

УДК 616-008.9-092:612.08

КП

№ ДР 0119U103898

Інв. №

Міністерство охорони здоров'я України
Полтавський державний медичний університет
36013, м. Полтава, вул. Шевченка, 23; тел. (0532) 60-20-51, факс 60-20-51

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Ректор ПДМУ

д.мед.н., професор



Вячеслав Ждан

2023.27.12

ЗВІТ ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНУ РОБОТУ

Роль транскрипційних факторів, системи циркадіанного осцилятора та метаболічних розладів в утворенні та функціонуванні патологічних систем (заключний)

Керівник НДР
д.мед.н., професор


2023.26.12

Віталій Костенко

Рукопис закінчено 1 грудня 2023 р.
Результати цієї роботи розглянуто Вченою Радою ПДМУ
протокол від 27.12.2023 р., № 6

Робота виконана згідно з планом за темою «Роль транскрипційних факторів, системи циркадіанного осцилятора та метаболічних розладів в утворенні та функціонуванні патологічних систем», номер держреєстрації 0119U103898, Полтавський державний медичний університет

СПИСОК ВИКОНАВЦІВ

Керівник теми

Завідувач кафедри патофізіології,
доктор медичних наук, професор



Костенко В.О.
(реферат, вступ, висновки)

1.12.2023 р.

Виконавці -



Викладач кафедри патофізіології

Назаренко С.М.
(розділ 1, висновки 1-2)

1.12.2023 р.

Доцент кафедри патофізіології,
кандидат медичних наук, доцент



Соловійова Н.В.
(розділ 2, висновки 3-4)

1.12.2023 р.

Лікар-анестезіолог відділення анестезіології
та інтенсивної терапії КП «Полтавська обласна
клінічна лікарня ім. М.В. Скліфосовського
Полтавської обласної ради».



Таран О.В.
(розділ 2, висновки 3-4)

1.12.2023 р.

Директор Товариства з обмеженою
відповідальністю «Клініка інноваційної
естетичної медицини»



Швайковська О.О..
(розділ 3, висновки 5-6)

1.12.2023 р.

Аспірант кафедри патофізіології



Гутнік О.М.
(розділ 4, висновки 8-9)

1.12.2023 р.

Аспірантка кафедри патофізіології



Волкова О.А.
(розділ 5, висновки 7)

1.12.2023 р.

Асистент кафедри онкології та радіології з
радіаційною медициною



Нестуля К.І.
(розділ 6, висновки 10)

1.12.2023 р.

Відповідальний виконавець -

докторант кафедри патофізіології,
доктор філософії (спеціальність 222- Медицина),
доцент



Акімов О.Є.
(розділ 7, висновки 11-12)

1.12.2023 р.

РЕФЕРАТ

Досліджено роль редокс-чутливих транскрипційних факторів, активних форм кисню та азоту та розладів циркадіанного осцилятора у механізмах системної запальної відповіді (СЗВ) при відтворенні різних патологічних процесів і захворювань: черепно-мозкової травми, експериментальної хірургічної травми (лапаротомії), введенні ліпополісахариду (ЛПС) *Salmonella typhi*, хронічній алкогольній інтоксикації, гострому десинхронозі, висококалорійній дієті, збагаченої фруктозою. На різних моделях системної запальної відповіді показано механізми дизрегуляції у розвитку оксидативно-нітрозативного стресу. Такі порушення супроводжується істотними функціонально-метаболічними розладами різних органів і систем, пов'язаними з гіперпродукцією активних форм кисню і азоту, активацією вільнорадикальних процесів, дерполімеризацією біополімерів сполучної тканини. З'ясовано роль транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 у механізмах розвитку дизрегуляторної патології, що дозволяє оцінити їх патогенетичне значення та нові стратегії профілактики прогресування та лікуванні дизрегуляторних захворювань, а саме хвороб пародонта після експериментальної черепно-мозкової травми, розладів метаболізму за умов хірургічної травми, ушкодження слинних залоз щурів при введенні ЛПС *Salmonella typhi*, метаболічних і функціональних розладів головного мозку та нирок при порушеннях циркадіанного осцилятора на тлі ЛПС-індукованої СЗВ, порушень регенерації кісток нижньої щелепи після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації та системних порушень при відтворенні експериментального метаболічного синдрому. Отримані результати обґрунтовують доцільність застосування специфічних і природних модуляторів транскрипційних факторів та циркадіанного осцилятора як засобів попередження та терапії захворювань, пов'язаних з розвитком СЗВ.

Ключові слова: системна запальна відповідь, редокс-чутливі транскрипційні фактори, оксидативно-нітрозативний стрес, травматичний процес, циркадіанний осцилятор, гострий десинхроноз, метаболічний синдром, пародонт, слинні залози, кістки, головний мозок, нирки, скелетні м'язи, міокард.

ЗМІСТ

СПИСОК ВИКОНАВЦІВ.....	2
РЕФЕРАТ.....	3
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	5
ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. Роль редокс-чутливих транскрипційних чинників у механізмах ушкодження тканин пародонта після експериментальної черепно-мозкової травми.....	10
РОЗДІЛ 2. Роль редокс-чутливих транскрипційних чинників у патогенезі хірургічної травми за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.....	15
РОЗДІЛ 3. Роль редоксчутливих факторів транскрипції у механізмах ушкодження слинних залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.....	20
РОЗДІЛ 4. Роль порушень циркадіанного осцилятора у метаболічних і функціональних розладах нирок при ліпополісахарид-індукованій системній запальній відповіді.....	24
РОЗДІЛ 5. NF-κB-залежні механізми метаболічних та функціональних розладів головного мозку при зміні тривалості циклів «світло-темрява» за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.....	27
РОЗДІЛ 6. Роль транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 у механізмах регенерації кісток нижньої щелепи після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації.....	28
РОЗДІЛ 7. Участь транскрипційного фактору NF-κB у патогенезі ушкоджень міокарду та двоголового м'язу стегна за умов експериментального метаболічного	31
ВИСНОВКИ.....	33
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	36

ОСНОВНА ЧАСТИНА

ВСТУП

У наш час велика кількість країн світу переживає тривалий спад чисельності населення, зокрема країни Західної Європи та ЄС в цілому, північної Америки та Японія. Очікується, що до 2040 року більше 39% їхнього населення складатимуть дорослі віком 60 років і старше. В Україні депопуляція також пов'язана з воєнними діями через повномасштабне вторгнення РФ, у т.ч. внаслідок фізичного та психологічного травмування військових та цивільного населення. Відомий на весь світ хірург Микола Пирогов казав, що війна — це травматична епідемія. За оцінками експертів, внаслідок російської агресії в Україні населення країни може скоротитися на 5-10 мільйонів осіб. Депопуляція населення України є серйозною соціальною і медичною проблемою, яка потребує негайного вирішення.

У більшості розвинених країн скорочення населення спричиняється негативним природним рухом, тому уряди держав змушені компенсувати демографічні проблеми шляхом нарощення сальдо міграцій. У ЄС в останні роки цей процес забезпечується, в значній мірі, за рахунок міграції громадян України. Кількість довгострокових трудових мігрантів, які вирішили не повертатися до України, є майже вдвічі більшою серед молоді порівняно з людьми віком від 45 до 65 років. Тому постає проблема підтримки працездатного стану осіб з посттравматичними ускладненнями та похилого віку, створення медико-соціальних умов для підтримки їх здоров'я та забезпечення активного довголіття, усунення чинників асоційованої з системною запальною відповіддю (СЗВ) патології (посттравматичних ускладнень, атеросклерозу та ішемічної хвороби серця, розладів мозкового кровообігу, артеріальної гіпертензії, ожиріння, цукрового діабету 2-го типу, злоякісних пухлин, остеопорозу, хронічного пародонтиту, нервово-психічних розладів та ін.).

В останні роки була обґрунтована точка зору щодо існування спільних ланок патогенезу, характерних для розвитку різних нозологічних одиниць, що складають хвороби цивілізації, через включення архаїчних адаптивних генетичних програм, які реалізується у відповідь на нові подразники, до яких у процесі еволюції не було сформовано адекватних механізмів пристосування. До цього може призводити надмірне надходження енергетичних субстратів, зниження фізичної активності, зміна спектру інфекційних агентів, особливості світлового режиму тощо. Велике значення у розвитку цих механізмів має активація певних транскрипційних факторів (зокрема, NF- κ B, AP-1, STAT) з подальшою прозапальною гіперцитокінемією, розвитком метаболічних стресів (оксидативного, карбонільного, нітрозативного, редуکتивного та ін.), порушенням балансу проапоптотичних та антиапоптотичних чинників, порушенням біологічних ритмів.

Недостатньо з'ясованим залишається роль центральних та периферичних компонентів біологічного годинника у механізмах розвитку асоційованих з СЗВ захворювань, їх взаємозв'язки з транскрипційними чинниками, що є молекулярно-біологічними тригерами цих патологічних станів.

Відомо, що істотні зміни світлового режиму в умовах сьогодення можуть слугувати причиною порушення функціонування генів, що контролюють центральний «біологічний годинник» – групу нейронів, рівень спайкової активності яких *in vivo* та *in vitro* ритмічно коливається з періодом близько 24-х годин, підвищуючись у денний час і знижуючись уночі. Актуальність цього питання пов'язана зі зростанням використання моніторів комп'ютерів, засобів мобільного зв'язку, LED-ламп, а також залишається важливою для людей, які часто змінюють своє місцеперебування (військові, працівники екіпажів авіаліній і поїздів далекого сполучення, водії транспорту дальніх рейсів, мігранти, мандрівники, бізнесмени, спортсмени, вахтовики та ін.).

Нещодавно виявлено зміни у функціонуванні генів циркадіанного осцилятора та пригнічення синтезу мелатоніну при дії електромагнітних полів, висококалорійної вуглеводно-ліпідної дієти, нікотину, алкоголю, кави та інших стимуляторів центральної нервової системи, багатьох лікарських засобів (бензодіазепінів, β -адреноблокаторів, антагоністів кальцію), що вказує на роль «нештатних» стимулів на функціонування «біологічного годинника».

З'ясування ролі редокс-чутливих факторів транскрипції, компонентів циркадіанного осцилятора людини механізмах розвитку захворювань, асоційованих з воєнними діями, а також хвороб цивілізації дозволить істотно поглибити існуючі уявлення про їх патогенез, розробити нові медичні технології, пов'язані з її профілактикою та лікуванням, зокрема, шляхом визначення раціональних схем призначення певних лікарських засобів, застосування інгібіторів та індукторів специфічних і природних модуляторів транскрипційних чинників.

Мета дослідження. Метою цієї роботи було з'ясування ролі редокс-чутливих транскрипційних факторів та десинхронізації циркадіанних ритмів у механізмах метаболічних розладів у організмі щурів за умов відтворення різних моделей системної запальної відповіді: черепно-мозкової травми, хірургічної травми (лапаротомії), введення ліпополісахариду (ЛПС) *Salmonella typhi*, хронічній алкогольній інтоксикації, гострому десинхронозі, висококалорійній дієті.

Завдання дослідження:

1. З'ясувати дію специфічних модуляторів факторів транскрипції NF- κ B і Nrf2 (піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату відповідно) на показники СЗВ у крові щурів (вміст церулоплазміну та концентрацію сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою), а також стан окисного метаболізму в м'яких тканинах пародонта, показники резорбції альвеолярних відростків щелеп, процесів колагенолізу та деполімеризації протеогліканів і сіалоглікопротеїнів у м'яких і кістковій тканинах пародонта у ранньому посттравматичному періоді після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми.

2. Оцінити дію рослинних біофлавоноїдів епігалокатехіну-3-галату та кверцетину на показники системної запальної відповіді в крові щурів (вміст церулоплазміну та концентрацію сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою), а також стан окисного метаболізму в м'яких тканинах пародонта, показники резорбції альвеолярних відростків щелеп, процесів колагенолізу та деполімеризації протеогліканів і сіалоглікопротеїнів у м'яких і кістковій тканинах пародонта у ранньому посттравматичному періоді після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми.

3. З'ясувати вплив специфічних модуляторів редокс-чутливих транскрипційних чинників NF- κ B та Nrf2 (інгібітора активації NF- κ B піролідиндитіокарбамату амонію та індуктора сигнальної системи Nrf2 / ARE диметилфумарату) на показники, що характеризують хірургічний стрес, СЗВ, вуглеводний і ліпідний метаболізм, систему оксиду азоту та пероксидне окиснення ліпідів у крові щурів, а також маркери ушкодження тонкої кишки (показники оксидативно-нітрозативного стресу та деструкції сполучної тканини) у ранньому післяопераційному періоді (після лапаротомії) на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

4. Оцінити дію водорозчинної форми кверцетину на показники, що характеризують хірургічний стрес, СЗВ, вуглеводний і ліпідний метаболізм, систему оксиду азоту та пероксидне окиснення ліпідів у крові щурів, а також маркери ушкодження тонкої кишки (показники оксидативно-нітрозативного стресу та деструкції сполучної тканини) у ранньому післяопераційному періоді (після лапаротомії) на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

5. Дослідити ефекти індуктора сигнальної системи Keap1 / Nrf2 / ARE епігалокатехін-3-галату та водорозчинної форми кверцетину на показники оксидативно-нітрозативного стресу, деполімеризації колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів піднижньощелепних слинних залоз (СЗ), а також їхню здатність ферментативно забезпечувати травну функцію (за активністю α -амілази) за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

6. Дослідити вплив модуляторів циркадіанного ритму (мелатоніну, глутамату натрію та кверцетину) на функції нирок щурів за умов гострого десинхронозу (ГД) та ЛПС-індукованої СЗВ.

7. З'ясувати закономірності порушень метаболічних процесів та розвитку оксидативно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів при зміні тривалості циклів «світло-темрява», а також за умов поєднання десинхронозу і СЗВ та введення глутамату натрію.

8. Вивчити вплив модуляторів транскрипційних факторів NF- κ B та Nrf2 на біохімічні маркери ремоделювання кісткової тканини, показники оксидативно-нітрозативного стресу та

компоненти позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи щурів у відновлювальному періоді після їхнього неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

9. Вивчити вплив стимуляції активації транскрипційного фактора NF-κB бактеріальним ліпополісахаридом на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу у скелетних м'язах щурів за умов моделювання метаболічного синдрому.

10. Дослідити зміни у продукції активних форм кисню та азоту у серці щурів за умов стимуляції активації транскрипційного фактора NF-κB бактеріальним ліпополісахаридом та моделюванні метаболічного синдрому.

Наукова новизна роботи. Вперше виявлено, що застосування названих специфічних та рослинних модуляторів NF-κB і Nrf2 після моделювання черепно-мозкової травми обмежує резорбцію альвеолярних відростків щелеп, процеси деполімеризації макромолекул сполучної тканини м'яких і твердих структур пародонта.

Вперше виявлено, що застосування епігалокатехіну-3-галату за умов експерименту у меншій мірі обмежує вироблення супероксидного радикала мітохондріями та активність індукбельної NO-синтази у м'яких тканинах пародонта, ніж це забезпечує специфічний інгібітор активації NF-κB – піролідіндитіокарбамат амонію. При введенні епігалокатехіну-3-галату каталазна активність у м'яких тканинах пародонта вірогідно поступається показнику груп з використанням піролідіндитіокарбамату амонію та диметилфумарату, а концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у крові вірогідно перевищує результат групи з введенням кверцетину.

Показано, що введення епігалокатехіну-3-галату та кверцетину за умов експерименту менш ефективно пригнічує деполімеризацію макромолекул сполучної тканини м'яких структур пародонта, ніж застосування специфічних модуляторів активації транскрипційних чинників.

Виявлено, що активація стресреалізуючої системи, маркером якої є збільшення концентрації кортизолу в плазмі крові, та розвиток системної запальної відповіді, маркером якої є збільшення вмісту церулоплазміну в сироватці крові, після лапаротомії на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді пов'язані з позитивним регуляторним впливом транскрипційного чинника NF-κB та негативним регуляторним впливом сигнальної системи Nrf2 / ARE. Застосування інгібітора активації NF-κB піролідіндитіокарбамату амонію та індуктора сигнальної системи Nrf2 / ARE диметилфумарату за умов експерименту значно зменшує концентрацію кортизолу в плазмі крові та вміст церулоплазміну в сироватці крові.

Вперше виявлено, що розвиток гіперглікемії та порушень ліпідного спектру крові, а також зростання показників оксидативно-нітрозативного стресу (в крові та тканинах тонкої кишки) та деполімеризації колагену та сіалоглікопротеїнів (в тканинах тонкої кишки) після лапаротомії на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді пов'язані з позитивним регуляторним впливом транскрипційного чинника NF-κB та негативним регуляторним впливом сигнальної системи Nrf2 / ARE. Застосування інгібітора активації NF-κB піролідіндитіокарбамату амонію та індуктора сигнальної системи Nrf2 / ARE диметилфумарату за умов експерименту виявляють істотний коригуючий вплив на ці процеси.

Виявлено, що введення водорозчинної форми кверцетину порівняно зі специфічними модуляторами редокс-чутливих транскрипційних чинників NF-κB та Nrf2 (піролідіндитіокарбаматом амонію та диметилфумаратом) за умов експерименту більш ефективно коригує концентрацію кортизолу в плазмі крові, вміст холестеролу ліпопротеїнів дуже низької щільності та триацилгліцеролів у сироватці крові, концентрацію вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів при інкубації крові у прооксидантному залізо-аскорбатному буферному розчині; порівняно з диметилфумаратом кверцетин здатний у більший мірі обмежувати колагеноліз у тканинах тонкої кишки щурів.

Вперше доведено роль NF-κB та сигнального шляху Nrf2 / ARE у патогенезі окисно-нітрозативного стресу у слинних залоз при відтворенні ЛПС-індукованої СЗВ. Застосування за цих умов інгібітора ядерної транслокації NF-κB піролідіндитіокарбамату амонію, індуктора Nrf2 епігалокатехін-3-галату та водорозчинної форми кверцетину, який поєднує властивості інгібітора NF-κB та індуктора системи Nrf2 / ARE, обмежує у тканинах піднижньощелепних СЗ ознаки окисно-нітрозативного стресу, зокрема, генерацію супероксидного аніон-радикала,

зменшує у них активність iNOS, знижує вміст пероксинітриту та концентрацію вторинних продуктів ПОЛ, збільшує антиоксидантний потенціал, супероксиддисмутазу та каталазу активність, що супроводжується покращенням функціонального стану залоз (зростає активність α -амілази).

Вперше з'ясувано закономірності впливу модуляторів циркадіанного осцилятора на розлади оксидативного метаболізму у тканинах нирок та їх функцій при ЛПС-індукованій системній запальній відповіді.

Виявлено закономірності участі транскрипційних факторів NF- κ B та Nrf2 у змінах компонентів нітроксидергічної системи (активності конститутивних та індукбельної ізоформ NO-синтази, аргінази, концентрацію пероксинітриту) та розладах метаболічних і біомеханічних порушень у кістках нижньої щелепи щурів після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. З'ясовано ефективність дії водорозчинної форми біофлавоноїду-модулятора транскрипційних факторів NF- κ B та Nrf2 кверцетину на показники метаболічних і біомеханічних змін у кістках нижньої щелепи щурів після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

Практичне значення роботи. Розроблено нові підходи до прогнозування ризику пошкодження пародонта в ранньому посттравматичному періоді після експериментальної ЧМТ при дослідженні показників окисно-нітрозативного стресу та деструкції сполучної тканини пародонта. Одержані результати обґрунтовують доцільність подальшого дослідження модуляторів факторів транскрипції NF- κ B та Nrf2 як потенційних засобів попередження та патогенетичного лікування захворювань пародонта у посттравматичному періоді після ЧМТ.

Запропоновано нові підходи до прогнозування метаболічних розладів у післяопераційному періоді шляхом оцінки показників хірургічного стресу, системної запальної відповіді, оксидативно-нітрозативного стресу та деполімеризації біополімерів сполучної тканини.

Одержані результати обґрунтовують нову стратегію пошуку засобів, що попереджують патологічні наслідки хірургічного стресу та системної запальної відповіді, серед сполук-модуляторів транскрипційних факторів NF- κ B та Nrf2. Результати дослідження дозволяють рекомендувати водорозчинну форму кверцетину (корвітин) для подальшого дослідження як перспективний засіб профілактики системних ускладнень при хірургічних втручаннях особливо за умов хронічного низькоінтенсивного запалення з ознаками системної запальної відповіді.

Отримані результати обґрунтовують доцільність застосування модуляторів транскрипційних факторів NF- κ B та Nrf2 як засобів попередження та терапії запально-дистрофічних захворювань слинних залоз на тлі СЗВ.

На підставі з'ясування закономірностей впливу модуляторів циркадіанного осцилятора на розлади оксидативного метаболізму у тканинах нирок при ЛПС-індукованій системній запальній відповіді розроблено нові підходи до патогенетичної терапії функціонально-метаболічних розладів нирок.

Запропоновано винахід «Суміш для приготування кисневого коктейлю, збагачена іонами цинку» (патент України на винахід № 126495), «Спосіб спектрофотометричного визначення концентрації сульфідів у продуктах харчування тваринного походження» (патент України на корисну модель № 151753), «Спосіб спектрофотометричного визначення концентрації фторидів у продуктах харчування рослинного та тваринного походження» (патент № 148815).

Оформлено нововведення:

1. Спосіб спектрофотометричного визначення концентрації фторидів у продуктах харчування рослинного та тваринного походження. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я, випуск № 8. 2022. Реєстр. № 36/8/22. С.50-51.

2. Спосіб діагностики стану антиоксидантного захисту організму. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я, випуск № 8. 2022. Реєстр. № 119/8/22. С.148-149.

3. Спосіб експериментальної терапії хронічного пародонтиту за умов системної запальної відповіді. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження

досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я, випуск № 8. 2022. Реєстр. № 120/8/22.С.150.

4. Спосіб експериментальної терапії окисно-нітрозативного стресу. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я, випуск № 8. 2022.Реєстр. № № 155/8/22 С.185-186.

5. Спосіб спектрофотометричного визначення концентрації кортизолу у продуктах харчування тваринного походження. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я, випуск № 9. 2023. Реєстр № 48/9/23

6. Спосіб спектрофотометричного визначення концентрації сульфідів у продуктах харчування тваринного походження. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я, випуск № 9. 2023. Реєстр № 49/9/23

Оформлено технології:

1. Технологія оцінки системної дії біологічно активних хірургічних шовних матеріалів / Костенко В. О., Міщенко А. О., Соловйова Н. В., Акімов О. Є., Костенко В. Г. Реєстраційна картка технології № 0623U000057

2. Технологія оцінки токсичної дії відпрацьованого моторного масла / Костенко В. О., Міщенко А. О., Соловйова Н. В., Акімов О. Є., Костенко В. Г. Реєстраційна картка технології № 0623U000055

3. Технологія моделювання метаболічного синдрому / Костенко В. О., Міщенко А. О., Соловйова Н. В., Акімов О. Є., Костенко В. Г. Реєстраційна картка технології № 0623U000056

4. Технологія експериментальної терапії хронічного пародонтиту за умов системної запальної відповіді / Костенко В. О., Соловйова Н. В., Міщенко А. О., Акімов О. Є., Костенко В. Г. Реєстраційна картка технології № 0623U000068

5. Технологія експериментальної терапії дисфункції слинних залоз при дії на органи ротової порожнини метилового ефіру метакрилової кислоти / Костенко В. О., Соловйова Н. В., Міщенко А. О., Акімов О. Є., Костенко В. Г. Реєстраційна картка технології № 0623U000089

6. Технологія оптимізації репаративних процесів у хірургічній рані / Костенко В. О., Соловйова Н. В., Міщенко А. О., Акімов О. Є., Костенко В. Г. Реєстраційна картка технології № 0623U000064.

Підписано договір з Полтавським державним аграрним університетом щодо трансферу технологій.

Результати роботи впроваджено у науково-педагогічний процес на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету; кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету; кафедрі медичної біології та фізики, мікробіології, гістології, фізіології та патофізіології Чорноморського національного університету імені Петра Могили; кафедрі анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії Харківської медичної академії післядипломної освіти (цикл «Загальна патофізіологія в клінічній медицині для лікарів усіх спеціальностей, наукових співробітників та викладачів»).

РОЗДІЛ 1

Роль редокс-чутливих транскрипційних чинників у механізмах ушкодження тканин пародонта після експериментальної черепно-мозкової травми

Матеріали та методи дослідження. Досліди проведені 70 щурах-самцях лінії Вістар масою (225 ± 20) г, яких утримували за умов 12-годинного циклу світло-темрява, за контрольованого температурного режиму (22.0 ± 2.0 °C), вологості ($55.0 \pm 5.0\%$), за щурами було організовано належний догляд. Тварини мали необмежений доступ до стандартного комбікорму (згідно з нормами повноцінного раціону) та водопровідної води. Щурів відлучали від корму за 12 годин до введення у наркоз.

Комісією з етичних питань та біоетики Полтавського державного медичного університету у складі, затвердженому ректором (наказ № 292 від 30.09.2022 р.) на своєму засіданні (протокол № 213 від 22.02.2023 р.) розглянуто матеріали по виконанню дисертаційної роботи та було визначено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам, порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено. При маніпуляціях з тваринами дотримувалися загальних етичних принципів роботи з експериментальними тваринами, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001 р.), положень «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 18 березня 1986 р.), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», а також рекомендацій Європейського наукового фонду щодо використання тварин у дослідженнях.

Розподіл щурів за групами наведений у таблиці 1.1.

Таблиця 1.1

Розподіл піддослідних тварин за групами

№ групи	Умови експерименту	Кількість тварин
1-ша	Інтактні тварини	10
2-га	Відтворення «хибної» ЧМТ	10
3-тя	Моделювання ЧМТ (дослідження на 7-му добу після відтворення ЧМТ)	10
4-та	Застосування специфічного інгібітора ядерної транслокації NF-κB піролідіндітіокарбамату амонію після відтворення ЧМТ	10
5-та	Введення специфічного індуктора системи Nrf2 / ARE диметилфумарату після відтворення ЧМТ	10
6-та	Застосування біофлавоноїду епігало-катехін-3-галату після відтворення ЧМТ	10
7-ма	Застосування біофлавоноїду кверцетину після відтворення ЧМТ	10

Методика моделювання черепно-мозкової травми. Моделювали ЧМТ середнього ступеня тяжкості. Після наркотизації тварин інгалаційним етерним наркозом виконували фіксацію щурів, поміщаючи їхні голови під металеві трубки, через які з висоти 65 см забезпечували вільне падіння вантажу масою 66.7 г. Це дозволяло одержувати удар з енергією 0.425 Дж.

При відтворенні «хибної» ЧМТ щурів вводили у наркотичний стан шляхом застосування інгалаційного етерного наркозу. Далі після їхньої фіксації шкіру голови стиснювали затискачем Мікуліча на одне клацання.

Модулятори факторів транскрипції NF-κB та Nrf2. Тваринам 4-ї та 5-ї груп після ЧМТ протягом 7-днів внутрішньоочеревинно вводили специфічні модулятори факторів транскрипції NF-κB та Nrf2: піролідіндітіокарбамат амонію та диметилфумарат (таблиця 1.2). Щурам 6-ї та

7-ї групи після ЧМТ протягом 7-днів внутрішньоочередово вводили біофлавоноїди-модулятори факторів транскрипції NF-κB та Nrf2 епігалокатехін-3-галат та кверцетин (корвітин).

Щурам контрольної групи замість цих речовин внутрішньоочередово вводили 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію («плацебо»).

Таблиця 1.2

Специфічні та природні модулятори факторів транскрипції
NF-κB та Nrf2, що використовувалися в дослідженні

Назва сполуки	Призначення	Походження	Денна доза
Піролідіндитіо-карбамат амонію	Специфічний інгібітор NF-κB	“Sigma-Aldrich, Inc.”, США	76 мг/кг
Диметилфумарат	Специфічний індуктор системи Nrf2 / ARE	“Sigma-Aldrich, Inc.”, США	15 мг/кг у 10% розчині диметилсульфоксиду
Епігалокатехін-3-галат	Біофлавоноїд, що належать до групи катехинів	“Sigma-Aldrich, Inc.”, США	20 мг/кг
Кверцетин у вигляді комплексу з полівінілпіролідом(корвітин)	Біофлавоноїд, що належать до групи флавонолів	ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна	100 мг/кг (10 мг/кг у перерахунку на кверцетин)

Біохімічні методи дослідження. Швидкість продукування супероксидного аніон-радикала ($\cdot\text{O}_2^-$) в гомогенаті м'яких тканин пародонта визначали за реакцією з нітросинім тетразолієм (НСТ) (Костенко В.О., Цебринський О.І., 2000). Як індуктори цієї реакції застосовували NADPH (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США), NADH (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) та ліпополісахарид *Salmonella typhi*, що дозволяє оцінювати генерування $\cdot\text{O}_2^-$ відповідно NADPH-залежними електронно-транспортними ланцюгами (мікросомальними монооксигеназами і синтазою монооксиду нітрогену), NADH-залежним дихальним ланцюгом мітохондрій та NADPH-оксидазою лейкоцитів.

Для оцінки показників нітрозативного стресу визначали у м'яких тканинах пародонта сумарну активність NO-синтази, нітрат- та нітритредуктазну активність, а також концентрацію пероксинітрит-іонів (ONOO^-). Сумарну активність NO-синтази (КФ 1.14.13.39) визначали за різницею концентрації нітрит-йонів до та після інкубації гомогенату тканин у середовищі, що містить L-аргінін і NADPH (Akimov O.Ye., Kostenko V.O., 2016). Концентрацію нітрит-іонів (NO_2^-) визначали шляхом визначення діазосполук, що утворилися у реакції з сульфаніловою кислотою, а потім проводили реакцію з α -нафтиламіном (реактив Грісса-Ілосвая). Для оцінки активності конститутивних ізоформ ферменту (cNOS) додавали 1% розчин аміногуанідину гідрохлориду (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США). Активність iNOS визначали за формулою: Активність iNOS = Сумарна активність NOS — Активність cNOS. Розраховували індекс спряження (coupling) cNOS як відношення активності cNOS до швидкості вироблення $\cdot\text{O}_2^-$. Цей індекс характеризує наявність субстратів (L-аргінін, O_2) і кофактора тетрагідробіоптерину (BH_4) для утворення NO, а не $\cdot\text{O}_2^-$ при окисному метаболізмі L-аргініну (Mys L.A. et al., 2018). Нітратредуктазну (КФ 1.7.99.43) та нітритредуктазну (КФ 1.7.1.4) активність оцінювали за різницею концентрації нітритів та нітратів до та після інкубації гомогенату тканин в умовах

присутності донора електронів у вигляді водного розчину NADH (Храмов В.А., 1992). Методика визначення концентрації пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів в гомогенаті базується на їхній здатності відновлювати атомарний йод із солей калію (Шрайбман Г.Н. и соавт., 2011).

Рівень ПОЛ у тканинах оцінювали за утворенням у реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами забарвленого триметінового комплексу (Кайдашев І.П. та співавт., 2003). Активність антиоксидантної системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних продуктів за час 1,5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині, а також за активністю СОД (Кайдашев І.П. та співавт., 2003) і каталази (Королюк М.А. та співавт., 1988).

Досліджували вміст у м'яких і кістковій тканинах пародонта мономеру колагену – вільного оксипроліну (Тетянец С.С., 1985). Стан деполімеризації протеогліканів і сіалоглікопротеїнів оцінювали шляхом визначення їх складових – глікозаміногліканів (ГАГ) (Шараев П.Н. та співавт., 1987) та N-ацетилнейрамінової кислоти (Кайдашев І.П. та співавт., 2003).

Оцінка показників інтенсивності системної запальної відповіді. Концентрацію церулоплазміну у сироватці крові досліджували методом, який оснований на окисненні *n*-фенілендіаміну, що відбувається за участю церулоплазміну (Кайдашев І.П. та співавт., 2003). Рівень ПОЛ у крові оцінювали за концентрацією ТБК-реактантів (Кайдашев І.П. та співавт., 2003). Антиоксидантний потенціал оцінювали шляхом визначення приросту концентрації ТБК-реактантів за час 1,5-годинної інкубації крові у прооксидантному залізоаскорбатному буферному розчині.

Патоморфологічні методи дослідження. За допомогою світлового мікроскопу «Carl Zeiss» з використанням окуляр-мікрометра МОВ-1-15^x оцінювали відстань від краю зубної альвеоли до нижнього краю зубної коронки (L_0) і відстань від краю альвеоли до верхнього краю зубної коронки (L_1) з подальшим розрахунком коефіцієнту оголення коренів молярів (K) за формулою: $K = L_0 / L_1$ (Кайдашев І.П. та співавт., 2003).

Статистичні розрахунки проводили з використанням програми “StatisticSoft 6.0”. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Вілکا. Якщо дані відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували *t*-критерій Стьюдента для незалежних вибірок. У випадку, коли ряди результатів не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – *U*-критерій Манна-Уїтні. Для множинного порівняння застосовували поправку Бонфероні, а при розподілі, який відрізняється від нормального, – критерій Краскела-Уоліса.

Результати дослідження. Виявлено, що моделювання черепно-мозкової травми середнього ступеня тяжкості на відміну від «хибного» травмування викликає наприкінці раннього посттравматичного періоду (на 7 добу) системні прозапальні та прооксидантні зміни (збільшення у крові концентрації гострофазового білка – церулоплазміну – в 1.56 раза, $P < 0.001$, а також вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів – сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою – в 1.78 раза, $P < 0.001$) та локальні порушення окисного метаболізму в м'яких тканинах пародонта (зростання продукції супероксидного радикала всіма його головними джерелами – мікросомами в 1.52 раза, $P < 0.01$, мітохондріями в 1.94 раза, $P < 0.01$, та лейкоцитарною NADPH-оксидазою в 1.64 раза, $P < 0.01$; NO-синтазної активності за рахунок індукбельного ізоферменту в 1.66 раза, $P < 0.05$, при зменшенні активності конститутивних ізоформ в 1.85 раза, $P < 0.01$, з переходом її у неспряжений стан, що супроводжується зростанням концентрації пероксинітриту в 1.61 раза, $P < 0.01$, та концентрації сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою, в 1.49 раза, $P < 0.001$, зменшенням антиоксидантного потенціалу та активності супероксиддисмутазно-каталазної системи).

Відтворення черепно-мозкової травми супроводжується зростанням наприкінці раннього посттравматичного періоду (на 7 добу) резорбції альвеолярних відростків щелеп (коефіцієнт оголення коренів молярів збільшувався в 1.18 раза, $P < 0.01$), підвищенням процесів колагенлізу та деполімеризації протеогліканів і сіалоглікопротеїнів у м'яких і кістковій тканинах пародонта (відповідні значення концентрації вільного оксипроліну зростали вдвічі, $P < 0.001$, гексуранових кислот – у 1.55 та 1.6 раза, $P < 0.001$, N-ацетилнейрамінової кислоти – в 1.86 та 2.19 раза, $P < 0.001$).

Вперше виявлено, що специфічних модуляторів транскрипційних чинників NF- κ B і Nrf2 (піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату відповідно) після моделювання черепно-мозкової травми значно зменшує наприкінці раннього посттравматичного періоду (на 7 добу) показники системної запальної відповіді в крові щурів (вміст церулоплазміну в 1.23 раза та 1.2 раза, $P < 0.001$, концентрацію сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою, в 1.76 та 1.7 раза, $P < 0.001$) та локальні порушення окисного метаболізму в м'яких тканинах пародонта (знижує продукцію супероксидного радикала мітросомами в 1.32 раза, $P < 0.01$, та 1.18 раза, $P < 0.05$, мітохондріями в 1.6 раза, $P < 0.001$, та 1.31 раза, $P < 0.01$, та лейкоцитарною NADPH-оксидазою в 1.41 раза, $P < 0.01$, та 1.28 раза, $P < 0.02$, NO-синтазну активність за рахунок індукцибельної ізоформи цього ферменту в 3.81 раза, $P < 0.001$, та 2.13 раза, $P < 0.01$, збільшує активність та спряження конститутивних NO-синтаз, обмежує концентрацію пероксинітриту в 1.41 та 1.37 раза, $P < 0.01$, та сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою, в 1.32 та 1.26 раза, $P < 0.001$, підвищує загальний антиоксидантний потенціал, супероксиддисмутазну та каталазну активність).

Застосування специфічних модуляторів транскрипційних чинників NF- κ B і Nrf2 (піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату відповідно) після моделювання черепно-мозкової травми обмежує резорбцію альвеолярних відростків щелеп (зі зменшенням коефіцієнту оголення коренів молярів у 1.15 раза, $P < 0.01$, та 1.23 раза відповідно, $P < 0.001$), а також процеси деполімеризації макромолекул сполучної тканини пародонта (колагену, протеогліканів, глікопротеїнів), що супроводжується зменшенням у м'яких тканинах пародонта концентрації оксипроліну в 1.93 та 1.98 раза, $P < 0.001$, гексуронової кислоти в 1.34 раза, $P < 0.01$, та 1.43 раза, $P < 0.001$, N-ацетилнейрамінової кислоти в 1.79 та 1.91 раза, $P < 0.001$, а у кістковій тканині пародонта – вмісту оксипроліну в 2.07 та 1.94 раза, $P < 0.001$, гексуронової кислоти в 1.69 раза, $P < 0.01$, та 1.71 раза, $P < 0.001$, відповідно, N-ацетилнейрамінової кислоти в 2.15 раза обидва, $P < 0.001$.

Вперше показано, що введення рослинних біофлавоноїдів епігалокатехіну-3-галату та кверцетину після моделювання ЧМТ значно зменшує наприкінці раннього посттравматичного періоду (на 7 добу) показники системної запальної відповіді в крові щурів (вміст церулоплазміну в 1.15 та 1.17 раза, $P < 0.01$, та концентрацію сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою, в 1.42 раза, $P < 0.01$, та 1.74 раза, $P < 0.001$) та локальні порушення окисного метаболізму в м'яких тканинах пародонта (знижує продукцію супероксидного радикала мітохондріями в 1.28 раза, $P < 0.02$, та 1.48 раза, $P < 0.001$, та лейкоцитарною NADPH-оксидазою в 1.25 раза, $P < 0.05$, та 1.43 раза, $P < 0.01$, індукцибельну NO-синтазну активність в 1.71 раза, $P < 0.05$, та 3.02 раза, $P < 0.01$, збільшує у них активність та спряження cNOS, знижує концентрацію пероксинітриту в 1.29 раза, $P < 0.02$, та 1.47 раза, $P < 0.01$, та концентрацію сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою, в 1.22 та 1.32 раза, $P < 0.001$, підвищує загальний антиоксидантний потенціал, супероксиддисмутазну та каталазну активність). Застосування кверцетину за умов експерименту (на відміну від епігалокатехіну-3-галату) також знижує в 1.31 раза, $P < 0.01$, вироблення супероксидного радикала мітросомами (ендоплазматичним ретикуломом та NO-синтазою).

Застосування рослинних біофлавоноїдів епігалокатехіну-3-галату та кверцетину після моделювання черепно-мозкової травми обмежує резорбцію альвеолярних відростків щелеп (зі зменшенням коефіцієнту оголення коренів молярів в 1.11 раза, $P < 0.02$, та 1.16 раза, $P < 0.01$), а також процеси деполімеризації макромолекул сполучної тканини пародонта (колагену, протеогліканів, глікопротеїнів), що супроводжується зменшенням у м'яких тканинах пародонта концентрації оксипроліну в 1.58 та 1.53 раза, $P < 0.001$, гексуронової кислоти в 1.15 раза, $P < 0.001$, та 1.26 раза, $P < 0.01$, N-ацетилнейрамінової кислоти в 1.44 раза, $P < 0.01$, та 1.54 раза, $P < 0.001$, а у кістковій тканині пародонта – вмісту оксипроліну в 1.52 раза обидві групи, $P < 0.001$, гексуронової кислоти в 1.42 та 1.47 раза, $P < 0.001$, N-ацетилнейрамінової кислоти в 1.59 та 1.71 раза відповідно, $P < 0.001$.

Показано, що використання епігалокатехіну-3-галату за умов експерименту у меншій мірі обмежує вироблення супероксидного радикала мітохондріями та активність індукцибельної NO-синтази у м'яких тканинах пародонта, ніж це забезпечує специфічний інгібітор активації NF- κ B – піролідиндитіокарбамат амонію. При введенні епігалокатехіну-3-галату каталазна активність.

у м'яких тканинах пародонта вірогідно поступається показнику груп з використанням піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату, а концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у крові вірогідно перевищує результат групи з введенням кверцетину.

Введення епігалокатехіну-3-галату та кверцетину за умов експерименту менш ефективно пригнічує деполімеризацію макромолекул сполучної тканини м'яких структур пародонта, ніж застосування специфічних модуляторів активації транскрипційних чинників (піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату). Проте вплив цих біофлавоноїдів на процеси деполімеризації протеогліканів та сіалоглікопротеїнів у кістковій тканині пародонта суттєво не відрізняється від такого при застосуванні піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату.

Наукова новизна одержаних результатів. Показано, що моделювання черепно-мозкової травми середнього ступеня тяжкості на відміну від «хибного» травмування викликає наприкінці раннього посттравматичного періоду (на 7 добу) системні прозапальні та прооксидантні зміни та локальні показники окисно-нітрозативного стресу та деструкції позаклітинного матриксу пародонта.

Вперше виявлено, що введення специфічних модуляторів NF-κB і Nrf2 (піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату відповідно), а також рослинних біофлавоноїдів епігалокатехіну-3-галату та кверцетину, що діють на наведені транскрипційні чинники, після моделювання черепно-мозкової травми значно зменшує наприкінці раннього посттравматичного періоду (на 7 добу) показники системної запальної відповіді в крові щурів (вміст церулоплазміну та концентрацію сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою) та локальні порушення окисного метаболізму в м'яких тканинах пародонта (знижує продукцію супероксидного радикала, загальну NO-синтазну активність за рахунок індукцйбельної ізоформи цього ферменту, збільшує активність та спряження конститутивних NO-синтаз, обмежує концентрацію пероксинітриду та сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою, підвищує загальний антиоксидантний потенціал, супероксиддисмутазну та каталазну активність).

Вперше виявлено, що застосування названих специфічних та рослинних модуляторів NF-κB і Nrf2 після моделювання черепно-мозкової травми обмежує резорбцію альвеолярних відростків щелеп, процеси деполімеризації макромолекул сполучної тканини м'яких і твердих структур пародонта.

Вперше виявлено, що застосування епігалокатехіну-3-галату за умов експерименту у меншій мірі обмежує вироблення супероксидного радикала мітохондріями та активність індукцйбельної NO-синтази у м'яких тканинах пародонта, ніж це забезпечує специфічний інгібітор активації NF-κB – піролідиндитіокарбамат амонію. При введенні епігалокатехіну-3-галату каталазна активність у м'яких тканинах пародонта вірогідно поступається показнику груп з використанням піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату, а концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у крові вірогідно перевищує результат групи з введенням кверцетину.

Показано, що введення епігалокатехіну-3-галату та кверцетину за умов експерименту менш ефективно пригнічує деполімеризацію макромолекул сполучної тканини м'яких структур пародонта, ніж застосування специфічних модуляторів активації транскрипційних чинників.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено нові підходи до прогнозування ризику пошкодження пародонта в ранньому посттравматичному періоді після експериментальної ЧМТ при дослідженні показників окисно-нітрозативного стресу та деструкції сполучної тканини пародонта. Одержані результати обґрунтовують доцільність подальшого дослідження модуляторів факторів транскрипції NF-κB та Nrf2 як потенційних засобів попередження та патогенетичного лікування захворювань пародонта у посттравматичному періоді після ЧМТ.

Запропоновано «Спосіб експериментальної терапії окисно-нітрозативного стресу» (патент України на корисну модель № 131230). Нововведення «Спосіб експериментальної терапії хронічного пародонтиту за умов системної запальної відповіді» та «Спосіб експериментальної терапії окисно-нітрозативного стресу» внесено до «Переліку наукової

(науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я» (вип. № 8, 2022 р., реєстр. №№ 120/8/22 та 155/8/22).

Результати роботи впроваджено у науково-педагогічний процес на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету; кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету; кафедрі медичної біології та фізики, мікробіології, гістології, фізіології та патофізіології Чорноморського національного університету імені Петра Могили; кафедрі анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії Харківської медичної академії післядипломної освіти (цикл «Загальна патофізіологія в клінічній медицині для лікарів усіх спеціальностей, наукових співробітників та викладачів»).

РОЗДІЛ 2

Роль редокс-чутливих транскрипційних чинників у патогенезі хірургічної травми за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді

Матеріали та методи дослідження. Дослідження були проведені на 56 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 220-250 г, що знаходилися на стандартному харчовому раціоні та питному режимі згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)». У приміщеннях віварію контролювали температуру повітря (21 ± 1) °C, вологість (50 ± 20)% та світловий цикл – 12 год світло / 12 год темрява. Щури мали необмежений доступ до стандартного повнораціонного комбікорму та водопровідної води. Тварин відлучали від корму за 12 год до введення у наркоз.

Розподіл щурів за групами наведений у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Розподіл піддослідних тварин за групами

№ групи	Умови експерименту	Кількість тварин
1	2	3
1-ша	Інтактні тварини (контроль I)	7
2-га	Щурам виконували «хибну» операцію (контроль II)	7
3-тя	Тваринам виконували «хибну» операцію на тлі моделювання ЛПС-індукованої СЗВ	7
4-та	Щурам моделювали хірургічну травму (виконували лапаротомію)	7
5-та	Тваринам виконували лапаротомію на тлі відтворення ЛПС-індукованої СЗВ	7
6-та	Щурам протягом 7 діб після лапаротомії, виконаної на тлі відтворення ЛПС-індукованої СЗВ, вводили специфічний інгібітор активації NF-κB піролідіндитіокарбамат амонію	7
7-ма	Тваринам протягом 7 діб після лапаротомії, виконаної на тлі відтворення ЛПС-індукованої СЗВ, вводили специфічний індуктор сигнальної системи Nrf2 /ARE диметилфумарат	7
8-ма	Щурам протягом 7 діб після лапаротомії, виконаної на тлі відтворення ЛПС-індукованої СЗВ, вводили водорозчинну форму біофлавоноїду кверцетину	7

Методика відтворення експериментальних моделей. Процедура «хибної» операції включала наркоз, фіксацію тварин, епіляцію, обробку шкіри антисептичним розчином, стиснення шкіри живота затискачем Мікуліча на одне клацання, без нанесення хірургічної рани.

Оперативне втручання (лапаротомію) проводили під внутрішньоочеревинним кетаміновим наркозом (7 мг/кг на 1 кг маси тіла). Щурам після гоління операційного поля та обробки шкіри антисептичним розчином проводили лінійний розріз довжиною 1 см у ділянці гіпогастрію. Далі розсікали м'язи, фасції, очеревину, в рану виводили петлю тонкої кишки, яку протягом 10 с подразнювали масажними рухами вказівного та великого пальців. Після цього кишку опускали в черевну порожнину, рану пошарово ушивали полігліколідною ниткою "мефіл" з атравматичною голкою (НВО "Біополімер", Україна) та обробляли антисептиком.

Системну запальну відповідь відтворювали до виконання «хибної» операції або лапаротомії. Як ендотоксин використовували ЛПС *S. typhi* (пірогенал, «Медгамал», РФ), який вводили із розрахунку 4 мінімальних пірогенних доз (по 0,4 мкг/кг) 3 рази протягом 1-го тижня відтворення СЗВ та одноразово щотижнево впродовж наступних 7 тижнів.

Тварин декапітували через 7 діб після часу «хибної» операції або лапаротомії під етерним наркозом.

Засоби модуляції факторів транскрипції NF-κB та Nrf2. Тваринам 6-ї та 7-ї груп після лапаротомії, виконаної на початку останнього тижня відтворення ЛПС-індукованої СЗВ, протягом 7-діб щоденно внутрішньоочеревинно вводили специфічні модулятори факторів транскрипції NF-κB та Nrf2: інгібітор активації NF-κB піролідіндитіокарбамат амонію ("Sigma-Aldrich, Inc.", США) у денній дозі 76 мг/кг та індуктор Nrf2 диметилфумарат ("Sigma-Aldrich, Inc.", США) у денній дозі 15 мг/кг у 10% розчині диметилсульфоксиду ("Sigma-Aldrich, Inc.", США).

Щурам 8-ї групи після лапаротомії, змодельованої на тлі ЛПС-індукованої СЗВ, протягом 7-діб внутрішньоочеревинно вводили біофлавоноїд-модулятор факторів транскрипції NF-κB та Nrf2 кверцетин у вигляді водорозчинного комплексу з полівінілпіролідом (препарат «Корвітин», ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна) у денній дозі 100 мг/кг, що становить 10 мг/кг у перерахунку на кверцетин.

Тварини груп порівняння (2-5 групи) замість наведених модуляторів факторів транскрипції NF-κB та Nrf2 внутрішньоочеревинно вводили 0.5 мл ізотонічного розчину хлориду натрію («плацебо»).

Біохімічні методи дослідження. Перелік біохімічних методів дослідження наведено в таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

Біохімічні методи дослідження

№	Параметр, що вивчається	Досліджувані матеріали	Літературні джерела
1	2	3	4
1.	Концентрація кортизолу	Плазма крові	Tu E. et al.. 2020
2.	Вміст церулоплазміну	Сироватка крові	Кайдашев І.П. та співавт. (2003)
3.	Концентрація глюкози (глюкозооксидазний метод)	Сироватка крові	Набір реактивів фірми «Філісіт-Діагностика»
4.	Концентрація загального холестеролу	Сироватка крові	Набір реактивів фірми «Філісіт-Діагностика»
5.	Концентрація ліпопротеїнів високої щільності	Сироватка крові	Набір реактивів фірми «Філісіт-Діагностика»
6.	Концентрація триацилгліцеролів	Сироватка крові	Набір реактивів фірми «Філісіт-Діагностика»
7.	NO-синтазна активність	Сироватка крові, гомогенат тонкої кишки	Akimov O.Ye., Kostenko V.O. (2016)

8.	Концентрація вторинних продуктів ПОЛ (ТБК-активних сполук)	Кров, гомогенат тонкої кишки	Кайдашев І.П. та співавт. (2003)
9.	Продукція супероксидного аніон-радикала	Гомогенат тонкої кишки	Костенко В.О., Цебржинський О.І. (2000)
10.	Концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів	Гомогенат тонкої кишки	Akimov O.Ye., Kostenko V.O. (2016)
11.	Концентрація вільного оксипроліну	Гомогенат тонкої кишки	Тетянець С.С. (1985)
12.	Концентрація N-ацетилнейрамінової кислоти (NANA)	Гомогенат тонкої кишки	Кайдашев І.П. та співавт. (2003)

Маркером хірургічного стресу в плазмі крові була концентрація кортизолу, яку визначали за допомогою спектрофотометра Ulab 101 (Китай) за утворенням у реакції з нітросинім тетразолієм у метанолі за наявності тетраметилгідроксидпентагідрату амонію хромогену червоно-помаранчевого кольору з максимальним світлопоглинанням на довжині хвилі 510 нм. Для оцінки гострофазової відповіді за умов СЗВ визначали у сироватці крові вміст церулоплазміну за методом, що базується на окисненні *n*-фенілендіаміну.

Концентрацію глюкози, загального холестерину, тригліцеридів та холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ЛВЩ) визначали за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпро, Україна). Вміст холестерину ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності (ЛНЩ і ЛДНЩ) розраховували за формулою Фридвальда: ЛНЩ холестерин = загальний холестерин – (холестерин ЛВЩ + тригліцериди/2,2); холестерин ЛДНЩ = тригліцериди/2,2.

Активність NO-синтази (NOS) у сироватці крові та гомогенаті тонкої кишки визначали за різницею концентрації нітритів до та після її інкубації. До зразків крові зі стабілізатором (цитратом натрію) додавали розчин, що осаджує гемоглобін (суміш 96%-го етанолу та хлороформу), після чого проби добре перемішували та центрифугували при 3000 об / хв протягом 15 хв. Надосад використовували для подальшого дослідження. Концентрацію нітритів визначали у реакції з сульфаніловою кислотою й α -нафтиламіном (реактивом Гріса-Ілосвая) діазосполук, інтенсивність забарвлення яких пропорційна концентрації нітритів.

Для оцінки активності конститутивних ізоформ NOS (сNOS) до розчину, відібраного для первинної оцінки нітритів, додавали селективний інгібітор індукцельного ізоферменту (іNOS) – 1%-й розчин гідрохлориду аміногуанідину (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США). Активність іNOS розраховували відніманням активності сNOS від значення загальної активності NOS. Активність NOS та її ізоформ виражали у мікромолях (NO_2^-) у хвилину на грам білка. Концентрацію білка визначали біуретовим методом за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпро, Україна).

Рівень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) в крові досліджували за утворенням забарвленого триметинового комплексу в реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами. Антиоксидантний потенціал оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних сполук упродовж 1.5-годинної інкубації крові в залізоаскорбатному буферному розчині.

Продукцію супероксидного аніон-радикала в гомогенаті тонкої кишки визначали у реакції з нітросинім тетразолієм з використанням спектрофотометру Ulab 101 (Китай). Як індуктори генерації цього радикала NADPH-залежними джерелами (мікросомами та сNOS), NADH-залежним ланцюгом мітохондрій та Nox лейкоцитів застосовували, відповідно, NADPH (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США), NADH (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) та ЛПС *S. typhi* (пірогенал, «Медгамал», РФ). Індекс спряження сNOS розраховували як відношення конститутивної активності NOS до швидкості вироблення супероксидного аніон-радикала NADPH-залежними ланцюгами. Про рівень високоактивної форми азоту – пероксинітриту, що утворюються в

реакції NO з супероксидним аніон-радикалом, судили за концентрацією пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів.

Деструкцію сполучної тканини тонкої кишки оцінювали за вмістом мономерів, що утворюються при колагенолізі та деполімеризації сіалоглікопротеїнів, а саме вільного оксипроліну та ацетилнейрамінової кислоти відповідно.

Статистична обробка результатів експерименту. Отримані результати статистично обробляли з використанням пакету програм Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics 2019.

Результати дослідження. Виявлено, що процедура «хибної» операції (наркоз, епіляція, фіксація, стиснення шкіри живота затискачем Мікуліча на одне клацання) суттєво не змінює на 7-му добу «післяопераційного» періоду маркери хірургічного стресу (концентрацію кортизолу в плазмі крові), показники системної запальної відповіді (вміст церулоплазміну, вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, загальну та індукцибельну NO-синтазну активність в крові щурів), концентрацію у сироватці крові глюкози та ліпідний спектр крові, а також вірогідно не позначається на показниках оксидативно-нітрозативного стресу та деструкції сполучної тканини (колагену та сіалоглікопротеїнів) при дослідженні тонкої кишки.

Показано, що відтворення експериментальної хірургічної травми (операція лапаротомії) призводить на 7-му добу післяопераційного періоду до вірогідного зростання концентрації кортизолу в плазмі крові (на 56.4%, $P < 0.001$), загальних змін ліпідного обміну (збільшення вмісту в сироватці крові холестеролу ліпопротеїнів дуже низької щільності – на 44.8%, $P < 0.02$, триацилгліцеролів – на 46.0%, $P < 0.02$), виявлення ознак оксидативно-нітрозативного стресу в крові (збільшення у сироватці крові загальної NO-синтазної активності на 69.1%, $P < 0.01$, з дисбалансом індукцибельної та конститутивних ізоформ цього ферменту, підвищення вмісту вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів – сполук, що реагують із тіобарбітуровою кислотою, на 39.6%, $P < 0.001$, з істотним зменшенням антиоксидантного потенціалу крові) та у тканинах тонкої кишки (зростання продукції супероксидного аніон-радикала різними джерелами, загальної та індукцибельної NO-синтазної активності на 65.8%, $P < 0.01$, та 80.3%, $P < 0.001$, відповідно, утворення пероксинітритів на 47.9%, $P < 0.001$), деполімеризації колагену та сіалоглікопротеїнів сполучної тканини тонкої кишки щурів (вміст вільного оксипроліну та N-ацетилнейрамінової кислоти зростає на 25.1%, $P < 0.001$, та 29.7%, $P < 0.01$, відповідно).

Виявлено, що дія чинників хірургічної травми (лапаротомії) на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді супроводжується суттєвим збільшенням концентрації маркера хірургічного стресу – кортизолу в плазмі крові (на 95.6%, $P < 0.001$), зростанням рівня гіпер-пре β -ліпопротеїнемії та гіпертриацил-гліцеролемії, вірогідним зменшенням конститутивної NO-синтазної активності (на 70.8%, $P < 0.001$) в крові щурів, зростанням у тканинах тонкої кишки вироблення супероксидного аніон-радикала різними джерелами (мікросомами – на 91.4%, мітохондріями – на 70.2%, NADPH-оксидазою лейкоцитів – на 92.0%, $P < 0.001$), концентрації пероксинітритів (на 78.6%, $P < 0.001$) та продуктів деполімеризації колагену та сіалоглікопротеїнів (вільного оксипроліну – на 57.6%, N-ацетилнейрамінової кислоти – на 71.3%, $P < 0.001$) порівняно з окремою дією названих чинників.

Показано, що активація стресреалізуючої системи, маркером якої є збільшення концентрації кортизолу в плазмі крові, та розвиток системної запальної відповіді, маркером якої є збільшення вмісту церулоплазміну в сироватці крові, після лапаротомії на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді пов'язані з позитивним регуляторним впливом транскрипційного чинника NF- κ B та негативним регуляторним впливом сигнальної системи Nrf2 / ARE. Застосування інгібітора активації NF- κ B піролідиндитіокарбамату амонію та індуктора сигнальної системи Nrf2 / ARE диметилфумарату за умов експерименту значно зменшує концентрацію кортизолу в плазмі крові (на 30.3 та 34.2% відповідно, $P < 0.001$) та вміст церулоплазміну в сироватці крові (на 36.9 та 40.7% відповідно, $P < 0.001$).

Вперше виявлено, що розвиток гіперглікемії та порушень ліпідного спектру крові, а також зростання показників оксидативно-нітрозативного стресу (в крові та тканинах тонкої кишки) та деполімеризації колагену та сіалоглікопротеїнів (в тканинах тонкої кишки) після лапаротомії на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді пов'язані з позитивним регуляторним впливом транскрипційного чинника NF- κ B та негативним

регуляторним впливом сигнальної системи Nrf2 / ARE. Застосування інгібітора активації NF- κ B піролідіндитіокарбамату амонію та індуктора сигнальної системи Nrf2 / ARE диметилфумарату за умов експерименту значно зменшує розвиток гіперглікемії, гіпер-пре β -ліпопротеїнемії та гіпертриацилгліцеролемії, знижує активність індукцйбельної NO-синтази (на 34.7%, $P<0.01$, та 40.4%, $P<0.001$, відповідно) та підвищує активність її конститутивних ізоформ (на 37.6 та 43.4% відповідно, $P<0.001$), зменшує концентрацію вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів в крові щурів – сполук, що реагують із тіобарбітуровою кислотою (на 35.1 та 39.0% відповідно, $P<0.001$) та продукцію у тканинах тонкої кишки супероксидного аніон-радикала різними джерелами (мікросомами – на 45.5 та 41.2%, $P<0.001$, мітохондріями – на 37.5 та 32.7%, $P<0.001$, NADPH-оксидазою лейкоцитів – на 40.2 та 35.4%, $P<0.001$, відповідно), активність у них індукцйбельної NO-синтази (на 38.5 та 43.6% відповідно, $P<0.001$) та концентрацію пероксинітриту (на 40.2 та 36.4% відповідно, $P<0.001$), обмежує деструкцію колагену та сіалоглікопротеїнів (вміст вільного оксипроліну зменшується на 28.6 та 24.3% відповідно, N-ацетилнейрамінової кислоти – на 35.0 та 28.4% відповідно, $P<0.001$).

Вперше виявлено, що застосування водорозчинної форми кверцетину за умов лапаротомії на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді вірогідно зменшує концентрацію кортизолу в плазмі крові (на 47.1%, $P<0.001$) та вміст церулоплазміну в сироватці крові (на 36.7%, $P<0.01$), обмежує розвиток гіперглікемії, гіпер-пре β -ліпопротеїнемії та гіпертриацилгліцеролемії, знижує активність індукцйбельної NO-синтази (на 36.4%, $P<0.001$) та підвищує активність її конститутивних ізоформ (втрчі, $P<0.001$), зменшує концентрацію вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів в крові щурів – (сполук, що реагують із тіобарбітуровою кислотою (на 50.7%, $P<0.001$) та продукцію у тканинах тонкої кишки супероксидного аніон-радикала різними джерелами (мікросомами – на 49.1%, мітохондріями – на 41.7% NADPH-оксидазою лейкоцитів – на 44.0%, $P<0.001$), активність у них індукцйбельної NO-синтази (на 38.2%, $P<0.001$) та концентрацію пероксинітриту (на 43.1%, $P<0.001$), обмежує деструкцію колагену та сіалоглікопротеїнів (вміст вільного оксипроліну зменшується на 30.5%, N-ацетилнейрамінової кислоти – на 34.7%, $P<0.001$). До того ж диметилфумарат, на відміну від піролідіндитіокарбамату амонію та водорозчинної форми кверцетину, за умов експерименту покращує також конститутивний синтез оксиду азоту.

Одержані авторкою результати обґрунтовують доцільність пошуку нових засобів, що попереджують патологічні наслідки хірургічного стресу та системної запальної відповіді, серед модуляторів транскрипційних факторів NF- κ B та Nrf2.

Результати дослідження дозволяють рекомендувати водорозчинна форма кверцетину (корвітин) для подальшого дослідження як перспективний засіб профілактики системних ускладнень при хірургічних втручаннях особливо за умов хронічного низькоінтенсивного запалення з ознаками системної запальної відповіді.

Наукова новизна одержаних результатів. Показано, що дія чинників хірургічної травми (лапаротомії) на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді супроводжується суттєвим збільшенням концентрації маркеру хірургічного стресу – кортизолу в плазмі крові, зростанням рівня гіпер-пре β -ліпопротеїнемії та гіпертриацилгліцеролемії, вірогідним зменшенням конститутивної NO-синтазної активності в крові щурів, зростанням у тканинах тонкої кишки вироблення супероксидного аніон-радикала різними джерелами (мікросомами, мітохондріями та NADPH-оксидазою лейкоцитів), концентрації пероксинітритів та продуктів деполімеризації колагену та сіалоглікопротеїнів порівняно з окремою дією названих чинників.

Виявлено, що активація стресреалізуючої системи, маркером якої є збільшення концентрації кортизолу в плазмі крові, та розвиток системної запальної відповіді, маркером якої є збільшення вмісту церулоплазміну в сироватці крові, після лапаротомії на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді пов'язані з позитивним регуляторним впливом транскрипційного чинника NF- κ B та негативним регуляторним впливом сигнальної системи Nrf2 / ARE. Застосування інгібітора активації NF- κ B піролідіндитіокарбамату амонію та індуктора сигнальної системи Nrf2 / ARE диметилфумарату за умов експерименту значно зменшує концентрацію кортизолу в плазмі крові та вміст церулоплазміну в сироватці крові.

Вперше виявлено, що розвиток гіперглікемії та порушень ліпідного спектру крові, а також зростання показників оксидативно-нітрозативного стресу (в крові та тканинах тонкої кишки) та деполімеризації колагену та сіалоглікопротеїнів (в тканинах тонкої кишки) після лапаротомії на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді пов'язані з позитивним регуляторним впливом транскрипційного чинника NF-κB та негативним регуляторним впливом сигнальної системи Nrf2 / ARE. Застосування інгібітора активації NF-κB піролідіндитіокарбамату амонію та індуктора сигнальної системи Nrf2 / ARE диметилфумарату за умов експерименту виявляють істотний коригуючий вплив на ці процеси.

Вперше виявлено, що введення водорозчинної форми кверцетину порівняно зі специфічними модуляторами редокс-чутливих транскрипційних чинників NF-κB та Nrf2 (піролідіндитіокарбаматом амонію та диметилфумаратом) за умов експерименту більш ефективно коригує концентрацію кортизолу в плазмі крові, вміст холестеролу ліпопротеїнів дуже низької щільності та триацилгліцеролів у сироватці крові, концентрацію вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів при інкубації крові у прооксидантному залізо-аскорбатному буферному розчині; порівняно з диметилфумаратом кверцетин здатний у більшій мірі обмежувати колагеноліз у тканинах тонкої кишки щурів.

Практичне значення одержаних результатів. Запропоновано нові підходи до прогнозування метаболічних розладів у післяопераційному періоді шляхом оцінки показників хірургічного стресу, системної запальної відповіді, оксидативно-нітрозативного стресу та деполімеризації біополімерів сполучної тканини. Одержані результати обґрунтовують доцільність пошуку нових засобів, що попереджують патологічні наслідки хірургічного стресу та системної запальної відповіді, серед сполук-модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2. Результати дослідження дозволяють рекомендувати водорозчинна форма кверцетину (корвітин) для подальшого дослідження як перспективний засіб профілактики системних ускладнень при хірургічних втручаннях особливо за умов хронічного низькоінтенсивного запалення з ознаками системної запальної відповіді. Нововведення «Спосіб експериментальної терапії окисно-нітрозативного стресу» внесено у «Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я» (вип. № 8, 2022 р., реєстр. № 155/8/22).

Результати роботи впроваджено у науково-педагогічний процес на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету; кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету; кафедрі медичної біології та фізики, мікробіології, гістології, фізіології та патофізіології Чорноморського національного університету імені Петра Могили; кафедрі анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії Харківської медичної академії післядипломної освіти (цикл «Загальна патофізіологія в клінічній медицині для лікарів усіх спеціальностей, наукових співробітників та викладачів»).

РОЗДІЛ 3

Роль редоксчутливих факторів транскрипції у механізмах ушкодження слинних залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді

Експерименти виконані на 50 білих щурах лінії «Вістар» масою 180-230 г. Тварин утримували в умовах віварію згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)». При роботі з лабораторними тваринами дотримувалися вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 18 березня 1986 р.). Комісією з питань біоетики Української медичної стоматологічної академії (протокол №200 від 16.12.2021 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Тварини були розподілені на 5 груп (таблиця 3.1).

Розподіл експериментальних тварин

№ групи	Умови експерименту	Кількість тварин
1-ша	Інтактні тварини	10
2-га	Відтворення ЛПС-індукованої СЗВ	10
3-тя	Застосування інгібітора активації NF-κB амонію піролідиндитіокарбамату на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	10
4-та	Застосування індуктора системи Nrf2 / ARE епігалокатехін-3-галату на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	10
5-та	Призначення водорозчинного комплексу кверцетину з полівінілпіролідом (корвітину) на тлі ЛПС-індукованої СЗВ	10

У щурів, що знаходилися під інгаляційним етерним наркозом, вилучали піднижньощелепні залози разом з великими під'язиковими, які у подальшому відсепаровували. Далі тварин, не виводячи з наркозу, декапітували.

Методика експериментального моделювання системної запальної відповіді. СЗВ відтворювали шляхом внутрішньоочеревинного введення ЛПС *S. typhi* («Пірогенал», філія «Медгамал», ФДБУ «Національний дослідницький центр епідеміології та мікробіології імені М.Ф. Гамалей», РФ) згідно з описом патенту України на корисну модель № 128236 «Спосіб експериментального моделювання системної запальної відповіді», запропонованим з нашою участю: протягом 1-го тижня вводили по 4 мінімальні пірогенні дози (МПД), що складають 0.4 мкг, на 1 кг маси щура 3 рази на тиждень. Протягом наступних семи тижнів досліду щурам вводили по 4 МПД/кг маси тіла 1 раз на тиждень.

Методика застосування модуляторів факторів транскрипції NF-κB та Nrf2. Піролідиндитіокарбамат амонію («Sigma-Aldrich, Inc.», США), інгібітор ядерної транслокації NF-κB, вводили внутрішньоочеревинно у дозі 76 мг/кг 3 рази на тиждень, починаючи з 30 доби моделювання ЛПС-індукованої СЗВ. Епігалокатехін-3-галат («Sigma-Aldrich, Inc.», США), індуктор системи Nrf2 / ARE, вводили внутрішньоочеревинно в дозі 20 мг/кг 3 рази на тиждень, починаючи з 30 доби відтворення ЛПС-індукованої СЗВ.

Кверцетин, який поєднує властивості інгібітора NF-κB (через пригнічення протеасоми) та індуктора системи Nrf2 / ARE, у вигляді водорозчинного комплексу з полівінілпіролідом («Корвітин») виробництва ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» (Україна) вводили внутрішньоочеревинно у дозі 100 мг/кг (10 мг/кг у перерахунку на кверцетин) 3 рази на тиждень, починаючи з 30 доби моделювання ЛПС-індукованої СЗВ.

Біохімічні методи дослідження. Перелік біохімічних методів дослідження наведено в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Біохімічні методи дослідження

№	Параметр, що вивчається	Літературні джерела
1.	Швидкість продукції супероксидного аніон-радикала	Костенко В.О., Цебржинський О.І. (2000)
2.	Активність NOS (загальна, cNOS, iNOS)	Akimov O.Ye., Kostenko V.O. (2016)
3.	Активність орнітиндекарбоксилази	Храмов В.А. (1997)
4.	Активність нітратредуктази	Храмов В.А. (1992)
5.	Активність нітритредуктази	Храмов В.А. (1992)
6.	Концентрація пероксинітритів лужних та лужноземельних металів	Шрайбман Г.Н. та співавт. (2011)
7.	Концентрація S-нітрозотіолів	Gaston B. et al. (1993)

8.	Концентрація вторинних продуктів ПОЛ (ТБК-активних сполук)	Кайдашев І.П. та співавт. (2003)
9.	Супероксиддисмутазна активність	Кайдашев І.П. та співавт. (2003)
10.	Каталазна активність	Корольок М.А. (1988)
11.	Концентрація вільного оксипроліну	Тетянец С.С. (1985)
12.	Концентрація глікозаміногліканів (GAGs)	Шараев П.Н. та співавт. (1987)
13.	Концентрація N-ацетилнейрамінової кислоти (NANA)	Кайдашев І.П. та співавт. (2003)
14.	α -Амілазна активність	Меньшиков В.В. та співавт. (1987)

Оцінка показників окисно-нітрозативного стресу у гомогенаті СЗ. Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала ($\cdot\text{O}_2^-$) в гомогенаті СЗ визначали у реакції з нітросинім тетразолієм з використанням спектрофотометру Ulab 101 (Китай). Як індуктори продукції $\cdot\text{O}_2^-$ NADPH-залежними мікросомальними монооксигеназами і NOS (1), NADH-залежним дихальним ланцюгом мітохондрій (1) та NADPH-оксидазою лейкоцитів (3) застосовували, відповідно, NADPH ("Sigma-Aldrich, Inc.", США), NADH ("Sigma-Aldrich, Inc.", США) та ЛПС *S. typhi* (пірогенал).

Загальну активність NOS визначали за різницею концентрації нітрит-іонів до та після інкубації гомогенату тканин у середовищі, що містить L-аргінін і NADPH. Для визначення активності cNOS додавали 1% розчин аміногуанідину гідрохлориду ("Sigma-Aldrich, Inc.", США). Активність iNOS визначали за різницею величин загальної активності NOS та активності cNOS.

Індекс спряження cNOS розраховували як відношення активності cNOS до швидкості продукції $\cdot\text{O}_2^-$ NADPH-залежними електронно-транспортними ланцюгами.

Активність орнітиндекарбоксилази визначали за зниженням вмісту орнітину в інкубаційному середовищі методом Chinard. Нітрат- та нітритредуктазну активності оцінювали за різницею концентрації нітритів та нітратів до та після інкубації гомогенату СЗ в умовах присутності донора електронів (водного розчину NADH).

Для оцінки вмісту активних форм нітрогену в гомогенаті СЗ визначали концентрацію пероксинітритів лужних та лужноземельних металів та S-нітрозотіолів з використанням спектрофотометру Ulab 101 (Китай).

Концентрацію вторинних продуктів ПОЛ визначали за утворенням у реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-реактантами забарвленого триметинового комплексу. Стан антиоксидантної системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних сполук за час 1.5-годинної інкубації гомогенату в прооксидантному буферному розчині (залізо-аскорбатний системі), а також за супероксиддисмутазною та каталазою активністю.

Дослідження продуктів деполімеризації біополімерів позаклітинного матриксу СЗ. Про деполімеризацію колагену судили за вмістом вільного оксипроліну, протеогліканів – за концентрацією глікозаміногліканів (GAGs) шляхом визначення гексуронових кислот, сіалоглікопротеїнів – за вмістом ацетилнейрамінової кислоти.

Визначення активності α -амілази. Активність α -амілази у гомогенаті піднижньощелепних СЗ визначали за методикою Караєва за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна, м. Дніпропетровськ).

Статистична обробка результатів експерименту. Статистичні розрахунки проводили з використанням Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics.

Результати дослідження. Виявлено, що моделювання ЛПС-індукованої СЗВ супроводжується збільшенням в піднижньощелепних СЗ щурів нестимульованої генерації супероксидного аніон-радикала (на 37.9%, $p<0.01$), його вироблення мітохондріями (на 37.6%, $p<0.01$), мікросомами та NO-синтазою при порушенні її спряження (на 41.7%, $p<0.01$), а також NADPH-оксидазою лейкоцитів (на 70.8%, $p<0.01$), зростанням загальної активності NO-синтази (у 1.9 раз, $p<0.001$) з дисбалансом активностей індукцибельного та конститутивних

ізоферментів, надмірним утворенням пероксинітриту та S-нітрозотіолів, вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою) при зменшенні антиоксидантного потенціалу, супероксиддисмутази та каталазної активності (на 46.9%, $p < 0.01$, та 36.7%, $p < 0.001$, відповідно), що свідчить про декомпенсований характер окисно-нітрозативного стресу у піднижньощелепних слинних залозах.

Відтворення ЛПС-індукованої СЗВ порушує авторегуляцію рівня нітроген (II) оксиду в піднижньощелепних СЗ, що підтверджується одночасним збільшенням вмісту активних форм нітрогену NO-синтазним (при зменшенні активності ферменту конкурентного неокисного шляху метаболізму L-аргініну – орнітиндекарбоксилази) і нітрат- / нітритредуктазним компонентами циклу NO.

Моделювання ЛПС-індукованої СЗВ супроводжується надмірною деполімеризацією біополімерів позаклітинного матриксу піднижньощелепних СЗ (колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів), що підтверджується вірогідним збільшенням у тканинах цих залоз концентрації вільного оксипроліну (на 64.8%, $p < 0.001$), глікозаміногліканів (на 83.7%, $p < 0.001$) і N-ацетилнейрамінової кислоти (на 59.8%, $p < 0.001$).

Показано, що транскрипційний фактор NF- κ B є важливими чинником патогенезу окисно-нітрозативного стресу у СЗ при відтворенні ЛПС-індукованої СЗВ. Застосування за цих умов інгібітора ядерної транслокації цього фактора піролідиндитіокарбамату амонію обмежує у тканинах піднижньощелепних слинних залоз щурів генерацію супероксидного аніон-радикала мікросомами та NOS (на 20.8%, $p < 0.02$), мітохондріями (на 22.4%, $p < 0.01$) та NADPH-оксидазою лейкоцитів (на 39.0%, $p < 0.01$), зменшує у них активність індукційної NO-синтази (на 35.3%, $p < 0.01$; при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази – на 41.0%, $p < 0.01$), підвищує спряженість конститутивної ізоформи NO-синтази, знижує концентрації пероксинітриту (на 54.7%, $p < 0.02$), S-нітрозотіолів (на 15.6%, $p < 0.01$) та вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактивів, на 45.4%, $p < 0.001$), збільшує антиоксидантний потенціал, супероксиддисмутази та каталазну активність (на 64.7%, $p < 0.05$, та 57.9%, $p < 0.001$, відповідно), що супроводжується покращенням функціонального стану залоз (активність α -амілази у їхньому гомогенаті зростає на 20.9%, $p < 0.001$). Введення піролідиндитіокарбамату амонію на тлі ЛПС-індукованої системної запальної відповіді обмежує деполімеризацію біополімерів позаклітинного матриксу піднижньощелепних слинних залоз (колагену, протеогліканів та глюкопротеїдів), що підтверджується зменшенням концентрації їхніх складових – вільного оксипроліну (на 32.3%, $p < 0.001$), глікозаміногліканів (на 32.8%, $p < 0.001$) і N-ацетилнейрамінової кислоти (на 24.8%, $p < 0.01$).

Індукція сигнального шляху Nrf2 / ARE при застосуванні епігалокатехін-3-галату за умов ЛПС-індукованої системної запальної відповіді ефективно пригнічує розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканинах піднижньощелепних СЗ щурів: знижує продукцію супероксидного аніон-радикала мікросомами та NOS (на 24.1%, $p < 0.02$), мітохондріями (на 25.8%, $p < 0.01$) та NADPH-оксидазою лейкоцитів (на 41.2%, $p < 0.01$), а також зменшує у тканинах залоз активність індукційної NO-синтази (на 40.5%, $p < 0.01$, при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази – на 27.3%, $p < 0.05$), підвищує спряженість конститутивної ізоформи NO-синтази, знижує концентрації пероксинітриту (на 58.6%, $p < 0.01$) та ТБК-реактивів (на 44.2%, $p < 0.001$), але без істотних змін умісту S-нітрозотіолів. Ці зміни супроводжуються покращенням функціонального стану піднижньощелепних слинних залоз (активність α -амілази у їхньому гомогенаті зростає на 13.9%, $p < 0.01$).

Введення епігалокатехін-3-галату на тлі ЛПС-індукованої СЗВ обмежує деполімеризацію біополімерів позаклітинного матриксу піднижньощелепних СЗ (колагену, протеогліканів та глюкопротеїдів), що підтверджується зменшенням концентрації їхніх складових – вільного оксипроліну (на 37.8%, $p < 0.001$), глікозаміногліканів (на 39.8%, $p < 0.001$) і N-ацетилнейрамінової кислоти (на 37.6%, $p < 0.001$).

Застосування водорозчинної форми кверцетину, який поєднує властивості інгібітора NF- κ B та індуктора системи Nrf2 / ARE, за умов ЛПС-індукованої СЗВ пригнічує розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканинах піднижньощелепних СЗ: знижує продукцію супероксидного аніон-радикала мікросомами та NOS (на 17.8%, $p < 0.01$), мітохондріями (на 19.6%, $p < 0.01$), NADPH-оксидазою лейкоцитів (на 37.2%, $p < 0.01$), зменшує у них активність індукційної NO-

синтази (на 27.6%, $p < 0.01$) без істотних змін активності орнітиндекарбоксилази та рівня спряженості конститутивної ізоформи NO-синтази, знижує концентрації пероксинітриту (на 55.1%, $p < 0.02$) та ТБК-активних продуктів (на 39.5%, $p < 0.01$), але без вірогідного зрушення вмісту S-нітрозотіолів. Ці зміни супроводжуються покращенням функціонального стану піднижньощелепних слинних залоз (активність α -амілази у їхньому гомогенаті зростає на 16.9%, $p < 0.001$). Введення водорозчинної форми кверцетину на тлі ЛПС-індукованої СЗВ обмежує деполімеризацію біополімерів позаклітинного матриксу піднижньощелепних СЗ (колагену, протеогліканів та глікопротеїдів), що підтверджується зменшенням концентрації їхніх складових – вільного оксипроліну (на 38.0%, $p < 0.001$), глікозаміногліканів (на 30.1%, $p < 0.01$) і N-ацетилнейрамінової кислоти (на 32.3%, $p < 0.01$).

Наукова новизна одержаних результатів. Показано, що моделювання ЛПС-індукованої СЗВ супроводжується розвитком декомпенсованого окисно-нітрозативного стресу у піднижньощелепних слинних залозах: збільшенням у них генерації супероксидного аніон-радикала, зростанням загальної активності NOS з дисбалансом активностей індукбельного та конститутивних ізоферментів, надмірним утворенням пероксинітриту та S-нітрозотіолів, вторинних продуктів ПОЛ при зменшенні антиоксидантного потенціалу,

Вперше виявлено, що відтворення ЛПС-індукованої системної запальної відповіді порушує авторегуляцію рівня NO в піднижньощелепних СЗ, що підтверджується одночасним збільшенням вмісту активних форм нітрогену NO-синтазним (при зменшенні активності ферменту конкурентного неокисного шляху метаболізму L-аргініну – орнітиндекарбоксилази) і нітрат- / нітритредуктазним компонентами циклу NO.

Вперше показано, що моделювання ЛПС-індукованої СЗВ супроводжується надмірною деполімеризацією біополімерів позаклітинного матриксу піднижньощелепних слинних залоз (колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів).

Вперше доведено роль NF- κ B та сигнального шляху Nrf2 / ARE у патогенезі окисно-нітрозативного стресу у СЗ при відтворенні ЛПС-індукованої СЗВ. Застосування за цих умов інгібітора ядерної транслокації NF- κ B піролідиндитіокарбамату амонію, індуктора Nrf2 епігалокатехін-3-галату та водорозчинної форми кверцетину, який поєднує властивості інгібітора NF- κ B та індуктора системи Nrf2 / ARE, обмежує у тканинах піднижньощелепних СЗ ознаки окисно-нітрозативного стресу, зокрема, генерацію супероксидного аніон-радикала, зменшує у них активність iNOS, знижує вміст пероксинітриту та концентрацію вторинних продуктів ПОЛ, збільшує антиоксидантний потенціал, супероксиддисмутазну та каталазну активність, що супроводжується покращенням функціонального стану залоз (зростає активність α -амілази).

Вперше показано, що застосування наведених модуляторів транскрипційних факторів обмежує деполімеризацію біополімерів позаклітинного матриксу піднижньощелепних СЗ (колагену, протеогліканів та сіалоглікопротеїнів).

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено нові підходи до прогнозування розвитку функціонально-метаболічних розладів СЗ за умов СЗВ шляхом оцінки показників окисно-нітрозативного стресу та деполімеризації біополімерів позаклітинного матриксу. Одержані результати обґрунтовують доцільність застосування модуляторів транскрипційних факторів NF- κ B та Nrf2, як засобів попередження та терапії запально-дистрофічних захворювань СЗ на тлі СЗВ.

Результати роботи впроваджено у науково-педагогічний процес на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету; кафедрах патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету, Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, Харківського національного медичного університету.

РОЗДІЛ 4

Роль порушень циркадіанного осцилятора у метаболічних і функціональних розладах нирок при ліпополісахарид-індукованій системній запальній відповіді

Матеріали та методи. Дослідження було проведено на білих самцях щурів лінії Вістар масою 210–230 г, яких утримували за стандартних умов віварію (температура $+22 \pm 2^\circ\text{C}$, вологість повітря 30–60%) з вільним доступом до води та їжі. Дослідження проводилося згідно з

вимогами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Щурів рандомно розподіляли на 7 груп по 7 тварин: 1-ша – контроль; 2-га – моделювання ЛПС-індукованої СЗВ; 3-тя – відтворення ГД; 4-та – моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ. Щурам 5-ї, 6-ї та 7-ї груп протягом 7-ми діб, починаючи з останнього дня відтворення моделі ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ, внутрішньошлунково (через зонд) щоденно перед ранковим годуванням вводили такі сполуки: глутамат натрію (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) у дозі 20 мг/кг, мелатонін (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) у дозі 5 мг/кг та кверцетин (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) у дозі 200 мг/кг відповідно.

Для відтворення СЗВ використовували ЛПС *Salmonella typhi* (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США), який вводили по 0,4 мкг/кг маси тіла тричі протягом 1-го тижня та одноразово щотижнево впродовж наступних 7-ми тижнів. Протягом часу моделювання СЗВ тварин, як і контрольних, утримували на 12/12-годинному циклі «світло-темрява», використовуючи для стандартизації світлової фази світлодіодні лампи, що забезпечують загальний світловий потік 820 лм та освітленість 205 лк

Перед відтворенням ГД щурів протягом 3-х тижнів адаптували до нормального циклу «світло-темрява» (12 годин світло, 12 годин темрява). Потім протягом 3-х діб моделювали зміщення циклу «світло-темрява» на 6 годин раніше. При відтворенні ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ зсув циклу «світло-темрява» виконували в останні дні моделювання СЗВ.

Функції нирок досліджували після відтворення моделі ЛПС-індукованої СЗВ та/або ГД за умов індукованого діурезу, який моделювали введенням у шлунок через внутрішньошлунковий зонд підігрітої до температури 37 °С водопровідної води в кількості 5% маси тіла. Для цього щурів поміщали на 2 год у металеві клітки з піддоном для збору сечі.

Після одержання сечі щурів декапітували під тіопенталовим наркозом вранці (9:00-11:00), що дає змогу мінімізувати вплив циркадіанних коливань ендогенної секреції мелатоніну. Тіопентал натрію (ПАТ «Київмедпрепарат», Україна) вводили внутрішньоочеревинно у дозі 50 мг/кг маси тварини. Після цього щурів розтинали, отриману пункцією серця кров поміщали у флакони, що містили літій-гепарин (30 МО на 1 мл крові, «Скай Медика», Україна). Далі гепаринізовану кров центрифугували при кімнатній температурі (3000 g, 15 хв). Для подальшого аналізу використовували верхній шар сироватки з кожного із отриманих зразків.

Як маркери десинхронізації циркадіанних ритмів оцінювали концентрацію в сироватці крові мелатоніну та кортизолу. Концентрацію кортизолу вимірювали за утворенням у реакції з нітросинім тетразолієм у метанолі в присутності тетраметилгідроксидпентагідрату аммонію хромогену червоно-помаранчевого кольору з максимальним світлопоглинанням на довжині хвилі 510 нм. Як маркер СЗВ досліджували вміст у сироватці крові білка гострої фази запалення церулоплазміну за методом, що базується на окисненні *n*-фенілендіаміну.

Вміст креатиніну в сироватці крові та сечі визначали за методом Поппера, а вміст натрію – колориметричним методом з використанням фосфопазо III із застосуванням набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпро, Україна). На основі отриманих даних проводили розрахунки швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) за кліренсом ендогенного креатиніну, екскреції натрію, абсолютної реабсорбції натрію, його реабсорбцію проксимальними та дистальними каналцями.

Отримані результати було оброблено статистично за допомогою пакету програм Microsoft Office Excel із використанням додатку Real Statistics 2019.

Результати. Під час відтворення ГД на тлі СЗВ, спричиненої ЛПС, спостерігаються істотні відмінності у вмісті маркерів цих процесів у сироватці крові – одночасне зменшення концентрації мелатоніну та зростання вмісту кортизолу, з одного боку, та збільшення концентрації гострофазового білка церулоплазміну, з іншого боку. Це відрізняє цю комбіновану патологію від окремого впливу десинхронізації циркадіанних ритмів та СЗВ. За таких умов вміст у сироватці крові мелатоніну знижений, а кортизолу підвищений на 18,3% ($P < 0,001$) порівняно з результатами 3-ї групи. Водночас концентрація церулоплазміну перевищувала значення 2-ї групи на 12,2% ($P < 0,001$).

Введення глутамату натрію після відтворення ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ ще більше погіршує маркери порушення циркадіанних ритмів. Вміст у сироватці крові мелатоніну стає

меншим, а кортизолу – більшим на 9,2% ($P<0,02$) порівняно з результатами 4-ї групи. Тим часом, концентрація церулоплазміну перевищувала значення 4-ї групи на 5,7% ($P<0,01$).

Застосування екзогенного мелатоніну у встановленому експерименті сприяє нормалізації вмісту цього гормону в сироватці крові. При цьому концентрація кортизолу та церулоплазміну знижується на 22,5% та 39,7% відповідно, що є вірогідно меншим за результати 4-ї групи. Введення кверцетину супроводжується зростанням вмісту мелатоніну в сироватці крові порівняно зі значенням 4-ї групи. Крім того, концентрація кортизолу та церулоплазміну за цих умов також вірогідно знижується – на 21,6% та 35,6% відповідно щодо результатів 4-ї групи.

Величина індукованого діурезу у контрольних тварин становила $2,9\pm0,1$ мл/2 год х 100 г, при відтворенні ГД – $3,1\pm0,1$ мл/2 год х 100 г. За умов ЛПС-індукованої СЗВ та моделювання на її тлі ГД індукований діурез збільшувався до $3,3\pm0,1$ та $3,6\pm0,1$ мл/2 год х 100 г відповідно. При введенні глютамату натрію за умов експерименту значення цього показника ($3,4\pm0,1$ мл/2 год х 100 г) вірогідно не відрізнялося від результату 4-ї групи, а при застосуванні мелатоніну ($2,8\pm0,1$ мл/2 год х 100 г) та кверцетину ($2,9\pm0,1$ мл/2 год х 100 г) було меншим на 22,2% та 19,4% відповідно ($P<0,001$) за значення 4-ї групи.

Відносна реабсорбція води у контрольних тварин становила $94,9\pm0,3\%$ та зменшувалася при відтворенні ЛПС-індукованої СЗВ і ГД - до $93,5\pm0,3\%$ і $93,7\pm0,1\%$ відповідно. За умов моделювання ЛПС-індукованої СЗВ на тлі ГД цей показник знижувався до $91,1\pm0,2\%$, що вірогідно було меншим за результат 2-ї та 3-ї групи на 2,6% і 2,8% відповідно. При введенні глютамату натрію за умов експерименту відносна реабсорбція води ще більше зменшувалася - до $89,7\pm0,5\%$, а при застосуванні вірогідно зростала - до $94,5\pm0,3\%$ і $94,8\pm0,3\%$.

Для дослідження азотовидільної функції нирок вимірювали концентрацію креатиніну в сироватці крові та сечі, розраховували кліренс ендогенного креатиніну. Відтворення ЛПС-індукованої СЗВ та ГД, хоча і супроводжувалося певним збільшенням концентрації креатиніну в сироватці крові, проте суттєво не впливало на ШКФ, розраховану за кліренсом ендогенного креатиніну. Водночас при моделюванні ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ значення цього показника зменшувалося на 29,2% ($P<0,02$) порівняно з контролем та було меншим на 20,9% ($P<0,01$) та 17,1% ($P<0,001$) за результати 2-ї та 3-ї групи.

При введенні глютамату натрію за умов експерименту концентрація креатиніну в сироватці крові на 8,6% ($P<0,001$) перевищувала, а ШКФ на 17,6% ($P<0,01$) була меншою за значення 4-ї групи. Мелатонін і кверцетин, навпаки, знижували вміст креатиніну в сироватці крові на 11,9% і 12,9% ($P<0,01$) та збільшували ШКФ на 29,4% ($P<0,01$) і 38,2% ($P<0,001$) відповідно порівняно з результатами 4-ї групи.

Розвиток ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ супроводжувався зростанням екскреції натрію на 63,6% ($P<0,01$) порівняно з контролем, що на 52,5% ($P<0,02$) перевищувало значення 3-ї групи. Абсолютна реабсорбція іонів натрію за таких обставин зменшувалася на 31,4% ($P<0,02$) щодо контролю, вочевидь, за рахунок проксимальної реабсорбції, яка зменшувалася на 34,3% ($P<0,01$). При цьому абсолютна реабсорбція іонів натрію на 24,2 і 23,4% була нижчою ($P<0,001$) порівняно з результатами 2-ї та 3-ї груп відповідно.

Введення глютамату натрію за умов експерименту суттєво погіршувало натрій-регуляторну функцію нирок. Це проявлялося у збільшенні екскреції натрію на 22,2% ($P<0,05$), зниженні абсолютної реабсорбції цього іону на 19,7% ($P<0,001$), а також у зменшенні його реабсорбції проксимальними каналцями на 20,9% ($P<0,001$) порівняно зі значеннями 4-ї групи. Водночас компенсаторно дещо зростала дистальна реабсорбція натрію. Мелатонін і кверцетин істотно зменшували екскрецію цього катіону на 27,8% ($P<0,05$) і 46,7% ($P<0,001$), підвищували його абсолютну реабсорбцію на 35,9 і 45,0% ($P<0,001$) та реабсорбцію проксимальними каналцями на 41,0 і 50,9% ($P<0,001$) відповідно порівняно з результатами 4-ї групи.

РОЗДІЛ 5

NF-κB-залежні механізми метаболічних та функціональних розладів головного мозку при зміні тривалості циклів «світло-темрява» за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 72 білих щура лінії Wistar вагою 150-200 різної статті, які було розділено на 5 груп: контрольна (15), змодельований гострий десинхроноз (13), змодельована СЗВ (15), змодельовані СЗВ та гострий десинхроноз (14), змодельовані СЗВ, гострий десинхроноз та введення глутамату натрію (15). Для моделювання десинхронозу спочатку формували нормальний цикл «світло-темрява» (12 годин світло, 12 годин темрява) протягом 3 тижнів, потім протягом наступних 3 діб проводили зміщення фаз «світло-темрява» на 6 годин назад. Синдром СЗВ відтворювали шляхом внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду (ЛПС) *Salmonella typhi* в перший тиждень 0,4 мкг, на 1 кг маси щура 3 рази на тиждень, протягом наступних семи тижнів експерименту - 1 раз на тиждень. Натрію глутамат вводили протягом 20-ти днів внутрішньошлунково у дозі 30 мг/кг, розчинений у 0,5 мл дистильованої води кімнатної температури. Тварини перебували у стандартних умовах на збалансованому раціоні віварію Полтавського державного медичного університету. У дослідженні керувалися принципами біомедичної етики. Дослідження затверджені комісією з питань біомедичної етики ПДМУ № 197 від 23.09.2021 року. Тварин декапітували під ефірною анестезією. Для біохімічних досліджень було використано 10% гомогенат великих півкуль головного мозку щурів. Для його приготування після видалення великих півкуль головного мозку їх помістили у чашку Петрі та подрібнили. Потім тканини гомогенізували у 10 мМ трис-HCl буфері, рН 7,4 (1 г тканин мозку на 9 мл середовища) протягом 30-40с, відфільтрували та центрифугували гомогенат протягом 10 хв.

Утворення супероксидного аніон-радикала оцінювали при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм з використанням спектрофотометру Ulab з індукторами у вигляді НАДН (для оцінки продукції супероксидного аніон-радикала мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом) та НАДФН (мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом). Концентрацію ТБК-реактивів досліджували тіобарбітуровим методом, що базується на здатності тіобарбітурової кислоти утворювати стійкий забарвлений комплекс із проміжними продуктами ПОЛ. Активність антиоксидантної системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних продуктів за час 1,5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали методом порівняння швидкостей автоокислення адреналіну без гомогенату та у його присутності, активність каталази – методом визначення кольорових продуктів, утворених при реакції перекису водню з молібдатом амонію.

Концентрацію нітритів визначали шляхом визначення діазосполук, що утворилися у реакції з сульфаніловою кислотою, а потім проводили реакцію з а-нафтиламином (реактив Грісса-Ілосвая). Методика визначення концентрації пероксинітритів лужних та лужно-земельних в гомогенаті базується на їхній здатності відновлювати атомарний йод із солей йодиду калію.

Сумарну активність NOS визначали за різницею концентрації нітрит-іонів до та після інкубації гомогенату тканин у середовищі, що містить L-аргінін і НАДФН. Для оцінки активності конститутивних ізоформ ферменту (сNOS) додають 1% розчин аміногуанідину гідрохлориду. Активність індукцбельної ізоформи (iNOS) визначають за різницею активностей загальної та конститутивної NOS [27]. Активність ОДК визначали методом Chinard модифікації Храмова, який базується на зміні забарвлення розчину пропорційно концентрації орнітину в досліджуваному субстраті під час нінгідринової реакції при рН=1,0.

Статистичну обробку проводили з використанням ANOVA по Kruskal-Wallis з подальшим попарним порівнянням за методом Манна - Уїтні. Застосовували поправки за Бонфероні. Різницю вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати дослідження. Моделюваний десинхроноз підвищує швидкість базової продукції САР на 75,8%, при цьому НАДФН-індукована продукція зростає на 20,2% та НАДН-індукована - на 28,0% порівняно із контрольною групою. При СЗВ швидкість базової продукції САР збільшується на 129,3%, з них НАДФН-індукована - на 43,3%, НАДН-індукована - на

40,4% порівняно із контрольною групою. За умов поєднання СЗВ та десинхронозу швидкість базової продукції зростає на 148,3%, з них в мікосомах - на 26,8%, мітохондріальним шляхом - на 31,0% в порівнянні з контрольною групою. При поєднанні СЗВ, десинхронозу та введенні глутамату відмічається підвищення швидкості базової продукції САР в порівнянні з контрольною групою - на 175,8%, з них мікосомальним шляхом на 20,0% та мітохондріальним - на 51,2%.

Модельований десинхроноз знижує активність СОД на 53,3%, каталази - на 14,3% в порівнянні з контрольною групою. При СЗВ відмічається зростання активності СОД на 21,8% і зниження активності каталази - на 3,0%. За умов поєднання СЗВ і десинхронозу активність СОД і каталази зменшилась відповідно на 41,6 і 11,0% порівняно з контролем. При поєднанні СЗВ, десинхронозу та введенні глутамату натрію відмічається найбільше зниження активності антиоксидантних ферментів: СОД на 57,1% і каталази - на 38,1%.

При модельованому гострому десинхронозі вміст ТБК-реактивних в тканинах великих півкуль головного мозку зріс - на 36,8%, а їх приріст - на 30,2%, за умов СЗВ відповідно - 51,0% та 41,6% в порівнянні з контролем. За умов поєднання СЗВ і десинхронозу концентрація ТБК-активних продуктів зросла на 65,1%, а їх приріст на 71,2% в порівнянні з контрольною групою. При поєднанні СЗВ, десинхронозу і введенні глутамату відмічається зростання вмісту ТБК-реактивних на 83,4% і їх приросту на 61,7% в тканинах головного мозку в порівнянні з контролем.

При модельованому десинхронозі загальна активність NOS зменшилась в порівнянні з контрольною групою на 59,1%, активність індукбельної - на 61,1%, активність конститутивних - на 9,0%. СЗВ зменшує загальну активність NOS на 47,0%, індукбельної - на 49,0%, конститутивних - на 3,7% при порівнянні з контролем. За умов поєднання СЗВ та десинхронозу загальна активність NOS знижується на 65,8%, індукбельної - на 68,2% і конститутивних - на 4,0% в порівнянні з контрольною групою. При поєднанні СЗВ, десинхронозу і введенні глутамату натрію відмічається зростання загальної активності NOS на 25,6%, індукбельної на 27,4%, але зниження активності конститутивних на 15,0% при порівнянні з контролем. Концентрація нітритів в тканинах підвищується на 23,8% при модельованому десинхронозі, при СЗВ - на 8,8% в порівнянні з контрольною групою. За умов поєднання СЗВ і десинхронозу концентрація нітритів знижується на 25,3%, а при поєднанні СЗВ, десинхронозу і введенні глутамату натрію вміст нітритів знижується на 35,0% в порівнянні з контролем.

Кількість пероксинітритів в тканинах головного мозку тварин підвищився в усіх дослідних групах щурів в порівнянні з контролем: при модельованому десинхронозі - на 69,3%, за умов СЗВ - на 86,0%, за умов поєднання СЗВ і десинхронозу - на 72,7%, при поєднанні СЗВ, десинхронозу і введенні глутамату натрію - на 116,7%. Активність ОДК зросла в усіх експериментальних групах: при модельованому десинхронозі - на 26,5 %, за умов СЗВ - на 47,2%, за умов поєднання СЗВ та десинхронозу - 132,0%, при поєднанні СЗВ, десинхронозу та введенні глутамату натрію - на 161,5% в порівнянні з контролем.

РОЗДІЛ 6

Роль транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 у механізмах регенерації кісток нижньої щелепи після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації

Матеріали та методи дослідження. Досліди було проведено на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–240 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Для проведення дослідження було використано 5 груп тварин: 1-шу групу складали «хибно-травмовані» щури, тваринам інших груп відтворювали хронічну алкогольну інтоксикацію (після відтворення «хибної» травми нижньої щелепи, 2-га група), перелом нижньої щелепи (3-тя група), перелом нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації (4-та група). Щурам 5-ї групи щоденно протягом 14 діб посттравматичного періоду внутрішньоочеревинно вводили водорозчинну форму кверцетину (препарат «Корвітин», ПАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», Україна) у добовій дозі 10 мг/кг у перерахунку на кверцетин. Тваринам інших груп замість кверцетину внутрішньоочеревинно вводили ізотонічний розчин хлориду натрію («плацебо»).

«Хибне» травмування та неповний ПНЩ проводили під внутрішньоочеревинним наркозом тіопенталом натрію (ПАТ «Київмедпрепарат», 50 мг/кг) з подальшим відшарування слизово-окісного клаптя з боку щоти дистальніше лівого різця (у першому випадку – без ушкодження кістки). Для моделювання неповного ПНЩ скелетовану ділянку кістки просвердлювали на глибину 1 мм твердосплавним свердлом діаметром 1,5 мм зі швидкістю до 1000 об./хв. М'які тканини не ушивали, оскільки вони спонтанно зрощувалися впродовж декількох діб. Хронічну алкогольну інтоксикацію відтворювали шляхом внутрішньошлункового введення 40%-го розчину етанолу в добовій дозі 12 мл/кг маси тіла протягом 14 діб.

Щурів декапітували через 14 діб після «хибного» травмування або відтворення неповного ПНЩ під тіопенталовим наркозом, дотримуючись положень «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986). Експеримент було схвалено комісією з питань біоетики Полтавського державного медичного університету (протокол № 213 від 22.02.2023 р.).

Активність у сироватці крові ферментів-маркерів формування та резорбції кісток, а саме (лужної фосфатази, кислої фосфатази та її кісткової (тартратрезистентної) ізоформи, визначали на фотометрі “Solar PM 2111” (Білорусь) кінетичним методом з використанням набору реактивів фірми «СпайнЛаб» (Україна). Концентрацію загального кальцію у плазмі крові визначали на спектрофотометрі “ULAB 101” (Китай) з використанням набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Для отримання зразків для дослідження гнучкою хірургічною пилкою Джиллі вирізали стандартні зразки нижньощелепної кістки у зоні ушкодження розміром 5×5 мм, які далі гомогенізували. У гомогенаті стандартної ділянки нижньої щелепи спектрофотометричним методом визначали активність загальної NO-синтази (NOS) та орнітиндекарбоксилази, а також концентрацію пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів. Для визначення активності конститутивних NO-синтаз (cNOS) додавали 1% розчин аміногуанідину гідрохлориду (98%, "Sigma-Aldrich, Inc.", США). Активність iNOS оцінювали шляхом віднімання активності cNOS від загальної активності NOS.

Колагеноліз оцінювали за концентрацією у гомогенаті кістки вільного оксипроліну, метод визначення якої ґрунтується на реакції пірол-2-карбонової кислоти, яка утворюється при окисненні оксипроліну, з 4-диметиламінобензальдегідом. Оптичну щільність вимірювали на спектрофотометрі “ULAB 101” (Китай) при довжині хвилі 540 нм. Про деполімеризацію сіалоглікопротеїнів і протеогліканів судили за вмістом у гомогенаті кістки їх мономерів – гексуринових і N-ацетилнейрамінової кислот.

Біомеханічні випробування нижньощелепної кістки здійснювали на деформаційній устатковці МРК-1 за схемою 4-х точкового згину. Зразок поміщали в робочу зону пристрою та здійснювали деформацію, збільшуючи навантаження зі стабільною швидкістю $0,25 \pm 0,01$ мм/хв, до руйнування кістки. Процес деформації фіксувався на діаграмній стрічці при швидкості її руху 12 мм/хв за допомогою самописця КСП-4 в координатах «навантаження-прогин». За діаграмою визначали модуль Юнга для згину, межу пружності та міцності. Для розрахунку відносного видовження крайніх волокон до руйнування, що характеризує пластичність матеріалу, використовували максимальне значення прогину зразка.

Одержані результати були статистично оброблені за допомогою програмного пакета Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics 2019.

Результати дослідження. Відтворення хронічної алкогольної інтоксикації вірогідно збільшувало загальну та індукційну активність NOS – на 80.6% ($P < 0.01$) та 98.8% ($P < 0.001$), відповідно. Проте активність cNOS та орнітиндекарбоксилази, ферменту конкурентного щодо NOS неокисного шляху метаболізму L-аргініну, суттєво не змінювалися. Концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів, найактивніших метаболітів NO, за цих умов збільшувалася на 39.2% ($P < 0.01$).

На 14-ту добу після моделювання перелому нижньої щелепи активність NOS та iNOS підвищувалася на 60.4% ($P < 0.05$) та 74.1% ($P < 0.02$), відповідно. Активність cNOS та орнітиндекарбоксилази, а також вміст пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у гомогенаті нижньої щелепи не відрізнялися суттєво від значень контрольної групи.

На 14-ту добу після відтворення перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації загальна та індукбельна активність NOS збільшувалася в 2.3 та 2.4 рази, відповідно (обидві при $P < 0.001$). За цих обставин загальна активність NOS перевищувала на 24.9% ($P < 0.05$) результат 2-ї групи та на 40.5% ($P < 0.05$) значення 3-ї групи. Водночас активність iNOS вірогідно не відрізнялася від результату 2-ї групи, але була на 40.7% ($P < 0.05$) вищою за значення 3-ї групи. Проте активність cNOS суттєво не змінювалася. Активність орнітиндекарбоксилази зменшувалася внаслідок конкуренції з NOS за субстрат (L-аргінін) на 10.6% ($P < 0.01$), що менше на 16.8% ($P < 0.001$) за результат 2-ї групи та на 6.8% ($P < 0.05$) за значення 3-ї групи. При цьому вміст пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів підвищувався на 69.6% ($P < 0.001$), що перевищувало на 21.8% ($P < 0.001$) результат 2-ї групи та на 36.7% ($P < 0.05$) значення 3-ї групи.

Відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин суттєво не позначалося на активності у сироватці крові ферментів-маркерів формування та резорбції кісток та концентрації у плазмі крові загального кальцію порівняно з контролем. Ці показники також вірогідно не змінювалися на 14-му добу після ПНЩ. Однак, через 14 діб після моделювання ПНЩ на тлі хронічної алкогольної інтоксикації достовірно збільшувалася активність ферментів-маркерів резорбції кісток. Активність кислої фосфатази на 58,9% перевищувала контроль і вдвічі та на 54,7% була більшою за відповідні значення 2-ї та 3-ї груп. Активність тартратрезистентної ізоформи кислої фосфатази, в свою чергу, була вищою на 35,1% за результат контролю та на 36,8% за значення 3-ї групи.

Введення кверцетину після ПНЩ на тлі хронічної алкогольної інтоксикації вірогідно зменшувало активність кислої фосфатази та її тартратрезистентної ізоформи на 35,3 і 23,1% відповідно порівняно з результатами 4-ї групи.

Дослідження вмісту продуктів деполімеризації органічного матриксу нижньощелепних кісток через 14 діб після моделювання «хибної» травми на тлі хронічної алкогольної інтоксикації або ПНЩ не виявили достовірних змін.

Проте через 14 діб після моделювання ПНЩ на тлі хронічної алкогольної інтоксикації вірогідно зростала концентрація цих сполук у гомогенаті нижньощелепної кістки. Вміст вільного оксипроліну на 29,3% перевищував контроль і значення 2-ї групи та на 27,4% – результат 3-ї групи. Концентрація гексуронових кислот була вищою на 55,1% за результат інтактних тварин та на 40,8 і 55,8% за значення 2-ї і 3-ї груп. Вміст N-ацетилнейрамінової кислот перевищував контроль на 87,4% за результат та на 61,4 і 68,9% за відповідні значення 2-ї і 3-ї груп. Введення кверцетину після ПНЩ на тлі хронічної алкогольної інтоксикації вірогідно зменшувало концентрацію вільного оксипроліну, гексуронових і N-ацетилнейрамінової кислот на 17,0, 30,6 і 43,3% відповідно порівняно з результатами 4-ї групи.

Відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин вірогідно на 26,0% зменшувало модуль Юнга порівняно з контролем. Після ПНЩ разом з модулем Юнга знижувалося значення межі міцності на 70.5 і 47.8% відповідно. Через 14 діб після моделювання ПНЩ на тлі хронічної алкогольної інтоксикації модуль Юнга був меншим на 61,8% за результат інтактних тварин та на 48,3 і 29,6% за значення 2-ї і 3-ї груп. Значення межі міцності істотно не відрізнялося від значення 3-ї групи.

Застосування кверцетину після ПНЩ на тлі хронічної алкогольної інтоксикації значно покращувало біомеханічні властивості кісток у зоні перелому. Модуль Юнга був на 72,3% вище за результат 4-ї групи. Межа пружності перевищувала значення цієї групи на 53,2%, межа міцності – на 59,6%, а відносне видовження до руйнування – на 30,0%. Одержані нами результати свідчать, що за умов поєднаної дії алкоголю та травми переважає резорбція кісткової тканини, що супроводжується деполімеризацією колагену, глікопротеїнів і протеогліканів.

РОЗДІЛ 7

Участь транскрипційного фактору NF- κ B у патогенезі ушкоджень міокарду та двоголового м'язу стегна за умов експериментального метаболічного синдрому

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проведене на 24 статевозрілих щурах-самцях лінії «Вістар» вагою 200-260 г. Тварини були розподілені на 4 групи по 6 тварин. Перша група була контрольною, тварини цієї групи отримували маніпуляції, аналогічні таким з інших груп, проте замість діючих речовин вони отримували 0,9% розчин хлориду натрію. Друга група – група експериментального метаболічного синдрому. Експериментальний метаболічний синдром відтворювали шляхом використання в якості єдиного джерела води 20% розчину фруктози протягом 60 днів. Третя група – група стимуляції організму бактеріальним ліпополісахаридом (ЛПС) *S. typhi*. Стимуляцію організму ЛПС проводили за наступною схемою: в перший тиждень тваринам вводили ЛПС в дозі 0,4 мкг/кг внутрішньоочеревинно три рази на тиждень, далі вводили ЛПС в дозі 0,4 мкг/кг внутрішньоочеревинно один раз на тиждень протягом усього експерименту (60 діб). Четверта група – група поєданого впливу стимуляції організму ЛПС та відтворення експериментального МетС. Тварини цієї групи отримували 20% розчин фруктози у якості єдиного джерела води та їм вводили ЛПС за схемою групи 3.

Тварини утримувались в віварії Полтавського державного медичного університету за стандартних умов. При роботі із тваринами дотримувались «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей». Виведення тварин з експерименту здійснювалось під тіопенталовим наркозом шляхом забору крові з правого шлуночка серця.

У гомогенаті серця та скелетного м'язу щурів планується вивчення: загальної активності NO-синтази та вмісту нітрит-аніонів - за різницею концентрації NO_2^- до та після інкубації гомогенату печінки щурів у середовищі, що містить L-аргінін (субстрат NO-синтази) та НАДФ відновлений (Hevel J.M., 1991). Активність конститутивних ізоформ визначатимемо за різницею концентрації NO_2^- до та після інкубації гомогенату печінки щурів у середовищі, що містить L-аргінін, НАДФ відновлений та селективний інгібітор індукцйбельної ізоформи – аміногуанідин гідрохлорид (Єлінська А.М. 2019). Активність індукцйбельної ізоформи розраховуємо шляхом віднімання активності конститутивних ізоформ від загальної активності NO-синтаз (Єлінська А.М. 2019).

Концентрацію NO_2^- визначаємо шляхом утворення діазосполук у реакції з сульфаніловою кислотою, а потім проводили реакцію з α -нафтилетилендіаміном, у результаті якої утворюються похідні червоного кольору (азобарвники). Інтенсивність забарвлення розчину при цьому буде пропорційна концентрації нітритів (Hevel J.M., 1991).

Активність нітритредуктаз оцінюємо за зменшенням концентрації нітритів після інкубації у фосфатному буферному розчині (pH=7,0), що містить НАД відновлений у якості донора електронів. Активність нітратредуктаз оцінюємо за зменшенням концентрації нітритів, що утворюються після відновлення нітратів до нітритів гідрازیном сірчанокислим, до та після інкубації у фосфатному буферному розчині (pH=7,0), що містить НАД відновлений у якості донора електронів (Акімов О.Є., 2016).

Утворення супероксидного аніон-радикала передбачається оцінювати при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм (НСТ) у модифікації О.І. Цебржинського (2002) з використанням спектрофотометру Ulab-101 у гомогенаті серця та двоголового м'язу щурів з індукторами у вигляді НАДН (для оцінки продукції супероксидного аніон-радикала мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом), НАДФН (мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом).

Концентрацію пероксинітритів лужних та лужноземельних металів (ONOO^-) оцінюємо за концентрацією атомарного йоду, який утворюється в реакції ONOO^- з йодидом калію в фосфатному буферному розчині (pH=7,0).

Активність аргінази визначаємо за різницею в концентрації L-орнітину до та після 20-годинної інкубації гомогенату печінки в фосфатному буферному розчині (pH=7,0), що містить L-аргінін. Метод базується на нінгідриновій реакції при pH=1,0 і є досить специфічним, оскільки забарвлення дає лише орнітин, пролін та цитрулін (Акімов О.Є., 2016).

Рівень пероксидного окиснення ліпідів у тканинах передбачається оцінювати за концентрацією вільного малонового діальдегіду (МДА). Концентрацію МДА визначаємо по утворенню кольорового продукту в реакції МДА з 1-метил-2-феніліндолом (Жерар Моньєр 1998). Активність антиоксидантної системи передбачається оцінювати за активністю антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази (СОД) (Брусов О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф., 1976) та каталази (Королюк М.А., 1988).

Концентрацію сульфідного аніону визначаємо за реакцією сульфідного аніону із N-N-диметил-пара-фенілендіаміном в присутності надлишку іонів Fe^{3+} з утворенням барвника рожевого кольору (Sugahara S, 2016).

Концентрацію нітрозотіолів визначаємо по різниці в концентрації нітритів в гомогенаті печінки до та після їх окиснення хлоридом ртуті (B. Gaston 1993).

Статистичну обробку отриманих результатів планується проводити за наступною схемою:

1. Перевірка нормальності розподіл ознак за критерієм Шапіро-Вілکا.
2. За умов нормального розподілу ознак (Гаусова дисперсія) планується проводити дисперсійний аналіз (ANOVA). За умов розподілу ознак відмінного від нормального планується використати дисперсійний аналіз за методом Хрускала-Уоліса.
3. При наявності статистично значущих відмінностей між групами за результатами аналізу ANOVA або Хрускала-Уоліса планується проведення попарних порівнянь за t-критерієм Стьюдента (після аналізу ANOVA) або U-критерієм Манна-Уїтні (після аналізу за методом Хрускала-Уоліса).

Результати дослідження. Моделювання метаболічного синдрому призвело до підвищення загальної активності NOS на 94,70% у двоголовому м'язі стегна щурів при порівнянні із контрольною групою. За цих умов активність cNOS знизилась на 41,51%, а активність iNOS зросла на 105,74% при порівнянні із контрольною групою тварин. Активність аргіназ збільшилась в 1,75 раза порівняно із результатами контрольної групи. Проаналізувавши зміни у L-аргінін-незалежному шляху утворення оксиду азоту нами було встановлено, що активність NaR збільшилась на 54,72%, а активність NiR зросла в 2,34 раза при порівнянні із контрольною групою. При цьому концентрація нітритів зменшилась в 2,45 раза, а концентрація ONOO^- та S-NO зросла в 1,71 раза та на 24,24% відповідно порівняно із контрольною групою тварин. Вміст S^{2-} в групі моделювання метаболічного синдрому збільшився в 1,66 раза порівняно із контрольною групою. Отже моделювання метаболічного синдрому призводить до збільшення продукції оксиду азоту L-аргінін-залежним та L-аргінін-незалежним шляхом. При цьому збільшена активність аргіназ на фоні високої активності iNOS загрожує розвитком конкуренції між NOS та аргіназами за субстрат реакції, що може пояснити знижену активність cNOS в цій групі. Цікавим є той факт, що за результатами наших досліджень переважними шляхами метаболізації оксиду азоту є утворення пероксинітритів та нітрозотіолів. Зменшену концентрацію нітритів можна пояснити збільшеною активністю нітрат-нітрит редуктазного шляху утворення оксиду азоту.

Поєднання MetC та стимуляції організму ЛПС збільшило загальну активність NOS на 21,79% в двоголовому м'язі стегна щурів при порівнянні із групою MetC. Активність cNOS підвищилась на 16,13%, а активність iNOS на 21,91% порівняно з показниками групи MetC. Активність аргіназ за цих умов знизилась на 24,88% порівняно з MetC групою тварин. Активність NaR знизилась в 2,01 рази, активність NiR на 31,28% порівняно із MetC групою. Концентрація нітритів підвищилась на 34,68%, а концентрація нітрозотіолів зменшилась в 1,95 рази, в той час як концентрація пероксинітритів збільшилась в 2,15 рази порівняно з MetC групою. Вміст S^{2-} знизився на 28,41% порівняно з MetC групою.

MetC збільшує базову продукцію CAP в двоголовому м'язі щурів на 73,02% порівняно із контрольною групою. Продукція CAP від мітохондріального ЕТЛ зростає на 57,33%, а від мікросомального на 66,70%. Активність СОД знижується на 29,65%, а каталази на 47,95%. Концентрація МДА зростає в 4,21 рази, а вміст ОМБ збільшується в 2,37 рази.

При порівнянні впливу стимуляції організму ЛПС на фоні моделювання MetC із групою експериментального метаболічного синдрому базова продукція CAP зростає на 35,78%, продукція від мікросомального ЕТЛ зменшується на 11,35%, від мітохондріального ЕТЛ на

18,69%. Активність СОД зростає в 3,20 рази. Активність каталази зростає в 2,32 рази. Концентрація МДА знижується на 41,54%, а вміст ОМБ зростає на 17,39%.

Моделювання МетС збільшило основну продукцію САР у серці щурів на 73,02 % порівняно з контрольною групою тварин. Продукція САР у серці щурів з мітохондріальних ЕТЛ у групі МетС зросла на 29,31%, а з мікросомальних на 20,34% порівняно з контрольною групою тварин. Активність СОД у серці щурів групи МетС знизилася на 30,09 %, а каталази на 29,31 % порівняно з контрольною групою тварин. Концентрація МДА в серці щурів групи МетС збільшилась у 2,04 раза, а вміст ОМБ – у 1,65 раза порівняно з контрольною групою тварин.

У групі ЛПС+МетС базова продукція САР у серці щурів зросла в 1,57 рази, продукція САР від мікросомального ЕТЛ зросла на 23,03% порівняно з групою МетС. Активність СОД у серці щурів у групі ЛПС+МетС знизилася в 1,99 раза, а активність каталази в 1,65 раза порівняно з групою МетС. Концентрація МДА у серці щурів у групі ЛПС+МетС зросла на 50,63%, а вміст ОМБ збільшився на 70,71% порівняно з групою МетС.

Моделювання МетС призвело до збільшення загальної активності NOS у серці щурів на 46,91 % порівняно з контрольною групою. Активність cNOS знизилася на 11,32 % порівняно з контрольною групою. Активність iNOS зросла на 48,04%. Активність аргінази підвищена на 29,86%. Активність NaR і активність NiR підвищилися на 27,89% і на 155,90% відповідно. МетС призвів до зниження концентрації нітритів і нітрозотіолів на 60,0% та 21,92%, відповідно. В умовах МетС концентрація ONOO⁻ підвищена на 320,0% порівняно з контрольною групою. Концентрація H₂S зросла на 16,54%. Таким чином, МетС призводить до гіперпродукції NO за допомогою NOS-залежного механізму (через підвищення активності iNOS) і шляхом нітрат-нітрит-NO. Одночасно МетС підвищує інтенсивність утворення високотоксичних активних форм азоту (пероксинітритів) і зменшує утворення екскреторної (нітрити) і депонованої (нітрозотіоли) форми оксиду азоту в серці щурів.

Порівнюючи поєднаний вплив стимуляції організму ЛПС і МетС з результатами в групі МетС, можна констатувати, що загальна активність NOS знизилася на 9,66 % порівняно з групою МетС. Активність cNOS знизилася на 12,77% порівняно з групою МетС. Активність iNOS знизилася на 10,26%. Активність аргінази знизилася на 41,11%. Активність NaR зросла на 46,74%. Активність NiR не змінилася. Комбінований вплив стимуляції організму ЛПС і МетС призводив до підвищення концентрації нітритів на 53,18 %, але знижував концентрацію нітрозотіолів на 42,11 %. За цих умов концентрація ONOO⁻ зросла на 18,57% порівняно з групою МетС. Концентрація H₂S знизилася на 37,84% порівняно з групою МетС.

ВИСНОВКИ

1. Введення специфічних модуляторів транскрипційних чинників NF-κB і Nrf2 (піролідиндітіокарбамату амонію та диметилфумарату відповідно) після моделювання черепно-мозкової травми значно зменшує наприкінці раннього посттравматичного періоду (на 7 добу) показники порушення окисного метаболізму в м'яких тканинах пародонта (знижує продукцію супероксидного радикала мікросомами в 1.32 раза, P<0.01, та 1.18 раза, P<0.05, мітохондріями в 1.6 раза, P<0.001, та 1.31 раза, P<0.01, та лейкоцитарною NADPH-оксидазою в 1.41 раза, P<0.01, та 1.28 раза, P<0.02, NO-синтазну активність за рахунок індукбельної ізоформи цього ферменту в 3.81 раза, P<0.001, та 2.13 раза, P<0.01, збільшує активність та спряження конститутивних NO-синтаз, обмежує концентрацію пероксинітриту в 1.41 та 1.37 раза, P<0.01, та сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою, в 1.32 та 1.26 раза, P<0.001, підвищує загальний антиоксидантний потенціал, супероксиддисмутазну та каталазну активність), обмежує резорбцію альвеолярних відростків щелеп (зі зменшенням коефіцієнту оголення коренів молярів у 1.15 раза, P<0.01, та 1.23 раза відповідно, P<0.001), а також процеси деполімеризації макромолекул сполучної тканини пародонта (колагену, протеогліканів, глікопротеїнів).

2. Застосування рослинних біофлавоноїдів епігалокатехіну-3-галату та кверцетину після моделювання черепно-мозкової травми обмежує резорбцію альвеолярних відростків щелеп (зі зменшенням коефіцієнту оголення коренів молярів в 1.11 раза, P<0.02, та 1.16 раза, P<0.01), а також процеси деполімеризації макромолекул сполучної тканини пародонта (колагену,

протеогліканів, глікопротеїнів), що супроводжується зменшенням у м'яких тканинах пародонта концентрації оксипроліну в 1.58 та 1.53 рази, $P < 0.001$, гексуронових кислот в 1.15 рази, $P < 0.001$, та 1.26 рази, $P < 0.01$, N-ацетилнейрамінової кислоти в 1.44 рази, $P < 0.01$, та 1.54 рази, $P < 0.001$, а у кістковій тканині пародонта – вмісту оксипроліну в 1.52 рази обидві групи, $P < 0.001$, гексуронових кислот в 1.42 та 1.47 рази, $P < 0.001$, N-ацетилнейрамінової кислоти в 1.59 та 1.71 рази відповідно, $P < 0.001$.

3. Розвиток гіперглікемії та порушень ліпідного спектру крові, а також зростання показників окисативно-нітрозативного стресу (в крові та тканинах тонкої кишки) та деполімеризації колагену та сіалоглікопротеїнів (в тканинах тонкої кишки) після лапаротомії на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді пов'язані з позитивним регуляторним впливом транскрипційного чинника NF- κ B та негативним регуляторним впливом сигнальної системи Nrf2 / ARE. Застосування інгібітора активації NF- κ B піролідіндитіокарбамату амонію та індуктора сигнальної системи Nrf2 / ARE диметилфумарату за умов експерименту значно зменшує розвиток гіперглікемії, гіпер-пре β -ліпопротеїнемії та гіпертриацилгліцеролемії, знижує активність індукцйбельної NO-синтази (на 34.7%, $P < 0.01$, та 40.4%, $P < 0.001$, відповідно) та підвищує активність її конститутивних ізоформ (на 37.6 та 43.4% відповідно, $P < 0.001$), зменшує концентрацію вторинних продуктів перексидного окиснення ліпідів в крові щурів – сполук, що реагують із тіобарбітуровою кислотою (на 35.1 та 39.0% відповідно, $P < 0.001$) та продукцію у тканинах тонкої кишки супероксидного аніон-радикала різними джерелами (мікросомами – на 45.5 та 41.2%, $P < 0.001$, мітохондріями – на 37.5 та 32.7%, $P < 0.001$, NADPH-оксидазою лейкоцитів – на 40.2 та 35.4%, $P < 0.001$, відповідно), активність у них індукцйбельної NO-синтази (на 38.5 та 43.6% відповідно, $P < 0.001$) та концентрацію пероксинітриту (на 40.2 та 36.4% відповідно, $P < 0.001$), обмежує деструкцію колагену та сіалоглікопротеїнів (вміст вільного оксипроліну зменшується на 28.6 та 24.3% відповідно, N-ацетилнейрамінової кислоти – на 35.0 та 28.4% відповідно, $P < 0.001$).

4. Застосування водорозчинної форми кверцетину за умов лапаротомії на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді вірогідно зменшує концентрацію кортизолу в плазмі крові (на 47.1%, $P < 0.001$) та вміст церулоплазміну в сироватці крові (на 36.7%, $P < 0.01$), обмежує розвиток гіперглікемії, гіпер-пре β -ліпопротеїнемії та гіпертриацилгліцеролемії, знижує активність індукцйбельної NO-синтази (на 36.4%, $P < 0.001$) та підвищує активність її конститутивних ізоформ (втричі, $P < 0.001$), зменшує концентрацію вторинних продуктів перексидного окиснення ліпідів в крові щурів – (сполук, що реагують із тіобарбітуровою кислотою (на 50.7%, $P < 0.001$) та продукцію у тканинах тонкої кишки супероксидного аніон-радикала різними джерелами (мікросомами – на 49.1%, мітохондріями – на 41.7% NADPH-оксидазою лейкоцитів – на 44.0%, $P < 0.001$), активність у них індукцйбельної NO-синтази (на 38.2%, $P < 0.001$) та концентрацію пероксинітриту (на 43.1%, $P < 0.001$), обмежує деструкцію колагену та сіалоглікопротеїнів (вміст вільного оксипроліну зменшується на 30.5%, N-ацетилнейрамінової кислоти – на 34.7%, $P < 0.001$). До того ж диметилфумарат, на відміну від піролідіндитіокарбамату амонію та водорозчинної форми кверцетину, за умов експерименту покращує конститутивний синтез оксиду азоту.

5. Індукція сигнального шляху Nrf2 / ARE при застосуванні епігалокатехін-3-галату за умов ЛПС-індукованої системної запальної відповіді ефективно пригнічує розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканинах піднижньощелепних слинних залоз щурів: знижує продукцію супероксидного аніон-радикала мікросомами та NOS (на 24.1%, $p < 0.02$), мітохондріями (на 25.8%, $p < 0.01$) та NADPH-оксидазою лейкоцитів (на 41.2%, $p < 0.01$), а також зменшує у тканинах залоз активність індукцйбельної NO-синтази (на 40.5%, $p < 0.01$, при збільшенні активності орнітин декарбоксилази – на 27.3%, $p < 0.05$), підвищує спряженість конститутивної ізоформи NO-синтази, знижує концентрації пероксинітриту (на 58.6%, $p < 0.01$) та ТБК-реактантів (на 44.2%, $p < 0.001$), але без істотних змін умісту S-нітрозотіолів. Ці зміни супроводжуються покращенням функціонального стану піднижньощелепних слинних залоз (активність α -амілази у їхньому гомогенаті зростає на 13.9%, $p < 0.01$).

6. Застосування водорозчинної форми кверцетину, який поєднує властивості інгібітора NF- κ B та індуктора системи Nrf2 / ARE, за умов ЛПС-індукованої системної запальної відповіді пригнічує розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканинах піднижньощелепних слинних

залоз щурів: знижує продукцію супероксидного аніон-радикала мікросомами та NOS (на 17.8%, $p < 0.01$), мітохондріями (на 19.6%, $p < 0.01$), NADPH-оксидазою лейкоцитів (на 37.2%, $p < 0.01$), зменшує у них активність індукбельної NO-синтази (на 27.6%, $p < 0.01$) без істотних змін активності орнітиндекарбоксилази та рівня спряженості конститутивної ізоформи NO-синтази, знижує концентрації пероксинітриту (на 55.1%, $p < 0.02$) та ТБК-активних продуктів (на 39.5%, $p < 0.01$), але без вірогідного зрушення вмісту S-нітрозотіолів. Ці зміни супроводжуються покращенням функціонального стану піднижньощелепних слинних залоз (активність α -амілази у їхньому гомогенаті зростає на 16.9%, $p < 0.001$).

7. Введення глутамату натрію на фоні поєднання зміни нормального світлового режиму та моделювання системної запальної відповіді призводить до посилення оксидативного ушкодження тканин головного мозку і більшого пригнічення антиоксидантного захисту. 3. Введення глутамату натрію за умови поєднання зміни нормального світлового режиму та моделювання системної запальної відповіді активізує аргіназний шлях метаболізму L-аргініну, підвищує загальну активність NOS, сприяє розвитку нітрозативного стресу та ендотеліальної дисфункції.

8. Відтворення гострого десинхронізу (ГД) на тлі ЛПС-індукованої СЗВ істотно впливає на маркери лесинхронізації циркадіанних ритмів у сироватці крові щурів, зокрема зменшує концентрацію мелатоніну та збільшує вміст кортизолу, а також підвищує концентрацію гострофазового білка церулоплазміну в більшій мірі, ніж це відбувається при окремій дії патогенних чинників. Ці зміни супроводжуються суттєвим зростанням індукованого діурезу, зменшенням ШКФ та реабсорбції натрію за рахунок функції проксимальних каналців.

9. Введення глутамату натрію за умов експерименту значно погіршує зміни маркерів порушення циркадіанних ритмів та гострофазову реакцію, водночас спостерігається більш значне зниження ШКФ та реабсорбції натрію, ніж це має місце після відтворення ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ. Застосування екзогенного мелатоніну та кверцетину за умов експерименту значно обмежує гіпомелатонінемію, зменшує в сироватці крові концентрацію кортизолу та церулоплазміну, нормалізує індукований діурез і ШКФ, зменшує екскрецію натрію, збільшує його реабсорбцію за рахунок функції проксимальних каналців.

10. Введення щурам водорозчинної форми кверцетину протягом 14 діб після неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації покращує репаративні процеси в ділянці пошкодження, обмежує процеси резорбції кістки та деполімеризації біополімерів сполучної (кісткової) тканини – колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів. Введення кверцетину за умов експерименту суттєво посилює на 14 добу посттравматичного періоду біомеханічні властивості нижньощелепної кістки у ділянці перелому, збільшує її пружність і міцність.

11. Стимуляція активації транскрипційного фактора NF- κ B бактеріальним ліпополісахаридом *S. typhi* обмежує оксидативне ушкодження ліпідів, яке індуковане моделюванням метаболічного синдрому, у двоголовому м'язі стегна щурів за рахунок посилення активності антиоксидантних ферментів, проте посилює інтенсивність окисної модифікації білків. Введення бактеріального ліпополісахариду *S. typhi* на фоні моделювання метаболічного синдрому посилює продукцію оксиду азоту від NO-синтаз, проте обмежує його продукцію від нітрат-нітритредуктаз.

12. Продукція активних форм кисню у серці щурів за умов стимуляції активації транскрипційного фактора NF- κ B бактеріальним ліпополісахаридом та моделюванні метаболічного синдрому збільшується за рахунок посилення їх продукції від мітохондріального та мікросомального електронно-транспортних ланцюгів, в той час як продукція оксиду азоту збільшується за рахунок активації L-аргінін-залежного та L-аргінін-незалежного механізмів його утворення. Переважаючим шляхом метаболізації оксиду азоту в серці за умов стимуляції активації транскрипційного фактора NF- κ B бактеріальним ліпополісахаридом та моделюванні метаболічного синдрому є утворення токсичного пероксинітриту.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Акимов О.Е., Ковалёва И.А., Костенко В.А. Влияние энтеросорбентов на метаболизм аргинина и процессы пероксидного окисления липидов в крови крыс в условиях хронической сочетанной интоксикации нитратом и фторидом натрия. Наука о жизни и здоровье. 2016; 3: 37-41.
2. Акимов ОЕ, Мищенко АВ, Костенко ВА. Генерация свободных радикалов и процессы пероксидного окисления липидов в слизистой оболочке желудка крыс в условиях сочетанной нитратной и фторидной интоксикации. Наука о жизни и здоровье. 2016; (3): 42-45.
3. Акімов ОЄ, Єлінська АМ, Назаренко СМ, Міщенко АВ, Соловійова НВ, Катрушов ОВ, Костенко ВО. Спосіб експериментальної терапії хронічного пародонтиту за умов системної запальної відповіді. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я, випуск № 8. 2022. Реєстр. № 120/8/22.С.150
4. Акімов ОЄ, Карпик ЗІ, Олійник КІ, Міщенко АВ, Костенко ГВ. Роль транскрипційних факторів κВ і AP-1 у змінах продукції та утилізації оксиду азоту у серці щурів за умов хронічної фторидної інтоксикації/ Актуальні проблеми сучасної медицини. 2021;21(3):185-189.
5. Акімов ОЄ, Костенко ВО, Катрушов ОВ. Суміш для приготування кисневого коктейлю, збагачена іонами цинку. Патент України на винахід № 126495 МПК A23L 2/00; A23L 2/02 (2006.01); A23L 2/52 (2006.01); заявл. 01.07.2021; опубл. Заявки 03.11.2021; Бюл. № 44. опубл. 12.10.2022; Бюл. № 41.
6. Акімов ОЄ, Микитенко АО, Костенко ВО, Катрушов ОВ. Спосіб спектрофотометричного визначення концентрації сульфідів у продуктах харчування тваринного походження. Патент України на корисну модель № 151753 МПК G01N 21/31 (2006.01) G01N 33/02 (2006.01); заявл. 18.02.2022; опубл. 07.09.2022; Бюл. № 36.
7. Акімов ОЄ, Костенко ВО, Єлінська АМ, Швайковська ОО, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, заявник і патентовласник. Спосіб експериментального моделювання системної запальної відповіді. Патент України 128236; заявл. 19. 03. 2018 ; опубл. 10. 09. 2018, бюл. № 17.
8. Акімов ОЄ, Костенко ВО. Оксидативно-нітрозативний стрес та методи його дослідження: навчально-методичний посібник. Львів: Магнолія; 2021. 152 с.
9. Акімов ОЄ, Микитенко АО, Міщенко АВ, Костенко ВО. Вплив стимуляції організму бактеріальним ліпополісахаридом за умов моделювання метаболічного синдрому на розвиток оксидативного стресу у двоголовому м'язі стегна щурів. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2022; 22(3-4): 148-152
10. Акімов ОЄ, Назаренко СМ, Таран ОВ, Костенко ВО, Катрушов ОВ, Соловійова НВ, Міщенко АВ, Гришко ЮМ, Денисенко СВ. Спосіб експериментальної терапії окисно-нітрозативного стресу. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я, Вип. № 8. 2022. Реєстр. № 155/8/22. С.185-186.
11. Балюк ОЄ, Важнича ОМ, Луценко РВ, Костенко ВО, Акімов ОЄ. Зміни показників оксидативного стресу при місцевому застосуванні міноксидилу в щурів з хімічною депіляцією. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2023; 17 (3): 189-197.
12. Белікова ОІ, Френкель ЮД, Черно ВС. Костенко ВО. Вплив інгібітора ядерного чинника κВ на біохімічні маркери синдрому інсулінорезистентності в умовах гіпопінеалізму та призначення висококалорійної вуглеводно-ліпідної дієти. Світ медицини та біології. 2017;(3):80-82.
13. Белікова ОІ, Черно ВС, Френкель ЮД, Костенко ВО. Вплив хронічної гіпомелатоніемії на вуглеводний і ліпідний обмін за умов призначення щурам «дієти західного типу». Фізіол. журн. 2018;64(3):52-60.
14. Волкова ОА. Оксидативні механізми пошкодження клітин головного мозку щурів при зміні тривалості циклів «світло-темрява». Актуальні проблеми сучасної медицини. 2023;23(2, ч.2):17-21.
15. Діхтенко ТГ, Левков АА, Костенко ВО. Вплив L-аргініну, іммобілізованого на хірургічному шовному матеріалі, на окиснювальний обмін у паравульнарних тканинах оперованої тонкої кишки (експериментальне дослідження). Клін. хірургія. 2013;(9): 66-69.
16. Должкова КП, Костенко ВО. Вплив пригнічення та індукції NO-синтаз на біохімічний склад кісткової тканини нижньої щелепи при відтворенні її перелому на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію. Проблеми екології і медицини. 2010; 14(1-2): 35-38.
17. Єлінська АМ, Костенко ВО. NO- та NF-κB-залежні механізми порушення білоксинтезуючої функції слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому. Світ мед. та біол. 2014;(4):120-123.
18. Єлінська АМ, Костенко ВО. Вплив інгібітора транскрипційного фактора STAT-3 на показники окисно-нітрозативного стресу в тканинах пародонта щурів за умов системного введення ліпополісахариду. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2018;18(4):102-106.
19. Єлінська АМ, Костенко ВО. Вплив інгібітора транскрипційного чинника AP-1 на вільнорадикальне окиснення та антиоксидантний захист у тканинах пародонта щурів за умов системного введення ліпополісахариду *Salmonella typhi*. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2018;18(3):175-179.
20. Єлінська АМ, Костенко ВО. Вплив інгібітора фактора транскрипції AP-1 на деполімеризацію білків сполучної тканини пародонта щурів за умов системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2018;18(2):335-339.
21. Єлінська АМ, Костенко ВО. Роль ядерного фактора κВ у механізмах порушень окиснювальних процесів у слинних залозах за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2014;14(4):192-195.

22. Єлінська АМ, Назаренко СМ, Костенко ВО. Кверцетин обмежує розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканинах пародонта за умов відтворення різних моделей системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2019;19(4):83-87.
23. Єлінська АМ, Соловійова НВ, Костенко ВО. Роль пероксинітриту у механізмах вільнорадикальних процесів у слинних залозах за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2014;14(3):198-201.
24. Єлінська АМ, Старченко П, Костенко ВО. Вплив модуляторів редоксчутливих транскрипційних чинників на патоморфологічні зміни пародонта щурів за умов системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2019;19(3): 127-132.
25. Єлінська АМ, Швайковська ОО, Костенко ВО. Вплив епігалокатехіну-3-галату на продукцію активних форм кисню і азоту в тканинах пародонта та слинних залоз щурів за умов системної запальної відповіді. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2018;(1):32-38.
26. Єлінська АМ, Швайковська ОО, Костенко ВО. Вплив піролідіндитіокарбамату амонію на продукцію активних форм кисню і азоту в тканинах пародонта та слинних залоз щурів за умов системного введення ліпополісахариду *Salmonella typhi*. Фізіол. журн. 2018;64(5): 63-69.
27. Кайдашев ІП. Активация ядерного фактора κВ как молекулярной основы патогенеза метаболического синдрома. Патол. физиол. и эксперим. тер. 2013;(3):65-72.
28. Кайдашев ІП. Изменение образа жизни, нарушение энергетического метаболизма и системное воспаление как факторы развития болезней цивилизации. Укр. мед. часопис. 2013;(5):103-108.
29. Кайдашев ІП. Роль NFκВ в функционировании отдельных тканей, развитии и синтропии заболеваний основных систем организма. Журн. НАМН України. 2012;18(2):186-198.
30. Кайдашев ІП. Цитокиновый сигнальный модуль при воспалительном ответе. Клин. иммунол. Аллергол. Инфектол. 2012;(3):26-32.
31. Кайдашев ІП, редактор. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. Полтава; 2003. 320 с.
32. Кайдашев ІП. Активация NF-κВ при метаболічному синдромі. Фізіол. журн. 2012;58(1):93-101.
33. Клименко МО. Низькоступеневе дифузне хронічне запалення. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2022;(3):7-19.
34. Ковальова І.О., Костенко В.О. Вплив інгібітора транскрипційного чинника AP-1 на структурно-метаболічні та біомеханічні зміни кісткової тканини за умов поєданого надлишкового надходження фториду та нітрату натрію. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2019; 19(2): 123-128.
35. Ковальова І.О., Костенко В.О. Вплив інгібіторів транскрипційного чинника каппа В на метаболічні та структурні порушення кісткової тканини за умов поєданого надлишкового надходження фториду та нітрату натрію. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2019; 19(1): 65-70.
36. Костенко ВА, Елинская АН, Ляшенко ЛИ и др. NO- и пероксинитрит-зависимые изменения продукции супероксидного анион-радикала в органах крыс при экспериментальном метаболическом синдроме. Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2014;(2):74-77.
37. Костенко ВО, Єлінська АМ, Ляшенко ЛІ та ін. Роль слинних залоз у механізмах ауторегуляції рівня оксиду азоту в організмі ссавців та їх порушень. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2013;13(2):10-14.
38. Костенко ВО, Єлінська АМ, Назаренко СМ, Соловійова НВ, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, заявник і патентовласник. Спосіб експериментальної терапії окисно-нітрозативного стресу. Патент України 131230; заявл. 25. 06. 2018; опубл. 10. 01. 2019, бюл. № 1/2019.
39. Костенко ВО, Соловійова НВ, Коваленко ОВ та ін. Механізми ауторегуляції утворення оксиду азоту в організмі ссавців та їх порушення при розвитку патологічних процесів. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2011;11(3):150-154.
40. Костенко ВО, Цебржинський ОІ. Продукція супероксидного аніон-радикала та оксиду азоту у тканині нирок після хірургічного втручання. Фізіол. журн. 2000; 46(5):56-62.
41. Ляшенко ЛІ, Денисенко СВ, Костенко ВО. Роль транскрипційного ядерного фактора κВ у механізмах порушень вільнорадикальних процесів і дезорганізації сполучної тканини пародонта за умов експериментального метаболічного синдрому. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2014;14(1):97-100.
42. Ляшенко Л.І., Костенко В.О. NF-κВ-опосередкований вплив NO-синтаз на вільнорадикальні процеси у тканинах пародонта за умов експериментального метаболічного синдрому. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2014; 14(2): 140-143.
43. Максютин НІ, Мойбенко АА, Мохорт НА и др. Биофлавоноиды как органопротекторы (кверцетин, корвитин, квертин). К.: Наукова думка; 2012. 274 с.
44. Микитенко АО, Акімов ОС. Спосіб спектрофотометричного визначення концентрації кортизолу у продуктах харчування тваринного походження. Патент України на корисну модель № 151726 МПК G01N 21/31 (2006.01) G01N 33/02 (2006.01); заявл. 01.11.2021; опубл. 08.09.2022; Бюл. № 36.
45. Назаренко СМ, Костенко ВО. Модулятори факторів транскрипції NF-капа В та Nrf2 як засоби обмеження деструкції позаклітинного матриксу пародонта щурів після відтворення експериментальної черепно-

мозкової травми. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2022;22(2):71-75.

46. Назаренко СМ, Костенко ВО. Роль специфічних транскрипційних чинників NF- κ B і Nrf2 у механізмах розвитку оксидативно-нітрозативного стресу після експериментальної черепно-мозкової травми. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2022;22(3-4):156-160.

47. Нестуля КІ, Костенко ВО. Механізми нітрозативного стресу та деструкції органічного матриксу нижньої щелепи щурів у відновлювальному періоді після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2023;23(3):126-129.

48. Рябушко РМ, Костенко ВО. Маркери деструкції сполучної тканини тонкої кишки щурів за умов хірургічної травми, відтвореної на тлі експериментального посттравматичного стресового розладу. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2023;23(4):244-247.

49. Рябушко РМ, Костенко ВО. Утворення активних форм кисню та нітрогену в тканинах печінки щурів за умов хірургічної травми, відтвореної на тлі експериментальної моделі посттравматичного стресового розладу. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2023;23(3):137-142.

50. Соловійов ВВ, Кузнецова ТЮ, Ілляш ОЕ, Соловійова НВ, Іванченко АВ, Ярмола ТІ. Антиоксидантна активність мелатоніну при подоланні ендоекологічних ризиків при лікуванні вірусних захворювань людини, зокрема COVID-19 // Подання екологічних ризиків та загроз для довкілля в умовах надзвичайних ситуацій – 2022: [монографія]. Дніпро: Середняк Т.К., 2022. С. 497-508.

51. Соловійов ВВ, Кузнецова ТЮ, Ілляш ОЕ, Соловійова НВ, Іванченко АВ, Ярмола ТІ. Моделювання антиоксидантної активності мелатоніну в аспекті його клінічного застосування при COVID-19. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2022; 22(1):117-122.

52. Сорокін БВ, Костенко ВО. Зміни компонентів органічного матриксу кісткової тканини щурів при відтворенні експериментального остеопорозу за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2013; 13(2): 220-224.

53. Сорокін БВ, Костенко ВО. Роль NO-синтаз у механізмах структурно-функціональних порушень кісток при відтворенні глюкокортикоїдного остеопорозу за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2013; 13(4): 178-181.

54. Сорокін БВ, Костенко ВО. Роль утворення пероксинітриду на структурно-метаболическі зміни кісткової тканини при відтворенні експериментального остеопорозу за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію. Загальна патологія та патологічна фізіологія. 2012; (4, дод. Б): 78-82.

55. Стасюк ОА, Костенко ВО. NO-залежні механізми порушень окиснювального метаболізму за умов спільного надлишкового нітрату та фториду натрію у слинних залозах щурів . Полтава: ТОВ «Бліц Стайл»: 2023. 120 с.

56. Стецук Є. В., Шепітько В. І., Соловійова Н. В., Акімов О. Є. Роль рецептора CD68+ у змінах активності маркерних ферментів поліари-зації макрофагів в сім'яниках щурів при тривалій блокаді синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Вісник проблем біології і медицини. 2021; 161(3): 277-281.

57. Стецук Є.В., Акімов О.Є., Вільхова О.В., Єліньська А.М., Міщенко А.В., Скотаренко Т.А. Кореляційні співвідношення експресії рецептора CD68 та активності маркерних ферментів поліаризації макрофагів в сім'яниках щурів при тривалій блокаді синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2021;21(4):153-157.

58. Талаш ВВ, Костенко ВО. Вплив інгібіторів активації ядерного фактора κ B на метаболізм і гемокоагуляцію за умов відтворення метаболічного синдрому. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2015;(2):83-89.

59. Талаш ВВ, Костенко ВО. Стан вільнорадикальних процесів та гемокоагуляції в організмі щурів за умов відтворення метаболічного синдрому. Світ мед. та біол. 2015;(2):184-187.

60. Таран ОВ, Костенко ВО. Вплив модуляторів транскрипційних чинників на вуглеводний і ліпідний обмін у щурів після лапаротомії за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2022;22(1):123-129.

61. Таран ОВ, Соловійова НВ, Костенко ВО. Вплив лапаротомії та ліпополісахаридіндукованої системної запальної відповіді на метаболічні розлади в організмі щурів. Фізіологічний журнал. 2022; 68(3):35-43.

62. Таран ОВ, Соловійова НВ. Вплив модуляторів транскрипційних чинників NF- κ B і Nrf2 на показники оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах тонкої кишки щурів після лапаротомії на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2022;22(2): 76-81.

63. Тетянец СС. Метод определения свободного оксипролина в сыворотке крови. Лабор. дело. 1985;(1):61-62.

64. Технологія експериментальної терапії дисфункції слинних залоз при дії на органи ротової порожнини метилового ефіру метакрилової кислоти / Костенко В. О., Соловійова Н. В., Міщенко А. О., Акімов О. Є., Костенко В. Г. Реєстраційна картка технології № 0623U000089.

65. Технологія експериментальної терапії хронічного пародонтиту за умов системної запальної відповіді / Костенко В. О., Соловійова Н. В., Міщенко А. О., Акімов О. Є., Костенко В. Г. Реєстраційна картка технології № 0623U000068.

66. Технологія моделювання метаболічного синдрому / Костенко В. О., Міщенко А. О., Соловійова Н. В., Акімов О. Є., Костенко В. Г. Реєстраційна картка технології № 0623U000056.

67. Технологія оптимізації репаративних процесів у хірургічній рані / Костенко В. О., Соловйова Н. В., Міщенко А. О., Акімов О. Є., Костенко В. Г. Реєстраційна картка технології № 0623U000064.
68. Технологія оцінки системної дії біологічно активних хірургічних шовних матеріалів / Костенко В. О., Міщенко А. О., Соловйова Н. В., Акімов О. Є., Костенко В. Г. Реєстраційна картка технології № 0623U000057.
69. Технологія оцінки токсичної дії відпрацьованого моторного масла / Костенко В. О., Міщенко А. О., Соловйова Н. В., Акімов О. Є., Костенко В. Г. Реєстраційна картка технології № 0623U000055.
70. Френкель ЮД, Зюзін ВО, Черно ВС, Костенко ВО. Вплив епігалокатехін-3-галату та кверцетину на утворення активних форм кисню та азоту в печінці щурів за умов їх цілодобового освітлення та утримання на вуглеводно-ліпідній дієті. *Фізіол. журн.* 2022; 68(1):20-27.
71. Френкель ЮД, Черно ВС, Костенко ВО. Вплив біофлавоноїдів на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів за умов їх цілодобового освітлення та утримання на вуглеводно-ліпідній дієті. *Фармакологія та лікарська токсикологія.* 2021;15(6):406-413.
72. Френкель ЮД, Черно ВС, Костенко ВО. Вплив куркуміну на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах печінки щурів при моделюванні метаболічного синдрому за умов цілодобового освітлення. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії.* 2022;22(2):81-85.
73. Френкель ЮД, Черно ВС, Костенко ВО. Вплив куркуміну на систему оксиду азоту в скелетних м'язах щурів за умов експериментального метаболічного синдрому за умов цілодобового освітлення. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії.* 2022;22(3-4):173-176.
74. Френкель ЮД, Черно ВС, Костенко ВО. Вплив модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники оксидативно-нітрозативного стресу в скелетних м'язах щурів за умов хронічної гіпомелатоніемії та вуглеводно-ліпідної дієти. *Фізіол. журн.* 2023;69(2):11-18.
75. Френкель ЮД, Черно ВС, Костенко ВО. Вплив піролідиндітіокарбамату амонію на утворення активних форм кисню та азоту в печінці щурів за умов їх цілодобового освітлення та утримання на вуглеводно-ліпідній дієті. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії.* 2021;21(3):214-218.
76. Френкель ЮД, Черно ВС, Костенко ВО. Ефективність комбінованого застосування мелатоніну та ресвератролу за умов цілодобового освітлення на тлі висококалорійної вуглеводно-ліпідної дієти. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії.* 2023;23(4):257-260.
77. Френкель ЮД, Черно ВС, Костенко ВО. Індукція транскрипційного фактора Nrf2 пригнічує продукцію активних форм кисню і азоту в печінці щурів при моделюванні метаболічного синдрому за умов цілодобового освітлення. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії.* 2022;22(1):129-133.
78. Френкель ЮД, Черно ВС, Костенко ВО. Поліфеноли як засоби корекції оксидативно-нітрозативного стресу в скелетних м'язах щурів за умов експериментального метаболічного синдрому. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії.* 2021;21(4):164-168.
79. Хміль ДО, Костенко ВО. Вплив L-аргініну та корвітину на окисно-нітрозативний стрес у шкірі щурів за умов підвищеного вмісту нітрату натрію. *Фізіологічний журнал.* 2017; 63(6): 53-59.
80. Хміль ДО, Костенко ВО. Роль NO-синтази і аргінази у механізмах дезорганізації сполучної тканини шкіри щурів за умов надмірного надходження в організм нітрату натрію. *Світ медицини та біології.* 2017; (2): 169-171.
81. Хміль ДО, Костенко ВО. Вплив L-аргініну та корвітину на окисно-нітрозативний стрес у шкірі щурів за умов підвищеного вмісту нітрату натрію. *Фізіол. журн.* 2017;63(6):53-59.
82. Храмов В.А. Простой метод определения активности орнитиндекарбоксилазы в смешанной слюне человека. *Клин. лабор. диагн.* 1997;(4):14-15.
83. Храмов В.А. Нитратредуктазная активность слюны человека. *Вопр. питания.* 1992;(5-6):65-68.
84. Шараев ПН, Пишков ВН, Соловьева НИ и др. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях. *Лаб. дело.* 1987;(5):330-332.
85. Швайковська ОО, Денисенко СВ, Костенко ВО. Вплив водорозчинної форми кверцетину на показники окисно-нітрозативного стресу в тканинах піднижньощелепних слинних залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії.* 2021;21(2):175-181.
86. Шлыкова ОА, Микитюк МВ, Боброва НЛ и др. Влияние метформина на липидный обмен и хроническое воспаление в тканях печени мышей при диете с высоким содержанием фруктозы. *Пробл. екол. і мед.* 2014;18(3-4):64-67.
87. Шрайбман ГН, Дягилева ЕП, Скибина АВ. Спектрофотометрические методики определения пероксинитрита и нитрита. *Вестн. КемГУ.* 2011;(1):200-206.
88. Шулутоко БИ, Горбачева ИА, Васильев АВ, Мадай ДЮ. Сиалоаденопатии у пожилых и старых людей диагностика, лечение и профилактика. *Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости.* 2016;(1): 70-72.
89. Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на вільнорадикальні процеси у щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми. *Український журнал медицини, біології та спорту.* 2020; 5(4):117-123.
90. Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Вплив модуляторів редоксчутливих транскрипційних чинників на неврологічний дефіцит у щурів після відтворення черепно-мозкової травми. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії.* 2020; 20(2):198-202.

91. Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Пригнічення транскрипційних чинників NF kappa B та AP-1 обмежує розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканині великих півкуль головного мозку щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії*. 2020;20(1):80-85.
92. Явтушенко ІВ, Левков АА, Костенко ВО. Зміни поведінкових реакцій щурів після відтворення черепно-мозкової травми та їхня корекція модуляторами транскрипційних чинників. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії*. 2020; 20(4):157-162.
93. Akimov OYe, Mykytenko AO, Kostenko VO, Yeroshenko GA. The influence of stimulation of organism with bacterial lipopolysaccharide on the background of metabolic syndrome modeling on the development of oxidative stress in rat heart. *World of Medicine and Biology*. 2023; 84 (2): 176-180.
94. Akimov OY, Kovalova IO, Kostenko VO. Correction of destructive changes in connective tissues of different organs during chronic nitrate and fluoride intoxication by nanosized silica oxide. *J Educ Health Sport*. 2019;9(5):547-555.
95. Akimov O, Kostenko V. Superoxide and peroxynitrite production in gastric mucosa of rats under combined nitrate-fluoride intoxication. *J Grodno State Med Univ*. 2018 Dec;16(6):730-734.
96. Akimov OYe, Mykytenko AO, Kostenko VO. Influence of bacterial lipopolysaccharide on the degradation of the components of the extracellular matrix of rat biceps femoris muscle during high fructose diet-induced metabolic syndrome. *Фізіол. журн*. 2023; 69 (3): 99-105.
97. Akimov OY, Mykytenko AO, Kostenko VO. Influence of organism stimulation with bacterial lipopolysaccharide on nitric oxide production and metabolism in rat heart on the background of metabolic syndrome. *Modern medical technology*. 2023; 4: 45-50.
98. Akimov OYe, Mykytenko AO, Kostenko VO. Nitric oxide cycle activity in rat biceps femoris muscle under conditions of bacterial lipopolysaccharide influence, experimental metabolic syndrome and their combination. *Ukr.Biochem.J*. 2023; 95 (4): 24-34.
99. Al-Husseini AMH, Al-Waely LAM, Kazem AAA, Mashkoor NR. Environmental effects of monosodium glutamate on (NF- κ B) levels in the male reproductive system of rats. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci*. 2022;1029:012024.
100. Amaral FGD, Andrade-Silva J, Kuwabara WMT, Cipolla-Neto J. New insights into the function of melatonin and its role in metabolic disturbances. *Expert Rev Endocrinol Metab*. 2019 Jul;14(4):293-300.
101. Bayazid AB, Lim BO. Quercetin Is An Active Agent in Berries against Neurodegenerative Diseases Progression through Modulation of Nrf2/HO1. *Nutrients*. 2022 Dec 2;14(23):5132.
102. Bedrosian TA, Nelson RJ. Timing of light exposure affects mood and brain circuits. *Transl Psychiatry*. 2017 Jan 31;7(1):e1017.
103. Blume C, Garbazza C, Spitschan M. Effects of light on human circadian rhythms, sleep and mood. *Somnologie (Berl)*. 2019 Sep;23(3):147-56.
104. Boyce BF, Xiu Y, Li J, Xing L, Yao Z. NF- κ B-Mediated Regulation of Osteoclastogenesis. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2015 Mar 27;30(1):35-44.
105. Castagna A, Pizzolo F, Chiecchi L, Morandini F, Channavajjhala SK, Guarini P, et al. Olivieri O. Circadian exosomal expression of renal thiazide-sensitive NaCl cotransporter (NCC) and prostasin in healthy individuals. *Proteomics Clin Appl*. 2015 Jun;9(5-6):623-629.
106. Chabicovsky M, Prieschl-Grassauer E, Seipelt J et al. Pre-clinical safety evaluation of pyrrolidine dithiocarbamate. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2010;107(3):758-67.
107. Chao PC, Li Y, Chang CH, Shieh JP, Cheng JT, Cheng KC. Investigation of insulin resistance in the popularly used four rat models of type-2 diabetes. *Biomed Pharmacother*. 2018 May;101:155-61.
108. Chekalina N, Burmak Y, Petrov Y, Borisova Z, Manusha Y, Kazakov Y, Kaidashev I. Quercetin reduces the transcriptional activity of NF- κ B in stable coronary artery disease. *Indian Heart J*. 2018;70(5):593-7.
109. Chen Y, Zhao Q, Chen Q, Zhang Y, Shao B, Jin Y, Wu J. Melatonin attenuated inflammatory reaction by inhibiting the activation of p38 and NF- κ B in taurocholate-induced acute pancreatitis. *Mol Med Rep*. 2018 Apr;17(4):5934-9.
110. Chen YQ, Chen HY, Tang QQ, Li YF, Liu XS, Lu FH, et al. Protective effect of quercetin on kidney diseases: From chemistry to herbal medicines. *Front Pharmacol*. 2022 Sep 2;13:968226.
111. Costello HM, Johnston JG, Juffre A, Crislip GR, Gumz ML. Circadian clocks of the kidney: function, mechanism, and regulation. *Physiol Rev*. 2022 Oct 1;102(4):1669-1701.
112. Dapunt U, Giese T, Stegmaier S, Moghaddam A, Hänsch GM. The osteoblast as an inflammatory cell: production of cytokines in response to bacteria and components of bacterial biofilms. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016 Jun 2;17:243.
113. Denisenko SV, Kostenko VA. Changes of mitochondrial oxidation and phosphorylation in the testes of white rats under excessive supply of sodium nitrate into the organism. *Ukr Biokhim Zh*. 2003;75(1):101-103.
114. Eby JM, Sharieh F, Azevedo J, Callaci JJ. Episodic alcohol exposure attenuates mesenchymal stem cell chondrogenic differentiation during bone fracture callus formation. *Alcohol Clin Exp Res*. 2022 Jun;46(6):915-27.
115. Favero G, Trapletti V, Bonomini F, Stacchiotti A, Lavazza A, Rodella LF, et al. Oral Supplementation of Melatonin Protects against Fibromyalgia-Related Skeletal Muscle Alterations in Reserpine-Induced Myalgia Rats. *Int J Mol Sci*. 2017 Jun 29;18(7):1389.

116. Favero G, Trapletti V, Bonomini F, Stacchiotti A, Lavazza A, Rodella LF, Rezzani R. Oral Supplementation of Melatonin Protects against Fibromyalgia-Related Skeletal Muscle Alterations in Reserpine-Induced Myalgia Rats. *Int J Mol Sci.* 2017;18(7):1389.
117. Frenkel Y, Chernov V, Kostenko H, Chopra H, Gautam RK, Kostenko V. Dietary Supplementation with Resveratrol Attenuates Serum Melatonin Level, Pro-Inflammatory Response and Metabolic Disorder in Rats Fed High-Fructose High-Lipid Diet under Round-the-Clock Lighting. *Pathophysiology.* 2023 Feb; 30(1):37-47.
118. Frenkel Y, Chernov V, Kostenko H, Kostenko V. Resveratrol attenuates the development of nitro-oxidative stress in the liver of rats under a round-the-clock lighting and high-carbohydrate-lipid diet. *Romanian Journal of Diabetes, Nutrition and Metabolic Diseases.* 2023;30(1):48-54.
119. Frenkel YD, Chernov VS, Kostenko VO. Nrf2 induction alleviates metabolic disorder and systemic inflammatory response in rats under a round-the-clock lighting and high-carbohydrate-lipid diet. *Romanian Journal of Diabetes, Nutrition and Metabolic Diseases.* 2022;29(2):194-201.
120. Frenkel YD, Chernov VS, Zyuzin VO, Pshychenko VV, Starchenko II, Kostenko VO, Stepanchuk AP. Pathomorphological state of liver tissues in rats with experimental metabolic syndrome with quercetin correction. *Світ медицини та біології.* 2023;(1):242-247.
121. Frenkel YuD, Chernov VS, Kharchenko OV, Larycheva OM, Chebotar LD, Pshychenko VV, Kostenko VO. Main pathomorphological changes of liver tissues in experimental metabolic syndrome. *Світ медицини та біології.* 2022;(2):242-247.
122. Gao W, Guo L, Yang Y, Wang Y, Xia S, Gong H, Zhang BK, Yan M. Dissecting the Crosstalk Between Nrf2 and NF- κ B Response Pathways in Drug-Induced Toxicity. *Front Cell Dev Biol.* 2022 Feb 2;9:809952.
123. Golovach I, Rekalov D, Akimov OY, Kostenko H, Kostenko V, Mishchenko A, Solovyova N, Kostenko V. Molecular mechanisms and potential applications of chondroitin sulphate in managing post-traumatic osteoarthritis. *Reumatologia.* 2023;61(5):395-407.
124. Gonzalez-Vicente A, Hong N, Garvin JL. Effects of reactive oxygen species on renal tubular transport. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2019 Aug 1;317(2):F444-F455.
125. He S, Zhang X, Qu S. Glutamate, Glutamate Transporters, and Circadian Rhythm Sleep Disorders in Neurodegenerative Diseases. *ACS Chem Neurosci.* 2019;10(1):175-181.
126. Hergenhan S, Holtkamp S, Scheiermann C. Molecular Interactions Between Components of the Circadian Clock and the Immune System. *J Mol Biol.* 2020 May 29;432(12):3700-3713.
127. Izmailova O, Kabaliev A, Shynkevych V, Shlykova O, Kaidashev I. PPAR γ agonist pioglitazone influences diurnal kidney medulla mRNA expression of core clock, inflammation-, and metabolism-related genes disrupted by reverse feeding in mice. *Physiol Rep.* 2022 Dec;10(23):e15535.
128. Kadamane SP, Satariano M, Massey M, Mongan K, Raina R. The Role of Inflammation in CKD. *Cells.* 2023; 12(12):1581.
129. Kang CH, Choi YH, Moon SK, Kim WJ, Kim GY. Quercetin inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in BV2 microglial cells by suppressing the NF- κ B pathway and activating the Nrf2-dependent HO-1 pathway. *Int Immunopharmacol.* 2013;17(3):808-13.
130. Kostenko V, Akimov O, Gutnik O, Kostenko H, Kostenko V, Romantseva T, Morhun Y, Nazarenko S, Taran O. Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response. *Heliyon.* 2023 Apr 16;9(5):e15551.
131. Kovalova O. M., Cherniavska Yu. I., Pokhylyk V. I., Akimov O. Ye., Sliusareva A. V. The effect of enos gene polymorphism and nitric oxide metabolism indicators on the neonatal consequences in premature babies born from mothers with metabolic syndrome. *Neonatology, Surgery and Perinatal Medicine.* 2023; 49 (3): 44-51.
132. Kuryata O, Akimov O, Denisenko S, Kostenko H, Kostenko V, Mishchenko A, Solovyova N, Kostenko V. Chondroitin Sulfate in Osteoarthritis Management Among Diabetic Patients: Molecular Mechanisms and Clinical Potential. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases.* 2023;30(4):481-493.
133. Kuz IO, Kostenko VO, Sheshukova OV, Maksymenko AI, Pysarenko OA., Akimov OY. Functioning of NO-cycle in the saliva of children with type 1 diabetes mellitus. *Problemi Endokrinnoi Patologii.* 2021;78(4):34-39.
134. Kuznetsova TY, Solovyova NV, Solovyov VV, Kostenko VO. Antioxidant activity of melatonin and glutathione interacting with hydroxyl- and superoxide anion radicals. *Ukr Biochem J.* 2017 Nov-Dec;89(6):22-30.
135. Lai WW, Hsu SC, Chueh FS, Chen YY, Yang JS, Lin JP, Lien JC, Tsai CH, Chung JG. Quercetin inhibits migration and invasion of SAS human oral cancer cells through inhibition of NF- κ B and matrix metalloproteinase-2/-9 signaling pathways. *Anticancer Res.* 2013;33(5):1941-50.
136. Léotoing L, Wauquier F, Guicheux J, Miot-Noirault E, Wittrant Y, Coxam V. The Polyphenol Fisetin Protects Bone by Repressing NF- κ B and MKP-1-Dependent Signaling Pathways in Osteoclasts. *PLoS One.* 2013;8(7):e68388.
137. Li R, Wang G, Liu R, Luo L, Zhang Y, Wan Z. Quercetin improved hepatic circadian rhythm dysfunction in middle-aged mice fed with vitamin D-deficient diet. *J Physiol Biochem.* 2024 Feb;80(1):137-147.
138. Likhachov V., Shimanska Ya., Akimov O., Vashchenko V., Taranovska O., Zhabchenko I., Kaidashev I. Prophylaxis of decidual CD68+/CD163+ macrophage disbalance in extracorporeal fertilized women. *Heliyon.* 2023; 9(10): e21148.
139. Loloei S, Sepidarkish M, Heydarian A, Tahvilian N, Khazdouz M, Heshmati J, Pouraram H. The effect of melatonin supplementation on lipid profile and anthropometric indices: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Diabetes Metab Syndr.* 2019 May-Jun;13(3):1901-10.
140. Lu J, Chen Y, Wang Z, Cao J, Dong Y. The Role of the FOXO1/ β 2-AR/p-NF- κ B p65 Pathway in the Development of Endometrial Stromal Cells in Pregnant Mice under Restraint Stress. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(3):1478.

141. Markowska M, Niemczyk S, Romejko K. Melatonin Treatment in Kidney Diseases. *Cells*. 2023 Mar 8;12(6):838.
142. Markus RP, Cecon E, Pires-Lapa MA. Immune-pineal axis: nuclear factor κ B (NF- κ B) mediates the shift in the melatonin source from pinealocytes to immune competent cells. *Int J Mol Sci*. 2013 May 24;14(6):10979-10997.
143. Matsytska YK, Mykytenko AO., Akimov OY. Influence of corvutin and metformin on biochemical changes in lacrimal glands of rats during water avoidance stress modeling. *Oftalmol Zh*. 2022;97(3):39-44.
144. Mohandas R, Douma LG, Scindia Y, Gumz ML. Circadian rhythms and renal pathophysiology. *J Clin Invest*. 2022 Feb 1;132(3):e148277.
145. Mohd Azmi NAS, Juliana N, Azmani S, Mohd Effendy N, Abu IF, Mohd Fahmi Teng NI, et al. Cortisol on Circadian Rhythm and Its Effect on Cardiovascular System. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Jan 14;18(2):676.
146. Muscogiuri G, Poggiogalle E, Barrea L, Tarsitano MG, Garifalos F, Liccardi A, Pugliese G, Savastano S, Colao A; Obesity Programs of nutrition, Education, Research and Assessment (OPERA) group. Exposure to artificial light at night: A common link for obesity and cancer? *Eur J Cancer*. 2022 Sep;173:263-75.
147. Mykytenko A. O., Akimov O. Ye., Yeroshenko G. A. , Neporada K. S. The role of sulfide anion in the development of oxidative stress in the liver under conditions of chronic alcoholic hepatitis. *World of Medicine and Biology*. 2022; 81(3): 223-226.
148. Mykytenko A. O., Yeroshenko G.A., Neporada K. S., Akimov OY. Extracellular matrix of rat liver under the conditions of combining systemic inflammatory response syndrome and chronic alcohol intoxication. *World of Medicine and Biology*. 2022; 79(1): 214-217.
149. Mykytenko A. O., Yeroshenko G.A., Neporada K. S., Akimov OY. Influence of transcription factor KB on remodeling of extracellular matrix of rat liver under conditions of chronic alcohol intoxication. *World of Medicine and Biology*. 2022; 80(2): 214-217.
150. Mykytenko A.O., Akimov O.Ye., Shevchenko O.M., Neporada K.S. Role of sulfide anion in the development of chronic alcoholic hepatitis under the conditions of modulation of adenosine monophosphate kinase – a correlational study. *European Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2023; 21 (3): 567-575.
151. Mykytenko A.O., Akimov O.Ye., Yeroshenko G.A., Neporada K.S. Influence of NF- κ B on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. *Ukr.Biochem.J*. 2022; 94 (6): 57-66.
152. Mykytenko A.O., Akimov O.Ye., Yeroshenko G.A., Neporada K.S. Influence of doxorubicin on the extracellular matrix of the liver of rats under conditions of chronic alcoholic hepatitis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2023; 14 (2): 278-283.
153. Mykytenko A.O., Akimov O.Ye., Yeroshenko G.A., Shevchenko O.M., Neporada K.S. Biochemical changes in the extracellular matrix of rat liver during chronic alcohol intoxication. *World of Medicine and Biology*. 2022; 82 (4): 221-225.
154. Mykytenko A.O., Matsytska Y.K., Akimov O.Y. Influence of lipopolysaccharide and the general adaptation syndrome on the development of oxidative-nitrosative stress in the lacrimal glands of rats. *Фізіол. журн*. 2023; 69 (2): 71-77.
155. Mykytenko AO, Akimov OYe, Yeroshenko GA, Neporada KS. NF- κ B Impact on Oxidative-Nitrosative Stress Development in the Liver of Rats Experiencing Chronic Alcohol Intoxication. *Ukr Biochem J*. 2022;94(6):57-66.
156. Mykytenko AO, Neporada KS., Akimov OY. Influence of lipopolysaccharide on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. *Fiziol Zh*. 2022;68(2):29-35.
157. Nicholson JA, Makaram N, Simpson A, Keating JF. Fracture nonunion in long bones: A literature review of risk factors and surgical management. *Injury*. 2021 Jun;52 Suppl 2:S3-S11.
158. Okada Y, Okada M. Quercetin, caffeic acid and resveratrol regulate circadian clock genes and aging-related genes in young and old human lung fibroblast cells. *Mol Biol Rep*. 2020 Feb;47(2):1021-1032.
159. Ono T, Hayashi M, Sasaki F, Nakashima T. RANKL biology: bone metabolism, the immune system, and beyond. *Inflamm Regen*. 2020 Feb 7;40:2.
160. Peuhkuri K, Sihvola N, Korpela R. Dietary factors and fluctuating levels of melatonin. *Food Nutr Res*. 2012;56.
161. Polyvyana O. A., Shepitko K. V., Stetsuk Ye. V., Akimov O. Ye., Dubinin D. S. Influence of prolonged tripterelin-induced central deprivation of testosterone synthesis on morphological structure of rat's liver. *World of Medicine and Biology*. 2021; 1: 205-209.
162. Polyvyana O.A., Shepitko V.I., Stetsuk Ye.V., Akimov O.Ye., Yakushko O.S., Voloshyna O.V. Morphological changes and oxidative homeostasis in the liver tissues during long central deprivation of luteinizing hormone synthesis by triptorelin. *The Medical and Ecological Problems*. 2021, 5-6: 39-42
163. Poulouse N, Raju R. Sirtuin regulation in aging and injury. *Biochim Biophys Acta*. 2015 Nov;1852(11):2442-55.
164. Qi W, Qi W, Xiong D, Long M. Quercetin: Its Antioxidant Mechanism, Antibacterial Properties and Potential Application in Prevention and Control of Toxipathy. *Molecules*. 2022 Oct 3;27(19):6545.
165. Rahman SA, Wright KP Jr, Lockley SW, Czeisler CA, Gronfier C. Characterizing the temporal dynamics of melatonin and cortisol changes in response to nocturnal light exposure. *Sci Rep*. 2019;9:19720.
166. Ran J, Tao C, Zhang S, Chen Q, Yang P, Hu Y, et al. Circadian syndrome is associated with the development of chronic kidney disease and rapid decline in kidney function in middle-aged and elder adults: a China nationwide cohort study. *J Nutr Health Aging*. 2024;28(1):100011.

167. Riabushko RM, Boyarska ZO, Kostenko VO. Laparotomy enhances the production of reactive nitrogen species in the heart of rats exposed to a single prolonged stress. *Проблеми екології та медицини*. 2023;27(5-6):26-30.
168. Rud M. V., Shepitko V. I., Stetsuk Ye. V., Akimov O. Ye., Vilkhova O. V., Skotarenko T. A. The reaction of immunocompetent liver cells during chemical castration of male rats caused by the introduction of triptorelin acetate. *World of Medicine and Biology*. 2021; 2: 238-242.
169. Rud M.V., Shepitko V.I., Stetsuk Ye.V., Akimov O.Y. The effect of quercetin on morphological and biochemical changes in rat liver under 270th day central deprivation of luteinizing hormone synthesis. *The Medical and Ecological Problems*. 2022; 26(1-2): 22-25.
170. Sagmeister MS, Harper L, Hardy RS. Cortisol excess in chronic kidney disease - A review of changes and impact on mortality. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023 Jan 17;13:1075809.
171. Sak NN. Strength of the humerus of white rats of different ages at the application of a perforated tibial defect. *Ukr Morf Alm*. 2012;10(2):196-198.
172. Sanggaard KM, Hannibal J, Fahrenkrug J. Serotonin inhibits glutamate- but not PACAP-induced per gene expression in the rat suprachiasmatic nucleus at night. *Eur J Neurosci*. 2003 Mar;17(6):1245-1252.
173. Shayenko Z.O., Akimov O.E., Neporada K.S., Ligonenko O.V., Spivak M.Ya. The influence of nanodispersed cerium oxide on the development of oxidative stress and the production of nitric oxide in patients with type 2 diabetes mellitus. *Miznarodnij Endokrinologichnij Zurnal*. 2023; 19 (3): 183-187.
174. Spurny-Dworak B, Reed MB, Handschuh P, Vanicek T, Spies M, Bogner W, et al. The influence of season on glutamate and GABA levels in the healthy human brain investigated by magnetic resonance spectroscopy imaging. *Hum Brain Mapp*. 2023 Apr 15;44(6):2654-2663.
175. Stenvinkel P, Chertow GM, Devarajan P, Levin A, Andreoli SP, Bangalore S, et al. Chronic Inflammation in Chronic Kidney Disease Progression: Role of Nrf2. *Kidney Int Rep*. 2021 May 4;6(7):1775-1787.
176. Stetsuk Ye. V., Shepitko V. I., Akimov O. Ye., Yakushko O. S., Solovyova N. V. Influence of quercetin on biochemical and morphological changes in rat testes after 30 days long central deprivation of luteinizing hormone. *World of Medicine and Biology*. 2021; 3: 243-248.
177. Stetsuk Ye.V., Akimov O.Ye., Shepitko V.I., Goltsev A.N. Influence of prolonged central deprivation of testosterone synthesis on production of reactive oxygen and nitrogen species and morphological structure of rat testes. *World of Medicine and Biology*. 2020; 4: 210-214.
178. Stetsuk Ye.V., Shepitko V.I., Akimov O.Ye., Boruta N.V., Rud M.V., Pelypenko L. B., Lysachenko O.D., Vilkhova O.V., Skotarenko T.A., Voloshyna O.V. Dynamics of CD68 receptor expression in macrophages of the interstitial space of the rat testis under triptorelin prolonged administration. *Ukr.Biochem.J*. 2023; 95 (2): 75-82.
179. Su G, Song H, Lanka V, Liu X, Fang F, Valdimarsdóttir UA, Carrero JJ. Stress Related Disorders and the Risk of Kidney Disease. *Kidney Int Rep*. 2021 Jan 13;6(3):706-715.
180. Tabrizi R, Tamtaji OR, Mirhosseini N, Lankarani KB, Akbari M, Heydari ST, Dadgostar E, Asemi Z. The effects of quercetin supplementation on lipid profiles and inflammatory markers among patients with metabolic syndrome and related disorders: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2020;60(11):1855-68.
181. Tamma G, Valenti G, Grossini E, Donnini S, Marino A, Marinelli RA, et al. Aquaporin Membrane Channels in Oxidative Stress, Cell Signaling, and Aging: Recent Advances and Research Trends. *Oxid Med Cell Longev*. 2018 Mar 27;2018:1501847.
182. Tinti F, Lai S, Noce A, Rotondi S, Marrone G, Mazzaferro S, et al. Chronic Kidney Disease as a Systemic Inflammatory Syndrome: Update on Mechanisms Involved and Potential Treatment. *Life (Basel)*. 2021 May 5;11(5):419.
183. Tu E, Pearlmutter P, Tiangco M, Derosé G, Begdache L, Koh A. Comparison of Colorimetric Analyses to Determine Cortisol in Human Sweat. *ACS Omega*. 2020 Mar 31;5(14):8211-8218.
184. Voroshilova T. A., Shepitko V. I., Stetsuk Ye. V., Puzyryov G. S., Akimov O.Y. Changes in nitric oxide production and development of oxidative stress in rats heart during prolonged triptorelin-induced central deprivation of luteinizing hormone synthesis. *World of Medicine and Biology*. 2022; 79(1): 179-183.
185. Vriend V, Reiter RJ. Melatonin as a proteasome inhibitor: Is there any clinical evidence? *Life Sci*. 2014;115(1-2):8-14.
186. Xu P, Wang J, Fan H, Wang S, Jin X, Xue T, Jia L, Zhai Y. Melatonin prevents obesity through modulation of gut microbiota in mice. *J Pineal Res*. 2017;62:e12399.
187. Yapıslar H, Hacıosmanoglu E, Sarioglu T, Degirmencioglu S, Sogut I, Poteser M, Ekmekcioglu C. Anti-Inflammatory Effects of Melatonin in Rats with Induced Type 2 Diabetes Mellitus. *Life (Basel)*. 2022 Apr 12;12(4):574.
188. Yavtushenko IV, Nazarenko SM, Katrushov OV, Kostenko VO. Quercetin limits the progression of oxidative and nitrosative stress in the rats' tissues after experimental traumatic brain injury. *Wiadomości Lekarskie*. 2020; 73(10):2127-2132.
189. Yelins'ka AM, Akimov OYe, Kostenko VO. Role of AP-1 transcriptional factor in development of oxidative and nitrosative stress in periodontal tissues during systemic inflammatory response. *Ukr Biochim J*. 2019; 91(1):80-85.
190. Yelins'ka AM, Kostenko VO. Lipid peroxidation and antioxidant protection in periodontal tissues of rats under the action of local pathogenic factor on gums in rats exposed to modeled systemic inflammatory response. *Проблеми екології та медицини*. 2017;21(5-6):62-64.
191. Yelins'ka AM, Kostenko VO. Synergistic effect of quercetin and epigallocatechin-3-gallate as a agents for correction of connective tissue disruption in rats' periodontium under systemic and local administration of lipopolisaccharide of *Salmonella typhi*. *Проблеми екології та медицини*. 2019; 23(5-6):42-44.

192. Yelins'ka AM, Liashenko LI, Kostenko VO. Quercetin potentiates antiradical properties of epigallocatechin-3-gallate in periodontium of rats under systemic and local administration of lipopolisaccharide of *Salmonella typhi*. *Wiad Lek.* 2019 Aug 31;72(8):1499-1503.
193. Yelins'ka AM, Shvaykovs'ka OO, Kostenko VO. Epigallocatechin-3-gallate prevents disruption of connective tissue in periodontium and salivary glands of rats during systemic inflammation. *Wiad Lek.* 2018;71(4):869-873.
194. Yelins'ka AM, Shvaykovs'ka OO, Kostenko VO. Sources of production of reactive oxygen and nitrogen species in tissues of periodontium and salivary glands of rats under modeled systemic inflammation. *Проблеми екології та медицини.* 2017;21(3-4):51-54.
195. Yeroshenko GA, Grygorenko AS, Shevchenko KV, Lysachenko OD, Maksymenko NT, Vatsenko AV, et al. The features of the normal ultrastructure of the rat duodenum and under the combined effect of the food additives complex. *Wiad Lek.* 2022;75(6):1466-1470.
196. Zhu D, Fang H, Yu H, Liu P, Yang Q, Luo P, Zhang C, Gao Y, Chen YX. Alcohol-induced inhibition of bone formation and neovascularization contributes to the failure of fracture healing via the miR-19a-3p/FOXF2 axis. *Bone Joint Res.* 2022 Jun;11(6):386-97.
197. Zimmet P, Alberti KGMM, Stern N, Bilu C, El-Osta A, Einat H, Kronfeld-Schor N. The Circadian Syndrome: is the Metabolic Syndrome and much more! *J Intern Med.* 2019 Aug;286(2):181-91.
198. Zotova NV, Chereshev VA, Gusev EY. Systemic Inflammation: Methodological Approaches to Identification of the Common Pathological Process. *PLoS One.* 2016 May 6;11(5):e0155138.