, так і в тканинах реципієнта. На сьому добу після трансплантації у всіх досліджуваних м'язових тканинах цей показник в 2-2,5 рази перевищував контрольні значення. Порівнюючи вміст білка між стегною м'язовою тканиною донора та реципієнта можна вимітити достовірне перевищення досліджуваного показника в стегновій м'язовій тканини реципієнта. В черевній м'язовій тканині реципієнта така картина спостерігалася на 1,3 добу після трансплантації.

Таблиця 3.10

**Вміст білка в тканинах щурів при трансплантації м'язової тканини,  
вилученої у щурів одного посліду (мг білка/г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина реципієнта	Стегнова м'язова тканина донора	Черевна м'язова тканина реципієнта	Черевна м'язова тканина донора
Контроль (без підсадки)	3,9±0,1	3,9±0,1	3,3±0,2	3,3±0,2
1 доба	7,8±0,5 * p<0,01	5,7±0,4 * p<0,05**	7,6±0,7 * p<0,01	4,9±0,3 * p<0,05**
3 доба	9,1±0,2 * p<0,01	6,7±0,4 * p<0,01**	9,3±0,3 * p<0,01	6,4±0,7 * p<0,05**
7 доба	8,6±0,08 * p<0,01	6,5±0,9 * p<0,05**	8,7±0,2 * p<0,01	7,2±0,4 * p<0,01

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю;

\*\* P≤0,05 – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта

Алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призводила до збільшення вмісту білка на третю добу дослідження в тканині реципієнта відносно контролю (приблизно в 1 раз) та на сьому добу в тканині донора в 2,5 рази (Таблиця 3.11). Порівнюючи вміст білка між стегною м'язовою тканиною донора та реципієнта, можна відмітити, що в тканині реципієнта цей показник в 2,2 рази перевищує відповідний показник донора в контролі, як і на першу добу, після алотрансплантації. На третю та сьому добу, після алотрансплантації достовірних змін між стегною м'язовою тканиною донора та реципієнта не спостерігалось.

Алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводила до достовірних змін вмісту білка в тканині реципієнта на сьому добу дослідження відносно контролю (перевищувала контрольні показники майже в 1,5 рази). Порівнюючи вміст білка між червною м'язовою тканиною донора та реципієнта, можна відмітити, що в тканині реципієнта цей

показник в 3,2 рази перевищував донора в контролі та на першу добу, після алотрансплантації в 2 рази. На третю та сьому добу, після алотрансплантації достовірних змін між червеною м'язовою тканиною донора та реципієнта не спостерігалось.

Таблиця 3.11

**Вміст білка в тканинах щурів при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини (мг білка / г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина дорослого щура (реципієнт)	Стегнова м'язова тканина ембріона (донор)	Черевна м'язова тканина дорослого щура (реципієнт)	Черевна м'язова тканина ембріона (донор)
Контроль (без підсадки)	3,9±0,1	1,8±0,2 **	3,3±0,2	2,0±0,1 **
1 доба	3,8±0,1 p>0,3	1,7±0,3 p>0,5**	3,7±0,1 p>0,05	1,8±0,2 p>0,3**
3 доба	4,4±0,1 * p<0,05	3,2±0,8 p<0,05	3,0±0,8 p>0,3	2,3±0,3 p>0,05
7 доба	4,1±0,1 p>0,05	4,5±0,4 * p<0,01	4,9±0,3 * p<0,01	3,5±0,8 p<0,05

Примітка: \*p≤0,05 – достовірно відносно контролю;

\*\* p≤0,05 – достовірно між м'язовими тканинами дорослого щура та ембріона

Таким чином, підсадка м'язових тканин, вилучених у щурів одного посліду та при удаваній операції відбувалося збільшення вмісту білка відносно контролю в усіх досліджуваних тканинах на всіх термінах. Алотрансплантація призводила до збільшення кількості білка на сьому добу дослідження в стегновій м'язовій тканині ембріона та в черевній м'язовій тканині дорослого щура відносно контролю. Така картина пов'язана з посиленням репараційних процесів після хірургічного втручання, що призводить до посилення біосинтезу білка на протязі всього терміну дослідження.

## РОЗДІЛ 4

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСУ В М'ЯЗОВИХ ТКАНИНАХ ДОНОРА ТА РЕЦИПІЄНТА

#### **4.1. Активність супероксиддисмутази при різних видах хірургічних втручань**

Хірургічне втручання можна розглядати як стрес-фактор для клітин, який може призводити до окисдатовного стресу. Такі клітинні зміни впливають на активацію різноманітних біохімічних реакцій в клітинах, що супроводжуються утворенням значної кількості активних форм кисню, які здійснюють негативний вплив для організму.

З літературних джерел відомо, що перша лінія оборони клітини від токсичної дії активних форм кисню реалізується за рахунок цитохром-с-оксидази, яка здійснює відновлення кисню до води. Другу лінію оборони утворюють антиокисні ферментні системи, локалізовані в клітині (органели: мітохондрії, мікросоми) [164, 165]. Ці ферментні системи запобігають «витоку» активних форм кисню і тим самим, зменшують окисну деструкцію біологічних структур клітини. Між процесами пероксидації й активністю АОС існує рівновага, яка може порушуватися при гіперпродукції вільних радикалів [166; 167]. У процесі тривалої еволюції сформувалася виражена залежність метаболічних систем людини і більшості наземних тварин від необхідності достатнього надходження кисню в клітини. Очевидно, що межі коливань між критичними рівнями максимального і мінімального надходження кисню в клітини дуже динамічні, визначаються не тільки специфікою структури і функції клітин тих чи інших тканин, а й активністю клітин в конкретно даний момент.

До числа антиокисних ферментів відносяться: супероксиддисмутаза, каталаза, система глутатіона, глутатіонпероксидаза, органічні ліпідні перекуси, глутатіонредуктаза, глутатіонтрансфераза, а також церулоплазмін і трансферин крові [ 168, 169, 170, 171, 172].

Супероксиддисмутаза (СОД) - пероксид оксиредуктаза, яка інактивує супероксидний аніон - радикал  $O_2$  [173, 174]. Початкові стадії процесу вільно-радикального окислення контролюються супероксиддисмутазою [175, 176], яка дезактивує супероксидний радикал і, відповідно, зменшує загальний токсичний ефект активних форм кисню. У підсумковій реакції утворюється пероксид водню, здатний інактивувати супероксиддисмутазу [177]. Тому остання локалізована і функціонує в співдружності з каталазою, яка швидко і ефективно розкладає перекис водню. Найбільш поширена форма супероксиддисмутази знаходиться в цитозолі клітини і інтермембранному просторі мітохондрій. Супероксиддисмутаза відноситься до найбільш стійких ферментів і у зв'язку з цим підшкірне введення її хворим тваринам і людині, що піддаються, наприклад, променевому опроміненню, істотно знижує запальну і променеву реакцію в зоні опромінення. Утворення супероксидних радикалів відбувається при пероксидації ліпідів [178, 179, 180]. Ці радикали являються субстратом супероксиддисмутази [181]. Відомо також, що, інгібуючи перекисне окиснення ліпідів в біомембранах, супероксиддисмутаза тим саме здійснює на них стабілізуючий ефект [182, 183, 184]. Встановлено, що накопичення в середовищі перекису водню веде до інактивації супероксиддисмутази. Вважають, що рівень активності внутрішньоклітинних ферментативних антиоксидантних систем генетично детермінований, причому надмірне накопичення в клітинах супероксидного аніонрадикала або перекису водню супроводжується депресією ділянок геному, відповідальних за активність внутрішньоклітинних ферментативних антиоксидантних систем [185, 186]. У людини ген, що кодує синтез супероксиддисмутази, локалізован в 21-й хромосомі. При збереженій активності каталази активність супероксиддисмутази подавляється [187-191].

Ми визначали активність супероксиддисмутази в стегновій м'язовій тканині та черевній м'язовій тканині в контролі та при удаваній операції.



Удавана операція не призводила до достовірних змін активності супероксиддисмутази в усіх досліджуваних тканинах в усі терміни дослідження, про що свідчать отримані результати ( Таблиця 4.1).

Таблиця 4.1

**Активність супероксиддисмутази при удаваній операції (мкмоль нітросинього тетразолію/хв на г тканини)**

Тканини Доба	Стегнова м'язова тканина дорослої тварини	Черевна м'язова тканина дорослої тварини
Контроль (без підсадки)	168,18 ± 39,86	200,29 ± 61,91
1 доба	187,83 ± 9,76 p>0,3	165,29 ± 19,07 p>0,3
3 доба	147,52 ± 16,62 p>0,3	110,64 ± 11,84 p<0,05
7 доба	142,68 ± 14,76 p>0,3	126,83 ± 20,05 p>0,05

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю

Трансплантація стегнової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду на першу добу дослідження призводила до достовірного зменшення активності СОД в тканині реципієнта відносно контролю (в 5 разів, таблиця 4.2). На третю та сьому добу дослідження активність СОД в стегновій м'язовій тканині реципієнта збільшилась, але достовірної різниці з контролем не встановлено. В стегновій м'язовій тканині донора достовірних змін активності СОД не спостерігалось в усі терміни дослідження. Трансплантація черевної м'язової тканини не призвела до достовірних змін активності СОД як в тканині донора, так і в тканині реципієнта.

**Активність супероксиддисмутази при трансплантації м'язової  
тканини, вилученої у щурів одного посліду (мкмоль нітросинього  
тетразолію/хв на г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина реципієнта	Стегнова м'язова тканина донора	Черевна м'язова тканина реципієнта	Черевна м'язова тканина донора
Контроль (без підсадки)	168,18 ± 39,86	168,18 ± 39,86	200,29 ± 61,91	200,29 ± 61,91
1 доба	34,35 ± 7,57 * p<0,4**	171,75 ± 18,94 p>0,5	134,76 ± 15,72 p>0,05	108,33 ± 19,81 p>0,05
3 доба	136,84 ± 9,88 p>0,3	131,14 ± 7,21 p>0,05	82,68 ± 20,44 p<0,05	74,12 ± 14,42 p<0,05
7 доба	108,34 ± 21,12 p>0,05	98,49 ± 13,03 p>0,05	132,96 ± 18,29 p>0,05	174,81 ± 16,37 p>0,3

Примітка: \* P≤0,05 – достовірно відносно контролю;

\*\* P≤0,05 – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта

Порівнюючи зміни активності супероксиддисмутази між стегноюю м'язовою тканиною донора та реципієнта, можна відмітити, що на першу добу, після трансплантації активність супероксиддисмутази в тканині донора в 5 разів перевищувала її активність в тканині реципієнта ( Рис. 4.1). На третю добу дослідження достовірної різниці в активності між донором та реципієнтом не встановлено. На сьому добу після трансплантації стегнової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду, активність супероксиддисмутази між донором та реципієнтом знаходилась майже на одному рівні.

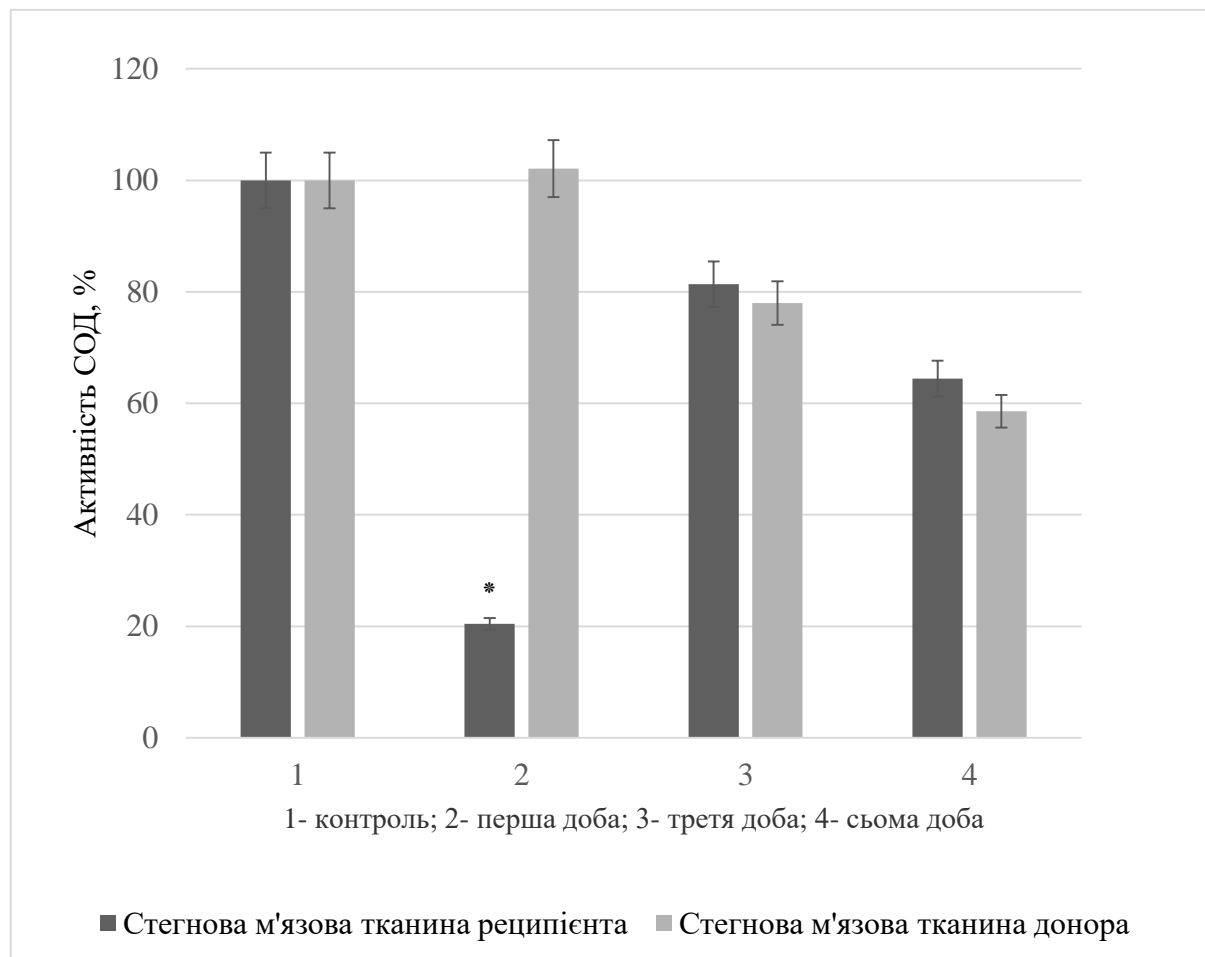


Рис. 4.1. Динаміка активності супероксиддисмутази при трансплантації стегнової м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду (%).

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

Трансплантація черевної м'язової тканини, вилюченої у щурів одного посліду не призводила до достовірних змін активності СОД в усі досліджувані терміни при порівнянні між м'язовими тканинами донора та реципієнта.

В наступній серії експерименту ми проводили алотрансплантацію ембріональних стегнової та черевної м'язових тканин та визначали активність супероксиддисмутази в тканинах донора та реципієнта на першу, третю та сьому добу після алотрансплантації.

Алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона не призводила до достовірних змін активності супероксиддисмутази відносно контролю (Таблиця 4.3). Алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призвела в тканині донора до достовірного зниження активності

супероксиддисмутази відносно контролю як в тканині реципієнта ( в 6 раз), так і в тканині донора (в 1,9 раз) на сьому добу дослідження.

Таблиця 4.3

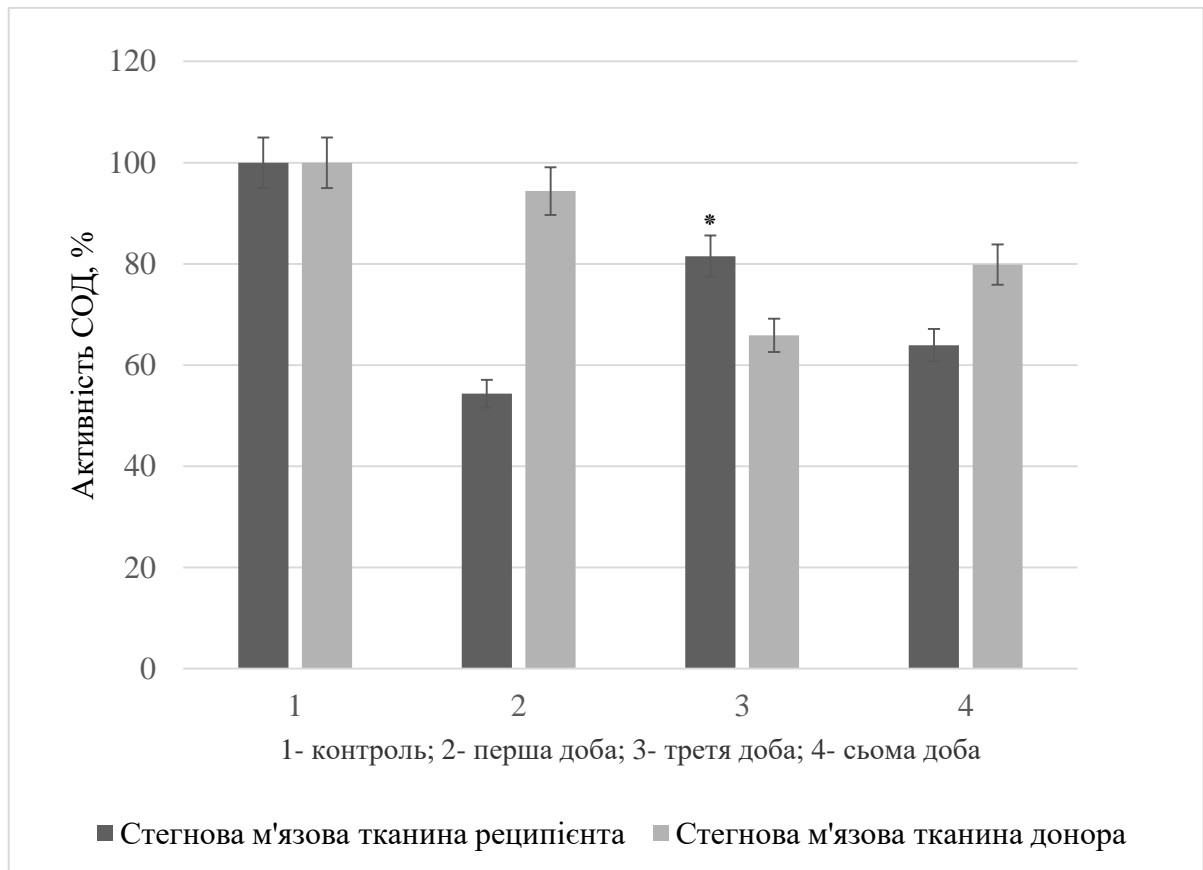
**Активність супероксиддисмутази при алотрансплантації  
ембріональної м'язової тканини (мкмоль нітросинього тетразолію/хв на  
г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина дорослого щура	Стегнова м'язова тканина ембріона	Черевна м'язова тканина дорослого щура	Черевна м'язова тканина Ембріона
Контроль (без підсадки)	168,18 ± 39,86	101,53 ± 7,74	200,29 ± 61,91	114,41 ± 14,57
1 доба	91,45 ± 28,72 p>0,05	95,82 ± 21,16 p>0,3	119,41 ± 28,90 p>0,05	85,46 ± 24,93 p>0,05
3 доба	137,08 ± 10,73 p>0,3**	66,88 ± 13,46 p<0,05	152,40 ± 14,34 p>0,05**	89,68 ± 22,04 p>0,3
7 доба	107,53 ± 25,83 p>0,3	81,05 ± 26,99 p>0,05	32,90 ± 9,34 * p<0,05	61,79 ± 17,17 * p<0,05

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю;

\*\* P≤0,05 – достовірно між м'язовими тканинами дорослого щура та ембріона

Порівнюючи активність СОД між м'язовими тканинами дорослого щура та ембріона можна відмітити достовірну різницю на третю добу, після алотрансплантації (приблизно в 2 рази активність СОД реципієнта перевищувала цей показник у донора (Рис. 4.2).



Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

Рис. 4.2 Динаміка активності супероксиддисмутази при алотрансплантації стегнової м'язової тканини ембріона (%).

При порівнянні активності СОД між тканинами донора та реципієнта при алотрансплантації черевної м'язової тканини ембріона, можна відмітити достовірну різницю на третю добу дослідження (приблизно в 1,7 рази реципієнт перевищував донора) (Рис. 4.3).

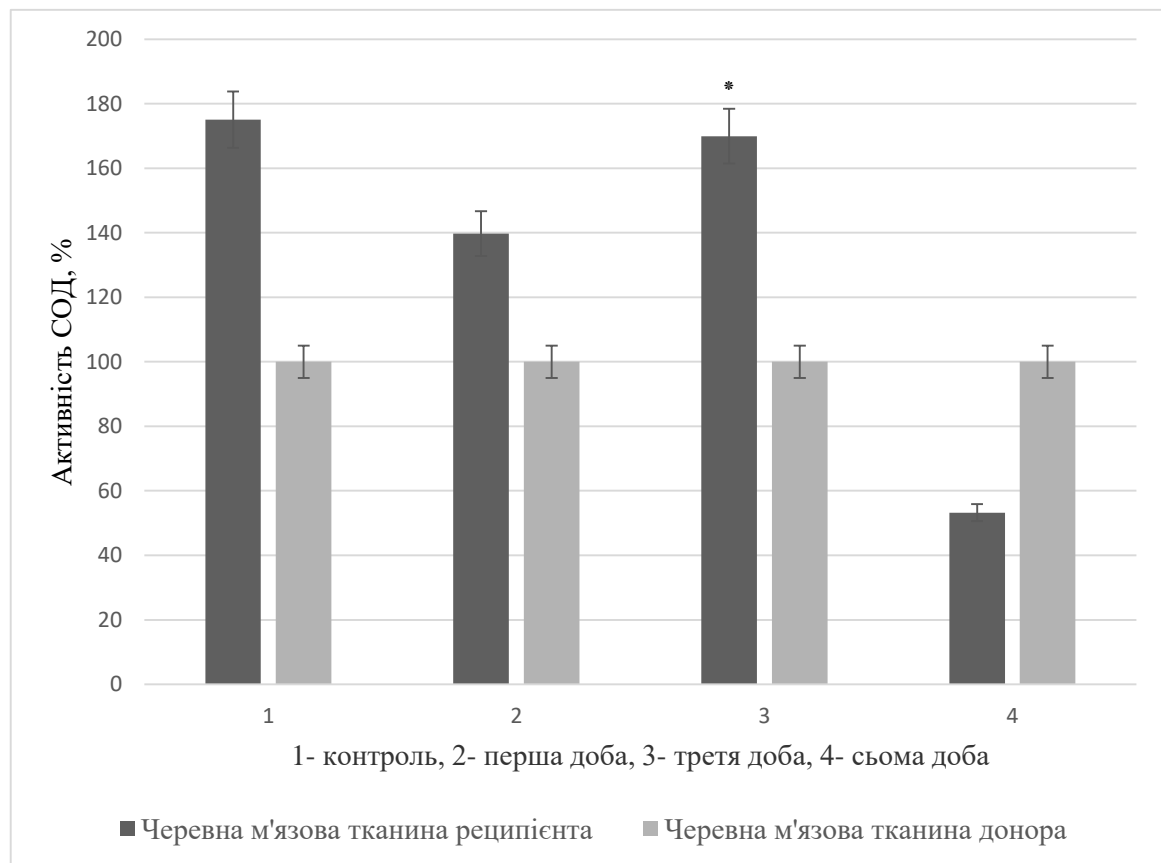


Рис. 4.3 Динаміка активності супероксиддисмутази при алотрансплантації черевної м'язової тканини ембріона (%).

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

Таким чином, алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводила в тканині реципієнта до підвищення активності СОД на третю добу дослідження по відношенню до донора.

В наступній серії досліджень ми порівняли вплив операційних втручань на досліджуваний показник. На першу добу дослідження лише підсадка стегової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду призводила до достовірного зниження відносно контролю в активності супероксиддисмутази в тканині реципієнта ( Рис. 4.4). На третю та сьому добу дослідження жодна з використаних хірургічних втручань не призводила до змін в активності супероксиддисмутази в стеговій м'язовій тканині реципієнта.

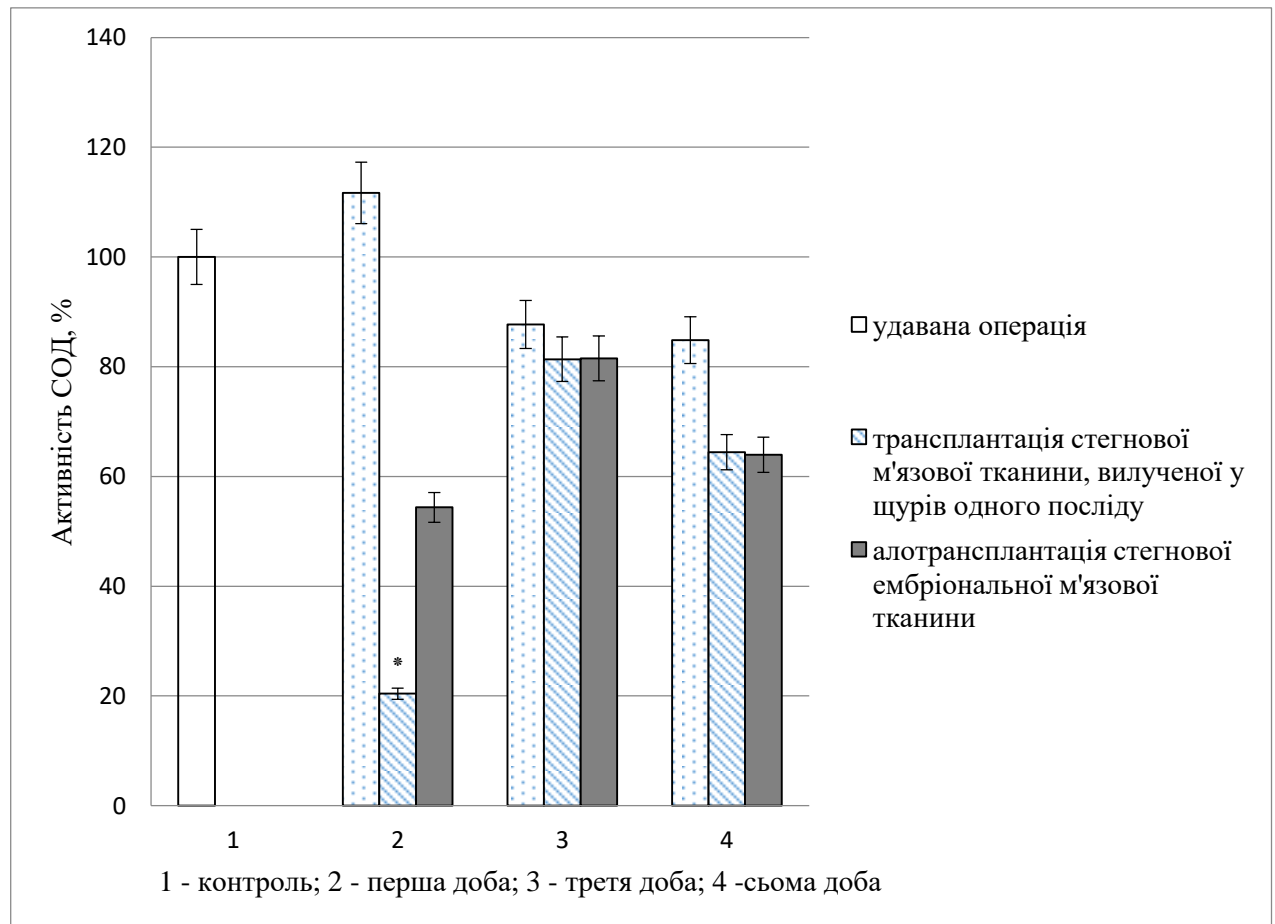


Рис. 4.4. Порівняльна динаміка активності супероксиддисмутази (%) в стегновій м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю.

На першу та третю добу дослідження отримані дані свідчать про те, що використані в даній роботі хірургічні втручання впливали однаково на активність супероксиддисмутази в черевній м'язовій тканині реципієнта (Рис. 4.5). На сьому добу дослідження можна стверджувати, що саме алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводила до достовірного зниження активності супероксиддисмутази відносно контролю в черевній м'язовій тканині реципієнта. Таке зниження активності супероксиддисмутази свідчить про зниження антиоксидантного захисту клітин в черевній м'язовій тканині реципієнта к сьомій добі після алотрансплантації.

Зрив антиоксидантного захисту характеризується розвитком вільнорадикальних пошкоджень різних компонентів клітини і тканин,

складаючих синдром пероксидації та включає наступні зміни: пошкодження мембран; інактивацію або трансформацію ферментів; придушення поділу клітин; накопичення в клітині інертних продуктів полімеризації. Синдром пероксидації є фактор патогенезу ряду захворювань, що послужило приводом виділення їх у групу вільнорадикальних патологій [32].

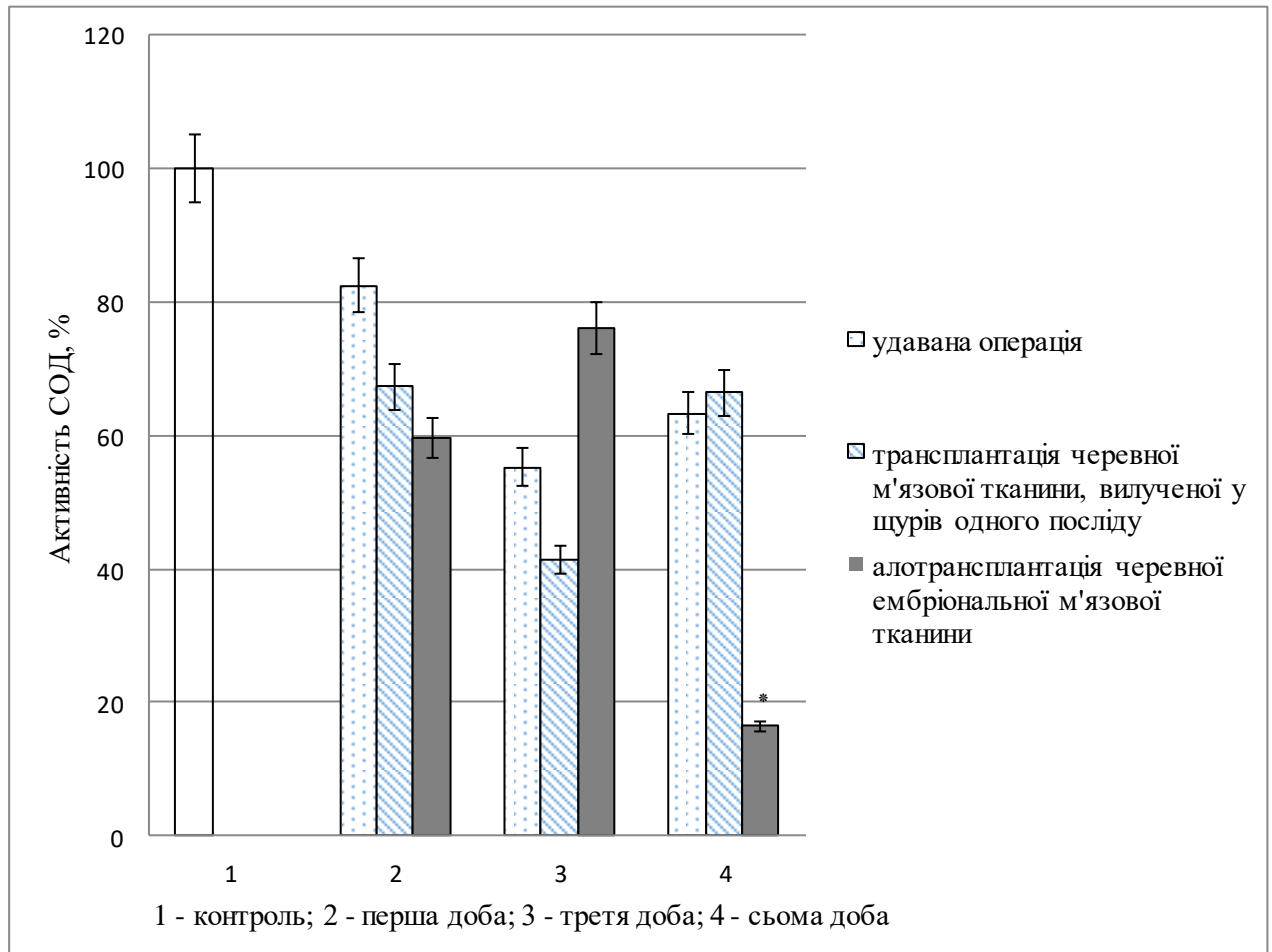


Рис. 4.5. Порівняльна динаміка активності супероксиддисмутази (%) в черевній м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю.

Таким чином, алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводила до зниження активності супероксиддисмутази в тканині реципієнта к сьомій добі дослідження, що свідчить про зниження антиоксидантного захисту клітин [список публікацій - 6].

#### 4.2. Активність каталази при різних видах хірургічних втручань.

З літературних джерел відомо, що каталаза розкладає гідроген пероксиду [192]. Реакція розкладання протікає в дві стадії: спочатку



утворюється комплекс ферменту з однією, а потім з іншою молекулою гідроген пероксиду. Основна функція каталази в клітині - це розпад гідроген пероксиду, що утворюється при дисмутації супероксидного аніон-радикала. Найбільша активність каталази відзначена в гепатоцитах печінки, в пероксисомах якої, цей фермент становить до 40% від усього білка [193].

В наступній серії дослідження ми проводили удавану операцію та визначали активність каталази в м'язових тканинах до та після операційного втручання. При удаваній операції активність каталази достовірно збільшувалась (в 1,6 раз) в стегновій м'язовій тканині дорослого щура на сьому добу дослідження відносно контролю. (Таблиця 4.4). В черевній м'язовій тканині щурів на першу добу дослідження активність каталази знизилась в 1,5 рази відносно контролю та на сьому добу перевищувала контрольні значення в 1,3 рази.

Таблиця 4.4

**Активність каталази при удаваній операції (ммоль/хв на г  
тканини)**

Тканини Доба	Стегнова м'язова тканина дорослого щура	Черевна м'язова тканина дорослого щура
Контроль (без підсадки)	146,72 ± 14,28	146,72 ± 10,40
1 доба	133,39 ± 6,38 p>0,3	101,00 ± 9,53* p<0,05
3 доба	148,63 ± 9,79 p>0,5	163,87 ± 7,62 p>0,05
7 доба	234,38 ± 10,12* p<0,01	186,74 ± 13,74* p<0,05

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю

Активність каталази при трансплантації м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду на першу та третю добу дослідження достовірно збільшувалась відносно контролю, як в стегновій, так і в черевній м'язових

тканинах донора та реципієнта (Таблиця 4.5). На цьому добу дослідження активність каталази в стегновій м'язовій тканині реципієнта (в 1,5 рази), стегновій м'язовій тканині донора (в 2,5 рази), в черевній м'язовій тканині реципієнта (в 1,7 раз) та в черевній м'язовій тканині донора (в 1,8 раз) достовірно зменшувалась відносно контролю.

Таблиця 4.5

**Активність каталази при трансплантації м'язової тканини,  
вилученої у щурів одного посліду (ммоль/хв г на тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина реципієнта	Стегнова м'язова тканина донора	Черевна м'язова тканина реципієнта	Черевна м'язова тканина донора
Контроль (без підсадки)	146,72 ± 14,28	146,72 ± 14,28	146,72 ± 10,40	146,72 ± 10,40
1 доба	234,38 ± 10,12* p<0,01	221,04 ± 9,64* p<0,05	221,04 ± 3,81* p<0,05**	251,53 ± 7,81* p<0,01
3 доба	242,00 ± 8,04* p<0,01	228,66 ± 13,20* p<0,05	295,35 ± 6,87* p<0,01**	219,13 ± 9,53* p<0,01
7 доба	101,00 ± 8,04* p<0,05**	59,07 ± 11,21* p<0,05	87,65 ± 6,38* p<0,01	83,84 ± 14,05* p<0,05

Примітка: \* P≤0,05 – достовірно відносно контролю;

\*\* P≤0,05 – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта

При порівнянні активності каталази між м'язовими тканинами донора та реципієнта, можна відмітити, що на першу та третю добу дослідження достовірних змін не встановлено (Рис. 4.6). На цьому добу дослідження активність каталази в стегновій м'язовій тканині реципієнта в 1,7 рази перебільшує аналогічний показник донора.

Багатофункціональні гемвімісні каталази – гетерогенна група ферментів, які проявляють найбільшу активність у каталізі реакції розкладання пероксиду водню, що є токсичним продуктом утилізації молекулярного

кисню. Отримані дані свідчать про те, що к сьомій добі після трансплантації стегнової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду в тканині реципієнта утворилась значна кількість пероксиду водню, про що свідчить висока активність досліджуваного ферменту.

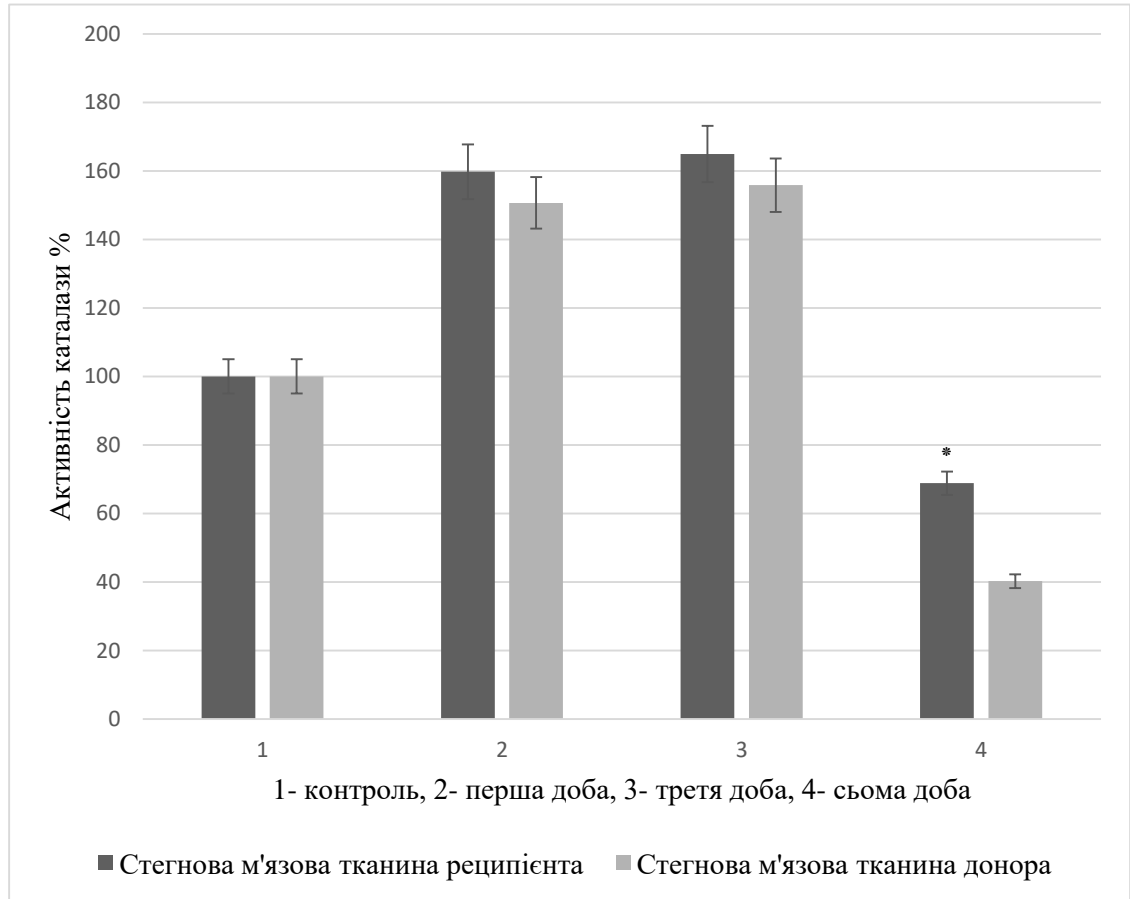


Рис. 4.6 Динаміка активності каталази при трансплантації стегнової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду в тканинах донора та реципієнта (%).

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю.

В черевній м'язовій тканині при трансплантації черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду на першу добу дослідження активність каталази в тканині реципієнта була нижче, ніж в тканині донора. (Рис. 4.7). К третій добі дослідження активність каталази достовірно зросла, відносно її активності в тканині донора. На сьому добу дослідження достовірних змін між активностями каталази донора та реципієнта не встановлено.

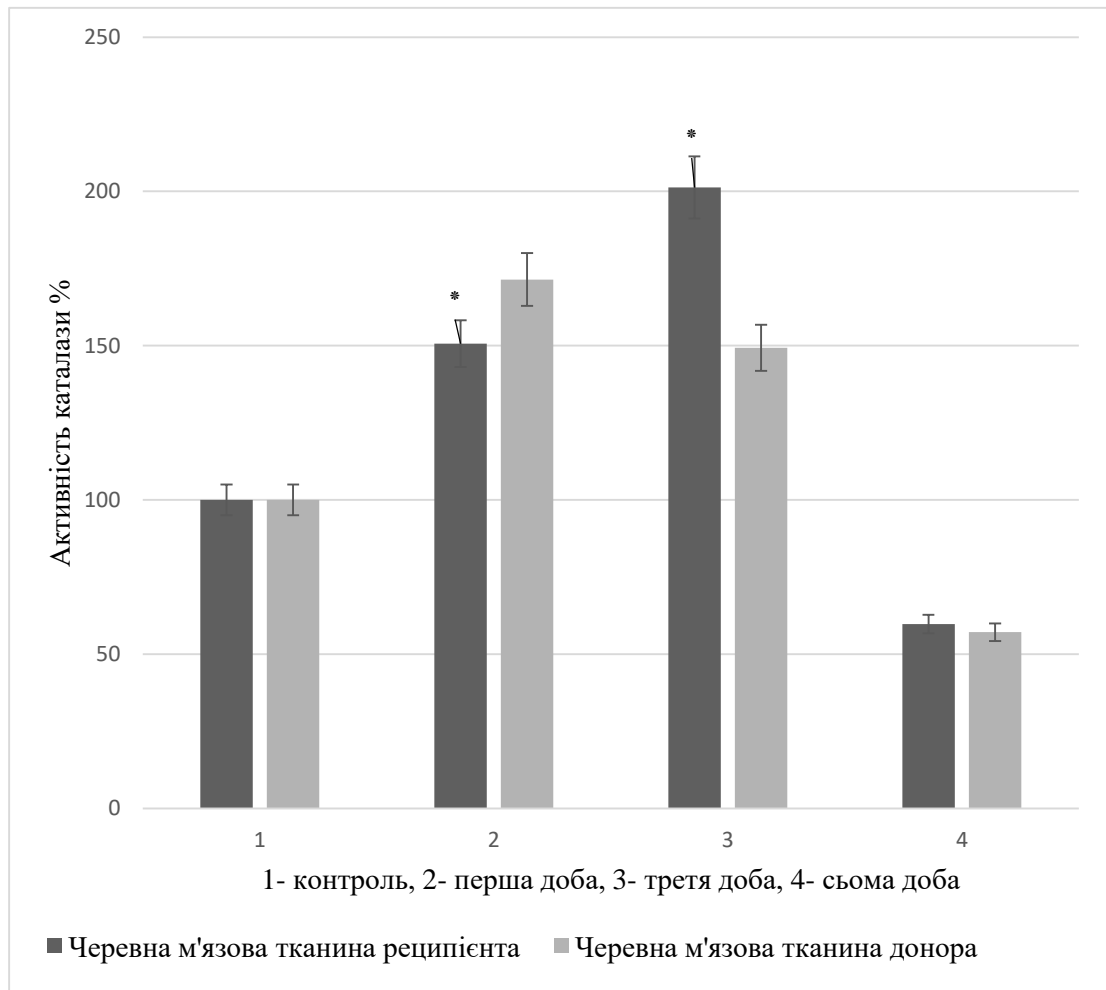


Рис. 4.7 Динаміка активності каталази в тканинах донора та реципієнта при трансплантації черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду (%).

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю.

Алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона на першу добу дослідження в тканині дорослого щура активність каталази перевищувала контрольне значення в 1,3 рази та на третю добу дослідження знизилась в 2 рази (Таблиця 4.6). В алотрансплантованій стегновій м'язовій тканині ембріона відбувалось достовірне ступінчасте збільшення активності каталази відносно контролю в усі досліджувані терміни (на першу добу в 2рази, на третю в 2,4 та на сьому в 2,7 рази). Алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводила до достовірного збільшення активності каталази відносно контролю в усі терміни дослідження лише в тканині донора. Активність каталази в контролі дорослого щура перевищувала її

активність ембріона, як в стегновій (в 2,9 рази), так і в черевній (в 2,8 раз) м'язовій тканині.

Таблиця 4.6

**Активність каталази при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини (ммоль/хв на г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина дорослого щура	Стегнова м'язова тканина ембріона	Черевна м'язова тканина дорослого щура	Черевна м'язова тканина ембріона
Контроль (без підсадки)	146,72 ± 14,28 **	51,45 ± 8,73	146,72 ± 10,40 **	53,35 ± 10,91
1 доба	192,46 ± 13,34* p<0,05**	104,80 ± 9,53* p<0,05	175,31 ± 10,08 p>0,05	177,21 ± 9,68* p<0,01
3 доба	72,41 ± 11,31* p<0,05	123,86 ± 23,69* p<0,05	160,06 ± 19,58 p>0,1	160,06 ± 19,80* p<0,01
7 доба	135,29 ± 22,17 p>0,3	137,20 ± 31,38* p<0,05	54,35 ± 39,47 p<0,05	154,35 ± 35,52* p<0,05

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю;

\*\* P≤0,05 – достовірно між м'язовими тканинами дорослого щура та ембріона

Порівнюючи активність каталази між стегноюю м'язовою тканиною донора та реципієнта, можна відмітити, що в тканині реципієнта (дорослого щура) вона майже в 3 рази достовірно перевищує активність тканини донора (Рис 4.8). Після алотрансплантації на першу добу дослідження активність каталази в тканині реципієнта достовірно перевищувала її активність тканини донора в 2 рази. На наступних етапах дослідження достовірних змін між тканинами не встановлено.

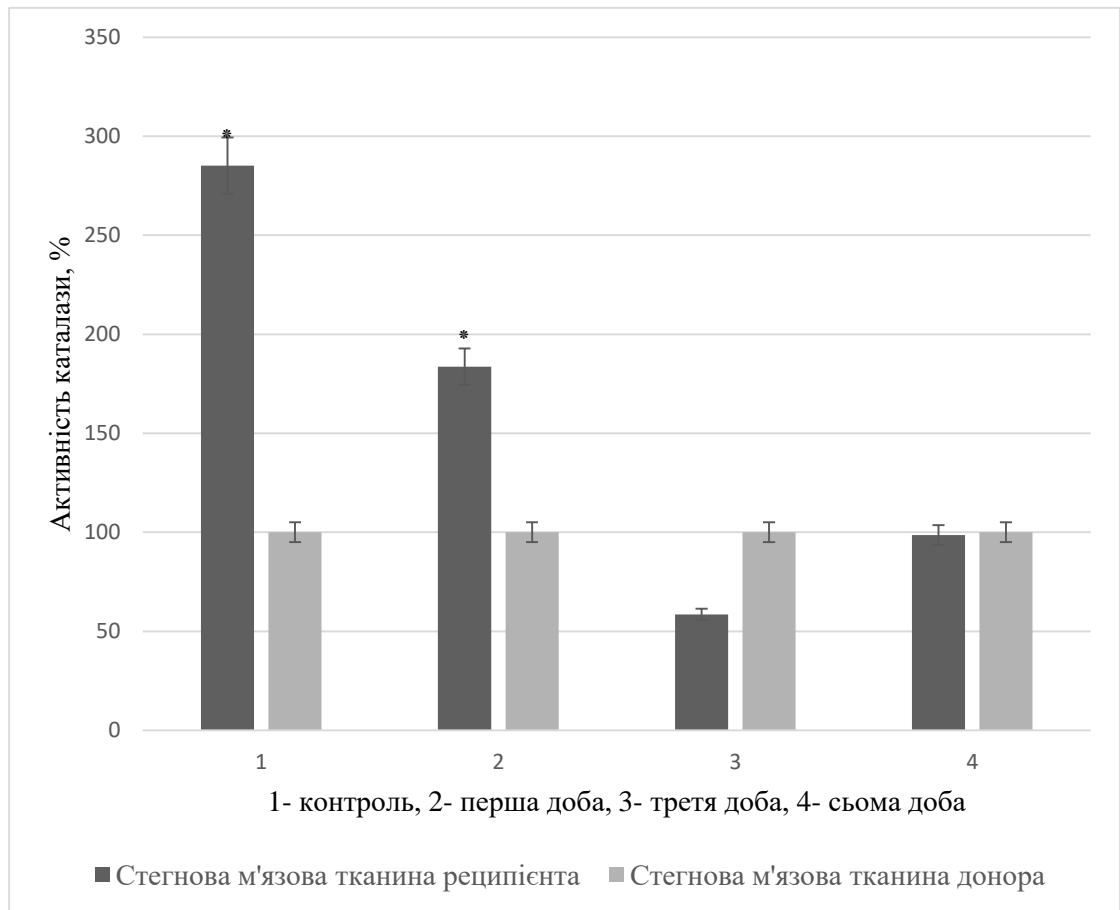


Рис. 4.8 Динаміка активності каталази в тканинах донора та реципієнта при алотрансплантації стегнової м'язової тканини ембріона (%).

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю.

Наступним етапом дослідження слугувало порівняння активності каталази між черевними м'язовими тканинами донора та реципієнта при алотрансплантації черевної м'язової тканини ембріона.

Порівнюючи активність каталази між черевною м'язовою тканиною донора та реципієнта, можна відмітити, що в тканині реципієнта в 2,7 рази достовірно перевищує її активність (Рис 4.9). На наступних термінах дослідження достовірних відмінностей в активності каталази між донором та реципієнтом не встановлено.

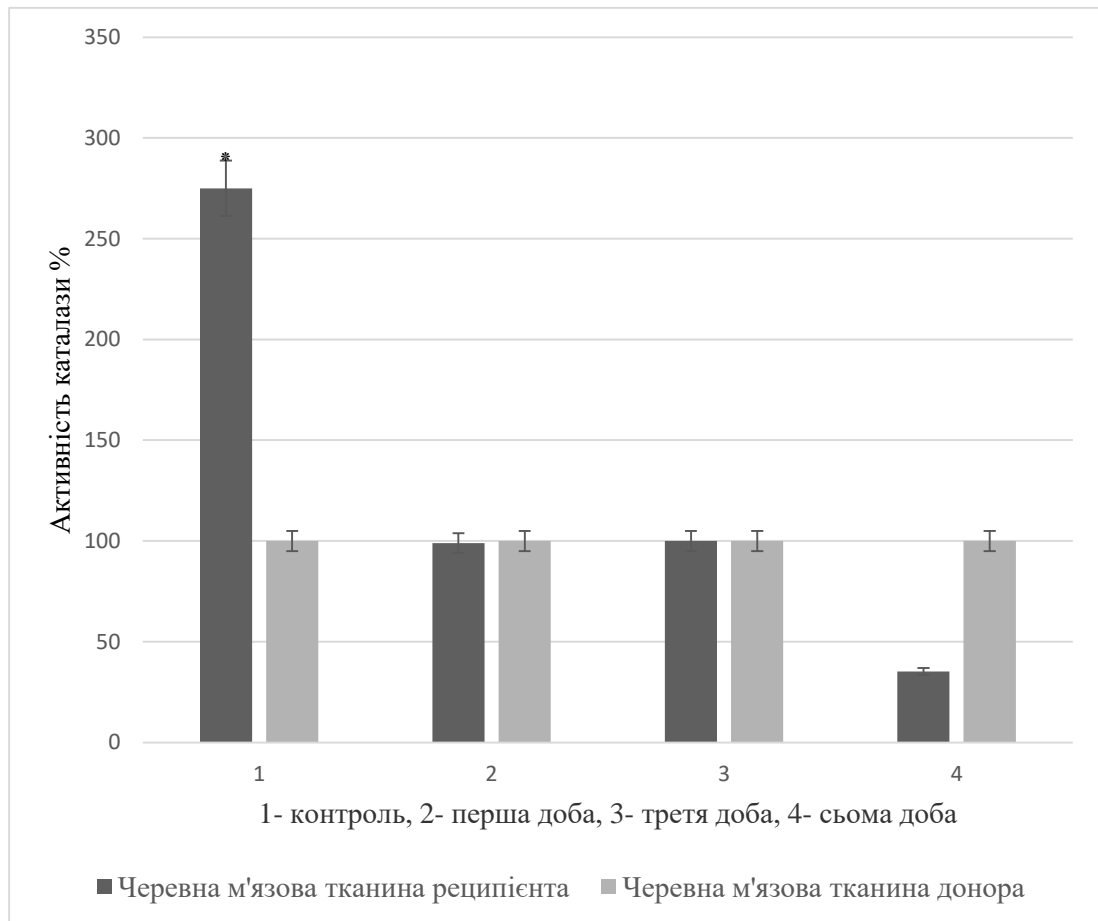


Рис. 4.9 Динаміка активності каталази в тканинах донора та реципієнта при алотрансплантації черевної м'язової тканини ембріона (%).

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю.

Таким чином, на першу добу дослідження алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона та трансплантація стегнової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду призвели до підвищення активності каталази в тканині реципієнта (Рис. 4.10.). На третю добу дослідження алотрансплантація призводила до зниження активності каталази в тканині реципієнта. На сьому добу дослідження алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призводила до утримання активності каталази на рівні контрольних значень.

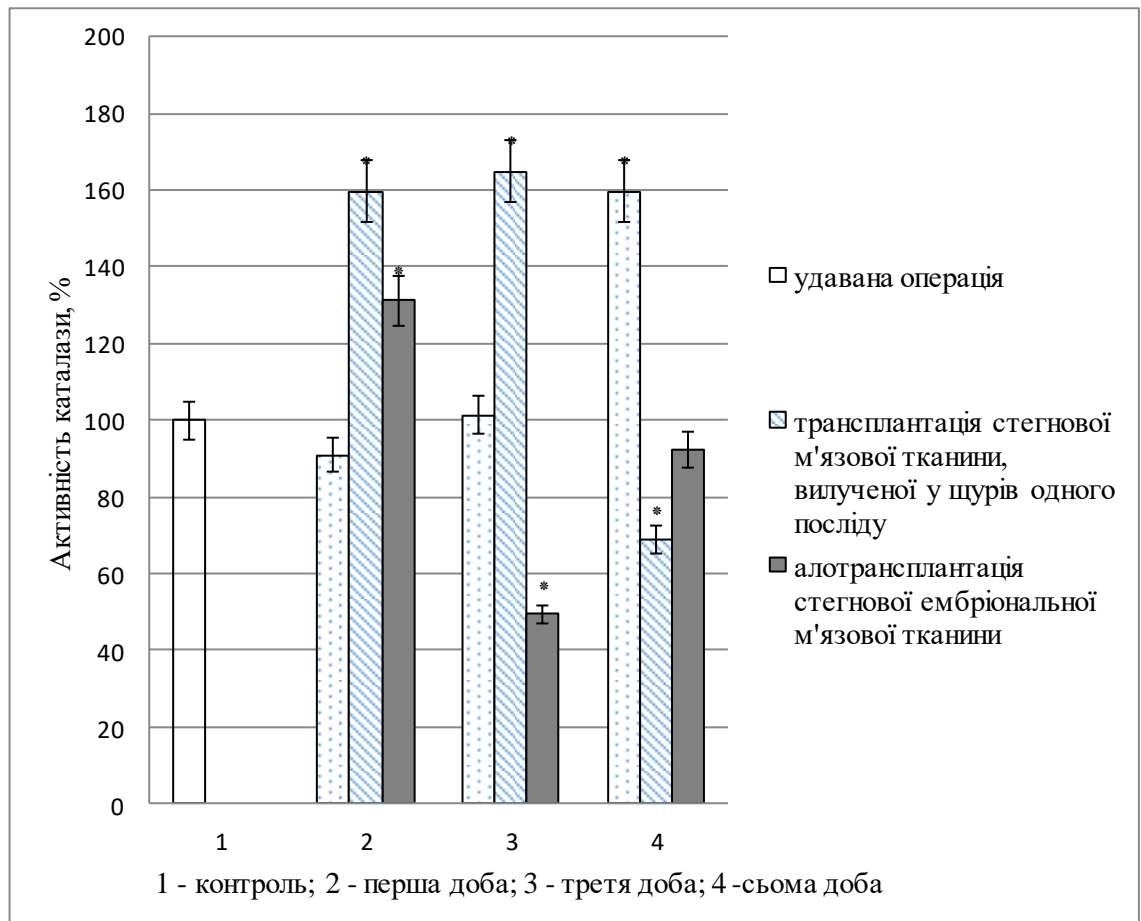


Рис. 4.10. Порівняльна динаміка активності каталази (%) в стегновій м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

Таким чином, на першу добу дослідження алотрансплантація ембріональної черевної м'язової тканини не призводила до змін активності каталази в тканині реципієнта та залишала її приблизно на рівні контрольних значень (Рис. 4.11). На третю добу досліджень алотрансплантація не впливала на активність каталази в тканині реципієнта. На сьому добу дослідження алотрансплантація ембріональної черевної м'язової тканини залишила активність каталази в тканині реципієнта на рівні контрольних значень. Представлену картину можна розглядати, як реакцію організму, направлену на захист клітини від окисної деструкції.



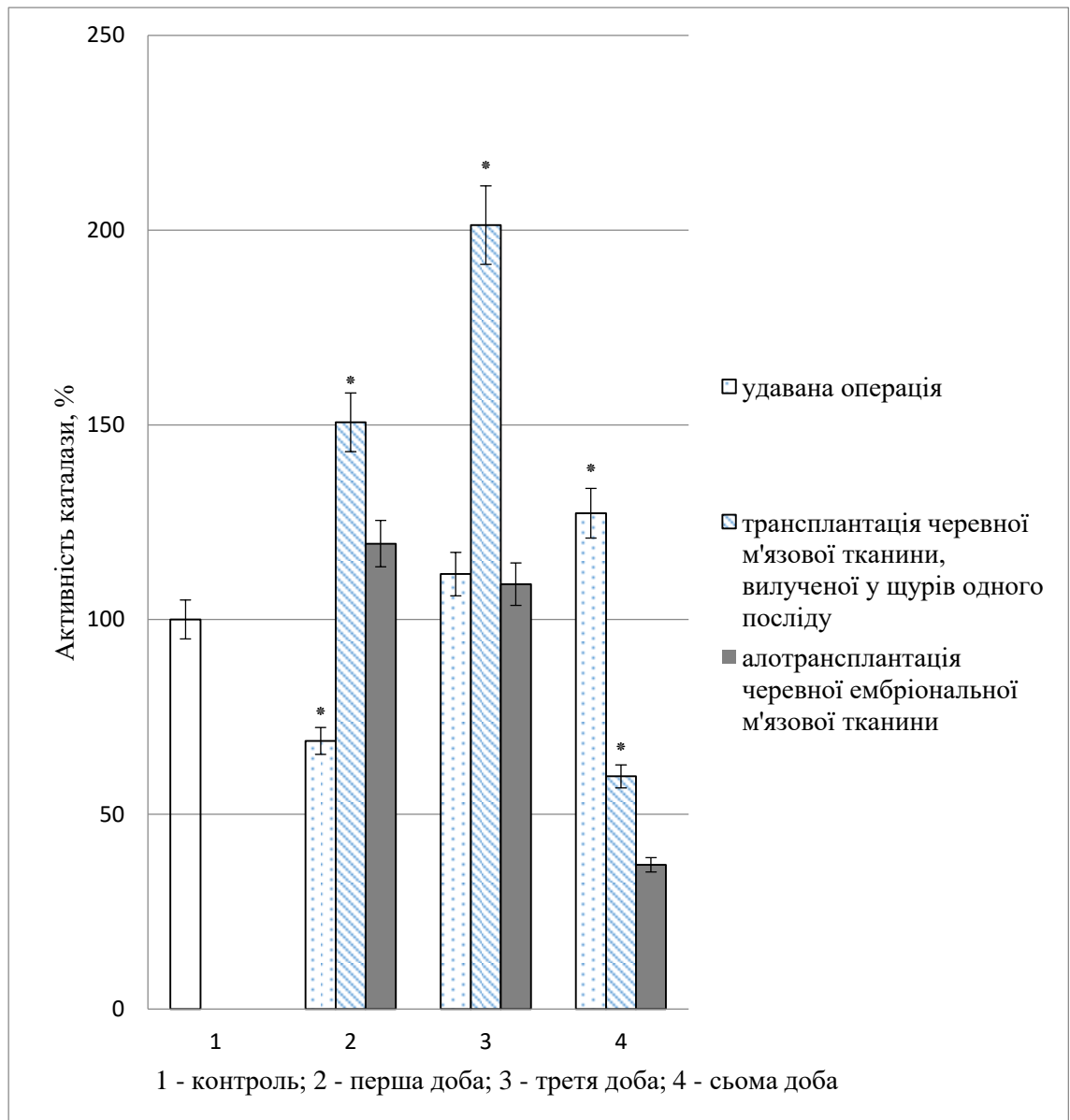


Рис. 4.11. Порівняльна динаміка активності каталази (%) в черевній м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

Таким чином, алотрансплантація стегнової та черевної ембріональної м'язової тканини не впливає на рівень активності каталази в тканинах дорослого щура.

Дослідивши ферменти антиоксидантного захисту, які перші вступають до захисту від активних форм кисню – супероксиддисмутази і каталази, можемо зробити висновок, що алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призвела до зниження активності супероксиддисмутази в тканині реципієнта к сьомій добі дослідження, що свідчить про зниження

антиоксидантного захисту клітин. Алотрансплантація стегнової та черевної ембріональної м'язової тканини не впливає на рівень активності каталази в тканинах дорослого щура [список публікацій - 6].

## РОЗДІЛ 5

### СТАН СИСТЕМИ ГЛУТАТІОНА ПРИ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ

#### **5.1 Рівень відновленого глутатіону при різних видах хірургічних втручань**

Наступною фазою в захисті клітин від дії окисного стресу виступає система глутатіону. З літератури відомо, що відновлений глутатіон (GSH) - низькомолекулярний тіол, переважаючий (90-95%) у багатьох рослинних, мікробних і у всіх тваринних клітинах, в яких його молярна концентрація (1-10 ммоль) вище, ніж концентрація більшості органічних речовин. GSH є трипептидом (L-гамма-глутаміл-L-цистеїнілгліцин), біосинтез і катаболізм якого описуються так званим глутамільним циклом. Функції глутатіону різноманітні: відновлення і ізомеризація дисульфідних зв'язків, вплив на активність ферментів та інших білків, підтримання мембранних функцій, коферментних функцій, участь в обміні ейкозаноїдів, резервування цистеїну, вплив на біосинтез нуклеїнових кислот і білка, проліферацію та ін. [194]. Система глутатіону є однією з найважливіших компонентів системи антиоксидантного захисту у ссавців [195-200].

Хірургічне втручання являє собою оксидативний стрес для організму. Питання про те, як саме воно впливає на показники антиоксидантної системи в м'язових тканинах достатньо не досліджено. На початку своїх досліджень ми вирішили дізнатися як впливає хірургічне втручання на рівень відновленого глутатіону в м'язових тканинах. Для досягнення цієї мети було проведено серію експериментів на удаванооперованих щурах, тобто на досліджуваних ділянках проводився розріз тканини та пошарово зашивали наглухо вузловим швом.

У таблиці 5.1 наведені дані рівня відновленого глутатіону при удаваній операції у щурів, з яких видно, що в стеговій м'язовій тканині цей показник достовірно збільшувався відносно до контролю на 7 добу дослідження та складав 0,201ммоль/г тканини. В черевній м'язовій тканині щура на 1 та 3

добу досліджуваного показника, а на 7 добу збільшення відносно контролю. Так, зокрема на першу добу досліджуваній показник склав 0,023 ммоль/г тканини, на третю 0,037ммоль/г тканини та на сьому 0,220 ммоль/г тканини. У нормі вміст GSSG в тканинах і плазмі крові ссавців підтримується на рівнях, у багато разів більш низьких, ніж для GSH [201]. Окислювальний стрес може привести до істотного накопичення GSSG [202]. Підвищений вміст GSSG в плазмі крові, в свою чергу, може викликати окислення тіолових груп, білків плазми і (або) білків базолатеральних мембран, клітин тканини та їх інактивацію [203, 204]. Очевидно біологічне значення видалення GSSG з циркуляції крові за його надмірної акумуляції. Крім участі нирок і підшлункової залози передбачається регуляція рівнів GSSG, GSH і цистеїну шляхом тіолдисульфідного обміну з цистеїном, що надходять із слизової оболонки тонкої кишки [205].

Таким чином, удавана операція призвела до збільшення рівня відновленого глутатіону на сьому добу дослідження відносно контролю в стегновій та м'язовій тканинах дорослих щурів.

Таблиця 5.1

**Рівень відновленого глутатіону при удаваній операції (ммоль/г тканини)**

Тканини Доба	Стегнова м'язова тканина дорослого щура	Черевна м'язова тканина дорослого щура
Контроль (без підсадки)	0,075±0,019	0,055±0,001
1 доба	0,033±0,003 p<0,05	0,023±0,007 * p<0,01
3 доба	0,055±0,029 p>0,3	0,037±0,007 * p<0,05
7 доба	0,201±0,002 * p<0,01	0,220±0,015 * p<0,01

Примітка: \* P≤0,05 – достовірно відносно контролю

Наступна серія експериментів була направлена на визначення впливу підсадки генетично споріднених тканин на тканину реципієнта та донора. Для цього в експеримент були взяті щури з одного посліду.

При трансплантації стегового м'язу, вилученого у щурів одного посліду зареєстровано достовірне зниження рівня відновленого глутатіону у стеговій м'язовій тканині реципієнта на сьому добу після трансплантації відносно контролю (табл. 5.2). Так, зокрема в стеговому м'язі реципієнта рівень відновленого глутатіону на сьому добу дослідження складав 0,017ммоль/г тканини. У стеговій м'язовій тканині донора достовірних змін відносно контролю не відбувалося. Даний вид трансплантації призвів до зменшення рівня відновленого глутатіону на сьому добу дослідження в тканині реципієнта відносно контролю з 0,075ммоль/г тканини до 0,017ммоль/г тканини, що свідчить про пригнічення антиоксидантного захисту клітин.

Розглядаючи кількість відновленого глутатіону при трансплантації черевної м'язової тканини, можна відмітити, що як в тканині донора, так і в тканині реципієнта його рівень достовірно знижувався відносно до контролю в усі терміни дослідження. Таке явище свідчить про те, що трансплантація черевного м'язу, вилученого у щурів одного посліду призвела до інгібування синтезу відновленого глутатіону в тканині реципієнта. Порівнюючи дані таблиці 5.1 і таблиці 5.2 слід відмітити, що на такі зміни сприяла не підсадка генетично спорідненої м'язової тканини, а сама операція.

**Рівень відновленого глутатіону при трансплантації м'язової  
тканини, взятої у щурів з одного посліду (ммоль/г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина реципієнта	Стегнова м'язова тканина донора	Черевна м'язова тканина реципієнта	Черевна м'язова тканина донора
Контроль (без підсадки)	0,075±0,019	0,075±0,019	0,055±0,001	0,055±0,001
1 доба	0,040±0,001 p<0,05	0,049±0,005 p>0,05	0,035±0,003 * p<0,05	0,031±0,001 * p<0,05
3 доба	0,043±0,003 p<0,05	0,031±0,012 p<0,05	0,023±0,008 * p<0,05	0,015±0,001 * p<0,01
7 доба	0,017±0,002 * p<0,05	0,036±0,003 p<0,05 **	0,023±0,008 * p<0,05	0,021±0,003 * p<0,05

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

\*\*  $P \leq 0,05$  – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта

Якщо порівняти рівень відновленого глутатіону між стегноюю м'язовою тканиною донора та реципієнта, то достовірні зміни досліджуваного показника відбувалися лише на сьому добу, після трансплантації (Рис.5.1).

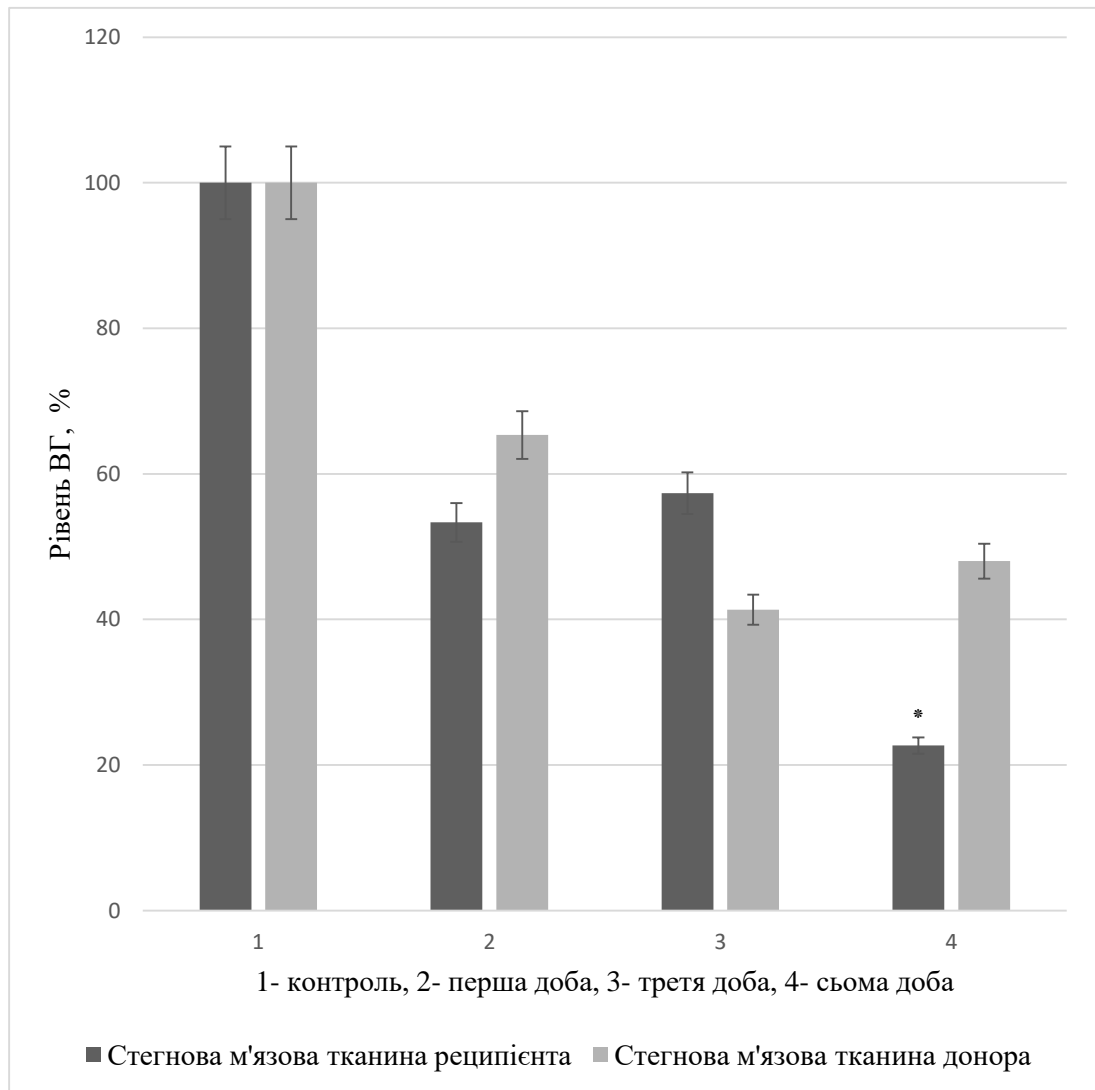


Рис.5.1. Динаміка рівня відновленого глутатіону (%) між стегновими м'язовими тканинами донора та реципієнта при трансплантації м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між донором та реципієнтом.

При порівнянні рівня відновленого глутатіону між черевними м'язовими тканинами донора та реципієнта при трансплантації м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду, можна відмітити, що достовірних змін між тканинами не відбувалось в усі терміни дослідження (Рис.5.2).

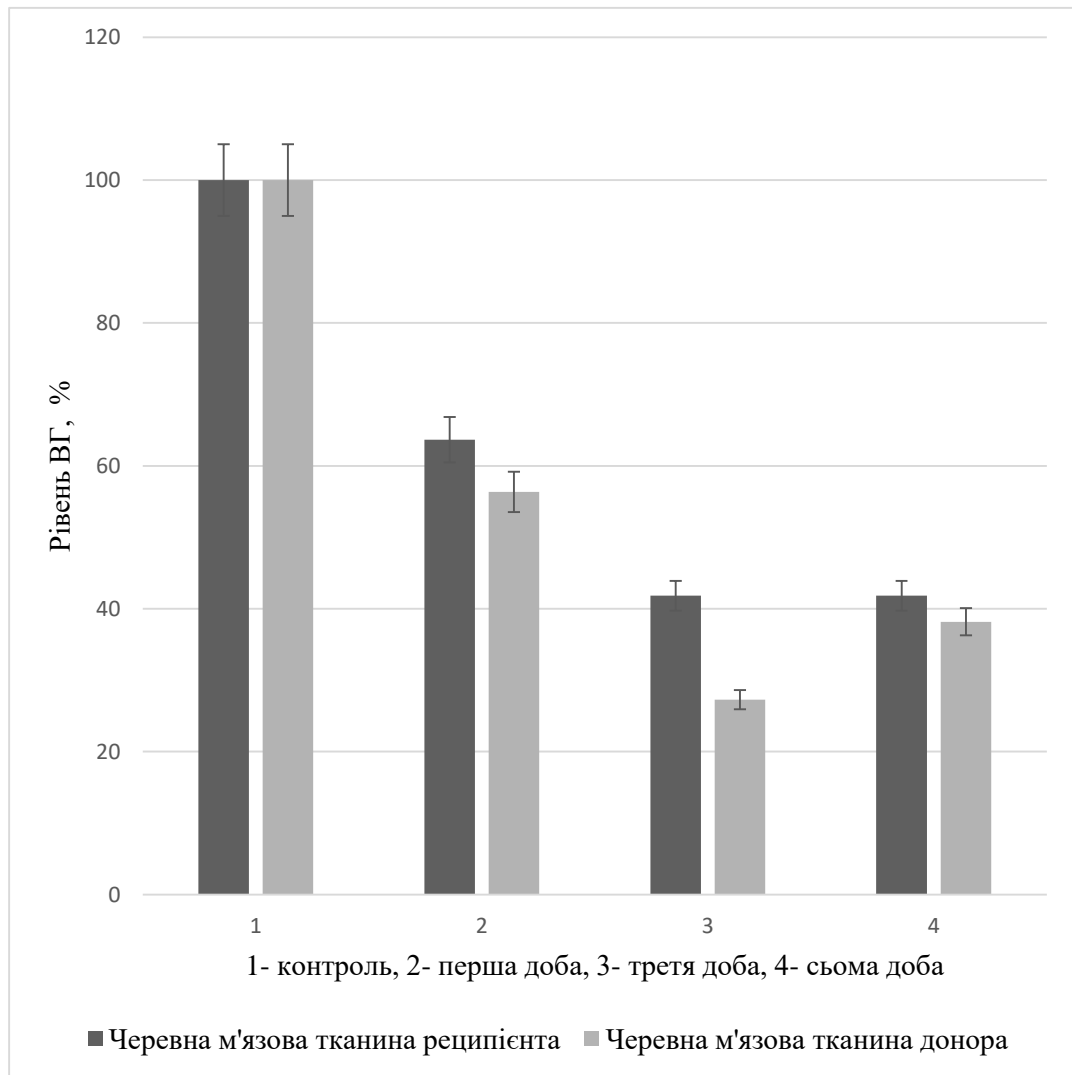


Рис.5.2. Динаміка рівня відновленого глутатіону (%) у черевних м'язових тканинах донора та реципієнта при трансплантації м'язової тканини, вилюченої у щурів одного посліду.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між донором та реципієнтом

В наступній серії експериментів ми визначали вплив алотрансплантації ембріональної тканини на рівень відновленого глутатіону в досліджуваних тканинах.

З наведених у таблиці 5.3 даних видно, що при визначенні рівня відновленого глутатіону при алотрансплантації стегнової м'язової тканини ембріона, в стегновій м'язовій тканині дорослого щура, у порівнянні з контролем, спостерігалось достовірне зростання цього показника в усі досліджувані терміни.



**Рівень відновленого глутатіона при алотрансплантації  
ембріональної м'язової тканини (ммоль/г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина дорослої тварини	Стегнова м'язова тканина ембріона	Черевна м'язова тканина дорослої тварини	Черевна м'язова тканина ембріона
Контроль (без підсадки)	0,075±0,019	0,674±0,046 **	0,055±0,001	0,860±0,111 **
1 доба	0,383±0,109 * p<0,05	0,710±0,053 p>0,3**	0,517±0,108 * p<0,01	0,323±0,014 * p<0,01
3 доба	0,250±0,029 * p<0,01	0,781±0,155 p>0,3**	0,202±0,001 * p<0,01	0,273±0,026 * p<0,01**
7 доба	0,217±0,017 * p<0,01	0,559±0,205 p>0,05	0,183±0,017 * p<0,01	0,255±0,005 * p<0,01**

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю

\*\* P≤0,05 – достовірно між ембріональною та сформованою м'язовими тканинами

Так, зокрема в стеговому м'язі дорослого щура рівень відновленого глутатіону становив 0,075ммоль /г тканини та на першу добу, після алотрансплантації він збільшувався до 0,383ммоль /г тканини, на третю він складав 0,250ммоль /г тканини та на сьому 0,217ммоль/г тканини. Таке збільшення рівня відновленого глутатіону свідчить про його здатність відновлювати дисульфідний зв'язок, який утворюється наприклад між радикалами цистеїну цитозольних білків. Алотрансплантація черевної ембріональної м'язової тканини призводила до достовірного збільшення досліджуваного показника в усі терміни дослідження як в тканині дорослої тварини, так і в тканині ембріона. Так, зокрема в черевному м'язі дорослого щура рівень відновленого глутатіону складав 0,055ммоль/г тканини, на першу добу після алотрансплантації він був 0,517ммоль /г тканини, на третю 0,202ммоль /г тканини, на сьому 0,183ммоль /г тканини. Збільшення рівня відновленого глутатіону дає клітинам змогу зменшувати вплив

оксидативного стресу та розвитку запальних реакцій. Це свідчить про детоксикаційну функцію глутатіонової системи та активізацію роботи антиоксидантної системи при алотрансплантації стегнової та черевної м'язових тканин. Виявлені нами зміни свідчать про дисбаланс в антиоксидантній системі і посилення оксидативного стресу, що може призводити до того, що рівень АФК виходить з-під контролю антиоксидантної системи, ушкоджуючи різні структури клітин.

Наступна серія досліджень була направлена на визначення рівня відновленого глутатіона при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини.

Якщо порівняти отримані результати між ембріональною та сформованою тканинами слід зазначити, що в стегновій ембріональній м'язовій тканині рівень відновленого глутатіону достовірно перевищує цей рівень у дорослого щура (Рис. 5.3). Така ж тенденція спостерігалась на першу та третю добу, після алотрансплантації. К сьомій добі дослідження рівень відновленого глутатіону в стегновій м'язовій тканині ембріона дещо перевищував цей показник в стегновому м'язі дорослого щура.

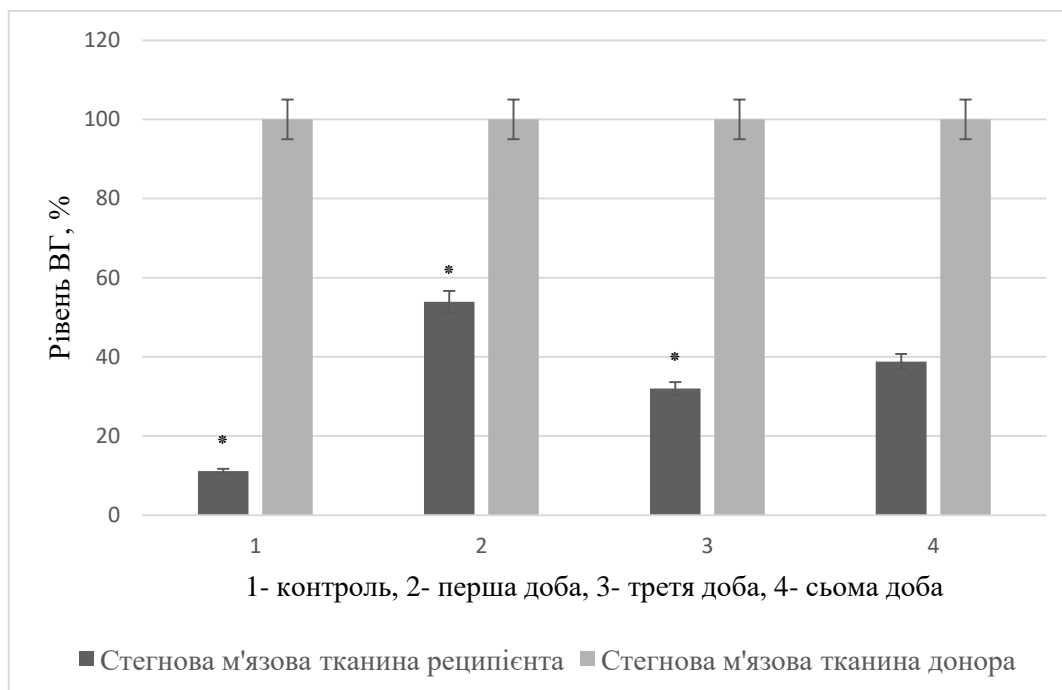


Рис.5.3. Динаміка рівня відновленого глутатіону (%) в стегнових м'язових тканинах дорослого щура та ембріона при алотрансплантації.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між ембріональною та сформованою м'язовими тканинами

В наступній серії досліджень ми порівняли зміни рівня відновленого глутатіону між м'язовими тканинами донора та реципієнта при алотрансплантації в динаміці.

Порівнявши рівень відновленого глутатіону між черевними м'язовими тканинами дорослого щура та ембріона, можна відмітити, що в тканині ембріона він майже в 16 разів достовірно перевищував показник в сформованій тканині (Рис.5.4).

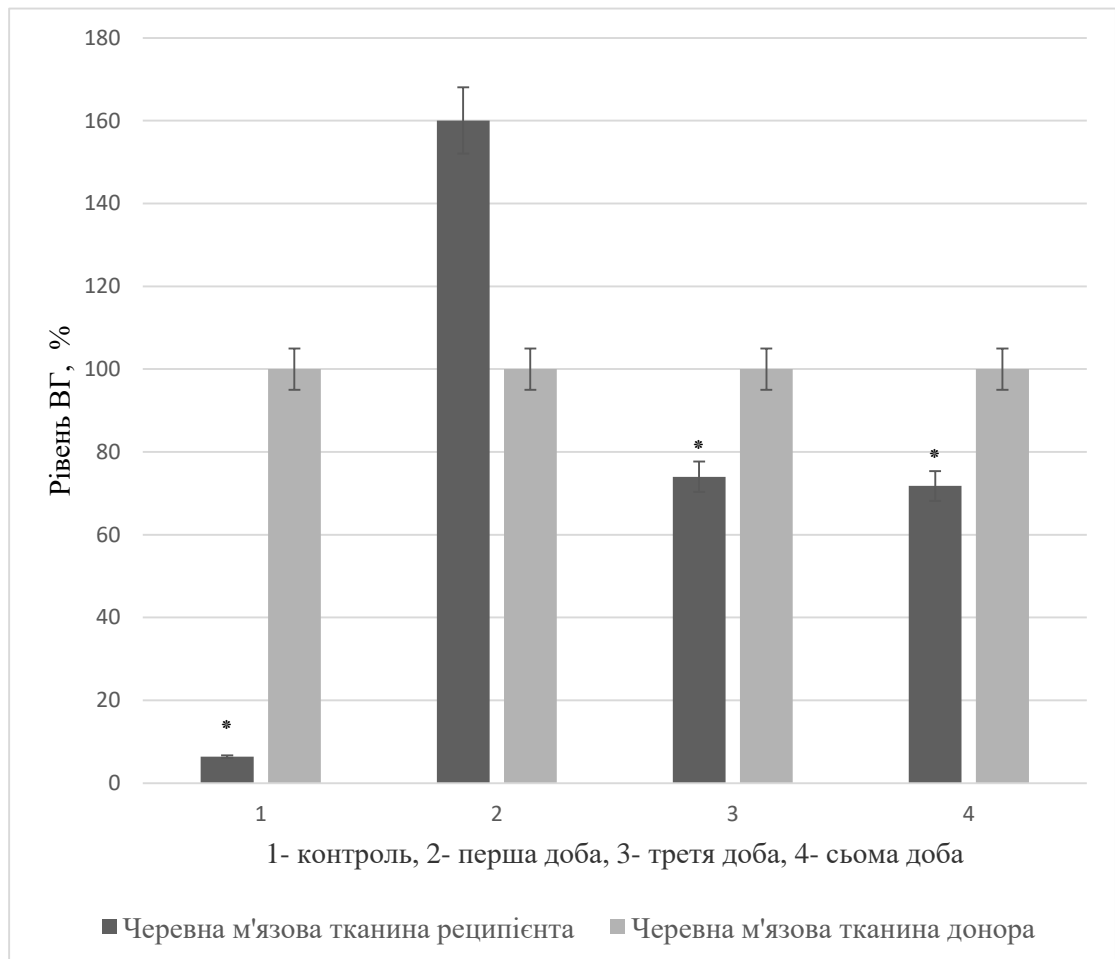


Рис.5.4. Динаміка рівня відновленого глутатіону (%) в черевних м'язових тканинах дорослого щура та ембріона при алотрансплантації.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між ембріональною та сформованою м'язовими тканинами.

На першу добу, після алотрансплантації достовірних змін досліджуваного показника між тканинами донора та реципієнта не спостерігалось. На третю та сьому добу дослідження відбувалось достовірне збільшення рівня відновленого глутатіону в тканині донора відносно до реципієнта.

Таким чином, рівень відновленого глутатіону в черевній м'язовій тканині ембріона достовірно перевищував його рівень в м'язовій тканині дорослого щура до та після алотрансплантації, окрім першої доби.

Таким чином, для того, щоб зрозуміти як саме впливають використані хірургічні втручання на рівень відновленого глутатіону в стегновому м'язі реципієнта, ми порівняли їх між собою (Рис. 5.5). На першу добу дослідження ми можемо зробити висновок, що на достовірне збільшення рівня відновленого глутатіону сприяла саме алотрансплантація стегнової ембріональної тканини, тому що при удаваній операції та трансплантації м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду достовірних змін не відбувалось. На третю добу дослідження феномен збільшення рівня досліджуваного показника зберігався, як і на першу добу досліду. Але на сьому добу дослідження отримані данні свідчать, що на збільшення рівня відновленого глутатіону в стегновій м'язовій тканині реципієнта сприяла не алотрансплантація ембріональної тканини, а хірургічне втручання, тоді як підсадка однопослідної м'язової тканини призвела до зменшення рівня досліджуваного показника.

Це свідчить про те, що синтез відновленого глутатіону в досліджуваних ембріональних м'язових тканинах відбувається інтенсивніше, ніж в тканинах дорослих щурів та алотрансплантація черевного м'язу ембріона призвела до втрати цієї можливості в тканині ембріона.

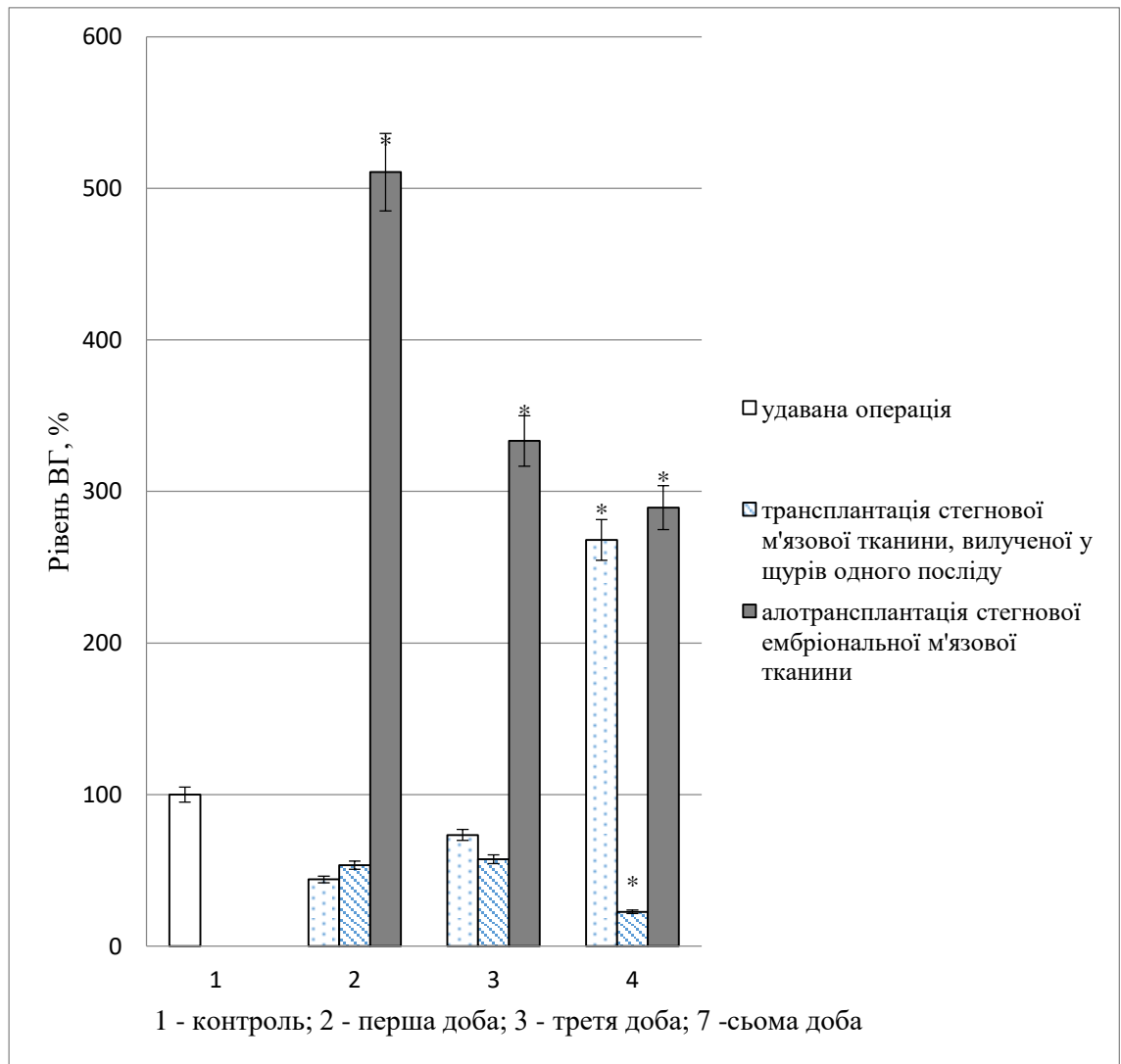


Рис.5.5. Порівняльна динаміка рівня відновленого глутатіону (%) в стегновій м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

В черевній м'язовій тканині на першу та третю доби дослідження можна зробити висновок, що алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводила до збільшенні рівня відновленого глутатіону в тканині реципієнта ( Рис. 5.6). Тоді як при удаваній та підсадці черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду рівень відновленого глутатіону зменшувався.

На сьому добу дослідження отримані данні свідчать про те, що до збільшення рівня відновленого глутатіону призводило хірургічне втручання, а не алотрансплантація, тоді як підсадка черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду призвела до зменшення його рівня.

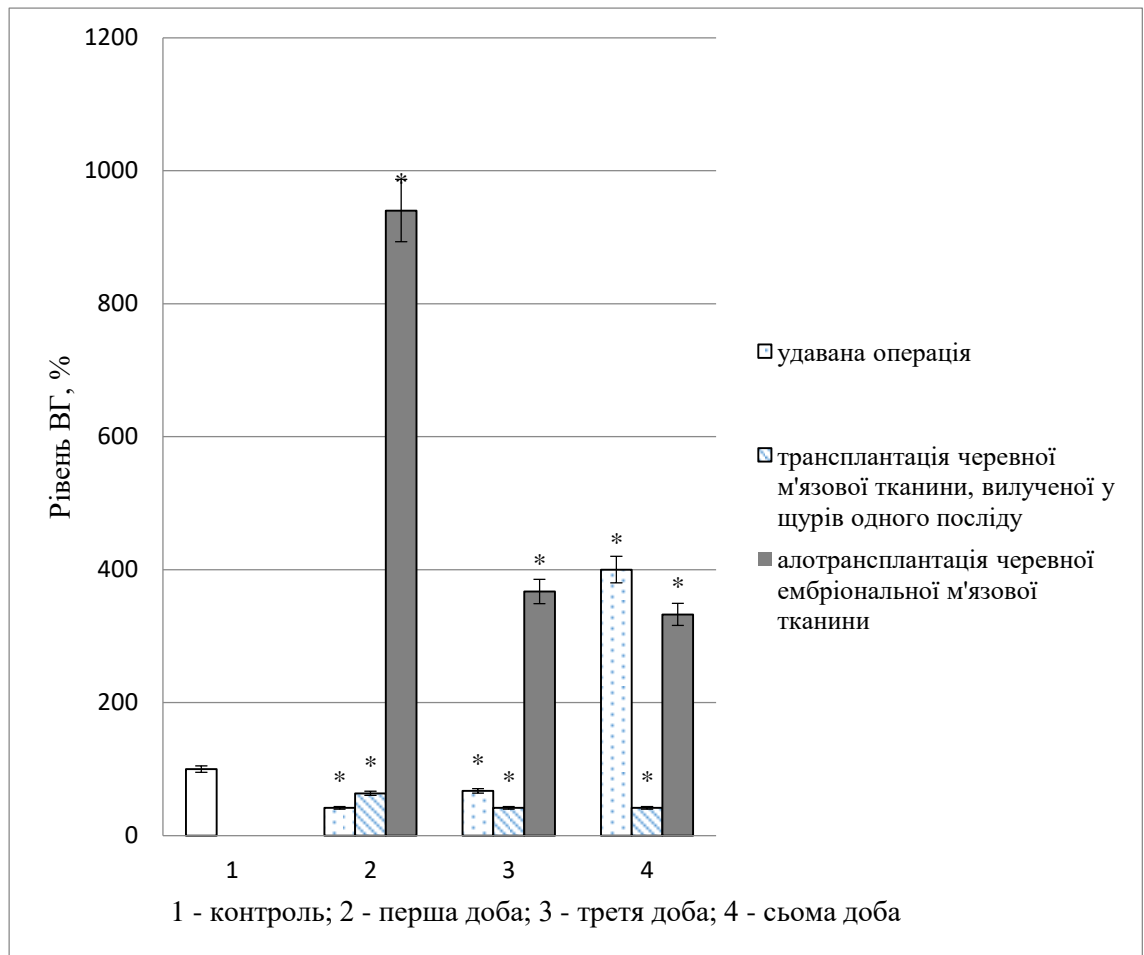


Рис.5.6. Порівняльна динаміка рівня відновленого глутатіону (%) в черевній м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

Таким чином, алотрансплантація ембріональної м'язової тканини впливає на антиоксидантний захист тканин на рівні відновленого глутатіону в ранні терміни дослідження.

## 5.2. Рівень окисненого глутатіону при різних видах хірургічних втручань

В стегновій м'язовій тканині дорослого щура рівень окисненого глутатіону перевищував його рівень в черевній м'язовій тканині, але достовірної різниці між тканинами не виявлено.

При удаваній операції рівень окисненого глутатіону на першу добу дослідження в стегновій м'язовій тканині дорослого щура в 3,5 рази перевищував контрольне значення, але к сьомій добі знизився приблизно в 2

рази відносно контролю (Таблиця 5.4). В черевній м'язовій тканині в усі терміни дослідження спостерігалось достовірне зменшення кількості окисненого глутатіону відносно контролю.

Таблиця 5.4

**Рівень окисненого глутатіону при удаваній операції  
(мкг/г тканини)**

Тканини Доба	Стегнова м'язова тканина дорослого щура	Черевна м'язова тканина дорослого щура
Контроль (без підсадки)	4,00 ± 0,38	2,47 ± 0,20
1 доба	14,13 ± 0,14 * p<0,001	18,93 ± 0,14 * p<0,001
3 доба	4,15 ± 0,41 p>0,5	24,08 ± 4,71 * p<0,005
7 доба	2,25 ± 0,31 * p<0,05	20,27 ± 3,49 * p<0,005

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю

Трансплантація стегової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду призводила до достовірного збільшення рівня окисненого глутатіону в тканині реципієнта відносно контролю на третю (в 1,4 раз) та сьому (в 1,6 раз) добу дослідження (Таблиця 5.5). В стеговій м'язовій тканині донора, навпаки, спостерігалось зменшення рівня досліджуваного показника в усі терміни дослідження. Трансплантація черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду на першу добу дослідження призводила до збільшення рівня окисненого глутатіону відносно контролю, як в тканині реципієнта (в 3,7 рази), так і в тканині донора (в 3,5 раз). На третю та сьому добу дослідження рівень досліджуваного показника в черевній м'язовій тканині реципієнта знизився, але перевищував контрольні значення приблизно в 3 рази, тоді як в тканині донора зменшився майже в 2 рази. На третю та сьому

добу дослідження кількість окисненого глутатіону в черевній м'язовій тканині реципієнта в 6-8 разів перевищувала її кількість в тканині донора.

Таблиця 5.5

**Рівень окисненого глутатіону при трансплантації м'язової  
тканини, вилученої у щурів одного посліду (мкг/г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина реципієнта	Стегнова м'язова тканина донора	Черевна м'язова тканина реципієнта	Черевна м'язова тканина донора
Контроль (без підсадки)	4,00 ± 0,38	4,00 ± 0,38	2,47 ± 0,23	2,47 ± 0,23
1 доба	2,83 ± 0,41 p<0,05**	1,30 ± 0,11 * p<0,01	9,10 ± 0,56 * p<0,01	8,58 ± 0,35 *
3 доба	5,70 ± 0,45 * p<0,05**	1,30 ± 0,11 * p<0,01	7,42 ± 0,37 * p<0,01**	1,47 ± 0,22 * p<0,05
7 доба	6,55 ± 0,31 * p<0,05**	1,17 ± 0,06 * p<0,01	7,57 ± 0,35 * p<0,01**	1,27 ± 0,12 * p<0,05

Примітка: \* P≤0,05 – достовірно відносно контролю;

\*\* P≤0,05 – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта

При порівнянні кількості окисненого глутатіону між стегноюю м'язовою тканиною донора та реципієнта встановлено, що в тканині реципієнта його кількість достовірно перевищувала донора: на першу добу дослідження в 2 рази, на третю добу дослідження в 4,4 рази та на сьому добу дослідження в 5,6 разів (Рис.5.7). Ймовірно в черевній тканині донора окисно-відновні процеси відбуваються інтенсивніше після трансплантації м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду.



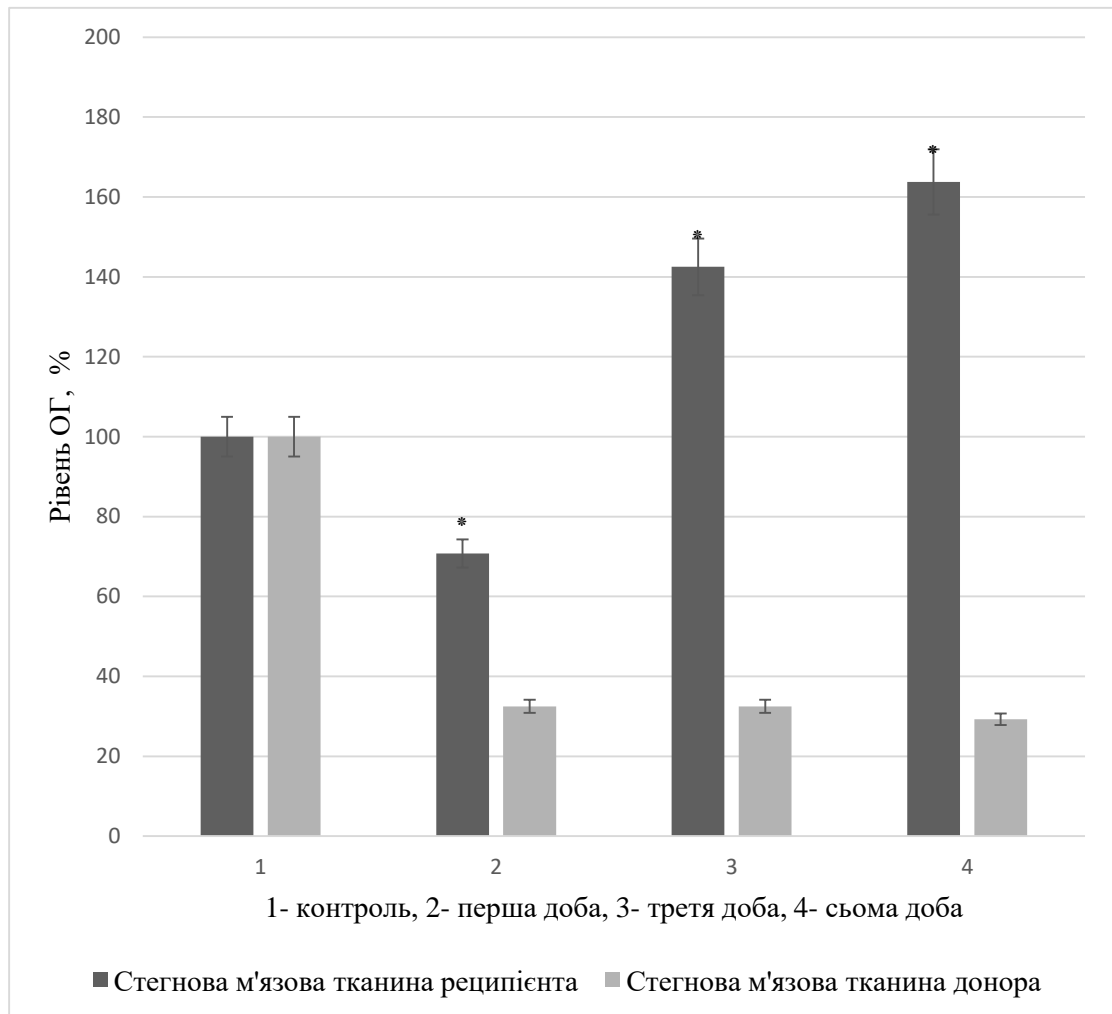


Рис. 5.7. Динаміка рівня окисненого глутатіону (%) в стегнових м'язових тканинах донора та реципієнта при трансплантації м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між донором та реципієнтом

Порівнюючи рівень окисненого глутатіону між черевними м'язовими тканинами донора та реципієнта при трансплантації м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду, можна зазначити, що на першу добу дослідження достовірних змін не відбувалось (Рис. 5.8). На третю добу після трансплантації досліджуваний показник в тканині реципієнта в 5 разів достовірно перевищував його показник в тканині донора. К сьомій добі також спостерігалась достовірна різниця рівня окисненого глутатіону між тканинами донора та реципієнта, який в тканині реципієнта в 6 разів перевищувала тканину донора.

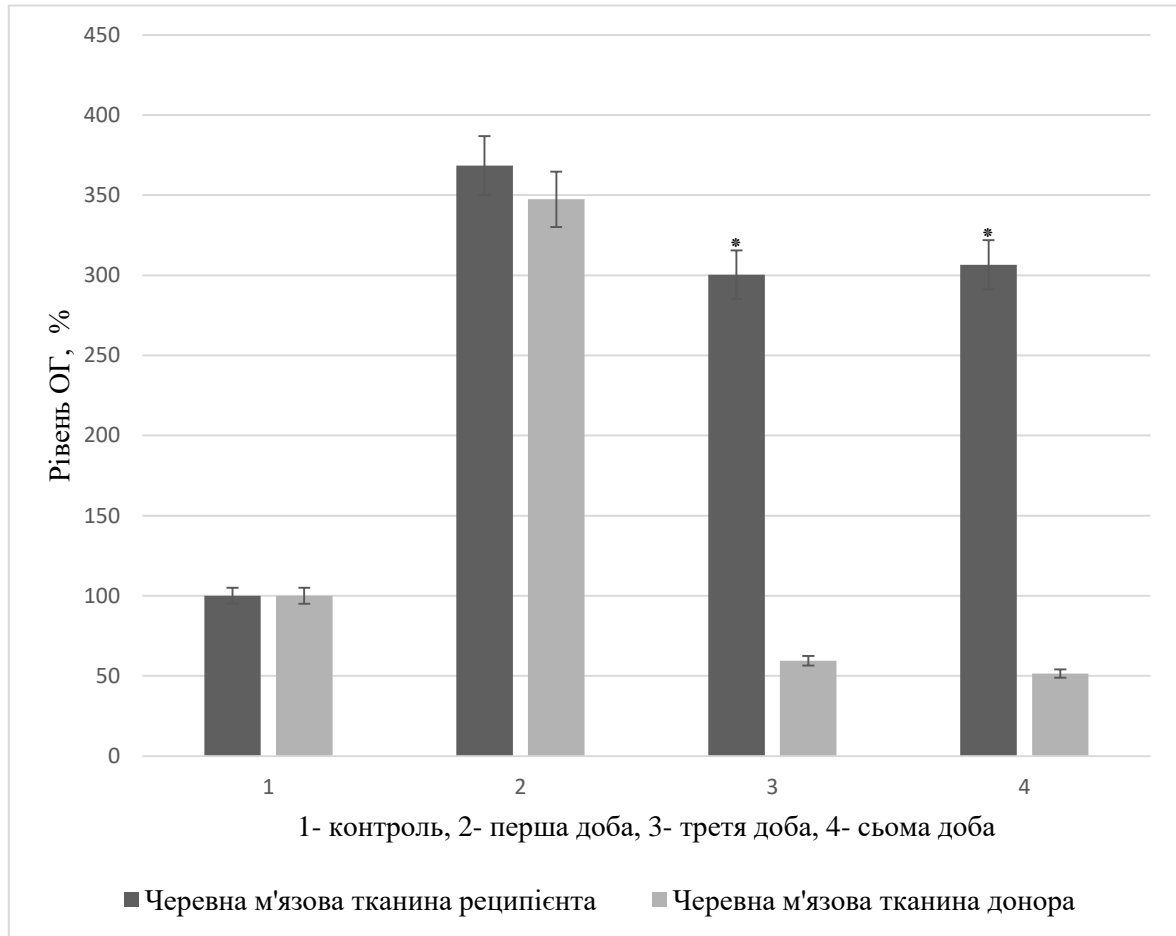


Рис. 5.8. Динаміка рівня окисненого глутатіону (%) в черевних м'язових тканинах донора та реципієнта при трансплантації м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між донором та реципієнтом

Таким чином, трансплантація генетично спорідненої стегнової м'язової тканини призвела до збільшення рівня окисненого глутатіону в тканині реципієнта на 3 та 7 добу дослідження. Трансплантація генетично спорідненої черевної м'язової тканини призвела також до збільшення рівня окисненого глутатіону на всіх термінах дослідження відносно контрольного значення.

В наступній серії експерименту визначався рівень окисненого глутатіону при алотрансплантації стегнової та черевної ембріональних м'язових тканин, як в тканині донора, так і реципієнта (Таблиця 5.6). Алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призводила до

зменшення кількості окисненого глутатіону на першу добу дослідження, як в тканині дорослого щура (в 1,4 рази), так і в тканині ембріона (в 1,5 рази) відносно контролю. На сьому добу дослідження рівень окисненого глутатіону в стегновій м'язовій тканині дорослого щура в 1,4 рази перевищував контрольні значення. Алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводила до достовірної зміни рівня окисненого глутатіону відносно контролю лише на третю добу дослідження та перевищувала контрольні показники в 2 рази. В черевній м'язовій тканині ембріона спостерігалось зменшення кількості окисненого глутатіону відносно контролю на третю (в 1,4 рази) та сьому (в 1,6 раз) добу дослідження.

Таблиця 5.6

**Рівень окисненого глутатіону при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини (мкг/г тканини)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина дорослого щура	Стегнова м'язова тканина ембріона	Черевна м'язова тканина дорослого щура	Черевна м'язова тканина ембріона
Контроль (без підсадки)	4,00 ± 0,38 **	2,57 ± 0,19	2,47 ± 0,23	2,02 ± 0,15
1 доба	2,83 ± 0,30 * p<0,05**	1,75 ± 0,15 * p<0,05	3,78 ± 0,58 p<0,05**	2,27 ± 0,14 p>0,05
3 доба	3,73 ± 0,35 p>0,3	2,83 ± 0,41 p>0,3	5,23 ± 0,47 * p<0,05**	1,43 ± 0,10 * p<0,05
7 доба	5,58 ± 0,49 * p<0,05**	2,32 ± 0,23 p>0,3	2,30 ± 0,25 p>0,3**	1,30 ± 0,11 * p<0,05

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю;

\*\* P≤0,05 – достовірно між м'язовими тканинами дорослого щура та ембріона

Порівнюючи рівень окисненого глутатіону між стегноюю м'язовою тканиною дорослого щура та ембріона, слід відмітити, що в тканині дорослого щура його кількість достовірно перевищувала його кількість в тканині ембріона до та після алотрансплантації, за виключенням третьої доби дослідження, де досліджуваний показник був приблизно однаковим (Рис.5.9).

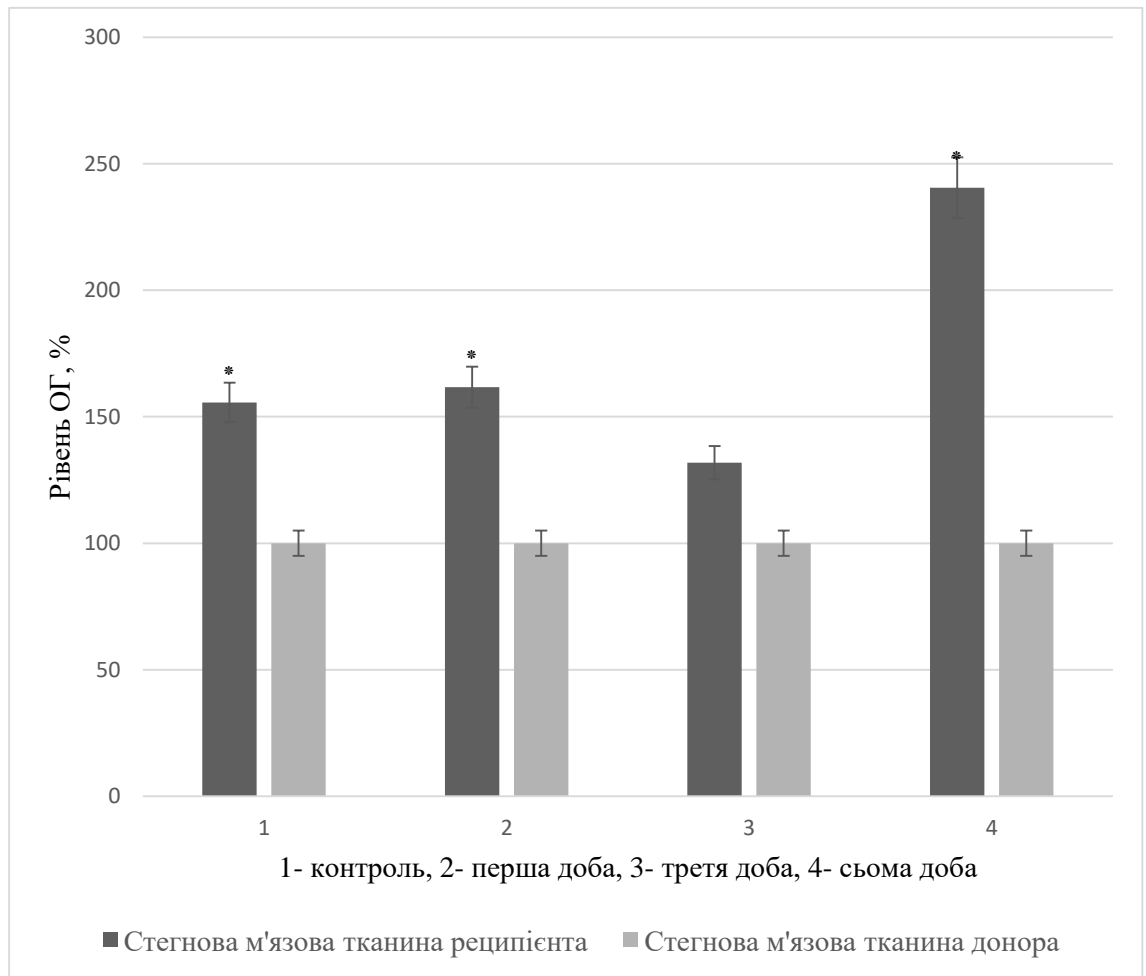


Рис.5.9. Динаміка рівня окисненого глутатіону (%) в стегнових м'язових тканинах дорослого щура та ембріона при алотрансплантації.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між ембріональною та сформованою м'язовими тканинами

Рівень окисненого глутатіону в контролі черевної м'язової тканини дорослого щура та ембріона приблизно однаковий та не виявляє між собою достовірної різниці (Рис.5.10). На першу (в 1,7 раз), третю (в 3,7 раз) та сьому (в 1,8 раз) добу дослідження рівень окисненого глутатіону був вищим в черевній м'язовій тканині дорослого щура у порівнянні з черевною м'язовою тканиною ембріона.

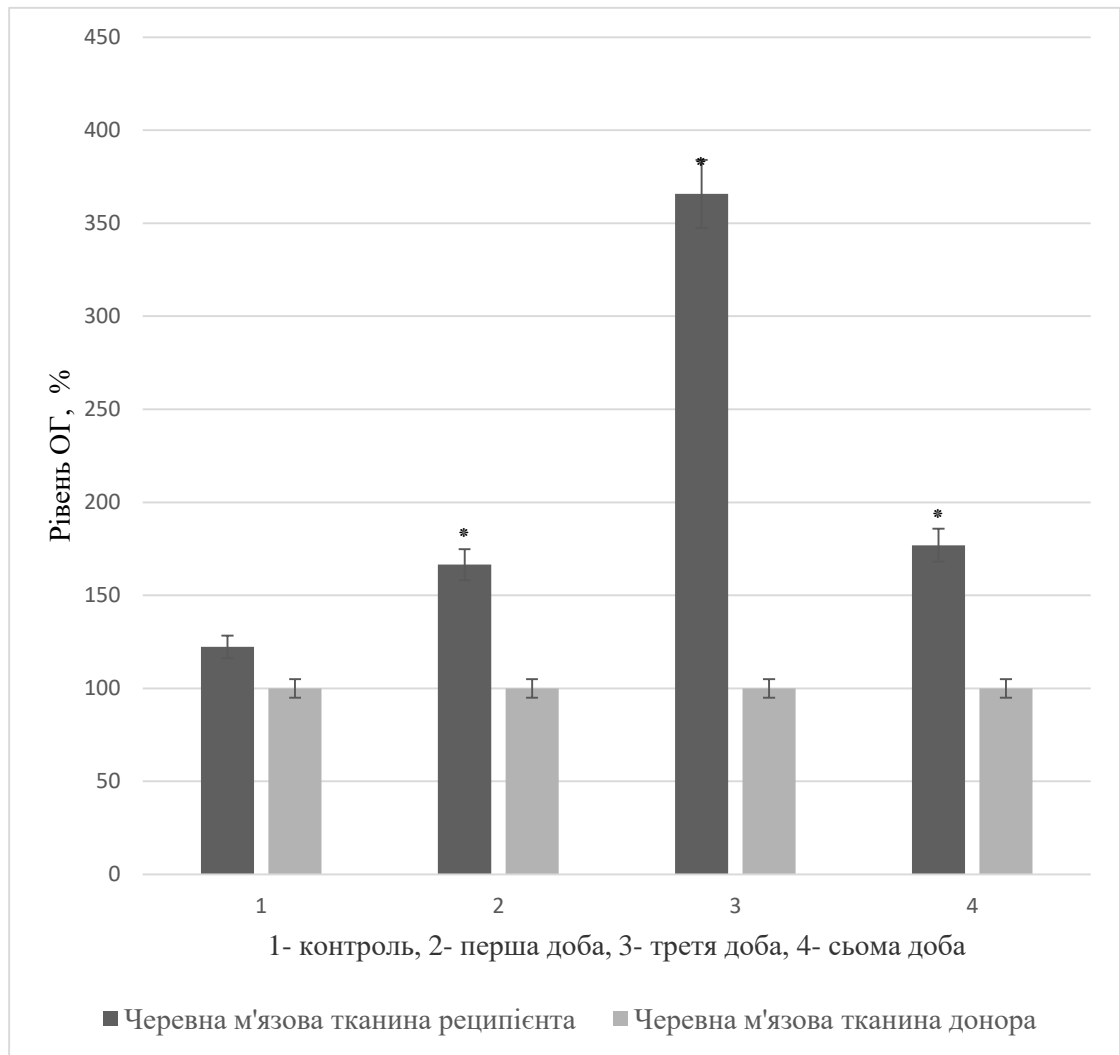


Рис. 5.10. Динаміка рівня окисненого глутатіону (%) в черевних м'язових тканинах дорослого щура та ембріона при алотрансплантації.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між ембріональною та сформованою м'язовими тканинами.

Таким чином, на першу добу дослідження алотрансплантація стегнової ембріональної м'язової тканини призводила до зменшення рівня окисненого глутатіону (Рис. 5.11). На третю добу дослідження до збільшення рівня окисненого глутатіону призводила трансплантація стегнової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду. На сьому добу дослідження як алотрансплантація ембріональної тканини, так і підсадка тканини, вилученої у щурів одного посліду, призвели до достовірного збільшення рівня окисненого глутатіону в тканині реципієнта.

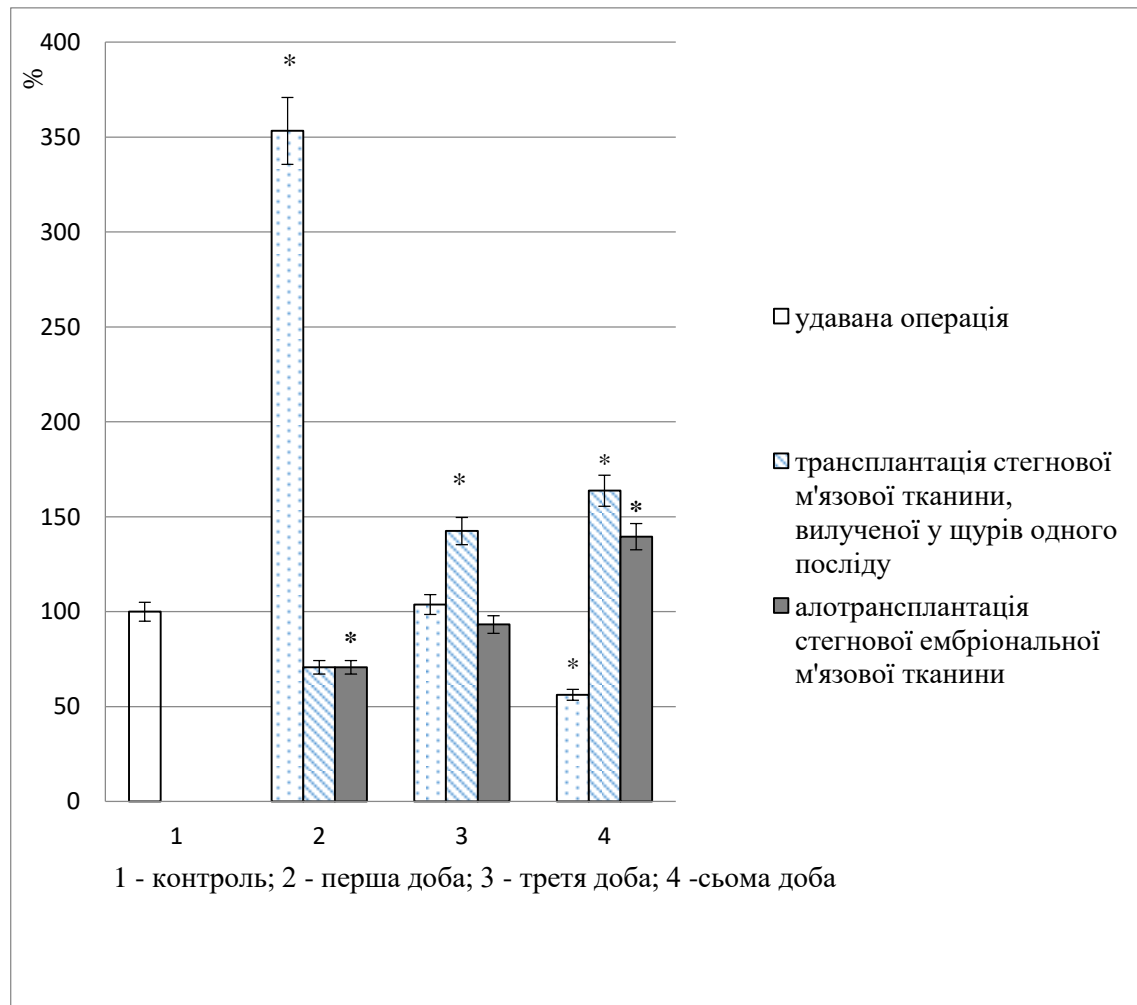


Рис. 5.11. Порівняльна динаміка рівня окисненого глутатіону (%) в стегновій м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

Алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона не призводила на першу та сьому доби дослідження до достовірних змін рівня окисненого глутатіону (Рис. 5.12). На третю добу після алотрансплантації спостерігалось збільшення рівня досліджуваного показника в тканині реципієнта. Тоді як при удаваній операції та при трансплантації черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду збільшувався рівень окисненого глутатіону в усі терміни дослідження.

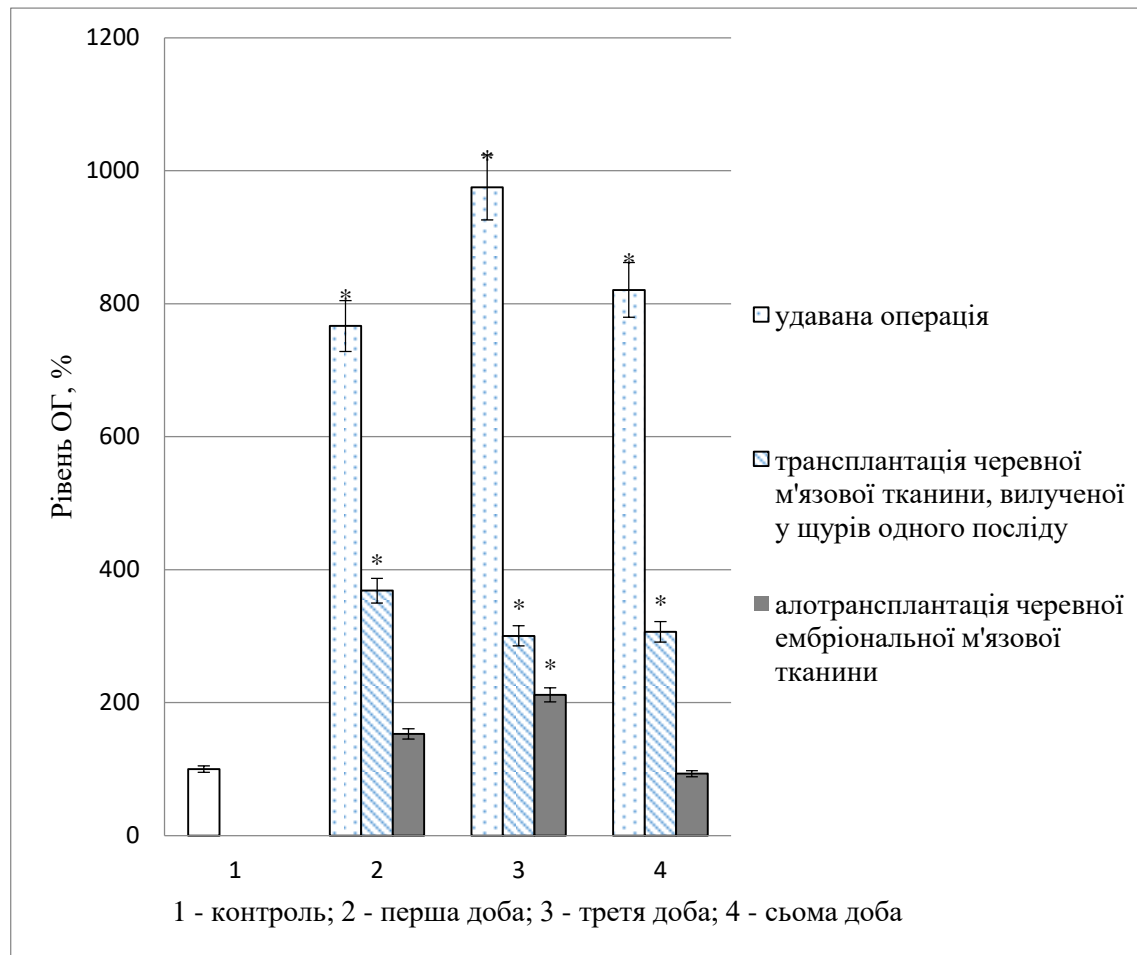


Рис.4.12. Порівняльна динаміка рівня окисненого глутатіону (%) в черевній м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

Таким чином, алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона не призводила до змін рівня окисненого глутатіону в тканині реципієнта, в той час як при удаваній операції та підсадці генетично спорідненої тканини відбувалося зростання його рівня.

### 5.3. Активність глутатіонредуктази при різних видах хірургічних втручань

Глутатіонредуктаза - флавопротеїн, який складається з двох ідентичних субодиниць, вміщуючий флавінаденіндинуклеотид [206]. ГР являється класичним цитозольним ферментом, активність якого регулюється цАМФ - залежним механізмом [207]. Каталітична активність ГР також залежить від стану її SH-груп, тому при фізіологічних концентраціях ВГ здійснює

інгібуючий вплив на фермент [208]. Швидкість NADFH-залежного відновлення окисленого глутатіону в ВГ під впливом глутатіонредуктази (ГР) набагато перебільшує здатність його синтезу *de novo* в тканинах [209]. Необхідною умовою для утворення глутатіонредуктазної реакції є вміст в тканинах необхідного рівня NADFH, тому що його витрати при цьому в 6 разів вище, ніж при біосинтезі жирних кислот та процесах мікросомального окислення [210, 211]. Основним джерелом відновленої форми NADFH являється ключова реакція пентозофосфатного шляху метаболізму вуглеводів - глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна (Г-6-Ф-ДГ), яка і лімітує можливості редокс - циклювання глутатіону [212, 213].

З таблиці 5.7 видно, що при удаваній операції активність глутатіонредуктази в стегновій м'язовій тканині на першу добу після операції в 3 рази перевищувала контрольні значення, але на 3-7 добу дослідю достовірних змін не відбувалося. В черевній м'язовій тканині відбувалося достовірне збільшення досліджуваного показника, відносно контролю в усі досліджувані терміни.

Таблиця 5.7

**Активність глутатіонредуктази при удаваній операції (у.о./хв на мг білка)**

Тканини Доба	Стегнова м'язова тканина дорослого щура	Черевна м'язова тканина дорослого щура
Контроль (без підсадки)	0,10±0,04	0,02±0,003
1 доба	0,31±0,04* p<0,05	0,67±0,03 * p<0,001
3 доба	0,17±0,02 p>0,05	0,36±0,05 * p<0,01
7 доба	0,13±0,01 p>0,05	0,28±0,01 * p<0,01

Примітка: \*P<0,05 – достовірно відносно контролю

В таблиці 5.8 приведені результати активності глутатіонредуктази при трансплантації м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду. З



приведених даних можна відмітити достовірне збільшення активності глутатіонредуктази, відносно до контролю в стеговій м'язовій тканині донора на сьому добу дослідження, яка складала  $0,21 \pm 0,01$  у.о./хв./мг білка. В черевній м'язовій тканині реципієнта активність глутатіонредуктази збільшувалась майже в 24 рази відносно контролю на першу добу дослідження ( $0,48 \pm 0,03$  у.о./хв./мг білка), в тканині реципієнта в 11 раз достовірно переважала активність контролю та складала  $0,23 \pm 0,03$  у.о./хв./мг білка). На третю добу дослідження в черевній м'язовій тканині реципієнта активність глутатіонредуктази достовірно перевищувала контрольний показник в 20 разів ( $0,40 \pm 0,02$  у.о./хв./мг білка). В черевній м'язовій тканині реципієнта майже в 16 разів активність глутатіонредуктази перевищувала її активність в контролі. На сьому добу дослідження в черевній м'язовій тканині реципієнта активність глутатіонредуктази достовірно збільшувалась відносно контролю та перевищувала в 17,5 рази. В тканині донора активність досліджуваного показника перевищувала контрольний показник в 35 разів та складала  $0,70 \pm 0,05$  у.о./хв./мг білка).

Таблиця 5.8

**Активність глутатіонредуктази при трансплантації м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду (у.о./хв на мг білка)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина реципієнта	Стегнова м'язова тканина донора	Черевна м'язова тканина реципієнта	Черевна м'язова тканина донора
Контроль (без підсадки)	$0,10 \pm 0,04$	$0,10 \pm 0,04$	$0,02 \pm 0,003$	$0,02 \pm 0,003$
1 доба	$0,08 \pm 0,01$ $p > 0,3$	$0,11 \pm 0,02$ $p > 0,3$	$0,48 \pm 0,03^*$ $p < 0,001$	$0,23 \pm 0,03^*$ $p < 0,05^{**}$
3 доба	$0,10 \pm 0,01$ $p > 0,3$	$0,17 \pm 0,01$ $p < 0,05^{**}$	$0,40 \pm 0,02^*$ $p < 0,001$	$0,31 \pm 0,01^*$ $p < 0,01^{**}$
7 доба	$0,15 \pm 0,01$ $p > 0,05$	$0,21 \pm 0,01^*$ $p < 0,05^{**}$	$0,35 \pm 0,05^*$ $p < 0,01$	$0,70 \pm 0,05^*$ $p < 0,001^{**}$

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

\*\*  $P \leq 0,05$  – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта

Якщо порівняти активність глутатіонредуктази між стегновими м'язовими тканинами донора та реципієнта, можна відмітити, що достовірних змін активності на першу добу дослідження не відбувалось (Рис.5.13). На третю добу в стегновій м'язовій тканині донора активність глутатіонредуктази перевищувала реципієнта в 1,7 разів. На сьому добу також спостерігалось достовірне збільшення активності в тканині донора в 1,4 рази відносно показника реципієнта.

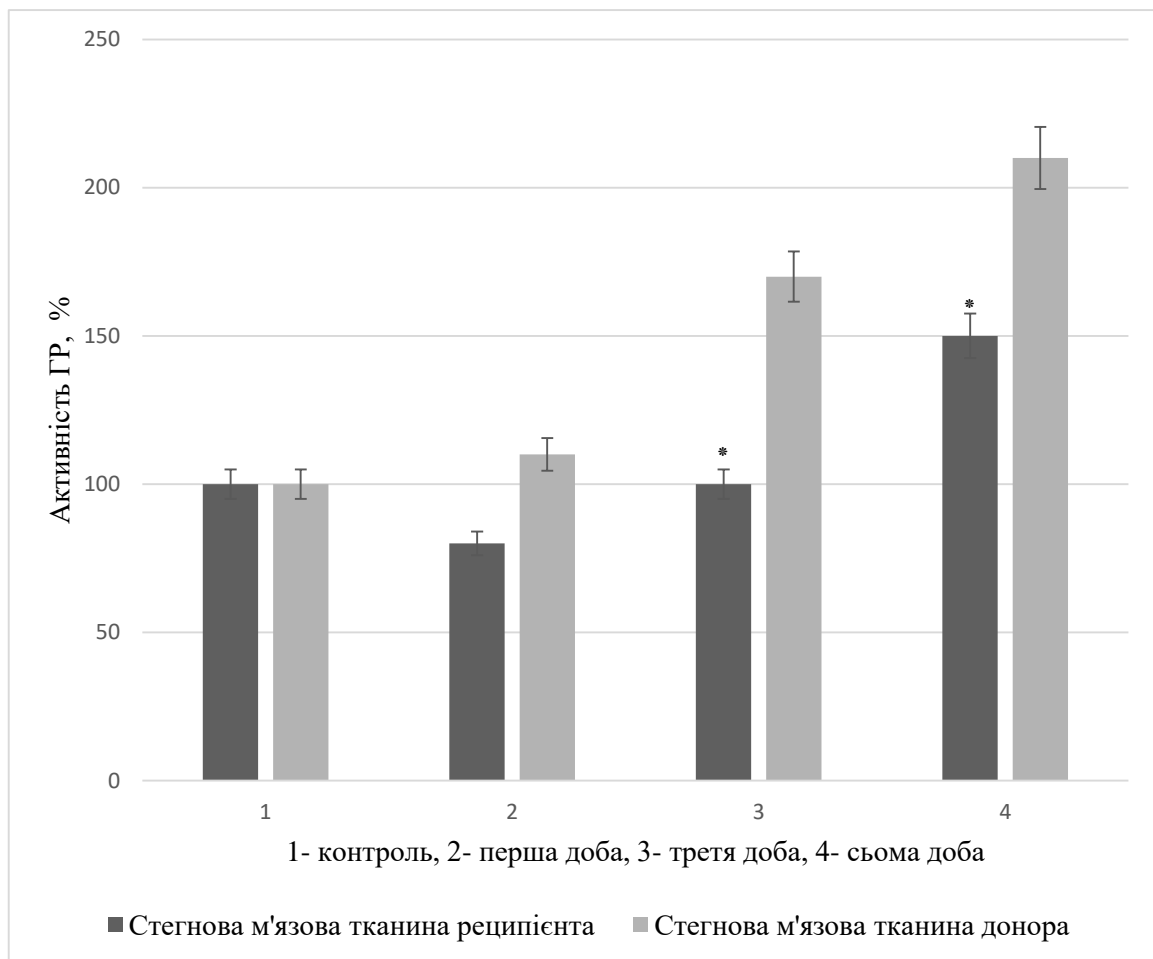


Рис. 5.13. Динаміка активності глутатіонредуктази (%) в стегнових м'язових тканинах донора та реципієнта при трансплантації м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта.

В черевній м'язовій тканині донора на першу та третю добу дослідження активність глутатіонредуктази була достовірно нижче ніж в тканині реципієнта ( на першу добу в 2 рази та на третю в 1,3 рази) (Рис.5.14). Але на сьому добу дослідження активність глутатіонредуктази достовірно зросла та перевищувала показник реципієнта в 2 рази.

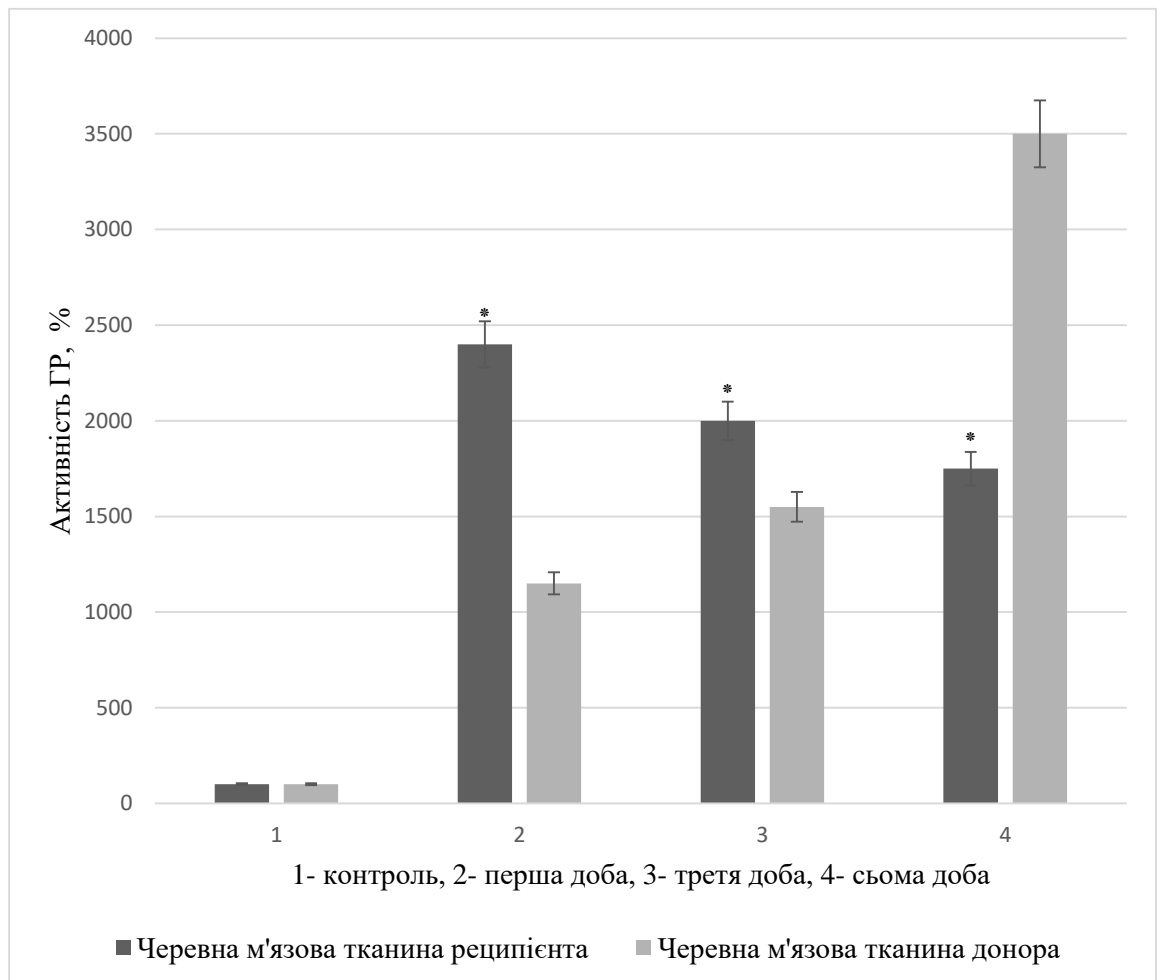


Рис. 5.14. Динаміка активності глутатіонредуктази (%) в черевних м'язових тканинах донора та реципієнта при трансплантації м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта.

В наступній серії дослідів ми вивчали вплив алотрансплантації на активність глутатіонредуктази в м'язовій тканині ембріона та дорослої тварини (Таблиця 5.9).

Активність глутатіонредуктази в стегновій м'язовій тканині дорослого щура дорівнювала  $0,10 \pm 0,04$  у.о./хв./мг білка та достовірно не змінювалась після алотрансплантації в усі терміни дослідження. В стегновій м'язовій тканині ембріона активність досліджуваного показника складала  $0,03 \pm 0,004$  у.о./хв./мг білка та к сьомій добі дослідження спостерігалось достовірне збільшення активності глутатіонредуктази до  $0,09 \pm 0,01$  у.о./хв./мг білка.

При алотрансплантації черевної м'язової тканини ембріона активність глутатіонредуктази достовірно перевищувала контрольні показники в тканині реципієнта в усі терміни дослідження: на першу добу в 10 разів, на третю в 7 разів та на сьому в 13 разів. В черевній м'язовій тканині донора при алотрансплантації також спостерігалось достовірне збільшення активності досліджуваного показника відносно до контролю: на першу добу в 5,5разів, на третю добу в 5 разів та на сьому в 9разів.

Таблиця 5.9

**Активність глутатіонредуктази при алотрансплантації  
ембріональної м'язової тканини (у.о./хв на мг білка)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина дорослої тварини	Стегнова м'язова тканина ембріона	Черевна м'язова тканина дорослої тварини	Черевна м'язова тканина ембріона
Контроль (без підсадки)	$0,10 \pm 0,040$	$0,03 \pm 0,004$ **	$0,02 \pm 0,003$	$0,02 \pm 0,004$
1 доба	$0,08 \pm 0,010$ $p > 0,3$	$0,02 \pm 0,003$ $p > 0,05$ **	$0,20 \pm 0,01$ * $p < 0,01$	$0,11 \pm 0,02$ * $p < 0,05$ **
3 доба	$0,12 \pm 0,010$ $p > 0,3$	$0,04 \pm 0,01$ $p < 0,05$ **	$0,14 \pm 0,01$ * $p < 0,01$	$0,10 \pm 0,01$ * $p < 0,05$ **
7 доба	$0,16 \pm 0,030$ $p > 0,05$	$0,09 \pm 0,010$ * $p < 0,05$	$0,26 \pm 0,040$ * $p < 0,01$	$0,18 \pm 0,030$ * $p < 0,01$

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

\*\*  $P \leq 0,05$  – достовірно між ембріональною та сформованою м'язовими тканинами

В наступній серії досліджень ми вирішили порівняти активність глутатіонредуктази між стегноюю м'язовою тканиною донора та реципієнта та між червону м'язовою тканиною донора та реципієнта в усі терміни дослідження.

Якщо порівняти показники стегнової м'язової тканини дорослого щура та ембріона, то можна відмітити, що в стегновій м'язовій тканині активність глутатіонредуктази в ембріональній стегновій тканині майже в 3 рази менше, ніж в дорослій тканині (Рис.5.15). Після алотрансплантації на 1-3 добу досліджуваний показник в ембріональній м'язовій тканині ембріона достовірно знижувався, відносно відповідного показника дорослого щура, але к 7 добі досліду активність глутатіонредуктази майже досягла показника стегнового м'яза дорослого щура.

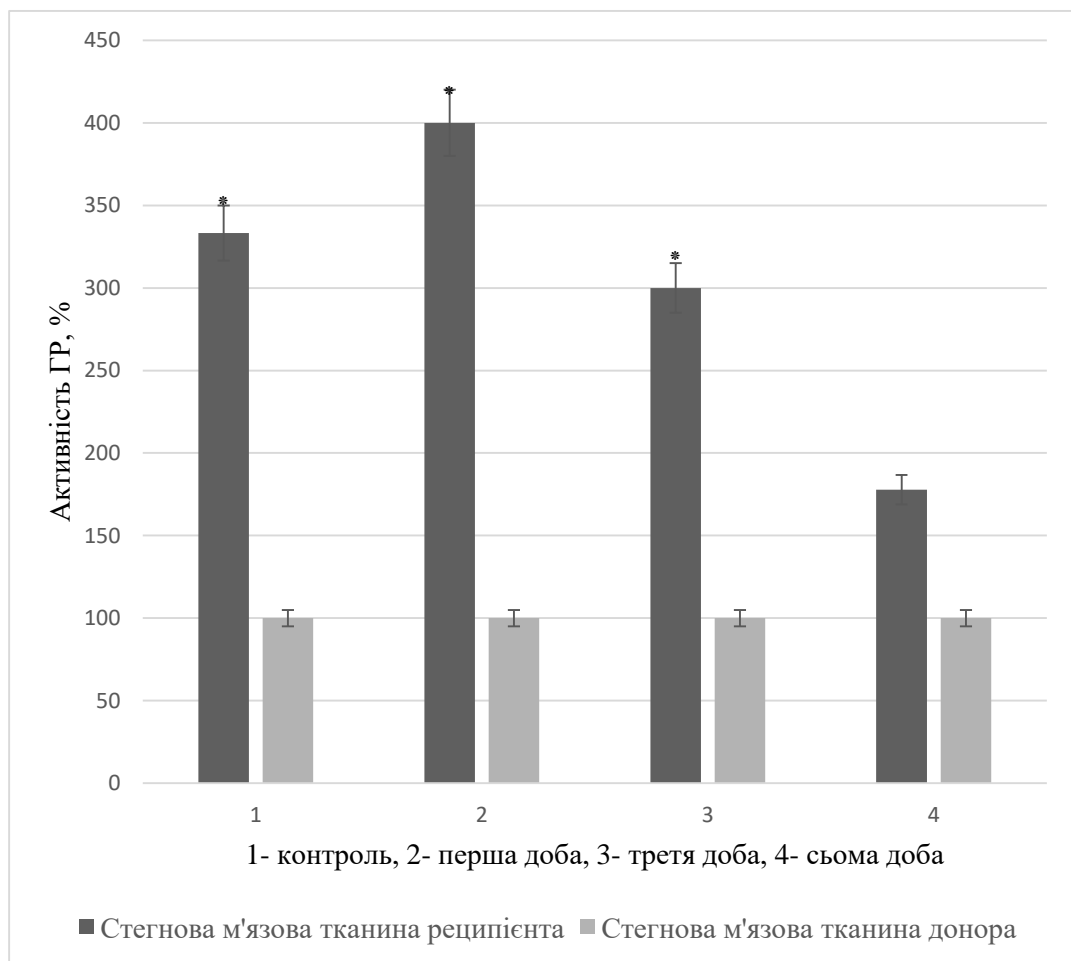


Рис. 5.15. Динаміка активності глутатіонредуктази (%) в стегнових м'язових тканинах донора та реципієнта при алотрансплантації ембріональної стегнової м'язової тканини.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта.

В черевній м'язовій тканині досліджуваний показник однаковий, як в тканині дорослої тварини, так і в тканині ембріона (Рис.5.16). Після алотрансплантації цей показник збільшувався в ембріональній тканині, але був достовірно меншим, ніж у черевній м'язовій тканині дорослого щура на 1 добу дослідження майже в 2 рази та в 1,5 рази на третю добу дослідження. На сьому добу після алотрансплантації черевної м'язової тканини ембріона достовірних змін між тканинами донора та реципієнта не спостерігалось.

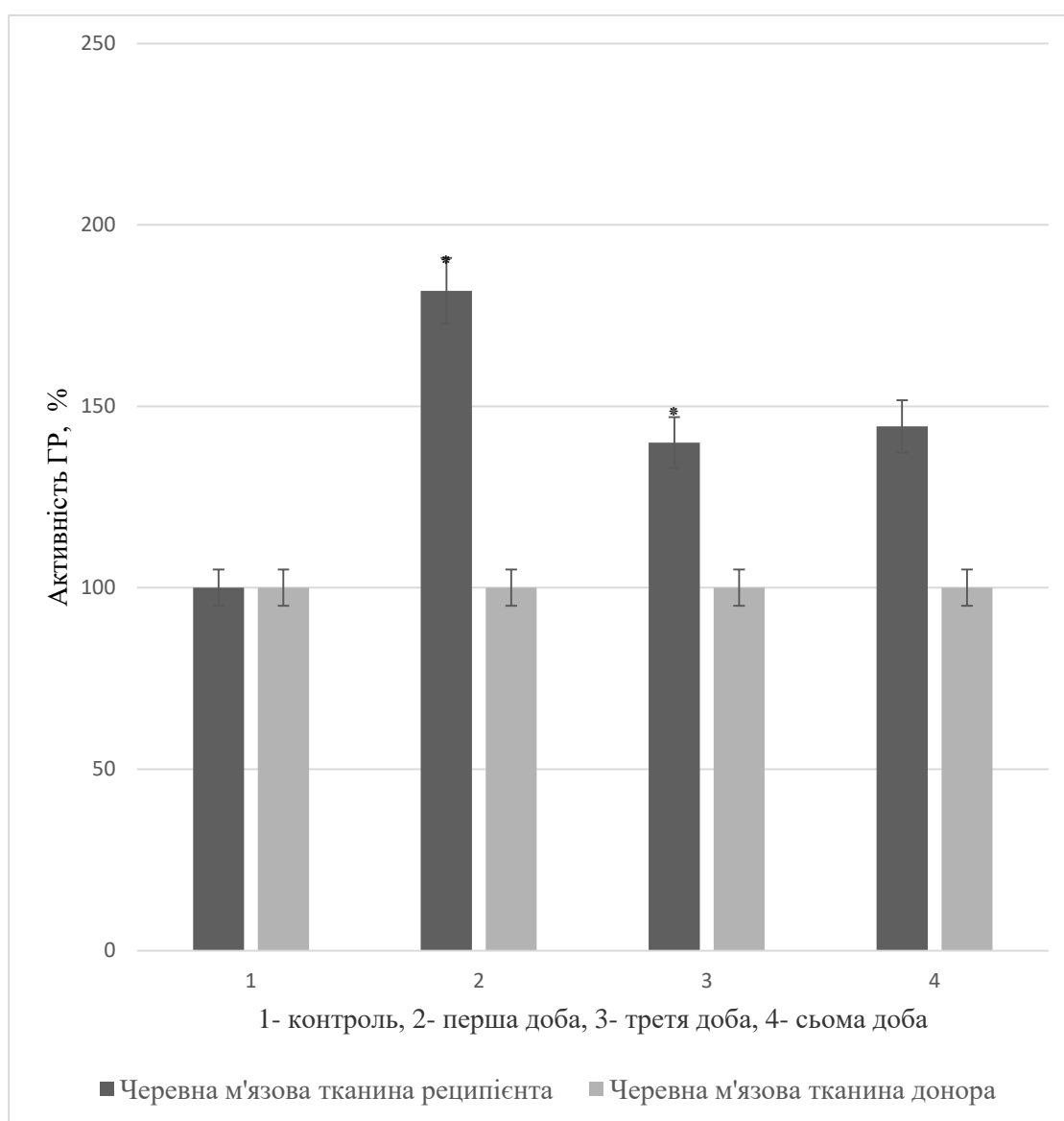


Рис. 5.16. Динаміка активності глутатіонредуктази (%) в черевних м'язових тканинах донора та реципієнта при алотрансплантації ембріональної черевної м'язової тканини.

Примітка: \*  $P \leq 0,05$  – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта.

Таким чином, на першу добу дослідження, нами було встановлено, що алотрансплантація ембріональної стегнової м'язової тканини та трансплантація стегнової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду призвели до того, що активність глутатіонредуктази залишалась майже на рівні з контрольним показником, тоді як при удаваній операції зростала (Рис. 5.17). На третю та сьому добу досліджень достовірних змін активності глутатіонредуктази встановлено не було при жодному хірургічному втручанні. Тому можна зробити висновок, що алотрансплантація ембріональної стегнової м'язової тканини не сприяла достовірній зміні активності глутатіонредуктази в тканині реципієнта.

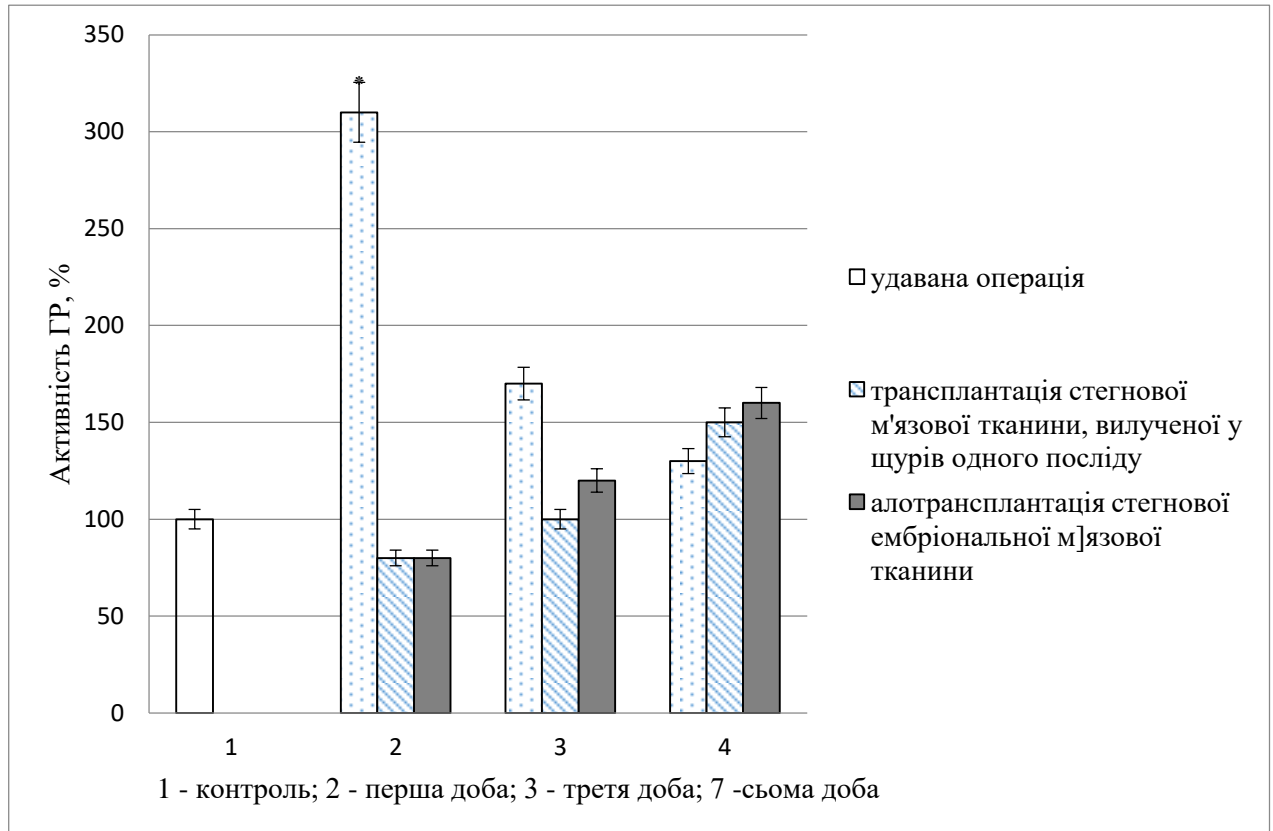


Рис.5.17. Порівняльна динаміка активності глутатіонредуктази (%) в стегновій м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка:  $*P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

Встановлено, що алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона, трансплантація черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду та удавана операція призводили до достовірного збільшення активності глутатіонредуктази в тканині реципієнта по відношенню до контролю в усі терміни дослідження (Рис. 5.18). Різниця складає лише в ступені збільшення активності, тому стверджувати, що на такі зміни сприяла саме алотрансплантація ембріональної тканини ми не можемо, про що свідчать отримані результати.

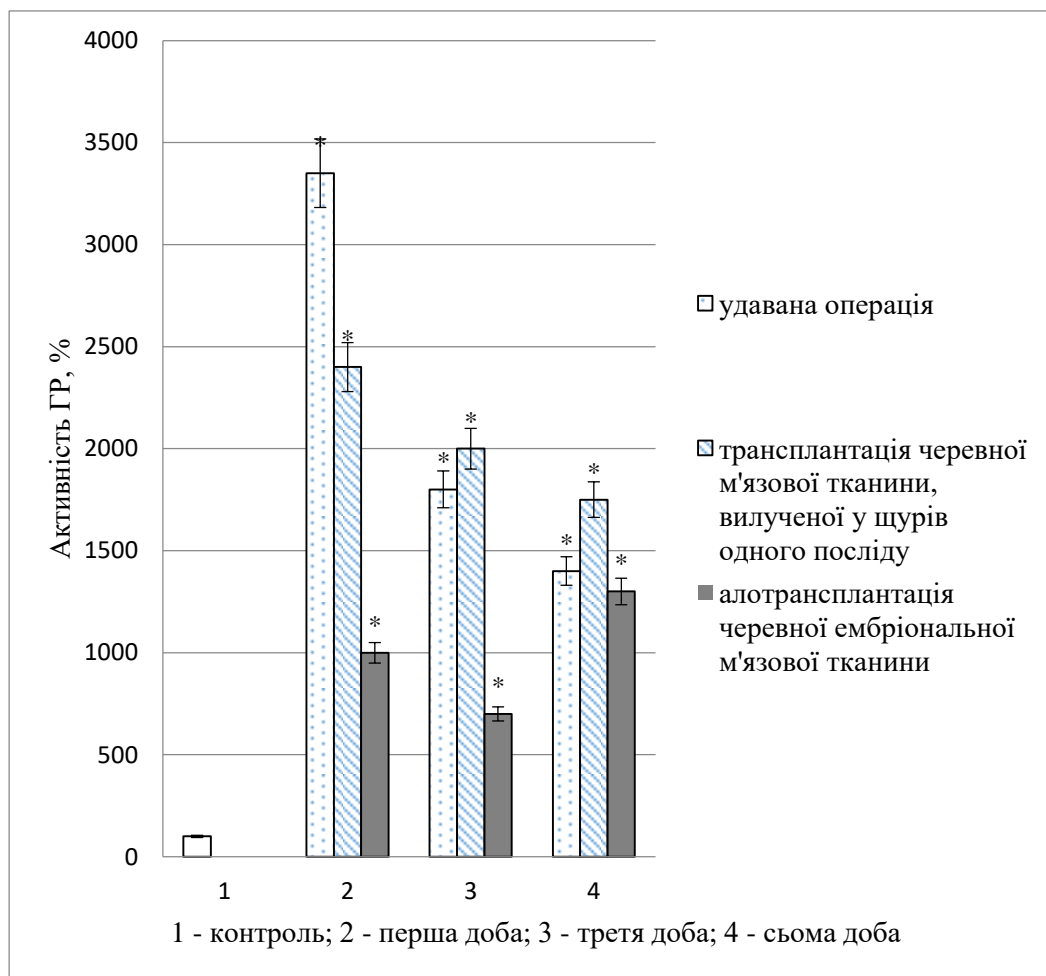


Рис.5.18. Динаміка активності глутатіонредуктази (%) в черевній м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка:  $*P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю



Таким чином, алотрансплантація черевної та стегнової м'язових тканин ембріона на відміну від хірургічних втручань не впливала на зміни в активності глутатіонредуктази.

#### **5.4 Активність глутатіонпероксидази при різних видах хірургічних втручань**

Важлива роль у захисті клітини від оксидативного стресу може бути відведена системі глутатіону. Дійсно, жива клітина використовує три лінії ферментативного захисту від активних кисневих сполук за допомогою супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази; глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази. Ці три лінії захисту послідовно відновлюють супероксидрадикали,  $H_2O_2$  та органічні гідроперекиси. Можна додати ще четверту лінію захисту - знешкодження вторинних продуктів переокиснення інших окиснених сполук, в якій беруть участь глутатіонтрансфераза, гліоксилаза і формальдегіддегідрогеназа. Таким чином, глутатіон бере участь у трьох лініях захисту з чотирьох і, отже, вносить значний внесок у функціонування антиоксидантної системи [214].

Глутатіон, глутатіонпероксидаза, глутатіонтрансфераза, глутатіонредуктаза і NADPH утворюють глутатіонову антиоксидантну систему, в якій глутатіонредуктаза і NADPH необхідні для відновлення окисненого глутатіону і, отже, його повторної переробки [215].

Відновлення за допомогою глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази гідропероксидів попереджає прогресування пероксидації і появи її вторинних метаболітів [216]. У знешкодженні вторинних продуктів пероксидації та інших окислених речовин головну роль відіграють глутатіонтрансферази. Вони кон'югують з глутатіоном головні і найбільш токсичні продукти перекисного окиснення ліпідів .

Досліджуючи активність глутатіонпероксидази при удаваній операції (Таблиця 5.10), можна відмітити достовірне збільшення цього показника, відносно контролю на першу добу дослідження, як в стегновому( в 2 рази),

так і в черевному (в 2 рази) м'язах самця. На 7 добу дослідження активності глутатіонпероксидази в черевній м'язовій тканині самця спостерігалось достовірне зменшення цього показника відносно контролю (в 3,5 разів).

Таблиця 5.10

**Активність глутатіонпероксидази при удаваній операції (у.о./хв на мг білка)**

Тканини Доба	Стегнова м'язова тканина дорослого щура	Черевна м'язова тканина дорослого щура
Контроль (без підсадки)	0,05±0,004	0,07±0,005
1 доба	0,11±0,015* p<0,05	0,14±0,015 * p<0,05
3 доба	0,05±0,008 p>1	0,05±0,010 p>0,05
7 доба	0,05±0,005 p=1	0,02±0,005 * p<0,05

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю

В наступній серії дослідів ми вивчали вплив трансплантації м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду на активність глутатіонпероксидази, як в м'язовій тканині донора, так і реципієнта (Таблиця 5.11). З таблиці видно, що трансплантація стегової м'язової тканини призводила до достовірного зменшення активності глутатіонпероксидази відносно контролю як в тканині донора, так і в тканині реципієнта на 1-3 добу дослідження.

При трансплантації черевної м'язової тканини на 3 добу дослідження відбувалося достовірно зменшення активності глутатіонпероксидази відносно контролю, як в тканині донора, так і в тканині реципієнта.

**Активність глутатіонпероксидази при трансплантації м'язової тканини,  
вилученої у щурів одного посліду (у.о./хв на мг білка)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина реципієнта	Стегнова м'язова тканина донора	Черевна м'язова тканина реципієнта	Черевна м'язова тканина донора
Контроль (без підсадки)	0,05±0,004	0,05±0,004	0,07±0,005	0,07±0,005
1 доба	0,01±0,002* p<0,01	0,02±0,006* p<0,05	0,09±0,015 p>0,05	0,05±0,012 p>0,05
3 доба	0,03±0,004* p<0,05	0,02±0,004* p<0,05	0,05±0,003 * p<0,05	0,02±0,006 * p<0,01**
7 доба	0,03±0,009 p>0,05	0,05±0,004 p=1	0,09±0,015 p>0,05	0,07±0,005 p=1

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю

\*\* P≤0,05 – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта

Якщо порівняти активність досліджуваного показника між тканинами донора та реципієнта, то достовірні зміни відбувалися лише в черевній м'язовій тканині донора на 3 добу дослідження і приблизно в 2 рази активність глутатіонпероксидази перевищувала в черевній м'язовій тканині реципієнта ( Рис. 5.19).

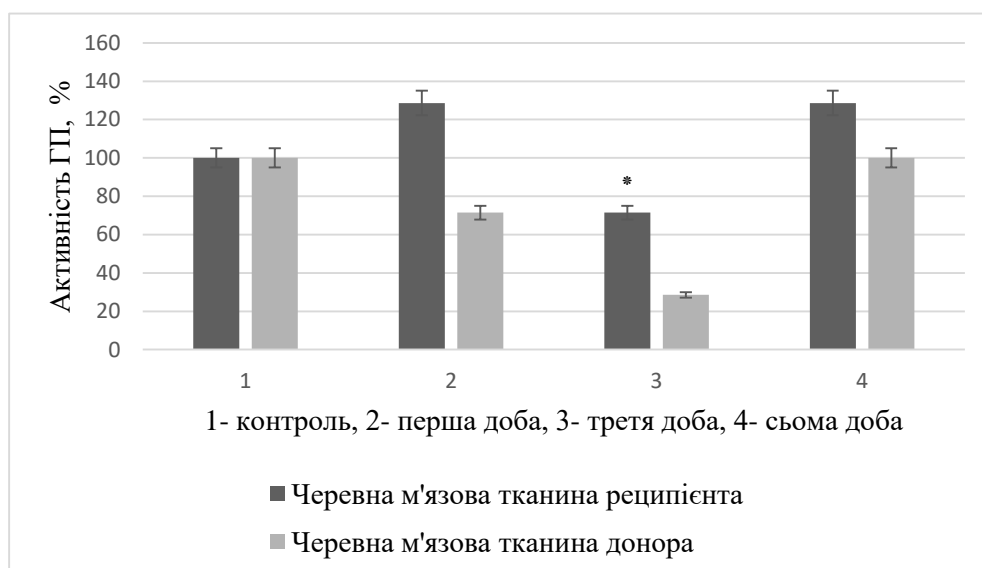


Рис. 5.19. Динаміка активності глутатіонпероксидази (%) між черевними м'язовими тканинами донора та реципієнта при трансплантації черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта.

В таблиці 5.12 приведені результати дослідження активності глутатіонпероксидази при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини. Слід відмітити достовірне збільшення досліджуваного показника, відносно контролю на 1-3 добу дослідження в стегновій м'язовій тканині ембріона в 1,5 та 2 рази. На сьому добу після алотрансплантації достовірних змін відносно контролю не спостерігалось як в тканині донора, так і в тканині реципієнта. В черевній м'язовій тканині дорослого щура на першу добу, після операції спостерігалось достовірне збільшення активності глутатіонпероксидази, відносно контролю майже в 1,5 рази та на 3 добу цей показник достовірно зменшувався ( в 1,4 рази), але к 7 добі знов повернувся майже до контрольного значення. В черевній м'язовій тканині ембріона активність глутатіонпероксидази складала  $0,02 \pm 0,003$  у.о./хв./мг білка та на першу добу дослідження зросла до  $0,05 \pm 0,008$  у.о./хв./мг білка, що свідчить про достовірне збільшення активності в 2,5 рази. На третю добу дослідження активність глутатіонпероксидази залишалась майже на тому ж рівні, як і на першу добу після алотрансплантації та складала  $0,05 \pm 0,002$  у.о./хв./мг білка. На сьому добу дослідження достовірних змін відносно контролю не спостерігалось як в черевній м'язовій тканині донора, так і в тканині реципієнта.

**Активність глутатіонпероксидази при алотрансплантації  
ембріональної м'язової тканини (у.о./хв на мг білка)**

Тканина Доба	Стегнова м'язова тканина дорослої тварини	Стегнова м'язова тканина ембріона	Черевна м'язова тканина дорослої тварини	Черевна м'язова тканина ембріона
Контроль (без підсадки)	0,05±0,004 **	0,01±0,001	0,07±0,005 **	0,02±0,003
1 доба	0,07±0,008 p<0,05**	0,03±0,004* p<0,05	0,10±0,009* p<0,05**	0,05±0,008* p<0,05
3 доба	0,05±0,008 p=1**	0,02±0,003* p<0,05	0,05±0,007 * p<0,05	0,05±0,002 * p<0,05
7 доба	0,04±0,006 p>0,05	0,02±0,007 p<0,05	0,07±0,010 p>0,05	0,05±0,014 p<0,05

Примітка: \*P≤0,05 – достовірно відносно контролю

\*\* P≤0,05 – достовірно між ембріональною та сформованою м'язовими тканинами

В наступній серії досліджень ми вирішили порівняти активність глутатіонпероксидази між стеговою м'язовою тканиною донора та реципієнта та між черевною м'язовою тканиною донора та реципієнта у всі терміни дослідження.

При порівнянні активності глутатіонпероксидази між м'язовими тканинами донора та реципієнта при алотрансплантації стегової м'язової тканини ембріона можна відмітити, що в контрольних показниках реципієнта активність глутатіонпероксидази в 5 разів перевищувала її активність в тканині донора ( Рис. 5.20). На першу добу дослідження також спостерігалось достовірне збільшення активності глутатіонпероксидази в тканині реципієнта (в 2 рази). Таке ж явище відбувалось і на третю добу дослідження. К сьомій добі достовірних змін активності глутатіонпероксидази між досліджуваними тканинами не спостерігалось.

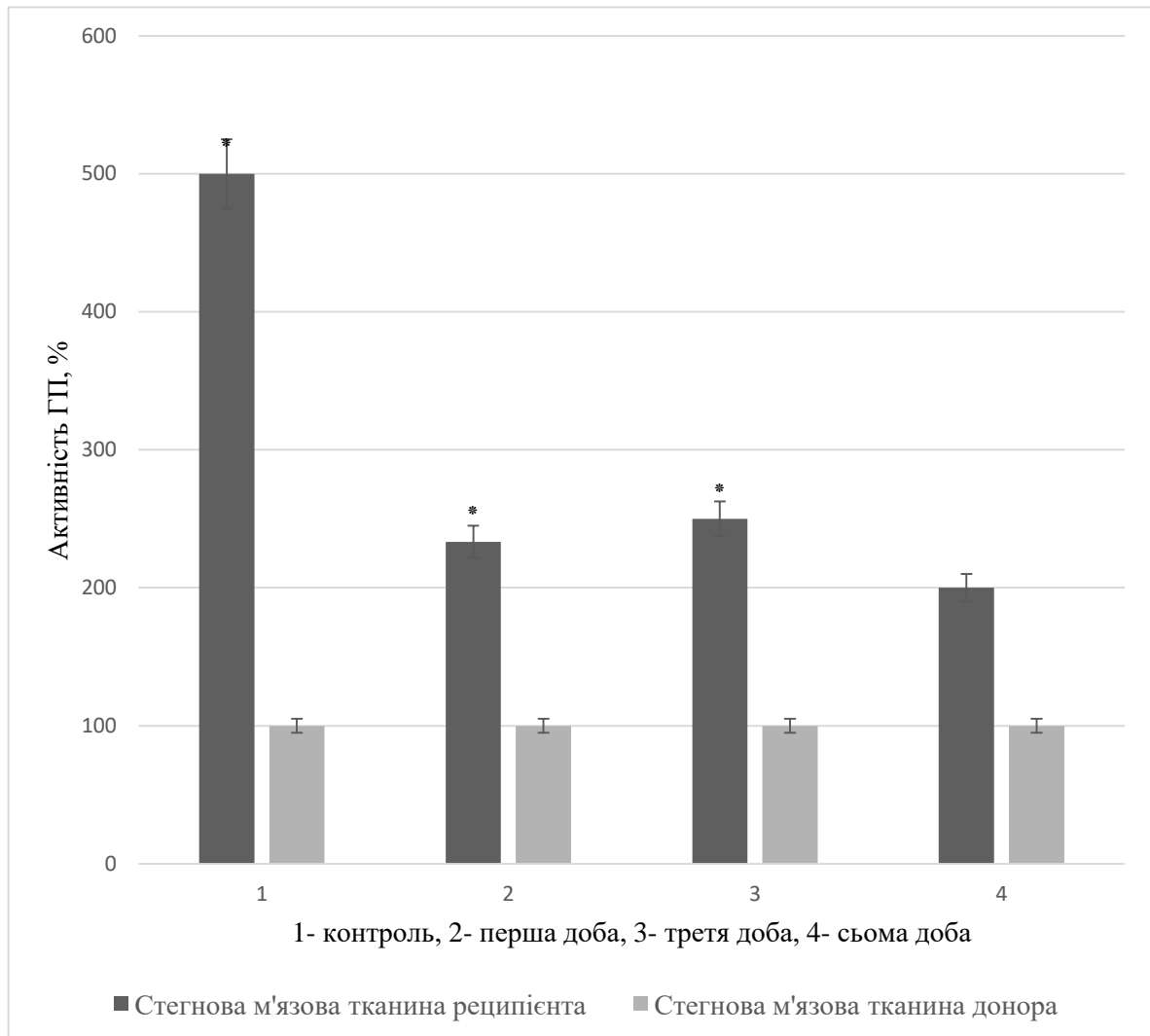


Рис. 5.20. Динаміка активності глутатіонпероксидази (%) в стегнових м'язових тканинах донора та реципієнта при алотрансплантації ембріональної стегнової м'язової тканини.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта.

Якщо порівняти активність глутатіонпероксидази між черевними м'язовими тканинами донора та реципієнта при алотрансплантації ембріональної тканини, то в контрольних показниках реєстрували достовірне перевищення активності в тканині донора (в 3,5 разів) (Рис. 5.21). На першу добу після алотрансплантації активність глутатіонпероксидази в тканині реципієнта в 2 рази перевищувала активність тканини донора. На третю та

сьому добу дослідження достовірних змін активності між донором та реципієнтом не спостерігалось.

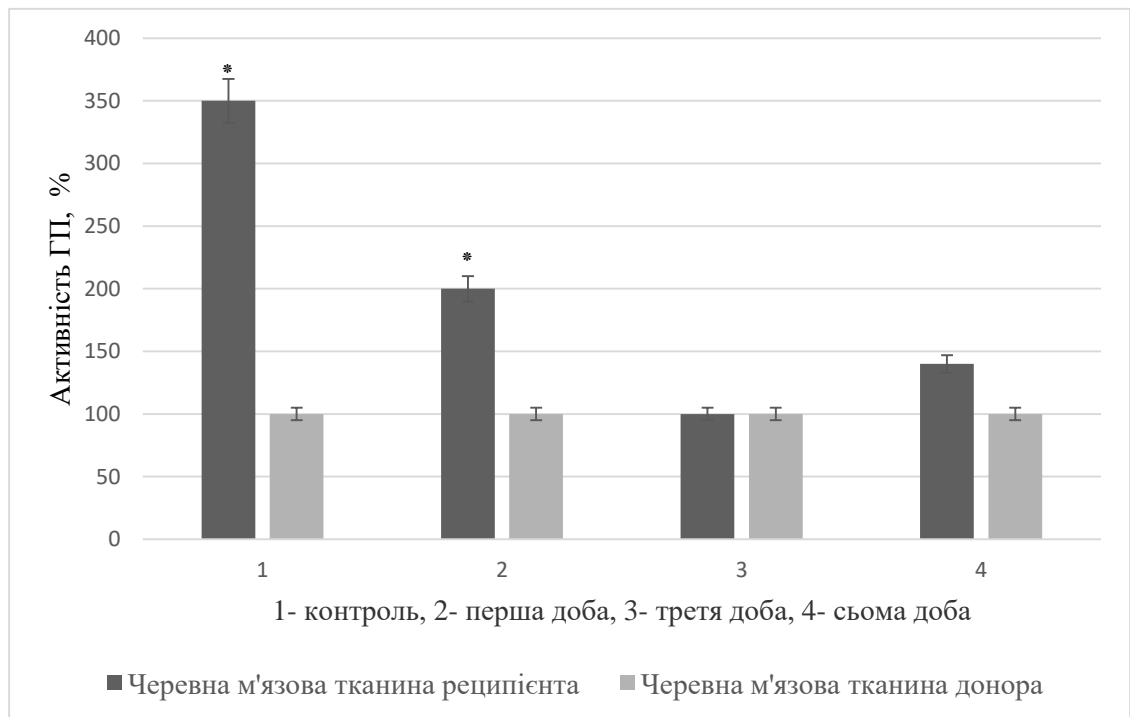


Рис.5.21. Динаміка активності глутатіонпероксидази (%) в м'язових тканинах донора та реципієнта при алотрансплантації ембріональної черевної м'язової тканини.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта.

Таким чином, на першу добу дослідження алотрансплантація стегнової ембріональної м'язової тканини впливала як фактор збереження активності глутатіонпероксидази на рівні контролю (Рис. 5.22). Про що свідчить те, що активність глутатіонпероксидази залишалась в межах контрольних значень, тоді як при удаваній збільшувалась, а при підсадці генетично спорідненої тканини знижувалась. На першу та третю добу дослідження встановлено, що лише трансплантація стегнової м'язової тканини призвела до зниження активності досліджуваного фермента відносно контролю. На третю та сьому добу дослідження отримані дані свідчать про те, що сама алотрансплантація не впливала на зміни активності глутатіонпероксидази в тканині реципієнта, про що свідчать отримані результати.

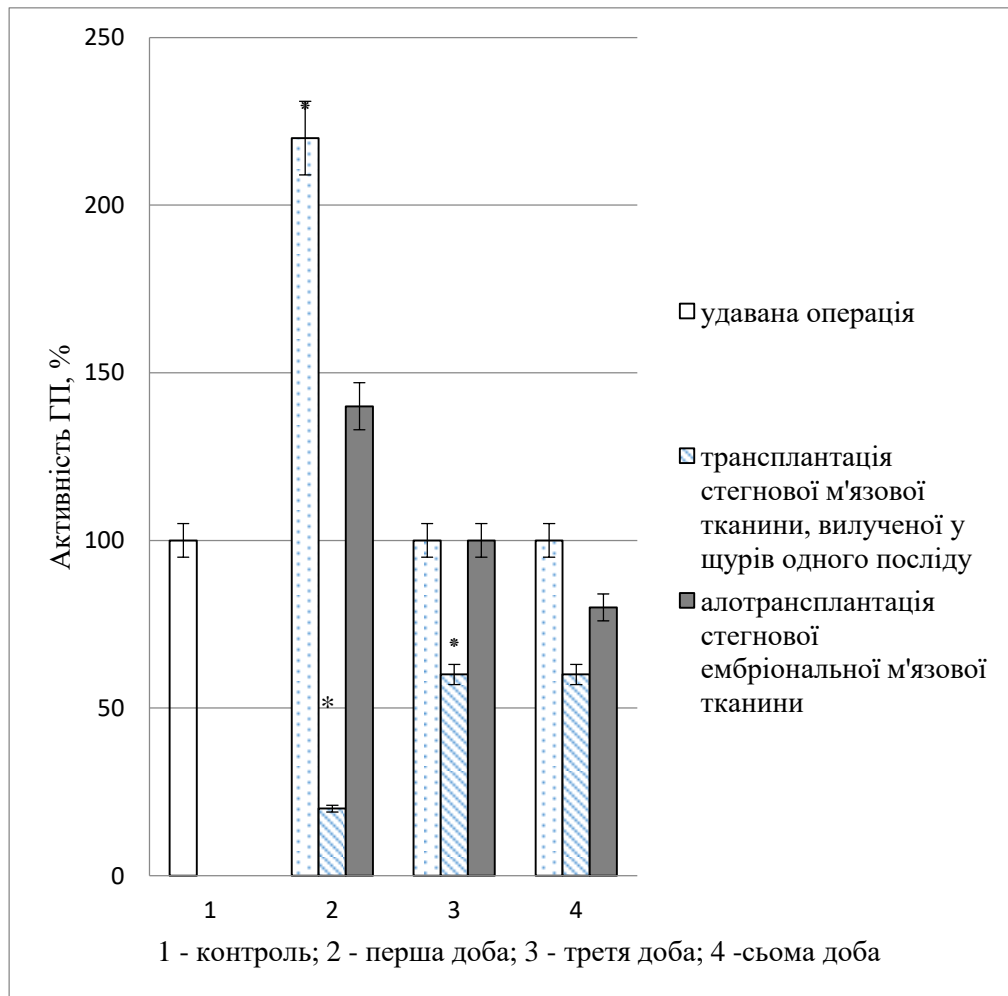


Рис.5.22. Порівняльна динаміка активності глутатіонпероксидази (%) в стегновій м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

Досліджуючи активність глутатіонпероксидази в черевній м'язовій тканині реципієнта на першу добу дослідження ми встановили, що не алотрансплантація призвела до збільшення активності досліджуваного ферменту, а саме хірургічне втручання (Рис. 5.23). На третю добу дослідження всі три види хірургічного втручання, які використані в даній роботі впливали майже однаково на активність глутатіонпероксидази в тканині реципієнта. К сьомій добі дослідження встановлено, що алотрансплантація черевної ембріональної м'язової тканини та трансплантація черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду впливали майже однаково на активність глутатіонпероксидази в тканині реципієнта, залишаючи її приблизно на рівні контрольного значення, тоді як



при удаваній операції активність глутатіонпероксидази достовірно знижувалась відносно контролю в черевній м'язовій тканині реципієнта.

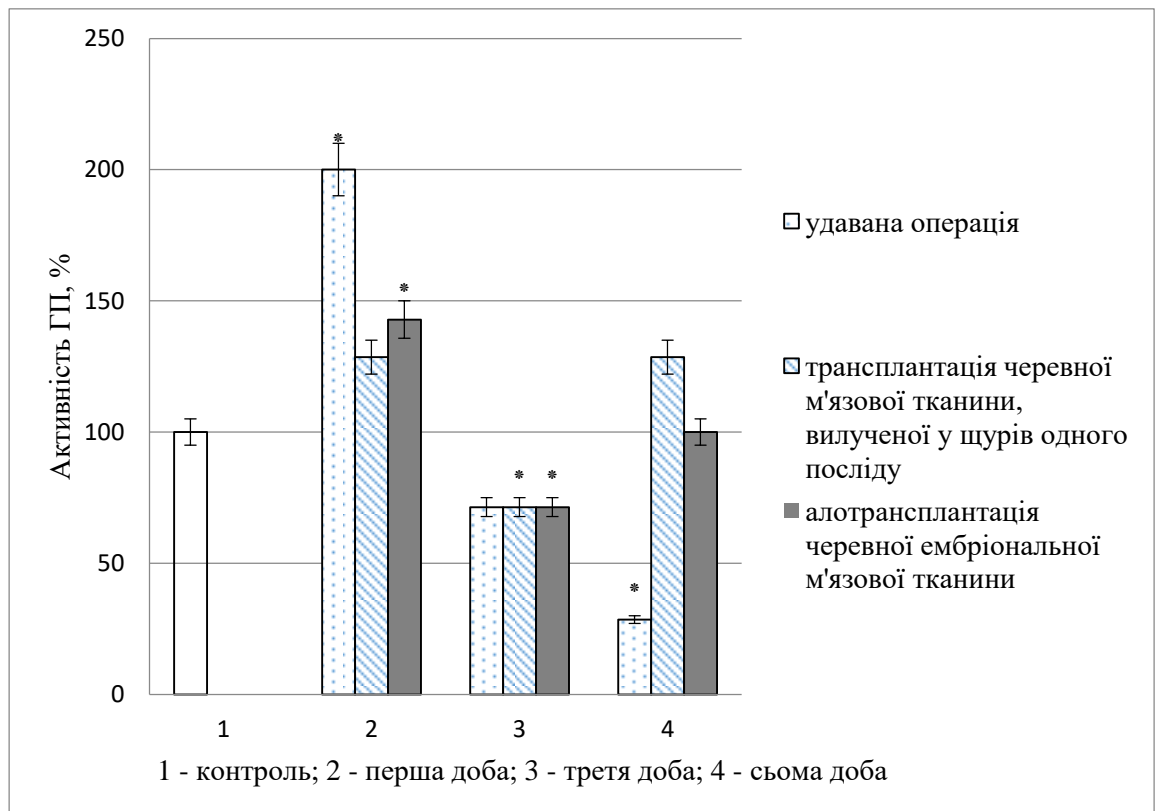


Рис. 5.23. Порівняльна динаміка активності глутатіонпероксидази (%) в черевній м'язовій тканині дорослого щура, після хірургічних втручань.

Примітка: \* $P \leq 0,05$  – достовірно відносно контролю

Таким чином, глутатіонова антипероксидазна система ефективно захищає клітини від оксидативного стресу, і звичайно тільки при її недостатності або виснаженні виникають серйозні проблеми [217]. Зрозуміло, що з точки зору небезпеки розвитку цілого ряду хронічних неінфекційних хвороб, що об'єднуються в групу вільнорадикальної патології, потрібно прагнути уникати не тільки виснаження глутатіону, а всього пулу біоантиоксидантів, що функціонують у складі фізіологічної антиоксидантної системи організму [152].

Таким чином, варіабельність показників глутатіонметаболізуючої системи в м'язових тканинах після хірургічних втручань, використаних в даній роботі може бути пов'язана зі змінами інтенсивності окисно –

відновних процесів і, відповідно, з утворенням активних форм кисню [Робота виконана автором самостійно та опублікована - список публікацій -2].

## АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

В останні десятиріччя в імунології, ембріології та трансплантології успішно розробляють методи трансплантації ембріональних тканин та клітин, які мають унікальні властивості, характерні тільки для клітин та тканин, що знаходяться на ранніх стадіях цитогенетичного розвитку [14, 15]. Терапія за допомогою ембріональних тканин включає в себе специфічні (замісні) та неспецифічні механізми, які ґрунтуються на модуляції процесів регенерації, репарації, проліферації та диференціювання і реалізуються на генетичному та епігеномному рівнях. Розкриття цих механізмів може бути вирішальною умовою для розробки нових методів терапії патологічних станів, пов'язаних із порушенням морфогенезу, і, насамперед, онкологічних захворювань [18, 19].

Алотрансплантація являє собою стресфактор для організму, в результаті чого відбувається окислення відновлених компонентів мембран наявних клітин, що веде до виникнення супероксидних аніонів. Стрес є одним з найбільш активно досліджуваних фізіологічних станів організму, який зачіпає всі рівні його організації, і, в першу чергу, клітинний. Велику увагу в сучасній фізіології клітин приділяється реакціям молекулярних систем, які забезпечують стійкість клітин і тканин до дії стрес-факторів [218]. Регенерація м'язів - це строго організований процес, при якому активовані міобласти реагують на зовнішні подразники, щоб розмножуватися, диференціюватися і зливатися з пошкодженими міофібрами. Одночасно пошкоджена тканина піддається запальній відповіді, і зв'язок між лейкоцитами і спектром диференційованих і недиференційованих м'язових клітин потрібний для правильного зцілення. Цей процес опосередковується цитокінами, чинниками зростання і простагландинами та аналіз цих сигнальних молекул, може бути ключем до позитивного маніпулювання регенерацією м'язів в майбутньому [219].

Особливу актуальність набувають біохімічні дослідження антиоксидантного захисту організму. Питання змін показників антиоксидантної системи в трансплантології м'язових тканин не з'ясовано. Оскільки  $O^{2-}$  має високу реакційну активність і може бути ініціатором низки вільнорадикальних

ланцюгових реакцій (у результаті яких утворюються токсичні сполуки), то клітини повинні мати ферментні системи, що захищають їх від пошкоджувальної дії реактивних форм кисню [список публікацій - 3].

Метою роботи було дослідити стан антиоксидантного захисту організму при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини, як в стегновій, так і в черевній м'язових тканинах донора та реципієнта.

Експериментальне дослідження виконане на 648 самцях дорослих білих нелінійних щурах, масою 180 – 250г.. В ході роботи було проведено 3 вида операційного втручання: 1 – алотрансплантація ембріональних м'язових тканин; 2 – трансплантація м'язових тканин, вилучених у щурів одного посліду; 3 – удавана операція. Трансплантацію м'язових тканин, вилучених у щурів одного посліду та удавану операцію проводили для порівняння впливу на стан антиоксидантного захисту саме алотрансплантації ембріональної м'язової тканини.

Зрив антиоксидантного захисту характеризується розвитком вільнорадикальних пошкоджень різних компонентів клітини і тканин, викликаючих синдром пероксидації та включає наступні зміни: пошкодження мембран; інактивацію або трансформацію ферментів; пригнічення поділу клітин; накопичення в клітині інертних продуктів полімеризації. Періодично повторюючийся синдром пероксидації стає фактором патогенезу ряду захворювань, що послужило приводом виділення їх у групу вільнорадикальних патологій [152, 220, 221].

Аналіз результатів свідчить, що на першу добу дослідження алотрансплантація стегнової м'язової тканини не впливає на рівень ТБК – активних продуктів в тканині реципієнта. На третю добу дослідження стверджувати, що саме алотрансплантація призвела до зниження рівня ТБК-активних продуктів в тканині реципієнта ми не можемо, тому що при удаваній операції його вміст також знижувався.

На сьому добу дослідження можна стверджувати, що саме алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призводить до

збереження рівня ТБК-активних продуктів на рівні контрольного показника, тому що удавана операція та трансплантація стегнової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду призвели до достовірного зниження вмісту ТБК-активних продуктів відносно контрольного значення.

Таким чином, на першу добу дослідження стверджувати, що алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводить до зменшення рівня ТБК-активних продуктів в тканині реципієнта не має сенсу, тому що при удаваній операції та при трансплантації черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду спостерігалась така ж сама тенденція. На третю добу дослідження алотрансплантація та удавана операція призвели до однакових змін вмісту ТБК-активних продуктів в тканині реципієнта, тоді як підсадка черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду, призвела до зсуву дослідженого показника до рівня контрольного значення. На сьому добу дослідження отримані дані свідчать про те, що саме хірургічне втручання призводить до зменшення рівня ТБК-активних продуктів в тканині реципієнта, тоді як алотрансплантація та трансплантація черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду, призводять до зсуву показника на рівень контрольного значення.

Визначено, що ЗОА виявляється лише к сьомій добі дослідження як при удаваній операції, так і при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини в усіх досліджуваних тканинах. ЗОА не визначається в досліджуваних тканинах при трансплантації м'язової тканини з одного посліду на всіх термінах дослідження. Підсадка генетично споріднених м'язових тканин не спричиняла виникненню ЗОА. Таким чином, алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призводила до виникнення ЗОА, як в тканині донора, так і в тканині реципієнта. ЗОА визначалась в стегновій м'язовій тканині дорослого щура і при удаваній операції на сьому добу дослідження, але приблизно в 3 рази нижче, ніж при алотрансплантації стегнової м'язової тканини ембріона.

Таким чином, встановлено, що отримані результати кількості ТБК-активних продуктів та загальної оксидантної активності при хірургічних втручаннях представляють собою окислювальний стрес.

Встановлено, що на першу добу дослідження алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона не призводить до достовірних змін загальної антиоксидантної активності в тканині реципієнта, тим саме залишає її приблизно на рівні контрольних значень. На третю добу дослідження алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призводить до достовірного зниження загальної антиоксидантної активності в тканині реципієнта, що може свідчити про зрив антиоксидантного захисту, який характеризується розвитком вільнорадикальних пошкоджень різних компонентів клітини і тканин. На сьому добу дослідження алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призводить до стабілізації загальної антиоксидантної активності, залишаючи її в межах контрольних значень.

Таким чином, при всіх хірургічних маніпуляціях, використаних в даній роботі, спостерігалась поява загальної антиоксидантної активності в черевній м'язовій тканині реципієнта, що свідчить про виникнення вільних радикалів в досліджуваних тканинах.

Розглянемо як реагує перша лінія антиоксидантного захисту. Встановлено, що на першу добу дослідження лише підсадка стегнової м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду призводить до достовірного зниження відносно контролю активності супероксиддисмутази в тканині реципієнта. На третю та сьому добу дослідження жодне з використаних хірургічних втручань не призвело до змін в активності супероксиддисмутази в стегновій м'язовій тканині реципієнта. На першу та третю добу дослідження отримані дані свідчать про те, що використані в даній роботі хірургічні втручання впливають однаково на активність супероксиддисмутази в черевній м'язовій тканині реципієнта. На сьому добу дослідження можна стверджувати, що саме алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводить до достовірного зниження активності супероксиддисмутази відносно контролю в

черевній м'язовій тканині реципієнта. Таке зниження активності супероксиддисмутази свідчить про зниження антиоксидантного захисту клітин в черевній м'язовій тканині реципієнта к сьомій добі після алотрансплантації. Зрив антиоксидантного захисту характеризується розвитком вільнорадикальних пошкоджень різних компонентів клітини і тканин, складаючих синдром пероксидації та включає наступні зміни: пошкодження мембран; інактивацію або трансформацію ферментів; придушення поділу клітин; накопичення в клітині інертних продуктів полімеризації. Синдром пероксидації є фактором патогенезу ряду захворювань, що послужило приводом виділення їх у групу вільнорадикальних патологій [152].

Отримані дані свідчать, що на першу добу дослідження алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона та трансплантація стегнової м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду призвели до підвищення активності каталази в тканині реципієнта. На третю добу дослідження алотрансплантація призводить до зниження активності каталази в тканині реципієнта. На сьому добу дослідження алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона призводить до утримання активності каталази на рівні контрольних значень.

Таким чином, на першу добу дослідження алотрансплантація ембріональної черевної м'язової тканини не призводить до змін активності каталази в тканині реципієнта та залишає її приблизно на рівні контрольних значень. На третю добу досліджень алотрансплантація не впливає на зміни в активності каталази в тканині реципієнта. На сьому добу дослідження алотрансплантація ембріональної черевної м'язової тканини тримає активність каталази в тканині реципієнта на рівні контрольних значень. Представлену картину можна розглядати, як реакцію організму, направлену на захист клітини від окисної деструкції.

Встановлено, що синтез відновленого глутатіону в досліджуваних ембріональних м'язових тканинах відбувається інтенсивніше, ніж в тканинах дорослих щурів, але алотрансплантація черевного м'язу ембріона призводить

до втрати цієї можливості в тканині ембріона. В черевній м'язовій тканині на першу та третю доби дослідження можна зробити висновок, що алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводить до збільшенні рівня відновленого глутатіону в тканині реципієнта. Тоді як при удаваній та підсадці черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду, рівень відновленого глутатіону зменшувався. На сьому добу дослідження отримані данні свідчать про те, що до збільшенню рівня відновленого глутатіону сприяє хірургічне втручання, а не алотрансплантація, тоді як підсадка черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду, призвела до зменшення його рівня.

Таким чином, на першу добу дослідження алотрансплантація стегнової ембріональної м'язової тканини призводить до зменшення рівня окисленого глутатіону. На третю добу дослідження збільшення рівня окисленого глутатіону є наслідком трансплантації стегнової м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду. На сьому добу дослідження як алотрансплантація ембріональної тканини, так і тканини, взятої у щурів з одного посліду, призвели до достовірного збільшення рівня окисленого глутатіону в тканині реципієнта. Алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводить до стабілізації рівня окисленого глутатіону в тканині реципієнта, в той час як при удаваній операції та підсадці генетично спорідненої тканини відбувається зростання його рівня.

Визначивши вміст відновленого та окисленого глутатіону в тканинах реципієнта при алотрансплантації ембріональної стегнової та черевної м'язових тканин, ми спостерігали збільшення їх кількості, що свідчить про виникнення окиснення SH-груп білка, при цьому відновлений глутатіон вступає в захист, перетворюючись в окислений. Алотрансплантація здатна нормалізувати активність глутатіонпероксидази в черевному м'язі щурів.

Отримані дані свідчать, що на першу добу дослідження алотрансплантація ембріональної стегнової м'язової тканини та трансплантація стегнової м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду призвели до того,



що активність глутатіонредуктази залишалась майже на рівні з контрольним показником, тоді як при удаваній операції зростала. На третю та сьому добу досліджень достовірних змін активності глутатіонредуктази встановлено не було при жодному хірургічному втручанні. Тому можна зробити висновок, що алотрансплантація ембріональної стегнової м'язової тканини не спричинила достовірної зміни активності глутатіонредуктази в тканині реципієнта. Встановлено, що алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона, трансплантація черевної м'язової тканини, вилученої у щурів одного посліду та удавана операція призводять до достовірного збільшення активності глутатіонредуктази в тканині реципієнта по відношенню до контролю в усі строки дослідження. Різниця є лише в ступені збільшення активності, тому стверджувати, що таким змінам сприяла саме алотрансплантація ембріональної тканини ми не можемо.

Визначено, що на першу добу дослідження алотрансплантація стегнової ембріональної м'язової тканини впливає як фактор збереження активності глутатіонпероксидази на рівні контролю. Про що свідчить те, що активність глутатіонпероксидази залишалась в межах контрольних значень, тоді як при удаваній операції збільшувалась, а при підсадці генетично спорідненої тканини знижувалась. На першу та третю добу дослідження встановлено, що лише трансплантація стегнової м'язової тканини призвела до зниження активності досліджуваного фермента. На третю та сьому добу дослідження отримані дані свідчать про те, що сама алотрансплантація не впливає на зміни активності глутатіонпероксидази в тканині реципієнта, про що свідчать отримані результати. Досліджуючи активність глутатіонпероксидази в черевній м'язовій тканині реципієнта на першу добу дослідження ми встановили, що не алотрансплантація призвела до збільшення активності досліджуваного ферменту. На третю добу дослідження всі три види хірургічного втручання, які використані в даній роботі сприяли майже однаково на активність глутатіонпероксидази в тканині реципієнта. К сьомій добі дослідження встановлено, що алотрансплантація черевної ембріональної

м'язової тканини та трансплантація черевної м'язової тканини здійснюють однаковий вплив на активність глутатіонпероксидази в тканині реципієнта, залишаючи її приблизно на рівні контрольного значення, тоді як при удаваній операції активність глутатіонпероксидази достовірно знижується в черевній м'язовій тканині реципієнта. Таким чином, варіабельність показників глутатіонметаболізуючої системи в м'язових тканинах після хірургічних втручань, використаних в даній роботі може бути пов'язана зі змінами інтенсивності окисно-відновних процесів і, відповідно, з утворенням активних форм кисню. З літератури відомо, що активні форми кисню генеруються в скелетних м'язах як під час загальної, так і скорочувальної активності. Міогенні клітини забезпечені антиоксидантними ферментами, такими як супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза та інші. Ці ферменти не лише нейтралізують надлишок АФК, але також впливають на міогенну регенерацію у декілька етапів: впливають на запальну реакцію після травми, підвищують життєздатність і проліферацію м'язових супутникових клітин і міобластів і впливають на їх диференціацію. Нарешті, антиоксидантні ферменти регулюють також процеси, супроводжуючі регенерацію м'язів - індукують ангиогенез і зменшують фіброз [222]

Окислювальний стрес може діяти вище по потоку від прозапальної сигналізації у мишей, і антиоксидантні методи лікування можуть використовуватися в терапії, щоб уникнути або відкласти м'язове виснаження при патологіях. Нещодавно були інтенсивно досліджені і проаналізовані патології у мишей з дефіцитом дистрофіна із застосуванням різних антиоксидантів [223-226]. Сприятливі ефекти при модуляції окислювального стресу також досягалися за допомогою низькорівневої лазерної терапії, яка зменшувала АФК і збільшувала активність антиоксидантних ферментів, таких як СОД, каталаза і ГП [227]. Крім того, вправа на витривалість з низькою інтенсивністю робить позитивний вплив на скелетний м'яз мишей. Його застосування зменшило карбоніли білків в м'язах і зменшило маркери окислювального стресу. Крім того, у мишей з м'язовою патологією після

тренування з низькою інтенсивністю рівень карбоангідрази 3 і СОД був повністю відновлений, що може свідчити про те, що цей вид лікування може протидіяти окислювальному стресу [228].

Стан антиоксидантного захисту в досліджуваних м'язових тканинах не стабільний при алотрансплантації, тому вважаємо доцільним рекомендувати оцінювати антиоксидантний стан в організмі хворого перед та після оперативного втручання.

Представлена наступна схема ілюструє вплив алотрансплантації ембріональної м'язової тканини на досліджувані нами показники антиоксидантної системи в тканині реципієнта.

**Загальна схема розвитку окисного стресу та антиоксидантного захисту організму при алотрансплантації м'язових тканин, за виключенням факторів хірургічного втручання та підсадки сформованої тканини**

	Стегновий м'яз			Черевний м'яз		
	1 доба	3 доба	7 доба	1 доба	3 доба	7 доба
ТБК-активні продукти	-	-	-	-	-	-
ЗОА	-	-	-	-	-	-
Супероксиддисмутаза	-	-	-	-	-	↓
Каталаза	-	↓	-	-	-	-
Окислений глутатіон	-	-	-	-	-	-
Відновлений глутатіон	↑	↑	-	↑	↑	-
Глутатіонпероксидаза	-	-	-	-	-	-
Глутатіонредуктаза	-	-	-	-	-	-

Примітка:

- не виявлено змін;

↑ призвела до збільшення;

↓ призвела до зменшення.

Таким чином, алотрансплантація ембріональної м'язової тканини впливає на антиоксидантний захист тканин на рівні відновленого глутатіону в ранні строки дослідження. На першу добу дослідження відбувалось збільшення рівня ВГ та МДА тільки в черевному м'язі. На 3 добу відбувалось збільшення рівня ВГ як в черевному, так і в стегновому м'язі. На 7 добу ніяких змін не зареєстровано.

ВГ є низкомолекулярною сполукою, якою багата ембріональна тканина та при алотрансплантації він можливо у вигляді ефірів дифундує до тканини реципієнта і тому спостерігається збільшення його вмісту

## ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі теоретично обґрунтовано та експериментально доведено, що на підставі оцінювання стану системи антиоксидантного захисту тканин реципієнта, серед використаних хірургічних втручань були встановлені переваги застосування саме алотрансплантації ембріональної м'язової тканини.

1. Встановлено, що рівень відновленого глутатіону при алотрансплантації стегнової та черевної м'язових тканин ембріона збільшувався в тканині реципієнта на ранніх післяопераційних термінах (1 та 3 доба). На рівень окисненого глутатіону алотрансплантація стегнової м'язової тканини ембріона не впливала, у той час як підсадка тканини призводила до зниження його рівня на першу добу та збільшення на сьому. Алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона не змінювала рівень окисненого глутатіону в тканині реципієнта.

2. Продемонстровано, що алотрансплантація черевної та стегнової м'язових тканин ембріона на відміну від хірургічних втручань не впливала на зміни рівня активності глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази.

3. Встановлено, що алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона призводила до зниження рівня активності супероксиддисмутази в тканині реципієнта на сьому добу дослідження, в той же час на першу та третю добу достовірних змін не було виявлено.

4. За алотрансплантації стегнової та черевної ембріональної м'язової тканини рівень активності каталази в тканинах дорослого щура не змінювався, тоді як при удаваній операції цей показник збільшувався на 7 добу дослідження. При трансплантації сформованої тканини рівень активності каталази на 1-3 добу збільшувався, а на сьому добу знижувалась, що можна розглядати як адаптивну реакцію при алотрансплантації ембріональної тканини.

5. В усіх досліджуваних тканинах виявлено підвищення загальної оксидантної активності лише на сьому добу дослідження як при удаваній операції, так і при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини.

6. Вперше встановлені зміни загальної антиоксидантної активності на третю добу дослідження після алотрансплантації стегнової м'язової тканини ембріона, свідчать про достовірне зниження в тканині реципієнта цього показника, що може бути пов'язано з посиленням активності системи антиоксидантного захисту, як відповідь на розвиток вільнорадикальних пошкоджень різних компонентів клітини і тканин.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аршавский И. А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития / Илья Аркадьевич Аршавский. – Москва: Наука, 1982. – 270 с.
2. Томилин А.Н. Генетическая модификация плюрипотентных стволовых клеток для безопасного использования в тканезаместительной терапии / А.Н. Томилин // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. - издательство Ин-т стволовых клеток. - М. – 2012. - том 7. - С. 49-50.
3. Махинько В.И. Обмен веществ и энергии в онтогенезе / В.И. Махинько, В.Н. Никитин // Возрастная физиология / Сер. руководство по физиологии. - Л. – Наука. - 1975. - С. 221 - 262.
4. Афанасьев Ю.И. Гистология, эмбриология, цитология : учебник / Ю. И. Афанасьев, Н. А. Юрина, Е. Ф. Котовский и др.. - 6-е изд., перераб. и доп. - 2012. - 800 с.
5. Грищенко В.И. Новые криобиологические технологии получения клеточных и тканевых фетоплецентарных трансплантатов и их использование в медицине / В.И Грищенко, Т.Н. Юрченко, О.С. Прокопюк // Трансплантология. – 2004. – №3. – С. 123–129.
6. Мазур Ю.І. Особливості імунної відповіді на трансплантацію ембріональних тканин / Ю.І. Мазур, Й.М. Федечко, Б.В. Дибас, О.Є. Мазур, М.П. Павловський // Клінічна хірургія. – 1995. - №12. – С.23 – 25.
7. Саркисов Д.С. Аллотрансплантация культивированных фибробластов на незаживающие раны после аутодермопластики / Д.С. Саркисов, Глущенко Е.В., Гуруков Ш.Р.// Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1991. – Т. 111, № 5. – С. 542-544.
8. Туманов В. П. Использование культивированных фибробластов при лечении ожоговых ран / В.П. Туманов, Е.В. Глущенко, С.С. Морозов, Д.С. Саркисов // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1990. – Т. 109, № 4. – С. 400-402.

9. Возіанов О. Ф. Клінічні випробування стовбурових клітин: початок регенеративної та відновної медицини / О. Ф. Возіанов, Г. В. Єльська, О. Л. Кухарчук // Здоров'я України. — 2008. — № 12 (193). — С 62-63.
10. Слюсарев А.А. Перспективы применения трансплантации культивированных тканей поджелудочной железы в восстановлении репродуктивной функции у женщин больных сахарным диабетом / А.А. Слюсарев, Е.А. Ракша-Слюсарева, В.З. Москаленко, А.А. Музалев, А.А. Алексенко // Клінічна хірургія. — 2003. — № 4-5. — С. 101.
11. Еринеев С.И. Порог чувствительности к эпилептиформному раздражителю при внутримозговой аллотрансплантации эмбриональной ткани различной эргичности / С.И. Еринеев, В.В. Семченко, Р.И. Генне, К.К. Маковецкий // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1993. — Т. 115. - № 1. — С. 71-74.
12. Локтев Н.И. и др. Применение эмбриопласта при лечении полостных дефектов челюстей / Н.И. Локтев // Реконструктивная хирургия челюстно-лицевой области. — Красноярск, 1989. — С. 60-69.
13. Tiboni G.M. Spatial distribution of glutathione, glutathione-related and antioxidant enzymes in cultured mouse embryos / G.M. Tiboni, T. Bucciarelli, F. Amicarelli // Archives of Toxicology. — 1997. — V. 72. - № 1. — P. 38-44.
14. Александрова М.А. Поведение трансплантированных эмбриональных клеток. / М.А. Александрова, Е.В. Лосева, И.В. Ермакова // Онтогенез. — 1993. — Т.24.- №5. — С. 43–50.
15. Мазур О.Е. Порівняльна характеристика процесів енергообміну та біосинтезу деяких ембріональних тканин і клітин / О.Е. Мазур // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. — 2000. — №4. — С. 44–47.
16. Мітін Ю.В. Перспективи трансплантації ембріональної нервової тканини при сенсоневральній приглухуватості / Ю.В. Мітін, В.Л. Дідковський // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. — 2006.- №2(3). — С. 5-7.



17. Репин В.С. Медицинская клеточная биология: новые фундаментальные и прикладные исследования / В.С. Репин // Трансплантация фетальных тканей и клеток человека. – М., 1996. – С. 19-27.
18. Родионов С.Ю. Опыт применения биологически активных соединений из фетальных тканей человека в лечении онкологических заболеваний / С.Ю. Родионов, К.П. Пляскин, Н.А. Пак, В.И. Масычева // Трансплантация фетальных тканей и клеток человека. – М., 1996. – С. 90-92.
19. Акимова И.М. Клиническое применение трансплантации эмбриональных зачатков мозга при заболевании эпилепсией / И. М. Акимова, Ф. А. Гурчин, Н. Ю. Королева, Л. А. Мелючева, Е. А. Тайц // Биомедицинский журнал. -2001. – том 2. – С. 41-46.
20. Скулачев В. П. Альтернативные функции клеточного дыхания / В.П. Скулачев //Соросовский образовательный журнал. – 1998.- № 8.- С.2-7.
21. Сапин М.Р. Анатомия и физиология человека с возрастными особенностями детского организма: учебник / М. Р. Сапин, В. И. Сивоглазов. - 5-е изд., перераб. - М. : Академия, 2005. - 384 с.
22. Репин В.С. Медицинская клеточная биология: новые фундаментальные и прикладные исследования / В.С. Репин // Трансплантация фетальных тканей и клеток человека. – М., 1996. – С. 19-27.
23. Тімен Г.Е. Сенсоневральна приглухуватість та стовбурові клітини // Г.Е. Тімен, І.І. Сапіжак, Л.А. Кудь // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. – 2016. - №2. – С. 76-87.
24. Станков Д.С. Нейротрансплантация в лечение травмы спинного мозга / Д.С. Станков, П.И. Катунян, Н.Е. Крашенинников // Вест, трансплант и искусств. Органов.-2003.-№1.-С.44-45.
25. Bjorklund A. Cholinergic reinnervation of the rat hippocampus by septal implants is stimulated by performant path lesion / A. Bjorklund, L.F. Kromer, V. Stenevi // Brain Kes.- 1998.-Vol.173. –P.57-64.

26. Gaillard A. Early commitment of individual brain neocortical cells to develop area-specific thalamic connections / A. Gaillard // *Roder.- Cereb. Cortex.* - 2000. - Vol.10. - P.443-453.
27. Барабой В.А. Перекисное окисление и стресс / В.А. Барабой, И.И. Брехман, В.Г. Голотин // Л.: Наука. Ленинград.-1992.-160с.
28. Лушак В.И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма / В.И. Лушак // *Биохимия.* - 2007. - Т.72, вып. 8. - С. 995 - 1017.
29. Денисов В.К., Голубова Т.С. Эффективность антитимоцитарного глобулина в профилактике и лечении отторжения после трансплантации почки. В.К. Денисов, Т.С. Голубова // *Трансплантология.* – 2004. – Т.7, № 3. – С.82–83.
30. Дроздович І.І. Гістоструктура ксенотрансплантата органної культури щитоподібної залози у тиреоїдектомованих щурів І.І. Дроздович, І.С. Турчин, І.І. Балла // *Трансплантология.* – 2004. – Т.6, № 2. – С.33–38.
31. Кухарчук А.Л., Радченко В.В., Сирман В.М. Стволовые клетки: эксперимент, теория, клиника / А.Л. Кухарчук, В.В. Радченко, В.М. Сирман – 2004. – 504 с.
32. Козлов В.А. Th1 и Th2-зависимые варианты хронической реакции трансплантат против хозяина / В.А. Козлов, О.Т. Кудаева, О.П. Колесникова, И.В. Сафронова, П.П. Лактинов, Е.Ю. Рыкова, Л.А. Обухова // *Иммунология.* – 2002. – № 3. – С.143–146.
33. Сирман В.М. Проблемные вопросы клеточной трансплантации // В.М. Сирман, Я.В. Сирман. *Трансплантология.* – 2004. – Т.7, № 3. – С.58–67.
34. Шумаков В.И. Гуморальное отторжение пересаженного сердца: корреляция уровней неоптерина с результатами иммуногистохимических исследований / В.И. Шумаков, М.Ш. Хубутя, О.П. Шевченко и др. // *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2003. – Т.1, № 1. – С.3–9.

35. Кухарчук А.Л. Стволовые клетки и регенеративно-пластическая медицина / А.Л. Кухарчук // Трансплантология. – 2004. – Т.7, № 3. – С.76–91.
36. Ройт А. Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл – 2000. – 582 с.
37. Спивак Н.Я. Интерферон и система мононуклеарных фагоцитов / Н.Я. Спивак, Л.Н. Лазаренко, О.Н. Михайленко. – 2002. – 163 с.
38. Ройт А. Основы иммунологии / А. Ройт. – 1991. – 327 с.
39. Сухих, Г.Т. Трансплантация фетальных клеток в медицине: настоящее и будущее / Г.Т. Сухих // Бюл. эксперим. биологии и медицины: сб. науч. тр. -М., 1998.-Т. 126.-Прил. 1.-С. 134-137.
40. Сухих, Г.Т. Нейральная стволовая клетка: биология и перспективы нейротрансплантации / Г.Т. Сухих, В.В. Малайцев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2001. - Т. 131, № 3. - С. 244-255.
41. Репин В.С. Эмбриональная стволовая клетка: от функциональных исследований в клинику / В.С. Репин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2001. - № 2. - С. 3-8.
42. Кухарчук А.Л. Реакция трансплантат против лейкоза, апоптоз и эмбриональные плюрипотентные прогениторные клетки / А.Л. Кухарчук, В.В. Радченко, В.М. Сирман // Трансплантология. – 2004. – Т.6, № 2. – С.25–32.
43. Сингер М. Гены и геномы / М. Сингер, П. Берг // М. – Мир. – 1998. – Т.1. – 373с.
44. Макаренкова В.П. Система дендритных клеток: роль в индукции иммунитета и в патогенезе инфекционных аутоиммунных и онкологических заболеваний / В.П. Макаренкова, Н.В. Дост, М.Р. Щурин // Иммунология. – 2002. – № 3. – С.68–75.
45. Родионов С.Ю. Опыт применения биологически активных соединений из фетальных тканей человека в лечении онкологических заболеваний / С.Ю. Родионов, К.П. Пляскин, Н.А. Пак, В.И. Масычева // Трансплантация фетальных тканей и клеток человека. – М.- 1996. – С. 90-92.

46. Дыбан А.П. Стволовые клетки в экспериментальной и клинической медицине / А.П. Дыбан, П.А. Дыбан // Мед.акад.журн. – 2002. – Т.2, № 3. – С.3–25.
47. Кухарчук А.Л. Эмбриональные плюрипотентные прогениторные клетки, иммунологическая толерантность, аутоиммунные заболевание и старение организма / А.Л. Кухарчук, В.В. Радченко, В.М. Сирман // Трансплантология. –2003. – Т.4, № 1. – С.225–228.
48. Садлер Т.В. Медична ембріологія за Лангманом / Томас В. Садлер. – 2001. – Львів.- Наутілус.- 518 с.
49. Вершигора А.Е. Основы иммунологии / А.Е. Вершигора. - К.: Вища школа; Издание 2-е, испр. и доп. – 1980. – 504 с.
50. Сухих Г.Т. Иммунологические аспекты трансплантации фетальных клеток / Г.Т. Сухих, И.М. Богданова, В.В. Малайцев // Бюл. эксперим. биол.и мед. – 1998. – Т.126. – Прил. 1. – С.178–181.
51. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function / W. Droge // *Physiol Rev.* - 2002; 82. - p. 47–95.
52. Barbieri E. Reactive oxygen species in skeletal muscle signaling / E. Barbieri, P. Sestili // *J Signal Transduct.* – 2012. –V. 2012. - PMC3235811.
53. Sakellariou GK. Redefining the major contributors to superoxide production in contracting skeletal muscle. The role of NAD(P)H oxidases / G.K. Sakellariou, M.J. Jackson, A. Vasilaki // *Free Radic Res.* - 2014;48. - p. 12–29.
54. Powers SK, Dua. rte J, Kavazis AN, Talbert EE. Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation / SK Powers, J Dua. rte, AN Kavazis, EE Talbert // *Exp Physiol.* 2010;95. – p. 1–9.
55. Powers SK. Reactive oxygen species: impact on skeletal muscle / SK Powers, LL Ji, AN Kavazis, MJ Jackson // *Compr Physiol.* - 2011;1. – p. 941–969.
56. Sakellariou GK. Studies of mitochondrial and nonmitochondrial sources implicate nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase(s) in the increased skeletal muscle superoxide generation that occurs during contractile activity / GK

Sakellariou, A Vasilaki, J Palomero, A Kayani, L Zibrik, A McArdle, MJ Jackson // *Antioxid Redox Signal.* - 2013;18.- p 603–621

57. Trachootham D. Redox regulation of cell survival / D Trachootham, W Lu, MA Ogasawara MA, RD Nilsa, P Huang // *Antioxid Redox Signal.* - 2008;10. – p. 1343–1374.

58. Барабой В.А. Окислительно - антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. Ч. 1 / В.А. Барабой, Д.А. Сутковой // Под ред. Ю. А. Зозули. - К.: Чернобыльин- теринформ, 1997. - 202 с.

59. Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов / В.А. Барабой // *Усп. соврем. биол.* – 1991.- Т. 111, вып.6.- С. 923 – 931.

60. Барабой В.А. Перекисное окисление и стресс / В.А. Барабой, И.И. Брехман, В.Г. Голотин и др. // Л.: Наука. Ленингр. отд.- 1992.- 160с.

61. Горизонтова П.Д. Гомеостаз / П.Д. Горизонтова // М. - Медицина. - 1976. – 464 с.

62. Бурлакова Е.Б. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты / Е.Б. Бурлакова, Н.Г. Храпова // *Успехи химии.* – 1985. – Т. LIV, вып. 9. – С. 1540-1558.

63. Почерняева В.Ф. Определение источников активных форм кислорода / О.И. Цебржинский, Н.В. Шиш // *Буковин. мед. вісник.* – 2005. – 9, №2. – С. 214 – 215.

64. Овсяннікова Л.М. Антиоксидантна система, окисна модифікація білків і ліпідів в розвитку порушень життєдіяльності у віддаленому періоді після Чорнобильської аварії / Л.М. Овсяннікова, А.А. Чумак, О.М. Коваленко та ін. // *Медичні наслідки аварії на Чорнобильській атомній електростанції.* - За ред. О. Ф. Возіанова, В. Г. Бебешка, Д. А. Базики. - К.: ДІА, 2007. - С. 422 – 436.

65. Котеров А.Н. Разнонаправленное изменение антиоксидантной активности в плазме (сыворотке) крови млекопитающих после воздействия

радиации в большой и малой дозе / А.Н. Котеров, Г.И. Сидорович // Радиационная биология. Радиозэкология. - 2009. - Т. 49, № 6. - С. 671 - 680.

66. Kao M. P. Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options / M. P. Kao, D.S. Ang, A. Pall, A.D. Struthers // J. Hum. S. Hypertens. – 2010. – Vol. 24(1). – P. 1–8

67. Descamps-Latscha B. Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy / B. Descamps-Latscha, T. Drueke, V. Witko-Sarsat // Semin. Dial. – 2001. – Vol. 14(3). – P. 193–199.

68. Finkel T. Oxidant signals and oxidative stress / T. Finkel // Current Opinion in Cell Biology. – 2003. – Vol. 15 (2) – P. 247–254.

69. Nathan C. Specificity of a third kind: reactive oxygen and nitrogen intermediates in cell signaling / Journal of Clinical Investigation. – 2003. – Vol. 111 (6). – P. 769–778.

70. Harman D. Free radicals, aging and degenerative disease / D. Harman // N.Y.: Liss. - 1986. - 150 p.

71. Мирзоев Э.Б. Интенсивность свободнорадикального перекисного окисления липидов, активность аденилатциклазы и проницаемость плазматической мембраны для ионов  $Ca^{2+}$  в клетках периферической крови овец, облученных в малых дозах / Э.Б. Мирзоев, В.О. Кобялко // - № 3. - С. 261 - 267.

72. Birben E. Oxidative stress and antioxidant defense / E. Birben, U.M. Sahiner, C. Sackesen // WAO J. – 2012. – № 5. – P. 9-19.

73. Овсяннікова Л. М. Стан перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в учасників ліквідації наслідків Чорнобильської катастрофи з хронічною ішемічною хворобою серця у віддалений період / Л.М. Овсяннікова, І.М. Хомазюк, О.М. Настіна, С.М. Альохіна // Український радіологічний журнал. - 2010. - Т. 18, № 4. - С. 432 - 438.

74. Mak J.C.W. Pathogenesis of COPD. Part II. Oxidative antioxidative imbalance / J.C.W. Mak // *CInt. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2008. – Vol. 12, № 4. – P. 368-374.
75. Сутковий Д.А. Зміни прооксидантного та антиоксидантного гомеостазу в мозку та крові ссавців при дії малих доз радіації. Хронічний вплив малих доз опромінення на нервову систему / Д.А. Сутковий // *Експериментальні дослідження та клінічні спостереження* / За ред. Ю. П. Зозулі. - К. - 1998. - С. 37 - 79.
76. Childs R.E. The steady state kinetics of peroxidase with 2,2'-azino-di-(3-ethyl-benzthiazoline-6-sulfonic acid) as chromogen / R.E. Childs, W.G. Bardsley // *Biochem. J.* - 1975. N145. - p. 93–103.
77. Sanchez-Moreno C. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols / C. Sanchez-Moreno, J.A. Larrauri, F.A. Saura-Calixto // *J. Sci. Food Agric.* - 1998. N76. - p. 270–276.
78. Miller N.J. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates / N.J. Miller, C.A. Rice-Evans, M.J. Davies, V. Gopinathan, A. Milner // *Clin. Sci.* 1993. - № 84. - P. 407-412.
79. Pandey R. Oxidative/Nitrosative Stress and the Pathobiology of Chronic Obstructive Pulmonary Disease / R. Pandey, U. Singhal, K.B. Gupta et al. // *J. of Clin. and Diagn. Res.* – 2013. – Vol. 7, № 3. – P. 580-588.
80. Ланкин В.З. Свободнорадикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы / В.З. Ланкин, А.К. Тихадзе, Ю.Н. Беленков // *Кардиология.* - том 40, №7. – 2000. - с. 48-61.
81. Ланкин В.З. Перекиси липидов и атеросклероз. Гипотеза: роль холестерина и свободнорадикального окисления липидов в изменении свойств клеточных мембран при гиперхолестеринемии и атеросклерозе / В.З. Ланкин // *Кардиология.* – 1980. -20, № 8. – С. 42 – 47.

82. Каценович Э.Р. Интенсивность свободнорадикального окисления и жирнокислотный состав липидов крови у больных ишемической болезнью сердца / Э.Р. Каценович, С.Д. Гусакова, У.К. Ибрагимов, Ю.Л. Лукин // Кардиология. – 1982. – 22, № 3. – С. 76 – 79.
83. Волкова Л.П. Динамика липоперекисей и свободных жирных кислот у больных острым инфарктом миокарда / Л.П. Волкова, М.И. Бондаренко, Н.Ф. Северин // Врачеб. дело. – 1981. - № 12. – С. 35 – 38.
84. Белкина Л.М. Влияние предварительного введения синтетического антиоксиданта ионола на сократительную функцию сердца при транзиторной ишемии и реперфузии / Л.М. Белкина, Г.И. Марковская, Ф.З. Меерсон // Кардиология. – 1982. – 22, № 8. – С. 103 – 106.
85. Ланкин В.З. Исследование антиоксидантных свойств цитопротекторного препарата триметазидина / В.З. Ланкин, А.К. Тихадзе, Е.А. Жарова, Ю.Н. Беленков // Кардиология. - том 41. №3. - 2001. - С.21-28.
86. Goldin LR. Familial risk of lymphoproliferative tumors in families of patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the Swedish Family-Cancer Database / L.R. Goldin, R.M. Pfeiffer, X Li, K. Hemminki // Blood. – 2004. – Vol. 104. – P. 1850–1854.
87. Кулинский В. И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита / В.И. Кулинский // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – Т. 1. – №. 38. – С. 2.
88. Нагорная Н. В. Оксидативный стресс: влияние на организм человека, методы оценки / Н.В. Нагорная, Н.А. Четверик // Здоровье ребенка. – 2010. – №. 2. – С. 23.
89. Urso M.L. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation / M.L. Urso, P.M. Clarkson // Toxicology. 2003; 189: P. 41–54.
90. Kanter M.M. Free radicals, exercise, and antioxidant supplementation / M.M. Kanter // International journal of sport nutrition. – 1994. - 4. - P. 205–220.



91. Finkel T. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing / T. Finkel, NJ. Holbrook // *Nature*. – 2000. – 408. – P. 239–247.
92. Chatgililoglu C. Trans lipids: the free radical path / C. Chatgililoglu, C. Ferreri // *Accounts Chemical Research*. – 2005. - 38(6). – P. 441–448.
93. Melchiorre M. Lipid markers of geometrical radical stress: synthesis of mono-trans cholesteryl esters isomers and detection in human plasma / M. Melchiorre, A. Torreggiani, C. Chatgililoglu, C. Ferreri // *Journal of the American Chemical Society*. – 2011. - 133(38). – P. 15184–15190.
94. Джазаэрли М.С. Особенности формирования оксидативного стресса в печени крыс с гипотериозом при интенсивной физической нагрузке в зависимости от возраста животных / М.С. Джазаэрли, В.В. Давыдов // *Укр. биохим. журн.* – 2006.- Т. 78, № 5. – С. 132 – 138.
95. Кения М.В. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе / М.В. Кения, А.И. Лукаш, Е.П. Гуськов // *Успехи соврем. биологии*. – 1993. – Т. 113, вып.4. – С. 456 – 470.
96. Козлов Ю.П. Свободнорадикальное окисление липидов в биомембранах в норме и при патологии / Ю.П. Козлов // *Биоантиокислители*. – М.: Наука, 1975. – С. 5 – 13.
97. Зоров Д.Б. Активные формы кислорода и азота (Обзор) / Д.Б. Зоров, С.Ю. Банникова, В.В. Белоусов, М.Ю. Высоких, Л.Д. Зорова и др. // *Биохимия*. – 2005. – Т. 70, вып. 2. – С. 265 – 272.
98. Livingstone D.R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms / D.R. Livingstone // *Mar. Pollut. Bull.* – 2001. – Vol. 42, № 8. – P. 656 -666.
99. Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии / Ю.А. Владимиров // *Биохимия*. - 2004.- Т. 69, вып. 1. – С. 5 – 7.

100. Лушак В.И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма / В.И. Лушак // Биохимия. – 2007. – Т. 72, вып. 8. – С. 995 – 1017.
101. Соколовский В.В. Окислительно – восстановительные процессы в биохимическом механизме неспецифической реакции организма на действие экстремальных факторов внешней среды / В.В. Соколовский // Антиоксиданты и адаптация. – М.- 1984. – С. 5 – 19.
102. Храпова Н.Г. Жидкофазное окисление органических веществ и ингибиторы радикальных реакций / Н.Г. Храпова // Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения. Сборник докладов. Москва, Россия, 14 – 15 сентября 2004г. / Под общей ред. проф. Е.Б. Бурлаковой. – М.: Изд-во РУДН. - 2005. – С. 7 – 22.
103. Козлов Ю.П. Свободнорадикальное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.П. Козлов, В.С. Данилов, М.В. Ситковский. – М.: Изд. МГУ. - 1972. – 88 с.
104. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков / Е.Е.Дубинина, И.В. Шугалей // Успехи соврем. биологии. – 1993. – Т. 113, вып. 1. – С. 71 – 81.
105. Соколовский В.В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальные воздействия (обзор) / В.В. Соколовский // Вопр. мед. химии.- 1988. - №6. – С. 2 – 11.
106. Лукьянова Л.Д.. Кислородзависимые процессы в клетке и её функциональное состояние / Л.Д. Лукьянова, Б.С. Балмуханов, А.Т. Уголев. – М.: Наука, 1982. – 301 с.
107. Зенков Н.К. Активированные кислородные метаболиты в биологических системах / Н.К. Зенков, Е.Б. Меньшикова // Успехи соврем. биологии. – 1993. – Т. 113, вып. 3. – С. 286 – 296.

108. Дубинина Е.Е. Биологическая роль супероксидного анион-радикала и супероксиддисмутазы в тканях организма / Е.Е. Дубинина // Успехи соврем. биологии. – 1989. – Т. 108, вып. 1(4). – С. 3 – 18.
109. Barbieri E, Sestili P Reactive oxygen species in skeletal muscle signaling / E. Barbieri, P. Sestili // J Signal Transduct. - 2012:982794.
110. Ji LL. Antioxidant signaling in skeletal muscle: a brief review / L.L. Ji // Exp Gerontol/ - 2007. – 42. – P. 582–593.
111. Trachootham D. Redox regulation of cell survival / D. Trachootham, W. Lu, M.A. Ogasawara, R.D. Nilsa, P. Huang // Antioxid Redox. – 2007. - Signal10. – P. 1343–1374.
112. Powers SK. Reactive oxygen species: impact on skeletal muscle / S.K. Powers, L.L. Ji, A.N. Kavazis, M.J. Jackson // Compr Physiol. – 2011. -1. P. 941–969.
113. Yin H. Satellite cells and the muscle stem cell niche / H. Yin, F. Price, M.A. Rudnicki // Physiol Rev. – 2013. – 93. – P. 23–67.
114. Bentzinger CF. Cellular dynamics in the muscle satellite cell niche / C.F. Bentzinger, Y.X. Wang, N.A. Dumont, M.A. Rudnicki // EMBO Rep. – 2013. – 14. – P. 1062–1072.
115. Saclier M. Monocyte/macrophage interactions with myogenic precursor cells during skeletal muscle regeneration / M. Saclier, S. Cuvellier, M. Magnan, R. Mounier, B. Chazaud // FEBS J. – 280. – P. 4118–4130.
116. Singh S. Cytoglobin modulates myogenic progenitor cell viability and muscle regeneration / S. Singh, D.C. Canseco, S.M. Manda, J.M. Shelton, R.R. Chirumamilla, S.C. Goetsch, Q. Ye, R.D. Gerard, J.W. Schneider, J.A. Richardson, B.A. Rothermel, P.P. Mammen // Proc Natl Acad Sci USA. – 2014. – 111. – P. 129–138.
117. Gierer P. Ebselen reduces inflammation and microvascular perfusion failure after blunt skeletal muscle injury of the rat / P. Gierer, J. Rother, T. Mittlmeier, G. Gradl, B. Vollmar // J Trauma. – 2010. – 68. – P. 853–858.

118. Ghaly A, Marsh DR (2010) Aging-associated oxidative stress modulates the acute inflammatory response in skeletal muscle after contusion injury / A. Ghaly, D.R. Marsh // *Exp Gerontol.* – 2010. – 45. – P. 381–388.
119. West A.P. TLR signalling augments macrophage bactericidal activity through mitochondrial ROS / A.P. West, I.E. Brodsky, C. Rahner, D.K. Woo, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, M.C. Walsh, Y. Choi, G.S. Shadel // *Ghosh S Nature.* – 2011. – 472. – P. 476–480.
120. Булякова Н.В. Морфофункциональные особенности тимуса и мышечных регенератов при воздействии лазерного излучения и аллопластики мышечной ткани взрослого животного в область мышечной травмы / Н.В. Булякова, В.С. Азарова // *Известия ФАН. Серия биологическая.* - 2009. - № 1. - С. 18-26.
121. Лебедева А.И. Регенерация скелетной мышечной ткани экспериментальных животных, индуцированная биоматериалом Аллоплант / А.И. Лебедева, С.А. Муслимов, Л.А. Мусина, Д.А. Щербаков. *International Journal of experimental education.* №3.- 2014.-С. 68-71.
122. Тесевич Л. И., Барьяш В.В. Пластическое возмещение дефектов и деформаций челюстно-лицевой области свободной пересадкой тканей / Л.И. Тесевич, В.В. Барьяш // *Учеб.-метод. Пособие.* – Минск : БГМУ.- 2010. – 63 с.
123. Литтманн И. Оперативная хирургия / И.Литтманн // *Издательство академии наук Венгрии. Будапешт.* - 1985. – С. 1055-1056.
124. Бурых М. П. Общие технологии хирургических операций / М.П. Бурых // *Ростов н/Д.* - 1999. - 544 с.
125. Бойчев Б. Оперативная ортопедия и травматология / Б. Бойчев // *Государственное издательство «Медицина и физкультура».* София. - 1961. – С. 55-56.
126. Лужников Е.А. Детоксикационная терапия / Е.А. Лужников, Ю.С. Гольдфарб, С.Г. Мусселнус // *СПб.: Лань.* - 2000 – 192 с.

127. Лужников Е.А.. Критические расстройства гомеостаза при острых отравлениях / Е.А. Лужников, В.Н. Дагаев // Сб, науч. тр., Моек, НИИ скорой помощи. – 1988, - Т, 74. С. 5 – 14.
128. Верболович В. П. Определение активности глутатионредуктазы и супероксиддисмутазы на биохимическом автоанализаторе / В.П. Верболович, Л.М. Подгорная // Лаб. дело — 1987. — № 2. — С. 17–20.
129. Переслегина И.А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей / И.А. Переслегина // Лабораторное дело. - № 11. - 1989. - С. 20 – 23.
130. Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А.М. Горячковский // Издание 3-е, исправленное и дополненное. – Одесса «Экология». - 2005.- 616 с.
131. Akerboom T.P. Assay for glutathione and glutathione mixed disulfides in biological samples / T.P. Akerboom, H. Sies // Methods Enzymol. – 1981.–Vol.77. – P. 373–382.
132. Северин Е.С. Определение числа сульфгидрильных групп с помощью реактива Элмана / Е.С. Северин // Практикум по биохимии. – М. – 1989. –С. 160–161.
133. Благородов С.В. Биоантиоксидант / С.В. Благородов, А.П. Шепелев // Тезисы 2-й Всесоюзной конференции. – М. - 1985. – Т. 1. – С. 28 – 29.
134. Бышевский А.Ш. Биохимия для врача / А.Ш. Бышевский, О.А. Терсенов // Екатеринбург: Уральский рабочий. - 1994. – 384 с.
135. Галлер Г. Нарушения липидного обмена: диагностика, клиника, терапия / Г. Галлер, М Ганефельд, В. Яросс // М.: Медицина, 1976. – 327 с.
136. Орехович В.Н. Современные методы в биохимии / В.Н. Орехович // Москва. – 1977. – 392 с.
137. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.I. Rosenbrough, A.Z. Fan [et. al] // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193. – P. 265–275.

138. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика / Изд. 3-е М.- 1973.- 320с.
139. Грищенко В.И. Новые криобиологические технологии получения клеточных и тканевых фетоплацентарных трансплантатов и их использование в медицине / В.И. Грищенко, Т.Н. Юрченко, О.С. Прокопюк // Трансплантология. – 2004. - № 3. – С. 123-129.
140. Мазур О. Є. Дослідження активності гліколізу в ембріональних трансплантатах після алотрансплантації зрілому реципієнту / Щ.Є. Мазур // Медична хімія. – 2005. - № 3. – С. 81-84.
141. Велика А.Я. Зміни показників тіобарбітурат-реакційних продуктів у крові щурів за умов сольового навантаження на фоні сулемової нефропатії / А.Я. Велика // Вісник проблем біології і медицини. - 2012. - Вип. 2. - том 2 (93). – С. 60-62.
142. Лихацький П. Г. Порівняльний аналіз активності вільнорадикальних процесів у тканинах щурів різного віку за умов нітритної інтоксикації / П.Г. Лихацький, Л.С. Фіра, І.І. Медвідь, О.І. Грималюк // Український біофармацевтичний журнал. – 2012. - № 5-6. – С. 20-25.
143. Cristofori L. Early onset of lipid peroxidation after human traumatic brain injury: a fatal limitation for the free radical scavenger pharmacological therapy / L. Cristofori, B. Tavazzi, R. Gambin et al. // J. Invest. Med. – 2001. - V.49. - №5. – P. 450–458.
144. Казимирко В.К. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / В.К. Казимирко, В.И. Мальцев, В.Ю. Бутылин, Н.И. Горобец // К.: Морион. - 2004. — 160 с.
145. Кольман Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.Г. Рем // Пер. с нем. — М., Мир. - 2000. - 469 с.
146. Cristofori L. Early onset of lipid peroxidation after human traumatic brain injury: a fatal limitation for the free radical scavenger pharmacological therapy / L. Cristofori, B. Tavazzi, R. Gambin et al. // J. Invest. Med. — 2001. — V.49, N5. — P.450–458.

147. Wang J. The phasic and regional variation of lipid peroxidation after diffuse brain injury in rats / J. Wang // *Hunan Yi Ke, Da Xue Bao.* — 1999. — V.24, №2. — P. 189–191.
148. Лабори А. Регуляция обменных процессов/ А. Лабори // М.- 1970. – 325 с.
149. Арутюнян А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма / А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Жибина - С.Пб.: ИКС "Фолиант". - 2000. - 200 с.
150. Ляхович В.В. Активированные кислородные метаболиты в монооксигеназных реакциях / В.В. Ляхович, В.А. Вавилин, Н.К. Зенков // *Бюллетень СО РАМН.* -2005.- 118, №4. -С. 7-12.
151. Гончарук Є. Г. Вільнорадикальне окислення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля / Є.Г. Гончарук, М.М. Коршун // *Журнал АМН України.* – 2004. – Т. 10, № 1. – С. 131–150.
152. Лановенко И.И. Глутатион и оксидативный стресс/ И.И. Лановенко, А.С. Тимченко, Т.Н. Цугорка // *Гематология і переливання крові.* – Выпуск 36. – 2012. – С. 138-148,
153. Pincemail J. Defraigne Mecanismes physiologiques de la defense antioxydante / J. Pincemail, K. Bonjegur, K. Cayeux, J. O. Defraigne // *Nutr. clin. et metab.* – 2002. – Vol. 16, № 4. – P. 233–239.
154. Janero D. R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury / D.R. Janero // *Free Radical Biology and Medicine.* – 1990. – Т. 9. – №. 6. – P. 515-540.
155. Davies K.J. Protein damage and degradation by oxygen radicals. Modification of secondary and tertiary structure / K.J. Davies, M.E. Delsignore / *J. Biol. Chem.*- 1987.- Vol. 262, № 17. - P. 9908 – 9913.

156. Re R. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay / R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans // *Free Rad. Biol. Med.* - 1999. - №26. - P. 1231–1237.
157. Кузиева Г.З. Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у больных острым миелобластным лейкозом с токсическим поражением печени / Г.З. Кузиева, Н.М. Холматова, Л.И. Шевченко // *Лікарська справа. Врачебное дело.* – 2009. – № 1–2. – С. 55–58.
158. Тучак О.І. Зміни вільнорадикального окиснення ліпідів, активності антиоксидантної системи, вмісту оксиду азоту при йододефіцитному гіпотиреозі / О.І. Тучак., Н.М. Воронич-Семченко // *Фізіологічний журнал.* – 2008. – Т. 54, № 1. – С. 54–57.
159. Kontush A. Antioxidant and prooxidant activity of  $\alpha$ -tocopherol in human plasma and low density lipoprotein / A. Kontush, B Finckh, B Karten, A Kohlsch'utter , U. Beisiegel // *J Lipid Res.* – 1996.-37. – P. 1436–1448.
160. Niki E. Antioxidants: Basic Principles, Emerging Concepts and Problems / E. Niki // *Biomed J.* – 2014/ - 37. – P. 106–111.
161. Warner DS. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain / D.S. Warner, H. Sheng, I. Batinic'-Haberle // *J Exp Biol.* – 2004. – 207. – P. 3221–3231.
162. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М.:Наука. – 1972. – 235 с.
163. Зентов Н.К. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты / Н.К. Зентов, В.З Ланкин, Е.Б. Меньщикова // М.- Наука. -2001. – 340 с.
164. Sheng Y. Superoxide Dismutases and Superoxide Reductases. / Y. Sheng, I.A. Abreu, D.E. Cabelli, M.J. Maroney, A. Miller, M. Teixeira, J.S. Valentine // *Chem Rev.* – 2014. – 114/ - P. 3854–3918.
165. Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors / K. Rahman // *Clin Interv Aging.* – 2007. – 2. – P. 219–36.



166. Yang H. Retardation of atherosclerosis by overexpression of catalase or both Cu/Zn-superoxide dismutase and catalase in mice lacking apolipoprotein E / H. Yang, L.J. Roberts, M.J. Shi, L.C. Zhou, B.R. Ballard, A. Richardson, Z.M. Guo // *Circ Res.*- 2004. – 95. – P. 1075–1081.
167. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // *Лабораторное дело.* – 1985. – № 11. – С. 678–681.
168. Березов Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин // *Учебник.* – М.: Медицина. - 1998. – 704 с.
169. Wang C.C. Trolox equivalent antioxidant capacity assay versus oxygen radical absorbance capacity assay in plasma / C.C.Wang, C.Y. Chu, K.O. Chy, K.W. Choy, K.S. Khaw, M.S. Rogers, C.P. Pang // *Clin. Chem.*- 2004. - N50. - P. 952–954.
170. Singleton V.L. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent / V.L. Singleton, J.A. Rossi // *Am. J. Enol. Vitic.* - 1965. - №16. - P. 144–158.
171. Eds Bannister W.H. The significance of superoxide and superoxide dismutase / W.H. Eds Bannister, J.V. Bannister // *Biological and clinical aspects.* - N.Y. – Amsterdam – London Elsevier. - 1981. - 414 p.
172. Yamakura F. Post-translational modifications of superoxide dismutase / F. Yamakura, H. Kawasaki // *Biochim Biophys Acta.* – 2010. – 1804. – P. 318–325.
173. Whittaker JW. Metal uptake by manganese superoxide dismutase / J.W. Whitt // *Biochim Biophys Acta.* – 2010. – 1804. – P. 298–307.
174. Фридович И.В. Свободные радикалы в биологии / И.В. Фридович // *М.-Мир.* – 1979. – С. 273 – 314.
175. Fee J.A. Teitelbaum D. *Biochem. and Biophys* / J.A. Fee // *Res. Commun.* – 1972. - v. 49. - P. 150 – 156.
176. Sturtz LA. A fraction of yeast Cu, Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage /

L.A. Sturtz, K. Diekert, L.T. Jensen, R. Lill, V.C. Culotta // *J Biol Chem.* – 2001. – 276. – P. 38084–38089.

177. Sandstrom J. Heparin-affinity patterns and composition of extracellular superoxide dismutase in human plasma and tissues / J. Sandstrom, K. Karlsson, T. Edlund, S.L. Marklund // *Biochem J.* – 1993. – P. 294:853–857.

178. Rodriguez-Iturbe B. Association of mitochondrial SOD deficiency with salt-sensitive hypertension and accelerated renal senescence / B. Rodriguez-Iturbe, L. Sepassi, Y. Quiroz, Z. Ni, D.C. Wallace, N.D. Vaziri // *J Appl Physiol.* – 2007. – 102. – P. 255–260.

179. Rhee S.G. Cell signaling. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a necessary evil for cell signaling / S.G. Rhee // *Science.* – 2006. – 312. – P. 1882–1883.

180. Rae TD. Undetectable intracellular free copper: the requirement of a copper chaperone for superoxide dismutase / T.D. Rae, P.J. Schmidt, R.A. Pufahl, V.C. Culotta, T.V. O'Halloran // *Science.* – 1999. – 284. – P. 805–808.

181. Ookawara T. Tissue distribution of immunoreactive mouse extracellular superoxide dismutase / T. Ookawara, N. Imazeki, O. Matsubara, T. Kizaki, S. Ohishi, C. Nakao, Y. Sato, H. Ohno // *Am J Physiol.* – 1998. – 275. – P. 840–847.

182. Okado-Matsumoto A. Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu, Zn-SOD in mitochondria / A. Okado-Matsumoto, I. Fridovich // *J Biol Chem.* – 2001. – 276. – P. 38388–38393.

183. Ohta H. Internalization of human extracellular-superoxide dismutase by bovine aortic endothelial cells / H. Ohta, T. Adachi, K. Hirano // *Free Radic Biol Med.* – 1994. – 16. – P. 501–507.

184. Miao L. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease / L. Miao, D.K. St Clair // *Free Radic Biol Med.* – 2009. – 47 – P. 344–356.

185. McCord JM. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein) / J.M. McCord, I. Fridovich // *J Biol Chem.* – 1969. – 244. – P. 6049–6055.

186. Marklund SL. Extracellular superoxide dismutase in human tissues and human cell lines / S.L. Marklund // *J Clin Invest.* – 1984. – 74. – P. 1398–1403.

187. Marklund SL. Extracellular superoxide dismutase and other superoxide dismutase isoenzymes in tissues from nine mammalian species / S.L. Marklund // *Biochem J.* – 1984. – 222. – P. 649–655.
188. Marikovsky M. Cu/Zn superoxide dismutase plays a role in angiogenesis / M. Marikovsky, N. Nevo, E. Vadai, C. Harris-Cerruti // *Int J Cancer.* – 2002. – 97. – P. 34–41.
189. Kim BE. Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation / B.E. Kim, T. Nevitt, D.J. Thiele // *Nat Chem Biol.* – 2008. – 4. – P. 176–185.
190. Kemp K. Mesenchymal stem cell-secreted superoxide dismutase promotes cerebellar neuronal survival / K. Kemp, K. Hares, E. Mallam, K.J. Heesom, N. Scolding, A. Wilkins // *J Neurochem.* – 2010. – 114. – P. 1569–1580.
191. Circu M.L. Intestinal redox biology and oxidative stress / M.L. Circu, T.Y. Aw // *Semin. Cell Dev. Biol.* - 2012. - 23(7). – P. 729–737.
192. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков и др. // М.: Слово. - 2006. - 556с.
193. Хавинсон В.Х. Свободнорадикальное окисление и старение / В.Х. Хавинсон, В.А. Баринов, А.В. Арутюнян, В.В. Малинин // СПб: Наука. - 2003. - 327 с.
194. Антоняк Г.Л. Утворення активних форм кисню та система антиоксидантного захисту в організмі тварин / Г.Л. Антоняк, Н.О. Бабич, Л.І. Сологуб, В.В. Снітинський // *Біологія тварин.* - 2000. - Т. 2 № 2. - С. 34-43.
195. Birben E. Oxidative stress and antioxidant defense / E. Birben, U.M. Sahiner, C. Sackesen // *WAO J.* – 2012. - № 5. – P. 9-19.
196. Sastre J. Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration / J. Sastre, M. Asensi, E. Gascó, F.V. Pallardó, J.A. Ferrero, T. Furukawa, J. Viña // *Am J Physiol.* – 1992. – 32. – P. 992–R995.

197. Giustarini D. Oxidative stress and human diseases: origin, link, measurement, mechanisms and biomarkers / D. Giustarini, I. Dalle-Donne, D. Tsikas, R. Rossi // *Crit Rev Clin Lab Sci.* – 2009. – 46. – P. 241–281.
198. Ballatori N. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases / N. Ballatori, S.M. Krance, S. Notenboom, S. Shi, K. Tieu, C.L. Hammond // *Biol Chem.* – 2009. – 390. – P. 191–214.
199. Wu G. Glutathione metabolism and its implications for health / G. Wu, Y.Z. Fang, S. Yang, J.R. Lupton, R.D. Turner // *J Nutr.* – 2004. – 134. – P. 489–492.
200. Jones D.P. Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant events of aging from decline in antioxidant defenses / D.P. Jones, V.C. Mody, J.L. Carlson, M.J. Lynn, P. Sternberg // *Free Radic Biol Med.* – 2002. – 33. – P. 1290–1300.
201. Deponete M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes / M. Deponete // *Biochim Biophys Acta.* – 2013. – 1830. – P. 3217–3266.
202. Meister A. Glutathione / A. Meister, M.E. Anderson // *Ann. Rev. Biochem.* - 1983.-Vol.52.-P.711-760.
203. Bhanumathi P. Modulation of glutathione depletion and lipid peroxidation by WR-77913 an 2-mercaptopropionylglycine in cyclophosphamide chemotherapy / P. Bhanumathi, P. Devi // *Indian J. Exp. Biol.* - 1994.- Vol.32. - P.562-564.
204. Isaacs J.T. Cyclic AMP-dependent control of rat hepatic glutathione disulfide - sulfhydryl ratio J.T. Isaacs, F. Binkley / *Biochem. Biophys. Acta.* - 1977. - Vol.498, №1.-P.29-38.
205. Bellomo G. Modulation of cellular glutathione and protein thiol status during quinone metabolism / G. Bellomo, H. Thor, S. Orrenius // *Meth. Enzymol.* - 1990.-Vol. 186. - P. 627 – 635.
206. Carlberg I., Mannervik B. Glutathione reductase / I. Carlberg, B. Mannervik // *Meth. Enzymol.*-1985.- Vol.113.- P.484-490.

207. Кулинский В.И. Биологическая роль глутатиона / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко // Успехи соврем. биологии. - 1990. - Т. 110, Вып.1 (4). - С. 20-37.
208. Голиков С.Н. Общие механизмы токсического действия / С.Н. Голиков, И.В. Саноцкий, Л.А. Тиунов. - Л.: Медицина. - 1986. - 279 с.
209. Узбеков М.Г. Действие глутатиона на энергетический обмен мозга при антенатальной гипоксии / М.Г. Узбеков, И.К. Карпачевская // Патол. физиол. и эксперим. терапия. 1991. - №5. - С. 11-13.
210. Тиунов Л.А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты / Л.А. Тиунов // Вестник РАМН. – 1995. - № 3. – С. 9 – 13.
211. Тиунов Л.А. Роль глутатиона в процессах детоксикации / Л.А. Тиунов, В.А. Иванова // Вест. АМН СССР. – 1988. - № 1. – С. 62 – 69.
212. Denke S.M. Regulation of cellular glutathione / S.M. Deneke, B.L. Fanburg // Am. J. Physiol. - 1989. - Vol.257, №1. - P.163-173.
213. Сазонтова Т. Г. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов — равнозначных участников метаболизма / Т. Г. Сазонтова, Ю. В. Архипенко // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2007. – № 3. – С. 2–18.
214. Шепелев А.П. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных болезней / А.П. Шепелев, И.В. Корниенко, А.В. Шестопапов и соавт // Вопросы медицинской химии. – 2000. – №2. – С. 54–59.
215. Буеверов А. О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени / А.О. Буеверов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2002. – Т. 12. – №. 4. – С. 21-25.
216. Кулинский В. И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита //Соросовский образовательный журнал. – 1999. – Т. 1. – №. 38. – С. 2-7.

217. Нагорная Н. В. Оксидативный стресс: влияние на организм человека, методы оценки / Н.В. Нагорная, Н.А. Четверик // *Здоровье ребенка*. – 2010. – №. 2 (23). – С. 28 – 34.
218. Veliça P.I. Prostaglandins in muscle regeneration / P.I. Veliça, C.M. Bunce // *Journal of Muscle Research and Cell Motility*. - December 2008. - Volume 29, Issue 6–8. - P 163–167.
219. Leopoldini M. Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism / M. Leopoldini, T. Marino, N. Russo, M. Toscano // *The Journal of Physical Chemistry A*. – 2004. - 108(22). – P. 4916–4922.
220. Казимирко В.К. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / В.К. Казимирко, В.И. Мальцев, В.Ю. Бутылин, Н.И. Горобец // К.: Морион. - 2004. -160 с.
221. M. Kozakowska, The role of oxidative stress in skeletal muscle injury and regeneration: focus on antioxidant enzymes / M. Kozakowska, K. Pietraszek-Gremplewicz, A. Jozkowicz, J. Dulak // *Journal of Muscle Research and Cell Motility*. – 2015. – 36. – P. 377–393.
222. Hnia K. L-arginine decreases inflammation and modulates the nuclear factor-kappaB/matrix metalloproteinase cascade in mdx muscle fibers / K. Hnia, J. Gayraud, G. Hugon, M. Ramonatxo, S. De La Porte, S. Matecki, D. Mornet // *Am J Pathol.*- 2008. – 172. – P. 1509–1519.
223. Kim JH. Contribution of oxidative stress to pathology in diaphragm and limb muscles with Duchenne muscular dystrophy / J.H. Kim, H.B. Kwak, L.V. Thompson, J.M. Lawler // *J Muscle Res Cell Motil.* – 2013. – 34. – P. 1–13.
224. Kim JH. Amplification of proinflammatory phenotype, damage, and weakness by oxidative stress in the diaphragm muscle of mdx mice / J.H. Kim, J.M. Lawler // *Free Radic Biol Med.* – 2012. – 52. – P. 1597–1606.
225. Nakae Y. Quantitative evaluation of the beneficial effects in the mdx mouse of epigallocatechin gallate, an antioxidant polyphenol from green tea / Y. Nakae,

O.M. Dorchies, P.J. Stoward, B.F. Zimmermann, C. Ritter, U.T. Ruegg // *Histochem Cell Biol.* - 2012. – 137. – P. 811–827.

226. Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, de Almeida P, Ramos L, Iversen VV, Bjordal JM. Effect of low-level laser therapy (GaAs 904 nm) in skeletal muscle fatigue and biochemical markers of muscle damage in rats / E.C. Leal Junior, R.A. Lopes-Martins, P. de Almeida, L. Ramos, V.V. Iversen, J.M. Bjordal // *Eur J Appl Physiol.* – 2010. – 108. – P. 1083–1088.

227. Kaczor JJ, Hall JE, Payne E, Tarnopolsky MA. Low intensity training decreases markers of oxidative stress in skeletal muscle of mdx mice / J.J. Kaczor, J.E. Hall, E. Payne, M.A. Tarnopolsky // *Free Radic Biol Med.* – 2007. – 43. – P. 145–154.

228. Воронина Т.А. Роль оксидативного стресса и антиоксидантов при дезадаптации различного генеза / Т.А. Воронина // *Фармация и фармакология.* – Приложение 1. – 2015. – С. 8-17.