

DOI 10.31718/2077-1096.19.2.123

УДК 616.71–002 : 615.27 : 546

Ковальова І.О., Костенко В.О.

ВПЛИВ ІНГІБІТОРА ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ЧИННИКА AP-1 НА СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛІЧНІ ТА БІОМЕХАНІЧНІ ЗМІНИ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОГО НАДЛИШКОВОГО НАДХОДЖЕННЯ ФТОРИДУ ТА НІТРАТУ НАТРІЮ

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

Досліджено вплив інгібітора активації транскрипційного чинника AP-1 на механізми структурно-метаболических і біомеханічних порушень у стегнових кістках і хребцях за умов поєднаного надлишкового надходження фториду та нітрату натрію. Експеримент було проведено на 30 білих щурах, розподілених на 4 групи: 1-ша – інтактні тварини, 2-га – після поєднаного введення фториду натрію (10 мг/кг маси тіла) та нітрату натрію (500 мг/кг маси тіла) протягом 30 діб, у 3-й групі, починаючи з 15-ї доби інтоксикації, внутрішньоочередовно вводили інгібітор активації AP-1 SR 11302 ((E,E,Z,E)-3-Methyl-7-(4-methylphenyl)-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-2,4,6,8-nonatetraenoic acid) в дозі 1 мг/кг 3 рази на тиждень. Виявлено, що призначення SR 11302 відновлює за умов поєднаного введення фториду та нітрату натрію механізм авторегуляції рівня NO в стегнових кістках, зменшуючи загальну активність NO-синтази та активність її індукційної ізоформи при реципрокному збільшенні загальної аргіназної активності, та обмежуючи утворення пероксинітриду. Це супроводжується зниженням активності ферментів-маркерів резорбції кістки (кислої фосфатази та її кісткової ізоформи) та обмеженням деполімеризації колагену, протеогліканів та сіалоглікопротеїнів сполучної (кісткової) тканини стегнових кісток і хребців. При цьому введення SR 11302 за умов експерименту супроводжується збільшенням щільності та мінеральної насиченості стегнових кісток і хребців, покращенням біомеханічних характеристик стегнових кісток (їхньої міцності та пружності).

Ключові слова: транскрипційний чинник AP-1, кістки, хронічна інтоксикація фторидом і нітратом натрію, авторегуляція монооксиду нітрогену, активні форми нітрогену, ремоделювання кісткової тканини, дезінтеграція органічного матриксу кісток.

Робота є фрагментом НДР «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу» (№ держреєстрації 0114U00494).

Нітрати та фториди є потенційно небезпечними хімічними сполуками, які можуть надходити у концентраціях, що значно перевищують гранично допустимі. Так, за даними Регіональної цільової програми розвитку водного господарства та екологічного оздоровлення басейну річки Дніпро в Полтавській області на період до 2021 року, саме з нітратним забрудненням пов'язана небезпечна ситуація щодо якості ґрунтових вод. У воді переважної частини шахтних колодязів і в багатьох свердловинах Полтавської області виявлено перевищення норм вмісту нітратів, нітритів, азоту амонійного в декілька разів [1].

Вміст фторид-іонів у підземних джерелах питного водопостачання в середньому в країні становить 2,5-5 мг/дм (у Полтавській області – 2,5-8,8 мг/дм³) і більше (до 12 мг/дм³) [2]. При тривалому надходженні в організм людини сполуки фтору виявляють токсичну дію на серцево-судинну і центральну нервову систему, а також на роботу печінки, нирок, щитоподібної залози, викликають розвиток зубного і скелетного флюорозу [3].

Нещодавно було показано, що поєднана дія нітрату та фториду натрію призводить до дизрегуляторних змін активності ферментів окисного (NO-синтазного) та неокисного (аргіназного) шляхів метаболізму L-аргініну в крові та різних органах [4, 5]. Це супроводжується розвитком окисно-нітрозативного стресу та дезінтеграцією сполучної тканини [4], що пов'язують зі здатніс-

тю фторидів активувати конститутивні та індукційну синтази монооксиду нітрогену (NOS) [6] та пригнічувати аргіназний шлях метаболізму L-аргініну, що конкурує з NOS [7].

Примітно, що дія активних форм нітрогену та фторид-іонів сприяє активації таких транскрипційних чинників, як активаційний протеїн-1 (AP-1, від англ. Activator Protein 1) та нуклеарний фактор каппа В (NF-κB, англ. Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), що контролюють біосинтез прозапальних і прооксидантних чинників, у тому числі індукційної NOS (iNOS) [8]. Доведеним є вплив AP-1 і NF-κB на процес ремоделювання кісткової тканини [9], але наслідки цієї дії є суперечливими та важкопрогнозованими, що потребує проведення подальших досліджень.

Метою роботи було з'ясування впливу інгібітора активації AP-1 на механізми структурно-метаболических і біомеханічних порушень у стегнових кістках і хребцях щурів за умов поєднаного надлишкового надходження фториду та нітрату натрію.

Матеріали та методи

Дослідження були проведені на 30 білих щурах лінії Вістар масою 190-240 г, розподілених на 4 групи: 1-ша – інтактні тварини, 2-га – після поєднаного введення фториду натрію (10 мг/кг маси тіла) та нітрату натрію (500 мг/кг маси тіла) протягом 30 діб, у 3-й групі, починаючи з 15-ї доби інтоксикації, внутрішньоочередовно вводили

інгібітор активації AP-1 SR 11302 ((E,E,Z,E)-3-Methyl-7-(4-methylphenyl)-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-2,4,6,8-nonatetraenoic acid, виробництво "Tocris Bioscience", Велика Британія) в дозі 1 мг/кг 3 рази на тиждень [10].

Тварин декапітували під легким ефірним наркозом, дотримуючись положень «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986). Виділяли і скелетували стегнові кістки та хребці.

Визначення активності загальних NO-синтаз, аргіназ та концентрації пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у нативних стегнових кістках проводили спектрофотометричним методом [5]. Для визначення активності конститутивних NO-синтаз (сNOS) додавали 1% розчин аміногуанідину гідрохлориду (98%, "Sigma-Aldrich, Inc.", США) [11]. Активність iNOS оцінювали шляхом віднімання активності сNOS від сумарної активності NOS.

Активність ферментів-маркерів формування та резорбції кісток (лужної фосфатази, кислотої фосфатази та її кісткової тартратазистентної ізоформи) визначали кінетичним методом з використанням набору реактивів фірми «Ольвекс діагностикум» (Росія).

Стан колагену визначали за вмістом у тканині стегнових кісток і хребців вільного оксипроліну [12]. Деполімеризацію неколагенових білків (сіалоглікопротеїнів і протеогліканів) оцінювали шляхом визначення їхніх мономерів – N-ацетилнейрамінової та гексуранових кислот [13, 14].

Визначали структурні та біофізичні характеристики сухих кісток: щільність, мінеральну насиченість, зольність. Дослідження біомеханічних властивостей стегнової кістки проводили за 2-х точковою схемою (випробовування на лінійний розрив) та 3-х точковою схемою (випробовування на згин) з використанням машини розривної РМУ-0,05-1 з оцінкою розривного навантаження (міцності) та відносного подовження кісток (пружності).

Статистичні розрахунки проводили з використанням програми "StatisticSoft 6.0". Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Вілка. Якщо варіаційні ряди відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували критерій t Стьюдента для незалежних вибірок. У разі, коли вони не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – тест Манна-Вітні.

Результати дослідження та їх обговорення

Раніше нами було показано, що поєднане введення фториду та нітрату натрію, на відміну від окремого застосування цих сполук, порушує механізм авторегуляції рівня NO в стегнових кістках щурів, збільшуючи активність загальної NO-синтази та її індукційної ізоформи на тлі зниження загальної аргіназної активності та активності конститутивних ізоферментів NO-синтази з подальшим підвищенням у тканинах концентрації пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів, що свідчить про розвиток нітрозативного стресу [15]. Відомо, що фторид-іони активують конститутивні та індукційні NOS [6], що може бути пов'язаним з гальмуванням конкурентного аргіназного шляху метаболізму L-аргініну [16]. Надлишкове утворення NO та пероксинітриту супроводжується цитотоксичною дією, яка виявляється також при дослідженні клітин кісткової тканини [17]. Цьому сприяє також зменшення вироблення сNOS низьких концентрацій NO, що виконують сигнальну дію.

Введення інгібітора активації транскрипційного чинника AP-1 SR 11302 зменшувало сумарну активність NOS та активність її індукційної ізоформи на 64 та 75% відповідно порівняно з результатами 2-ї групи (табл. 1). Активність сNOS за цих умов збільшувалася вдвічі, загальна аргіназна активність – на 88%. Вірогідно знижувалася (на 8%) концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів.

Таблиця 1
Вплив інгібітора активації AP-1 на функціонування аргіназного та NO-синтазного шляхів метаболізму L-аргініну в стегнових кістках щурів за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію (M±m, n=15)

Групи	Активність NOS, мкмоль NO ² /г·хв.			Загальна аргіназна активність, мкмоль/хв·г білка	Концентрація пероксинітритів, мкмоль/г
	Сумарна	сNOS	iNOS		
Інтактні	0,76 ±0,04	0,16±0,02	0,60±0,04	1,40±0,03	2,75±0,05
Сукупне введення фториду та нітрату натрію	1,15±0,13 *	0,07±0,01 *	1,08±0,13 *	0,65±0,04 *	3,42±0,05 *
+ введення SR 11302	0,41±0,04 **,*	0,14±0,01 **	0,27±0,04 **,*	1,22±0,02 **,*	3,14±0,06 **,*

Тут і далі: * – P<0,05 порівняно зі значеннями інтактних щурів; ** – P<0,05 порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Примітно, що надлишкове утворення NO та інших активних форм нітрогену може активувати експресію компонентів AP-1 у клітинах сполучної тканини [18]. Цей чинник контролює експресію гена iNOS. Нині виявлено участь однієї з підгруп мітоген-активованих протеїнкіназ – MAPK (p38), що активує AP-1, у регуляції iNOS [19]. Тобто саме з активацією AP-1 може бути пов'язане виявлене нами за умов надлишкового наванта-

ження фторидом і нітратом натрію порушення механізму авторегуляції рівня NO (внаслідок гіперекспресії iNOS). Зменшення у гомогенаті стегнових кісток загальної активності NOS та активності її індукційної ізоформи, на нашу думку, є свідченням відновлення механізму авторегуляції рівня NO. При цьому збільшується загальна аргіназна активність (очевидно, через послаблення конкуренції з NOS за субстрат) та обме-

жується утворення пероксинітриту.

Введення SR 11302 зменшувало активність кислої фосфатази та її тартрат-резистентної ізоформи, що на 32 та 20% відповідно поступалося значенню 2-ї групи (табл. 2). Це свідчить про

обмеження під дією інгібітора активації транскрипційного чинника AP-1 процесу резорбції кісток. Активність лужної фосфатази за цих умов істотно не змінювалася.

Таблиця 2
Вплив інгібітора активації AP-1 на показники формування та резорбції кісток у щурів за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію ($M \pm m$, $n=15$)

Групи	Показники активності ферментів крові		
	Лужна фосфатаза од. акт.	Кисла фосфатаза, од. акт.	Тартрат-резистентна кисла фосфатаза, од. акт.
Інтактні	307,8±11,1	11,8±0,7	6,3±0,3
Сукупне введення фториду та нітрату натрію	299,2±18,5	18,9±0,9 *	8,5±0,3 *
+ введення SR 11302	301,4±17,3	12,8±0,8 **	6,8±0,6 **

AP-1, як відомо, має неоднозначну дію на процес резорбції кісткової тканини [20, 21]. Відсутність білків сімейства AP-1 (наприклад, Fga-2) у дефіцитних за ними новонароджених мишей супроводжується дефектами остеокластів, а гіперекспресія Fga-2 викликає посилену диференціацію остеобластів [20]. З іншого боку, експресія Fga-1 збільшує диференціацію остеокластів [22]. Тобто, на характер впливу AP-1 на ремоделювання кісткової тканини може впливати залучення тих чи інших його компонентів, що утворюють гомо- та гетеродимери (різні білки цього сімейства відрізняються за потенціалом трансактивації). Крім того активація компонентів AP-1 можлива за участю багаторівневих сигнальних модулів, наприклад, каскадів, пов'язаних з MAPK, JNK, і ERK [23].

Раніше була доведена здатність інгібітора активації AP-1 момордину I гальмувати RANKL-індукований остеокластогенез, пригнічуючи експресію c-Fos без істотної дії на MAPK-сигналізацію та фосфорилування JNK, ERK і p38 [24]. Інший інгібітор AP-1 N-метилпіролідон також здатний пригнічувати функцію остеокластів через гальмування RANKL-індукованого фосфорилування ERK p42/44, необхідного для

експресії c-Fos і активації AP-1 [25].

За нашим припущенням, пригнічення активації AP-1, має покращити цілісність органічного матриксу кісток не тільки внаслідок зменшення експресії підконтрольного цьому транскрипційному чиннику гена iNOS, але і через зниження біосинтезу інших AP-1-залежних гістолітичних білків – матриксних металопротеїназ, прооксидантних сполук [26].

Резорбція кісток, як відомо, реалізується не тільки через диференціацію остеокластів, але і через деградацію матриксу [27]. Так, як нами показано у попередній статті [15], поєднане введення фториду та нітрату натрію супроводжувалося вірогідним збільшенням у стегових кістках і хребцях щурів концентрації вільного оксипроліну, N-ацетилнейрамінової кислоти та гексуронової кислот, що свідчить про деполімеризацію компонентів органічного матриксу кісток (колагону, сіалоглікопротеїнів, протеогліканів).

Введення SR 11302 достовірно зменшувало у гомогенаті стегових кісток і хребців вміст вільного оксипроліну – на 7,7 та 12,2%, N-ацетилнейрамінової кислоти – на 37,8 та 39,2%, гексуронової кислот – на 29,2 та 28% відповідно порівняно з результатами 2-ї групи (табл. 3).

Таблиця 3
Вплив інгібітора активації AP-1 на вміст компонентів органічного матриксу кісток щурів за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію ($M \pm m$, $n=15$)

Групи	Вільний оксипролін, мкмоль/г		N-ацетилнейрамінова кислота, мкмоль/г		Гексуронової кислоти, мкмоль/г	
	Стегова кістка	Хребці	Стегова кістка	Хребці	Стегова кістка	Хребці
Інтактні	3,64±0,10	3,98±0,13	2,20±0,20	2,28±0,29	1,97±0,23	2,17±0,26
Сукупне введення фториду та нітрату натрію	4,14±0,09 *	4,69±0,16 *	3,73±0,22 *	3,88±0,20 *	2,98±0,17 *	3,18±0,16 *
+ введення SR 11302	3,82±0,09 **	4,12±0,16 **	2,32±0,18 **	2,36±0,12 **	2,11±0,22 **	2,29±0,23 **

Це доводить, що SR 11302 може ефективно обмежувати деполімеризацію колагенових і неколагенових білків органічного матриксу кісток скелету. Раніше було показано, що застосування цієї сполуки за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді знижує у кістковій тканині пародонта деполімеризацію колагену, протеогліканів та сіалоглікопротеїнів, що супроводжується обмеженням резорбцію альвеолярного відростка щелеп [28].

За нашими попередніми даними, поєднане

введення фториду та нітрату натрію суттєво позначається на кількісних показниках структурної композиції стегових кісток і хребців, зокрема, зменшує їхню щільність і мінеральну насиченість [15]. Застосування SR 11302 за цих умов вірогідно підвищувало щільність стегової кістки та хребців – на 21,6 та 12,6%, мінеральну насиченість – на 20,5 та 15,8% відповідно, але суттєво не змінювало показник зольності порівняно з результатами 2-ї групи (табл. 4)

Таблиця 4
Вплив інгібітора активації AP-1 на кількісні показники структурної композиції кісток за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію ($M \pm m$, $n=15$)

Групи	Щільність, г/см ³		Мінеральна насиченість, г/см ³		Зольність, %	
	Стегнова кістка	Хребець	Стегнова кістка	Хребець	Стегнова кістка	Хребець
Інтактні	0,92±0,02	1,28±0,02	0,51±0,02	0,69±0,04	55,2±1,9	53,8±2,6
Сукупне введення фториду та нітрату натрію	0,74±0,03 *	1,11±0,04 *	0,39±0,03 *	0,57±0,02 *	53,4±4,5	51,9±2,9
+ введення SR 11302	0,90±0,03 **	1,25±0,03 **	0,47±0,02 **	0,66±0,03 **	52,2±1,8	52,7±2,0

При цьому введення SR 11302 вірогідно підвищувало розривне навантаження при лінійному розриві та дослідженні на згин на 29,7 та 19,3% відповідно порівняно з результатами 2-ї групи

(табл. 5). Відносне подовження кісток при випробуванні на лінійний розрив і згин достовірно перевищувало відповідні значення 2-ї групи на 9,0 та 11,6 %.

Таблиця 5
Вплив інгібітора активації AP-1 на біомеханічні властивості стегнової кістки за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію ($M \pm m$, $n=15$)

Групи	Характер випробування			
	На лінійний розрив (за 2-точковою схемою)		На згин (за 3-точковою схемою)	
	Розривне навантаження, Н	Відносне подовження, %	Розривне навантаження, Н	Відносне подовження, %
Інтактні	104,2±1,8	20,2±0,3	117,2±2,3	12,2±0,4
Сукупне введення фториду та нітрату натрію	63,4±2,8 *	18,9±0,3*	77,4±2,7 *	8,6±0,2*
+ введення SR 11302	82,2±2,5 **,	20,6±0,3 **	92,3±3,1 **,	9,6±0,3 **,

Зниження показників нітрозативного стресу при призначенні інгібітора активації AP-1, обмеження при цьому маркерних ферментів резорбції кісток, ознак деструкції їх органічного матриксу, покращення щільності та мінеральної насиченості губчастих і трубчастих кісток, їхніх біомеханічних властивостей дозволяє припустити ефективність застосування цих агентів при остеопатології, спричиненої дією екологічно небезпечних чинників та порушенням авторегуляції активних форм нітрогену. Це доводить доцільність розширення арсеналу остеопротективних засобів за рахунок інгібіторів транскрипційних чинників.

Висновки

1. Інгібітор транскрипційного чинника AP-1 SR 11302 відновлює за умов поєданого введення фториду та нітрату натрію механізм авторегуляції рівня NO в стегнових кістках щурів, зменшуючи загальну активність NO-синтази та активність її індукційної ізоформи при реципрокному збільшенні загальної аргіназної активності, та обмежуючи утворення пероксинітриду. Це супроводжується зменшенням активності ферментів-маркерів резорбції кістки (кислої фосфатази та її кісткової ізоформи) та обмеженням деполімеризації колагену, протеогліканів та сіалоглікопротеїнів сполучної (кісткової) тканини стегнових кісток і хребців.

2. Інгібітор транскрипційного чинника AP-1 SR 11302 за умов поєданого введення фториду та нітрату натрію збільшує щільність і мінеральну насиченість стегнових кісток і хребців, покращує біомеханічні характеристики стегнових кісток (їхню міцність і пружність).

Література

- Moseychuk AA. Otsinka yakosti pytnoi vody v dzherelakh detsentralizovanoho vodopostachannya Poltavskoyi oblasti [Evaluation of the drinking water quality in the sources of decentralized water supply in the Poltava region. Visn. Poltavskoyi derzh. ahr. akad. 2011;(4):12-17. [Ukrainian].
- Vergolyas MR, Golovkov AN, Naniieva AV et al. Genotoksicheskoye vliyaniye flora pit'yevoy vody [Genotoxic influence of fluorine drinking water]. Faktory eksperimental'noyi evolyutsiyi orhanizmv. 2016;18:33-35. [Russian].
- Barbier O, Arreola-Mendoza L, Del Razo LM. Molecular mechanisms of fluoride toxicity. Chem Biol Interact. 2010 Nov 5;188(2):319-333.
- Bohdanov AV, Hryshko Yu M, Kostenko VA. Mechanisms of nitrooxide-ergic dysregulation in tissues of parodontium in rats under combined excessive sodium nitrate and fluoride intake. Wiad Lek. 2016; LXIX(3, cz. II):457-461.
- Akimov O Ye, Kostenko VO. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. Ukr Biochem J. 2016; 88(6):70-75.
- Şireli M, Bulbul A. The effect of acute fluoride poisoning on nitric oxide and methemoglobin formation in the guinea pig. Turk J Vet Anim Sci. 2004; 28:591-595.
- Tormanen CD. Substrate inhibition of rat liver and kidney arginase with fluoride. J Inorg Biochem. 2003;93(3-4):243-246.
- Gào X, Schöttker B. Reduction-oxidation pathways involved in cancer development: a systematic review of literature reviews. Oncotarget. 2017 Apr 16;8(31):51888-51906.
- Kenkre JS, Bassett J. The bone remodelling cycle. Ann Clin Biochem. 2018 May;55(3):308-327.
- Sun Y, Lin Z, Liu CH et al. Inflammatory signals from photoreceptor modulate pathological retinal angiogenesis via c-Fos. J Exp Med. 2017 Jun 5;214(6):1753-1767.
- Yelins'ka AM, Akimov O Ye, 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.
- Tetyanets SS. Metod opredeleniya svobodnogo oksiprolina v syvorotke krovi [Method for the determination of free hydroxyproline in serum]. Lab. delo. 1985;(1):61-66. [Russian].
- Metody klinichnykh ta eksperimental'nykh doslidzhen' v medytsyni [Methods of clinical and experimental research in medicine] (Ed. IP Kaidashev). – Poltava, 2003. 320 p. [Ukrainian].
- Sharayev PN. Metod opredeleniya glikozaminoglikanov v biologicheskikh zhidkostyakh [Method for the determination of glycosaminoglycans in biological fluids]. Lab. delo. 1987;(5):530-532. [Russian].
- Kovalova IO, Kostenko VO. Vplyv inhibitoriv transkryptsyynoho chynnyka kappa B na metabolichni ta strukturni porushennya kistkovoyi tkanyny za umov poeyednanoho nadyshkovoho nadkhodzhennya forydu ta nitratu natriyu [Effect of transcription

- factor kappa B inhibitors on metabolic and structural disorders in bone tissue under combined excessive intake of fluoride and sodium nitrate]. Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visnyk Ukrayins'koyi medychnoyi stomatolohichnoyi akademiyi. 2019;19(1):65-70.
16. Tormanen CD. Substrate inhibition of rat liver and kidney arginase with fluoride. *J Inorg Biochem.* 2003 Jan 15;93(3-4):243-246.
 17. Sorokin BV, Kostenko VO. Rol' NO-syntaz u mekhanizmach strukturno-funktsional'nykh porushen' kistok pry vidtvorenni hlyukokortykoyidnoho osteoporozu za umov khronichnoyi intoksykatsiyi nитратом натриу [Role of NO-synthases in the mechanism of structural and functional osteal disorders under modeled osteoporosis and chronic sodium nitrate intoxication]. Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visn. Ukrayins'koyi med. stomatol. akademiyi. 2013; 13(4):178-181. [Ukrainian].
 18. Mendes AF, Carvalho AP, Caramona MM, Lopes MC. Role of nitric oxide in the activation of NF-kappaB, AP-1 and NOS II expression in articular chondrocytes. *Inflamm Res.* 2002 Jul;51(7):369-375.
 19. Ratajczak-Wrona W, Jablonska E, Garley M et al. Role of AP-1 family proteins in regulation of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in human neutrophils. *J Immunotoxicol.* 2013;10(1):32-39.
 20. Bozec A, Bakiri L, Jimenez M et al. Fra-2/AP-1 controls bone formation by regulating osteoblast differentiation and collagen production. *J Cell Biol.* 2010 Sep 20;190(6):1093-1106.
 21. Wagner EF. Functions of AP1 (Fos/Jun) in bone development. *Ann Rheum Dis.* 2002 Nov;61 Suppl 2:i140-42.
 22. Matsuo K, Owens JM, Tonko M et al. Fos1 is a transcriptional target of c-Fos during osteoclast differentiation. *Nat Genet.* 2000 Feb;24(2):184-187.
 23. Sirianni R, Nogueira E, Bassett MH et al. The AP -1 family member FOS blocks transcriptional activity of the nuclear receptor steroidogenic factor 1. *J Cell Sci.* 2010; 123(22):3956-3965.
 24. Hwang YH, Lee JW, Hahm ER et al. Momordin I, an inhibitor of AP-1, suppressed osteoclastogenesis through inhibition of NF-kappaB and AP-1 and also reduced osteoclast activity and survival. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;337(3):815-823.
 25. Ghayor C, Corroero RM, Lange K et al. Inhibition of osteoclast differentiation and bone resorption by N-methylpyrrolidone. *J Biol Chem.* 2011 Jul 8;286(27):24458-24466.
 26. Shadrina AS, Plieva Ya Z, Kushlinskiy DN. Classification, regulation of activity, and genetic polymorphism of matrix metalloproteinases in health and disease. *Alm Clin Med.* 2017;45(4):266-279.
 27. Paiva KBS, Granjeiro JM. Matrix Metalloproteinases in Bone Resorption, Remodeling, and Repair. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;148:203-303.
 28. Yelins'ka AM, Kostenko VO. Vplyv inhibitora faktora transkryptsiyi AP-1 na depolimeryzatsiyu bilkiv spoluchnoyi tkanyny parodontal'nogo shchuriv za umov systemnoyi zapal'noyi vidpovidy [Influence of AP-1 transcription factor inhibitors on the protein depolymerization in periodontal connective tissue of rats under systemic inflammatory response]. Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visn. Ukrayins'koyi med. stomatol. akademiyi. 2018; 18(2): 335-339. [Ukrainian].

Реферат

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА AP-1 НА СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ СОЧЕТАННОМ ИЗБЫТОЧНОМ ПОСТУПЛЕНИИ ФТОРИДА И НИТРАТА НАТРИЯ

Ковалева И.А., Костенко В.А.

Ключевые слова: транскрипционный фактор AP-1, кости, хроническая интоксикация фторидом и нитратом натрия, ауторегуляция монооксида азота, активные формы азота, ремоделирование костной ткани, дезинтеграция органического матрикса костей.

Исследовано влияние ингибитора активации транскрипционного фактора AP-1 на механизмы структурно-метаболических и биомеханических нарушений в бедренных костях и позвонках в условиях сочетанного избыточного поступления фторида и нитрата натрия. Эксперимент был проведен на 30 белых крысах, распределенных на 4 группы: 1-я - интактные животные, 2-я - после сочетанного введения фторида натрия (10 мг/кг массы тела) и нитрата натрия (500 мг/кг массы тела) в течение 30 суток, в 3-й группе, начиная с 15-го дня интоксикации, внутривенно вводили ингибитор активации AP-1 SR 11302 ((E,E,Z,E)-3-Methyl-7-(4-methylphenyl)-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-2,4,6,8-nonatetraenoic acid) в дозе 1 мг/кг 3 раза в неделю. Выявлено, что назначение SR 11302 восстанавливает в условиях сочетанного введения фторида и нитрата натрия механизм ауторегуляции уровня NO в бедренных костях, уменьшая общую активность NO-синтазы и активность ее индуцибельной изоформы при реципрокном увеличении общей аргиназной активности, ограничивает образование пероксинитрита. Это сопровождается снижением активности ферментов-маркеров резорбции кости (кислой фосфатазы и ее костной изоформы) и ограничением деполимеризации коллагена, протеогликанов и сиалогликопротеинов соединительной (костной) ткани бедренных костей и позвонков. При этом введение SR 11302 в условиях эксперимента сопровождается увеличением плотности и минеральной насыщенности бедренных костей и позвонков, улучшением биомеханических характеристик бедренных костей (их прочности и упругости).

Summary

EFFECT OF AP-1 TRANSCRIPTION FACTOR INHIBITOR ON STRUCTURAL, METABOLIC AND BIOMECHANICAL CHANGES IN BONE TISSUE DURING COMBINED EXCESSIVE INTAKE OF SODIUM FLUORIDE AND SODIUM NITRATE

Kovalova I.O., Kostenko V.O.

Key words: transcription factor AP-1, bones, chronic intoxication with fluoride and sodium nitrate, autoregulation of nitrogen monoxide, reactive forms of nitrogen, remodeling of bone tissue, disintegration of the bone organic matrix.

This article highlights the effect produced by the inhibitor of the AP-1 transcription factor activation on the mechanisms of structural, metabolic and biomechanical disorders in the femoral bones and vertebrae during combined excessive intake of sodium fluoride and sodium nitrate. The experiment was conducted on 30 white rats divided into 4 groups: the 1st included the intact animals, the 2nd group involved the rats subjected to the co-administration of sodium fluoride (10 mg / kg body weight) and sodium nitrate (500 mg / kg body weight) for 30 days, the 3rd group included the animals, which starting from the 15th day of intoxication, were injected SR 11302 ((E, E, Z, E) -3-Methyl-7- (4-methylphenyl) - 9- (2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl) -2,4,6,8-nonatetraenoic acid), an inhibitor of AP-1 activation in a dose of 1 mg / kg intraperitoneally 3 times a week. It has been revealed that the SR 11302 administration restores the mechanism of NO autoregulation in the femoral bones during the sodium fluoride and sodium nitrate co-administration, reducing the total activity of NO synthase and activity of its inducible isoform under a

reciprocal increase in total arginase activity, and suppresses the peroxynitrite production. This is accompanied by a decrease in the activity of enzymes, which are known as markers of bone resorption (acid phosphatase and its bone isoform) and restriction of the depolymerization of collagen, proteoglycans and sialoglycoproteins of the connective (bone) tissue in the femurs and vertebrae. Moreover, the introduction of SR 11302 under the experimental conditions is accompanied by an increase in the density and mineral saturation of the femurs and vertebrae, and an improvement in the biomechanical characteristics of the femurs (their strength and elasticity).

DOI 10.31718/2077-1096.19.2.128

УДК: 616-006.04-076-097.3-079.4

Пославська О.В.

ДІАГНОСТИКА ПУХЛИН ІЗ ГЕРМІНОГЕННИХ КЛІТИН В ПОЗАГОНАДНИХ ДІЛЯНКАХ З ПОГЛЯДУ АЛГОРИТМІВ ВИЗНАЧЕННЯ МЕТАСТАЗІВ КАРЦИНОМ НЕВІДОМОЇ ПЕРВИННОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро

Аналіз випадків екстрагонадних тератом дає зрозуміти, що пухлини з герміногенних клітин, які характерні для гонад дорослих, можуть зустрічатись і в позагонадних ділянках, наприклад, передньому середостінні (тимусі) і середній лінії мозку (герміноми епіфізу і ділянки над турецьким сідлом), що в таких випадках потребує диференційної діагностики з метастазами карцином іншого походження. Точне діагностування екстрагонадних пухлин з герміногенних клітин тільки шляхом рутинного фарбування гематоксилін-еозин (НхЕ) потребує високої кваліфікації та досвіду, через їх неспецифічні клінічні симптоми і варіативні морфологічні характеристики. Серед онкоморфологів широко визнано, що імуногістохімічне фарбування займає важливу роль у точній гістологічній діагностиці цих пухлин. Мета – дослідити особливості експресії імуногістохімічних маркерів та морфометричних показників площі, периметру та «круглості» ядер у різних типів екстрагонадних ПГК, порівняно із аналогічними первинними пухлинами гонадної локалізації, для вдосконалення діагностичних алгоритмів. Матеріали і методи. В роботі проведено дослідження біопсійного або післяопераційного матеріалу 8 пацієнтів (група 1) з екстрагонадними ПГК та 16 пацієнтів із первинним герміногенними пухлинами гонад (група 2), які були верифіковані після проведення імуногістохімічного дослідження на базі морфологічного відділу діагностичного центру «Аптека медичної академії» за період з 2015 по 2018рр. Результати. PLAP і CD117 мали найбільший відсоток експресії в семіномах/герміномах обох досліджених груп, морфологічні показники більше ніж в 3 рази за площею та 2 рази за периметром перевищували показники нормальних лімфоцитів ($p < 0,05$). Експресія маркерів CD30, EMA і CK AE1/3 виявилась діагностично значущою в зразках ембріональної карцином, морфологічні показники в 2,1 рази за площею та 1,7 за периметром перевищували показники нормальних лімфоцитів ($p < 0,05$). α FP -позитивне фарбування було показовим для пухлин жовткового мішка, для яких морфологічні показники більше ніж в 1,7 рази за площею та 1,5 за периметром перевищували показники нормальних лімфоцитів ($p < 0,05$). Підсумок. З урахуванням варіативності морфологічних характеристик і можливості екстрагонадного розташування пухлин з герміногенних клітин, імуногістохімічне дослідження з використанням морфометрії стає важливим інструментом в диференціальній діагностиці карцином без первинної локалізації.

Ключові слова: пухлини з герміногенних клітин, екстрагонадні тератоми, PLAP, CD117, ImageJ.

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії і судової медицини ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Розробка діагностичних та прогностичних критеріїв новоутворень різних локалізацій з урахуванням біологічних показників активності пухлинного процесу» (номер державної реєстрації 0116U002827, термін виконання 2016-2018).

Аналіз випадків екстрагонадних тератом дає зрозуміти, що пухлини з герміногенних клітин (ПГК), які характерні для яєчка дорослих, так звані семіноми у чоловіків, їх прототиби дисгерміноми яєчника у жінок та більш рідкісні «не-семіноми» можуть зустрічатись і в позагонадних ділянках, наприклад, передньому середостінні (тимусі) і середній лінії мозку (герміноми епіфізу і ділянки над турецьким сідлом), що в таких випадках потребує диференційної діагностики з метастазами карцином іншого походження. В діагностиці допомагають ознаки морфологічної подібності, однаковість цитогенетичної аномалії

з ізохромосою 12p, описаної вперше Atkin & Baker (1982), та імуногістохімічний профіль тестикулярних семіном / «не-семіном», їх аналогів в яєчнику, передньому середостінні й по середній лінії мозку [1].

Більш ніж 90% екстрагонадних пухлин з герміногенних клітин (ЕПГК) зустрічаються у дорослих людей у віці від 20 до 35 років. Найбільш поширеним місцем первинних ЕПГК є середостіння, яке складає 50 ~ 70% всіх первинних ЕПГК. Біль у грудях, задишка, кашель і лихоманка є найпоширенішими клінічними проявами у медіастинальних локалізацій. Головні болі, по-