

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

Ткаченко Вікторія Миколаївна

УДК 612.06:591.1

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ТИМУСА,
НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ І ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЩУРІВ
НА ТЛІ МЕХАНІЧНОЇ РАНИ ПРИ ТЮТЮНОВІЙ
ІНТОКСИКАЦІЇ ЇХНІХ БАТЬКІВ**

03.00.13 – фізіологія людини і тварин

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

Київ – 2021

Дисертацією є рукопис

Роботу виконано в Харківському національному педагогічному університеті імені Г.С.Сковороди

Науковий керівник: кандидат біологічних наук, доцент **Комісова Тетяна Євгенівна**, Харківський національний педагогічний університет імені Г.С. Сковороди, професор кафедри анатомії і фізіології людини імені д.м.н., проф., Я.Р. Синельникова

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук **Вознесенська Тетяна Юріївна**, провідний науковий співробітник Відділу імунофізіології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України

кандидат біологічних наук **Фалюш Оксана Анатоліївна**, старший науковий співробітник Відділу ендокринології репродукції та адаптації ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Захист дисертації відбудеться «14» вересня 2021 р. о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.198.01 при Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця за адресою: 01024, м. Київ, вул. акад. Богомольця, 4.

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України та на сайті інституту: [http://biph.kiev.ua/en/Specialized Scientific Council](http://biph.kiev.ua/en/Specialized_Scientific_Council)

Автореферат розіслано «12» серпня 2021 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
кандидат біологічних наук

Любанова О.П.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. За оцінкою ВООЗ куріння посідає друге місце в списку причин, які викликають передчасну смерть людей (World Health Organization 2008). Особливу увагу привертає збільшення цієї шкідливої звички в усьому світові і, зокрема, в Україні (Ільченко С.І., Фіалковська О.А. 2018). Відомо, що тютюнокуріння викликає психологічну та фізичну залежність від нікотину і за сумарною негативною дією перевищує всі види наркотичної пристрасті, у тому числі й алкоголізм (Веропотвелян П.М. та ін. 2004; Дзюбайло А.В. 2005; Дудченко Л.В., Луківська І.Т. 2019). Не менш небезпечним для організму є, так зване, пасивне куріння (Беляєв С.Г. 2010; Тяжка О.В., Ванханова Т.О. 2012; Чечотіна С.Ю., Коваль А.А. 2016; Кожокарь С.В. та ін. 2019; Ferrence R., Ashley MJ. 2011; Elke Raum Jutta Küpper-Nybelen et al. 2011).

Встановлено, що компоненти тютюнового диму є канцерогенами, які сприяють розвитку пухлин легень, шлунково-кишкового тракту, мозку (Shy S. 1996; Пікас О.Б. 2015), викликають ендокринопатії (Біляєв С.Г. 2005; Kurklund-Blomberg N.B., 2005; Chang J.S. 2006; Федіна. 2013), алергічні реакції шкіри (Ortiz A. 2012; Федорців О. Є. 2016) її передчасне старіння (Fan G.B. 2011) та негативно впливають на загоєння ран (Sorensen L.T. 2009; Melitsa Al. 2010; Thomsen S.F. 2010; Lassig et al. 2018; Song MY et al. 2020). Крім того, більшість хвороб у курців протікає тяжче, ніж у людей, які не курять (Долгош М.Ю. 2011; Островський М.М. 2012; Колесникова О.М. 2018). Куріння батьків є стресовим чинником неонатального розвитку і в ранньому постнатальному онтогенезі (Ferrence R. 2000; Carlsen KH 2009; Elke Raum Jutta Küpper-Nybelen 2011; Клименко 2011; Тяжка О. В. 2012; Губіна-Вакулік Г.І. 2016; Чечотіна С.Ю. 2016; Кожокарь С.В. 2019; Давидова Ю.В. 2020). Також стресові фактори впливають на чутливість гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи внаслідок чого підвищується рівень ендогенних глюкокортикоїдів, що призводить до порушення механізмів формування адаптаційної системи. Адаптації до різних факторів навколишнього середовища забезпечують імуноендокринні взаємодії тимуса, надниркових залоз з іншими органами.

Тимус і надниркові залози мають особливе значення в дитячому віці (Savino W., Dardenne M., 2000; Романенко 2003). Система «тимус-надниркові залози» забезпечує нормальний розвиток дитини, підтримує імунну реактивність. Проте у роботах науковців показано порушення адаптаційних можливостей у дітей курців, що проявлялося зниженням ваги тимуса (Zeyrek D. et al. 2008), ендокринним безпліддям (Колтунова О.В. 2011).

В експериментальних дослідженнях для моделювання стресу та вивчення імуноендокринної відповіді застосовують методики нанесення ран (Клименко В.А. 2011; Яковлева Л.В. 2013; Ashrafi M. 2016; Н.М. Кононенко 2017; Осолодченко Т.П. 2019; Нікітіна Н.С., Берегова Т.В. 2019; Arasteh S. 2019). Такі методики є виправданими оскільки діти часто травмуються та отримують подряпини та порізи шкіри.

Незважаючи на значні досягнення вивчення механізмів негативного впливу компонентів тютюнового диму на організм активних та пасивних курців, у літературі майже відсутні дані про віддалені наслідки пасивного куріння на імуноендокринну відповідь нащадків на тлі больового стресу, викликаного

нанесенням механічної рани. Актуальність теми і обумовила проведення дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота «Морфофункціональні особливості тимуса, надниркових залоз і показники крові щурів на тлі механічної рани при хронічній тютюнової інтоксикації їхніх батьків» виконана в рамках наукової теми ХНПУ імені Г.С. Сковороди «Вплив факторів середовища на організм в онтогенезі» (№ держреєстрації 0187.0228336) та в рамках комплексної НДР пріоритетного фінансування МОЗ України «Порушення в морфофункціональному стані інтегративних систем плода за умов материнського неблагополуччя» (№ держреєстрації 0102U0018.71).

Мета і завдання дослідження. Основною метою даної дисертаційної роботи було *вивчити морфофункціональні зміни тимуса, надниркових залоз та показників крові нащадків щурів на тлі механічної рани під впливом пасивного куріння їхніх батьків.*

Для досягнення поставленої мети вирішувалися наступні завдання:

- 1) оцінити ступінь потенціального впливу компонентів тютюнового диму на організм щурів-батьків за їхніми поведінковими реакціями під час тютюнової інтоксикації за вмістом у сироватці крові основного метаболіту нікотину тіоціаніду К (котиніну);
- 2) проаналізувати індекс виживання нащадків, батьки яких підлягали дії тютюнового диму з різним вмістом нікотину та смол і вивчити їх постнатальний розвиток;
- 3) провести морфологічне, гістологічне, каріометричне дослідження тимуса нащадків, батьки яких підлягали дії тютюнового диму з різним вмістом нікотину та смол;
- 4) провести морфологічне, гістологічне, каріометричне дослідження надниркових залоз нащадків, батьки яких підлягали дії тютюнового диму з різним вмістом нікотину та смол;
- 5) з'ясувати віддалений вплив тютюнового диму на рівень кортикостерону у плазмі крові нащадків щурів з механічними ранами, батьки яких підлягали тютюнової інтоксикації;
- 6) дослідити морфофізіологічні зміни механічної рани у нащадків, батьки яких підлягали дії тютюнового диму з різним вмістом нікотину та смол;
- 7) дослідити показники крові у нащадків щурів, виношених в умовах батьківського пасивного куріння.

Об'єкт дослідження: морфофункціональні властивості тимуса, надниркових залоз та показники крові нащадків-самиць, батьки яких підлягали хронічній дії тютюнового диму.

Предмет дослідження: зміни показників постнатального розвитку, морфометричних параметрів тимуса та надниркових залоз, біохімічних показників крові на тлі механічної рани у нащадків щурів, виношених в умовах батьківського пасивного куріння.

Методи дослідження: методика моделювання хронічної тютюнової інтоксикації; спектрофотометричний аналіз; фізіологічні методи; гістологічні методи; імуноферментний метод; біохімічні методи; каріометричний метод; статистичні методи обробки результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі вперше проведено комплексне дослідження з вивчення віддалених наслідків дії хронічної інтоксикації тютюновим димом, якому підлягали батьки, на морфофункціональний стан тимуса, надниркових залоз, рівень кортикостерону і деякі показники крові їхніх нащадків на тлі механічної рани. Вперше показано вплив різного вмісту нікотину та смол на фізичний розвиток нащадків. Установлено, що індекс виживання у групі, де тютюновим димом цигарок із фільтром обкурювалися і самець, і самиця є найнижчим і статистично значуще відрізняється від контрольної. У щурят-самиць експериментальних груп (за винятком групи, де обкурювався лише самець-батько цигарками з фільтром), фізичний розвиток відбувається у статистично значущі ранні терміни порівняно з контрольною групою.

Вперше показано, що адаптаційні реакції у нащадків з механічною раною на компоненти тютюнового диму, яким обкурювалися батьки, відбувалися з порушеннями. Встановлено збільшення відносної маси тимуса та площі ядер епітеліоцитів. У щурят експериментальних груп встановлено ознаки підвищеного морфофункціонального стану пучкової зони надниркових залоз та різнонаправлений рівень кортикостерону, що призвело до пригнічення реактивності, яке негативно вплинуло на нормальний перебіг ранового процесу.

Вперше встановлено, що на тлі імуноендокринних змін тимуса і надниркових залоз, перша фаза ранового процесу у нащадків-щурят протікала з порушеннями. На експериментальному матеріалі доведено, що у нащадків, батько яких підлягав дії тютюнового диму цигарками із фільтром, є ознаки запізнення розвитку запальної реакції під час ранового процесу. У нащадків групи, де тютюновій інтоксикації підлягали і самець, і самиця, спостерігаються ознаки надлишкової ексудації й більш виражена вторинна альтерація, у деяких нащадків цієї групи (20%) розвивається запалення за типом флегмони. У нащадків, де дії тютюнового диму від цигарок без фільтру зазнав самець, спостерігаються ділянки гнійного запалення з гістолізом. У нащадків групи, де і самець, і самиця підлягали тютюновій інтоксикації від цигарок без фільтру відмічаються великі некротичні зміни та патологічний розвиток грануляційної тканини.

Показано біохімічні зміни показників крові (збільшення кількості лейкоцитів, еритроцитів, вмісту циркулюючих імунних комплексів, сіромукоеїдів, загального білку, зниження рівня гемоглобіну, альбуміну), що протікали на тлі ранового процесу в експериментальних тварин, виношених в різних умовах відносно батьківського куріння.

Теоретичне та практичне значення одержаних результатів.

Результати дослідження розширюють сучасні уявлення на протікання ендокринних, імунологічних та фізіологічних процесів у нащадків першого покоління на тлі ранового процесу, обтяженого віддаленими наслідками батьківського пасивного куріння. Отримані дані можуть бути основою для формування групи ризику народження дітей з пригніченою імуноендокринною системою. Результати дослідження впроваджені в навчальний процес в ХНПУ ім.Г.С. Сковороди при викладанні навчальних дисциплін «Фізіологія людини і тварин», «Імунологія», «Обмін речовин і гуморальна регуляція функцій та механізми стресу і адаптації» та СДПУ ім. А.С. Макаренка при викладанні

дисциплін «Фізіологія людини і тварин», «Імунологія», «Функціональна діагностика».

Особистий внесок здобувача.

При виконанні дисертаційної роботи здобувачем проведено пошук і аналіз вітчизняної та зарубіжної наукової літератури за напрямом дослідження. Формування основних ідей роботи, мети та завдань експериментальних досліджень, аналіз наукової літератури за темою дисертації, організація та проведення переважної частини досліджень, статистична обробка фактичного матеріалу, інтерпретація отриманих результатів, обґрунтування наукових висновків та написання тексту дисертації здійснені автором самостійно.

Науковий керівник брав безпосередню участь в розробці дизайну роботи, обговоренні результатів досліджень та уточненні формулювання висновків.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертації доповідалися на III Міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів: XIII Міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання сучасної медицини» (Харків, 2016), II Міжнародній науковій конференції «Сьогодення біологічної науки» (Суми, 2018), міжвузівській науково-практичній конференції молодих учених та студентів з міжнародною участю «Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку і корекції патологічних станів» (Харків, 2019).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових робіт, з яких 1 стаття у міжнародному виданні, 6 статей у фахових виданнях, 2 статті у інших виданнях та 3 публікації у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових конференцій.

Обсяг і структура дисертації. Дисертацію викладено на 146 сторінках. Вона складається зі вступу, 4 розділів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Роботу проілюстровано 20 таблицями, 20 рисунками. Список використаних джерел містить 258 посилань.

Автор висловлює вдячність професору кафедри патоморфології Харківського національного медичного університету, доктору медичних наук Губіній-Вакулік Г.І. за консультування з питань гістологічного дослідження тимуса та надниркових залоз.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обґрунтовано актуальність теми, визначено мету, об'єкт та предмет дослідження, відображено наукову новизну, представлено відомості про апробацію результатів дисертації, структуру наукової роботи.

У огляді літературних даних наведено аналіз сучасної літератури про вплив тютюнокуріння безпосередньо на батьків та їх нащадків. Розглядаються віддалені наслідки впливу тютюнового диму на стан тимуса, надниркових залоз, показники крові та загоєння ран.

Матеріали та методи досліджень. Досліди проводились із дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що

використовуються в експериментах та в інших наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиви ЄС №609 від 24.11.1986 р., Наказу МОЗ України №66 від 13.02.2006 р. та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 № 3447-IV.

Описано методику формування залежності від хронічної дії тютюнового диму та вивчення стану тимуса, надниркових залоз, показників крові, механічної рани у нащадків, виношених в умовах пасивного батьківського куріння. Дослідження проводилося на 137 щурах (40 самиць-матерів, 15 самців-батьків, 82 нащадків-самиць) лінії Вістар. Тварин утримували в стандартних умовах віварію кафедри анатомії і фізіології людини імені д.м.н., проф. Я.Р. Синельникова Харківського національного педагогічного університету імені Г.С. Сковороди.

Модель залежності від хронічної дії тютюнового диму створювали за допомогою закритої камери, модифікованої для умов експерименту, об'ємом 27 літрів (пріоритетна довідка № 3991837 від 13.12.1985 р. Держкомвинахід). В експерименті були використані цигарки з фільтром, з вмістом 0,6 мг нікотину та 12 мг смоли та цигарки без фільтру з вмістом 0,8 мг нікотину та 15 мг смоли, що є розробкою автора. Тютюновий дим, що утворювався від горіння $\frac{1}{2}$ цигарки, за допомогою спеціально сконструйованої системи дозовано подавався до закритої камери. У камері одночасно знаходилося 5 тварин впродовж 15 хвилин. Тварини контрольної групи також знаходилися впродовж 15 хвилин у закритій камері, але не підлягали дії тютюнового диму. Експеримент тривав 5 місяців. Всього під час дослідження було проведено 51 обкурювання.

Впродовж 51 дня визначали ступінь хронічної інтоксикації тютюновим димом у щурів-батьків: динаміку поведінкових реакцій у камері, а також наявність вегетативних проявів, як показників рівня страху та звикання до зміненого середовища.

Для визначення ступеня інтоксикації щурів тютюновим димом використовували спектрофотометричний метод визначення кількості головного метаболіту нікотину в сироватці крові – тіоціаніду К (котиніну). Дослідження сироватки крові щурів-батьків проводилося у лабораторії біохімії Центральної науково-дослідної лабораторії Харківського національного медичного університету.

Для вивчення стану тимуса, надниркових залоз, показників крові, механічної рани у нащадків, виношених в умовах пасивного батьківського куріння, було сформовано 10 груп: К24 – контрольна (тварини виведені з експерименту через 24 год після механічної рани); К48 – контрольна (тварини виведені з експерименту через 48 год після механічної рани); ПБ24 – тютюновій інтоксикації підлягав лише самець цигарками з фільтром (тварини виведені з експерименту через 24 год після нанесення механічної рани); ПМБ24 – тютюновій інтоксикації підлягали самець та самиця цигарками з фільтром (тварини виведені з експерименту через 24 год після нанесення механічної рани); ПБ48 – тютюновій інтоксикації підлягав лише самець цигарками з фільтром (тварини виведені з експерименту через 48 год після нанесення механічної рани); ПМБ48 – тютюновій інтоксикації підлягали самець та самиця цигарками з фільтром (тварини виведені з експерименту через 48 год після нанесення механічної рани); ВБ24 – тютюновій інтоксикації підлягав лише самець цигарками без фільтру (тварини виведені з експерименту через 24 год після нанесення механічної рани); ВМБ24 – тютюновій інтоксикації підлягали самець та

самиця цигарками без фільтру (тварини виведені з експерименту через 24 год після нанесення механічної рани); ВБ48 – тютюновій інтоксикації підлягав лише самець цигарками без фільтру (тварини виведені з експерименту через 48 год після нанесення механічної рани); ВМБ48 – тютюновій інтоксикації підлягали самець та самиця цигарками без фільтру (тварини виведені з експерименту через 48 год після нанесення механічної рани). Створені експериментальні групи моделювали різні подружні пари, де один з членів подружжя курить або курять обидва.

Для оцінки стану постнатального розвитку кожного приплоду контрольної та експериментальних груп розраховували індекс виживання (ІВ) за формулою:

$$ІВ = \frac{\text{Кількість нащадків, що вижили до 4-го дня}}{\text{Кількість нащадків, що народилися живими}}$$

У нащадків-щурят в постнатальний період розвитку враховували показники їх фізичного розвитку: день відлипання вушної раковини; день появи волосяного покриву; день відкриття очей.

Для моделювання больового стресу та спостереження за рановим процесом на другому місяці життя нащадкам-самцям як контрольної, так і експериментальних груп були зроблені механічні рани (довжина – 10 мм, ширина – 3 мм) на зовнішній поверхні стегна правої задньої кінцівки. Після спостереження за рановим процесом щурят виводили з експерименту через 24 години та 48 годин після нанесеної механічної рани. Евтаназію тварин проводили внутрішньочеревним введенням трьохкратної наркотичної дози етамінала натрія.

Після евтаназії у нащадків-щурят віком 2 місяці взяті тимус, наднирникові залози та частини шкіри з механічною раною для вивчення їх морфологічних особливостей. Для визначення абсолютної маси тимуса, надниркових залоз проводили зважування на аналітичних електронних вагах AXIS AN50 (ціна ділення – 0,0001г). У подальшому визначалася відносна маса надниркових залоз та тимуса. Органи та шкіру фіксували в 10%-вому нейтральному формаліні, збезводнювали в спиртах висхідної концентрації та заливали в парафінові блоки. Зрізи товщиною 5-6 мкм забарвлювали гематоксиліном-еозином. Світлову мікроскопію проводили на мікроскопі Zeiss (Німеччина). Морфометрію тимуса, надниркових залоз та частин шкіри щурят здійснювали за допомогою мікроскопа «Біолам» (Російська Федерація) при збільшеннях x100, x400. Мікрофотографування проводилося на мікроскопі «Olympus» (Японія). У полі зору мікроскопа при збільшеннях x100, x400 аналізували видалені ділянки шкіри. Гістологічний опис доповнено морфометрією – підрахунком кількості лейкоцитів у гнійному ексудаті на площі 950 мкм² та проведенням їх каріометрії. Для вивчення морфофункціональної активності надниркових залоз проведено підрахунок кількості та комп'ютерну каріометрію спонгіоцитів на цифрових зображеннях за допомогою програми, придатної до мікроскопа «Olympus» (Японія), виміряно площу мозкової речовини та ширину клубочкової, пучкової, сітчастої зон за допомогою мікроскопа ЛОМО з окулярмікрометром АМ2-9. У кожному препараті методом випадкової вибірки оцінювали 10 полів зору. В обраних вибірках досліджували по 30 ядер. Для вивчення морфофункціональної активності тимуса проведено каріометрію епітеліоцитів.

У нащадків щурів контрольних і експериментальних груп взято кров для визначення гематологічних показників: кількості еритроцитів, лейкоцитів, вмісту

гемоглобіну; показників гуморального імунітету: циркулюючих імунних комплексів, сіромукоїдів; біохімічних показників: загального білку, білкових фракцій та рівня кортикостерону. Рівень кортикостерону у плазмі крові визначали імуноферментним методом з використанням наборів «ELISA Corticosterone DRG» (Germany). Дослідження крові проводилося в лабораторії якості кормів і продукції тваринного походження Інституту тваринництва (м.Харків).

При аналізі різниці між середніми величинами отриманих даних застосовано t-критерій Стьюдента. Критерієм статистичної вірогідності отриманих результатів була прийнята величина $P < 0,05$, $P < 0,01$. Отримані у ході дослідження результати були оброблені за допомогою спеціалізованих статистичних пакетів SPSS 10.0 з функціональними додатками. Для визначення оцінки впливу різних доз нікотину та смоли, що містяться в цигарках з фільтром та цигарках без фільтру на лейкоцити в механічній рані та ширину зон надниркових залоз проведено дисперсійний однофакторний аналіз.

Результати досліджень та їх обговорення

Оцінка формування хронічної тютюнової інтоксикації у щурів

Проведене 51 обкурювання щурів викликало у них тютюнову інтоксикацію, доказом чого стало статистично значуще збільшення у їхній крові головного метаболіту нікотину – котиніну (відповідно $8,12 \pm 0,42$ мг/л ($p < 0,05$), $8,22 \pm 0,57$ мг/л ($p < 0,05$) та $6,34 \pm 0,32$ мг/л, ($p < 0,05$).

Фізичний розвиток нащадків, виношених в умовах пасивного батьківського куріння. Результати досліджень показали, що у тварин контрольної групи нащадки народжувалися живими на 21-23 добу. У експериментальних тварин, які підлягали хронічній тютюновій інтоксикації, щурята народжувалися живими на 24-25 добу. Проте, необхідно зауважити, що у самиці групи, де тютюновим димом від цигарок з фільтром обкурювалися і самець, і самиця народилося 10 мертвих щурят (4 ♂, 6 ♀). При розрахунку індексу виживання з'ясовано, що на 4-й день постнатального розвитку кількість щурят, що вижили в цій групі (ПМБ), становила тільки 29 особин (проти 41 народженої), тому індекс виживання у цій групі є найнижчим і статистично значуще відрізняється від контрольної. У інших експериментальних групах (ПБ, ВБ, ВМБ) індекс виживання щурят майже не відрізняється від контрольної групи (таблиця 1).

Таблиця 1

Показники виживання нащадків щурів

Групи	Загальна кількість нащадків, що народилися, особин	Кількість живих нащадків до 4-го дня, особин	Індекс виживання
К (n=7)	73 (44 ♂; 29 ♀)	71 (43 ♂; 28 ♀)	0,97
ПБ (n=8)	83 (36 ♂; 47 ♀)	78 (33 ♂; 45 ♀)	0,94
ПМБ (n=4)	41 (18 ♂; 23 ♀)	29 (13 ♂; 16 ♀)	0,71
ВБ (n=7)	62 (35 ♂; 27 ♀)	60 (34 ♂; 26 ♀)	0,97
ВМБ (n=8)	93 (46 ♂; 47 ♀)	85 (41 ♂; 44 ♀)	0,91

Примітка: n – кількість приплодів

Результати досліджень фізичного розвитку показали, що у щурят, батьки яких підлягали обкурюванню, як цигарками з фільтром, так і цигарками без фільтру, за

маркерами їхнього фізичного розвитку (відкриття очей, відлипання вушної раковини, поява волосяного покриву) відбувається у статистично значущі ранні терміни (за винятком групи, де тютюновій інтоксикації від цигарок з фільтром підлягав лише самець (ПБ)), порівняно з контрольною групою (табл. 2).

Таблиця 2

Маркери постнатального фізичного розвитку нащадків щурів

Групи	Біологічна ознака		
	Відлипання вушної раковини, доба	Покриття волосяним покривом, доба	Відкривання очей, доба
К (n=71)	4,25±0,5	10,0±0,7	16,5±0,9
ПБ (n=78)	3,25±0,7 *	9,4±0,5	16,0±0,7
ПМБ (n=29)	3,25±0,7 *	8,9±0,8*	14,25±0,9 *
ВБ (n=60)	3,5±0,5 *	8,9±0,6 *	14,6±0,5 *
ВМБ (n=85)	3,0±0,5 *	8,3±0,7 *	14,1±0,8 *

Примітка: n – кількість нащадків; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних відносно таких величин у контролі

Таким чином, хронічна тютюнова інтоксикація батьків сприяє феноменальному скороченню строків фізичного розвитку їх нащадків порівняно з контрольною групою. Відомо, що ознаки фізичного розвитку є показником нормального розвитку організму, а їх відхилення може бути свідченням порушення процесів метаболізму.

Стан тимуса нащадків. Тривала тютюнова інтоксикації щурів-батьків призвела до збільшення маси тимуса у переважної більшості їхніх нащадків (табл. 3).

Таблиця 3

Абсолютна маса тимуса (г), відносна маса тимуса (г) та площа ядер епітеліоцитів тимуса (мкм²) щурят, батьки яких підлягали обкурюванню цигарками з фільтром та цигарками без фільтру

групи	К24 (n 5)	ПБ24 (n 5)	ВБ24 (n 10)	ПМБ24 (n 7)	ВМБ24 (n 10)	К48 (n 5)	ПБ48 (n 6)	ВБ48 (n 9)	ПМБ48 (n 10)	ВМБ48 (n 15)
показники										
Абсолютна маса тимуса (г)	0,12±0,01	0,17±0,02**	0,26±0,03**	0,29±0,06**	0,25±0,03**	0,22±0,02	0,21±0,02	0,20±0,03	0,34±0,02**	0,27±0,02
Відносна маса тимуса (г)	0,002±0,001	0,002±0,001	0,003±0,001**	0,003±0,001**	0,003±0,001**	0,002±0,001	0,002±0,001	0,002±0,001	0,003±0,001**	0,002±0,001
Площа ядер (мкм ²)	11,16±0,18	11,13±0,49	11,06±0,49	13,03±0,58**	13,01±0,76**	10,02±0,01	12,07±0,61**	12,98±0,87*	13,43±0,53**	11,18±0,37

Примітка: n – кількість нащадків; ** - $p < 0,01$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних відносно таких величин у контролі

Збільшення відносної маси тимуса у щурят (групи ПМБ24, ПБ48, ВБ24, ВМБ24) можна пояснити тим, що внаслідок впливу на організм матері тютюнового диму відмічається ураження тимуса нащадків, в результаті чого починають

спрацьовувати компенсаторно-приспосувальні реакції. Проте, за даними інших експериментальних досліджень куріння матері істотно впливає на зменшення ваги тимуса у її нащадків. Разом з тим, площа ядер епітеліоцитів тимуса збільшується у нащадків груп ПМБ24, ВМБ24, ПБ48, ПМБ48 порівняно з контрольними групами (див. табл. 3).

Виявлені морфофункціональні особливості тимуса нащадків-самиць з механічними ранами свідчать про дисфункцію взаємодії у системі тимус-надниркові залози та розвиток змін, що відбуваються на тлі больового стресу (механічна рана).

Стан надниркових залоз нащадків. Тривала тютюнова інтоксикація батьків призвела до незначного збільшення маси надниркових залоз у їхніх нащадків. Так, у контрольних групах маса надниркових залоз становила $0,01 \pm 0,001$ г, у піддослідних групах – $0,02 \pm 0,001$ г.

Слід зазначити, що відносна маса надниркових залоз у нащадків групи ПБ24 зменшується на 25% ($p < 0,01$), порівняно з групою К24. Менш виражені аналогічні зміни простежуються і у нащадків групи ПБ48 на 48 год після нанесення механічної рани: відносна маса надниркових залоз порівняно з групою К48 зменшується на 23%. Проте статистично значущої різниці не виявлено. Проте, відносна маса надниркових залоз збільшується порівняно з групами контролю: у групі ПМБ24 на 50% ($p < 0,01$), а у групі ПМБ48 – на 12% ($p < 0,01$). Статистично значуще збільшується відносна маса надниркових залоз і у нащадків груп, де обкурюванню підлягали і самець, і самиця цигарками без фільтру. Так, у групі ВМБ24 на 24 год після нанесення механічної рани відносна маса надниркових залоз, порівняно з контрольними показниками, збільшується на 63% ($p < 0,01$), а у нащадків групи ВМБ48 на 48 год після нанесення рани відносна маса надниркових залоз збільшується на 30% ($p < 0,01$).

У піддослідних групах виявлено вірогідне збільшення ширини клубочкової, сітчастої та пучкової зон надниркових залоз (табл. 4).

Таблиця 4

Ширина зон кори та площа мозкової речовини надниркових залоз нащадків, батьки яких підлягали обкурюванню цигарками з фільтром та цигарками без фільтру

Групи / показники	К24 (n 5)	ПБ24 (n 5)	ВБ24 (n 10)	ПМБ24 (n 6)	ВМБ24 (n 10)	К48 (n 5)	ПБ48 (n 7)	ВБ48 (n 9)	ПМБ48 (n 10)	ВМБ48 (n 15)
клубочкова (мкм)	67,78± 3,90	77,78± 3,24 **	85,0± 1,77 **	77,94± 3,98 **	76,15± 1,85 **	72,50 ±1,29	77,50± 3,75**	81,54± 1,81 **	66,58± 3,51	96,25±1 ,17 **
пучкова (мкм)	353,4± 13,19	262,27± 12,16**	391,18 ±12,71	406,88± 16,73 **	324,17± 11,49	362,19 ±12,46	239,50 ±11,04 **	330,83 ±9,82	411,58± 20,46**	382,94± 9,74
сітчаста (мкм)	261,18 ±8,05	337,50± 16,84**	237,50 ±9,39	305,31± 15,22 **	263,33± 8,09	279,72 ±8,81	282,00 ±14,67	379,72 ±5,81, **	264,21± 13,69	339,41± 7,37 **
мозкова речовина (мм ²)	0,25± 0,07	0,26± 0,04	0,70± 0,03 **	0,47± 0,02 **	0,28± 0,01	0,29 ±0,01	0,22± 0,07 **	0,50± 0,02 **	0,63± 0,03**	0,26± 0,01

Примітка: n – кількість нащадків; ** - $p < 0,01$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних відносно таких величин у контролі

Збільшення площі мозкової речовини у групах, ВБ24, ВБ48, ПМБ24, ПМБ48 може свідчити про стресованість тварин, а зменшення у щурят групи ПБ48 – про виснаження функції даної залози (див. табл. 4).

Під впливом тютюнової інтоксикації батьків від цигарок без фільтру у їхніх нащадків на 48 годину після нанесення механічної рани спостерігається зменшення кількості спонгіоцитів, площа ядер яких при цьому збільшується, що може свідчити про ступінь напруження організму (табл. 5).

Таблиця 5

Кількість спонгіоцитів ($S=928$ мкм²) та їх каріометричні показники (мкм²) пучкової зони надниркових залоз нащадків, батьки яких підлягали обкурюванню цигарками з фільтром та цигарками без фільтру

групи / показники	К24 (n 5)	ПБ24 (n 5)	ВБ24 (n 10)	ПМБ24 (n 7)	ВМБ24 (n 10)	К48 (n 5)	ПБ48 (n 6)	ВБ48 (n 9)	ПМБ48 (n 10)	ВМБ48 (n 15)
кількість спонгіоцитів (екз.)	19,22 ±0,86	13,89 ±0,77 **	16,33± 0,10	22,56± 1,26 **	13,90 ±0,10 * *	18,56 ±0,73	14,30 ±0,52 **	13,60 ±0,17**	19,10± 0,71	12,70 ±0,20 **
площа ядер (мкм ²)	17,04 ±0,74	20,56 ±0,63 **	19,94±0 ,18**	17,58± 0,50	20,47 ±0,15 **	17,39 ±0,59	18,98± 0,76 **	20,89 ±0,12,**	16,78± 0,62	22,75 ±0,60 **

Примітка: n – кількість нащадків

** - $p < 0,01$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних відносно таких величин у контролі

Така ж тенденція відмічається і у нащадків групи, виведених з експерименту через 24 години після нанесення механічної рани, де тютюнової інтоксикації цигарками з фільтром підлягав лише самець (ПБ24). У групі ПМБ24, навпаки, при статистично значущому збільшенні кількості спонгіоцитів зменшується площа їх ядер. У нащадків групи ПБ48 площа ядер спонгіоцитів є статистично значуще меншою порівняно з нащадками контрольної групи (К48), при цьому кількість спонгіоцитів також зменшується (див. табл. 5). Зменшення площі ядер спонгіоцитів свідчить про відносно низький рівень функціонування пучкової зони надниркових залоз. Зменшення загальної кількості спонгіоцитів свідчить, можливо, про появу ознак декомпенсації, в першу чергу в пучковій зоні кори надниркових залоз. Збільшення ширини сітчастої зони може свідчити про включення гормонів цієї зони (перш за все, дигідроепіандростерона) в реалізацію загального адаптаційного синдрому.

Рівень кортикостерону у нащадків контрольної групи через 24 год після нанесення механічної рани складав $82,90 \pm 2,49$ нмоль/л (рис.1). У нащадків групи ПБ24 рівень кортикостерону знижується на 16%, порівняно з групою К24. Статистично значуще збільшується на 19% рівень кортикостерону у нащадків групи ПМБ24 ($98,42 \pm 0,98$ нмоль/л, $p < 0,05$), порівняно з групою К24. У нащадків, батьки яких обкурювалися цигарками без фільтру, рівень кортикостерону є нижчим на 8% у

групі ВБ24 ($75,85 \pm 2,74$ нмоль/л) та на 9% у групі ВМБ24 ($71,49 \pm 1,77$ нмоль/л, $p < 0,05$) (див. рис.1).

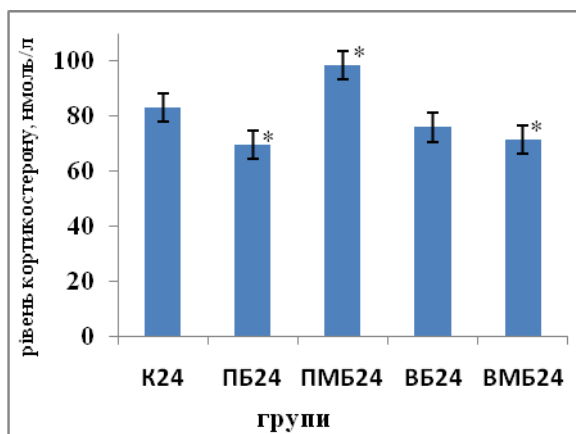


Рис.1. Рівень кортикостерону у плазмі щурят через 24 год після нанесення механічної рани, * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних відносно таких величин у групі K24.

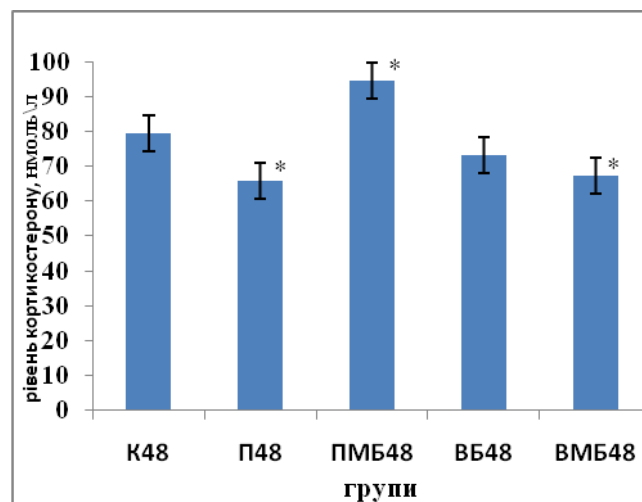


Рис.2. Рівень кортикостерону у плазмі щурят через 48 год після нанесення механічної рани, * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних відносно таких величин у групі K48.

На 48 годину рівень кортикостерону у щурят контрольної групи складав $79,37 \pm 0,60$ нмоль/л (рис.2). Рівень кортикостерону у щурят груп ПБ48, ВМБ48 статистично значуще знижується на 18% і 15%, відповідно, порівняно з групою K48. У нащадків групи ПМБ48 рівень кортикостерону, навпаки, статистично значуще збільшується на 18%. У нащадків групи ВБ48 цей показник мав тенденцію до зниження (див.рис.2). Такі порушення балансу кортикостерону у нащадків, ймовірно, викликані впливом на батьків-щурів компонентів тютюнового диму у момент запліднення та ембріогенезу.

Стан механічної рани у нащадків, батьки яких підлягали хронічній тютюновій інтоксикації. Для вивчення ранового процесу у нащадків-щурят при тютюновій інтоксикації їхніх батьків зроблено механічну рану. Результати досліджень показали, що через 24 години після нанесення механічної рани у тварин групи, де батьки не обкурювалися (K24), відмічається наявність дефекту овальної форми покритий струпом. При мікроскопії країв і дна рани виявлена глибока зона некрозу дерми і м'язового шару із зникненням ядер міоцитів і фрагментацією м'язових волокон. Щільність лейкоцитів у фіксованій площі зрізу ($S=950$ мкм²) складала $45,25 \pm 1,23$ екземплярів. Площа їх ядер дорівнювала $15,46 \pm 0,43$ мкм². Епідерміс навколо рани потовщений, ядра епітеліоцитів набули більш округлої форми, що свідчить про початок розвитку регенеративного процесу. У тварин групи, де обкурювався лише самець тютюновим димом від цигарок з фільтром (ПБ24) через 24 години після нанесення механічної рани струп відсутній. Порівняно з контрольною групою привертає увагу більш виражений набряк м'язового шару біля рани і менш виражена інфільтрація дерми лейкоцитами. Епідерміс навколо дефекту пронизаний нейтрофільними гранулоцитами. У тварин на тлі зменшення кількості лейкоцитів ($30,43 \pm 1,84$, $p < 0,05$), зменшується і площа їх ядер ($11,12 \pm 0,48$, $p < 0,01$), порівняно з контрольною групою K24. У щурят групи, де лише самець обкурювався цигарками без фільтру (ВБ24) після нанесення механічної рани через 24 години

навколо пошкодження спостерігається велика кількість гною. Відмічаються більш ширші, ніж у контрольної групи, ділянки флегмозного запалення з гістолізом. Кількість лейкоцитів складала $47,36 \pm 1,87$ екземплярів. Більш виражене почервоніння навколо ран та відсутність струпу відмічено у щурят групи, де обидва «батьки» обкурювалися цигарками з фільтром (ПМБ24). Відмічається часте дифузне просякання еритроцитами з відкладенням гемосидерину та формування некротизованої тканини, інфільтрованої нейтрофілами в глибині дефекту, що може бути пояснене більш інтенсивним гістолізом. Навколо ділянки гнійного запалення спостерігається широке поле набряку та значна гибель м'язової тканини з невеликим прогресуванням гнійного ексудату. Кількість лейкоцитів статистично значуще збільшується ($50,75 \pm 2,09$, $p < 0,05$), порівняно з групою контролю (К24). Стан механічної рани тварин групи, де тютюновим димом від цигарок без фільтру обкурювалися самець і самиця (ВМБ24), характеризується невеликим запаленням та великими некротичними змінами. Грануляційна тканини менш помітна, ніж у групі, де лише самець підлягав впливу тютюновим димом від цигарок без фільтру (ВБ24), що свідчить про патологічні процеси. На тлі збільшення кількості лейкоцитів ($62,67 \pm 3,13$, $p < 0,05$), зменшується площа їх ядер ($12,91 \pm 0,49$, $p < 0,01$), порівняно з контрольною групою К24. У нащадків контрольної групи через 48 годин після нанесення механічної рани (К48) на гістологічному зрізі відмічається порожнина заповнена гнійним ексудатом. Навколо пошкодження грануляційна тканина. У наявності ділянка з гнійним запаленням. Кількість лейкоцитів у фіксованій площі складала $37,88 \pm 1,14$ екземплярів. Дуже васкуляризована грануляційна тканина відмічається у тварин групи, де цигарками з фільтром обкурювався лише самець (ПБ48) на 48 годину ранового процесу. Наявний струп. Під струпом видно грануляційну тканину, а нижче – ділянку гнійного запалення. Щільність лейкоцитів у гнійному ексудаті становила $45,47 \pm 2,44$ екземплярів ($p < 0,05$). Більш широка порожнина, заповнена гнійним ексудатом, спостерігається у тварин групи, де самець і самиця обкурювалися цигарками з фільтром на 48 годин після нанесення механічної рани (ПМБ48). Грануляційна тканина навколо рани мало розвинена. Колаген руйнується. Є ділянки прогресування за типом флегмони, на поверхні – товстий шар некротизованої тканини. Кількість лейкоцитів статистично значуще збільшується ($47,60 \pm 2,12$, $p < 0,05$) порівняно з групою К48. У тварин, виведених з експерименту через 48 годин після нанесення механічної рани, де обкурюванню цигарками без фільтру підлягав самець (ВБ48), у стінці порожнини механічної рани відмічається грануляційна тканина. Кількість лейкоцитів статистично значуще збільшується ($61,75 \pm 3,01$, $p < 0,05$) порівняно з групою К48. На місці нанесення рани у тварин групи, де обкурюванню цигарками без фільтру підлягали обидва «батьки» (ВМБ48), спостерігається дуже велика ділянка з гнійним інфільтратом. Кількість лейкоцитів є статистично значуще вищою ($50,89 \pm 2,41$, $p < 0,05$), порівняно з групою контролю (К48).

Таким чином, порівняння картини запалення в механічній рані щурят, які були виношені в різних умовах відносно обкурювання батьків, свідчить про наявність принципових особливостей. У нащадків, «батько» яких підлягав дії тютюнового диму є ознаки запізнення розвитку запальної реакції (група ПБ24), спостерігаються ділянки гнійного запалення з гістолізом (група ВБ48), тоді як у нащадків, у яких тютюновій інтоксикації підлягали і «батько», і «мати» (група ПМБ24),

спостерігається більш виражена вторинна альтерація, розвивається запалення за типом флегмони. У нащадків, «батько» і «мати» яких обкурювалися цигарками без фільтру (група ВМБ48) відмічаються великі некротичні зміни та патологічний розвиток грануляційної тканини.

Показники крові нащадків. У нашому дослідженні показано, що у тварин груп, де тютюновим димом від цигарок з фільтром та цигарок без фільтру обкурювався лише самець (ПБ24, ВБ24) та обкурювалися самець і самиця (ПМБ24, ВМБ24), статистично значуще зменшився вміст сіромукоїдів порівняно з нащадками контрольної групи (табл.6).

Таблиця 6

Рівень сіромукоїдів та вміст ЦК у крові нащадків, батьки яких підлягали обкурюванню цигарками з фільтром та цигарками без фільтру

групи	К24 (n 5)	ПБ24 (n 5)	ВБ24 (n 10)	ПМБ2 4 (n 7)	ВМБ24 (n 10)	К48 (n 5)	ПБ48 (n 6)	ВБ48 (n 9)	ПМБ4 8 (n 10)	ВМБ4 8 (n 15)
показники										
Сіромукоїди (мг/мл)	3,12± 0,16	2,52± 0,07**	2,4± 0,16**	2,70± 0,08**	2,5± 0,23**	1,1± 0,18	2,22± 0,14**	2,86± 0,15**	0,90± 0,07	2,5± 0,15**
Циркуючі імунні комплекси (мг/мл)	0,16± 0,01	0,20± 0,01	0,14± 0,01	0,17± 0,01	0,17± 0,01	0,14± 0,01	0,21± 0,01**	0,19± 0,01	0,13± 0,01	0,18± 0,01

Примітка: n – кількість нащадків

** - $p < 0,01$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних відносно таких величин у контролі

Проте, необхідно зауважити, що статистично значуще підвищення майже в 2 рази вмісту сіромукоїдів, було відмічено в групах, де тютюновій інтоксикації цигарками з фільтром (ПБ48) та цигарками без фільтру (ВБ48) підлягав лише самець та самиця і самець (ВМБ48), а виведення з експерименту здійснено через 48 годин після нанесення механічної рани, порівняно з контрольною групою (К48) (див. табл.6).

Незагоєння ран у всіх експериментальних тварин групи, де лише самець підлягав обкурюванню цигарками з фільтром (ПБ48) можна пояснити саме підвищеним вмістом сіромукоїдів в їх крові. Саме збільшення сіромукоїдів свідчить про порушення процесів деструкції та проліферації сполучної тканини.

Не менш важливим показником, що відображає стан реактивності є циркулюючі імунні комплекси. У нащадків групи, виведених з експерименту через 48 годин після нанесення механічної рани, де лише самець обкурювався цигарками з фільтром (ПБ48) вміст циркулюючих імунних комплексів статистично значуще збільшився ($0,21 \pm 0,01$ мг/мл; $p \leq 0,01$), що пов'язано з запальними процесами при загоєнні ран. Збільшення циркулюючих імунних комплексів вказує на виражений патологічний процес, специфічність реакції антиген–антитіло, порушення в системі комплементу, фагоцитозу.

Рівень гемоглобіну був статистично значуще меншим у групах, де лише самець (ПБ24) та самець і самиця (ПМБ24) підлягали обкурюванню тютюновим димом від цигарок з фільтром та у щурят групи, де лише самець обкурювався

тютюновим димом від цигарок без фільтру (ВБ48) порівняно з контрольною групою (К24), (табл. 7).

Таблиця 7

**Рівень гемоглобіну, кількість еритроцитів та лейкоцитів у крові нащадків,
батьки яких підлягали обкурюванню цигарками з фільтром
та цигарками без фільтру**

групи	К24 (n 5)	ПБ24 (n 5)	ВБ24 (n 10)	ПМБ24 (n 7)	ВМБ24 (n 10)	К48 (n 5)	ПБ48 (n 6)	ВБ48 (n 9)	ПМБ48 (n 10)	ВМБ48 (n 15)
показники										
Гемоглобін (г/л)	101,2 5±6,4	84,24± 7,73**	112,69± 12,11	64,01± 11,18**	100,44 ±7,40	97,69± 17,27	146,48± 10,96 **	82,12± 6,79**	115,38± 3,90	97,51± 8,07
Еритроцити (млн/мкл)	8,44± 0,48	7,36± 0,6	8,6± 0,35	6,84± 0,32	8,2± 0,44	6,52± 1,24	5,14± 0,47**	5,32± 0,17 **	7,41± 0,31 **	6,3± 0,24
Лейкоцити (тис/мкл)	3,44± 0,07	4,84± 0,41**	3,88± 0,21	4,43± 0,34 **	4,18± 0,33**	4,76± 0,23	6,50± 0,37 **	5,32± 0,34	6,18± 0,48 **	5,98± 0,30**

Примітка: n – кількість нащадків

** - $p < 0,01$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних відносно таких величин у контролі

У нащадків групи ПБ48, виведених з експерименту через 48 годин після нанесення механічної рани, рівень гемоглобіну статистично значуще підвищився порівняно з контрольною (див. табл. 7). З літературних джерел відомо, що підвищення рівня гемоглобіну опосередковано може вказувати на активацію фагоцитарної ланки або на «сигнал» тривоги щодо напруженості первинної ланки імунної системи і можливого подальшого формування імунопатології. З іншого боку, тютюнокуріння призводить до порушення постачання організму киснем за рахунок окису вуглецю, який міститься в цигарковому димі і має властивість безпосередньо блокувати синтез гемоглобіну в еритроцитах.

У нащадків груп ПБ48, ВБ48 кількість еритроцитів статистично значуще зменшилась. У нащадків групи, де цигарками з фільтром обкурювалися самець і самиця та виведених з експерименту через 48 годин після нанесення механічної рани (ПМБ48) цей показник статистично значуще підвищується (див.табл. 7).

Аналізуючи результати багатьох досліджень щодо негативного впливу тютюнокуріння на склад периферичної крові, встановлено, що ці дані часто є розбіжними. Так, при відносно нетривалому стажі тютюнокуріння (не >5 років) спостерігалася тенденція до зменшення абсолютної кількості еритроцитів, а при довготривалому вживанні тютюнової продукції, навпаки – до збільшення кількості цих клітин.

У ході дослідження з'ясовано, що кількість лейкоцитів у крові статистично значуще збільшується у нащадків груп ПБ24, ПБ48, ПМБ24, ПМБ48 порівняно з контрольною групою (див. табл. 7). Збільшення кількості лейкоцитів відмічається у нащадків групи ВМБ24 (див.табл. 7). Збільшення кількості лейкоцитів (лейкоцитоз) в експериментальних групах, ймовірно, пов'язано з больовим впливом та запальними процесами в рані, порушенням регенерації сполучної тканини.

Дослідження вмісту загального білку та білкових фракцій показало, що в групах, де обкурювався лише самець як цигарками з фільтром (ПБ48), так і цигарками без фільтру (ВБ24, ВБ48) та в групах, де тютюнової інтоксикації підлягали обидва «батьки» від цигарок з фільтром (ПМБ48) та цигарок без фільтру (ВМБ24, ВМБ48), загальний білок у нащадків статистично значуще збільшується, порівняно з групами контролю (К24 та К48) (табл. 8).

Таблиця 8

**Вміст загального білку та білкових фракцій у крові нащадків,
батьки яких підлягали обкурюванню цигарками з фільтром та
цигарками без фільтру**

групи показники	К24 (n 5)	ПБ24 (n 5)	ВБ24 (n 10)	ПМБ24 (n 7)	ВМБ24 (n 10)	К48 (n 5)	ПБ48 (n 6)	ВБ48 (n 9)	ПМБ4 8 (n 10)	ВМБ48 (n 15)
Загальний білок (г/л)	78,51± 6,09	72,08± 3,63	81,12± 2,90 *	85,27± 7,27	100,06± 6,94 **	50,46± 2,68	57,43± 1,68**	58,42± 2,45**	64,04± 4,18**	56,84± 2,82 **
Альбумін (%)	57,00± 1,25	53,07± 3,51	50,43± 3,17**	52,1± 2,97	48,23± 1,50 *	50,83± 3,09	42,07± 0,02*	55,06± 3,58	50,71± 2,41	49,16± 1,67
α-глобуліни (%)	19,73± 2,01	24,53± 2,40	22,67± 1,46	23,07± 2,08	22,63± 1,27	32,80± 2,80	22,33± 0,97*	29,85± 1,22	29,72± 1,24	24,65± 3,62 **
β-глобуліни (%)	13,13± 1,98	18,03± 0,92**	17,57± 2,09,**	16,13± 2,31	17,92± 1,62**	14,20± 1,73	16,12± 0,19**	15,96± 0,94	14,52± 1,81	15,04± 1,91
γ-глобуліни (%)	10,30± 1,27	6,63± 0,35*	9,53± 0,31	10,97± 0,23	11,90± 0,92	6,03± 1,00	8,60± 0,91*	6,18± 0,70	4,76± 0,85	6,30± 0,49

Примітка: n – кількість нащадків

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних відносно таких величин у контролі

Кількість альбуміну статистично значуще зменшується в групах, де тютюнової інтоксикації від цигарок без фільтру підлягав лише самець (ВБ24) та самець і самиця (ВМБ24) та цигарками з фільтром обкурювався лише самець (ПБ48). Статистично значуще зменшення α-глобулінів відмічається у тварин, виведених з експерименту через 48 годин після нанесення механічної рани (ПБ48, ВМБ48). Разом з тим, у групах, де обкурюванню цигарками з фільтром підлягав лише самець, а виведення з експерименту здійснено через 24 години (ПБ24) та 48 годин (ПБ48) після нанесення механічної рани, знижується вміст β-глобулінів, а в групах, виведених з експерименту через 24 години після нанесення механічної рани, де цигарками без фільтру обкурювалися лише самець (ВБ24) та самець і самиця (ВМБ24) цей показник підвищується. У тварин групи, виведених з експерименту через 24 години після нанесення механічної рани (ПБ24) рівень γ-глобулінів зменшується порівняно з групою контролю (К24). У нащадків групи, виведених з експерименту через 48 годин після поранення (ПБ48) цей показник збільшується (див. табл. 8).

З метою оцінки впливу різних доз тютюнового диму на надниркові залози і лейкоцити нами був встановлений вплив цього фактору на означені показники за допомогою дисперсійного однофакторного аналізу. Так, встановлено, що різний

вміст нікотину та смол впливає на ширину клубочкової та пучкової зон надниркових залоз. Також виявлено, що має місце статистично значущий вплив різного вмісту нікотину та смол, що міститься в цигарках з фільтром та цигарках без фільтру на кількість лейкоцитів в механічній рані нащадків, що є свідченням запалення при рановому процесі.

Таким чином, тютюновий дим здійснює комплексний вплив на тимус, надниркові залози і показники крові нащадків, що в результаті призводить до зниження репаративних можливостей тканин, котрі входять до складу шкіри та порушуються при нанесенні механічної травми, про що свідчить порушення у них виразності ознак запалення та гальмування репарації ранового процесу. Такі наслідки є свідченням зниження реактивності у нащадків, батьки яких підлягали пасивному тютюнокурінню.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі, відповідно до поставленої мети отримані нові дані щодо наслідків у нащадків щурів, батьки яких підлягали пасивному тютюнокурінню. Досліджено особливості морфофункціонального стану тимуса, надниркових залоз та ранового процесу які залежали від того, хто з членів «подружньої пари» (самець або самець і самиця) обкурювався та вмісту нікотину в цигарках. Показано, що рановий процес у нащадків, народжених від батьків, що підлягали обкурюванню цигарками без фільтру, протікав повільніше з більш вираженими запальними процесами.

1. Виявлено підвищення у щурів-батьків у сироватці крові вмісту головного метаболіту нікотину – котиніну – порівняно з показниками контрольних тварин (відповідно на 28%, та на 30%), що є доказом тютюнової інтоксикації щурів. При подачі тютюнового диму поведінкові реакції щурів-батьків характеризувалися активністю рухів, обстеженням тваринами камери, агресивністю, а також наявністю дефекацій та уринацій. У щурів візуально збільшувалася частоти дихальних рухів та серцевих скорочень.

2. Встановлено, що хронічне обкурювання щурів-батьків цигарками з фільтром призводить до зниження індексу виживання нащадків (0,71), особливо у групі, де обкурюванню підлягали і самець, і самиця (група ПМБ) у порівнянні з контрольною (0,97); прискорення фізичного розвитку нащадків, батьки яких підлягали хронічній тютюновій інтоксикації, характеризувалося більш ранніми строками відлипання вушної раковини, появи та генералізованого росту волосяного покриву, відкриття очей порівняно з щурятами контрольної групи.

3. Встановлено, що пасивне тютюнокуріння батьків викликає характерні адаптаційні зміни тимуса і надниркових залоз у їх нащадків. Найбільші морфофункціональні зміни тимуса відбулися у щурят на 24 год після нанесення механічної рани в групах, де хронічній тютюновій інтоксикації підлягав лише самець (ПБ24) та самець і самиця (ПМБ24, ВМБ24). В групі ВМБ24 відмічали збільшення площі ядер епітеліоцитів на 17% порівняно з контрольною групою. Установлено гіперплазію пучкової зони кори (групи ПМБ24, ПМБ48), зменшення проліферації спонгіоцитів, що компенсаторно приводило до їх підвищеної функціональної активності (групи ПБ24, ПБ48, ВБ24, ВМБ24, ВБ48, ВМБ48).

4. Виявлено різноспрямовані зміни рівня кортикостерону у плазмі нащадків-щурят. У щурят групи ПМБ24 рівень кортикостерону підвищився на 19% , групи ВМБ24 на 9%, ПМБ48 – на 18% (обкурювалися самець і самиця). Протилежні дані отримали у щурят груп, де обкурювався лише самець. У нащадків групи ПБ24 рівень кортикостерону знизився на 16%, у групі ПБ48 – на 18% . На 15% рівень кортикостерону знизився у нащадків групи ВМБ24 (обкурювалися самець і самиця).

5. Показано, що рановий процес у щурят-нащадків, які були виношені в різних умовах відносно обкурювання батьків, мав принципові особливості, що пов'язані з наявністю гнійного запалення з гістолізом (група ВБ24), розвитком флегмони (група ПМБ24), великими некротичними змінами та патологічним розвитком грануляційної тканини (група ВМБ48).

6. Вміст циркулюючих імунних комплексів порівняно з контрольною групою збільшився у нащадків групи ПБ48 на 50%. Вміст сіромукоїдів у нащадків всіх груп на 24 год після нанесення механічної рани зменшується (у групі ПБ24 на

19%, у групі ПМБ24 – на 13%), тоді як на 48 год після нанесення механічної рани збільшується на 50% порівняно з контрольною групою.

7. Показано збільшення вмісту загального білку у нащадків всіх груп на 48 год після нанесення механічної рани та у нащадків груп ВБ24, ВМБ24 на 24 год після нанесення механічної рани.

8. Виявлено підвищення рівня гемоглобіну у нащадків групи ПБ48 на 50% порівняно з контрольною, тоді як у нащадків груп ПБ24, ПМБ24 рівень гемоглобіну зменшився відповідно на 17% та на 37% у порівнянні з контрольною групою. Кількість еритроцитів у групах ПБ48, ВБ48 зменшилася відповідно на 21% та 18% порівняно з контролем. Установлено підвищення порівняно з контрольною групою кількості лейкоцитів в крові нащадків груп ПБ24, ПМБ24, ВМБ24, ПБ48, ПМБ48.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ, в яких висвітлені основні результати роботи:

Статті у міжнародних наукових виданнях:

1. **Tkachenko VM, Komisova TE.** The offspring-rats resistance state, carried under the secondhand parental smoke conditions. *United-Journal.* 2020; 33:4-9. *(Особистий внесок здобувача: виготовлення зразків для гістології, аналіз).*

Статті у фахових виданнях:

1. **Ткаченко В.М.,** Комісова Т.Є., Губіна-Вакулік Г.І. Вплив тютюнопаління батьків на стан механічної рани нащадків в експерименті. *Український морфологічний альманах.* 2010;8(2):215-216. *(Особистий внесок здобувача: виготовлення зразків для гістології, підрахунок кількості нейтрофілів, статистична обробка даних).*

2. **Ткаченко В.М.,** Комісова Т.Є. Морфофункціональний стан надниркових залоз нащадків-щурів, виношених в умовах батьківського паління, яким була нанесена механічна рана. *Біологія та валеологія.* 2016;18:92-97. *(Особистий внесок здобувача: морфологічне дослідження наднирників, аналіз, статистична обробка даних).*

3. **Ткаченко В.М.,** Комісова Т.Є. Фізичний розвиток нащадків-щурів, виношених в умовах хронічної тютюнової інтоксикації їхніх батьків. *Український журнал медицини, біології та спорту.* 2017;2(4):246-252. *(Особистий внесок здобувача: визначення індексу виживання, аналіз, статистична обробка даних).*

4. **Ткаченко В.М.,** Комісова Т.Є. Віддалені наслідки пасивного куріння батьків на морфофункціональний стан тимуса в їхніх нащадків. *Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. Серія: Біологічні науки.* 2019; 3(387):148-153. *(Особистий внесок здобувача: виготовлення зразків для гістології, підрахунок та каріометрія спонгіоцитів, аналіз, статистична обробка даних).*

5. **Tkachenko VM, Komisova TE.** Long-Term Effects of Parents' Passive Smoking on the Morphofunctional Status of Adrenal Glands and Thymus in their Descendants. *Український журнал медицини, біології та спорту.* 2019; 5(21):345-352. *(Особистий внесок здобувача: виготовлення зразків для гістології, проведення гістологічного дослідження надниркових залоз і тимуса, аналіз, статистична обробка даних).*

6. **Ткаченко В.М.,** Комісова Т.Є., Галій А.І. Наслідки впливу тривалого пасивного батьківського тютюнопаління на стан ранового процесу, надниркові залози та рівень кортикостерону у нащадків-самиць щурів. *Проблеми ендокринної патології.* 2021; 2:102-109 *(Особистий внесок здобувача: виготовлення зразків для гістології, проведення гістологічного дослідження надниркових залоз, визначення рівня кортикостерону, аналіз, статистична обробка даних).*

Статті у інших виданнях:

1. **Ткаченко В.М.,** Комісова Т.Є. Показники крові нащадків, батьки яких підлягали тютюновій інтоксикації. *Науковий вісник МДУ ім. В.О. Сухомлинського.* 2009;24:4(1):122-124 *(Особистий внесок здобувача: дослідження показників крові, аналіз, статистична обробка даних).*

2. **Ткаченко В.М.,** Комісова Т.Є. Стан механічної рани нащадків, батьки яких підлягали хронічній тютюновій інтоксикації. *Біологія та валеологія.* 2015;17:90-94. *(Особистий внесок здобувача: виготовлення зразків для гістології, підрахунок кількості лейкоцитів, статистична обробка даних).*

Які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. **Ткаченко В.М.**, Комісова Т.Є. Вміст загального білку нащадків-щурів, батьки яких підлягали тютюновій інтоксикації. XIII Міжнародна наукова конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання сучасної медицини», 2016 р.: тези доп. Харків, 2016. С.142-143 (*Особистий внесок здобувача: визначення вмісту загального білку у крові нащадків щурів, статистична обробка даних*).
2. **Ткаченко В.М.**, Комісова Т.Є. Вміст гемоглобіну та кількість еритроцитів у нащадків щурів, батьки яких підлягали тютюновій інтоксикації. Сьогодення біологічної науки: матеріали II Міжнародної наукової конференції 09-10 лист. 2018 р.: тези доп. Суми, 2018. С. 227-229. (*Особистий внесок здобувача: визначення вмісту гемоглобіну та кількості еритроцитів у крові нащадків щурів, статистична обробка даних*).
3. **Ткаченко В.М.** Вміст білкових фракцій у крові нащадків щурів, батьки яких підлягали тютюновій інтоксикації. Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку і корекції патологічних станів: матеріали міжвузівської науково-практичної конференції молодих учених та студентів з міжнародною участю 5-6 квіт. 2019 р.: тези доп. Харків, 2019. С.43. (*Особистий внесок здобувача: визначення вмісту білкових фракцій у крові нащадків щурів, статистична обробка даних*).

АНОТАЦІЯ

Ткаченко В.М. Морфофункціональні особливості тимуса, надниркових залоз і показники крові щурів на тлі механічної рани при хронічній тютюновій інтоксикації їхніх батьків. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – «Фізіологія людини та тварини». – Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ, 2021.

У дисертаційній роботі експериментально доведено, що пасивне батьківське куріння призводить до порушення імуноендокринної системи, а саме морфофункціонального стану тимуса та надниркових залоз нащадків на тлі механічної рани.

На тлі перебігу першої фази ранового процесу виявлено зменшення епітеліальних клітин та ознаки деструкції ядерного апарату у мозковій речовині тимуса нащадків. У щурят експериментальних груп встановлено ознаки підвищеного морфофункціонального стану пучкової зони надниркових залоз та різнонаправлений рівень кортикостерону, що призвело до пригнічення реактивності, яке негативно вплинуло на нормальний перебіг загоєння ран.

Перебіг ранового процесу у нащадків залежав від вмісту нікотину і смол у цигарках та від моделі куріння у подружній парі (курить лише батько або обидва батьки). Показано, що у нащадків, батьки яких обкурювалися цигарками з фільтром, динаміка загоєння рани характеризувалася посиленням вторинної альтерації навколо пошкодженої ділянки та розвитком флегмони. У нащадків, батьки яких обкурювалися цигарками без фільтру, під час ранового процесу відмічалися ділянки з гнійним інфільтратом та великими некротичними змінами.

У нащадків експериментальних груп виявлено збільшення кількості лейкоцитів у крові, зменшення або підвищення вмісту загального білку, сіромукоїдів та фракцій білків. Зміни показників крові у більшому ступені були виражені у нащадків-щурят, батьки яких обкурювалися цигарками без фільтру.

Встановлено, що хронічна тютюнова інтоксикація батьків призводить до зниження індексу виживання нащадків та до скорочення строків їхнього фізичного розвитку, особливо у групі, де обкурювалися самець і самиця.

Ключові слова: пасивне куріння, тимус, надниркові залози, спонгіоцити, кортикостерон, механічна рана, показники крові, фізичний розвиток.

АННОТАЦІЯ

Ткаченко В.Н. Морфофункціональні особливості тимуса, надпочечників і показателі крові крыс на фоні механічної рани при хронічній табачній інтоксикації їх родителів. – На правах рукописи.

Дисертація на соискание ученої ступені кандидата біологічних наук по спеціальності 03.00.13 – «Фізіологія людини і тварин». – Інститут фізіології ім. А. А. Богомольця НАН України, Київ, 2021.

В дисертаційній роботі експериментально доведено, що пасивне курення родителів приводить до порушень імуноендокринної системи, а саме морфофункціонального стану тимуса і надпочечників на фоні механічної рани.

На фоні протекання першої фази раневого процесу виявлено зменшення епітеліальних кліток і ознаки деструкції ядерного апарату в мозговому речовині тимуса потомків. У крыс експериментальних груп встановлено ознаки підвищеного морфофункціонального стану пучкової зони надпочечників і різнонаправлений рівень кортикостерона, що привело до угнетення реактивності, яке негативно вплинуло на нормальне протекання заживлення рани.

Протекання раневого процесу у потомків залежало від вмісту нікотину і смол в сигаретах і від моделі курення в подружній парі (курить тільки батько або обидва батьки). Показано, що у потомків, батьки яких обкурювалися сигаретами з фільтром, раневий процес характеризувався посиленням вторичної альтерації навколо пошкодженої ділянки і розвитком флегмони. У потомків, батьки яких обкурювалися сигаретами без фільтра, в час раневого процесу відзначалися ділянки з гнійним інфільтратом і великими некротическими змінами.

У потомків експериментальних груп виявлено збільшення кількості лейкоцитів в крові, зменшення або підвищення вмісту загального білку, сіромукоїдів і фракцій білків. Зміни показників крові в більшій ступені були виражені у потомків-крыс, батьки яких обкурювалися сигаретами без фільтра.

Установлено, что хроническая интоксикация табачным дымом родителей приводит к снижению индекса выживания потомков и к сокращению сроков их физического развития, особенно в группе, где обкуривались самец и самка.

Ключевые слова: пассивное курение, тимус, надпочечники, спонгиоциты, кортикостерон, механическая рана, показатели крови, физическое развитие.

ANNOTATION

Tkachenko VN. Morphofunctional features of the thymus, the adrenal glands and the levels of rats' blood on the background of the mechanical wound in case of chronic tobacco intoxication of their parents.

The dissertation on a scientific degree of the candidate of biological sciences for specialty 03.00.13 – "Physiology of human and animals". – Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv, 2021.

It has been experimentally proven that passive smoking by parents leads to a violation of the immune endocrine system, namely the morphofunctional state of the thymus and adrenal glands against the background of a mechanical wound.

Against the background of the course of the first phase of the wound process, a decrease in epithelial cells and signs of destruction of the nuclear apparatus in the thymus medulla of the offspring were revealed. In rat pups of the experimental groups, signs of an increased morphofunctional state of the fascicular zone of the adrenal glands and a multidirectional level of corticosterone were established, which led to inhibition of reactivity, which negatively affected the normal course of wound healing.

The course of the early process in offspring depended on the content of nicotine and tar in cigarettes and on the smoking model in a married couple (only the father or both parents smoked). It was shown that in the descendants of whose parents were smoked with filter cigarettes, the wound process was characterized by an increased in secondary alteration around the damaged area and the development of phlegmon. In the offspring, whose parents were smoked with cigarettes without a filter, during the wound process, areas with purulent infiltration and large necrotic changes were noted.

The offspring of the experimental groups, an increase in the number of leukocytes in the blood was revealed, a decrease or increase in the content of total protein, seromucoids and protein fractions. Changes in blood counts were more pronounced in the offspring-rat pups whose parents were smoked with non-filter cigarettes.

It was found that chronic intoxication with tobacco smoke from parents leads to a decrease in the survival index of offspring and to a reduction in the timing of their physical development, especially in the group where the male and female were smoked.

Key words: passive smoking, thymus, adrenal glands, spongiocytes, corticosterone, mechanical wound, blood counts, physical development.