

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ**

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ**

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**Акімов Олег Євгенович**

УДК [616.33-008-092.9:616.916'175]-085.246.2

**ДИСЕРТАЦІЯ**


**МЕХАНІЗМИ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ  
ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОГО НАДЛИШКОВОГО  
НАДХОДЖЕННЯ НІТРАТУ ТА ФТОРИДУ НАТРІЮ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ  
ЕНТЕРОСОРБЕНТАМИ**

222 – Медицина

(14.03.04 – патологічна фізіологія)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

  
\_\_\_\_\_ Акімов О.Є.  
(підпис)

Науковий керівник:

Костенко Віталій Олександрович,  
доктор медичних наук, професор

Полтава – 2020

## АНОТАЦІЯ

*Акімов О.Є.* Механізми метаболічних порушень слизової оболонки шлунка щурів за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію та їх корекція ентеросорбентами. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (14.03.04 – патологічна фізіологія). Українська медична стоматологічна академія МОЗ України, Полтава, 2020.

Українська медична стоматологічна академія МОЗ України, Полтава, 2020.

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і розв'язання наукового завдання, яке полягає у встановленні молекулярних механізмів патогенної дії нітрат-іонів та фторид-іонів в умовах їх поєднання на слизову оболонку шлунка щурів та експериментального обґрунтування корекції поєднаної інтоксикації ентеросорбентами.

Робота була проведена на 90 білих щурах обох статей лінії «Вістар» масою 185-240 г. У роботі використано експериментальні (моделювання хронічної нітратної, фторидної та нітратно-фторидної інтоксикацій на щурах), біохімічні (спектрофотометричне визначення активності ензимів: синтази оксиду азоту, нітрат- і нітритредуктази, аргінази, орнітиндекарбоксилази, супероксиддисмутази та каталази; концентрації пероксинітритів лужних та лужноземельних металів; швидкості продукції пероксинітритів лужних та лужноземельних металів; швидкості продукції супероксидного аніон-радикала; концентрацій гідроперекисів ліпідів: дієнових, октадієнових та трієнових кон'югатів; концентрації ТБК-активних продуктів та їх приріст після інкубації в залізоаскорбатному буферному розчині; вмісту окисно-модифікованих білків, вільного L-оксипроліну та глікозаміногліканів; концентрацію гепарин-гепаранової, кератан-дерматанової та хондроїтинової фракції глікозаміногліканів) та математико-статистичні методи дослідження.

Встановлено, що хронічне надлишкове надходження нітрату натрію призводить до гіперпродукції монооксиду азоту (NO) за рахунок L-аргінін

незалежного нітрат-нітритредуктазного шляху його утворення, сприяє розвитку оксидативного стресу та посиленню процесів перекисного окиснення ліпідів, а в сполучній тканині слизової оболонки шлунка щурів посилює процеси колагенолізу та зменшує вміст двох протизапальних фракцій глікозаміногліканів. Концентрація пероксинітриту та його продукція в умовах хронічного надходження нітрату натрію у дозі 500 мг/кг статистично значуще знижується.

Виявлено, що хронічне надлишкове надходження фториду натрію у дозі 10 мг/кг призводить до гіперпродукції монооксиду азоту за рахунок нітрат-нітритредуктазного шляху та NO-синтазного шляхів його утворення, сприяє розвитку оксидативно-нітрозативного стресу та посиленню процесів перекисного окиснення ліпідів, а в сполучній тканині слизової оболонки шлунка щурів посилює процеси колагенолізу та зменшує вміст двох протизапальних фракцій глікозаміногліканів.

Взаємодія нітратів та фторидів підчас їх поєднаного впливу призводить до: посилення активності нітритредуктаз, збільшення базової продукції супероксидного аніон-радикалу, знижує його продукцію від мітросомального електронно-транспортного ланцюга, збільшує розпад аморфної речовини сполучної тканини слизової оболонки шлунка щурів та призводить до збільшення концентрації протизапальних та посилюючих регенерацію фракцій глікозаміногліканів.

Встановлено, що фторидний компонент поєднаної інтоксикації має наступні ефекти: посилює активність NO-синтаз, знижує активність аргіназ та орнітиндекарбоксилази, збільшує продукцію та вміст пероксинітриту, збільшує вміст нітритів, посилює продукцію супероксидного аніон-радикалу від НАДФН<sub>2</sub>-оксидази фагоцитів, знижує активність супероксиддисмутази, інтенсифікує оксидативну модифікацію білків та процеси колагенолізу.

Нітратний компонент поєднаної інтоксикації має наступні ефекти: знижує активність NO-синтаз, підвищує активність аргіназ та орнітиндекарбоксилази, збільшує активність нітратредуктаз, знижує продукцію та вміст пероксинітриту, збільшує продукцію супероксидного аніон-радикалу від мітохондріального

електроно-транспортного ланцюга, обмежуючи при цьому продукцію супероксидного аніон-радикалу від НАДФН<sub>2</sub>-оксидази фагоцитів, знижує активність каталази, інтенсивність оксидативної модифікації білків та накопичення вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів.

Встановлено, що стать щурів статистично значуще не впливає на досліджувані параметри в умовах фторидної, нітратної та поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації.

Виявлено, що введення суспензії нанодисперсного оксиду кремнію та карболайну є ефективним засобом корекції надмірної продукції NO, яка спостерігається в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації, оскільки знижується активність NO-синтаз, нітрат-нітритредуктаз та вміст нітриту в слизовій оболонці шлунка щурів. Застосування лігніну гідролізного призводить до збільшення продукції NO в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації.

Застосування досліджуваних ентеросорбентів в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації призводить до зниження базової продукції супероксидного аніон-радикала, підвищується активність супероксиддисмутази та каталази, зменшується концентрація первинних (дієнових, октадієнових та трієнових кон'югатів) та вторинних (які реагують із тіобарбітуровою кислотою) продуктів перекисного окиснення ліпідів в слизовій оболонці шлунка щурів. Проте використання карболайну призводить до збільшення продукції супероксидного аніон-радикала від мікросомального електроно-транспортного ланцюга, а лігніну гідролізного до збільшення продукції супероксидного аніон-радикала від мітохондріального електроно-транспортного ланцюга в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації.

Ентеросорбенти, які використовували для корекції хронічної нітратно-фторидної інтоксикації призвели до зменшення нестимульованої продукції пероксинітриту та вмісту окисно-модифікованих білків в слизовій оболонці шлунка щурів. Проте застосування карболайну збільшує вміст пероксинітритів в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної

інтоксикації.

Корекція хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації нанодисперсним оксидом кремнію викликає зменшення вмісту глікозаміногліканів, карболайном – викликає збільшення вмісту глікозаміногліканів в слизовій оболонці шлунка щурів. Застосування досліджуваних ентеросорбентів призводить до зменшення інтенсивності процесів колагенолізу в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Уперше встановлено, що під час поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації спостерігається гіперпродукція оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів, нітратний компонент поєднаної інтоксикації посилює продукцію оксиду азоту нітрат-нітритредуктазним шляхом, у той час коли фторидний компонент збільшує продукцію оксиду азоту від NO-синтаз. Активність аргіназ в умовах поєднаної інтоксикації зростає.

Виявлено, що поєднана нітратно-фторидна інтоксикація призводить до розвитку оксидативно-нітрозативного стресу в слизовій оболонці шлунка щурів, що супроводжується збільшенням продукції активних форм кисню та азоту, зниженням активності антиоксидантних ферментів та посиленням ПОЛ. Встановлена взаємодоповнююча пригнічуюча дія нітратів та фторидів, при їх поєднанні, на ферментативну ланку антиоксидантної системи (активність супероксиддисмутази та каталази).

Вперше доведено, що поєднана нітратно-фторидна інтоксикація призводить до посилення деградації сполучної тканини слизової оболонки шлунка щурів. Інтенсивність процесів колагенолізу залежить переважно від фторидного компоненту поєднаної інтоксикації. Розпад аморфної речовини сполучної тканини супроводжується зростанням протизапальних фракцій глікозаміногліканів.

Вперше досліджено вплив ентеросорбентів на функціональний стан системи оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації. Встановлено, що застосування суспензії нанодисперсного оксиду кремнію є ефективнішим методом корекції надмірної продукції оксиду

азоту у слизовій оболонці шлунка щурів при порівнянні із суспензіями лігніну гідролізного та карболайну.

Встановлено, що введення ентеросорбентів попереджає розвиток оксидативного стресу в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації. Застосування суспензії нанодисперсного оксиду кремнію ефективніше запобігає розвитку оксидативного стресу в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації у порівнянні із суспензіями лігніну гідролізного та карболайну.

Виявлено, що використання ентеросорбентів в умовах поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації зменшує деградацію сполучної тканини слизової оболонки шлунка щурів.

Уперше доведено, що застосування суспензії нанодисперсного оксиду кремнію усуває негативний вплив хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації на слизову оболонку шлунка щурів. Суспензія карболайну зменшує фторидні ефекти, а суспензія лігніну обмежує нітратні ефекти поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації в слизовій оболонці шлунка щурів.

**Практичне значення отриманих результатів.** Одержані результати можуть використовуватися як експериментальна база для розробки патогенетично обґрунтованих методів попередження та корекції оксидативного стресу, що викликаний поєднаною нітратно-фторидною інтоксикацією. Одержані результати можуть використовуватися як експериментальне обґрунтування доцільності проведення подальших клінічних досліджень ефективності нанодисперсного оксиду кремнію в якості засобу терапії хронічної надлишкового надходження нітратів та фторидів до організму. Розроблені методи діагностики функціонального стану системи оксиду азоту (патенти України на корисну модель № 111874, № 111232, № 120064).

Результати роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрі патофізіології Української медичної стоматологічної академії, кафедрі патофізіології Національного фармацевтичного університету, кафедрі патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету та на кафедрі

патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету.

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 31 наукову працю, із них 5 статей у фахових наукових виданнях України (1 у виданні, яке входить до наукометричної бази Scopus), 6 – у міжнародних виданнях (1 у виданні в країні Євросоюзу; 1 у виданні що входить до наукометричної бази Scopus та знаходиться на території Євросоюзу); 17 тез у збірниках наукових праць. Отримано 3 патенти України на корисну модель.

*Ключові слова: нітрат натрію, фторид натрію, ентеросорбенти, слизова оболонка шлунка.*

### SUMMARY

Akimov O. Ye. Mechanisms of metabolic disorders in rat gastric mucosa under conditions of combined excessive intake of sodium nitrate and sodium fluoride and their correction by enterosorbents. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for a Doctor of Philosophy Degree in Specialty 222 “Medicine” (14.03.04 - Pathological Physiology). Ukrainian medical stomatological academy, Poltava, 2019.

Ukrainian medical stomatological academy, Poltava, 2019.

The thesis presents the theoretical generalization and solution of a scientific problem, which consists from establishment of molecular mechanisms of pathogenic action of nitrate ions and fluoride ions in the conditions of their combination on the gastric mucosa of rats and the experimental substantiation of its correction enterosorbents.

The work was carried out on 90 white rats of both genders of the Wistar line weighting 185-240 g. Experimental (simulations of chronic nitrate, fluoride and nitrate-fluoride intoxication in rats), biochemical (spectrophotometric determination of enzyme activity: nitric oxide synthase, nitrate and nitrite reductase, arginase, ornithine decarboxylase, superoxide dismutase and catalase; production rates and concentration of alkali and alkaline earth metal peroxinitrites; superoxide anion radical production rates; lipid hydroperoxide concentrations: diene, octadiene and triene conjugates; concentrations of TBA-reactants and their increase after incubation in iron-ascorbate buffer solution; content of oxidation-modified proteins, concentration of free L-

oxyproline and glycosaminoglycans; concentration of heparin-heparan, keratan-dermatan and chondroitin fraction of glycosaminoglycans) and mathematical-statistical methods of research were used.

It was established that chronic excessive intake of sodium nitrate leads to hyperproduction of nitrogen monoxide (NO) due to activation of the L-arginine independent nitrate-nitrite reductive pathway of its formation, contributes to the development of oxidative stress and enhances the processes of lipid peroxidation, collagenolysis and reduces the content of two anti-inflammatory fractions of glycosaminoglycans. The concentration and production of peroxynitrite under conditions of excessive intake of sodium nitrate at a dose 500 mg / kg decreases significantly.

It was revealed that chronic excessive intake of sodium fluoride at a dose of 10 mg / kg leads to the overproduction of nitrogen monoxide due to activation of the nitrate-nitrite reductive and NO-synthase pathways of its formation, promotes the development of oxidative-nitrosative stress, and enhances the processes of lipid peroxidation (LPO), enhances collagenolysis processes and reduces the content of two anti-inflammatory glycosaminoglycan fractions in gastric mucosa of rats.

The interaction of nitrates and fluorides during their combined effect leads to: increased activity of nitrite reductase, increased basic production of superoxide anion radical, reduces its production from the microsomal electron transport chain, increases the decay of the amorphous substance of the connective tissue of the mucous membrane increased concentration of anti-inflammatory and regeneration boosting glycosaminoglycan fractions in gastric mucosa of rats.

We established that the fluoride component of combined intoxication has the following effects: enhances the activity of NO-synthases, decreases activity of arginases and ornithine decarboxylase, enhances production and concentration of peroxynitrite, increases the content of nitrite, increases production of superoxide anion radical from NADPH oxidase of phagocytes, decreases superoxide dismutase activity, increases oxidative protein modification and collagenolysis in rats gastric mucosa.

The nitrate component of combined intoxication has the following effects: reduces the activity of NO-synthases, increases the activity of arginases and ornithine



decarboxylase, increases the activity of nitrate reductase, reduces the production and content of peroxynitrite, increases the production of superoxide anion radical from the mitochondrial electron transport chain, while limiting the production of superoxide anion radical from NADPH oxidase of phagocytes, reduces the activity of catalase, intensity of oxidative modification of proteins and accumulation of secondary products of lipid peroxidation.

It was established that the rat sex had no statistically significant effect on the studied parameters under conditions of fluoride, nitrate and combined nitrate-fluoride intoxication.

It has been found out that the administration of a suspension of nanosized silicon oxide and carboline are effective means for correction of excessive NO production observed during chronic nitrate-fluoride intoxication in rats gastric mucosa, as they reduced the activity of NO synthases, nitrate and nitrite reductases and nitrite concentration. The usage of hydrolysed lignin leads to an increase in NO production in the rat gastric mucosa under chronic nitrate-fluoride intoxication. However, carboline usage leads to an increase in the production of superoxide anion radical from the microsomal electron transport chain, and hydrolysed lignin usage leads to an increase in the production of superoxide anion radical from the mitochondrial electron transport chain in the mucous membrane of the rat gastric mucosa during chronic nitrate-fluoride intoxication.

Enterosorbents used for the correction of chronic nitrate-fluoride intoxication led to a decrease in unstimulated production of peroxynitrite and to lowered the content of oxidation-modified proteins in the gastric mucosa of rats. However, carboline usage increased the content of peroxynitrite in the gastric mucosa of rats under combined nitrate-fluoride intoxication.

Correction of chronic combined nitrate-fluoride intoxication with nanodisized silicon oxide causes a decrease in the concentration of glycosaminoglycans, correction with carboline causes an increase in the concentration of glycosaminoglycans in the gastric mucosa of rats. The usage of the investigated enterosorbents leads to a decrease in the intensity of collagenolysis processes in the rat gastric mucosa under the conditions

of chronic combined nitrate-fluoride intoxication.

**Scientific novelty of the obtained results.** It was first established that during combined nitrate-fluoride intoxication there was a hyperproduction of nitric oxide in the gastric mucosa of rats, the nitrate component of combined intoxication enhances the production of nitric oxide by nitrate-nitrite reductive pathway, while the fluoride component increases the production of nitric oxide from NO synthases. The activity of arginases under conditions of combined intoxication in rat gastric mucosa increases.

It was revealed that combined nitrate-fluoride intoxication leads to the development of oxidative-nitrosative stress in the gastric mucosa of rats, which is accompanied by an increase in the production of reactive oxygen and nitrogen species, a decrease in the activity of antioxidant enzymes and an increase in LPO. A complementary inhibitory effect of nitrates and fluorides, when combined, on the enzymatic link of the antioxidant system (superoxide dismutase and catalase activity) has been established.

It has been demonstrated for the first time that combined nitrate-fluoride intoxication leads to increased degradation of the connective tissue of the gastric mucosa of rats. The intensity of the collagenolysis processes depends mainly on the fluoride component of the combined intoxication. The disintegration of the amorphous substance of the connective tissue is accompanied by an increase in the anti-inflammatory fractions of glycosaminoglycans.

The effect of enterosorbents on the functional state of the nitric oxide system in the gastric mucosa of rats under combined nitrate-fluoride intoxication was investigated for the first time. It has been found that the usage of a suspension of nanosized silicon oxide is a more effective method of correction of excessive production of nitric oxide in the gastric mucosa of rats when compared to suspensions of hydrolysed lignin and carboline.

It has been found out that the introduction of enterosorbents prevents the development of oxidative stress in the rat gastric mucosa under conditions of combined nitrate-fluoride intoxication. The use of a suspension of nanosized silicon oxide more effectively prevents the development of oxidative stress in the gastric mucosa of rats under combined nitrate-fluoride intoxication compared to suspensions of hydrolysed lignin and carboline.

It was proved that the use of enterosorbents under conditions of combined nitrate-fluoride intoxication reduces the degradation of the connective tissue of the gastric mucosa of rats.

It has been first demonstrated that the use of a suspension of nanosized silicon oxide eliminates the negative effects of chronic combined nitrate-fluoride intoxication on the gastric mucosa of rats. Carboline suspension reduces fluoride effects, and lignin suspension limits the nitrate effects of combined nitrate-fluoride intoxication in the gastric mucosa.

**The practical significance of obtained results.** The obtained results can be used as an experimental basis for the development of pathogenetically sound methods of prevention and correction of oxidative stress, caused by combined nitrate-fluoride intoxication. The established results can be used as an experimental justification for the feasibility of further clinical studies of the effectiveness of nanosized silicon dioxide as a treatment for chronic excessive nitrate and fluoride intake. Methods of diagnostics of the functional state of the nitric oxide system have been developed (patents of Ukraine for utility model № 111874, № 111232, № 120064).

The results of the work were introduced into the educational process at the Department of Pathophysiology of the Ukrainian Medical Stomatological Academy, the Department of Pathophysiology of the National Pharmaceutical University, the Department of Pathological Physiology of Zaporizhzhya State Medical University and the Department of Pathological Physiology named after DO. Alpern of Kharkiv National Medical University.

**Publications.** On the topic of the dissertation 31 scientific works have been published, 5 of them are in professional scientific editions of Ukraine (1 in the Scopus science database); 6 - in international journals (1 in edition in EU country; 1 in edition in Scopus science base and located in EU territory); 17 abstracts in the collections of scientific works. Received 3 patents of Ukraine for utility model.

*Keywords: sodium nitrate, sodium fluoride, enterosorbents, gastric mucosa.*

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### 1) Публікації в яких були опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Akimov OYe, 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. DOI: 10.15407/ubj88.06.070 *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу результати та обговорення, відповідь рецензентам)*

2. Акімов ОЄ, Костенко ВО. Вплив різних карбонових сорбентів на функціонування циклу оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2017; 17(2): 5-8. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу результати та обговорення, відповідь рецензентам)*

3. Акімов ОЄ, Міщенко АВ, Костенко ВО. Корекція оксидативного стресу в слизовій оболонці шлунка щурів ентеросорбентами різних класів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2019; 19(2): 103-106. DOI 10.31718/2077-1096.19.2.103. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, написання розділу результати та обговорення)*

4. Akimov OYe, Kovalova IO, Kostenko VO. Correction of destructive changes in connective tissues of different organs during chronic nitrate and fluoride intoxication by nanosized silica oxide. Journal of Education, Health and Sport. 2019; 9(5): 547-555. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.3238594>. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, статистична обробка результатів)*

5. Akimov OYe, Mischenko AV, Kostenko VO. Influence of combined nitrate and fluoride intoxication on connective tissue disorders in rats gastric mucosa. Archives of the Balkan Medical Union. 2019; 54(3):11-15. DOI. 10.31688/ABMU.2019.54.3.03. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, написання розділу результати та обговорення, відповідь рецензентам)*

6. Akimov OYe, Kostenko VO. Superoxide and peroxynitrite production in gastric mucosa of rats under combined nitrate-fluoride intoxication. Journal of the Grodno State Medical University. 2018; 16(6): 730-734. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу результати та обговорення, відповідь рецензентам)*

7. 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. Вестник Алматинского государственного института усовершенствования врачей. 2016; 3: 42-46. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, написання розділу результати та обговорення)*

8. Акимов ОЕ, Мищенко АВ, Костенко ВА. Влияние суспензии нанодисперсного кремнезема на функционирование цикла оксида азота в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной нитратной и фторидной интоксикации. Вестник Белорусского государственного медицинского университета. 2017; 1: 40-44. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу результати та обговорення)*

9. Акимов ОЕ, Костенко ВА. Влияние фтора на продукцию оксида азота в крови и слизистой оболочке желудка крыс. Современные проблемы гигиены, радиационной и экологической медицины. 2017; 7: 22-34. *(Особистий внесок*

*здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу результати та обговорення)*

## **2) Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

10. Акимов ОЕ, Влияние нанодисперсного кремнезёма на генерацию супероксидного анион-радикала в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной нитратной и фторидной интоксикации. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я»; 2016 гру 9; Полтава. Полтава: ВДНЗУ УМСА; 2016, с.84.

11. Акімов ОЄ, Вплив нанодисперсного кремнезему на стан антиоксидантних систем слизової оболонки шлунка щурів. Збірник матеріалів VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю: «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції»; 2016 жов 5-7; Харків. Харків: НФаУ; 2016; с.29.

12. Акімов ОЄ, Вплив суспензії нанодисперсного кремнезему на оксидативний стресс в слизовій оболонці шлунка за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації. Збірник матеріалів IV Міжнародної науково-практичної конференції Студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини»; 2016 кві 21-22; Суми. Суми: СумДУ; 2016; с.55.

13. Акимов ОЕ, Влияние нанодисперсного кремнезема на функционирование NO-синтетазного и аргиназного пути метаболизма L-аргинина в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной фтористой и нитратной интоксикациях. Сборник материалов XIX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье»; 2016 апр 23; Санкт-Петербург. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ; 2016; с.25-26.

14. Акімов ОЄ, Вплив хронічної нітратно-фторидної інтоксикації на регенераторний потенціал слизової оболонки шлунка. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я»; 2017 лис 17; Полтава. Полтава: ВДНЗУ УМСА; 2017; с.58.

15. Akimov OYe, Free radicals production in rat's gastric mucosa during chronic

nitrate intoxication. Proceedings of 4th International Congress on “Drug Discovery, Designing and Development”; 2017 nov 2-3; Chicago. Chicago: Journal of Pharmacology and Therapeutic Research; 2017; Vol.2(1); p.52.

16. Акімов ОЄ, Вплив сорбенту на основі активованого вугілля на NO-ергічну систему слизової оболонки шлунка щурів за умов нітратно-фторидної інтоксикації. Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку»; 2017 січ 27-28; Львів. Львів: ГО «Львівська медична спільнота»; 2017; с.69-72.

17. Акимов ОЕ, Влияние нанодисперсного оксида кремния на процессы пероксидации в слизистой оболочке желудка крыс при нитратно-фторидной интоксикации. Материалы XX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». 2017 апр 22; Санкт-Петербург. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ; 2017; с.26.

18. Акімов ОЄ, Вплив суспензії «Карболайн» на процеси пероксидації в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я»; 2018 лис 16; Полтава. Полтава УМСА; 2018; с.41-42.

19. Akimov OYe, Influence of chronic nitrate intoxication on the concentration of lipid hydroperoxides in the gastric mucosa. Матеріали VII Пленуму наукового товариства патофізіологів «Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики»; 2018 жов 11-12; Полтава. Полтава: УМСА; 2018; с.134-135.

20. Акимов ОЕ, Влияние энтеросорбентов на продукцию оксида азота в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной нитратно-фторидной интоксикации. Сборник материалов XXI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». 2018 апр 14; Санкт-Петербург. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ; 2018; с.19-20

21. Акимов ОЕ, Костенко ВА, Коррекция гиперпродукции оксида азота в слизистой оболочке желудка при нитратно-фторидной интоксикации энтеросорбентами разных классов. Материалы 66 годичной научно-практической конференции ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием «Роль и место инновационных технологий в современной медицине»; 2018 ноя 23; Душанбе. Душанбе: ТГМУ; 2018; Т2; с.63-64.

22. Akimov OYe, Influence of carboline on reactive oxygen and nitrogen species production in gastric mucosa of rats under chronic nitrate-fluoride intoxication. Матеріали I науково-практичної інтернет-конференції «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція»; 2018 жов 18; Харків. Харків: НФаУ; 2018; с.15-16.

23. Акімов ОЕ, Вплив суспензії на основі активованого вугілля на процеси деструкції сполучної тканини в слизовій оболонці шлунка за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації. Матеріали I Науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації»; 2019 трав 15; Харків. Харків: НФаУ; 2019; с. 37-39.

24. Акимов ОЕ, Влияние разных энтеросорбентов на развитие оксидационного стресса в слизистой оболочке желудка при хронической нитратно-фторидной интоксикации. Сборник материалов XXII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». 2019 апр 20; Санкт-Петербург. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ; 2019; с.24-25.

25. Акимов О.Е., Роль полового признака в развитии оксидативного стресса в слизистой оболочке желудка крыс при хронической нитратно-фторидной интоксикации. Матеріали II Науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція». 2019 лис 21; Харків. Харків: Видавництво НФаУ; 2019; 66-68.

26. Акімов О.Є., Корекція дезорганізації сполучної тканини в слизовій



оболонці шлунка в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації різними карбоновими сорбентами. Збірник матеріалів Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я»; 2019 лис 22; Полтава. Полтава УМСА; 2019; с.41-42.

**3) Публікації, які додатково відображають наукові результати дисертації:**

27. Акімов ОЄ, Костенко ВО, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, власник; Спосіб визначення загальної аргіназної активності в гомогенаті м'яких тканин. Україна, патент на корисну модель UA № 111874. 2016 Лис 25. *(Особистий внесок здобувача – ідея та експериментальне обґрунтування)*

28. Акімов ОЄ, Костенко ВО, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, власник; Спосіб визначення загальної нітрат- та нітритредуктазної активності в гомогенаті м'яких тканин. Україна, патент на корисну модель UA № 111232. 2016 Лис 10. *(Особистий внесок здобувача – ідея та експериментальне обґрунтування)*

29. Акімов ОЄ, Костенко ВО, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, власник; Спосіб кількісного визначення концентрації пероксинітриту в гомогенаті м'яких тканин. Україна, патент на корисну модель UA № 120064. 2017 Жов 25. *(Особистий внесок здобувача – ідея та експериментальне обґрунтування)*

30. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Ковальова ІО, Міщенко АВ, Френкель ЮД. Молекулярні механізми впливу фторидів на організм ссавців. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2018; 18(1): 303-8. *(Особистий внесок здобувача: пошук, аналіз та узагальнення літературних джерел стосовно молекулярних механізмів впливу фторидів на слизову оболонку шлунка)*

31. Акімов ОЕ. Современные подходы к поиску препаратов для дезинтоксикационной терапии при хронической интоксикации нитратами и фторидами. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної

стоматологічної академії. 2015; 15(2): 232-237.

## ЗМІСТ

<b>ЗМІСТ .....</b>	<b>19</b>
<b>Перелік умовних скорочень .....</b>	<b>22</b>
<b>ВСТУП.....</b>	<b>24</b>
<b>РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА МЕХАНІЗМИ ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ НІТРАТІВ ТА ФТОРИДІВ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ШЛУНКА ТА ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ТЕРАПІЇ ЕНТЕРОСОРБЕНТАМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ) .....</b>	<b>32</b>
<b>1.1. Механізми токсичного впливу іонів фтору на слизову оболонку шлунка     .....</b>	<b>32</b>
<b>1.1.1. Вплив іонів фтору на ядро епітеліоцитів СОШ.....</b>	<b>32</b>
<b>1.1.2. Вплив іонів фтору на мітохондрії та енергетичне забезпечення         епітеліоцитів СОШ. ....</b>	<b>34</b>
<b>1.1.3. Вплив іонів фтору на ендоплазматичний ретикулум, рибосоми та         метаболізм протеїнів в епітеліоцитах СОШ.....</b>	<b>35</b>
<b>1.1.4. Вплив іонів фтору на імунокомпетентні клітини в СОШ.....</b>	<b>37</b>
<b>1.1.5. Фторид-індуковані зміни в елементах сполучної тканини СОШ.....</b>	<b>39</b>
<b>1.2. Механізми токсичного впливу нітрат-іонів на слизову оболонку шлунка     .....</b>	<b>41</b>
<b>1.2.1. Вплив надлишкового надходження нітратів на ядро епітеліоцитів         СОШ. ....</b>	<b>41</b>
<b>1.2.1. Вплив надлишкового надходження нітратів на мітохондрії         епітеліоцитів СОШ. ....</b>	<b>43</b>
<b>1.2.3. Вплив нітрат-іонів на ендоплазматичний ретикулум, рибосоми та         метаболізм протеїнів в епітеліоцитах СОШ.....</b>	<b>45</b>
<b>1.2.4. Вплив нітрат-іонів на імунокомпетентні клітини в СОШ.....</b>	<b>46</b>

1.2.5. Нітрат-індуковані зміни в елементах сполучної тканини СОШ. ....	48
1.3. Патогенетичне обґрунтування використання ентеросорбентів для корекції метаболічних змін в СОШ за умов надлишкового надходження нітратів та фторидів .....	51
<b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....</b>	<b>53</b>
2.1. Загальна характеристика матеріалів та методів дослідження.....	53
2.2. Моделювання хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації..	54
2.3. Приготування та введення суспензій сорбентів. ....	55
2.4. Біохімічні методи дослідження.....	56
2.4.1. Оцінка функціональних змін в циклі оксиду азоту.....	56
2.4.2. Визначення показників прооксидантно-антиоксидантного балансу та процесів ПОЛ.....	58
2.4.3. Оцінка метаболічних змін в сполучній тканині в СОШ. ....	59
2.5. Статистична обробка результатів експерименту.....	60
<b>РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ ПОЄДНАНОГО НАДЛИШКОВОГО НАДХОДЖЕННЯ НІТРАТУ ТА ФТОРИДУ НАТРІЮ НА МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ В СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ШЛУНКА.....</b>	<b>62</b>
3.1. Вплив хронічного надлишкового надходження нітрату натрію на метаболічні зміни в СОШ.....	62
3.2. Вплив хронічного надлишкового надходження фториду натрію на метаболічні зміни в СОШ.....	70
3.3. Вплив хронічного поєднаного надлишкового надходження фториду та нітрату натрію на метаболічні зміни в СОШ.....	80
3.4. Внесок фторидного та нітратного компонентів у розвиток метаболічних змін в СОШ в умовах хронічної поєднаної інтоксикації. ....	88

**РОЗДІЛ 4. КОРЕКЦІЯ ЕНТЕРОСОРБЕНТАМИ МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН В  
СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ШЛУНКА ЗА УМОВ ПОЄДНАНОГО  
НАДЛИШКОВОГО НАДХОДЖЕННЯ НІТРАТУ ТА ФТОРИДУ НАТРІЮ 99**

**РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ 111**

**ВИСНОВКИ ..... 125**

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ..... 128**

**ДОДАТКИ..... 170**

### Перелік умовних скорочень

АФК – активні форми кисню.

ГАГ – глікозаміноглікани.

ДК – дієнові кон'югати.

ЕТЛ – електронно-транспортний ланцюг.

КАТ – каталаза (К.Ф. 1.11.1.6).

НАДН<sub>2</sub> – Нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений.

НАДФН<sub>2</sub> – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений.

ОДК – октадієнові кон'югати.

ОМБ – окисномодифіковані білки.

ОрДК – орнітиндекарбоксилаза (К.Ф. 4.1.1.17).

ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів.

СЕР – стрес ендоплазматичного ретикулума.

СОД – супероксиддисмутаза (К.Ф. 1.15.1.1).

СОШ – слизова оболонка шлунка.

ТБК-реактанти – продукти перекисного окиснення ліпідів, які реагують із тіобарбітуровою кислотою (2-тіоксодігідропіримідін-4,6 (1Н, 5Н) -діоном).

ТК – трієнові кон'югати.

ТФР-β – трансформуючий фактор росту-β (англ. transforming growth factor-β; TGF-β).

ФНП-α – фактор некрозу пухлин-α (англ. tumor necrosis factor-α; TNF-α).

АМРК – АМФ-активована протеїн кіназа.

Arg-1 – ізоформа аргінази 1.

Arg-2 – ізоформа аргінази 2.

Carb – суспензія сорбенту на основі активованого вугілля.

ChГАГ – хондроїтин-сульфатна фракція глікозаміногліканів.

eNOS – ендотеліальна ізоформа синтази оксиду азоту.

HhГАГ – гепарин-гепарансульфатна фракція глікозаміногліканів.

iNOS – індукцибельна ізоформа синтази оксиду азоту.

IRE1 – ензим, що вимагає наявності інозитулу 1.

JNK – c-Jun N-термінальна кіназа.

KdГАГ – дерматан-кератанова фракція глікозаміногліканів.

$K_m$  – константа Міхаеліса.

L-оксипролін – L-4-гідроксипіролідин-2-карбонова кислота.

LC3-II – коньюгована форма білка, асоційованого із легким ланцюгом мікротрубочок 1A/1B.

Lig – суспензія лігніну гідролізного із модрини.

МАРК-каскад – мітоген-асоційовані протеїн кінази.

MMP-2 – матриксна металопротеїназа – 2 (К.Ф. 3.4.24.24).

MMP-9 – матриксна металопротеїназа – 9 (К.Ф. 3.4.24.35).

mTOR – мішені в клітинах ссавців до рапаміцину (англ. mammalian targets of rapamycin).

NF- $\kappa$ B – ядерний транскрипційний фактор каппа-енхансер(посилювач)-легких ланцюгів активованих В-клітин.

NO – оксид азоту (II).

NOS – nitric oxide synthase (К.Ф. 1. 14. 13. 39), синтаза оксиду азоту.

Nrf2 – еритроїд-2 асоційований ядерний транскрипційний фактор 2.

nSil – суспензія нанодисперсного оксиду кремнію.

$O_2^{\cdot-}$  – супероксидний аніон-радикал.

ONOO $^-$  – пероксинітрит лужних та лужно-земельних металів.

PERK – рецептор-подібна протеїн кіназа ендоплазматичного ретикулума.

RhoA/Rho-kinase – частина А генетичної сім'ї Ras-гомологів/кіназа генетичної сім'ї Ras-гомологів.

SIRT-1 – сіртуїн.

SNAP – S-Нітрузо-N-ацетил-DL-пеніцилінамін.

Th-1 – Т-хелпер 1 типу.

Th-2 – Т-хелпер 2 типу.

TIMP-1 – тканинний інгібітор металопротеїназ – 1.

XO – ксантинооксидаза (К.Ф. 1.17.3.2).

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Оксид азоту (NO) відіграє важливу регуляторну роль у підтриманні балансу між ушкодженням та регенерацією слизової оболонки шлунка (СОШ). NO у фізіологічних концентраціях здатен збільшувати швидкість кровообігу у шлунку за рахунок вазодилатації його судин, зменшувати адгезію та секрецію нейтрофілів, запобігати дегрануляції тканинних базофілів та зменшувати викид цитокінів резидентними макрофагами. [1, 2, 3]

Збільшення продукції NO або зміна джерела його продукції призводить до зворотнього ефекту та сприяє ушкодженню СОШ. Так збільшена продукція NO від індукцйбельної ізоформи NO-синтази (iNOS) обумовлює розвиток виразок та ерозій СОШ [4, 5, 6, 7].

Висока необхідність в підтриманні фізіологічного рівня NO для всіх органів та систем обумовила формування в філогенезі сталої системи – «циклу NO». У людини та ссавців, за фізіологічних умов, більшість NO синтезується NO-синтазами (NOS). [8, 9] У рослин, дріжджів та найпростіших більшу роль у підтриманні фізіологічного гомеостазу NO відіграє нітрат-нітритредуктазний шлях його утворення. [10, 11, 12]

Проте редукція нітратів до NO відбувається і в організмі людини та ссавців. Механізмом утворення NO із нітратів є електрон-залежна редукція нітратів до нітритів, а останніх до NO. Синтез оксиду азоту із нітратів є переважаючим у рослин та бактерій. [13, 14] Редукція нітратів до NO може здійснюватися як за допомогою специфічних ферментів – нітратредуктаз, так і за допомогою інших (неспецефічних) відновлювачів – донорів електронів. [15, 16] Надмірне надходження нітратів до організму може призводити до порушення процесів авторегуляції продукції NO та супроводжуватись ураженням життєво важливих органів, таких як печінка та нирки. [17, 18]

Фізіологічна авторегуляція продукції NO може порушуватись внаслідок надмірного надходження іонів фтору до організму, оскільки фториди здатні збільшувати активність iNOS та знижувати активність аргіназ, конкурентів NOS за субстрат реакції. [19, 20, 21]



Фториди можуть у надмірній кількості надходити разом із питною водою, продуктами харчування та деякими лікарськими препаратами. Оптимальна концентрація фторидів у питній воді складає 0,7-1,2 мг/дм<sup>3</sup>. Проблема надлишкового вмісту фтору у питній воді є дуже актуальною для України. Так в Полтавській області спостерігається високий вміст іонів фтору у питній воді в наступних районах: Карлівський район (3,6 мг/дм<sup>3</sup>), Чутівський (1,8 мг/дм<sup>3</sup>), Машівський (5,1 мг/дм<sup>3</sup>), Шишацький (2,6 мг/дм<sup>3</sup>) та Велико-Багачанський (2,4 мг/дм<sup>3</sup>). [22] В Одеській області на тлі зниженого вмісту фтору у більшості районів, зустрічаються райони із підвищеною концентрацією фтору у питній воді: Тарутинський, Арцизький і Татарбунарський райони. [23] Надмірний вміст фторидів в ґрунтових водах та продуктах харчування є проблемою не лише України, а й багатьох країн (Мексика, Ірландія, США тощо). [24, 25, 26]

Проте наслідки порушення механізмів авторегуляції продукції активних форм азоту в слизовій оболонці шлунка за умов надлишкового комбінованого надходження нітратів і фторидів до цього часу залишаються нез'ясованими.

Певні перспективи пов'язуються із можливістю профілактики та корекції метаболічних розладів в СОШ, які виникають внаслідок порушення авторегуляції продукції NO при надмірному надходженні нітратів та фторидів до організму, шляхом використання ентеросорбентів здатних до фізичної та хімічної сорбції нітратів та фторидів. Вплив ентеросорбентів на метаболічний стан СОШ за умов надмірного комбінованого надходження нітратів та фторидів досліджений недостатньо, що обумовлює необхідність даного дисертаційного дослідження.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є самостійною науково-дослідницькою роботою, виконаною згідно з планом наукових досліджень кафедри патофізіології Української медичної стоматологічної академії за темою «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу» (державний реєстраційний № 0114U004941, термін виконання 01.09.2015 – 01.09.2019). Автор є виконавцем її окремого фрагменту. Тема дисертації затверджена на засіданні Проблемної комісії МОЗ і НАМН України «Нормальна та

патологічна фізіологія” від 20.04.2016 р. (протокол № 2) та на засіданні Вченої ради стоматологічного факультету (протокол №7 від 24.02.2016 р.).

**Мета роботи** – вивчити молекулярні механізми патогенної дії нітрат-іонів та фторид-іонів в умовах їх поєднання на слизову оболонку шлунка щурів та експериментально обґрунтувати корекцію поєднаної інтоксикації ентеросорбентами (нанодисперсний оксид кремнію, карболайн, лігнін гідролізний).

Для досягнення поставленої мети було передбачено вирішення наступних завдань:

1. Дослідити функціональні зміни в системі оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації.

2. Дослідити закономірності продукції активних форм кисню та азоту, змін в активності антиоксидантної системи та процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації.

3. Вивчити закономірності впливу поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації на деградацію сполучної тканини слизової оболонки шлунка щурів.

4. Визначити вплив ентеросорбентів на функціональний стан системи оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації.

5. Дослідити вплив ентеросорбентів на продукцію активних форм кисню та азоту, антиоксидантну систему та процеси ПОЛ в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації.

6. Встановити роль ентеросорбентів у метаболізмі сполучної тканини слизової оболонки шлунка щурів за умов хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації.

**Об’єкт дослідження** – механізми патологічних змін в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації та за умов її корекції ентеросорбентами.

**Предмет дослідження** – роль системи оксиду азоту, активних форм кисню

та азоту у механізмах розвитку патологічних змін за умов хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації та за умов її корекції ентеросорбентами.

**Методи дослідження.** У роботі використано експериментальні (моделювання хронічної нітратної, фторидної та нітратно-фторидної інтоксикацій на щурах), біохімічні (спектрофотометричне визначення активності ензимів: синтази оксиду азоту, нітрат- і нітритредуктази, аргінази, орнітиндекарбоксилази, супероксиддисмутази та каталази; концентрації пероксинітритів лужних та лужноземельних металів; швидкості продукції пероксинітритів лужних та лужноземельних металів; швидкості продукції супероксидного аніон-радикала; концентрацій гідроперекисів ліпідів: дієнових, октадієнових та трієнових кон'югатів; концентрації ТБК-активних продуктів та їх приріст після інкубації в залізоаскорбатному буферному розчині; вмісту окисно-модифікованих білків, вільного L-оксипроліну та глікозаміногліканів; концентрацію гепарин-гепаранової, кератан-дерматанової та хондроїтинової фракції глікозаміногліканів) та математико-статистичні методи дослідження.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Уперше встановлено, що під час поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації спостерігається гіперпродукція оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів, нітратний компонент поєднаної інтоксикації посилює продукцію оксиду азоту нітрат-нітритредуктазним шляхом, у той час коли фторидний компонент збільшує продукцію оксиду азоту від NO-синтаз. Активність аргінази в умовах поєднаної інтоксикації зростає.

Виявлено, що поєднана нітратно-фторидна інтоксикація призводить до розвитку оксидативно-нітрозативного стресу в слизовій оболонці шлунка щурів, що супроводжується збільшенням продукції активних форм кисню та азоту, зниженням активності антиоксидантних ферментів та посиленням ПОЛ. Встановлена взаємодоповнююча пригнічуюча дія нітратів та фторидів, при їх поєднанні, на ферментативну ланку антиоксидантної системи (активність супероксиддисмутази та каталази).

Вперше доведено, що поєднана нітратно-фторидна інтоксикація призводить до посилення деградації сполучної тканини слизової оболонки шлунка щурів.

Інтенсивність процесів колагенолізу залежить переважно від фторидного компонента поєднаної інтоксикації. Розпад аморфної речовини сполучної тканини супроводжується зростанням протизапальних фракцій глікозаміногліканів.

Вперше досліджено вплив ентеросорбентів на функціональний стан системи оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидній інтоксикації. Встановлено, що застосування суспензії нанодисперсного оксиду кремнію є ефективнішим методом корекції надмірної продукції оксиду азоту у слизовій оболонці шлунка щурів при порівнянні із суспензіями лігніну гідролізного та карболайну.

Встановлено, що введення ентеросорбентів попереджає розвиток оксидативного стресу в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації. Застосування суспензії нанодисперсного оксиду кремнію ефективніше запобігає розвитку оксидативного стресу в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації у порівнянні із суспензіями лігніну гідролізного та карболайну.

Виявлено, що використання ентеросорбентів в умовах поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації зменшує деградацію сполучної тканини слизової оболонки шлунка щурів.

Уперше доведено, що застосування суспензії нанодисперсного оксиду кремнію усуває негативний вплив хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації на слизову оболонку шлунка щурів. Суспензія карболайну зменшує фторидні ефекти, а суспензія лігніну обмежує нітратні ефекти поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації в слизовій оболонці шлунка щурів.

**Практичне значення отриманих результатів.** Одержані результати можуть використовуватися як експериментальна база для розробки патогенетично обґрунтованих методів попередження та корекції оксидативного стресу, що викликаний поєднаною нітратно-фторидною інтоксикацією. Одержані результати можуть використовуватися як експериментальне обґрунтування доцільності проведення подальших клінічних досліджень ефективності нанодисперсного оксиду кремнію в якості засобу терапії хронічної надлишкового надходження

нітратів та фторидів до організму. Розроблені методи діагностики функціонального стану системи оксиду азоту (патенти України на корисну модель № 111874, № 111232, № 120064).

Результати роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрі патофізіології Української медичної стоматологічної академії, кафедрі патофізіології Національного фармацевтичного університету, кафедрі патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету та на кафедрі патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням автора, виконаним на кафедрі патофізіології Української медичної стоматологічної академії (завідувач кафедри проф. Костенко В.О.), де була проведена експериментальна частина дослідження (моделювання хронічних інтоксикацій та їх експериментальна корекція, біохімічні дослідження).

Автором особисто проведено критичний аналіз літературних джерел відповідно до сучасних уявлень про механізми патологічного впливу іонів фтору та нітрат-іонів на організм в цілому та слизову оболонку шлунка зокрема, розроблено теоретичне підґрунтя для експериментальної корекції поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації, виконано патентний пошук з даної проблеми.

Сумісно з науковим керівником д.мед.н., професором Костенко В.О. обрано тему дисертаційної роботи, організовано й проведено експериментальні дослідження. Дисертантом у співавторстві з проф. Костенко В.О. розроблено методики дослідження циклу оксиду азоту: «Спосіб визначення загальної аргіназної активності в гомогенаті м'яких тканин» (патент на корисну модель № 111874 від 25.11.2016 р.) [27]; «Спосіб визначення загальної нітрат- та нітритредуктазної активності в гомогенаті м'яких тканин» (патент на корисну модель № 111232 від 10.11.2016 р.) [28]; «Спосіб кількісного визначення концентрації пероксинітритру в гомогенаті м'яких тканин» (патент на корисну модель № 120064 від 25.10.2017 р.) [29].

Аналіз отриманих результатів експериментальних досліджень, статистична

обробка, наукова інтерпретація, формулювання висновків, практичних рекомендацій й впровадження результатів досліджень у практичну діяльність також виконані за підтримки наукового керівника. Вклад дисертанта в усіх спільних роботах, які опубліковані на основі матеріалів дисертації, є переважаючим та складає більше 80%.

**Апробація результатів дисертації.** Основні матеріали дисертації доповідались на: Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я» (Полтава, 2016); на VII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю: «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції» (Харків, 2016); на IV Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини» (Суми, 2016); XIX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2016); XX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2017); міжнародній науково-практичній конференції «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку» (Львів, 2017); 4th International Congress on “Drug Discovery, Designing and Development” (Chicago, 2017); всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я» (Полтава, 2017); всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я» (Полтава, 2018); XXI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2018); I науково-практичній інтернет-конференції «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2018); 66 годичной научно-практической конференции ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием «Роль и место инновационных технологий в современной медицине» (Душанбе, 2018); на VII Пленумі наукового товариства патофізіологів «Інтегративні механізми

патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики» (Полтава, 2018); XXII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2019); I Науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків. – 2019); II Науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків. – 2019); Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я» (Полтава. – 2019).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 31 наукову працю, із них 5 статей у фахових наукових виданнях України (1 у виданні, яке входить до наукометричної бази Scopus), 6 – у міжнародних виданнях (1 у виданні в країні Євросоюзу; 1 у виданні що входить до наукометричної бази Scopus та знаходиться на території Євросоюзу); 17 тез у збірниках наукових праць. Отримано 3 патенти України на корисну модель.

**Структура то обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 185 сторінках машинопису і складається з вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 2 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Робота ілюстрована 31 рисунками та 36 таблицями. Список літератури містить 367 джерел (41 кирилицею та 326 латиницею).

## РОЗДІЛ 1

### СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА МЕХАНІЗМИ ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ НІТРАТІВ ТА ФТОРИДІВ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ШЛУНКА ТА ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ТЕРАПІЇ ЕНТЕРОСОРБЕНТАМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

#### 1.1. Механізми токсичного впливу іонів фтору на слизову оболонку шлунка

Слизова оболонка шлунка (СОШ) щурів складається із двох відділів: стравохідного (беззалозиста частина) та залозистого відділів (до його складу входять фундальна, кардіальна та пілорична частини). Беззалозистий відділ представлений багат шаровим плоским незроговілим епітелієм, який складається із 3-6 шарів. Залозистий відділ складається із одношарового однорядного призматичного епітелію. До складу слизової оболонки також входять базальна мембрана епітелію та власна сполучнотканинна пластинка. [30]

*1.1.1. Вплив іонів фтору на ядро епітеліоцитів СОШ.* Іони фтору здатні прискорювати та активувати ріст пухлинних клітин шляхом активації електричної полярної взаємодії, особливо у випадках поєднання аніонів фтору із катіонами лужно-земельних металів (лантану, празеодіму) та при розмірі частинок менше 10 нм. [31] При поєднанні аніонів фтору із катіонами алюмінію, яке характерне на заводах по виробництву металічного алюмінію, відбувається збільшення частоти раку грудей та більш ранній початок пухлинних перетворень. [32] При поєднанні катіонів миш'яку та аніонів фтору також спостерігається збільшена частота пухлинних захворювань, що характерно для більшості населення Індії. [33]

Дослідження проведені у США вказують на відсутність залежності частоти пухлинних захворювань від вмісту іонів фтору у питній воді. [34, 35] Причиною відмінності результатів, що описані в [31, 32, 33] та у [34, 35] може бути катіонний склад солей фтору. У дослідженнях [31, 32, 33] вивчались катіони:  $As^{3+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $La^{3+}$ ,  $Pr^{3+}$ . У той час, коли для фторування води у США використовують  $NaF$ . Тому



онкогенний ефект фторидів може бути пов'язаний із їх катіонним складом.

Це підтверджується тим, що сполуки платини (Pt), які містять аніони фтору у одному із лігандних місць мають виражену протипухлинну активність. [36] Додавання іону фтору до хелієнізину А із утворенням хелієнізину А-Ф призводить до активації аутофагії у пухлинних клітинах сечового міхура через Sestrin-2-залежний механізм, що зменшує швидкість їх поділу. [37] Додавання іонів фтору до органічного матриксу також значно посилює протипухлинну дію останніх. [38]

Фториди здатні впливати на мітотичну активність і здорових клітин. Так надходження надлишку фториду натрію в ембріональному періоді може порушити формування нервової трубки та призвести до зменшення інтелектуальних властивостей, аутизму та кальцифікування шишкоподібної залози. [39, 40] За даними S. Liang та співавт. надлишкове надходження фториду натрію здатне підвищувати активність катепсину Б, погіршувати потенціал подальшого розвитку свинячих ооцитів, знижувати швидкість формування бластоцисти, збільшувати апоптоз та інгібувати проліферацію клітин. [41] Блокування клітинного циклу лежить в основі патологічних змін у селезінці мишей, які отримували фторид натрію у дозі 12 мг/кг та вище. Патологічні зміни в селезінці, за даними P. Kuang та співавт. характеризувались збільшенням відсотку клітин, які знаходяться в стадії  $G_0/G_1$  та зменшенні відсотка клітин селезінки, які знаходяться на стадії S. [42] P. Kuang та співавт. відмічали зниження рівня таких цитокінів як трансформуючий фактор росту- $\beta$  (ТФР- $\beta$ ), фактор некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), інтерферон- $\gamma$  та циклінів E/D з одночасним зростанням експресії інтерлейкіну-10 (ІЛ-10). [42]

Багато літературних джерел вказують на наявність у фторидів (солей із натрієм у якості катіона) здатності активувати апоптоз. [43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50] За даними N. Yan та співавт. фториди здатні активувати мікроглію у сформованому головному мозку та індукувати апоптоз. При цьому рівні таких цитокінів як ІЛ-1 $\beta$  та ФНП- $\alpha$  значно збільшуються. [44, 46] При цьому X. Yan та співавт. вказують, що при впливі фторидів на кардіоміоцити лінії H9c2 відбувається активація каспази-3 та каспази-9, та збільшується вміст цитохрому-с, що свідчить про активацію мітохондріального шляху апоптозу. [45]

Механізмами, що лежать в основі фторид-індукованого апоптозу є активація транскрипційних факторів таких як NF-κB та Irelα-JNK каскад, з одночасною блокадою сиртуїну-1 (SIRT-1) та ядерного дихального фактора-2 (Nrf-2). [49, 50] Фактори, які здатні посилювати фторид-залежну продукцію активних форм кисню (АФК), посилюють фторид-індукований апоптоз. [43] Катіон натрію на відіграє ролі у фторид-індукованому апоптозі, оскільки заміна аніона фтору на аніон селену оксиду ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ) здатна запобігати розвитку фторид-індукованого апоптозу. [48]

Отже, аніони фтору, за умов їх поєднання із катіонами натрію, здатні запускати генетичні програми апоптозу у ядрі епітеліоцитів СОШ, а при поєднанні із тривалентними катіонами можуть призвести до канцерогенезу.

*1.1.2. Вплив іонів фтору на мітохондрії та енергетичне забезпечення епітеліоцитів СОШ.* Вплив фторидів на енергетичне забезпечення клітин є дозозалежним та залежить від тривалості впливу іонів фтору. За даними Т.Т. Агаїґо та співавт. введення лабораторним тваринам натрію фториду із питною водою у дозі 15 мг/л протягом 20 днів знижує активність гліколізу, проте збільшує інші шляхи отримання енергії. Збільшення дози до 50 мг/л знижує активність всіх ферментів, пов'язаних із енергозабезпеченням клітини. [51]

Фториди здатні збільшувати продукцію АФК мітохондріями, знижувати активність антиоксидантних ферментів та викликати вихід цитохрому-с із мітохондрій. [52, 53] Пошкодження мітохондрій в умовах надлишку іонів фтору супроводжується зниженням гідролізу АТФ та процесів гліколізу, що ще більше поглиблює енергодефіцит клітини. [54]

Блокада фторидами сигналізації через SIRT-1 призводить до зменшення експресії супероксиддисмутази-2 (СОД-2), яка містить  $\text{Mn}^{2+}$  в своєму активному центрі та є головним регулятором продукції АФК мітохондріями. [55] Окрім зменшення експресії СОД-2 іони фтору збільшують експресію білків мітохондрій, які задіяні в енергетичному метаболізмі: 27,4 кДа білок – частина комплексу I мітохондрій (кодується геном NDUFV2); частина сукцинат дегідрогеназного комплексу, флавопотейн А – частина комплексу II мітохондрій (кодується геном SDHA); цитохром-с1 – частина комплексу III мітохондрій (ген CYC1). Водночас

експресія генів ATR5j та ATR5h, які відповідають за синтез АТФ знижується. Це призводить до роз'єднання оксидного фосфорилування та синтезу АТФ в умовах надлишку іонів фтору. [56]

Промивання культури клітин SH-SY5Y розчином натрію фториду концентрацією 60 мг/л протягом 24 годин призводить до зниження відносного вмісту мітохондріальної ДНК, збільшення експресії ядерного дихального фактора-1 та мітохондріального транскрипційного фактора А. [57]

Отже, іони фтору здатні порушувати функцію мітохондрій, зміщуючи функціонування мітохондріальних комплексів у бік продукції АФК та створюючи енергодефіцит в клітині.

*1.1.3. Вплив іонів фтору на ендоплазматичний ретикулум, рибосоми та метаболізм протеїнів в епітеліоцитах СОШ.* Фториди здатні посилювати катаболізм білків шляхом активації протеосоми із послідуною аутофагією. Фториди здатні збільшувати вміст аутофагосом та рівні маркерів аутофагії. Наприклад, коньюгована форма білка, асоційованого із легким ланцюгом мікротрубочок 1A/1B (LC3-II) зростає за умов надлишкового надходження фториду натрію із питною водою в дозі від 25 до 100 мг/л. [58, 59] Водночас, інший маркер аутофагії – беклін-1 (англ. Beclin1) статистично значуще не змінюється в умовах надлишкового надходження фториду натрію. [58] Також, за даними S. Zhang та співавт. експресія субстрату аутофагії – p62 в умовах надлишкового надходження фторидів значно зростає, що свідчить про порушення деградації аутофагосом, яке призводить до їх накопичення в умовах фторидної інтоксикації, а не посиленого їх формування. [58]

Причиною активації аутофагії під впливом іонів фтору, на думку Q. Niu та співавт. є розвиток під впливом іонів фтору стресу в ендоплазматичному ретикулумі. Q. Niu та співавт. довели, що зменшення стресу в ендоплазматичному ретикулумі за допомогою 4-фенілбутирату, в умовах надлишкового надходження іонів фтору, зменшує експресію бекліну-1, LC3-II та p62. [60]

Активация аутофагії під впливом іонів фтору також залежить від часу, який пройшов від моменту контакту тканини із фторидами. Так за даними S. Tang та

співавт. вплив фторидів на клітини нейробластоми SH-SY5Y у дозі від 20 до 60 мг/л з експозицією не більше 24 годин призводить до зменшення кількості аутофагосом та зниження експресії генів бекліну-1 та LC3-II, при збільшенні вмісту р62. [61] Схожі дані отримали Z. Feng та співавт. аналізуючи вплив натрію фториду у дозі від 0,125 до 0,5 мМ з експозицією в 24 години на клітини Сертолі. [62]

Y. Zhao та співавт. зазначають, що роль медіатора у розвитку фторид-індукованої аутофагії може відігравати ТФР- $\beta$ . Оскільки в умовах надлишкового надходження фториду натрію дозозалежно збільшується експресія ТФР- $\beta$ , бекліну-1 та LC3-II у остеобластах. Посилення експресії ТФР- $\beta$  збільшує експресію бекліну-1 та LC3-II, у той час як виключення гену ТФР- $\beta$  (сайленсінг, англ. silencing) навпаки зменшує експресію бекліну-1 та LC3-II. [63]

Ще одним сигнальним шляхом, який залучається іонами фтору до активації аутофагії є мішені в клітинах ссавців до рапаміцину (англ. mammalian targets of rapamycin; mTOR). Так за даними P. Kuang та співавт. введення тваринам (білим мишам) від 12 до 48 мг/кг фториду натрію внутрішньошлунково протягом 42 днів призводить до інгбування mTOR каскаду із подальшим збільшенням експресії бекліну-1 та LC3-II. [64]

До активації аутофагії може призводити також надлишкова продукція АФК під впливом іонів фтору. Надлишок АФК призводить до активації c-Jun N-термінальної кінази (JNK), яка в подальшому фосфорилує SIRT-1 та призводить до активації аутофагії. За даними Suzuki M. та співавт. блокатор АФК N-ацетилцистеїн та блокатор JNK каскаду 1,9-Піразолоантрон здатні запобігати розвитку фторид-індукованої аутофагії. [65]

Залежність процесів деградації білків від дози фторидів показана у роботі P.S. Shenou та співавт., де було встановлено, що вплив фторидів у низьких концентраціях (1,5 ppm або  $\approx$  1,5 мг/л) посилює синтез білка та сприяє м'язовій гіпертрофії; збільшення дози фторидів до 5 ppm або  $\approx$  5 мг/л навпаки гальмує формування м'язових філаментів, призводить до атрофії та активує протеосомний механізм катаболізму білків. [66]

Важливою ланкою впливу фторидів на ендоплазматичний ретикулум є

розвиток стресу ендоплазматичного ретикулума (СЕР). [60, 67, 68, 69, 70] СЕР може, у свою чергу, призвести до оксидативного стресу, що компенсаторно активує еритроїд-2 асоційований ядерний транскрипційний фактор 2 (Nrf2), який контролює гени глютамілцистеїнсинтази та глутатіон-S-трансферази-P1. [70] За даними Х. Лі та співавт. за умов інгібування аутофагії, що індукується СЕР за умов надлишкового надходження іонів фтору, СЕР здатний активувати апоптоз. [69] Що підтверджується даними Н. Deng та співавт., які встановили, що розвиток апоптозу під впливом фториду натрію опосередковується СЕР. [68] Блокада СЕР 4-фенілбутиратом знижує вираженість апоптозу під впливом фторидів. [68, 71]

Важливу роль у розвитку СЕР за умов надлишкового надходження фторидів відіграє концентрація іонів  $Ca^{2+}$ . J. Wang та співавт. довели, що надходження фторидів у дозі 9 мг/л посилює процеси СЕР та апоптозу в остеобластах кролів, проте даний ефект залежить від концентрації іонів  $Ca^{2+}$ . Низька концентрація іонів  $Ca^{2+}$  (0,5-1,0 ммоль/л) послаблює процеси апоптозу, а висока (2-8 ммоль/л) – навпаки, посилює проапоптичний ефект фторидів. [72]

Іони фтору здатні посилювати р21-опосередковану деградацію протеосом та інгібувати їх активність у складі комплексних органічних сполук. [73, 74, 75, 76]

Отже, іони фтору здатні посилювати катаболізм білків шляхом активації аутофагії, одночасно блокуючи катаболізм білків протеосомами, призводити до розвитку СЕР із компонентами оксидативного стресу, а у разі неможливості активації аутофагії, призводити до активації СЕР-опосередкованого апоптозу.

*1.1.4. Вплив іонів фтору на імунокомпетентні клітини в СОШ.* Фториди мають неоднозначний вплив на макрофаги. Так у випадку попередньої поляризації макрофагу по  $M_2$  фенотипу (протизапальний) фторидна інтоксикація здатна потенціювати синтез колагену та інших компонентів сполучної тканини через ТФР- $\beta$ . [77] У випадку, коли фториди впливають на моноцити (або макрофаги без попередньої поляризації;  $M_0$ ), іони фтору проявляють виражений прозапальний ефект та сприяють поляризації макрофагів по прозапальному фенотипу  $M_1$ . Вказані ефекти фторидів блокуються інгібіторами холінестерази такими як: донепезіл і

ривастигмін. [78, 79, 80]

Механізмом, що лежить в основі прозапальної поляризації макрофагів в  $M_1$  під впливом надлишкового надходження іонів фтору, може бути активація NF- $\kappa$ B. Y. Tian та співавт. вказують, що введення фторидів у середовище, яке містить перитоніальні макрофаги, у дозі від 50 до 800 мкмоль призводить до посилення продукції макрофагами оксиду азоту від індукцйбельної форми NO-синтази (iNOS), посилення вироблення ними ІЛ-1 $\beta$  та ФНП- $\alpha$ . Проте автори вказують, що безпосередньо фториди не впливають на експресію генів, а їх ефект опосередковується АФК та оксидативним стресом. [81]

Активація NF- $\kappa$ B іонами фтору супроводжується зниженням активності Nrf2, що призводить до збільшення NF- $\kappa$ B-опосередкованої продукції АФК із одночасним зменшенням активності антиоксидантних ферментів, які регулюються Nrf2. [82, 83] Активація NF- $\kappa$ B каскаду може супроводжуватись активацією мітоген-асоційованих протеїн кіназ (MAPK-каскаду). Це призводить до збільшення продукції прозапальних цитокінів, таких як: ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8, моноцитарний хемотаксисний білок 1, а також активність циклооксигенази-2. При цьому фториди зменшують продукцію протизапальних цитокінів, таких як ІЛ-4 та ТФР- $\beta$ . [84] Активація іонами фтору NF- $\kappa$ B, яка супроводжується гіперпродукцією ІЛ-8, відбувається більш повільно та супроводжується активацією MAPK-каскаду. [85]

На проліферацію лімфоцитів надлишкове надходження іонів фтору справляє гальмівний вплив. Так при додаванні іонів фтору в дозі 100-1000 мкмоль/л до лімфоцитів, виділених із селезінки, відбувається зниження вмісту  $CD^{3+}$ ,  $CD^{3+}CD^{4+}$ ,  $CD^{3+}CD^{8+}$  Т лімфоцитів та  $CD^{19+}$  В лімфоцитів. Це супроводжується зменшенням експресії ФНП- $\alpha$ , ТФР- $\beta$ , ІЛ-2 та збільшенням експресії ІЛ-10. Механізмом, що лежить в основі даних змін є зупинка клітинного циклу, що підтверджується зменшенням вмісту цикліну E/D. [86, 87] Також, значну роль у фторид-індукованих змінах в лімфоцитах відіграє нестача іонів  $Ca^{2+}$ . Так за даними Н. Wang та співавт. відновлення нестачі іонів кальцію або їх заміна іонами  $Pr^{3+}$  знижує токсичний вплив фторидів на лімфоцити. [88]

Надходження нітрату натрію у дозі від 100 до 400 мкмоль/л збільшує

активність каспази-3, каспази-6, каспази-7, каспази-8 та каспази-9, а також, збільшує вміст Bax, Bak, Fas, FasL, одночасно знижуючи вміст Bcl-2 and Bcl-xL. [89, 90, 91] За даними W. Wei та співавт. апоптоз, індукований надмірним надходженням фторидів, пов'язаний із активацією ензимом, що вимагає наявності інозитулу 1 (IRE1) та активацією рецептор-подібної протеїнкінази ендоплазматичного ретикулума (PERK). [92]

Зменшення вмісту лімфоцитів за умов надлишкового надходження фторидів закономірно призводить до зниження ефективності клітинного та гуморального імунітету. [93, 94]

Підсумовуючи вплив фторидів на імунокомпетентні клітини слід зазначити, що фториди мають здатність сприяти поляризації макрофагів в прозапальний M<sub>1</sub> фенотип, проте не можуть змінювати поляризацію вже поляризованих по M<sub>2</sub> фенотипу макрофагів. Разом із цим фториди посилюють апоптоз макрофагів та лімфоцитів, чим сприяють розвитку недостатності клітинного та гуморального імунітету.

*1.1.5. Фторид-індуковані зміни в елементах сполучної тканини СОШ.* Фториди здатні дозозалежно зменшувати експресію гену колагену I типу та вміст L-оксипроліну у тканинах кісток при надлишковому надходженні. [95, 96] До складу СОШ входять колагени різних типів (I, II, III, V, XI та інші), при чому зменшення колагену I типу призводить до ураження структурної цілісності СОШ, а колаген III типу відіграє захисну роль та синтезується у випадку виразково-ерозивного ушкодження СОШ. [97, 98, 99, 100] Тому фторид-індуковане зменшення експресії гену колагену I типу може призвести до ушкодження СОШ.

Зменшення вмісту колагену I типу під впливом іонів фтору не пов'язане із активністю матриксних металопротеїназ (ММР), оскільки фториди мають здатність знижувати активність ММР. [101, 102, 103] Цей вплив іонів фтору пов'язаний із епігенетичним впливом іонів фтору, так за даними A.P. Daiwile та співавт. іони фтору здатні посилювати метилювання гену ММР-11. [104]

Фібробласти також можуть зазнавати негативного впливу надлишкового надходження іонів фтору. У фібробластах під впливом іонів фтору активуються

процеси апоптозу, які і зумовлюють цитотоксичність сполук фтору. [105, 106] Проте за даними М.Н. Pham та співавт. поверхня титанових дисків, модифікована плавиковою кислотою сприяє проліферації фібробластів. [107]

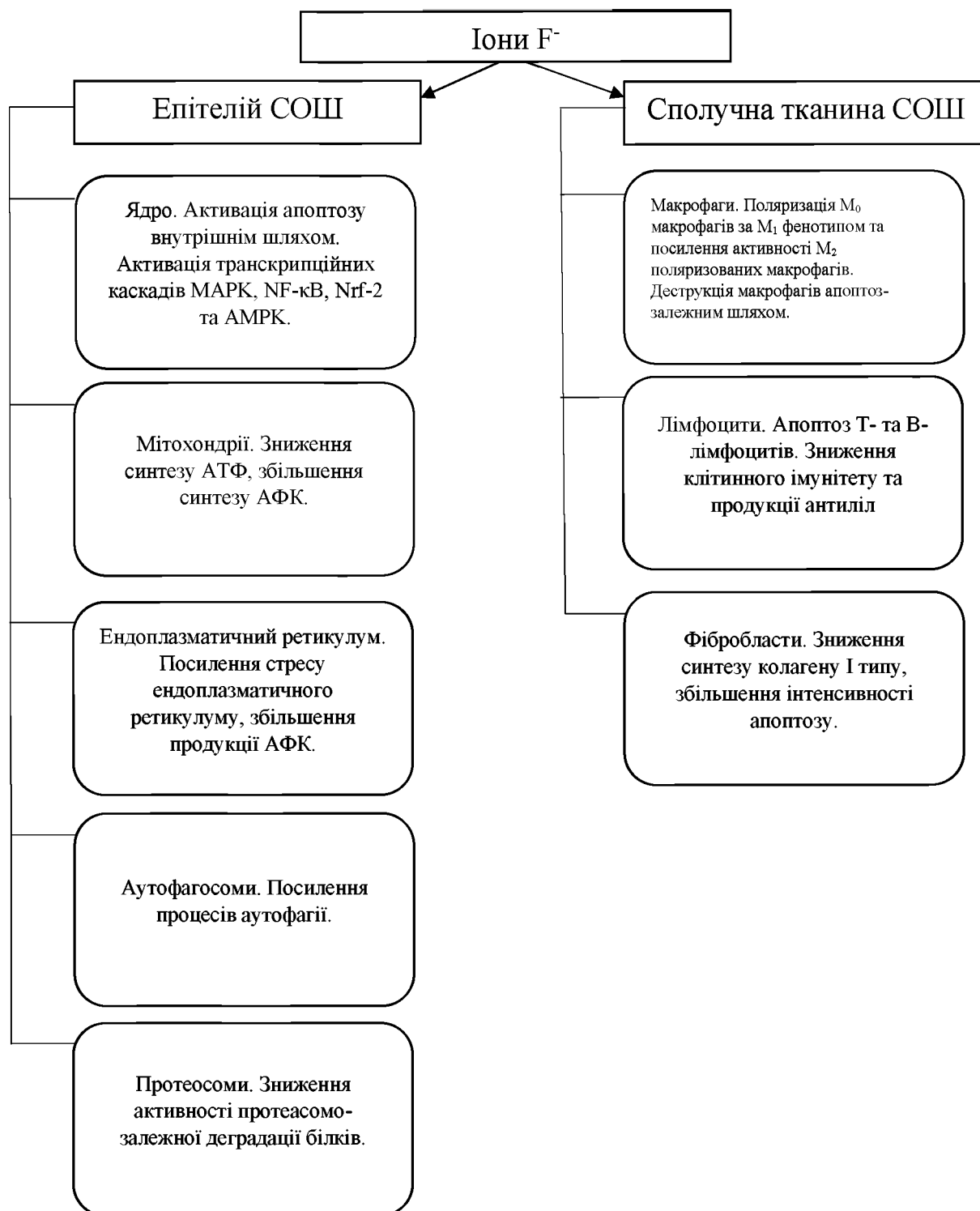


Рис. 1.1 Вплив іонів фтору на СОШ

У цей же час за даними Р.М. Aranda Salomão та співавт. фторид титану індукує апоптоз у фібробластах людей та мишей. [108] Відмінність між



результатами між М.Н. Pham та співавт. та Р.М. Aranda Salomão та співавт. може полягати у різному ступені окиснення катіону у складі фторидної солі. Так в роботі М.Н. Pham та співавт. ступень окиснення титану складає +1, а в роботі Р.М. Aranda Salomão та співавт. використовується  $TiF_4$ , де ступінь окиснення складає +4. [107, 108]

Важливість катіонного складу у визначенні впливу солей фтору на фібробласти підтверджується роботами Р.М. Aranda Salomão та співавт. та М.Е. Fancher та співавт., у яких показано, що солі фтору із катіоном  $Na^+$  здатні викликати більш інтенсивний апоптоз ніж солі із катіоном  $Ti^{4+}$ , а катіон  $Ag^{2+}$  у поєднанні із органічними компонентами (двома аміно групами) є більш токсичними ніж солі із катіоном  $Na^+$ . [108, 109] Токсичність фторидів стосовно фібробластів, також, залежить від часу впливу та експериментальної моделі. [110]

Отже, фториди здатні руйнувати волокнисті елементи сполучної тканини СОШ та перешкоджати їх регенерації шляхом активації апоптозу у фібробластах.

Схематично підсумувати вплив фторидів на СОШ (Рис. 1.1.) можна наступним чином: у епітелії СОШ фториди здатні активувати апоптоз, призводити до енергодефіциту та надмірної продукції АФК, призводити до СЕР, зменшувати синтез білка із одночасною активацією аутофагії на тлі зниженої деградації протеїнів у протеосомах.

Вплив фторидів на імунокомпетентні клітини СОШ характеризується  $M_1$  поляризацією макрофагів та апоптозом лімфоцитів. Фібробласти сполучної тканини також зазнають апоптозу, а калагенові волокна руйнуються на тлі зниженого їх синтезу.

## **1.2. Механізми токсичного впливу нітрат-іонів на слизову оболонку шлунка**

*1.2.1. Вплив надлишкового надходження нітратів на ядро епітеліоцитів СОШ.* Надходження нітрату натрію із водою у концентрації 100 мг/л здатні нейтралізувати апоптичні зміни викликані цукровим діабетом, який було індуковано стрептозооцином. [111, 112] Збільшення періоду впливу нітратів збільшує позитивний ефект. [113] Y. Xu та співавт. зазначають, що механізмом,

який лежить в основі зменшення активності апоптозу під впливом нітратів є посилення активності Cu-Zn СОД. [114] Властивість неорганічних нітратів зменшувати продукцію АФК та збільшувати їх нейтралізацію підтверджується S. Chang та співавт., які встановили, що додавання до питної води нітрату натрію зменшує ушкодження генетичного матеріалу та продукцію АФК підчас радіаційного опромінення. [115]

Вплив нітратів на організм також залежить від катіону. В роботах [111, 112, 113, 114, 115] у якості катіону нітратної солі був обраний  $\text{Na}^+$ . Якщо у якості катіону нітратної солі використати  $\text{Ag}^{2+}$ , то вплив екзогенних нітратів буде відрізнятися. А. Karlan та співавт. встановили, що нітрат срібла може зменшувати експресію генів-інгібіторів апоптозу та призводити до розвитку апоптозу в залежності від дози та часу експозиції. [116] Схожа ситуація спостерігається і при поєднанні нітрат-аніону та катіону  $\text{Pb}^{3+}$ . [117] Також цитотоксичну та проапоптичну дію мають нітратні солі уранілу ( $\text{UO}_2(\text{NO}_3)$  або  $\text{UO}_2(\text{NO}_3)\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). [118] А катіони  $\text{K}^+$  є безпечними при поєднанні із нітрат-аніонами. [119]

Розвиток апоптозу у тканинах також залежить від дози нітратів. Так великі дози (200 мг/л питної води) нітратів здатні посилювати апоптоз та оксидативно-нітрозативне ушкодження клітин. [120]

Органічні солі нітратів мають інші властивості, які залежать від органічного компоненту. Так 1,3-діоксиксантон-нітрат здатний активувати апоптоз та має протипухлинні властивості. [121] Еконазол нітрат здатен інгібувати фосфатидил-І3-фосфат кіназний каскад та призводити до розвитку апоптозу та зупинці клітинного циклу. [122] Мемантин нітрат, навпаки, має протилежну дію та здатен інгібувати апоптоз у клітинах. [123, 124]

Нікоранділ (2-нікотинамідоетил нітрат) має здатність зменшувати ліпополісахарид-індуковану продукцію АФК, інгібувати активацію NF- $\kappa$ B каскаду та MAPK-каскаду, має протиапоптичну дію. [125] Нікоранділ має здатність збільшувати перфузію тканин та знижувати вміст фактора, індукованого гіпоксією-1. [126] Нікоранділ захищає клітини від апоптозу шляхом активації Nrf2/гемоксигеназа-1 каскаду. [127, 128] Блокада нікоранділом NF- $\kappa$ B каскаду

призводить до зміни поляризації макрофагів з  $M_0$  на  $M_2$ . [129] Одним із протективних механізмів нікорандрілу є збільшення експресії гену ендотеліальної NOS та активація  $K^+_{ATФ}$  каналів. [130]

Отже, невеликі дози нітрату натрію та калію здатні перешкоджати розвитку апоптозу у клітинах під впливом різних інтоксикантів та іонізуючого випромінювання. Збільшення дози нітратів цих металів призводить до проапоптичного та цитотоксичного ефектів. Нітрати важких металів ( $Ag^{2+}$ ,  $Pb^{3+}$ ,  $UO_2^+$ ) мають цитостатичну та проапоптичну дію. Органічні нітрати мають детермінований органічною частиною вплив, у якій нітрат-аніон розглядаються як донор NO.

*1.2.1. Вплив надлишкового надходження нітратів на мітохондрії епітеліоцитів СОШ.* Неорганічні нітрати здатні покращувати функціонування мітохондрій, особливо у скелетних м'язах. [131] Проте за даними С.М.Ф. Монасо та співавт. нітрати не здатні змінювати мітохондріальне дихання, зчеплення окисного фосфорилування та синтезу АТФ або спорідненість кисню з цитохромами в ізольованих мітохондріях. Навпаки, нітрати мають здатність збільшувати продукцію мітохондріями  $H_2O_2$  за відсутності змін у клітинному антиоксидантному стані та зменшувати чутливість мітохондрій до АДФ. [132] Схожі результати були отримані в роботі J. Whitfield та співавт., де було показано, що нітрати отримані із соку буряку не здатні змінювати чутливість мітохондрій до АДФ, проте зменшують поглинання кисню організмом підчас фізичних навантажень. [133]

Роботам колективів J. Whitfield та співавт. та С.М.Ф. Монасо та співавт. дещо протирічить робота F.J. Larsen та співавт., де було показано, що нітрат натрію здатен не тільки зменшувати поглинання кисню організмом підчас фізичних навантажень, а й покращувати чутливість мітохондрій до АДФ та посилювати міцність спряження окисного фосфорилування та синтезу АТФ. [134] J. Whitfield та співавт. вказують, що різниця у результатах їх досліджень та досліджень F.J. Larsen та співавт. полягає у різному часі впливу нітратів на організм. У випадку тривалого впливу нітратів збільшується базовий рівень нітратів та нітритів у крові, що здатне викликати певну толерантність до їх ефектів. [133] На думку G.P.

Holloway нітрати впливають не безпосередньо на чутливість мітохондрій до АДФ, а сприяють біогенезу нових мітохондрій, що опосередковано збільшує сумарну чутливість мітохондрій тканини до АДФ. [135]

Причиною зменшення чутливості мітохондрій до АДФ, яка показана у роботі С.М.Ф. Монасо та співавт., може бути пероксинітрит-залежне нітрування аденіннуклеотидтранслокази та потенціал-залежного аніонного каналу 1 у мітохондріях. Так М. Yang та співавт. показали, що мітохондрії під впливом пероксинітриту або отримані із тканин, що зазнали ішемії-реперфузії здатні вивільняти цитохром с, що є наслідком нітрування аденіннуклеотид-транслокази та потенціал-залежного аніонного каналу 1. [136]

Джерелом пероксинітриту при нітратній інтоксикації можуть бути власне мітохондрії. В роботах С.М.Ф. Монасо та співавт. та G.P. Holloway показано, що в умовах надлишкового надходження нітратів до організму мітохондрії починають продукувати надмірну кількість АФК. [132, 135] Враховуючи той факт, що нітрати здатні редукуватись ферментативно та неферментативно до NO, маємо всі необхідні складові для утворення пероксинітриту в умовах надлишкового надходження нітратів до організму. [137, 138, 139, 140]

Варто зазначити, що нітрування потенціал-залежного аніонного каналу 1 в мітохондріях може бути зумовлене надлишковим вивільненням NO у мітохондріях. [141]

Органічні нітрати (нікоранділ) здатні знижувати активність НАДН-дегідрогенази та сукцинатдегідрогенази та покращувати зчеплення окисного фосфорилування та синтезу АТФ. [142]

Тривале надходження нітрату натрію здатне викликати циркуляторну гіпоксію та ускладнюватись тканинною гіпоксією, а також зменшує енергетичний метаболізм. [143]

Отже, нітрати в залежності від дози та тривалості введення в організм здатні або покращувати спряженість окисного фосфорилування та синтезу АТФ (невеликі дози, короткочасний вплив), або навпаки роз'єднувати процеси окисного фосфорилування та синтезу АТФ (великі дози, тривалий вплив).

1.2.3. Вплив нітрат-іонів на ендоплазматичний ретикулум, рибосоми та метаболізм протеїнів в епітеліоцитах COII. Нітрати безпосередньо не здатні впливати на деградацію та синтез білків, проте відновлення нітратів до нітритів може спричинити посилення процесів аутофагії та мітофагії. [144, 145, 146]

Неорганічні нітрати безпосередньо також не впливають на ендоплазматичний ретикулум, проте відновлення нітратів до нітритів призводить до попередження розвитку СЕР спричиненого недостатністю глюкози та кисню. [147] Органічні нітрати (нікоранділ) мають здатність безпосередньо запобігати розвитку СЕР. [148]

Враховуючи, що нітрати можуть бути джерелом NO, слід відзначити можливість NO-опосередкованого впливу нітратів на деградацію білків шляхом аутофагії. За даними L. Jin та співавт. NO здатен інгібувати аутофагію та призводити до розвитку апоптозу. [149, 150] Дані, отримані L.P. Bharath та співавт. вказують на те, що джерело продукції NO має значення щодо ефекту NO на процеси аутофагії. [151] У випадку продукції NO індукційною NOS аутофагія інгібується, а апоптоз посилюється. [149] Якщо ж донором NO є нітропрурид натрію ( $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$ ), то аутофагія посилюється, а процеси апоптозу інгібуються. [151] Деякі органічні донори NO також мають здатність активувати аутофагію. [152]

Одночасна дія великих концентрацій NO та АФК може пригнічувати аутофагію та викликати загибель клітин. [153] Проте якщо джерелом NO є ендотеліальна ізоформа синтази оксиду азоту (eNOS), то навіть в умовах надмірної продукції АФК, активність аутофагії буде збільшуватись. [154, 155, 156]

Надлишкова кількість NO, що вивільниться від редукції нітратів в організмі може спричинити S-нітрозилювання редокс-чутливих молекул цистеїну у білках. Так I. Tegeder, підсумувавши вплив надлишкової кількості NO на клітини організму, вказує на можливе S-нітрозилювання убіквінтин-2 лігази та зменшення протеосомної деградації білків. [157] Надлишкова кількість NO може також S-нітрозилювати білки-шаперони та перешкоджати аутофагії. [158]

Оксид азоту у невеликих кількостях здатен знижувати інтенсивність та

попереджати розвитку СЕР шляхом активації розчинної гуанілатцилази та збільшення внутрішньоклітинного вмісту цГМФ. [159, 160] З іншого боку, розвиток СЕР здатен зменшувати NOS-залежну продукцію оксиду азоту, тому нітрати, після відновлення до нітритів або NO можуть сприяти зменшенню інтенсивності СЕР. [159, 161]

Незважаючи на відсутність доведеного за даними літератури прямого впливу нітратів на синтез та деградацію білків, або розвиток СЕР, відновлення нітрат редуктазами нітратів до нітритів, та наступне відновлення останніх нітритредуктазами до NO призводить до зниження інтенсивності СЕР та зменшення протеосомної деградації білків та запобігають розвитку аутофагії. Також можливе S-нітрозилювання редокс-чутливих молекул цистеїну у білках із послідовним зниженням їх активності.

*1.2.4. Вплив нітрат-іонів на імунокомпетентні клітини в СОШ.* Нітрати здатні збільшувати продукцію протизапального цитокіну ІЛ-10 та зменшувати залучення нейтрофільних лейкоцитів до ушкодження тканин при гострому та хронічному запаленні. [162] Також у науковій літературі є свідчення про те, що неорганічні нітрати мають виражений протизапальний ефект в умовах метаболічного синдрому та ожиріння. [163, 164]

Органічні нітрати, наприклад, нікоранділ та гліцерилтринітрат, здатні змінювати поляризацію макрофагів, сприяючи утворенню в тканинах пулу протизапальних M<sub>2</sub> макрофагів. [165, 166]

Механізмом, що лежить в основі впливу органічних та неорганічних нітратів на запалення та поляризацію макрофагів є збільшення локального пулу оксиду азоту.

Поляризація макрофагів по M<sub>1</sub> фенотипу потребує активації фосфоінозитол-3-кінази та NO-залежної активації гуанілатциклази. [167, 168, 169] Також важливу роль відіграє джерело, за рахунок якого збільшується локальний пул оксиду азоту. Так у випадку збільшення продукції оксиду азоту від iNOS поляризація макрофагів проходить за M<sub>1</sub> фенотипом. У випадку надходження оксиду азоту від донорів оксиду азоту, наприклад, від S-Нітрозо-N-ацетил-DL-пеніцилінаміну (SNAP),

поляризація макрофагів за  $M_1$  фенотипом навпаки інгібується та посилюється за  $M_2$  фенотипом. [169]

Нітрати, після їх відновлення до нітритів, здатні зменшувати швидкість еміграції нейтрофільних лейкоцитів у вогнище ушкодження. [170, 171]

За даними I.V. Ustyugova та співавт. встановили, що нітрати здатні знижувати продукцію цитокінів, що пов'язані із Т-хелперами 1 типу (Th-1), та зміщувати баланс тимус-залежних лімфоцитів у бік переважання Т-хелперів 2 типу (Th-2). При цьому нітрати не здатні впливати на проліферацію лімфоцитів та фібробластів. [172]

Нітрування поверхневих маркерів Т-хелперів здатне впливати на імунологічну толерантність організму. Так нітрування поверхневих маркерів Т-хелперів здатні зменшувати імунологічну толерантність до епідермального фактору росту-2. [173]

Відновлення нітратів до оксиду азоту може впливати на активацію Т-лімфоцитів шляхом S-нітрозилювання білків. [174] Оксид азоту також здатен інгібувати цикл трикарбонових кислот та кисень-залежне розщеплення глюкози у дендритних клітинах, переводячи їх на стабільне безкисневе розщеплення глюкози з утворенням лактату. [175]

Тривалий вплив на дендритні клітини донорів оксиду азоту зменшує чутливість цих клітин до бактеріального ліпополісахариду та стимулює диференціацію Т-лімфоцитів в Т-хелпери-17 через гіперпродукцію ІЛ-1 $\beta$  дендритними клітинами та ІЛ-17 Т-клітинами. [176]

Тривалий вплив донатора оксиду азоту зменшує проліферативну активність нормальних та пухлинних Т-лімфоцитів, антипроліферативна активність екзогенного оксиду азоту стосовно Т-лімфоцитів посилюється у присутності донаторів сульфіді гідрогену. [177]

Вживання соків коренеплодів (буряку, моркви), що багаті на нітрати є ефективним засобом, що зменшує проліферацію лімфоцитів при хронічному лімфоцитарному лейкозі. [178]

Нікоранділ здатен стимулювати поляризацію макрофагів по  $M_2$  фенотипу за

рахунок інгібування каскаду з активації частини А генетичної сім'ї Ras-гомологів/кіназа генетичної сім'ї Ras-гомологів (RhoA/Rho-kinase). [179]

Отже, нітрати здатні зменшувати поляризацію макрофагів СОШ по M<sub>1</sub> фенотипу, сприяти їх поляризації по M<sub>2</sub> фенотипу, зменшувати проліферацію лімфоцитів та еміграцію нейтрофільних лейкоцитів до СОШ. Варто зазначити, що більшість ефектів нітратів на імунокомпетентні клітини реалізується через NO, який утворюється після редукції нітратів нітрат-нітрит редуктазним шляхом.

*1.2.5. Нітрат-індуковані зміни в елементах сполучної тканини СОШ.* Нітратні солі важких металів (белірійум, срібло) здатні інгібувати міграцію та проліферацію фібробластів, а нітрат срібла додатково викликає апоптичні зміни. [180, 181] Органічні нітрати (нікоранділ), також, здатні зменшувати швидкість поділу фібробластів. [179, 182]. З іншого боку, нітрат кобальта збільшує проліферацію фібробластів та покращує загоєння ран при нанесенні його на рану у вигляді волокон, синтезованих методом електроспінінгу. [183]

Динітратно-барбітуратна сіль здатна інгібувати активність MMP-9 та зменшувати розщеплення колагенових волокон. Причому додавання динітратної частини до барбітурової основи значно посилює інгібуючий ефект останньої за рахунок вивільнення великої кількості NO. [184]

Нітрит натрію здатен знижувати експресію матриксної металопротеїнази – 2 (MMP-2) при пероральному застосуванні в діапазоні доз від 1 мг/кг до 15 мг/кг. За даними E. Rizzi та співавт. дані ефекти опосередковані нітрит-редуючим ферментом ксантинооксидазою (ХО), тобто є NO-опосередкованими. [185] У той же час за даними С.А. Meschiari та співавт. нітрит натрію здатен знижувати активність і MMP-9, проте цей його ефект є NO-незалежним. [186] Оксид азоту навпаки здатен збільшувати експресію генів MMP-9, а при поглинанні оксиду азоту «перехоплювачами» (англ. scavenger) експресія MMP-9 знижується. [187]

Зупинка клітинного поділу фібробластів під впливом органічних та неорганічних нітратів пов'язана із надмірним надходженням до клітини NO, який у великих концентраціях незалежно від джерела походження здатен стимулювати продукцію АФК та викликати загибель клітин Через АТМ/АФК/iNOS каскад. [188]



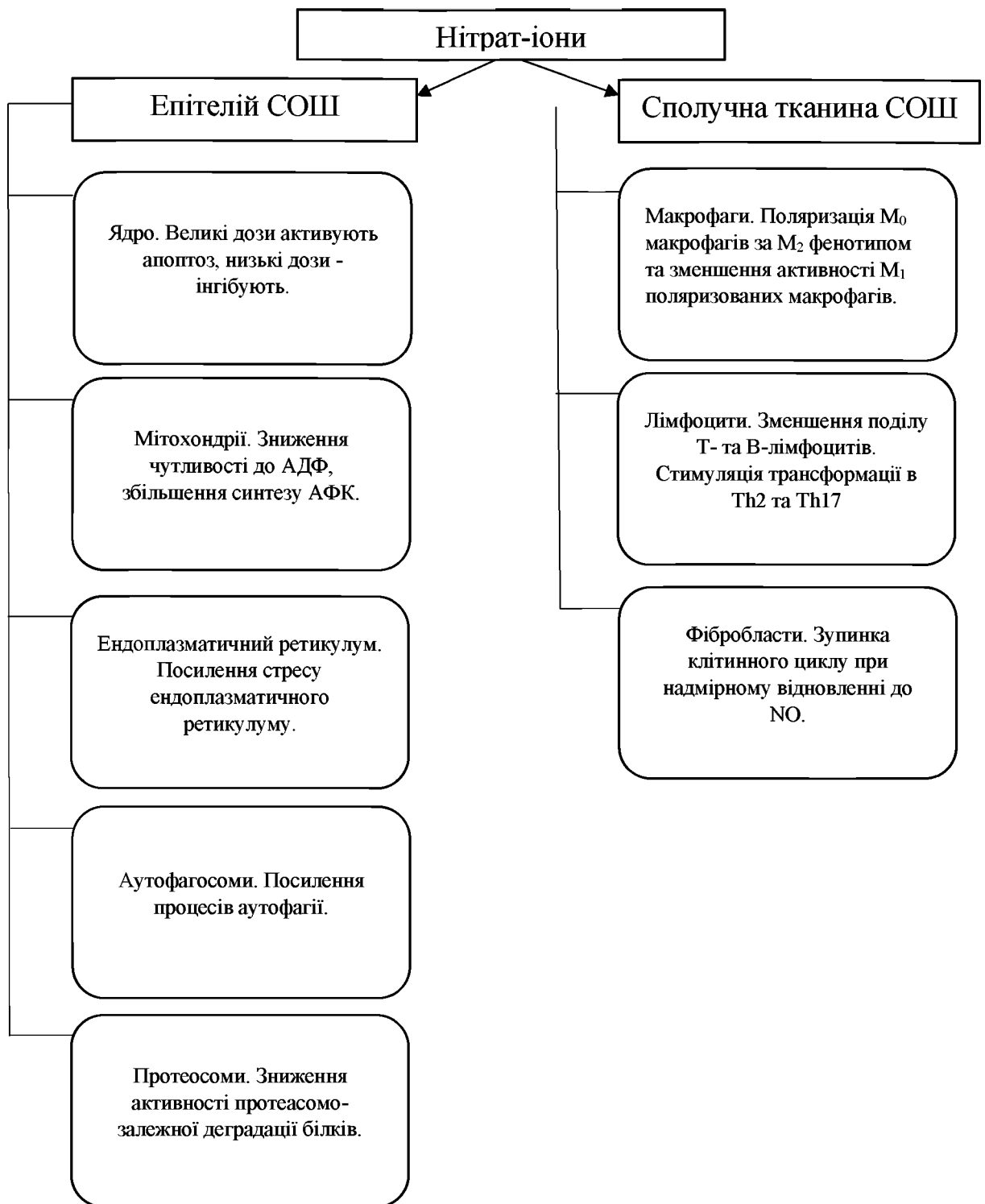


Рис. 1.2. Вплив нітратів на СОШ

За даними Bagheri M. та співавт. даний каскад ініціюється NO-залежним пошкодженням ДНК, що призводить до посилення продукції АФК і утворення пероксинітрита, які активують iNOS, яка, у свою чергу, ще більше посилює продукцію NO, чим замикається «порочне коло» NO-залежної зупинки клітинного циклу. [188]

Отже, надмірне надходження нітратів до організму може зменшити швидкість проліферації фібробластів за рахунок надмірної продукції NO нітрат-нітрит редуказним шляхом, одночасно із цим нітрати здатні зменшувати активність металопротеїназ 2 та 9, чим зменшують ензим-контрольовану деградацію колагену.

Схематичний підсумок впливу нітратів на СОШ представлений на Рис. 1.2.

Нітрати здатні викликати NO-залежне ушкодження ДНК, що призводить до зупинки клітинного циклу та активації апоптозу; викликати енергодефіцит в клітинах за рахунок впливу на мітохондріальні процеси синтезу АТФ; знижувати протеосомну деградацію білків та посилювати аутофагію; сприяти поляризації макрофагів по M<sub>2</sub> фенотипу; збільшувати продукцію АФК та викликати загибель клітин; нітрати інгібують MMP-2 та MMP-9 чим здатні перешкоджати протеолізу волокнистих елементів сполучної тканини СОШ.

Забруднення фторидами ґрунтів, підземних вод та річок є глобальною проблемою. Велике забруднення ґрунтів та питної води сполуками фтору спостерігається в Китайській народній республіці [189, 190, 191, 192], Мексиці [193], США [194, 195], країнах Європи [196, 197] та Україні [11, 12].

Схожа ситуація спостерігається також із надлишковим вмістом нітратів у питній воді, ґрунтових водах та ґрунті. [198, 199, 200, 201, 202, 203] Тому із питною водою та продуктами харчування можливе надмірне поєднане надходження нітратів та фторидів. В науковій літературі наведена обмежена інформація про поєднаний вплив нітратів та фторидів на організм.

Враховуючи можливий окремий вплив нітратів та фторидів на СОШ (рис. 1.1 та 1.2) можна припустити наявність як антагоністичної, так і синергічної взаємодії двох природних забруднювачів.

Синергічна взаємодія фторидів та нітратів можлива щодо продукції АФК [43, 52, 53, 55, 132, 135], активації процесів апоптозу (за умов великих доз нітратів) [44, 45, 46, 120] та активації аутофагії в епітелії СОШ [58, 59, 151, 152]. Антагоністична дія нітратів та фторидів може проявитись у впливі на імунокомпетентні клітини, зокрема макрофаги можуть зазнавати різної поляризації при впливі нітратів (M<sub>2</sub>)

[163, 164, 170, 171] та фторидів ( $M_1$ ) [78, 79, 80].

### **1.3. Патогенетичне обґрунтування використання ентеросорбентів для корекції метаболічних змін в СОШ за умов надлишкового надходження нітратів та фторидів**

Враховуючи, що найбільш частим джерелом надходження нітратів та фторидів, і їх поєднання до організму в умовах забруднення ними води та ґрунтів є продукти харчування та питна вода, доцільним є використання сорбентів для поглинання та безпечного виведення надлишкових кількостей нітратів та фторидів із шлунково-кишкового тракту. [204, 205]

Для поглинання надлишкових нітратів із водного середовища можна застосовувати активоване вугілля. Проте воно погано поглинає іонізовані нітрати та потребує наявності на своїй поверхні точкових крапель азоту (N) для збільшення своєї ефективності. [206]

Інша ситуація спостерігається у випадку використання вугілля, отриманого шляхом піролізу із рослинної сировини. Так за даними Н. Zhao та співавт. вугілля отримане із залишків аграрних культур має різну здатність до поглинання нітратів, яка залежить від температури піролізу, з оптимальною температурою в 600 °C. [207]

Перспективним сорбентом для очищення від нітратного забруднення є нанодисперсний кремнезем. [208, 209] Нанодисперсний кремнезем проявляє токсичність лише у дуже великих концентраціях та стосовно лише певних клітинних ліній. [210]

Активоване вугілля та вугілля, отримане шляхом піролізу рослинних речовин, є ефективними засобами для поглинання надлишкового вмісту фторидів у водних середовищах та можуть бути застосовані в шлунково-кишковому тракті. [211, 212, 213, 214, 215, 216]

Нанодисперсний оксид кремнію (або нанодисперсний кремнезем) здатен поглинати фториди (досліджено на прикладі фториду натрію) із водного середовища. [209, 217]

Окрім здатності ентеросорбентів фізично поглинати нітрати та фториди із

водних розчинів, важливою властивістю даних речовин є ступінь їх токсичності та безпечності їх використання тривалий час. Нанодисперсний оксид кремнію при його пероральному введенні тваринам (щуром) в дозі 975,9 мг/кг ваги тварини щоденно протягом 13 тижнів не ушкоджує епітелій шлунково-кишкового тракту, не всмоктується в кров (не виявлено наночастинок оксиду кремнію у всіх життєвоважливих органах та крові), не впливає на метаболічний стан внутрішніх органів та переважно екскретується із фекальними масами. [218]

Активоване вугілля та сорбційні препарати на його основі широко використовуються в медицині для лікування інтоксикацій різного генезу. [219] Також доведена їх безпечність при тривалому пероральному використанні в дозі до 4 г/кг протягом 6 тижнів. [220] Використання 5% активованого вугілля в якості харчової добавки, що складає 3-4 г/кг щоденно, до раціону щурів лінії «Ганна» (англ. Gunn), які щойно перейшли із материнського молока на стандартний харчовий раціон, протягом 8 тижнів не вплинуло на їх ріст та розвиток та знизило вміст білірубіну в крові. [221]

Внутрішньошлункове введення лігніну гідролізного у якості ентеросорбента протягом 30 днів у дозах: 50 мг/кг, 100 мг/кг та 500 мг/кг не викликає патологічних змін в шлунково-кишковому тракті та не впливає на функціональний стан цитохрому P450 печінки. [222]

Отже, використання таких сорбентів як активоване вугілля, вугілля, отримане шляхом піролізу рослинних речовин та нанодисперсний оксид кремнію є безпечним та ефективним засобом для видалення надмірної кількості нітратів та фторидів із шлунково-кишкового тракту.

Матеріали розділу відображені у 2 статтях. [204, 205]

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Загальна характеристика матеріалів та методів дослідження.

Експерименти виконані на 90 білих щурах обох статей лінії «Вістар» масою 185-240 г.

Тварин утримували в умовах акредитованого віварію згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)». При роботі з тваринами дотримувалися вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 20.09.1985 р.), основних правил належної лабораторної практики GLP (1981), закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження». Проведені дослідження відповідають етичним та морально-правовим вимогам згідно з наказом МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. Комісією з питань біоетики Української медичної стоматологічної академії (протокол № 175 від 26.09.2019 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Експериментальні тварини були рандомізовано розподілені на 7 груп:

- Перша група – тварини, яким щоденно внутрішньошлунково протягом 30 діб вводили 0,9% розчин (маса/об'єм) хлориду натрію (контрольна група, n=10);

- Друга група – тварини, яким щоденно внутрішньошлунково протягом 30 діб вводили водний розчин фториду натрію в дозі 10 мг/кг (група хронічної фторидної інтоксикації, n=13); [223]

- Третя група – тварини, яким щоденно внутрішньошлунково протягом 30 діб вводили водний розчин нітрату натрію в дозі 500 мг/кг (група хронічної нітратної інтоксикації, n=14); [224]

- Четверта група – тварини, яким щоденно внутрішньошлунково протягом 30 діб вводили водний розчин нітрату натрію в дозі 500 мг/кг та фториду натрію в дозі 10 мг/кг (група хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації, n=15; Група

XIII);

- П'ята група – щури, які на фоні моделювання хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації отримували внутрішньошлунково водну суспензію нанодисперсного оксиду кремнію (5% маса/об'єм нанодисперсного оксиду кремнію та 0,5% об'єм/об'єм поліетиленоксиду-400) із розрахунку 100 мг/кг діючої речовини (n=10; Група nSil); [209]

- Шоста група – щури, які на фоні моделювання хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації отримували водну суспензію сорбенту на основі активованого вугілля «Карболайн» (5% маса/об'єм «Карболайн» та 0,5% об'єм/об'єм поліетиленоксиду-400) із розрахунку 100 мг/кг діючої речовини (n=13; Група Carb);

- Сьома група – щури, які на фоні моделювання хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації отримували водну суспензію лігніну гідролізного, отриманого шляхом гідролізу модрини (5% маса/об'єм лігніну гідролізного та 0,5% об'єм/об'єм поліетиленоксиду-400) із розрахунку 100 мг/кг діючої речовини (n=15; Група Lig).

Тварини виводились із експерименту під тіопенталовим наркозом (100 мг/кг внутрішньоочеревинно) шляхом забору крові із правого шлуночка серця. [225] Тварин за 24 години до виведення із експерименту не годували. Перед вилученням шлунку для подальших досліджень на стравохід та пілоричний відділ шлунку накладались затискачі. Далі шлунок видалявся. Далі шлунок розрізався по великій кривизні. Слизова оболонка шлунку промивалась охолодженим до 10 °C 0,9% розчином хлориду натрію, після чого слизова оболонка відділялась шляхом вискоблювання скальпелем для подальших досліджень. [226]

## **2.2. Моделювання хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації.**

Перед початком моделювання інтоксикації тварини зважувались на терезах та маркувались 3% маса/об'єм водним розчином метиленового синього. За наступною схемою: голова (№1 у підгрупі), спина (2), живіт (3), лівий бік (4), правий бік (5). Контрольні тварини також проходили маркування. Зважування повторювалось раз на тиждень протягом усього періоду експерименту.

Для моделювання хронічної фторидної інтоксикації тваринам через зонд внутрішньошлунково вводили водний розчин фториду натрію (концентрація 10 мг/мл) із розрахунку 10 мг/кг. Розчин готувався безпосередньо перед використанням. Моделювали інтоксикацію протягом 30 діб. Розчин вводили за 1 год до годування.

Для моделювання хронічної нітратної інтоксикації тваринам через зонд внутрішньошлунково вводили водний розчин нітрату натрію (концентрація 500 мг/мл) із розрахунку 500 мг/кг. Розчин готувався безпосередньо перед використанням. Моделювали інтоксикацію протягом 30 діб.

З метою моделювання хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації тваринам через зонд внутрішньошлунково вводили водний розчин нітрату натрію (концентрація 500 мг/мл) із розрахунку 500 мг/кг після чого одразу ж вводили водний розчин фториду натрію (концентрація 10 мг/мл) із розрахунку 10 мг/кг. Розчини готувались безпосередньо перед використанням. Моделювали інтоксикацію протягом 30 діб.

### **2.3. Приготування та введення суспензій сорбентів.**

Суспензія нанодисперсного оксиду кремнію (nSil) готувалась із порошку нанодисперсного оксиду кремнію (розмір часток 25-45 нм) фірми PlasmaChem GmbH (Германія) шляхом розведення порошку у 0,5% об'єм/об'єм водному розчині поліетиленоксиду-400 до утворення 5% маса/об'єм суспензії. Перед використанням проводилось ресуспендування протягом 5 хв. Суспензія вводилась із розрахунку 100 мг/кг діючої речовини через зонд одразу після моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації. [209]

Суспензія сорбенту на основі активованого вугілля (Carb) готувалась за аналогічним методом із використанням поліетиленоксиду-400 до утворення 5% маса/об'єм суспензії. Суспензію готували із гранул препарату «Карболайн», який був розроблений в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України. [227] Суспензія Carb вводилась із розрахунку 100 мг/кг діючої речовини через зонд одразу після моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації.

Суспензія лігніну гідролізного (Lig) готувалась із препарату «Поліфепан» із, який був розроблений Іркутським інститутом хімії ім. А.Е. Фаворського СО РАН, використовуючи поліетиленоксид-400 до утворення 5% маса/об'єм суспензії. Суспензія Lig вводилась із розрахунку 100 мг/кг діючої речовини через зонд одразу після моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації.

#### **2.4. Біохімічні методи дослідження.**

Після виділення СОШ вона зважувалась, гомогенізувалась та розчинялась до утворення 10% гомогенату у 0,2 М буферному розчині, до складу якого входить Трис (2-аміно-2-гідроксиметил-пропан-1,3-діол) та HCl, із рН=7,4. Всі подальші біохімічні дослідження проводились із використанням одержаного 10% гомогенату СОШ.

##### **2.4.1. Оцінка функціональних змін в циклі оксиду азоту.**

*Визначення активності NOS та вмісту нітритів.* Активність NOS визначали за приростом вмісту нітритів після 30 хв інкубації 0,2 мл 10% гомогенату у 2,4 мл 0,2 М Трис-буферного середовища, яке містить 0,1 мл 1 мМ розчину НАДФН<sub>2</sub> та 0,3 мл 320 мМ водного розчину L-аргініну.

Вміст нітритів визначали спектрофотометрично на спектрофотометрі Ulab 101 на довжині хвилі 530 нм по вмісту діазосполук, які утворюються в реакції нітритів із реактивом Грісса-Ілосвая (рівна за об'ємом суміш 0,1% маса/об'єм водного розчину  $\alpha$ -нафтиламіну та 1% маса/об'єм розчину сульфанілової кислоти у 5% об'єм/об'єм водному розчині ортофосфорної кислоти).

*Визначення активності аргіназ.* Активність аргіназ визначали модифікованим методом, що описаний Храмовим В.А. [27, 228] Для оцінки активності аргіназ визначали приріст концентрації L-орнітину після 20 годинної інкубації 0,1 мл 10% гомогенату у 0,5 мл 0,2 М фосфатного буферного розчину з рН=7,0, що містить 0,2 мл 0,024 М розчину L-аргініну. Концентрацію L-орнітину визначали за вмістом кольорового продукту, який утворюється при реакції L-орнітину із нінгідриновим реактивом (2,5 г нінгідрину розчиняють у кислотній суміші, яка складається із 2 частин 60% об'єм/об'єм ортофосфорної кислоти та 3 частин льодоцтової кислоти в співвідношенні 6 до 4 із водою) на довжині хвилі 515



нм.

*Визначення загальної активності нітрат- та нітритредуктаз.* Активність нітрат- та нітритредуктаз визначали модифікованим методом Храмова В.А. [28, 229] Для оцінки загальної активності нітратредуктаз визначали зменшення концентрації нітратних аніонів після інкубації 0,1 мл 10% гомогенату у 0,2 М фосфатній буферній суміші, яка містить 0,1 мл 0,1% маса/об'єм водного розчину НАДН<sub>2</sub> та 0,1 мл 10 мкМ розчину нітрату натрію. Оцінка загальної активності нітритредуктаз проводилась шляхом визначення зменшення концентрації нітритних аніонів після інкубації 0,1 мл 10% гомогенату у 0,2 М фосфатній буферній суміші, яка містить 0,1 мл 0,1% маса/об'єм водного розчину НАДН<sub>2</sub> та 0,1 мл 10 мкМ розчину нітриту натрію.

Концентрацію нітритів визначали спектрофотометрично на довжині хвилі 530 нм із використанням реактиву Грісса-Ілосвая. Вміст нітратів визначали після попереднього відновлення нітратів до нітритів за допомогою 0,14% маса/об'єм водного розчину гідразину сульфату.

*Визначення вмісту та продукції пероксинітриту лужних та лужно-земельних металів.* Вміст та продукцію пероксинітриту лужних та лужно-земельних металів визначали згідно з методикою описаною Шрайбманом та співавт. [29, 230] Вміст пероксинітриту лужних та лужно-земельних металів (ONOO<sup>-</sup>) визначали спектрофотометрично на довжині хвилі 355 нм за вмістом I<sub>3</sub><sup>-</sup> утвореним в реакції ONOO<sup>-</sup> з KI у 0,2 М фосфатному буферному розчині. Для оцінки внеску мітохондріального ЕТЛ в продукцію ONOO<sup>-</sup> використовувався індуктор у вигляді 0.05 мл 3% маса/об'єм водного розчину НАДН<sub>2</sub>. Внесок мікросомального ЕТЛ оцінювали по приросту концентрації ONOO<sup>-</sup> під впливом індуктора у вигляді 0.05 мл 3% маса/об'єм водного розчину НАДФН<sub>2</sub>.

*Визначення активності орнітиндекарбоксилази (ОрДК).* Активність ОрДК оцінювали по зменшенню концентрації L-орнітину в інкубаційному середовищі за методом, запропонованим Храмов В.А. [231] Визначення концентрації L-орнітину за вказаним методом проводилось на довжині хвилі 490 нм.

#### **2.4.2. Визначення показників прооксидантно-антиоксидантного балансу та процесів ПОЛ.**

*Визначення продукції супероксидного аніон-радикалу.* Продукцію супероксидного аніон-радикалу ( $O_2^{\cdot-}$ ) визначали за приростом концентрації диформазану, який утворюється в реакції  $O_2^{\cdot-}$  із тетразолієм нітросинім. [232] Концентрацію диформазану визначали спектрофотометрично на довжині хвилі 540 нм. Для оцінки внеску мітохондріального ЕТЛ в продукцію  $O_2^{\cdot-}$  використовувався індуктор у вигляді 0.05 мл 3% маса/об'єм водного розчину НАДН<sub>2</sub>. Внесок мікросомального ЕТЛ оцінювали по приросту концентрації  $O_2^{\cdot-}$  під впливом індуктора у вигляді 0.05 мл 3% маса/об'єм водного розчину НАДФН<sub>2</sub>. Для оцінки внеску в продукцію  $O_2^{\cdot-}$  фагоцитів СОШ використовували індуктор у вигляді 0,1 мл бактеріального поліліпосахариду *Salmonella thyphi* (Пірогенал, Медгамал, Росія).

*Визначення активності супероксиддисмутази.* Визначення активності супероксиддисмутази (СОД) у СОШ проводили згідно методичних рекомендацій. [233] Принцип методу полягає в тому, що аутоокиснення адреналіну у лужному середовищі (рН=10 та вище) супроводжується вивільненням  $O_2^{\cdot-}$ , який посилює подальше аутоокиснення. СОД перехоплює  $O_2^{\cdot-}$  та інгібує аутоокиснення адреналіну. За різницею швидкості реакції без додавання 10% гомогенату та з його додаванням обчислюють активність ферменту в умовних одиницях. Дослідження проводилось на довжині хвилі 405 нм.

*Визначення активності каталази.* Про активність каталази (КАТ) судили по швидкості розщеплення перекису водню в середовищі, що містить гомогенат СОШ. Вміст  $H_2O_2$  визначали спектрофотометрично на довжині хвилі 405 нм по вмісту кольорового продукту, який утворюється в реакції  $H_2O_2$  із молібдатом амонію. [234]

*Визначення вмісту ТБК-реактивів.* Вміст вторинних продуктів ПОЛ у СОШ оцінювали за утворенням у реакції 2-тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-реактивними продуктами забарвленого триметінового комплексу до і після 1,5-годинної інкубації у прооксидантному феррум-аскорбатному буферному розчині.

Інтегральний показник антиоксидантного потенціалу СОШ оцінювали за приростом концентрації ТБК-реактивів за час півторагодинної інкубації 10% гомогенату СОШ у феррум-аскорбатному буферному розчині. Концентрацію ТБК-реактивів до та після інкубації визначали спектрофотометрично на довжині хвилі 540 нм. [233]

*Визначення вмісту гідропероксидів ліпідів біологічних мембран.* Вміст первинних продуктів ПОЛ в СОШ оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК), октадієнових кон'югатів (ОДК) та трієнових кон'югатів (ТК). Метод полягає у екстракції різних кон'югатів із використанням суміші гептан-ізопропанол, з подальшим визначенням поглинання в ультрафіолетовому спектрі. Визначення поглинання (адсорбції) проводилось на спектрофотометрі СФ 26. ДК визначались на довжині хвилі 232 нм, ОДК – 276 нм, ТК – 268 нм. [233]

*Визначення вмісту окисномодифікованих білків.* Вміст окисномодифікованих білків (ОМБ) визначали за методом Дубініної Е.Е. [235], який полягає спектрофотометричному визначенні карбонільних груп, які утворюються при взаємодії активних форм кисню із залишками амінокислот з використанням 2,4-динітрофенілгідразину на довжині хвилі 405 нм.

#### **2.4.3. Оцінка метаболічних змін в сполучній тканині в СОШ.**

*Визначення вмісту L-оксипроліну.* Вміст вільного L-оксипроліну в СОШ визначали за методом Тетянець С.С. [236], який полягає у визначенні вмісту кольорового продукту, який утворюється в реакції реактиву Ерліха (розчин 2 г парадиметиламінобензальдегіду / на 3 мл соляної кислоти та 13 мл пропанолу-2) з пірол-2-карбоною кислотою, утвореною при окисненні L-оксипроліну 7% маса/об'єм розчином хлораміну. Визначення кольорового продукту проводилось на довжині хвилі 540 нм.

*Визначення загального вмісту глікозаміногліканів.* Загальний вміст глікозаміногліканів (ГАГ) визначали за методом Шараєва П.Н. [237], який полягає у визначенні вмісту гексуранових кислот по вмісту кольорового продукту, який утворюється в реакції гексуранової кислоти та карбазолу, після попереднього гідролізу ГАГ сульфатною кислотою. Вміст гексуранових кислот визначали

спектрофотометрично на довжині хвилі 540 нм.

*Визначення вмісту гепарин-гепарансульфатної фракції ГАГ, дерматан-кератанової фракції ГАГ, хондроїтин-сульфатної фракції ГАГ.* Для визначення вмісту окремих фракцій ГАГ в СОШ на першому етапі використовували метод диференційної преципітації, який був запропонований Volpi N. [238] У якості розчинника для преципітації використовувався спирт пропіловий нормальний (пропанол-1). Для преципітації гепарин-гепарансульфатної фракції ГАГ використовувався 30% об'єм/об'єм пропанол та інкубація при  $t=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 1 години. Для преципітації дерматан-кератанової фракції ГАГ використовувався 50% об'єм/об'єм пропанол та інкубація при  $t=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 1 години. Для преципітації хондроїтин-сульфатної фракції ГАГ використовувався 85% об'єм/об'єм пропанол та інкубація при  $t=37\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 1 години. На другому етапі проводилось визначення вмісту ГАГ за гексуроновими кислотами. [237]

**2.4.4. Визначення вмісту загального білка в гомогенаті СОШ.** Визначення білку проводилось із використанням біуретового реактиву згідно методичних рекомендацій. [239] Вміст білка визначався за допомогою калібрувального графіка після визначення оптичної густини на довжині хвилі 540 нм

## **2.5. Статистична обробка результатів експерименту.**

Отримані результати піддавались статистичній обробці згідно рекомендацій. [240] Спочатку отримані дані в серіях досліджень піддавались тесту Шапіро-Вілка на нормальність розподілу ознак. У випадку, коли розподіл ознаки, за даними теста Шапіро-Вілка, відповідав Гаусовській дисперсії (нормальний розподіл), використовувався t-тест за методом Стьюдента для визначення статистичної значущості різниці між показниками окремих серій. У випадку коли розподіл ознаки відрізнявся від нормального, використовувався метод Манна-Уїтні.

Після визначення різниці між показниками за серіями дослідів проводився додатковий розподіл тварин на підгрупи: самці та самочки. Для кожної підгрупи проводився тест Шапіро-Вілка з подальшим визначенням статистичної значущості різниці між показниками підгруп за тестами Стьюдента або Манна-Уїтні.

З метою уникнення статистичної помилки та отримання помилково

позитивних результатів через феномен множинних порівнянь застосовувалась корекція  $\alpha$ -помилки за методом Бонфероні.

Статистична обробка проводилась із використанням пакету програм Microsoft Office Excel та розширення Real Statistics.

Матеріали розділу відображені у 3 патентах. [27, 28, 29]

## РОЗДІЛ 3

**ВПЛИВ ПОЄДНАНОГО НАДЛИШКОВОГО НАДХОДЖЕННЯ НІТРАТУ  
ТА ФТОРИДУ НАТРІЮ НА МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ В СЛИЗОВІЙ  
ОБОЛОНЦІ ШЛУНКА ЩУРІВ**

**3.1. Вплив хронічного надлишкового надходження нітрату натрію на метаболічні зміни в СОШ щурів**

Хронічне надходження нітрату натрію до організму щурів знижує продукцію оксиду азоту (NO) L-аргінін залежним шляхом, про що свідчить зниження активності NOS на 35,02% при порівнянні із контрольною групою (таблиця 3.1.1.).

*Таблиця 3.1.1*

Активність NO-синтаз, нітрат- нітритредуктаз та вміст нітритів в СОШ щурів за умов хронічної нітратної інтоксикації (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної нітратної інтоксикації, n=14		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=9)	♂+♀ (n=14)
Активність NOS, мкмоль/хв на г білку	6,51 ±0,61	6,51 ±0,61	6,51 ±0,41	3,56 ±0,69	4,59 ±0,39	4,23 ±0,36*
Активність нітритредуктаз, мкмоль/хв на г білку	4,89 ±1,01	3,75 ±0,96	4,31 ±0,69	6,96 ±3,03	8,57 ±1,62	7,99 ±1,45*
Активність нітратредуктаз, мкмоль/хв на г білку	7,04 ±0,89	4,09 ±1,07	5,98 ±0,74	9,97 ±1,65	10,85 ±1,47	10,54 ±1,08*
Вміст нітритів нмоль/г	11,56 ±0,77	11,56 ±0,77	11,56 ±0,51	9,27 ±0,78	9,23 ±0,58	9,25 ±0,44*

Примітка: \* - різниця є статистично значущою (P<0,05) при порівнянні з контрольною групою в таблицях 3.1.1 – 3.1.9

Активність нітритредуктаз збільшується на 85,38%. Вміст нітритів зменшується на 19,98%. Активність нітратредуктаз зростає на 72,25%. [241, 242]

Статистично значущих відмінностей у показниках між щурами самками та самцями в межах однієї дослідної групи виявлено не було. Стать досліджуваних тварин не впливає на продукцію оксиду азоту NO-синтазним та нітрат-нітрит редуказним шляхами за умов 30-денного введення 0,9% розчину хлориду натрію та при надлишковому надходженні нітратів.

В умовах хронічної нітратної інтоксикації зростає активність аргіназ на 82,13% (таблиця 3.1.2).

Таблиця 3.1.2

Активність аргіназ та орнітиндекарбоксилази у СОШ щурів в умовах надлишкового надходження нітрату натрію ( $M \pm m$ )

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної нітратної інтоксикації, n=14		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=9)	♂+♀ (n=14)
Активність аргіназ, мкмоль/хв на г білку	2,04 ±0,09	2,11 ±0,15	2,07 ±0,08	3,32 ±0,48	4,03 ±0,52	3,77 ±0,37*
Активність ОрДК, нмоль/хв на г	55,44 ±5,64	54,56 ±6,58	55,0 ±4,09	115,5 ±9,21	103,21 ±6,17	107,96 ±5,24*

Активність ОрДК в цих умовах зростає в 1,96 рази. Стать також статистично значуще не впливає на показники аргіназного шляху метаболізму L-аргініну в межах однієї експериментальної групи.

Збільшення продукції оксиду азоту (NO) нітрат-нітрит редуказним шляхом закономірно супроводжується зменшенням продукції NO від NO-синтаз через механізми авторегуляції продукції оксиду азоту. [243, 244] Вивільнений в результаті зменшеної активності NO-синтаз L-аргінін призводить до субстратної індукції аргіназ, а через збільшення продукції L-орнітину і до індукції ОрДК. Це призведе до накопичення поліамінів в СОШ щурів.

Таблиця 3.1.3

Продукція  $O_2^{\cdot-}$  в умовах надлишкового надходження нітрату натрію ( $M \pm m$ )

Продукція $O_2^{\cdot-}$ , нмоль/с на г тканини	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної нітратної інтоксикації, n=14		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=9)	♂+♀ (n=14)
Базова	0,4 ±0,01	0,4 ±0,01	0,4 ±0,01	0,82 ±0,03	0,82 ±0,02	0,82 ±0,02*
Від мікросомального ЕТЛ	7,17 ±0,24	7,17 ±0,24	7,17 ±0,16	10,0 ±0,20	9,99 ±0,27	10,0 ±0,16*
Від мітохондріального ЕТЛ	4,91 ±0,35	4,91 ±0,35	4,91 ±0,23	9,41 ±0,15	9,40 ±0,16	9,41 ±0,12*
Від фагоцитів тканини	1,33 ±0,05	1,33 ±0,05	1,33 ±0,03	1,28 ±0,05	1,26 ±0,04	1,26 ±0,03

Надлишкове надходження нітрату натрію збільшує базову продукцію  $O_2^{\cdot-}$  в 2,05 рази (таблиця 3.1.3). Продукція  $O_2^{\cdot-}$  від мікросомального ЕТЛ збільшується на 39,47%, від мітохондріального ЕТЛ в 1,92 рази. Хронічне надлишкове надходження нітрату натрію в дозі 500 мг/кг статистично значуще не впливає на активність НАДФН<sub>2</sub>-оксидази фагоцитів СОШ щурів. [245, 246, 247, 248]

Стать тварин статистично значуще не впливає на продукцію  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів при хронічній нітратній інтоксикації.

Відсутність статистично значущих відмінностей у продукції  $O_2^{\cdot-}$  НАДФН<sub>2</sub>-оксидазою фагоцитів можна пояснити гальмівним ефектом нітратів на цей фермент. [249, 250, 251, 252] Проте, доза нітратів, яка досліджувалась у роботах [249, 250, 251, 252] є значно нижчою ніж 500 мг/кг на 30 днів і складає 1 ммоль/кг (приблизно 85 мг/кг) на 7 днів. Отже, ефект нітратів на НАДФН<sub>2</sub>-оксидазу фагоцитів є дозозалежним, в низьких дозах відбувається інгібування даного



ферменту, а при високих дозах надходження нітратів до організму ефект інгібування зникає.

Таблиця 3.1.4

Активність антиоксидантних ферментів в умовах надлишкового надходження нітрату натрію в СОШ щурів. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної нітратної інтоксикації, n=14		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=9)	♂+♀ (n=14)
Активність СОД, у.о.	0,76 ±0,25	0,71 ±0,17	0,73 ±0,14	1,12 ±0,1	1,19 ±0,16	1,16 ±0,11*
Активність каталази, мккат/хв на г	0,201 ±0,006	0,205 ±0,005	0,204 ±0,004	0,141 ±0,027	0,147 ±0,018	0,145 ±0,015*

Хронічне надлишкове надходження нітратів збільшує активність СОД в 1,59 рази (таблиця 3.1.4), знижуючи при цьому активність каталази на 28,92%. Стать досліджуваних тварин не впливає на зміни в активності антиоксидантних ферментів.

Вміст  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів знижується в 1,83 рази (таблиця 3.1.5). Нестимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  в умовах надлишкового надходження нітрату натрію статистично значуще не змінюється. НАДФН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  знижується на 10,52%. НАДН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  знижується на 20,71%.

Стать досліджуваних тварин статистично значуще не впливає на вміст  $\text{ONOO}^-$  та його продукцію в СОШ щурів.

Вплив надлишкового надходження нітратів до організму тварин, згідно наших досліджень, зменшує ризик пероксинітрит-залежного ушкодження тканин. Проте даний ефект є дозозалежним. Так J.W. Lee та співавтори отримали схожі результати по впливу екзогенних неорганічних нітратів на продукцію  $\text{ONOO}^-$  в

умовах експериментального моделювання ішемії-реперфузії у нирках. [253]

Таблиця 3.1.5

Вміст пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів та продукція  $\text{ONOO}^-$  в умовах надлишкового надходження нітрату натрію в СОШ щурів. ( $M \pm m$ )

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної нітратної інтоксикації, n=14		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=9)	♂+♀ (n=14)
Вміст $\text{ONOO}^-$ , мкмоль/г	0,88 ±0,09	0,88 ±0,09	0,88 ±0,06	0,46 ±0,05	0,49 ±0,04	0,48 ±0,03*
Нестимульована продукція $\text{ONOO}^-$ , нмоль/с на г	2,81 ±0,23	2,81 ±0,23	2,81 ±0,15	2,81 ±0,26	2,69 ±0,2	2,73 ±0,15
НАДФН <sub>2</sub> - стимульована продукція $\text{ONOO}^-$ , нмоль/с на г	36,99 ±1,27	36,99 ±1,27	36,99 ±0,85	32,93 ±0,83	33,19 ±0,51	33,1 ±0,42*
НАДН <sub>2</sub> - стимульована продукція $\text{ONOO}^-$ , нмоль/с на г	40,89 ±0,36	40,89 ±0,36	40,89 ±0,24	32,47 ±0,41	32,4 ±0,29	32,42 ±0,23*

Варто зазначити, що доза нітратів, використана в дослідженнях J.W. Lee та співавторів є значно нижчою і складала 0,12 нмоль/г (10,19 мг/кг). Саме відмінністю у дозі можна пояснити протилежний ефект, який отримали в своїй роботі F. Gholami та співавтори [254], де було показано, що введення нітрату натрію в дозі 2,04 г та вище сприяє утворенню пероксинітриту.

Концентрація ДК за умов хронічної нітратної інтоксикації зменшується на 8% (таблиця 3.1.6). Концентрація ОДК зростає в 1,52 рази. Концентрація ТК зростає на 34,48%. [255]

Стать досліджуваних тварин статистично значуще не впливає на концентрацію первинних продуктів ПОЛ в СОШ щурів в умовах хронічної нітратної інтоксикації.

Таблиця 3.1.6

Концентрація первинних продуктів ПОЛ в СОШ щурів в умовах надлишкового надходження нітрату натрію. ( $M \pm m$ )

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної нітратної інтоксикації, n=14		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=9)	♂+♀ (n=14)
Концентрація ДК, мкмоль/мл	0,249 ±0,007	0,249 ±0,007	0,249 ±0,005	0,221 ±0,01	0,233 ±0,005	0,229 ±0,005*
Концентрація ОДК, мкмоль/мл	0,295 ±0,005	0,295 ±0,005	0,295 ±0,003	0,425 ±0,05	0,461 ±0,013	0,449 ±0,02*
Концентрація ТК, мкмоль/мл	0,156 ±0,002	0,154 ±0,004	0,155 ±0,002	0,187 ±0,018	0,200 ±0,004	0,195 ±0,007*

Концентрація ТБК-реактивів в СОШ щурів до інкубації в прооксидантному буферному розчині зростає на 46,15% (таблиця 3.1.7). Приріст ТБК-реактивів після інкубації в прооксидантному буферному розчині зростає на 37,86%.

Збільшення концентрації як первинних (ДК, ОДК та ТК) так і вторинних продуктів пероксидації ліпідів (ТБК-реактивів) в СОШ щурів свідчить про розвиток оксидативного стресу.

Хронічне надлишкове надходження нітрату натрію в дозі 500 мг/кг посилює процеси ПОЛ та знижує інтегральний показник антиоксидантного захисту (збільшується приріст ТБК-реактивів після інкубації в прооксидантному буферному розчині).

Зниження інтегрального показника антиоксидантного захисту свідчить про вплив надлишкового надходження нітратів на неферментативну ланку антиоксидантної системи СОШ щурів (токоферол, аскорбінова кислота).

Таблиця 3.1.7

Концентрація вторинних продуктів ПОЛ та інтегральний показник антиоксидантної активності в СОШ щурів в умовах надлишкового надходження нітрату натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної нітратної інтоксикації, n=14		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=9)	♂+♀ (n=14)
Концентрація ТБК-реактантів до інкубації, мкмоль/л	6,11 ±0,38	6,11 ±0,38	6,11 ±0,25	8,94 ±0,34	8,92 ±0,25	8,93 ±0,20*
Концентрація ТБК-реактантів після інкубації, мкмоль/л	18,17 ±0,47	18,22 ±0,49	18,20 ±0,32	25,48 ±0,45	25,62 ±0,30	25,57 ±0,24
Приріст ТБК-реактантів після інкубації, мкмоль/л	12,07 ±0,42	12,12 ±0,45	12,09 ±0,29	16,54 ±0,45	16,69 ±0,28	16,64 ±0,23*

Білкові структури також зазнають ушкодження за умов хронічної нітратної інтоксикації, про що свідчить зростання вмісту ОМБ на 36,61% (таблиця 3.1.8). Збільшення вмісту ОМБ може свідчити як про ушкодження структурних білків, так і бути причиною зниження активності ферментів СОШ щурів.

Враховуючи одночасне збільшення продукції  $O_2^-$ , дезорганізацію функціонування супероксиддисмутазно-каталазної ланки антиоксидантної системи, зниження активності неферментативних антиоксидантів, інтенсифікацію процесів ПОЛ та ушкодження білкових молекул можна стверджувати про розвиток оксидативного стресу за умов хронічного надлишкового надходження нітрату натрію в СОШ щурів.

Таблиця 3.1.8

Концентрація ОМБ в СОШ щурів в умовах надлишкового надходження нітрату натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної нітратної інтоксикації, n=14		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=9)	♂+♀ (n=14)
Концентрація ОМБ, у.о.	0,052 ±0,004	0,052 ±0,004	0,052 ±0,003	0,070 ±0,003	0,069 ±0,004	0,070 ±0,002*

Хронічна нітратна інтоксикація знижує концентрацію ГАГ на 30,3% (таблиця 3.1.9). Концентрація НhГАГ знижується на 64,1%, KdГАГ на 43,33%, а концентрація ChГАГ зростає на 26,67%. Вміст вільного L-оксипроліну зростає в 4,41 рази. [256, 257]

Стать досліджуваних тварин статистично значуще не впливає на зміни в метаболізмі сполучнотканиних елементів СОШ щурів в умовах хронічного надлишкового надходження нітрату натрію.

Зростання кількості вільного L-оксипроліну свідчить про активізацію процесів колагенолізу під впливом надлишкового надходження нітрату натрію, з одночасним зменшенням деструкції аморфної речовини сполучнотканиних елементів СОШ щурів.

Зменшення вмісту НhГАГ та KdГАГ може посилити продукцію прозапальних цитокінів, зменшити швидкість регенерації та призвести до утворення виразок СОШ щурів. [258, 259, 260]

Збільшення вмісту ChГАГ можна розглядати як компенсаторну відповідь на ушкодження СОШ щурів, про яке свідчить зростання концентрації ТБК-реактивів, ОМБ, ДК, ОДК та ТК.

Оскільки згідно із даними F. Taraballi та співавторів глікопротеїни, які містять хондроїтин сульфати (IV та VI) у якості ГАГ, здатні зменшувати запальну відповідь шляхом впливу на фенотип тканинних макрофагів. [261]

Таблиця 3.1.9

Концентрація ГАГ та процеси колагенолізу в СОШ щурів в умовах надлишкового надходження нітрату натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної нітратної інтоксикації, n=14		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=9)	♂+♀ (n=14)
Концентрація ГАГ, мкмоль/л	0,99 ±0,11	0,99 ±0,11	0,99 ±0,07	0,69 ±0,02	0,69 ±0,01	0,69 ±0,01*
Концентрація НhГАГ, мкмоль/л	0,39 ±0,06	0,39 ±0,06	0,39 ±0,04	0,14 ±0,005	0,14 ±0,004	0,14 ±0,002*
Концентрація KdГАГ, мкмоль/л	0,30 ±0,05	0,30 ±0,05	0,30 ±0,03	0,17 ±0,005	0,17 ±0,004	0,17 ±0,003*
Концентрація ChГАГ, мкмоль/л	0,30 ±0,04	0,30 ±0,04	0,30 ±0,03	0,38 ±0,01	0,38 ±0,008	0,38 ±0,007*
Концентрація L-оксипроліну, мкмоль/г тканини	0,116 ±0,005	0,116 ±0,005	0,116 ±0,003	0,526 ±0,097	0,504 ±0,069	0,512 ±0,054*

Отже, можна зробити висновок, що хронічне надлишкове надходження нітрату натрію призводить до гіперпродукції NO за рахунок L-аргінін незалежного шляху його утворення, сприяє розвитку оксидативного стресу та посиленню процесів ПОЛ в епітелії, а в сполучній тканині СОШ щурів посилює процеси колагенолізу та зменшує вміст двох протизапальних фракцій ГАГ.

### 3.2. Вплив хронічного надлишкового надходження фториду натрію на метаболічні зміни в СОШ щурів.

Хронічне надходження фториду натрію до організму щурів збільшує продукцію NO L-аргінін залежним шляхом, про що свідчить зростання активності NOS в 2,21 рази (таблиця 3.2.1.).

Таблиця 3.2.1

Активність NO-синтаз, нітрат- нітритредуктаз та вміст нітритів в СОШ щурів за умов хронічної фторидної інтоксикації. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної фторидної інтоксикації, n=13		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=8)	♂+♀ (n=13)
Активність NOS, мкмоль/хв на г білку	6,51 ±0,61	6,51 ±0,61	6,51 ±0,41	13,42 ±1,52	14,97 ±0,97	14,37 ±0,82*
Активність нітритредуктаз, мкмоль/хв на г білку	4,89 ±1,01	3,75 ±0,96	4,31 ±0,69	7,73 ±2,08	8,2 ±1,64	8,02 ±1,23*
Активність нітратредуктаз, мкмоль/хв на г білку	7,04 ±0,89	4,09 ±1,07	5,98 ±0,74	5,69 ±1,63	6,33 ±1,44	6,09 ±1,04
Вміст нітритів нмоль/г	11,56 ±0,77	11,56 ±0,77	11,56 ±0,51	19,63 ±0,86	19,56 ±0,87	19,57 ±0,46*

Примітка: \* - різниця є статистично значущою (P<0,05) при порівнянні з контрольною групою в таблицях 3.2.1 – 3.2.9

Продукція NO L-аргінін незалежним шляхом також зростає, про що свідчить збільшення активності нітритредуктаз в СОШ щурів в 1,86 рази. Активність нітратредуктаз статистично значуще не змінюється. Вміст нітритів в СОШ щурів збільшується на 69,29%.

Активність аргіназ СОШ щурів в умовах хронічної фторидної інтоксикації зменшується на 40,58% (таблиця 3.2.2.). Активність ОрДК в цих умовах знижується в 2,03 рази.

Стать статистично значуще не впливає на метаболізм L-аргініну та продукцію NO в межах однієї експериментальної групи за умов хронічної фторидної інтоксикації.

Таблиця 3.2.2

Активність аргіназ та орнітиндекарбоксілази у СОШ щурів в умовах надлишкового надходження фториду натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної фторидної інтоксикації, n=13		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=8)	♂+♀ (n=13)
Активність аргіназ, мкмоль/хв на г білку	2,04 ±0,09	2,11 ±0,15	2,07 ±0,08	1,12 ±0,19	1,31 ±0,14	1,23 ±0,11*
Активність ОрДК, нмоль/хв на г	55,44 ±5,64	54,56 ±6,58	55 ±4,09	26,14 ±2,62	27,74 ±1,43	27,13 ±1,29*

Збільшена продукція NO в СОШ щурів може бути наслідком активації транскрипційного фактора NF-κB, активація якого у послідуєчому збільшує експресію генів, що кодують iNOS. [262]

Знижена активність аргіназного шляху може бути наслідком гіперпродукції NO в СОШ щурів, оскільки він здатен регулювати активність Arg-1. Проте даний механізм активується лише у тому випадку, коли джерелом NO є eNOS. [263] Збільшена активність iNOS може також знижувати загальну активність аргіназ, проте механізмом, що призводить до цього, є зменшення доступного для розщеплення аргіназам субстрату. [264] Оскільки за даними В.І. Krause, збільшена концентрація NO, який утворюється із його донатора – диетилентріаміну, навпаки здатна збільшувати інтенсивність розщеплення L-аргініну аргіназним шляхом за рахунок активації Arg-2. [265]

Надлишкове надходження фториду натрію збільшує базову продукцію  $O_2^{\cdot-}$  в 1,53 рази (таблиця 3.2.3). Продукція  $O_2^{\cdot-}$  від мікросомального ЕТЛ збільшується на 1,59 рази, продукція  $O_2^{\cdot-}$  від мітохондріального ЕТЛ статистично значуще не змінюється. Хронічне надлишкове надходження фториду натрію в дозі 10 мг/кг збільшує активність НАДФН<sub>2</sub>-оксидази фагоцитів СОШ щурів в 1,54 рази.



Таблиця 3.2.3

Продукція  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів за умов надлишкового надходження фториду натрію. ( $M \pm m$ )

Продукція $O_2^{\cdot-}$ , нмоль/с на г тканини	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної фторидної інтоксикації, n=13		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=8)	♂+♀ (n=13)
Базова	0,4 ±0,01	0,4 ±0,01	0,4 ±0,01	0,63 ±0,03	0,60 ±0,03	0,61 ±0,02*
Від мікросомального ЕТЛ	7,17 ±0,24	7,17 ±0,24	7,17 ±0,16	11,41 ±0,17	11,39 ±0,12	11,4 ±0,09*
Від мітохондріального ЕТЛ	4,91 ±0,35	4,91 ±0,35	4,91 ±0,23	5,32 ±0,07	5,33 ±0,13	5,32 ±0,08
Від фагоцитів тканини	1,33 ±0,05	1,33 ±0,05	1,33 ±0,03	2,04 ±0,04	2,05 ±0,03	2,05 ±0,02*

Стать тварин статистично значуще не впливає на продукцію  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів при хронічній фторидній інтоксикації.

Причинами збільшеної продукції  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів при хронічній фторидній інтоксикації від мікросомального ЕТЛ можуть бути роз'єднання (англ. uncoupling) різних ізоформ NOS із своїм субстратом та блокада іонами фтору мікросомальних цитохромів. [266, 267] Врахувавши  $K_m$  для аргіназ ( $\approx 10$  ммоль/л) та NOS ( $\approx 5$  мкмоль/л для iNOS та  $\approx 3$  мкмоль/л для eNOS), та знижену, в умовах хронічної фторидної інтоксикації активність аргіназ, можна прийти до висновку, що джерелом продукції  $O_2^{\cdot-}$  від мікросомального ЕТЛ є роз'єднані конститутивні форми NOS. [268, 269]

Збільшена продукція  $O_2^{\cdot-}$  від фагоцитів СОШ щурів може бути пояснена фторид-індукованим запаленням та активацією НАДФН-оксидази. [270]

Таблиця 3.2.4

Активність антиоксидантних ферментів СОШ щурів в умовах надлишкового надходження фториду натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної фторидної інтоксикації, n=13		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=8)	♂+♀ (n=13)
Активність СОД, у.о.	0,76 ±0,25	0,71 ±0,17	0,73 ±0,14	0,26 ±0,08	0,27 ±0,07	0,26 ±0,05*
Активність каталази, нкат/хв на г	201 ±6	205 ±5	204 ±4	349 ±54	360 ±43	356 ±32*

Хронічне надлишкове надходження фторидів знижує активність СОД СОШ щурів в 2,81 рази (таблиця 3.2.4), збільшуючи при цьому активність каталази на 74,51%. Стать досліджуваних тварин не впливає на зміни в активності антиоксидантних ферментів. Вплив іонів фтору на каталазу залежить від досліджуваного органу та дози іонів фтору. [271, 272] У випадку СОШ щурів та дози 10 мг/кг іони фтору мають стимулюючий ефект.

Вміст  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів збільшується в 2,81 рази (таблиця 3.2.5). Нестимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів в умовах надлишкового надходження фториду натрію збільшується в 1,44 рази. НАДФН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  та НАДН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  статистично значуще не змінюється. Збільшена концентрація та нестимульована продукція пероксинітритів лужних та лужноземельних металів створює умови, за яких можливе приєднання явищ нітрозативного ушкодження білкових структур та ферментів шляхом нітрузування тирозину в білкових сполуках із утворенням ніротирозину.

Стать досліджуваних тварин статистично значуще не впливає на вміст  $\text{ONOO}^-$  та його продукцію в СОШ щурів.

Таблиця 3.2.5

Вміст пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів та продукція ONOO<sup>-</sup> в СОШ щурів в умовах надлишкового надходження фториду натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної фторидної інтоксикації, n=13		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=8)	♂+♀ (n=13)
Вміст ONOO <sup>-</sup> , мкмоль/г	0,88 ±0,09	0,88 ±0,09	0,88 ±0,06	2,47 ±0,12	2,48 ±0,14	2,47 ±0,09*
Нестимульована продукція ONOO <sup>-</sup> , нмоль/с на г	2,81 ±0,23	2,81 ±0,23	2,81 ±0,15	4,05 ±0,45	4,07 ±0,35	4,06 ±0,27*
НАДФН <sub>2</sub> - стимульована продукція ONOO <sup>-</sup> , нмоль/с на г	36,99 ±1,27	36,99 ±1,27	36,99 ±0,85	34,16 ±1,23	33,65 ±0,94	33,84 ±0,72
НАДН <sub>2</sub> - стимульована продукція ONOO <sup>-</sup> , нмоль/с на г	40,89 ±0,36	40,89 ±0,36	40,89 ±0,24	39,76 ±0,75	40,05 ±0,6	39,94 ±0,45

Концентрація ДК зменшується на 28,91%, ОДК зростає в 1,46 рази, ТК статистично значуще не змінюється в СОШ щурів за умов хронічної фторидної інтоксикації (таблиця 3.2.6).

Стать досліджуваних тварин статистично значуще не впливає на концентрацію первинних продуктів ПОЛ в СОШ щурів в умовах хронічної фторидної інтоксикації.

Різна спрямованість впливу фторидів на концентрацію гідроперекисів ліпідів в СОШ щурів може бути наслідком великої швидкості оксидативних процесів.

Таблиця 3.2.6

Концентрація первинних продуктів ПОЛ в СОШ щурів в умовах надлишкового надходження фториду натрію. ( $M \pm m$ )

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної фторидної інтоксикації, n=13		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=8)	♂+♀ (n=14)
Концентрація ДК, мкмоль/мл	0,249 ±0,007	0,249 ±0,007	0,249 ±0,005	0,176 ±0,009	0,178 ±0,007	0,177 ±0,005*
Концентрація ОДК, мкмоль/мл	0,295 ±0,005	0,295 ±0,005	0,295 ±0,003	0,438 ±0,022	0,427 ±0,016	0,431 ±0,012*
Концентрація ТК, мкмоль/мл	0,156 ±0,002	0,154 ±0,004	0,155 ±0,002	0,155 ±0,009	0,160 ±0,006	0,158 ±0,005

Концентрація ТБК-реактивів в СОШ щурів до інкубації в прооксидантному буферному розчині зростає в 2,84 рази (таблиця 3.2.7). Приріст ТБК-реактивів після інкубації в прооксидантному буферному розчині зростає в 1,28 рази.

Збільшення приросту ТБК-реактивів в СОШ щурів після інкубації може бути пов'язаним із дефіцитом непрямих антиоксидантів, що виникає в умовах надлишкового надходження фторидів до організму. [273] Дефіцит непрямих антиоксидантів призводить до порушення процесів відновлення прямих антиоксидантів та знижує ефективність неферментативної ланки антиоксидантного захисту СОШ щурів.

Отже, хронічне надлишкове надходження фториду натрію посилює процеси ПОЛ та знижує інтегральний показник антиоксидантного захисту в СОШ щурів.

Зменшення вмісту ДК, відсутність статистично значущих змін в концентрації ТК на фоні збільшеної концентрації ТБК-реактивів до інкубації та збільшеного приросту ТБК-реактивів після інкубації в залізо-аскорбатному буферному розчині свідчить про велику швидкість процесів ПОЛ в СОШ щурів. Така ситуація обумовлена недостатністю антиоксидантного захисту (ферментативного та

неферментативного) та збільшеною продукцією прооксидантів в СОШ щурів.

Таблиця 3.2.7

Концентрація вторинних продуктів ПОЛ та інтегральний показник антиоксидантної активності в СОШ щурів в умовах надлишкового надходження фториду натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної фторидної інтоксикації, n=13		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=8)	♂+♀ (n=13)
Концентрація ТБК-реактантів до інкубації, мкмоль/л	6,11 ±0,38	6,11 ±0,38	6,11 ±0,25	17,07 ±0,81	17,52 ±0,54	17,35 ±0,44*
Концентрація ТБК-реактантів після інкубації, мкмоль/л	18,17 ±0,47	18,22 ±0,49	18,20 ±0,32	32,89 ±1,07	32,69 ±0,77	32,77 ±0,59
Приріст ТБК-реактантів після інкубації, мкмоль/л	12,07 ±0,42	12,12 ±0,45	12,09 ±0,29	15,82 ±1,65	15,17 ±1,09	15,42 ±0,88*

Білкові структури СОШ щурів, також, зазнають ушкодження за умов хронічної фторидної інтоксикації. Вміст ОМБ зростає в 2,65 рази (таблиця 3.2.8).

Враховуючи одночасне збільшення продукції  $O_2^-$  та  $ONOO^-$ , дезорганізацію функціонування супероксиддисмутазно-каталазної ланки антиоксидантної системи, зниження активності неферментативних антиоксидантів, інтенсифікацію процесів ПОЛ та ушкодження білкових молекул можна стверджувати про розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в СОШ щурів за умов хронічного надлишкового надходження фториду натрію.

Розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в СОШ щурів може бути причиною порушення цілісності епітеліального бар'єру.

Таблиця 3.2.8

Концентрація ОМБ в СОШ щурів в умовах надлишкового надходження фториду натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної фторидної інтоксикації, n=13		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=8)	♂+♀ (n=13)
Концентрація ОМБ, у.о.	0,052 ±0,004	0,052 ±0,004	0,052 ±0,003	0,141 ±0,016	0,136 ±0,011	0,138 ±0,009*

Хронічна фторидна інтоксикація знижує концентрацію ГАГ в СОШ щурів на 35,35% (таблиця 3.2.9). Концентрація НнГАГ знижується в 2,79 рази, КдГАГ в 1,76 рази, а концентрація СнГАГ статистично значуще не змінюється. Вміст вільного L-оксипроліну в СОШ щурів зростає в 7,06 рази.

Стать досліджуваних тварин статистично значуще не впливає на зміни в метаболізмі сполучнотканиних елементів СОШ щурів в умовах хронічного надлишкового надходження фториду натрію.

Зростання кількості вільного L-оксипроліну в СОШ щурів свідчить про активацію процесів колагенолізу під впливом надлишкового надходження фториду натрію, з одночасним зменшенням деструкції аморфної речовини сполучнотканиних елементів СОШ щурів.

Збільшення вмісту L-оксипроліну в СОШ щурів може бути внаслідок активації ММР-9 та одночасним зниження активності ТІМР-1 під впливом фторид-іонів. [274, 275] Водночас за даними В. Cvikl et al. іони фтору мають здатність знижувати активність ММР-9. [276] Механізмом, який лежить в основі результатів, отриманих В. Cvikl et al., є блокада лігандного місця іонів  $Zn^{2+}$  в активному центрі ММР-9. Оскільки інгібіторний ефект проявляється в моделі В. Cvikl et al. лише при додаванні рекомбінантної ММР-9 до буферного розчину, що містить іони фтору. [276]

Зменшення вмісту НhГАГ та KdГАГ може посилити продукцію прозапальних цитокінів, зменшити швидкість регенерації та призвести до утворення виразок СОШ щурів. [258, 259, 260] Тому тут іони фтору мають подібну дію до нітрат-іонів.

Таблиця 3.2.9

Концентрація ГАГ та процеси колагенолізу в СОШ щурів в умовах надлишкового надходження фториду натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної фторидної інтоксикації, n=13		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=8)	♂+♀ (n=13)
Концентрація ГАГ, мкмоль/л	0,99 ±0,11	0,99 ±0,11	0,99 ±0,07	0,66 ±0,07	0,64 ±0,06	0,64 ±0,04*
Концентрація НhГАГ, мкмоль/л	0,39 ±0,06	0,39 ±0,06	0,39 ±0,04	0,15 ±0,02	0,14 ±0,01	0,14 ±0,01*
Концентрація KdГАГ, мкмоль/л	0,30 ±0,05	0,30 ±0,05	0,30 ±0,03	0,17 ±0,02	0,16 ±0,01	0,17 ±0,01*
Концентрація ChГАГ, мкмоль/л	0,30 ±0,04	0,30 ±0,04	0,30 ±0,03	0,34 ±0,04	0,33 ±0,03	0,34 ±0,02
Концентрація L-оксипроліну, мкмоль/г тканини	0,116 ±0,005	0,116 ±0,005	0,116 ±0,003	0,816 ±0,059	0,821 ±0,047	0,819 ±0,035*

Отже, можна зробити висновок, що хронічне надлишкове надходження фториду натрію призводить до гіперпродукції NO за рахунок L-аргінін незалежного та L-аргінін залежного шляхів його утворення, сприяє розвитку оксидативно-нітрозативного стресу та посиленню процесів ПОЛ в епітелії, а в сполучнотканинних елементах СОШ щурів посилює процеси колагенолізу та зменшує вміст двох протизапальних фракцій ГАГ.

### 3.3. Вплив хронічного поєданого надлишкового надходження фториду та нітрату натрію на метаболічні зміни в СОШ щурів.

Хронічне надходження фториду та нітрату натрію до організму щурів збільшує продукцію NO L-аргінін залежним шляхом на 18,89% (таблиця 3.3.1.).

Таблиця 3.3.1

Активність NO-синтаз, нітрат- нітритредуктаз та вміст нітритів в СОШ щурів за умов хронічної поєданої інтоксикації нітратом та фторидом натрію.

(M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної поєданої інтоксикації, n=15		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=10)	♂+♀ (n=15)
Активність NOS, мкмоль/хв на г білку	6,51 ±0,61	6,51 ±0,61	6,51 ±0,41	7,54 ±0,51	7,84 ±0,32	7,74 ±0,27*
Активність нітритредуктаз, мкмоль/хв на г білку	4,89 ±1,01	3,75 ±0,96	4,31 ±0,69	11,51 ±0,72	11,20 ±0,65	11,30 ±0,48*
Активність нітратредуктаз, мкмоль/хв на г білку	7,04 ±0,89	4,09 ±1,07	5,98 ±0,74	10,71 ±1,10	10,05 ±0,80	10,27 ±0,63*
Вміст нітритів нмоль/г	11,56 ±0,77	11,56 ±0,77	11,56 ±0,51	18,90 ±1,54	18,90 ±1,00	18,90 ±0,80*

Примітка: \* - різниця є статистично значущою (P<0,05) при порівнянні з контрольною групою в таблицях 3.3.1 – 3.3.9

Продукція NO L-аргінін незалежним шляхом в СОШ щурів зростає в 2,62 рази. Активність нітратредуктаз збільшується в 1,72 рази. Вміст нітритів в СОШ щурів збільшується на 63,49%. Сумарна продукція NO в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації збільшується до 19,04 мкмоль/хв на г білку. Внесок NOS у сумарну продукцію NO складає 40,65%, отже більшість NO в СОШ



щурів продукується L-аргінін незалежним шляхом і гіперпродукція NO є, у більшій мірі, наслідком нітратного компоненту поєднаної інтоксикації.

Таблиця 3.3.2

Активність аргіназ та орнітиндекарбоксілази у СОШ щурів в умовах надлишкового надходження фториду та нітрату натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної поєднаної інтоксикації, n=15		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=10)	♂+♀ (n=15)
Активність аргіназ, мкмоль/хв на г білку	2,04 ±0,09	2,11 ±0,15	2,07 ±0,08	3,33 ±0,12	3,35 ±0,11	3,34 ±0,08*
Активність ОрДК, нмоль/хв на г	55,44 ±5,64	54,56 ±6,58	55 ±4,09	83,86 ±2,03	87,98 ±1,09	86,61 ±1,08*

У фізіологічних умовах надлишок NO окиснюється киснем (O<sub>2</sub>) присутнім у клітині до оксиду азоту (IV) (NO<sub>2</sub>), який у водному середовищі клітини утворює азотисту кислоту (HNO<sub>2</sub>). Азотиста кислота реагує із катіонами металів у клітині (K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> тощо) утворюючи нітрити цих металів. Нітрити здатні викликати розвиток оксидативного стресу та ушкоджувати білкові молекули та молекули нуклеїнових кислот. [277, 278] Тому, за фізіологічних умов, реакція окиснення продовжується і нітрити окиснюються до нітратів відповідних металів та екскретуються із клітини до міжклітинного простору, а звідти переходять до венозної крові та виводяться із організму нирками.

В умовах хронічного надлишкового надходження нітратів та фторидів до організму спостерігається підвищений вміст нітритів в СОШ щурів, який обумовлений збільшеною активністю нітратредуктаз.

Активність аргіназ СОШ щурів в умовах хронічної поєднаної інтоксикації збільшується в 1,61 рази (таблиця 3.3.2.). Активність ОрДК СОШ щурів в цих умовах збільшується в 1,57 рази.

Таблиця 3.3.3

Продукція  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів за умов поєднаного надлишкового надходження фториду та нітрату натрію. ( $M \pm m$ )

Продукція $O_2^{\cdot-}$ , нмоль/с на г тканини	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної поєднаної інтоксикації, n=15		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=10)	♂+♀ (n=15)
Базова	0,4 ±0,01	0,4 ±0,01	0,4 ±0,01	1,19 ±0,03	1,19 ±0,02	1,19 ±0,01*
Від мітросомального ЕТЛ	7,17 ±0,24	7,17 ±0,24	7,17 ±0,16	7,99 ±0,44	8,07 ±0,26	8,04 ±0,22*
Від мітохондріального ЕТЛ	4,91 ±0,35	4,91 ±0,35	4,91 ±0,23	8,08 ±0,45	8,19 ±0,25	8,15 ±0,22*
Від фагоцитів тканини	1,33 ±0,05	1,33 ±0,05	1,33 ±0,03	1,78 ±0,05	1,78 ±0,03	1,78 ±0,02*

Збільшена активність аргіназ та ОрДК СОШ щурів призведе до збільшеної продукції поліамінів (сперміну, спермідину, путресцину). Поліаміни здатні регулювати клітинний цикл, шляхом прискорення поділу клітин, що збільшує здатність тканини до регенерації. [279, 280, 281] З іншого боку, надмірне посилення тканинної регенерації в умовах постійного ушкодження соляною кислотою може призвести до пухлинної трансформації. [282, 283, 284, 285]

Стать статистично значуще не впливає на метаболізм L-аргініну та продукцію NO в СОШ щурів в межах однієї експериментальної групи за умов хронічної інтоксикації нітратами та фторидами.

Надлишкове надходження фториду та нітрату натрію збільшує базову продукцію  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів у 2,98 рази (таблиця 3.3.3). Продукція  $O_2^{\cdot-}$  від

мікросомального ЕТЛ збільшується на 12,13%, продукція  $O_2^{\cdot-}$  від мітохондріального ЕТЛ збільшується на 65,99%. Хронічне надлишкове надходження фториду натрію в дозі 10 мг/кг та нітрату натрію в дозі 500 мг/кг збільшує активність НАДФН<sub>2</sub>-оксидази фагоцитів СОШ на 33,83%.

Збільшення продукції  $O_2^{\cdot-}$  від мікросомального ЕТЛ можна пояснити збільшеною активністю аргіназ, оскільки вони здатні посилювати продукцію  $O_2^{\cdot-}$  за рахунок «крадіжки» L-аргініну (англ. arginine steal) у NOS. [286, 287, 288, 289]

Таблиця 3.3.4

Активність антиоксидантних ферментів СОШ щурів в умовах надлишкового надходження фториду та нітрату натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної поєднаної інтоксикації, n=15		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=10)	♂+♀ (n=15)
Активність СОД, у.о.	0,76 ±0,25	0,71 ±0,17	0,73 ±0,14	0,32 ±0,03	0,34 ±0,03	0,33 ±0,02*
Активність каталази, нкат/хв на Г	201 ±6	205 ±5	204 ±4	126 ±20	141 ±13	136 ±10*

Обидва компоненти поєднаної інтоксикації здатні впливати на мітохондрії та призводити до гіперпродукції  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів. Нітрати здатні посилювати продукцію  $O_2^{\cdot-}$  від мітохондріального ЕТЛ шляхом впливу на цитохроми. [290, 291]

Стать тварин статистично значуще не впливає на продукцію  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів за умов хронічної поєднаної інтоксикації.

Хронічне надлишкове надходження фторидів та нітратів знижує активність СОД СОШ щурів в 2,21 рази (таблиця 3.3.4), активність каталази знижується на 33,33%. Стать досліджуваних тварин не впливає на зміни в активності антиоксидантних ферментів.

Таблиця 3.3.5

Вміст пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів та продукція  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію.

( $M \pm m$ )

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної поєднаної інтоксикації, n=15		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=10)	♂+♀ (n=15)
Вміст $\text{ONOO}^-$ , мкмоль/г	0,88 ±0,09	0,88 ±0,09	0,88 ±0,06	1,48 ±0,11	1,48 ±0,07	1,48 ±0,06*
Нестимульована продукція $\text{ONOO}^-$ , нмоль/с на г	2,81 ±0,23	2,81 ±0,23	2,81 ±0,15	3,44 ±0,27	3,44 ±0,18	3,44 ±0,14*
НАДФН <sub>2</sub> - стимульована продукція $\text{ONOO}^-$ , нмоль/с на г	36,99 ±1,27	36,99 ±1,27	36,99 ±0,85	42,01 ±1,6	41,79 ±1,3	41,87 ±0,98*
НАДН <sub>2</sub> - стимульована продукція $\text{ONOO}^-$ , нмоль/с на г	40,89 ±0,36	40,89 ±0,36	40,89 ±0,24	43,08 ±0,71	43,08 ±0,47	43,08 ±0,38*

Вміст  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів збільшується в 1,68 рази (таблиця 3.3.5). Нестимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  в умовах надлишкового надходження фториду натрію збільшується на 22,42%. НАДФН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  збільшується на 13,19%. НАДН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  збільшується на 5,35%.

Стать досліджуваних тварин статистично значуще не впливає на вміст  $\text{ONOO}^-$  та його продукцію в СОШ щурів в умовах поєднаної інтоксикації.

Таблиця 3.3.6

Концентрація первинних продуктів ПОЛ в СОШ щурів в умовах надлишкового надходження фториду та нітрату натрію. ( $M \pm m$ )

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної поєднаної інтоксикації, n=15		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=10)	♂+♀ (n=15)
Концентрація ДК, мкмоль/мл	0,249 ±0,007	0,249 ±0,007	0,249 ±0,005	0,280 ±0,005	0,280 ±0,003	0,280 ±0,003*
Концентрація ОДК, мкмоль/мл	0,295 ±0,005	0,295 ±0,005	0,295 ±0,003	0,340 ±0,017	0,358 ±0,017	0,352 ±0,013*
Концентрація ТК, мкмоль/мл	0,156 ±0,002	0,154 ±0,004	0,155 ±0,002	0,179 ±0,002	0,188 ±0,007	0,185 ±0,005*

Концентрація ДК збільшується на 12,45%, ОДК зростає в 1,19 рази, ТК збільшується на 19,35% в СОШ щурів за умов хронічної поєднаної інтоксикації (таблиця 3.3.6).

Стать досліджуваних тварин статистично значуще не впливає на концентрацію первинних продуктів ПОЛ в СОШ щурів в умовах хронічної поєднаної інтоксикації.

Концентрація ТБК-реактивів до інкубації в прооксидантному буферному розчині зростає в 2,23 рази (таблиця 3.3.7). Приріст ТБК-реактивів після інкубації в прооксидантному буферному розчині зростає в 1,7 рази.

Хронічне надлишкове поєднане надходження фториду та нітрату натрію посилює процеси ПОЛ, збільшуючи вміст як первинних продуктів пероксидації ліпідів, так і вторинних продуктів пероксидації ліпідів, на фоні зниження інтегрального показника антиоксидантного захисту СОШ щурів.

Таблиця 3.3.7

Концентрація вторинних продуктів ПОЛ та інтегральний показник антиоксидантної активності в СОШ щурів в умовах надлишкового надходження фториду та нітрату натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної поєднаної інтоксикації, n=15		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=10)	♂+♀ (n=15)
Концентрація ТБК-реактантів до інкубації, мкмоль/л	6,11 ±0,38	6,11 ±0,38	6,11 ±0,25	13,65 ±0,21	13,65 ±0,14	13,65 ±0,11*
Концентрація ТБК-реактантів після інкубації, мкмоль/л	18,17 ±0,47	18,22 ±0,49	18,20 ±0,32	33,8 ±2,69	34,38 ±1,67	34,18 ±1,38
Приріст ТБК-реактантів після інкубації, мкмоль/л	12,07 ±0,42	12,12 ±0,45	12,09 ±0,29	20,15 ±2,63	20,72 ±1,61	20,53 ±1,33*

Вміст ОМБ в СОШ щурів за умов надлишкового поєднаного надходження нітрату та фториду натрію зростає в 1,81 рази (таблиця 3.3.8) порівняно із контрольною групою. Статевих відмінностей в процесах ушкодження білкових структур СОШ щурів не встановлено.

Збільшення ушкодження білкових молекул може бути пов'язане із нітруванням білків нітритним радикалом ( $\bullet\text{NO}_2$ ), який утворюється із нітритів в гемін-каталізованій реакції окиснення за участю перекису водню ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). [292]

За результатами експериментальних досліджень в СОШ щурів спостерігається підвищений вміст нітритів на фоні зниженої активності СОД. Продуктом СОД є  $\text{H}_2\text{O}_2$ , який утворюється із  $\text{O}_2^-$ . Проте СОД є не єдиним джерелом  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Джерелами генерації  $\text{H}_2\text{O}_2$  в СОШ щурів можуть бути НАДФН<sub>2</sub>-оксидаза або

комплекс III мітохондріальної ЕТЛ. [293]

Продукція  $O_2^{\cdot-}$  від НАДФН<sub>2</sub>-оксидази та від мітохондріального ЕТЛ в СОШ щурів є збільшеними в умовах хронічної поєднаної інтоксикації, тому надлишок  $H_2O_2$ , необхідний для продукції  $\cdot NO_2$  надходить із цих джерел.

Таблиця 3.3.8

Концентрація ОМБ в СОШ щурів за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної поєднаної інтоксикації, n=15		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=10)	♂+♀ (n=15)
Концентрація ОМБ, у.о.	0,052 ±0,004	0,052 ±0,004	0,052 ±0,003	0,094 ±0,004	0,094 ±0,003	0,094 ±0,002*

Хронічна поєднана інтоксикація збільшує концентрацію ГАГ в СОШ щурів на 62,63% (таблиця 3.3.9). Концентрація НhГАГ збільшується на 38,46%, KdГАГ збільшується на 120%, концентрація ChГАГ збільшується 40% в СОШ щурів. Вміст вільного L-оксипроліну зростає в 7,47 рази.

Збільшення НhГАГ можна розглядати як компенсаторну реакцію на розвиток оксидативного стресу в СОШ щурів, оскільки гепарин та його деривати мають як пряму антиоксидантну дію, так і здатні збільшувати експресію генів позаклітинної ізоформи СОД. [294] Кератан-сульфат, який входить до фракції KdГАГ також має антиоксидантні властивості, тому збільшення вмісту KdГАГ також можна вважати компенсаторною реакцією на оксидативний стресс в СОШ щурів на фоні зниженої активності СОД та каталази. [295]

Стать досліджуваних тварин статистично значуще не впливає на зміни в метаболізмі сполучнотканиних елементів СОШ щурів в умовах хронічного надлишкового надходження фториду та нітрату натрію.

Таблиця 3.3.9

Концентрація ГАГ та процеси колагенолізу в СОШ щурів в умовах надлишкового надходження фториду та нітрату натрію. (M±m)

Показники	Групи					
	Контрольна, n=10			Група хронічної поєднаної інтоксикації, n=15		
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂+♀ (n=10)	♂ (n=5)	♀ (n=10)	♂+♀ (n=15)
Концентрація ГАГ, мкмоль/л	0,99 ±0,11	0,99 ±0,11	0,99 ±0,07	1,61 ±0,05	1,61 ±0,03	1,61 ±0,03*
Концентрація НhГАГ, мкмоль/л	0,39 ±0,06	0,39 ±0,06	0,39 ±0,04	0,54 ±0,02	0,54 ±0,02	0,54 ±0,01*
Концентрація KdГАГ, мкмоль/л	0,30 ±0,05	0,30 ±0,05	0,30 ±0,03	0,66 ±0,04	0,66 ±0,03	0,66 ±0,02*
Концентрація ChГАГ, мкмоль/л	0,30 ±0,04	0,30 ±0,04	0,30 ±0,03	0,42 ±0,02	0,42 ±0,01	0,42 ±0,01*
Концентрація L-оксипроліну, мкмоль/г тканини	0,116 ±0,005	0,116 ±0,005	0,116 ±0,003	0,866 ±0,011	0,866 ±0,007	0,866 ±0,006*

Отже, можна зробити висновок, що хронічне надлишкове надходження фториду та нітрату натрію призводить до гіперпродукції NO, сприяє розвитку оксидативно-нітрозативного стресу, посиленню процесів ПОЛ та ушкодженню білкових структур СОШ щурів, а в сполучній тканині СОШ посилює процеси колагенолізу та розпаду основної речовини сполучнотканинних елементів СОШ щурів. Одночасно із цим в сполучній тканині збільшується вміст фракцій ГАГ, які мають антиоксидантні та регенераторні властивості.

#### **3.4. Внесок фторидного та нітратного компонентів у розвиток метаболічних змін в СОШ щурів в умовах хронічної поєднаної інтоксикації.**

Продукція NO L-аргінін залежним шляхом в СОШ щурів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації є в 1,83 рази більша, порівняно із групою



хронічної нітратної інтоксикації (рис. 3.4.1). Водночас, при порівнянні із групою хронічної фторидної інтоксикації, продукція NO в 1,86 рази меншою.

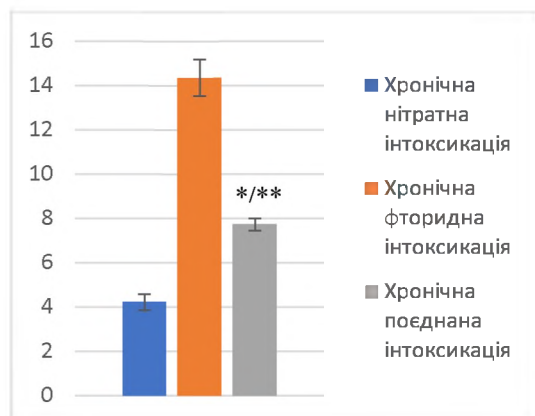


Рисунок 3.4.1

Активність NOS,  
мкмоль/хв на г білку

Примітка в рисунках 3.4.1-3.4.25:

\* - дані статистично значуще відрізняються від групи фторидної інтоксикації; \*\* - дані статистично значуще відрізняються від групи нітратної інтоксикації

Це свідчить про виражений антагонізм нітратів та фторидів в умовах їх поєднання щодо впливу на NOS. Продукція NO L-аргінін незалежним шляхом в СОШ щурів в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації є в 1,41 рази більшою порівняно із групою хронічної фторидної інтоксикації (рис. 3.4.2) та в 1,4 рази більшою порівняно із групою хронічної нітратної інтоксикації. Таким чином, вплив нітратів та фторидів на нітритредуктази можна охарактеризувати як синергічний.

Сумарна продукція NO в СОШ щурів з обох шляхів в умовах фторидної інтоксикації складає 22,57 мкмоль/хв на г білку, з якої 63,67% припадає на NOS та 35,53% на нітритредуктази. За умов хронічної нітратної інтоксикації в СОШ щурів сумарна продукція NO складає 12,21 мкмоль/хв на г білку, з якої 34,97% припадає на NOS та 65,03% на нітритредуктази.

В умовах поєднаної інтоксикації більшість від сумарної продукції NO в СОШ щурів продукується нітритредуктазами, що свідчить про домінуючий вплив нітратного компонента поєднаної інтоксикації на продукцію оксиду азоту.

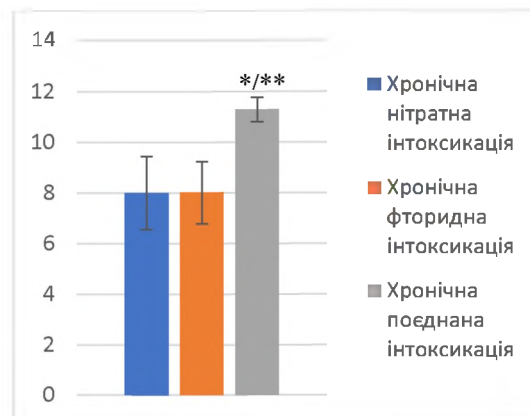


Рисунок 3.4.2

Активність нітритредуктази,  
мкмоль/хв на г білку

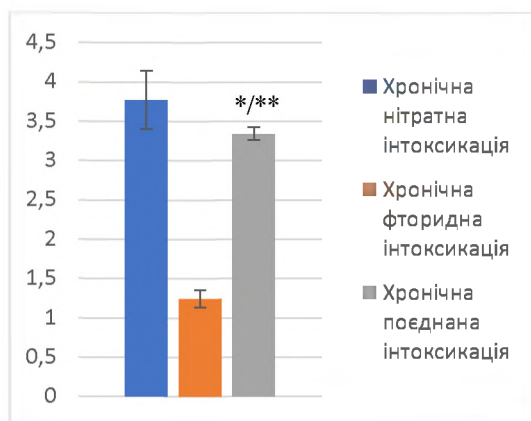


Рисунок 3.4.3

Активність аргінази,  
мкмоль/хв на г білку

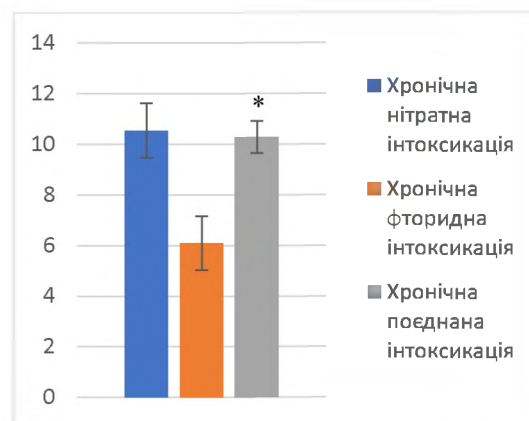


Рисунок 3.4.4

Активність нітратредуктази,  
мкмоль/хв на г білку

Хронічна поєднана інтоксикація знижує активність аргінази в СОШ щурів на 11,41% порівняно із хронічною нітратною інтоксикацією (рис. 3.4.3) та підвищує активність аргінази порівняно із фторидною інтоксикацією в 2,69 рази. Таким чином, нітрати та фториди мають антагоністичний вплив на активність аргінази. В умовах поєднаної інтоксикації вплив нітратного компоненту на аргінази є переважаючим. Антагоністичний вплив нітратів та фторидів на активність аргінази може бути пояснений перерозподілом джерел синтезу NO. Фториди створюють дефіцит L-аргініну шляхом посилення активності NOS, а нітрати навпаки вивільняють L-аргінін для аргінази шляхом зниження активності NOS в СОШ щурів.

Хронічна поєднана інтоксикація в СОШ щурів статистично значуще не впливає на активність нітратредуктази порівняно із хронічною нітратною інтоксикацією (рис. 3.4.4) та підвищує активність нітратредуктази порівняно із фторидною інтоксикацією в 1,68 рази. Відсутність впливу іонів фтору на активність нітратредуктази в СОШ щурів може бути пов'язана із високою активністю нітритредуктази, які перешкоджають процесу окиснення нітритів до нітратів, позбавляючи цим нітратредуктази субстратної індукції. Додавання субстрату реакції в умовах хронічної поєднаної інтоксикації посилює активність нітратредуктази.

Базова продукція  $O_2^{\cdot -}$  в СОШ щурів в умовах хронічного надлишкового надходження нітратів та фторидів до організму зростає в 1,93 рази порівняно із

хронічною фторидною інтоксикацією (рис. 5.4.5), та зростає в 1,44 рази порівняно із хронічною нітратною інтоксикацією. Отже, вплив нітратів та фторидів на базову продукцію  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ шурів є синергічним.

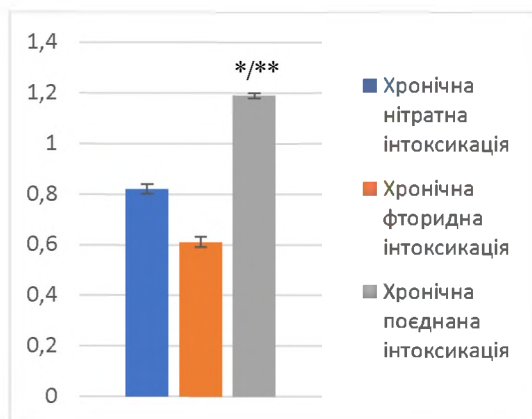


Рисунок 3.4.5

Базова продукція  $O_2^{\cdot-}$ ,  
нмоль/с на г

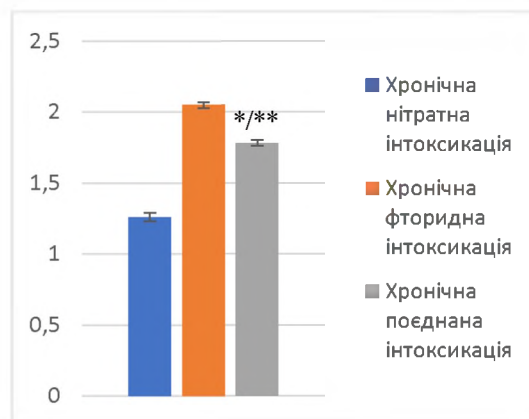


Рисунок 3.4.6

Продукція  $O_2^{\cdot-}$  від фагоцитів,  
нмоль/с на г

Продукція  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ шурів від НАДФН<sub>2</sub>-оксидази фагоцитів в умовах поєднаної інтоксикації знижується на 13,66% порівняно із хронічною фторидною інтоксикацією (рис. 3.4.6), проте збільшується на 40,48% при порівнянні із хронічною нітратною інтоксикацією.

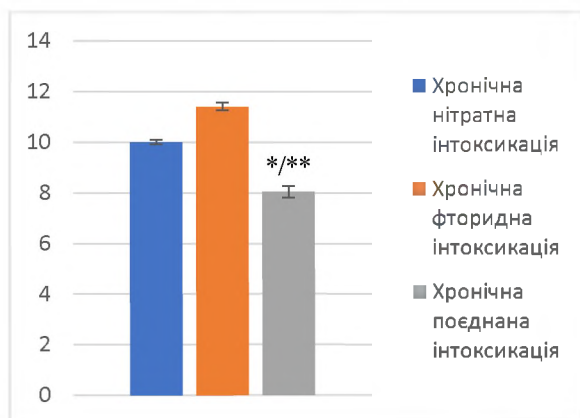


Рисунок 3.4.7

Продукція  $O_2^{\cdot-}$  від мікросомального  
ЕТЛ, нмоль/с на г

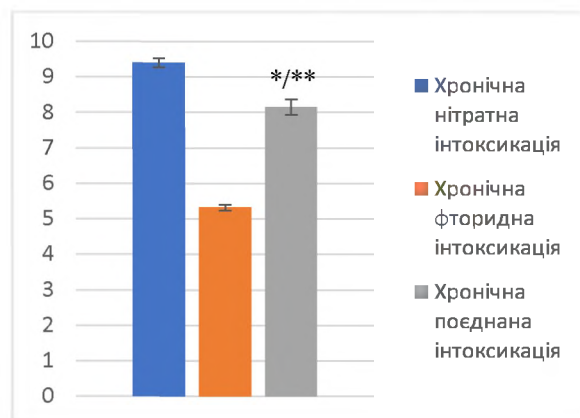


Рисунок 3.4.8

Продукція  $O_2^{\cdot-}$  від мітохондріального  
ЕТЛ, нмоль/с на г

Продукція  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ шурів від мікросомального ЕТЛ в умовах поєднаної інтоксикації знижується на 29,47% порівняно із хронічною фторидною інтоксикацією (рис. 3.4.7), при порівнянні із хронічною нітратною інтоксикацією

знижується на 19,60%.

Продукція  $O_2^-$  від мітохондріального ЕТЛ в умовах поєднаної інтоксикації збільшується на 53,20% порівняно із хронічною фторидною інтоксикацією (рис. 3.4.8), проте знижується на 13,39% при порівнянні із хронічною нітратною інтоксикацією.

Отже, нітрати та фториди в умовах їх надлишкового надходження до організму мають виражену антагоністичну дію на продукцію  $O_2^-$  від НАДФН<sub>2</sub>-оксидази фагоцитів та мітохондріального ЕТЛ. В дії на НАДФН<sub>2</sub>-оксидазу превалюють фторидні ефекти, а в дії на мітохондріальний ЕТЛ – нітратні. Незважаючи на однакову спрямованість ефектів хронічної нітратної та хронічної фторидної інтоксикації на мікросомальний ЕТЛ, в умовах їх поєднання спостерігається взаємоподавляючий ефект.

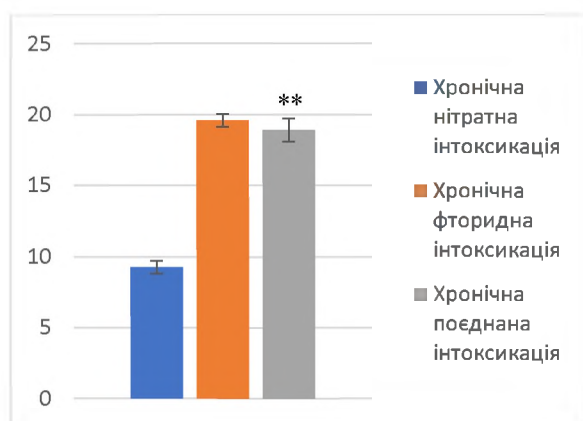


Рисунок 3.4.9  
Концентрація нітритів,  
нмоль/г

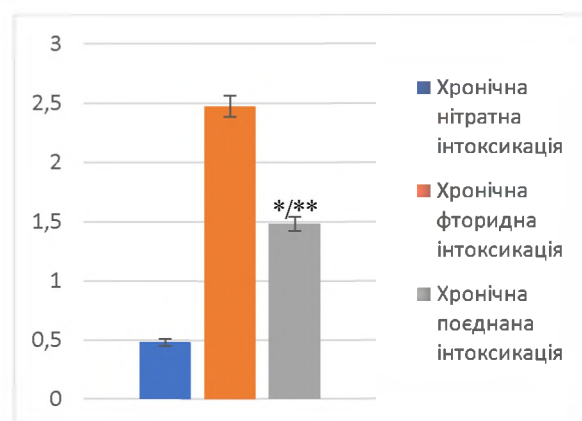


Рисунок 3.4.10  
Концентрація пероксинітриту,  
мкмоль/г

Вміст нітритів в СОШ щурів в умовах поєднаної інтоксикації збільшується в 2,04 рази порівняно із хронічною нітратною інтоксикацією (рис. 3.4.9), а порівняно з хронічною фторидною інтоксикацією статистично значуще не змінюється.

Вміст пероксинітриту в СОШ щурів в умовах поєднаної інтоксикації збільшується в 3,08 рази порівняно із хронічною нітратною інтоксикацією (рис. 3.4.10), проте зменшується порівняно із хронічною фторидною інтоксикацією на 40,08%.

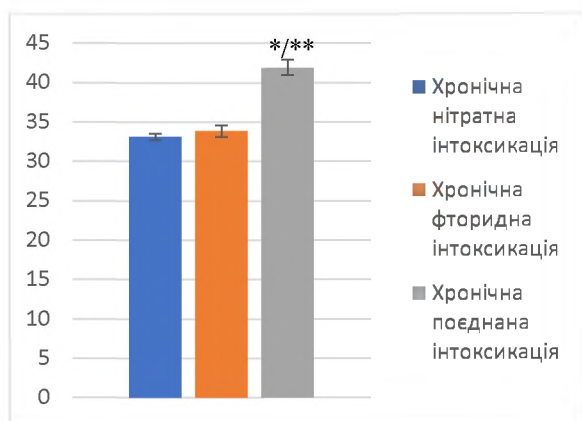


Рисунок 3.4.11

НАДФН-залежна продукція пероксинітриру, нмоль/с на г

Хронічна поєднана інтоксикація збільшує НАДФН-залежну продукцію  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів на 23,69% порівняно із фторидною інтоксикацією (рис. 3.4.11) та на 26,50% порівняно із нітратною інтоксикацією.

Хронічна поєднана інтоксикація в СОШ щурів збільшує НАДФН-залежну продукцію  $\text{ONOO}^-$  на 7,86% порівняно із фторидною інтоксикацією (рис. 3.4.12) та на 32,88% порівняно із нітратною інтоксикацією.

Отже, фториди та нітрати в СОШ щурів мають синергічну дію по відношенню до НАДФН- та НАДФН-залежної продукції  $\text{ONOO}^-$ .

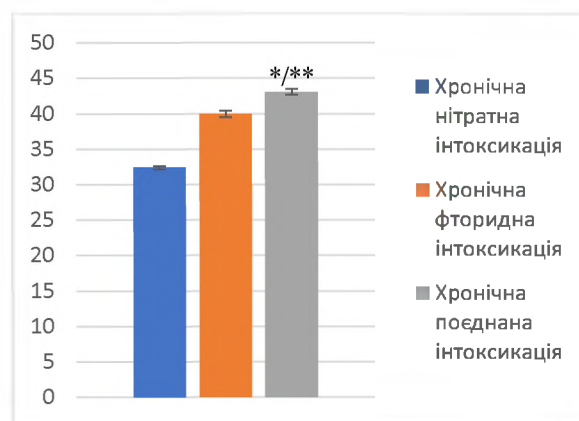


Рисунок 3.4.12

НАДФН-залежна продукція пероксинітриру, нмоль/с на г

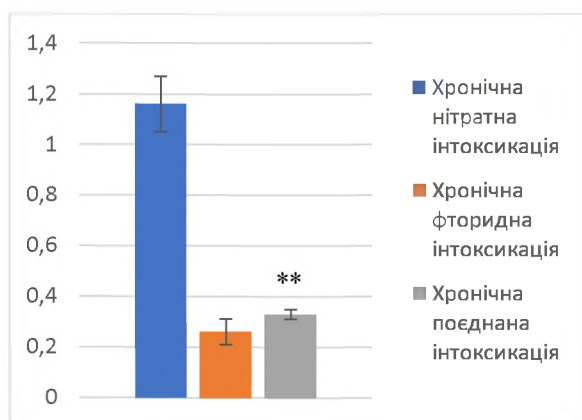


Рисунок 3.4.13

Активність СОД, у.о.

Хронічна нітратно-фторидна інтоксикація в СОШ щурів знижує активність СОД порівняно із хронічною нітратною інтоксикацією в 3,52 рази (рис. 3.4.13) та

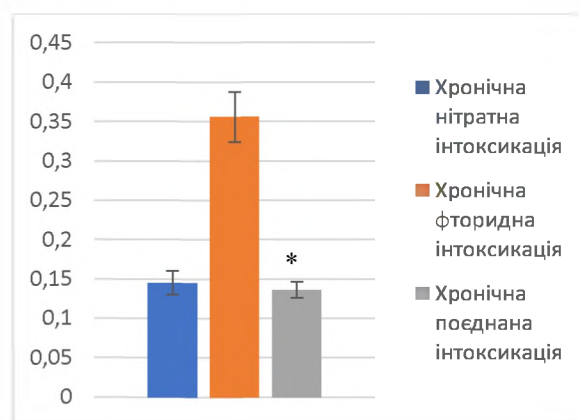


Рисунок 3.4.14

Активність каталази, мккат/г

статистично значуще не змінює активність СОД порівняно із хронічною фторидною інтоксикацією. Отже, інгібуючий вплив на СОД в умовах поєднаної інтоксикації пов'язаний з фторидним компонентом поєднаної інтоксикації.

Хронічна нітратно-фторидна інтоксикація в СОШ щурів знижує активність каталази порівняно із хронічною фторидною інтоксикацією в 2,62 рази (рис. 3.4.14) та статистично значуще не змінює активність каталази порівняно із хронічною нітратною інтоксикацією. Отже, інгібуючий вплив на каталазу в умовах поєднаної інтоксикації пов'язаний з нітратним компонентом поєднаної інтоксикації

Нітрати та фториди в умовах їх поєднання мають взаємодоповнюючий вплив на супероксиддисмутазно-каталазну ланку антиоксидантної системи в СОШ щурів та призводять до її інгібування.

Хронічна поєднана інтоксикація збільшує вміст ОМБ в СОШ щурів на 31% порівняно із хронічною нітратною інтоксикацією (рис. 3.4.15). Вміст ОМБ в СОШ щурів порівняно із хронічною фторидною інтоксикацією знижується на 31,88%.

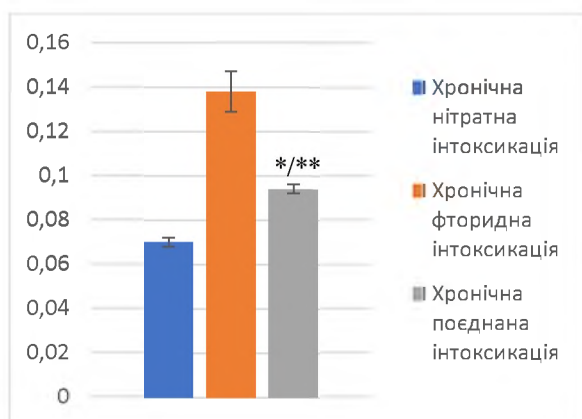


Рисунок 3.4.15

Вміст ОМБ

у.о.

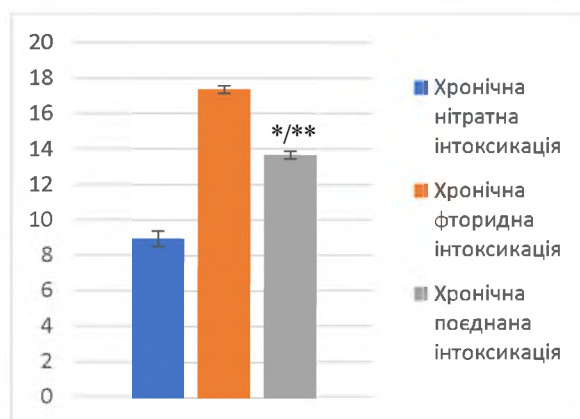


Рисунок 3.4.16

Концентрація ТБК-реактивів,

мкмоль/л

Вміст ТБК-реактивів в СОШ щурів знижується на 21,28% порівняно із фторидною інтоксикацією (рис. 3.4.16), але збільшується на 52,86% порівняно із нітратною інтоксикацією.

Отже, нітратний компонент поєднаної інтоксикації в СОШ щурів обмежує оксидативне ушкодження білків та накопичення вторинних продуктів пероксидації ліпідів. Поєднана інтоксикація статистично значуще не змінює вміст вільного L-

оксипроліну в гомогенаті СОШ щурів (рис. 3.4.17) порівняно із групою фторидної інтоксикації, але збільшує вміст вільного L-оксипроліну в 1,69 рази порівняно із групою нітратної інтоксикації.

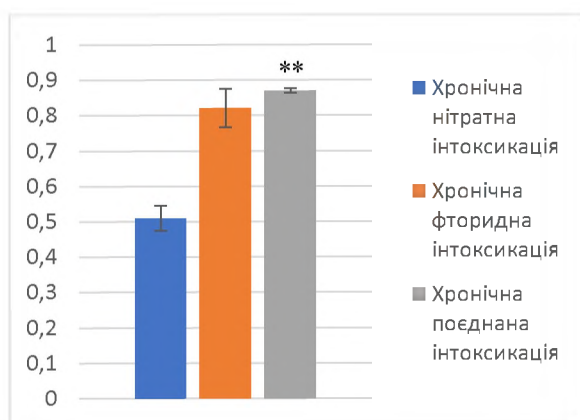


Рисунок 3.4.17

Вміст вільного L-оксипроліну  
мкмоль/г

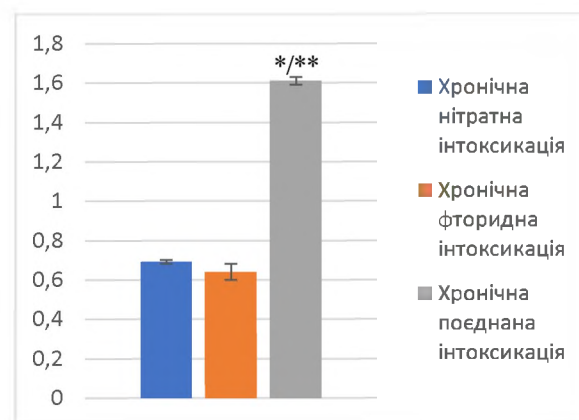


Рисунок 3.4.18

Концентрація ГАГ,  
мкмоль/л

Вміст ГАГ в СОШ щурів в умовах хронічного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію зростає на 152% порівняно із групою хронічної фторидної інтоксикації (рис. 3.4.18) та на 133% порівняно із групою хронічної нітратної інтоксикації.

Отже, нітратний компонент поєднаної інтоксикації не впливає на процеси колагенолізу в СОШ щурів, проте поєднання нітратів та фторидів посилює процеси розпаду аморфної речовини в сполучнотканинних елементах СОШ щурів.

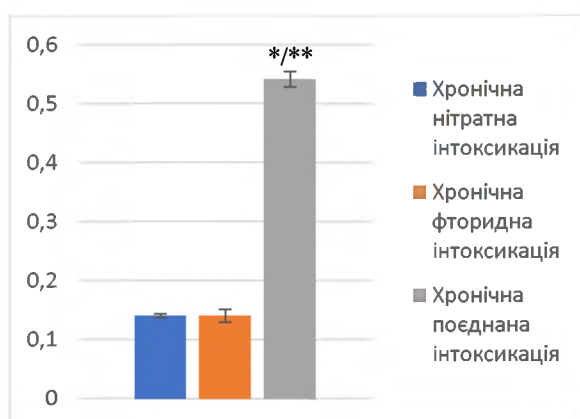


Рисунок 3.4.19

Концентрація НнГАГ,  
мкмоль/л

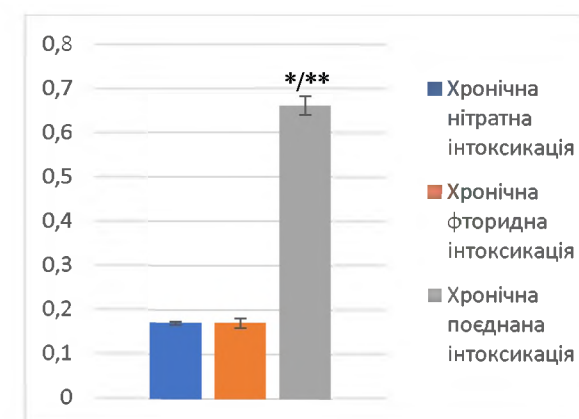


Рисунок 3.4.20

Концентрація КдГАГ,  
мкмоль/л

Поєднана інтоксикація збільшує вміст НнГАГ в 3,86 рази порівняно із

нітратною та фторидною інтоксикаціями (рис. 3.4.19).

Вміст KdГАГ збільшується в 3,88 рази порівняно нітратною та фторидною інтоксикаціями (рис. 3.4.20).

Концентрація ChГАГ збільшується на 16,67% порівняно із групою хронічної фторидної інтоксикації (рис. 3.4.21) та на 10,53% порівняно із групою хронічної нітратної інтоксикації.

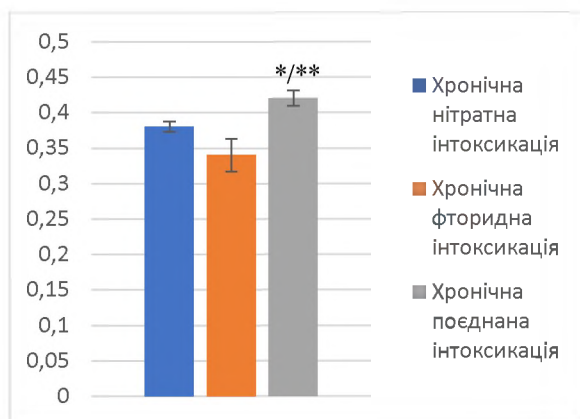


Рисунок 3.4.21  
Концентрація ChГАГ,  
мкмоль/л

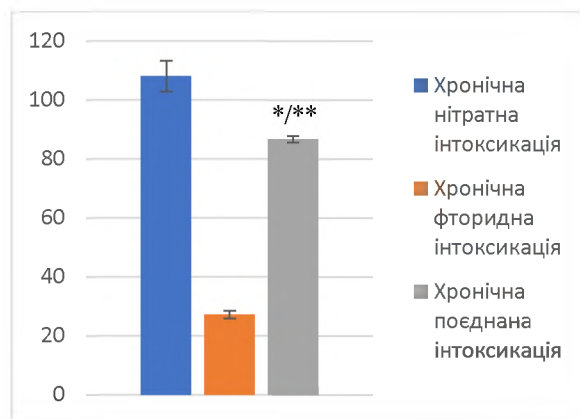


Рисунок 3.4.22  
Активність ОрДК,  
нкат/г

Отже, поєднання нітратів та фторидів, на противагу ізольованим нітратним та фторидним ефектам, збільшує концентрацію протизапальних та регенераторних фракцій ГАГ (NhГАГ та KdГАГ) в СОШ щурів та має синергічний ефект щодо зростання концентрації ChГАГ.

Враховуючи синергічний ефект нітратів та фторидів на базову продукцію  $O_2^{\cdot-}$  та взаємодоповнюючий інгібіторний ефект на активність супероксиддисмутазно-каталазної ланки антиоксидантної системи збільшення концентрації фракцій ГАГ в СОШ щурів, які мають антиоксидантні властивості, можна розглядати як компенсаторну реакцію на ушкодження клітин.

Активність ОрДК в СОШ щурів знижується порівняно із групою хронічної натратної інтоксикації на 19,78% (рис. 3.4.22), проте збільшується в 3,19 рази порівняно із групою хронічної фторидної інтоксикації. В цілому зміни в активності ОрДК схожі з такими, що відбуваються із аргіназами, що обумовлено тим, що ОрДК використовує у якості субстрату продукт реакції аргіназ – L-орнітин.



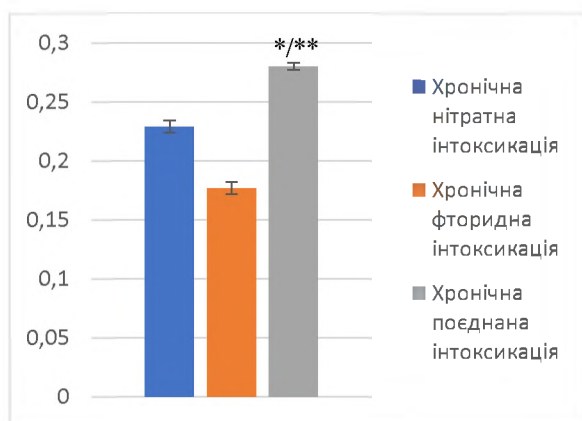


Рисунок 3.4.23  
Концентрація ДК,  
мкмоль/мл

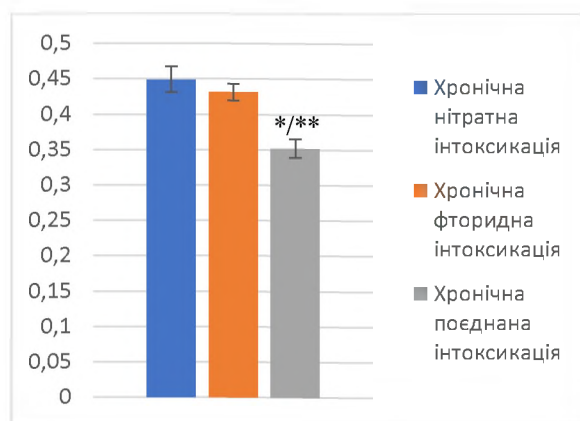


Рисунок 3.4.24  
Концентрація ОДК,  
мкмоль/мл

Концентрація ДК в СОШ щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації збільшується порівняно із фторидною інтоксикацією на 22,81% (рис. 2.4.23) та на 58,19% порівняно із нітратною інтоксикацією.

Концентрація ОДК в СОШ щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації знижується порівняно із фторидною інтоксикацією на 18,33% (рис. 2.4.24) та на 19,67% порівняно із нітратною інтоксикацією.

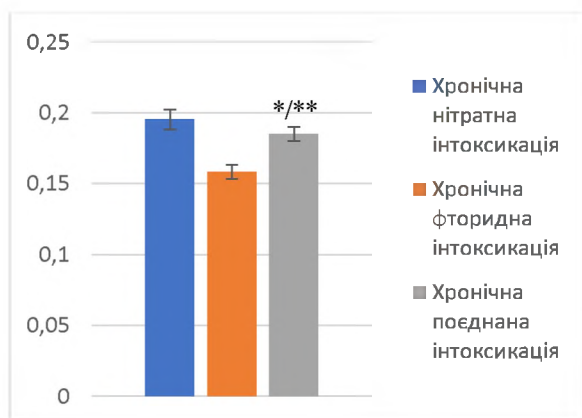


Рисунок 3.4.25  
Концентрація ТК, мкмоль/мл

Поєднана нітратно-фторидна інтоксикація збільшує вміст ТК в СОШ щурів на 17,09% при порівнянні із хронічною фторидною інтоксикацією (рис. 3.4.25), проте знижує вміст ТК на 5,13% при порівнянні із хронічною нітратною інтоксикацією.

Отже, вплив поєднання нітратів та фторидів на утворення гідроперекисів

ліпідів в СОШ щурів залежить від виду жирної кислоти. Так, поєднання нітратів та фторидів посилює формування ДК (синергічний ефект), знижує формування ОДК (взаємонейтралізуючий ефект) та проявляє виражений антагонізм щодо впливу на формування ТК.

Отже, фторидний компонент поєднаної інтоксикації в СОШ щурів має наступні ефекти: посилює активність NOS, знижує активність аргіназ та ОрДК, збільшує продукцію та вміст  $\text{ONOO}^-$ , збільшує вміст нітритів, посилює продукцію  $\text{O}_2^-$  від НАДФН<sub>2</sub>-оксидази фагоцитів, знижує активність СОД, інтенсифікує оксидативну модифікацію білків та процеси колагенолізу.

Нітратний компонент поєднаної інтоксикації в СОШ щурів має наступні ефекти: знижує активність NOS, підвищує активність аргіназ та ОрДК, збільшує активність нітратредуктаз, обмежує формування та вміст  $\text{ONOO}^-$ , збільшує продукцію  $\text{O}_2^-$  від мітохондріального ЕТЛ, обмежуючи при цьому продукцію  $\text{O}_2^-$  від НАДФН<sub>2</sub>-оксидази фагоцитів, знижує активність каталази, обмежує оксидативну модифікацію білків та накопичення вторинних продуктів ПОЛ, проте збільшує вміст ТК.

Взаємодія нітратів та фторидів підчас їх поєднаного впливу на СОШ щурів призводить до: посилення активності нітритредуктаз, збільшення базової продукції  $\text{O}_2^-$ , знижує продукцію від  $\text{O}_2^-$  мікросомального ЕТЛ, збільшує розпад аморфної речовини сполучнотканинних елементів СОШ щурів та призводить до збільшення концентрації протизапальних та посилюючих регенерацію фракцій ГАГ, збільшує вміст ДК, але знижує вміст ОДК.

Матеріали розділу відображені в 5 статтях та 4 наукових тезах [241, 242, 245, 246, 247, 248, 255, 256, 257].

## РОЗДІЛ 4

### КОРЕКЦІЯ ЕНТЕРОСОРБЕНТАМИ МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН В СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОГО НАДЛИШКОВОГО НАДХОДЖЕННЯ НІТРАТУ ТА ФТОРИДУ НАТРІЮ

Враховуючи дані подані у РОЗДІЛІ 3 щодо впливу статі на розвиток метаболічних змін в СОШ щурів за умов хронічного поєднаного надходження нітратів та фторидів, а саме відсутність статистично значущого впливу, у РОЗДІЛІ 4 результати досліджень подані без розподілу за статтю. Дані щодо розподілу ознак за статтю у групах тварин, що отримували ентеросорбенти на фоні моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації наведені у Додатку 1.

Результати у таблицях 4.1-4.9. представлені у наступному вигляді:

Група ХПІ – група хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації.

Група nSil – тварини, що отримували nSil на фоні моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації.

Група Carb – тварини, що отримували Carb на фоні моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації

Група Lig – тварини, що отримували Lig на фоні моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації

Застосування nSil в умовах хронічного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію зменшує активність NOS в СОШ щурів на 13,82% при порівнянні із групою хронічної нітратно-фторидної інтоксикації (Таб. 4.1.), активність нітритредуктаз знижується на 34,69%, активність нітрат редуктаз знижується на 35,35%. Вміст нітритів в СОШ щурів знижується в 2,49 рази.

Застосування Carb для корекції хронічної нітратно-фторидної інтоксикації зменшує активність NOS в СОШ щурів на 30,88% при порівнянні із групою ХПІ; активність нітритредуктаз знижується на 30,44%; активність нітратредуктаз статистично значуще не змінюється. Вміст нітритів в СОШ щурів знижується в 5,74 рази. [296, 297, 298, 299, 300, 301]

Таблиця 4.1.

Вплив ентеросорбентів на продукцію оксиду азоту та вміст нітритів в СОШ щурів за умов хронічної поєднаної інтоксикації. (M±m)

Показники	Групи			
	Група ХПІ, n=15	Група nSil, n=10	Група Carb, n=13	Група Lig, n=15
Активність NOS, мкмоль/хв на г білку	7,74 ±0,27	6,67 ±0,41*/†	5,35 ±0,25*/#	9,57 ±1,4
Активність нітритредуктаз, мкмоль/хв на г білку	11,30 ±0,48	7,38 ±0,42*	7,86 ±0,68*	15,13 ±1,41*/#/†
Активність нітратредуктаз, мкмоль/хв на г білку	10,27 ±0,63	6,64 ±0,41*/†	12,14 ±0,87#	7,18 ±1,07 †
Вміст нітритів нмоль/г	18,90 ±0,80	7,59 ±0,68*/†	3,29 ±0,28*/#	6,62 ±0,65*/†

Примітка: \* - різниця є статистично значущою (P<0,05) при порівнянні з контрольною групою. # - різниця є статистично значущою (P<0,05) при порівнянні з групою nSil в таблицях 4.1. – 4.9. † - різниця є статистично значущою (P<0,05) при порівнянні з групою Carb в таблицях 4.1. – 4.9

Суспензія Lig статистично значуще не впливає на активність NOS в СОШ щурів; активність нітритредуктаз зростає на 33,89%; активність нітратредуктаз статистично значуще не змінюється. Вміст нітритів в СОШ щурів знижується в 2,85 рази.

Суспензія nSil збільшує активність NOS в СОШ щурів при порівнянні із групою Carb на 19,79% та статистично значуще не змінює активність NOS при порівнянні із групою Lig. Активність нітритредуктаз при порівнянні суспензії nSil та Carb статистично значуще не змінюється. Проте суспензія nSil знижує активність нітритредуктаз відносно групи Lig в 2,05 рази. Суспензія nSil не впливає

на активність нітратредуктаз при порівнянні із групою Lig, проте знижує в 1,83 рази при порівнянні із групою Carb. Вміст нітритів у СОШ щурів при використанні nSil є більшим ніж при використанні Carb у 2,31 рази. При порівнянні впливу суспензій nSil та Carb на вміст нітритів у СОШ щурів статистично значущих відмінностей не виявлено.

Суспензія Lig при порівнянні із суспензією Carb збільшує вміст нітритів в СОШ щурів у 2,01 рази; не впливає на активність NOS; збільшує активність нітритредуктаз на 92,49%, але зменшує активність нітратредуктаз на 40,86%.

*Таблиця 4.2.*

Вплив ентеросорбентів на функціонування аргіназного шляху метаболізму L-аргініну в СОШ щурів за умов хронічної поєднаної інтоксикації. (M±m)

Показники	Групи			
	Група ХПІ, n=15	Група nSil, n=10	Група Carb, n=13	Група Lig, n=15
Активність аргіназ, мкмоль/хв на г білку	3,34 ±0,08	2,05 ±0,03*/†	5,02 ±0,47*/#	2,39 ±0,28*/†
Активність ОрДК, нмоль/хв на г	86,61 ±1,08	59,3 ±2,4*/†	68,56 ±2,66*/#	54,56 ±4,29*/†

Отже, суспензія nSil є ефективнішою за суспензії Carb та Lig у корекції надмірної продукції NO в СОШ щурів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації, оскільки знижує продукцію NO як L-аргінін-залежним так і L-аргінін-незалежним шляхом та зменшує вміст стабільного метаболіту NO – нітриту в СОШ щурів.

Застосування суспензії nSil за умов хронічного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію знижує активність аргіназ в СОШ щурів у 1,63 рази (Таб. 4.2.), активність ОрДК знижується на 31,53%.

Застосування суспензії Carb за умов хронічного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію збільшує активність аргіназ в СОШ щурів у 1,5 рази, проте активність ОрДК знижується на 20,84%.

Застосування суспензії Lig за умов хронічного надлишкового надходження

нітрату та фториду натрію знижує активність аргіназ в СОШ щурів у 1,38 рази, активність ОрДК знижується на 37%.

Суспензія nSil статистично значуще не впливає на активність аргіназ в СОШ щурів при порівнянні із суспензією Lig, проте знижує їх активність в 2,45 рази порівняно із суспензією Carb. Суспензія nSil статистично значуще не впливає на активність ОрДК при порівнянні із суспензією Lig, проте знижує їх активність на 13,5% порівняно із суспензією Carb.

Таблиця 4.3.

Вплив ентеросорбентів на продукцію  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів за умов хронічної поєднаної інтоксикації. ( $M \pm m$ )

Продукція $O_2^{\cdot-}$ , нмоль/с на г тканини	Групи			
	Група ХПІ, n=15	Група nSil, n=10	Група Carb, n=13	Група Lig, n=15
Базова	1,19 $\pm 0,01$	0,86 $\pm 0,01^*/\dagger$	0,93 $\pm 0,02^*/\#$	0,92 $\pm 0,03^*/\#$
Від мікросомального ЕТЛ	8,04 $\pm 0,22$	7,19 $\pm 0,17^*/\dagger$	11,9 $\pm 0,99^*/\#$	7,86 $\pm 0,24\dagger$
Від мітохондріального ЕТЛ	8,15 $\pm 0,22$	6,12 $\pm 0,09^*/\dagger$	7,29 $\pm 0,09^*/\#$	12,21 $\pm 0,69^*/\#/\dagger$
Від фагоцитів тканини	1,78 $\pm 0,02$	1,3 $\pm 0,04^*/\dagger$	0,70 $\pm 0,01^*/\#$	1,3 $\pm 0,06^*/\dagger$

Суспензія Lig знижує активність аргінази та ОрДК в СОШ щурів порівняно із суспензією Carb на 110,04% та 20,42% відповідно. [302, 303]

Продукція  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів за умов застосування суспензії nSil для корекції нітратно-фторидної інтоксикації знижується від усіх досліджуваних джерел (Таб. 4.3.), а саме базова продукція  $O_2^{\cdot-}$  знижується на 27,73%, від мікросомального ЕТЛ на 10,57%, від мітохондріального ЕТЛ на 24,91%, від фагоцитів тканини на 26,97%.

При застосуванні суспензії Carb базова продукція  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів

знижується на 21,84%, від мітохондріального ЕТЛ на 10,55%, від фагоцитів тканини на 60,67%, проте продукція  $O_2^-$  від мікросомального ЕТЛ збільшується на 48,01%.

При застосуванні суспензії Lig базова продукція  $O_2^-$  в СОШ щурів знижується на 22,69%, від мікросомального ЕТЛ статистично значуще не змінюється, від мітохондріального ЕТЛ збільшується на 49,82%, від фагоцитів тканини зменшується на 26,97%.

Таблиця 4.4.

Вплив ентеросорбентів на зміни активності антиоксидантних ферментів СОШ щурів за умов хронічної поєднаної інтоксикації. (M±m)

Показники	Групи			
	Група ХПІ, n=15	Група nSil, n=10	Група Carb, n=13	Група Lig, n=15
Активність СОД, у.о.	0,33 ±0,02	1,04 ±0,19*	0,78 ±0,07*	0,75 ±0,04*/#
Активність каталази, мккат/хв на г	0,136 ±0,010	0,250 ±0,002*	0,254 ±0,024*	0,257 ±0,021*

Суспензія nSil знижує базову продукцію  $O_2^-$  в СОШ щурів відносно суспензії Carb на 7,5%, відносно суспензії Lig на 6,5%. Продукція  $O_2^-$  від мікросомального ЕТЛ знижується на 39,58% відносно суспензії Carb та статистично значуще не змінюється відносно суспензії Lig. Продукція  $O_2^-$  від мітохондріального ЕТЛ знижується на 16,05% відносно суспензії Carb та на 49,88% відносно суспензії Lig. Продукція  $O_2^-$  від фагоцитів тканини збільшується на 85,71% відносно суспензії Carb та статистично значуще не змінюється відносно суспензії Lig.

Суспензія Lig статистично значуще не змінює базову продукцію  $O_2^-$  в СОШ щурів відносно суспензії Carb. Суспензія Lig зменшує продукцію  $O_2^-$  від мікросомального ЕТЛ на 33,95%, проте збільшує продукцію  $O_2^-$  від мітохондріального ЕТЛ та фагоцитів СОШ на 68,49% та 85,71% відповідно.

Отже, суспензія nSil є ефективнішою в корекції надмірної продукції АФК в

СОШ щурів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації порівняно із суспензіями Carb та Lig, оскільки знижує продукцію  $O_2^{\cdot-}$  від усіх досліджуваних джерел.

Застосування суспензії nSil для корекції нітратно-фторидної інтоксикації збільшує активність СОД та каталази в СОШ щурів в 3,15 рази та 1,84 рази відповідно (Таб. 4.4.).

Таблиця 4.5.

Вміст пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів та продукція  $ONOO^{\cdot-}$  в СОШ щурів в умовах корекції хронічної поєднаної інтоксикації ентерособентами. ( $M \pm m$ )

Показники	Групи			
	Група ХПІ, n=15	Група nSil, n=10	Група Carb, n=13	Група Lig, n=15
Вміст $ONOO^{\cdot-}$ , мкмоль/г	1,48 ±0,06	1,22 ±0,05*/†	2,65 ±0,06*/#	1,71 ±0,11*/#/†
Нестимульована продукція $ONOO^{\cdot-}$ , нмоль/с на г	3,44 ±0,14	2,02 ±0,26*	2,48 ±0,38*	1,34 ±0,29*
НАДФН <sub>2</sub> - стимульована продукція $ONOO^{\cdot-}$ , нмоль/с на г	41,87 ±0,98	36,21 ±0,67*/†	31,86 ±0,41*/#	71,68 ±0,82*/#/†
НАДН <sub>2</sub> - стимульована продукція $ONOO^{\cdot-}$ , нмоль/с на г	43,08 ±0,38	40,37 ±1,07*/†	35,49 ±0,46*/#	72,75 ±0,85*/#/†

Суспензія Carb збільшує активність СОД в СОШ щурів на 136,36%, активність каталази зростає в 1,87 рази. Суспензія Lig збільшує активність СОД та активність каталази на 127,27% та в 1,89 рази відповідно. [304, 305, 306, 307, 308,



309]

Суспензія nSil статистично значуще не впливає на активність СОД в СОШ щурів порівняно із суспензією Carb та збільшує активність СОД на 36,67% порівняно із суспензією Lig. Статистично значущих відмінностей щодо впливу суспензій сорбентів на активність каталази в умовах моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації не встановлено.

Суспензія nSil зменшує вміст  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів на 17,57% за умов моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації (Таб. 4.5.). Нестимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів знижується на 41,28%, НАДФН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  знижується на 13,52%, НАДН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  знижується на 6,29%.

Суспензія Carb збільшує вміст  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів на 79,65% за умов моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації. Нестимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів знижується на 27,91%, НАДФН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  знижується на 23,91%, НАДН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  знижується на 17,61%.

Суспензія Lig збільшує вміст  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів на 15,54% за умов моделювання хронічної нітратно-фторидної інтоксикації. Нестимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів знижується на 61,05%, НАДФН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  збільшується в 1,71 рази НАДН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  збільшується в 1,69 рази.

Суспензія nSil зменшує вміст  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів на 40,16% відносно суспензії Lig та зменшує в 2,17 рази відносно суспензії Carb. Відносно суспензії Carb збільшується НАДФН<sub>2</sub>-стимульована та НАДН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  на 13,65% та 13,75% відповідно. Відносно суспензії Lig зменшується НАДФН<sub>2</sub>-стимульована та НАДН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  в 1,98 рази та 1,8 рази відповідно.

Суспензія Lig збільшує вміст  $\text{ONOO}^-$  в СОШ щурів на 54,87 рази порівняно із суспензією Carb. Відносно суспензії Carb збільшується НАДФН<sub>2</sub>-стимульована та НАДН<sub>2</sub>-стимульована продукція  $\text{ONOO}^-$  в 2,26 рази та 2,05 рази відповідно.

Статистично значущих відмінностей між суспензіями сорбентів щодо їх впливу на нестимульовану продукцію ONOO<sup>-</sup> в СОШ щурів не встановлено.

Отже, суспензія nSil є ефективнішою за суспензії Carb та Lig в якості коригуючого засобу в умовах хронічного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію щодо зменшення продукції ONOO<sup>-</sup> в СОШ щурів та вмісту його стабільних метаболітів.

Таблиця 4.6.

Вплив ентеросорбентів на концентрацію первинних продуктів ПОЛ в СОШ щурів за умов хронічної поєднаної інтоксикації. (M±m)

Показники	Групи			
	Група ХПІ, n=15	Група nSil, n=10	Група Carb, n=13	Група Lig, n=15
Концентрація ДК, мкмоль/мл	0,280 ±0,003	0,243 ±0,007*/†	0,263 ±0,002*/#	0,237 ±0,003*/†
Концентрація ОДК, мкмоль/мл	0,352 ±0,013	0,298 ±0,002*	0,287 ±0,004*	0,329 ±0,002*/#/†
Концентрація ТК, мкмоль/мл	0,185 ±0,005	0,158 ±0,001*	0,159 ±0,005*	0,162 ±0,004*

Використання суспензії nSil у якості ентеросорбента для корекції хронічної нітратно-фторидної інтоксикації зменшує вміст ДК в СОШ щурів на 13,21%, ОДК на 15,34% та ТК на 14,59% (Таб. 4.6).

Суспензія Carb зменшує вміст ДК в СОШ щурів на 6,07%, ОДК на 18,47% та ТК на 14,05%. Суспензія Lig зменшує вміст ДК в СОШ щурів на 15,36%, ОДК на 6,53% та ТК на 12,43%.

Суспензія nSil статистично значуще не впливає на вміст ДК в СОШ щурів порівняно із суспензією Lig, проте зменшує вміст ДК порівняно із суспензією Carb на 7,6%. Вплив суспензії nSil на ОДК в СОШ щурів статистично значуще не відрізняється від впливу суспензії Carb, проте вміст ОДК є нижчим на 9,42% порівняно із суспензією Lig.

Суспензія Lig зменшує вміст ДК на 9,89% порівняно із суспензією Carb; вміст

ОДК є вищим порівняно із суспензією Carb на 14,63%.

Статистично значущих відмінностей у впливі суспензій сорбентів на вміст ТК в СОШ щурів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації не встановлено.

Отже, всі досліджувані суспензії сорбентів є ефективними щодо зменшення вмісту первинних продуктів ПОЛ в СОШ щурів в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації.

Таблиця 4.7.

Концентрація вторинних продуктів ПОЛ та інтегральний показник антиоксидантної активності в СОШ щурів за умов корекції хронічної поєднаної інтоксикації ентеросорбентами. (M±m)

Показники	Групи			
	Група ХПІ, n=15	Група nSil, n=10	Група Carb, n=13	Група Lig, n=15
Концентрація ТБК-реактантів до інкубації, мкмоль/л	13,65 ±0,11	7,02 ±0,23*/†	9,62 ±0,32*/#	10,95 ±0,81*/#
Концентрація ТБК-реактантів після інкубації, мкмоль/л	34,18 ±1,38	21,78 ±0,76	24,28 ±0,78	29,6 ±0,88
Приріст ТБК-реактантів після інкубації, мкмоль/л	20,53 ±1,33	14,76 ±0,67*	14,66 ±0,74*	18,63 ±0,36#/#

Суспензія nSil зменшує вміст ТБК-реактантів в СОШ щурів до інкубації в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації в 1,94 рази. Приріст ТБК-реактантів після інкубації зменшується на 28,11% (Таб. 4.7.).

Суспензія Carb зменшує вміст ТБК-реактантів в СОШ щурів до інкубації в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації на 29,52%. Приріст ТБК-реактантів після інкубації зменшується на 28,59%.

Суспензія Lig зменшує вміст ТБК-реактантів в СОШ щурів до інкубації в

умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації на 19,78%. Приріст ТБК-реактантів після інкубації статистично значуще не змінюється.

Суспензія nSil зменшує вміст ТБК-реактантів в СОШ щурів до інкубації на 27,03% порівняно із суспензією Carb та на 35,89% порівняно із суспензією Lig. Приріст ТБК-реактантів в СОШ щурів порівняно із суспензією Carb статистично значуще не змінюється, проте зменшується на 20,77% при порівнянні із суспензією Lig.

Таблиця 4.8.

Концентрація ОМБ в СОШ щурів за умов хронічної поєднаної інтоксикації та її корекції ентеросорбентами. (M±m)

Показники	Групи			
	Група ХПІ, n=15	Група nSil, n=10	Група Carb, n=13	Група Lig, n=15
Концентрація ОМБ, у.о.	0,094 ±0,002	0,060 ±0,006*	0,061 ±0,008*	0,075 ±0,002*

Суспензія Lig статистично значуще не впливає на вміст ТБК-реактантів в СОШ щурів до інкубації при порівнянні із суспензією Carb, проте збільшує приріст ТБК-реактантів після інкубації на 27,08% порівняно із суспензією Carb.

Отже, суспензія nSil ефективніше за суспензії Carb та Lig нівелює процеси ПОЛ в СОШ щурів, що активуються в умовах хронічного надлишкового надходження нітратів та фторидів.

Суспензія nSil знижує вміст ОМБ в СОШ щурів в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації на 36,17%, суспензія Carb на 35,11%, суспензія Lig на 20,21% (Таб. 4.8.). Статистично значущих відмінностей у впливі суспензій сорбентів на вміст ОМБ в СОШ щурів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації не встановлено.

Отже, всі досліджувані сорбенти однаково ефективно перешкоджають ушкодженню білкових молекул в СОШ щурів в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації.

Суспензія nSil знижує загальний вміст ГАГ в СОШ щурів в умовах

хронічного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію на 18,01% (Таб. 4.9.). Суспензія Carb збільшує загальний вміст ГАГ на 37,27%. Суспензія Lig статистично значуще не впливає на загальний вміст ГАГ у СОШ щурів. Суспензія nSil статистично значуще не впливає на вміст ГАГ у СОШ щурів порівняно із суспензією Lig, проте зменшує їх вміст на 40,27% порівняно із суспензією Carb. Суспензія Lig знижує загальний вміст ГАГ в СОШ щурів порівняно із суспензією Carb на 38,01%. [310, 311]

При аналізі фракцій ГАГ у СОШ щурів виявлено, що суспензія nSil збільшує концентрацію НhГАГ на 27,78%, проте зменшує концентрації KdГАГ та ChГАГ на 51,52% та 19,05% відповідно.

Таблиця 4.9.

Вплив ентеросорбентів на концентрацію ГАГ та процеси колагенолізу в СОШ щурів за умов хронічної поєднаної інтоксикації. (M±m)

Показники	Групи			
	Група ХПІ, n=15	Група nSil, n=10	Група Carb, n=13	Група Lig, n=15
Концентрація ГАГ, мкмоль/л	1,61 ±0,03	1,32 ±0,06*/†	2,21 ±0,07*/#	1,37 ±0,08 †
Концентрація НhГАГ, мкмоль/л	0,54 ±0,01	0,69 ±0,05*/†	0,49 ±0,03*/#	0,30 ±0,03*/#/†
Концентрація KdГАГ, мкмоль/л	0,66 ±0,02	0,32 ±0,02*	0,32 ±0,03*	0,41 ±0,03*/#/†
Концентрація ChГАГ, мкмоль/л	0,42 ±0,01	0,34 ±0,02*/†	1,39 ±0,09*/#	0,62 ±0,01*/#/†
Концентрація L- оксипроліну, мкмоль/г тканини	0,866 ±0,006	0,132 ±0,008*/†	0,328 ±0,037*/#	0,178 ±0,024*/†

Суспензія Carb зменшує вміст НhГАГ та KdГАГ в СОШ щурів на 9,26% та 51,52% відповідно, проте збільшує вміст ChГАГ в 3,31 рази. Суспензія Lig зменшує вміст НhГАГ та KdГАГ в СОШ щурів на 44,44% та 37,88% відповідно, проте

збільшує вміст ChГАГ на 47,62%. [312]

Суспензія nSil збільшує вміст HhГАГ в СОШ щурів порівняно із суспензіями Carb та Lig на 40,82% та 130% відповідно. Суспензія nSil статистично значуще не впливає на концентрацію KdГАГ порівняно із суспензією Carb, проте знижує концентрацію KdГАГ на 21,95% порівняно із суспензією Lig. Суспензія nSil знижує вміст ChГАГ порівняно із суспензіями Carb та Lig в 4,09 рази та 45,16% відповідно.

Суспензія Lig знижує вміст HhГАГ та ChГАГ в СОШ щурів на 38,78% та в 2,24 рази відповідно, проте збільшує вміст KdГАГ на 28,13% порівняно із суспензією Carb.

Концентрація L-оксипроліну в СОШ щурів при використанні суспензії nSil за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації зменшується в 6,56 рази; при використанні суспензії Carb в 2,64 рази; при використанні суспензії Lig в 4,87 рази.

Суспензія nSil зменшує концентрацію L-оксипроліну в СОШ щурів в 2,48 порівняно із суспензією Carb, у той час як суспензія Lig зменшує концентрацію L-оксипроліну в СОШ щурів при цьому ж порівнянні в 1,84 рази. Статистично значущих відмінностей в концентрації L-оксипроліну в СОШ щурів між суспензіями nSil та Lig не виявлено.

Отже, суспензії nSil та Lig є ефективнішими за суспензію Carb в нормалізації метаболізму сполучнотканинних елементів СОШ щурів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації.

Матеріали розділу відображені в 4 статтях та 13 наукових тезах [296-312].

## РОЗДІЛ 5

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

За даними наших досліджень, більшість негативних ефектів іонів фтору на СОШ щурів опосередкована збільшенням продукції АФК та пероксинітриту, та розвитком оксидативно-нітрозативного стресу. Нітрат-іони не призводять до збільшення продукції пероксинітриту, проте збільшують продукцію  $O_2^{\cdot-}$  та призводять до розвитку оксидативного ушкодження білкових та ліпідних структур в СОШ щурів.

Пероксинітрит-залежна сигналізація не є суто патологічною. Хоча пероксинітрит володіє потужними оксидативними можливостями та здатен нітрузувати молекули білків, які через це втрачають свою активність, змінюють свою функцію, або стають «невразливими» для протеосомного розщеплення. [313] Також пероксинітрит здатен викликати некроз, апоптоз, аутофагію, часткову загибель (партанатос) і некроптоз. [314] Проте пероксинітрит здатен впливати на комплекс IV мітохондрій в умовах дефіциту мерліну та сприяти продовженню клітинного поділу та виживанню клітин. [315]

Враховуючи збільшену продукцію пероксинітриту за умов фторидної інтоксикації та більшу, у порівнянні із нітратною та поєднаною інтоксикацією, ушкоджувальну дію на білкові молекули, що проявляється у збільшенні вмісту ОМБ у СОШ щурів, можна вважати, що пероксинітрит є важливим фактором фторид-індукованого ушкодження клітин СОШ щурів.

Нітрати та фториди проявляють прямий антагонізм щодо їх впливу на продукцію пероксинітриту в СОШ щурів. Причинами даного явища можуть бути: збільшена продукція NO L-аргінін-незалежним шляхом в СОШ щурів за умов нітратної інтоксикації або «перехоплення» (утилізація, англ. scavenge) пероксинітриту в умовах нітратної інтоксикації.

«Перехоплювачами» пероксинітриту можуть бути різні сполуки. Наприклад нітрат- та нітритредуктази можуть мати можливість «перехоплювати» пероксинітрит, що було показано в роботах Р. Ascenzi та співавт. та А.

Vishwakarma та співавт. [316, 317] P. Ascenzi та співавт. показали, що збільшення активності нітритредуктази *Methanosarcina acetivorans*, що представлена у вигляді протоглобіну, збільшує перехоплення та ізомеризацію пероксинітриту. [316] A. Vishwakarma та співавт. встановили, що альтернативна оксидаза здатна попереджати утворенню пероксинітриту. [317] Типовою ознакою для «перехоплювачів» пероксинітриту є атом заліза в активному центрі ферменту, що слугує джерелом електронів, необхідних для відновлення пероксинітриту до нітриту та оксиду азоту. [318]

Різниця між нітрат-іонами ( $\text{NO}_3^-$ ) та пероксинітритом ( $\text{ONOO}^-$ ) при однаковому атомарному складі іонів полягає у різній просторовій орієнтації даних іонів. (Рис. 5.1. та 5.2.). Також слід врахувати здатність пероксинітриту ізомеризуватись до нітрату та наявність двох ізоформ пероксинітриту (Рис.5.3.). [319, 320]

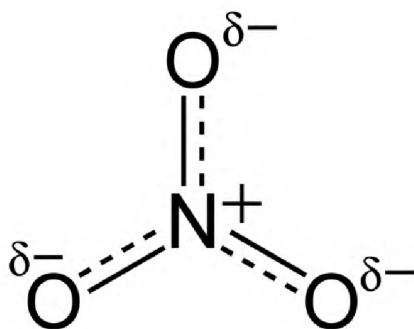


Рис. 5.1. Нітрат-іон

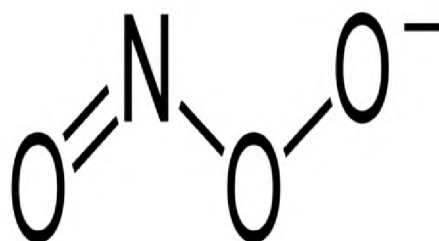


Рис.5.2. Пероксинітрит

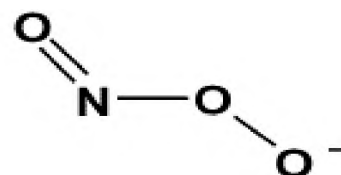


Рис. 5.3. Цис- (ліворуч) та Транс- (праворуч) ізоформи пероксинітриту. [320]

Транс- та цис- ізомери пероксинітриту мають різні властивості стосовно здатності окиснювати біологічні полімери. Так цис-пероксинітрит за фізіологічних значень рН (7,36-7,44) здатен реагувати із  $\text{CO}_2$  із утворенням нестабільного нітрозопероксікарбоната, який в подальшому нітрує тирозин із утворенням 3-нітротирозину. Транс-пероксинітрит за фізіологічних значень рН протонується та



втрачає здатність реагувати із  $\text{CO}_2$ , а отже, і нітрузувати тирозин в білкових молекулах. [321]

Саме здатністю нітратів до субстратної індукції активності нітрат-нітритредуктаз та здатністю пероксинітриту до ізомеризації можна пояснити інгібуючий ефект нітратів стосовно синтезу пероксинітриту. Також нітрати мають протилежний ефект порівняно із фторидами щодо утворення гіпоксії в тканинах. [322, 323, 324] Відсутність або зменшення гіпоксії при поєднанні нітратів та фторидів пояснює зменшення утворення пероксинітриту порівняно із групою фторидної інтоксикації, оскільки для цис-пероксинітриту  $\text{pK}_a=6,8$ .

Синергічна дія нітратів та фторидів стосовно збільшення продукції  $\text{O}_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів може бути пояснена взаємодоповнюючим впливом нітратів та фторидів на супероксиддисмутазно-каталазну систему з одного боку, так і більш інтенсивним впливом кожного із компонентів поєднаної інтоксикації на окремі джерела продукції  $\text{O}_2^{\cdot-}$ .

Так за даними літератури нітрати здатні пригнічувати активність НАДФН-оксидази фагоцитів тканини, в той час, як фториди, навпаки, здатні збільшувати її активність. [251, 252, 325] При поєднанні нітратів та фторидів за нашими експериментальними даними спостерігається превалювання ефектів фтору на НАДФН-оксидазу, що пояснюється більш глибокою (геномною) регуляцією її активності фторидами. [325]

Взаємоподавляючий ефект нітратів та фторидів на продукцію  $\text{O}_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів від мітосомального ЕТЛ може бути пояснений різним впливом на eNOS. Так нітрати, після відновлення до нітритів, здатні збільшувати активність eNOS в СОШ щурів, що, поряд із здатністю нітратів знижувати активність iNOS, сприяє збільшенню спряженості між eNOS та субстратом та зменшує продукцію  $\text{O}_2^{\cdot-}$ . [326, 327] Фториди ж, навпаки, здатні знижувати синтез оксиду азоту від eNOS в СОШ щурів та посилювати запалення у тканині, що посилює активність iNOS. [328, 329]

За результатами наших досліджень поєднання нітратів та фторидів значно знижує концентрацію вторинних продуктів ПОЛ в СОШ щурів порівняно із групою фторидної інтоксикації. Даний ефект поєднання нітратів та фторидів пояснюється

впливом нітрат-іонів. Нітрати здатні знижувати інтенсивність процесів ПОЛ в СОШ щурів. [330, 331] Проте збільшення дози нітратів, або гостра інтоксикація нітратами нівелює даний ефект. [332] Цим можна пояснити збільшення інтенсивності процесів ПОЛ в СОШ щурів за умов хронічної нітратної інтоксикації.

Важливу роль у зменшенні інтенсивності процесів ПОЛ в СОШ щурів відіграє оксид азоту, що утворюється із нітратів шляхом їх редукції до нітритів, а потім до NO. Також інтенсивність процесів ПОЛ в СОШ щурів в умовах нітратної інтоксикації залежить від кількості нітратів. Так за даними Q. Qi та співавт. нітрати у дозі 140 mM (11,9 г в перерахунку на нітрат натрію) викликають розвиток оксидативного стресу, який супроводжується зниженням продукції NO. [333] Збільшення продукції NO нівелює даний ефект. [333]

Причиною зменшення продукції NO L-аргінін-незалежним шляхом в СОШ щурів за умов надлишку нітрат-іонів може бути більша специфічність та тропність ферментів, які беруть участь у редукції нітратів до нітритів та NO, до нітратів, ніж до нітритів. Так за даними С. Damascena-Angelis та співавт. нітрати здатні знижувати активність ксантинвмісної оксидоредуктази по відношенню до відновлення нітритів до NO. [334] Хоча ксантинвмісна оксидоредуктаза має здатність як відновлювати нітрати, так і відновлювати нітрити із роботи С. Damascena-Angelis та співавт. впливає, що вона має більшу афінність до нітратів, та нездатна відновлювати нітрити при надлишку нітратів у середовищі. [334] За результатами наших досліджень вміст нітритів в СОШ щурів за умов хронічної нітратної інтоксикації знижувався, що свідчить про відсутність інгібуючого впливу обраної дози нітратів на ксантинвмісну оксидоредуктазу та збільшення продукції NO L-аргінін-незалежним шляхом.

Збільшення продукції NO L-аргінін-незалежним шляхом в СОШ щурів може призводити до утворення надмірної кількості S-нітрозотіолів, що у випадку нітрат-індукованого зниження вмісту відновленого глутатіону може призвести до розвитку оксидативного стресу. [335, 336, 337, 338]

Отже, в умовах поєднання надлишкового надходження нітратів та фторидів

до організму відновлення нітратів до NO частково компенсує фторид-індуковані прооксидативні зміни в СОШ щурів.

Фториди та нітрати мають різні джерела продукції NO в СОШ щурів згідно наших досліджень. У випадку нітратної інтоксикації переважає L-аргінін-незалежний шлях, а при фторидній інтоксикації домінує L-аргінін-залежний шлях утворення NO в СОШ щурів. При поєднанні нітратів та фторидів домінує нітрат-залежний шлях продукції NO, оскільки NOS реципрокно інгібуються надлишковим оксидом азоту, що утворюється шляхом редукції нітратів.

Цим частково пояснюється збільшення активності аргіназ в СОШ щурів в умовах поєднаної інтоксикації, оскільки при зниженій активності NOS вивільняється додатковий L-аргінін для аргіназного шляху його метаболізму. З іншого боку причиною збільшення активності аргіназ в СОШ щурів може бути переважання впливу нітратів на поляризацію макрофагів по M<sub>2</sub> фенотипу. [163,164, 165, 166]

Збільшення вмісту вільного L-оксипроліну в СОШ щурів свідчить про домінування фторид-залежного калагенолізу, який опосередкований збільшенням продукції АФК та зменшенням активації матриксиних металопротеїназ. [101, 102, 103]

Деструкція аморфної речовини сполучнотканинних елементів СОШ щурів при поєднаній інтоксикації вказує на синергічний ефект нітратів та фторидів. При цьому збільшується концентрація як протизапальних фракцій ГАГ, так і регенераторних, що свідчить про збільшене ушкодження сполучнотканинних елементів СОШ щурів в умовах поєднання нітратів та фторидів та виснаження адаптивних ресурсів тканини.

Вивільнений L-аргінін для аргіназ СОШ щурів ефективно розщеплюється із утворенням L-орнітину, про що свідчить збільшення активності ОрДК в умовах поєднання нітратів та фторидів. Збільшення синтезу поліамінів, які є продуктами ОрДК ( путресцин) збільшить швидкість регенерації СОШ щурів.

За результатами наших досліджень поєднання нітратів та фторидів має взаємодоповнюючу інгібуючу роль на активності СОД та каталази СОШ щурів.

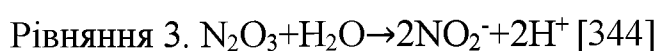
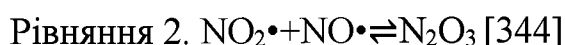
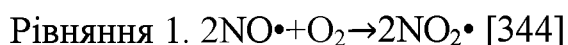
Одним із можливих механізмів, який лежить в основі інгібуючого ефекту фторидів та нітратів на СОД є пероксинітрит-залежне нітрування молекул тирозину у 34 положенні даного ферменту.

У науковій літературі було показано, що пероксинітрит здатен нітрувати молекули тирозину у 34 положенні в СОД, яка містить в своєму активному центрі іони марганцю (Mn). [339, 340] За результатами наших досліджень фториди збільшують як вміст пероксинітриту в СОШ щурів, так і його продукцію, тому пероксинітрит-залежне нітрування СОД, яка містить в активному центрі атоми Mn є цілком імовірним.

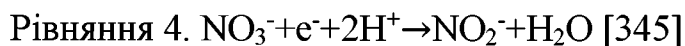
Нітрати, за результатами наших досліджень, знижують як продукцію пероксинітриту, так і його вміст в СОШ щурів. Цим можна пояснити відсутність інгібуючого ефекту нітратів на СОД. Підвищення активності СОД в умовах хронічного надлишкового надходження нітратів пояснюється збільшеною в цих умовах продукцією  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів та активацію у відповідь на це генетично детермінованих транскрипційних програм. [341, 342]

Іншим можливим механізмом фторид-залежного інгібування СОД в СОШ щурів є вплив нітритів ( $NO_2^-$ ) та нітритних радикалів (радикал діоксиду азоту,  $NO_2^{\cdot}$ ) на ізоформи СОД, які містять в активних центрах мідь (Cu) або цинк (Zn). [343]

Нітритний радикал утворюється із  $NO^{\cdot}$ , який синтезується NOS із L-аргініну, після реакції із киснем ( $O_2$ ). Нітритний радикал далі вступає в реакцію із ще одною молекулою  $NO^{\cdot}$  з утворенням дінитрогентириоксиду ( $N_2O_3$ ), який в подальшому гідролізується водою із утворенням нітритів (дивись рівняння 1-3). [344] Отже збільшення вмісту нітритів у СОШ щурів під впливом фторидної інтоксикації свідчить про збільшення продукції нітритного радикалу та може бути причиною фторид-індукованого інгібування активності СОД через вплив на СОД, які містять Cu та Zn в активних центрах.



За умов хронічної нітратної інтоксикації в СОШ щурів, згідно із результатами наших досліджень, більшість оксиду азоту продукується нітрат-нітрит редуказним шляхом. Утворення нітриту в цьому випадку (за умови участі нітрат редуказ) не супроводжується утворенням нітритного радикалу, а проходить згідно рівняння 4. [345]



Також, в умовах хронічної нітратної інтоксикації спостерігається зниження концентрації нітритів в СОШ щурів, яке обумовлене збільшеною активністю нітрит редуказ. Тому, можна вважати, відсутність продукції нітритного радикалу може бути однією із причин відсутності інгібуючого ефекту у нітратів на СОД в СОШ щурів.

При поєднанні нітратів та фторидів продукція та вміст пероксинітриту та нітритів у СОШ щурів збільшується. Це пояснює інгібування активності СОД та перевагу впливу фторидного компонента на її активність.

За результатами наших досліджень хронічна нітратна інтоксикація знижує активність каталази в гомогенаті СОШ щурів. Даний ефект нітратів може бути пов'язаний із тим, що в активному центрі каталази знаходиться атом  $\text{Fe}^{2+}$  у вигляді гемової структури. Нітрати та нітрити мають здатність окиснювати гемове залізо, відновлюючись до нітритів та оксиду азоту відповідно, що призводить до утворення метгемоглобіну, а у випадку із каталазою, яка містить залізо у ступені окиснення  $2+$ , до утворення в її активному центрі заліза із ступенем окиснення  $3+$ . [345, 346]

Зміна ступеня окиснення заліза в активному центрі каталази призводить до інактивації цього ферменту [347, 348], та втраті здатності каталізувати розщеплення перекису водню, що утворюється, за даними наших досліджень, в умовах збільшеної активності СОД в СОШ щурів за умов нітратної інтоксикації.

За умов хронічної фторидної інтоксикації спостерігається збільшення активності каталази СОШ щурів. Вплив іонів фтору на активність антиоксидантних ферментів залежить від концентрації, тривалості впливу та досліджуваного органу. Так за умов впливу значно вищих за обрані нами концентрації фториду натрію (75,

100 мг/кг) не спостерігається значне зниження активності як каталази так і СОД. [349, 350] В той же час вплив 10 мг/кг фториду натрію може збільшувати активність обох досліджуваних нами антиоксидантних ферментів в СОШ щурів за умови, якщо інтоксикація триватиме не більше ніж 18 діб. [351]

Фториди та нітрати, а також їх поєднання, за результатами наших досліджень показали здатність збільшувати продукцію  $O_2^{\cdot-}$  у СОШ щурів. Враховуючи інгібуючі ефекти нітратів та фторидів на антиоксидантну систему СОШ щурів розвиток оксидативного стресу є закономірним результатом зрушення прооксидантно/антиоксидантного балансу в сторону переважання прооксидативних впливів.

Вплив фторидів та нітратів на активність НАДФН<sub>2</sub>-оксидази фагоцитів є протилежним. Фториди здатні збільшувати активність НАДФН<sub>2</sub>-оксидази фагоцитів у СОШ щурів, у той час як нітрати її знижують. Поєднання нітратів та фторидів призводить до переважання фторидного впливу на НАДФН<sub>2</sub>-оксидазу фагоцитів у СОШ щурів, проте нітрати нівелюють частину активуючого ефекту іонів фтору. При відсутності додаткового стимулювання продукції  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів фториди та нітрати мають виражену синергічну дію.

Збільшення концентрації ТБК-реактантів у СОШ щурів в умовах поєднаної інтоксикації порівняно із нітратною та фторидною інтоксикаціями обумовлене синергічною дією нітратів та фторидів на нестимульовану продукцію  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів та взаємодоповнюючим інгібуючим впливом на антиоксидантні ферменти.

Варто зазначити, що інкубація гомогенату СОШ щурів у залізо-аскорбатному буферному розчині дозволяє виявити вплив нітратів та фторидів на інтегральний показник антиоксидантного захисту (включно із досліджуваними ферментами). Приріст ТБК-реактантів після інкубації в умовах поєднаної інтоксикації є більшим при порівнянні із фторидною інтоксикацією та статистично значуще не змінюється при порівнянні із нітратною інтоксикацією.

В умовах фторидної інтоксикації переважає ушкодження білків, про що свідчить збільшення вмісту ОМБ в СОШ щурів на 97,14% при порівнянні із нітратною інтоксикацією ( $P < 0,05$ ). За умов поєднання нітратів та фторидів

нітратний компонент поєднаної інтоксикації перешкоджає ушкодженню білкових молекул в СОШ щурів. Оскільки поєднання нітратів та фторидів має синергічний стимулюючий ефект щодо продукції  $O_2^-$  та антагоністичний ефект стосовно продукції  $ONOO^-$  в СОШ щурів, можна припустити, що більший вміст ОМБ за умов фторидної інтоксикації та зменшення вмісту в умовах поєднання нітратів та фторидів пов'язане із зменшенням вмісту  $ONOO^-$  порівняно із фторидною інтоксикацією.

Нітрати та фториди за умов їх надлишкового надходження здатні збільшувати деструкцію колагену в СОШ щурів. Їх поєднання не викликає синергічного ефекту щодо деструкції колагену в СОШ щурів. Фторид-індуковане збільшення вмісту вільного L-оксипроліну в СОШ щурів може бути пов'язане із розвитком під впливом іонів фтору запалення в СОШ щурів та активації транскрипційного фактору NF- $\kappa$ B; в подальшому це призводить до апоптозу та збільшення вмісту ТФР- $\beta$ , що, в свою чергу, може призвести до заміщення епітеліальної тканини залозистого відділу СОШ на сполучну тканину. [352] Запалення може бути наслідком збільшеного ушкодження тканин про що свідчить зростання вмісту ОМБ та концентрації ТБК-реактивів у СОШ щурів.

Збільшення вмісту L-оксипроліну в СОШ щурів за умов надлишкового надходження нітрату натрію може бути захисною реакцією, яка спрямована на «перехоплення» нітриту, що утворюється із нітрату під впливом нітратредуктаз. Про можливість такої реакції свідчить збільшена активність нітратредуктаз у СОШ щурів, знижений вміст нітритів та загальну концентрацію ГАГ, оскільки ГАГ є стабілізаторами колагенових волокон. Можливість «перехоплення» нітриту L-оксипроліном підтверджена дослідженнями G. Drabik-Markiewicz та співавт. [353]

Фториди також зменшують загальний вміст ГАГ у СОШ щурів, що є ознакою ушкодження власної сполучно-тканинної пластинки СОШ. При поєднанні нітратів та фторидів вміст загальних ГАГ у СОШ щурів, навпаки, збільшується, проте змінюється співвідношення різних фракцій ГАГ.

В умовах окремо нітратної та фторидної інтоксикацій зменшується вміст протизапальних фракцій ГАГ в СОШ щурів (гепарин/гепаран-сульфатної та

кератан/дерматанової), у той час, коли регенераторна фракція (хондроїтин-сульфатна) збільшується. Поєднання нітратів та фторидів призводить до збільшення загального вмісту ГАГ в СОШ щурів та збільшення концентрації протизапальних фракцій ГАГ зі збереженням збільшеного вмісту хондроїтин-сульфатної фракції.

Нітрати та фториди за умов їх поєднаного надлишкового надходження сприяють розвитку оксидативно-нітрозативного стресу (Рис. 5.4) шляхом фторид-залежного інгібування СОД, нітрат-залежного інгібування каталази (КАТ) на фоні збільшеної продукції  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів. Збільшена продукція NO обумовлена фторид-залежною стимуляцією NOS та нітрат-залежною стимуляцією нітрат-нітрит редуказного шляху (NiR). Збільшена продукція NO та  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів призводить до збільшеної продукції ONOO<sup>-</sup>, яка дещо обмежується нітрат-іонами.

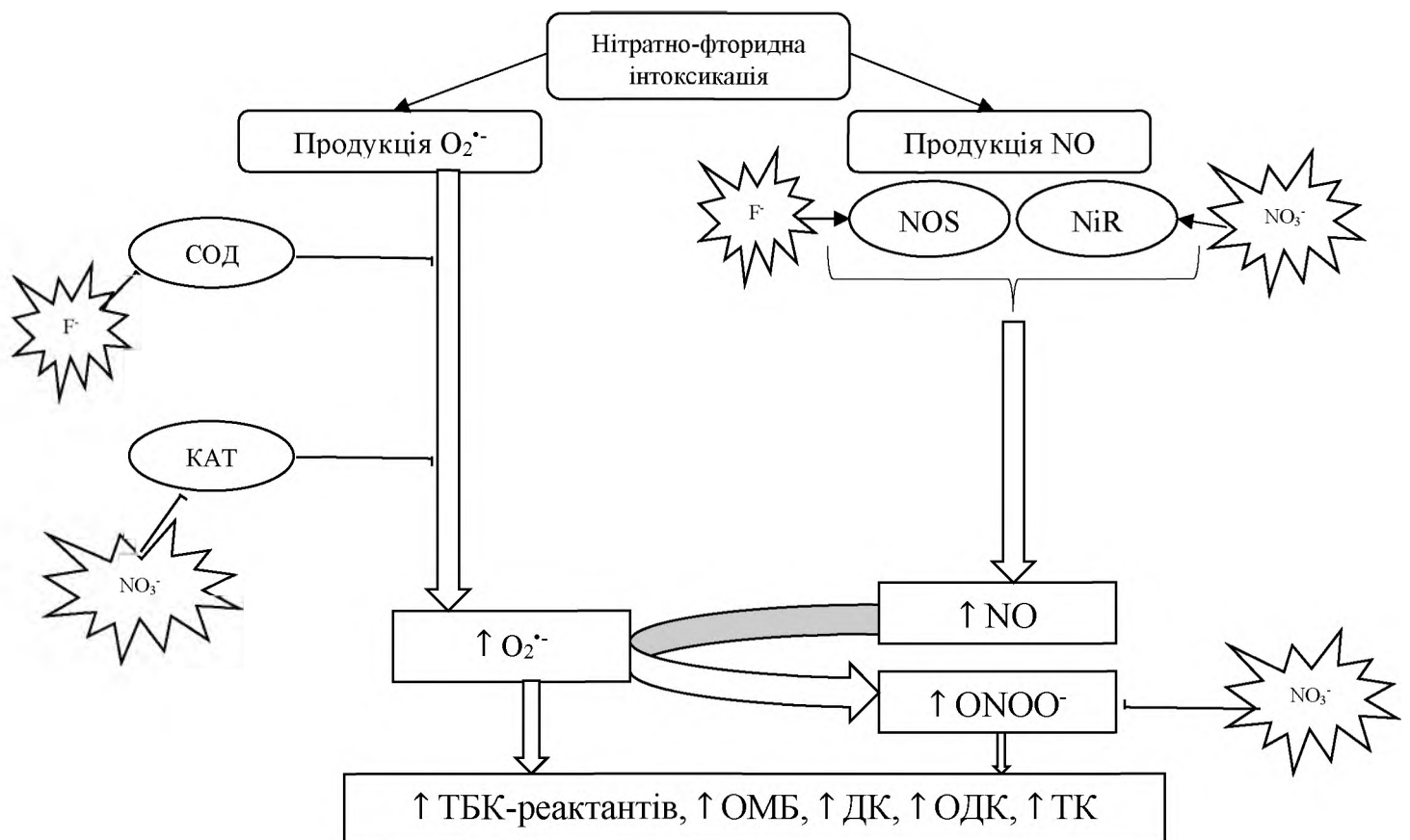


Рис. 5.4 Схема розвитку оксидативно-нітрозативного стресу в СОШ щурів за умов поєднаного надлишкового надходження нітратів та фторидів. (Пояснення у тексті)

Аргіназа є важливим регуляторним ферментом, що впливає на метаболізм



сполучної тканини. Вплив аргіназ на метаболізм колагену не є однозначним. З одного боку посилений гідроліз L-аргініну до L -орнітину, а в подальшому синтез із останнього поліамінів (путресцин, спермідин, спермін), може збільшити проліферацію фібробластів та посилити синтез ними колагену. [354, 355, 356]

З іншого боку надмірна активність аргіназ може призвести до накопичення продуктів окиснення поліамінів (3-ацетамінопропанал, 3-амінопропанал та акролеїн), які є токсичними для тканин організму. Діяльність сперміноксидази, N(1)-ацетил-поліаміноксидази та спермін-спермідин ацетилтрансферази, продуктами яких є 3-ацетамінопропанал, 3-амінопропанал та акролеїн, супроводжується накопиченням у тканині побічного продукту реакції – перекису водню. [356]

Накопичення перекису водню може призводити до посилення оксидативного стресу в СОШ щурів, особливо в умовах нітратної та поєднаної інтоксикації, де активності аргіназ та ОрДК збільшені. Активація цього механізму в умовах хронічної фторидної інтоксикації є малоімовірною, оскільки фториди знижують активність аргіназ та ОрДК у СОШ щурів.

Поліаміни, за даними М. Іматаґа та співавт., мають здатність активувати синтез кератан-сульфату, [357] цим можна пояснити зниження рівня цієї фракції ГАГ у СОШ щурів за результатами наших досліджень у групі фторидної інтоксикації. М. Іматаґа та співавт. зазначають, що цей процес контролюється мікро РНК із сімейства let-7. [358]

Поліаміни також мають здатність впливати на продукцію хондроїтин-сульфатної фракції ГАГ, шляхом стимулювання транскрипції гену CHSY1. [359] Зниження активності аргіназ та ОрДК в СОШ щурів за умов фторидної інтоксикації може бути причиною зниження синтезу НhГАГ та KdГАГ, та відсутності статистично значущих змін в концентрації ChГАГ. Збільшенням активності аргіназ та ОрДК в умовах поєднаної інтоксикації можна пояснити збільшення концентрації НhГАГ, KdГАГ та ChГАГ у СОШ щурів. Причиною зниження концентрації НhГАГ в СОШ щурів за умов нітратної інтоксикації може бути здатність нітратів знижувати вміст гепарину. [359] Зниження вмісту KdГАГ в СОШ щурів за умов

нітратної інтоксикації можна пояснити впливом нітритів, які були відновлені із нітратів, на мікро РНК із сімейства let-7. [360]

Аналізуючи вплив суспензій ентеросорбентів на продукцію NO в СОШ щурів є очевидним висновок, що суспензія nSil є найефективнішою із досліджуваних, оскільки вона знижує активність як NOS-залежної продукції NO, так і нітрат-нітрит редуказний шлях продукції NO. Суспензія Carb знижує активність нітритредуктаз в СОШ щурів, проте підвищує активність нітратредуктаз. Це можна пояснити меншою спроможністю суспензії Carb поглинати нітрати із водного середовища, при порівнянні із суспензіями nSil та Lig, проте фторид-індуковане збільшення активності NOS чітко нівелюється суспензією Carb.

Суспензія Lig, навпаки, показує кращу сорбційну здатність щодо нітрат-іонів ніж до фторид-іонів. Про це свідчить відсутність статистично значущого ефекту суспензії Lig на фторид-індуковане збільшення активності NOS. Збільшення в цих умовах активності нітритредуктаз можна розглядати як адаптивно-компенсаторну реакцію на утворення нітритів шляхом окиснення NO утвореного NOS. Про ефективність такої реакції свідчить зниження вмісту нітритів в СОШ щурів. Варто зазначити, що всі досліджувані сорбенти знижують вміст нітритів у СОШ щурів, чим зменшують вірогідність розвитку нітритивного стресу.

Усі досліджувані сорбенти знижують активність ОрДК, що може свідчити про зменшення синтезу поліамінів. У той же час, суспензія Carb збільшує активність аргіназ в СОШ щурів, що може бути наслідком нівелювання гальмівного ефекту фторидів шляхом їх поглинання, та відсутності впливу суспензії Carb на нітратне стимулювання активності аргіназ. Варто зазначити, що суспензія Carb вносить дизрегуляцію у аргіназо-ОрДК залежну систему синтезу поліамінів. Усі суспензії ефективні в зниженні базової продукції  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів. Суспензія Carb більш ефективно знижує продукцію  $O_2^{\cdot-}$  від фагоцитів тканини порівняно із Lig та nSil, що також може бути пов'язане із поглинанням іонів фтору, які мають стимулюючий вплив на НАДФН<sub>2</sub>-оксидазу фагоцитів. Збільшення продукції  $O_2^{\cdot-}$  від мікросомального ЕТЛ порівняно із хронічною нітратно-фторидною інтоксикацією може бути пов'язане із низьким рівнем адсорбції нітрат-

іонів та високим рівнем адсорбції фторид-іонів, оскільки фториди та нітрати мають антагоністичний вплив на продукцію  $O_2^{\cdot-}$  від мітросомального ЕТЛ.

Збільшення продукції  $O_2^{\cdot-}$  в СОШ щурів від мітохондріального ЕТЛ при використанні суспензії Lig може бути пов'язане із збільшеною активністю нітритредуктаз, оскільки останні використовують у якості донора електронів НАДН<sub>2</sub>. [361, 362] Дефіцит НАДН<sub>2</sub> у мітохондріях може призводити до збільшеного утворення  $O_2^{\cdot-}$ , [363] що пояснює отримані нами результати. Отже, збільшена активність нітритредуктаз попереджає розвиток нітритивного стресу зменшуючи вміст нітритів, проте загрожує розвитком оксидативного стресу через збільшення продукції  $O_2^{\cdot-}$  від мітохондрій в СОШ щурів. Усі суспензії мають однакову спрямованість щодо впливу на активність СОД та каталази в СОШ щурів.

Із досліджуваних суспензій лише nSil здатна знижувати вміст пероксинітриту в СОШ щурів, проте всі суспензії здатні знижувати нестимульовану продукцію ONOO<sup>-</sup>. А суспензія Lig в умовах стимуляції продукції ONOO<sup>-</sup> в СОШ щурів за допомогою НАДФН<sub>2</sub> або НАДН<sub>2</sub> створює ситуацію, за якої продукція ONOO<sup>-</sup> значно посилюється при порівнянні із поєднаною інтоксикацією. Даний ефект може бути пов'язаний із активацією лігнін пероксидаз – групи ферментів, які здатні розщеплювати лігнін. Дана група ферментів має виражені редоксні властивості та здатна реагувати із перекисом водню, супероксидом та іонами фтору із подальшим утворенням вільних радикалів та АФК. [364, 365, 366, 367]

Усі досліджувані суспензії сорбентів здатні знижувати інтенсивність процесів ПОЛ в СОШ щурів, що може бути пов'язане із зниженням базової продукції ONOO<sup>-</sup> та  $O_2^{\cdot-}$ , а також із збільшенням активностей антиоксидантинх ферментів (СОД та каталази). В основі цих ефектів суспензій лежить здатність поглинати іони фтору та нітрат-іони. Зниження інтенсивності процесів ПОЛ в СОШ щурів підтверджується зменшенням під впливом суспензій сорбентів концентрацій ДК, ОДК, ТК та ТБК-реактантів. Проте суспензія Lig не здатна впливати на інтегральний показник антиоксидантного захисту, у той час, як суспензії nSil та Carb його статистично значуще підвищують. Усі досліджувані суспензії однаковою мірою попереджають розвиток оксидативної модифікації

білків у СОШ щурів. Загальний вміст ГАГ у СОШ щурів збільшує лише суспензія Carb при порівнянні із поєднаною інтоксикацією. Слід зазначити, що суспензія Carb найменше знижує процеси колагенолізу при порівнянні із іншими досліджуваними суспензіями. Суспензії Lig та nSil однаково ефективно знижують інтенсивність колагенолізу у СОШ щурів. Аналізуючи фракційний склад ГАГ у СОШ щурів встановлено, що суспензія nSil збільшує концентрацію протизапальної НhГАГ фракції ГАГ та зменшує концентрацію регенераторних KdГАГ та ChГАГ фракцій, що може свідчити про зменшення деструкції власної пластинки СОШ.

Суспензія Carb зменшує концентрацію протизапальної НhГАГ фракції ГАГ СОШ щурів та концентрацію регенераторної KdГАГ, збільшуючи при цьому концентрацію ChГАГ фракції, що може свідчити про збільшення деструкції власної пластинки СОШ та переважанні фіброзних змін. Суспензія Lig зменшує концентрацію протизапальної НhГАГ фракції ГАГ в СОШ щурів та концентрацію регенераторної KdГАГ, збільшуючи при цьому концентрацію ChГАГ фракції, що може свідчити про збільшення деструкції власної пластинки СОШ та переважанні фіброзних змін.

Враховуючи, що суспензія Lig не ліквідує більшість негативних ефектів в СОШ щурів, які зумовлені іонами фтору (збільшена активність NOS, накопичення пероксинітриту, збільшення продукції  $O_2^{\cdot-}$  від фагоцитів тканини) можна зробити висновок, що суспензія Lig не є достатньо ефективною для корекції фторидної інтоксикації та повної корекції поєднаної інтоксикації. Враховуючи, що суспензія Carb не ліквідує більшість негативних ефектів в СОШ щурів, які зумовлені нітрат-іонами (збільшена активність нітратредуктаз, збільшення активності аргіназ, збільшення продукції  $O_2^{\cdot-}$  від мікросомального ЕТЛ) можна зробити висновок, що суспензія Carb не є достатньо ефективною для корекції нітратної інтоксикації та повної корекції поєднаної інтоксикації.

Суспензія nSil ліквідує більшість негативних ефектів в СОШ щурів, які викликані як окремими компонентами поєднаної інтоксикації так і ефекти, утворені внаслідок взаємодії нітратів та фторидів, тому вона є ефективною для корекції поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і розв'язання наукового завдання, яке полягає у встановленні молекулярних механізмів патогенної дії нітрат-іонів та фторид-іонів в умовах їх поєднання на слизову оболонку шлунка щурів та експериментального обґрунтування корекції поєднаної інтоксикації нітратно-фторидної інтоксикації ентеросорбентами.

1. Підчас хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації спостерігається порушення фізіологічної ауторегуляції циклу оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів, що підтверджується збільшенням активності NO-синтаз на 18,89%,  $p < 0,05$ , активності нітритредуктаз зростає 2,62 рази,  $p < 0,001$  та активності аргіназ в 1,61 рази,  $p < 0,05$ .

2. Хронічна поєднана нітратно-фторидна інтоксикація призводить до розвитку оксидативно-нітрозативного стресу в слизовій оболонці шлунка щурів, про що свідчить збільшення базової продукції супероксидного аніон-радикалу в 2,98 рази,  $p < 0,05$  та нестимульованої продукції пероксинітриту на 22,42%,  $p < 0,05$ . Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів зростає (концентрація дієнових кон'югатів зростає на 12,45%,  $p < 0,05$ , октадієнових в 1,19 рази,  $p < 0,05$ , трієнових на 19,35%,  $p < 0,05$ , ТБК-реактантів в 2,23 рази,  $p < 0,05$ ) в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації. Встановлена взаємодоповнююча пригнічуюча дія нітратів та фторидів, при їх поєднанні, на ферментативну ланку антиоксидантної системи (активність супероксиддисмутази знижується в 2,21 рази,  $p < 0,001$ , каталази – на 33,33%,  $p < 0,05$ ).

3. Хронічна поєднана нітратно-фторидна інтоксикація призводить до збільшення інтенсивності деградації сполучної тканини слизової оболонки шлунка щурів. Розпад аморфної речовини сполучної тканини супроводжується зростанням протизапальних фракцій глікозаміногліканів (загальний вміст глікозаміногліканів зростає на 62,63%,  $p < 0,05$ , гепарин-гепаранова фракція зростає на 38,46%,  $p < 0,05$ , кератан-дерматанова фракція зростає на 120%,  $p < 0,01$ ), а вміст вільного L-оксипроліну зростає в 7,47 рази,  $p < 0,01$  в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації.

4. Введення суспензії нанодисперсного оксиду кремнію та карболайну призводить до зниження активності NO-синтаз (на 13,82%,  $p < 0,05$  та 30,88%,  $p < 0,05$  відповідно) та нітритредуктаз (на 34,69%,  $p < 0,05$  та 30,44%,  $p < 0,05$  відповідно), використання лігніну гідролізного збільшує активність нітритредуктаз (на 33,89%,  $p < 0,05$ ) в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації. Активність аргіназ збільшується в 1,5 рази,  $p < 0,05$  в слизовій оболонці шлунка щурів при застосуванні суспензії карболайну для корекції хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації; застосування суспензії нанодисперсного оксиду кремнію та лігніну гідролізного призводить до зниження активності аргіназ (в 1,63 рази,  $p < 0,05$  та в 1,38 рази,  $p < 0,05$  відповідно). Отже застосування суспензії нанодисперсного оксиду кремнію є ефективнішим методом корекції порушень фізіологічної ауторегуляції циклу оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації у порівнянні із суспензіями лігніну гідролізного та карболайну.

5. Використання досліджуваних ентеросорбентів попереджає розвиток оксидативного стресу в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації, про що свідчить зменшення вмісту ТБК-реактантів, підвищення активності антиоксидантних ферментів та зниження продукції активних форм кисню та азоту.

6. Застосування досліджуваних ентеросорбентів за умов хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації знижує інтенсивність колагенолізу, про що свідчить вірогідне зниження концентрації вільного L-оксипроліну в слизовій оболонці шлунка щурів. Введення суспензії нанодисперсного оксиду кремнію знижує вміст глікозаміногліканів на 18,01%  $p < 0,05$ , а суспензії карболайну збільшує вміст глікозаміногліканів 37,27%,  $p < 0,05$  у слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації.

7. Застосування суспензії нанодисперсного оксиду кремнію усуває негативний вплив хронічної поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації на слизову оболонку шлунка щурів. Суспензія карболайну зменшує фторидні ефекти, а суспензія лігніну обмежує нітратні ефекти поєднаної нітратно-фторидної

інтоксикації в слизовій оболонці шлунка щурів.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Magierowski M, Magierowska K, Kwiecien S, Brzozowski T. Gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulfide in the mechanism of gastrointestinal integrity, protection and ulcer healing. *Molecules*. 2015; 20(5): 9099-123. doi: 10.3390/molecules20059099.
2. de Souza GF, Taladriz-Blanco P, Velloso LA, de Oliveira MG. Nitric oxide released from luminal s-nitroso-N-acetylcysteine increases gastric mucosal blood flow. *Molecules*. 2015; 20(3): 4109-23. doi: 10.3390/molecules20034109.
3. Rashed L, Gharib DM, Hussein RE, Tork O, Abusree A. Combined effect of bone marrow derived mesenchymal stem cells and nitric oxide inducer on injured gastric mucosa in a rat model. *Tissue Cell*. 2016; 48(6): 644-652. doi: 10.1016/j.tice.2016.09.006.
4. Zhang K, Liu Y, Wang C, Li J, Xiong L, Wang Z et al. Evaluation of the gastroprotective effects of 20 (S)-ginsenoside Rg3 on gastric ulcer models in mice. *J Ginseng Res*. 2019; 43(4): 550-561. doi: 10.1016/j.jgr.2018.04.001.
5. Monteiro CES, Sousa JAO, Lima LM, Barreiro EJ, da Silva-Leite KES, de Carvalho CMM et al. LASSBio-596 protects gastric mucosa against the development of ethanol-induced gastric lesions in mice. *Eur J Pharmacol*. 2019; 863: 172662. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172662.
6. Boutemine IM, Amri M, Amir ZC, Fitting C, Mecherara-Idjeri S, Layaida K. et al. Gastro-protective, therapeutic and anti-inflammatory activities of Pistacia lentiscus L. fatty oil against ethanol-induced gastric ulcers in rats. *J Ethnopharmacol*. 2018 Oct 5;224:273-282. doi: 10.1016/j.jep.2018.05.040.
7. Fan DD, Lin S, Song YP, Wang ZY, Liu B, Gao SN et al. Astragaloside IV protects rat gastric mucosa against aspirin-induced damage. *Int Immunopharmacol*. 2016 Dec;41:47-55. doi: 10.1016/j.intimp.2016.10.018.
8. Szabo C. Hydrogen sulfide, an enhancer of vascular nitric oxide signaling: mechanisms and implications. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2017; 312(1): C3-C15. doi: 10.1152/ajpcell.00282.2016.
9. Siragusa M, Thöle J, Bibli SI, Luck B, Loot AE, de Silva K et al. Nitric oxide



maintains endothelial redox homeostasis through PKM2 inhibition. *EMBO J.* 2019; 38(17): e100938. doi: 10.15252/embj.2018100938.

10. Astuti RI, Nasuno R, Takagi H. Nitric Oxide Signalling in Yeast. *Adv Microb Physiol.* 2018; 72: 29-63. doi: 10.1016/bs.ampbs.2018.01.003.

11. Blood AB. The Medicinal Chemistry of Nitrite as a Source of Nitric Oxide Signaling. *Curr Top Med Chem.* 2017; 17(15): 1758-1768. doi: 10.2174/1568026617666161116145046.

12. Jahnová J, Luhová L, Petřivalský M. S-Nitrosoglutathione Reductase-The Master Regulator of Protein S-Nitrosation in Plant NO Signaling. *Plants (Basel).* 2019; 8(2). pii: E48. doi: 10.3390/plants8020048.

13. Marietou A. Nitrate reduction in sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiol Lett.* 2016; 363(15). pii: fnw155. doi: 10.1093/femsle/fnw155.

14. Balotf S, Kavooosi G, Kholdebarin B. Nitrate reductase, nitrite reductase, glutamine synthetase, and glutamate synthase expression and activity in response to different nitrogen sources in nitrogen-starved wheat seedlings. *Biotechnol Appl Biochem.* 2016; 63(2): 220-9. doi: 10.1002/bab.1362.

15. Ahmed KA, Nichols AL, Honavar J, Dransfield MT, Matalon S, Patel RP. Measuring nitrate reductase activity from human and rodent tongues. *Nitric Oxide.* 2017; 66: 62-70. doi: 10.1016/j.niox.2017.04.001.

16. Zhuge Z, Paulo LL, Jahandideh A, Brandão MCR, Athayde-Filho PF, Lundberg JO et al. Synthesis and characterization of a novel organic nitrate NDHP: Role of xanthine oxidoreductase-mediated nitric oxide formation. *Redox Biol.* 2017; 13: 163-169. doi: 10.1016/j.redox.2017.05.014.

17. González Delgado MF, González Zamora A, Gonsebatt ME, Meza Mata E, García Vargas GG, Calleros Rincón EY et al. Subacute intoxication with sodium nitrate induces hematological and biochemical alterations and liver injury in male Wistar rats. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2018; 166: 48-55. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.09.060.

18. Kmet T, Filipets N, Hrachova T, Bulyk T, Kushnir O. Changes of proteinuria and acid-regulating kidney function in mature rats with slow and rapid acetylation type under conditions of subacute cadmium-nitrate intoxication. *Georgian Med News.* 2018; (283):

133-137.

19. Wei R, Luo G, Sun Z, Wang S, Wang J. Chronic fluoride exposure-induced testicular toxicity is associated with inflammatory response in mice. *Chemosphere*. 2016 Jun;153:419-25. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.03.045.
20. Pethe S, Boucher JL, Mansuy D. Interaction of anions with rat liver arginase: specific inhibitory effects of fluoride. *J Inorg Biochem*. 2002; 88(3-4): 397-402.
21. Panneerselvam L, Raghunath A, Sundarraj K, Perumal E. Acute fluoride exposure alters myocardial redox and inflammatory markers in rats. *Mol Biol Rep*. 2019; 46(6): 6155-6164. doi: 10.1007/s11033-019-05050-9.
22. Назаренко ЕА, Нікозять ЮБ, Іващенко ОД. Проблеми забруднення фторидами ґрунтів і вод геохімічної провінції (на прикладі Полтавської області). *Екологічна безпека*. 2014; 17(1): 59-63.
23. Тригуб ВІ. Фтор в природних водах Одещини: медико-географічний аналіз. *Вісник Львівського університету. Серія географічна*. 2017; 51: 346-357.
24. Molina-Frechero N, Gaona E, Angulo M, Sánchez Pérez L, González González R, Nevarez Rascón M et al. Fluoride Exposure Effects and Dental Fluorosis in Children in Mexico City. *Med Sci Monit*. 2015; 21: 3664-70.
25. Waugh DT, Potter W, Limeback H, Godfrey M. Risk Assessment of Fluoride Intake from Tea in the Republic of Ireland and its Implications for Public Health and Water Fluoridation. *Int J Environ Res Public Health*. 2016; 13(3). pii: E259. doi: 10.3390/ijerph13030259.
26. Archer NP, Napier TS, Villanacci JF. Fluoride exposure in public drinking water and childhood and adolescent osteosarcoma in Texas. *Cancer Causes Control*. 2016; 27(7): 863-8. doi: 10.1007/s10552-016-0759-9.
27. Акімов ОЄ, Костенко ВО, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, власник; Спосіб визначення загальної аргіназної активності в гомогенаті м'яких тканин. Україна, патент на корисну модель UA № 111874. 2016 Лис 25.
28. Акімов ОЄ, Костенко ВО, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, власник; Спосіб визначення загальної нітрат- та нітритредуктазної активності в гомогенаті м'яких тканин. Україна, патент на корисну модель UA №

111232. 2016 Лис 10.

29. Акімов ОЄ, Костенко ВО, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, власник; Спосіб кількісного визначення концентрації пероксинітриту в гомогенаті м'яких тканин. Україна, патент на корисну модель UA № 120064. 2017 Жов 25.
30. Самоделкин ЕИ, Косарева ПВ, Четвертных ЛА, Шинкарик ОВ, Неклюдова ВВ, Никитин СВ та інш. Гистологическая и гистометрическая характеристики слизистой оболочки желудка интактных неинbredных белых крыс. Пермский медицинский журнал. 2011; 27(2) : 108-113.
31. Semashko VV, Pudovkin MS, Cefalas AC, Zelenikhin PV, Gavriil VE, Nizamutdinov AS et al. Tiny Rare-Earth Fluoride Nanoparticles Activate Tumour Cell Growth via Electrical Polar Interactions. *Nanoscale Res Lett.* 2018; 13(1): 370. doi: 10.1186/s11671-018-2775-z.
32. Yang YP, Duan P, Li BX, Qin LL, Lu JP, Wei JX et al. An epidemiological survey of malignant tumors among fluoride-exposed workers in aluminum industry. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* 2013; 31(6): 431-3.
33. Chakraborti D, Rahman MM, Chatterjee A, Das D, Das B, Nayak B et al. Fate of over 480 million inhabitants living in arsenic and fluoride endemic Indian districts: Magnitude, health, socio-economic effects and mitigation approaches. *J Trace Elem Med Biol.* 2016; 38: 33-45. doi: 10.1016/j.jtemb.2016.05.001.
34. Crnosija N, Choi M, Meliker JR. Fluoridation and county-level secondary bone cancer among cancer patients 18 years or older in New York State. *Environ Geochem Health.* 2019; 41(2): 761-768. doi: 10.1007/s10653-018-0170-4.
35. Archer NP, Napier TS, Villanacci JF. Fluoride exposure in public drinking water and childhood and adolescent osteosarcoma in Texas. *Cancer Causes Control.* 2016; 27(7): 863-8. doi: 10.1007/s10552-016-0759-9.
36. Xu Z, Chan HM, Li C, Wang Z, Tse MK, Tong Z et al. Synthesis, Structure, and Cytotoxicity of Oxaliplatin-Based Platinum(IV) Anticancer Prodrugs Bearing One Axial Fluoride. *Inorg Chem.* 2018; 57(14): 8227-8235. doi: 10.1021/acs.inorgchem.8b00706.
37. Hua X, Xu J, Deng X, Xu J, Li J, Zhu DQ et al. New compound ChIA-F induces

autophagy-dependent anti-cancer effect via upregulating Sestrin-2 in human bladder cancer. *Cancer Lett.* 2018; 436: 38-51. doi: 10.1016/j.canlet.2018.08.013.

38. Chen X, Zha GF, Wang JQ, Liu XH. Ethenesulfonyl fluoride derivatives as telomerase inhibitors: structure-based design, SAR, and anticancer evaluation in vitro. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2018; 33(1): 1266-1270. doi: 10.1080/14756366.2018.1484735.

39. Nakamoto T, Rawls HR. Fluoride Exposure in Early Life as the Possible Root Cause of Disease In Later Life. *J Clin Pediatr Dent.* 2018; 42(5): 325-330. doi: 10.17796/1053-4625-42.5.1.

40. Sharma D, Singh A, Verma K, Paliwal S, Sharma S, Dwivedi J. Fluoride: A review of pre-clinical and clinical studies. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2017; 56: 297-313. doi: 10.1016/j.etap.2017.10.008.

41. Liang S, Nie ZW, Zhao M, Niu YJ, Shin KT, Cui XS. Sodium fluoride exposure exerts toxic effects on porcine oocyte maturation. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 17082. doi: 10.1038/s41598-017-17357-3.

42. Kuang P, Deng H, Cui H, Chen L, Fang J, Zuo Z et al. Sodium fluoride (NaF) causes toxic effects on splenic development in mice. *Oncotarget.* 2017; 8(3): 4703-4717. doi: 10.18632/oncotarget.13971.

43. Owumi SE, Aliyu-Banjo NO, Danso OF. Fluoride and diethylnitrosamine coexposure enhances oxido-inflammatory responses and caspase-3 activation in liver and kidney of adult rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 2019; 33(7): e22327. doi: 10.1002/jbt.22327.

44. Yan N, Liu Y, Liu S, Cao S, Wang F, Wang Z et al. Fluoride-Induced Neuron Apoptosis and Expressions of Inflammatory Factors by Activating Microglia in Rat Brain. *Mol Neurobiol.* 2016; 53(7): 4449-60. doi: 10.1007/s12035-015-9380-2.

45. Yan X, Wang L, Yang X, Qiu Y, Tian X, Ly Y et al. Fluoride induces apoptosis in H9c2 cardiomyocytes via the mitochondrial pathway. *Chemosphere.* 2017; 182: 159-165. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.05.002.

46. Ribeiro DA, Cardoso CM, Yujra VQ, DE Barros Viana M, Aguiar O Jr et al. Fluoride Induces Apoptosis in Mammalian Cells: In Vitro and In Vivo Studies.

*Anticancer Res.* 2017; 37(9): 4767-4777.

47. Zhou G, Tang S, Yang L, Niu Q, Chen J, Xia T et al. Effects of long-term fluoride exposure on cognitive ability and the underlying mechanisms: Role of autophagy and its association with apoptosis. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2019; 378: 114608. doi: 10.1016/j.taap.2019.114608.

48. Gao J, Wang Y, Xu G, Wei J, Chang K, Tian X et al. Selenium attenuates apoptosis and p-AMPK expressions in fluoride-induced NRK-52E cells. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2019; 26(15): 15685-15697. doi: 10.1007/s11356-019-04855-2.

49. Hu Y, Wang Y, Yan T, Feng D, Ba Y, Zhang H et al. N-acetylcysteine alleviates fluoride-induced testicular apoptosis by modulating IRE1 $\alpha$ /JNK signaling and nuclear Nrf2 activation. *Reprod Toxicol.* 2019; 84: 98-107. doi: 10.1016/j.reprotox.2019.01.001.

50. Gu X, Wang Z, Gao J, Han D, Zhang L, Chen P et al. SIRT1 suppresses p53-dependent apoptosis by modulation of p21 in osteoblast-like MC3T3-E1 cells exposed to fluoride. *Toxicol In Vitro.* 2019; 57: 28-38. doi: 10.1016/j.tiv.2019.02.006.

51. Araujo TT, Barbosa Silva Pereira HA, Dionizio A, Sanchez CDC, de Souza Carvalho T, da Silva Fernandes M et al. Changes in energy metabolism induced by fluoride: Insights from inside the mitochondria. *Chemosphere.* 2019; 236: 124357. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.124357

52. Zhao J, Fu B, Peng W, Mao T, Wu H, Zhang Y. Melatonin protect the development of preimplantation mouse embryos from sodium fluoride-induced oxidative injury. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2017; 54: 133-141. doi: 10.1016/j.etap.2017.06.014.

53. Li J1, Zhao L, Zhao X, Wang P, Liu Y, Ruan J. Foxo1 Attenuates NaF-Induced Apoptosis of LS8 Cells through the JNK and Mitochondrial Pathways. *Biol Trace Elem Res.* 2018; 181(1): 104-111. doi: 10.1007/s12011-017-1015-1.

54. Wang HW, Zhao WP, Liu J, Tan PP, Tian WS, Zhou BH. ATP5J and ATP5H Proactive Expression Correlates with Cardiomyocyte Mitochondrial Dysfunction Induced by Fluoride. *Biol Trace Elem Res.* 2017; 180(1): 63-69. doi: 10.1007/s12011-017-0983-5.

55. Peng W, Xu S, Zhang J, Zhang Y. Vitamin C Attenuates Sodium Fluoride-Induced Mitochondrial Oxidative Stress and Apoptosis via Sirt1-SOD2 Pathway in F9 Cells. *Biol*

- Trace Elem Res. 2019; 191(1): 189-198. doi: 10.1007/s12011-018-1599-0.
56. Zhao WP, Wang HW, Liu J, Zhang ZH, Zhu SQ, Zhou BH. Mitochondrial respiratory chain complex abnormal expressions and fusion disorder are involved in fluoride-induced mitochondrial dysfunction in ovarian granulosa cells. *Chemosphere*. 2019; 215: 619-625. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.10.043.
57. Tian ZY, Chen JW, Zhou GY, Li P, Zhao Q, Luo C et al. The effects of resveratrol on mitochondrial biogenesis dysfunction induced by fluoride in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2018; 36(10): 721-727. doi: 10.3760/cma.j.issn.1001-9391.2018.10.001.
58. Zhang S, Niu Q, Gao H, Ma R, Lei R, Zhang C et al. Excessive apoptosis and defective autophagy contribute to developmental testicular toxicity induced by fluoride. *Environ Pollut*. 2016; 212: 97-104. doi: 10.1016/j.envpol.2016.01.059.
59. Zhang J, Zhu Y, Shi Y, Han Y, Liang C, Feng Z et al. Fluoride-Induced Autophagy via the Regulation of Phosphorylation of Mammalian Targets of Rapamycin in Mice Leydig Cells. *J Agric Food Chem*. 2017; 65(40): 8966-8976. doi: 10.1021/acs.jafc.7b03822.
60. Niu Q, Chen J, Xia T, Li P, Zhou G, Xu C et al. Excessive ER stress and the resulting autophagic flux dysfunction contribute to fluoride-induced neurotoxicity. *Environ Pollut*. 2018; 233: 889-899. doi: 10.1016/j.envpol.2017.09.015.
61. Tang S, Zhang S, Chen W, Quan C, Duan P, Huang W et al. Effects of fluoride on autophagy level in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Wei Sheng Yan Jiu*. 2017; 46(3): 472-480.
62. Feng Z, Liang C, Manthari RK, Wang C, Zhang J. Effects of Fluoride on Autophagy in Mouse Sertoli Cells. *Biol Trace Elem Res*. 2019; 187(2): 499-505. doi: 10.1007/s12011-018-1405-z.
63. Zhao Y, Li Y, Gao Y, Yuan M, Manthari RK, Wang J et al. TGF- $\beta$ 1 acts as mediator in fluoride-induced autophagy in the mouse osteoblast cells. *Food Chem Toxicol*. 2018; 115: 26-33. doi: 10.1016/j.fct.2018.02.065.
64. Kuang P, Deng H, Liu H, Cui H, Fang J, Zuo Z et al. Sodium fluoride induces splenocyte autophagy via the mammalian targets of rapamycin (mTOR) signaling

- pathway in growing mice. *Aging (Albany NY)*. 2018; 10(7): 1649-1665. doi: 10.18632/aging.101499.
65. Suzuki M, Bandoski C, Bartlett JD. Fluoride induces oxidative damage and SIRT1/autophagy through ROS-mediated JNK signaling. *Free Radic Biol Med*. 2015; 89: 369-78. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.08.015.
66. Shenoy PS, Sen U, Kapoor S, Ranade AV, Chowdhury CR, Bose B. Sodium fluoride induced skeletal muscle changes: Degradation of proteins and signaling mechanism. *Environ Pollut*. 2019 Jan;244:534-548. doi: 10.1016/j.envpol.2018.10.034.
67. Pereira HA, Dionizio AS, Fernandes MS, Araujo TT, Cestari TM, Buzalaf CP et al. Fluoride Intensifies Hypercaloric Diet-Induced ER Oxidative Stress and Alters Lipid Metabolism. *PLoS One*. 2016; 11(6): e0158121. doi: 10.1371/journal.pone.0158121.
68. Deng H, Kuang P, Cui H, Chen L, Luo Q, Fang J et al. Sodium fluoride (NaF) induces the splenic apoptosis via endoplasmic reticulum (ER) stress pathway in vivo and in vitro. *Aging (Albany NY)*. 2016; 8(12): 3552-3567. doi: 10.18632/aging.101150.
69. Li X, Meng L, Wang F, Hu X, Yu Y. Sodium fluoride induces apoptosis and autophagy via the endoplasmic reticulum stress pathway in MC3T3-E1 osteoblastic cells. *Mol Cell Biochem*. 2019; 454(1-2): 77-85. doi: 10.1007/s11010-018-3454-1.
70. Zhou X, Chen Z, Zhong W, Yu R, He L. Effect of fluoride on PERK-Nrf2 signaling pathway in mouse ameloblasts. *Hum Exp Toxicol*. 2019; 38(7): 833-845. doi: 10.1177/0960327119842273.
71. Suzuki M, Everett ET, Whitford GM, Bartlett JD. 4-phenylbutyrate Mitigates Fluoride-Induced Cytotoxicity in ALC Cells. *Front Physiol*. 2017; 8: 302. doi: 10.3389/fphys.2017.00302.
72. Wang J, Zhao Y, Cheng X, Li Y, Xu H, Manthari RK et al. Effects of different Ca<sup>2+</sup> level on fluoride-induced apoptosis pathway of endoplasmic reticulum in the rabbit osteoblast in vitro. *Food Chem Toxicol*. 2018; 116(Pt B): 189-195. doi: 10.1016/j.fct.2018.04.013.
73. Deng H, Ikeda A, Cui H, Bartlett JD, Suzuki M. MDM2-Mediated p21 Proteasomal Degradation Promotes Fluoride Toxicity in Ameloblasts. *Cells*. 2019; 8(5). pii: E436. doi: 10.3390/cells8050436.

74. Artschwager R, Ward DJ, Gannon S, Brouwer AJ, van de Langemheen H, Kowalski H et al. Potent and Highly Selective Inhibitors of the Proteasome Trypsin-like Site by Incorporation of Basic Side Chain Containing Amino Acid Derived Sulfonyl Fluorides. *J Med Chem*. 2018; 61(12): 5395-5411. doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b00685.
75. Herrero Alvarez N, van de Langemheen H, Brouwer AJ, Liskamp RMJ. Potential peptidic proteasome inhibitors by incorporation of an electrophilic trap based on amino acid derived  $\alpha$ -substituted sulfonyl fluorides. *Bioorg Med Chem*. 2017; 25(19): 5055-5063. doi: 10.1016/j.bmc.2017.07.019.
76. Brouwer AJ, Herrero Álvarez N, Ciaffoni A, van de Langemheen H, Liskamp RM. Proteasome inhibition by new dual warhead containing peptido vinyl sulfonyl fluorides. *Bioorg Med Chem*. 2016; 24(16): 3429-35. doi: 10.1016/j.bmc.2016.05.042.
77. Kido T, Tsunoda M, Sugaya C, Hano H, Yanagisawa H. Fluoride potentiates tubulointerstitial nephropathy caused by unilateral ureteral obstruction. *Toxicology*. 2017; 392:106-118. doi: 10.1016/j.tox.2017.10.003.
78. Goschorska M, Gutowska I, Baranowska-Bosiacka I, Piotrowska K, Metryka E5, Safranow K et al. Influence of Acetylcholinesterase Inhibitors Used in Alzheimer's Disease Treatment on the Activity of Antioxidant Enzymes and the Concentration of Glutathione in THP-1 Macrophages under Fluoride-Induced Oxidative Stress. *Int J Environ Res Public Health*. 2018; 16(1). pii: E10. doi: 10.3390/ijerph16010010.
79. Goschorska M, Baranowska-Bosiacka I, Gutowska I, Tarnowski M, Piotrowska K, Metryka E et al. Effect of acetylcholinesterase inhibitors donepezil and rivastigmine on the activity and expression of cyclooxygenases in a model of the inflammatory action of fluoride on macrophages obtained from THP-1 monocytes. *Toxicology*. 2018; 406-407: 9-20. doi: 10.1016/j.tox.2018.05.007.
80. Gutowska I, Baranowska-Bosiacka I, Goschorska M, Kolasa A, Łukomska A, Jakubczyk K et al. Fluoride as a factor initiating and potentiating inflammation in THP1 differentiated monocytes/macrophages. *Toxicol In Vitro*. 2015; 29(7): 1661-8. doi: 10.1016/j.tiv.2015.06.024.
81. Tian Y, Huo M, Li G, Li Y, Wang J. Regulation of LPS-induced mRNA expression of pro-inflammatory cytokines via alteration of NF- $\kappa$ B activity in mouse peritoneal



- macrophages exposed to fluoride. *Chemosphere*. 2016; 161: 89-95. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.06.035.
82. Oyagbemi AA, Omobowale TO, Ola-Davies OE, Asenuga ER, Ajibade TO, Adejumobi OA et al. Ameliorative effect of Rutin on sodium fluoride-induced hypertension through modulation of Kim-1/NF- $\kappa$ B/Nrf2 signaling pathway in rats. *Environ Toxicol*. 2018; 33(12): 1284-1297. doi: 10.1002/tox.22636.
83. Waugh DT. The Contribution of Fluoride to the Pathogenesis of Eye Diseases: Molecular Mechanisms and Implications for Public Health. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(5). pii: E856. doi: 10.3390/ijerph16050856.
84. Chen L, Kuang P, Liu H, Wei Q, Cui H, Fang J et al. Sodium Fluoride (NaF) Induces Inflammatory Responses Via Activating MAPKs/NF- $\kappa$ B Signaling Pathway and Reducing Anti-inflammatory Cytokine Expression in the Mouse Liver. *Biol Trace Elem Res*. 2019; 189(1): 157-171. doi: 10.1007/s12011-018-1458-z.
85. Refsnes M, Skuland T, Låg M, Schwarze PE, Øvrevik J. Differential NF- $\kappa$ B and MAPK activation underlies fluoride- and TPA-mediated CXCL8 (IL-8) induction in lung epithelial cells. *J Inflamm Res*. 2014; 7: 169-85. doi: 10.2147/JIR.S69646.
86. Kuang P, Deng H, Cui H, Chen L, Guo H, Fang J et al. Suppressive effects of sodium fluoride on cultured splenic lymphocyte proliferation in mice. *Oncotarget*. 2016; 7(38): 61905-61915. doi: 10.18632/oncotarget.11308.
87. Ma Y, Zhang K, Ren F, Wang J. Developmental fluoride exposure influenced rat's splenic development and cell cycle via disruption of the ERK signal pathway. *Chemosphere*. 2017; 187: 173-180. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.08.067.
88. Wang H, Zhou B, Niu R, Wang J, Zhang J, Wang J. Analysis of the roles of dietary protein and calcium in fluoride-induced changes in T-lymphocyte subsets in rat. *Environ Toxicol*. 2017; 32(5): 1587-1595. doi: 10.1002/tox.22386.
89. Deng H, Kuang P, Cui H, Chen L, Fang J, Zuo Z et al. Sodium fluoride induces apoptosis in cultured splenic lymphocytes from mice. *Oncotarget*. 2016; 7(42): 67880-67900. doi: 10.18632/oncotarget.12081.
90. Sun Z, Nie Q, Zhang L, Niu R, Wang J, Wang S. Fluoride reduced the immune privileged function of mouse Sertoli cells via the regulation of Fas/FasL system.

Chemosphere. 2017; 168: 318-325. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.10.023.

91. Wen P, Wei X, Liang G, Wang Y, Yang Y, Qin L et al. Long-term exposure to low level of fluoride induces apoptosis via p53 pathway in lymphocytes of aluminum smelter workers. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2019; 26(3): 2671-2680. doi: 10.1007/s11356-018-3726-z.

92. Wei W, Pang S, Fu X, Tan S, Wang Q, Wang S et al. The role of PERK and IRE1 signaling pathways in excessive fluoride mediated impairment of lymphocytes in rats' spleen in vivo and in vitro. *Chemosphere*. 2019; 223: 1-11. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.02.031.

93. Guo H, Kuang P, Luo Q, Cui H, Deng H, Liu H et al. Effects of sodium fluoride on blood cellular and humoral immunity in mice. *Oncotarget*. 2017; 8(49): 85504-85515. doi: 10.18632/oncotarget.20198.

94. Yin S, Wu H, Song C, Chen X, Zhang Y. Modulation and the Underlying Mechanism of T Cells in Thymus of Mice by Oral Administration of Sodium Fluoride. *Biol Trace Elem Res*. 2016; 170(1): 194-200. doi: 10.1007/s12011-015-0458-5.

95. Gupta AR, Dey S, Saini M, Swarup D. Toxic effect of sodium fluoride on hydroxyproline level and expression of collagen-1 gene in rat bone and its amelioration by *Tamrindus indica* L. fruit pulp extract. *Interdiscip Toxicol*. 2016; 9(1): 12-16. doi: 10.1515/intox-2016-0002.

96. Wei Y, Zeng B, Zhang H, Chen C, Wu Y, Wang N et al. Comparative proteomic analysis of fluoride treated rat bone provides new insights into the molecular mechanisms of fluoride toxicity. *Toxicol Lett*. 2018; 291: 39-50. doi: 10.1016/j.toxlet.2018.04.006.

97. Атякшин ДА, Алексеева НТ, Ключкова СВ, Никитюк ДБ. Состояние коллагеновых волокнистых структур экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани желудка и кишечника мышей после 30-суточного орбитального полета. *Вопр. питания*. 2019; 88(1): 26-40. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10003.

98. Li W, Shang Z, Duan Z, Li L, He J, Fan D. Production of gastric-mucosa protective collagen III by *Pichia pastoris*. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*. 2017; 33(4): 672-682. doi: 10.13345/j.cjb.160381. (In Chinese)

99. Choi WT, Lauwers GY. Patterns of Gastric Injury: Beyond *Helicobacter Pylori*. *Surg Pathol Clin*. 2017; 10(4): 801-822. doi: 10.1016/j.path.2017.07.003.
100. Ercan G, Ilbar Tartar R, Solmaz A, Gulcicek OB, Karagulle OO, Meric S et al. Potent therapeutic effects of ruscogenin on gastric ulcer established by acetic acid. *Asian J Surg*. 2019. pii: S1015-9584(19) 30365-3. doi: 10.1016/j.asjsur.2019.07.001.
101. Altinci P, Mutluay M, Tjäderhane L, Tezvergil-Mutluay A. Effect of calcium fluoride on the activity of dentin matrix-bound enzymes. *Arch Oral Biol*. 2018; 96: 162-168. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.09.006.
102. Altinci P, Mutluay M, Tjäderhane L, Tezvergil-Mutluay A. *Eur J Oral Sci*. 2019; 127(1): 1-9. doi: 10.1111/eos.12581.
103. Kato MT, Bolanho A, Zarella BL, Salo T, Tjäderhane L, Buzalaf MA. Sodium fluoride inhibits MMP-2 and MMP-9. *J Dent Res*. 2014; 93(1): 74-7. doi: 10.1177/0022034513511820.
104. Daiwile AP, Tarale P, Sivanesan S, Naoghare PK, Bafana A, Parmar D et al. Role of fluoride induced epigenetic alterations in the development of skeletal fluorosis. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2019; 169: 410-417. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.11.035.
105. Kimsa-Dudek M, Synowiec-Wojtarowicz A, Derewniuk M, Paul-Samojedny M, Pawłowska-Góral K. The effect of simultaneous exposure of human fibroblasts to fluoride and moderate intensity static magnetic fields. *Int J Radiat Biol*. 2019: 1-7. doi: 10.1080/09553002.2019.1642543.
106. Yamaguchi-Ueda K, Akazawa Y, Kawarabayashi K, Sugimoto A, Nakagawa H, Miyazaki A et al. Combination of ions promotes cell migration via extracellular signal-regulated kinase 1/2 signaling pathway in human gingival fibroblasts. *Mol Med Rep*. 2019; 19(6): 5039-5045. doi: 10.3892/mmr.2019.10141.
107. Pham MH, Haugen HJ, Rinna A, Ellingsen JE, Reseland JE. Hydrofluoric acid treatment of titanium surfaces enhances the proliferation of human gingival fibroblasts. *J Tissue Eng*. 2019; 10: 2041731419828950. doi: 10.1177/2041731419828950.
108. Aranda Salomão PM, de Oliveira FA, Dos Santos DMS, Domezi JP, Dionísio TJ, de Oliveira RC et al. TiF<sub>4</sub> and NaF varnishes induce low levels of apoptosis in murine and human fibroblasts through mitochondrial Bcl-2 family and death receptor signalling.

Arch Oral Biol. 2019; 97: 245-252. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.10.039.

109. Fancher ME, Fournier S, Townsend J, Lallier TE. Cytotoxic effects of silver diamine fluoride. Am J Dent. 2019; 32(3): 152-156.

110. Salomão PMA, Oliveira FA, Rodrigues PD, Al-Ahij LP, Gasque KCDS, Jeggle P et al. The cytotoxic effect of TiF<sub>4</sub> and NaF on fibroblasts is influenced by the experimental model, fluoride concentration and exposure time. PLoS One. 2017; 12(6): e0179471. doi: 10.1371/journal.pone.0179471.

111. Keyhanmanesh R, Hamidian G, Alipour MR, Oghbaei H. Beneficial treatment effects of dietary nitrate supplementation on testicular injury in streptozotocin-induced diabetic male rats. Reprod Biomed Online. 2019; pii: S1472-6483 (19) 30005-7. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.11.027.

112. Keyhanmanesh R, Hamidian G, Alipour MR, Ranjbar M, Oghbaei H. Protective effects of sodium nitrate against testicular apoptosis and spermatogenesis impairments in streptozotocin-induced diabetic male rats. Life Sci. 2018; 211: 63-73. doi: 10.1016/j.lfs.2018.09.019.

113. Oghbaei H, Alipour MR, Hamidian G, Ahmadi M, Ghorbanzadeh V, Keyhanmanesh R. Two months sodium nitrate supplementation alleviates testicular injury in streptozotocin-induced diabetic male rats. Exp Physiol. 2018; 103(12): 1603-1617. doi: 10.1113/EP087198.

114. Xu Y, Pang B, Hu L, Feng X, Hu L, Wang J et al. Dietary nitrate protects submandibular gland from hyposalivation in ovariectomized rats via suppressing cell apoptosis. Biochem Biophys Res Commun. 2018; 497(1): 272-278. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.02.068.

115. Chang S, Hu L, Xu Y, Li X, Ma L, Feng X et al. Inorganic Nitrate Alleviates Total Body Irradiation-Induced Systemic Damage by Decreasing Reactive Oxygen Species Levels. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2019; 103(4): 945-957. doi: 10.1016/j.ijrobp.2018.11.021.

116. Kaplan A, Akalin Ciftci G, Kutlu HM. The apoptotic and genomic studies on A549 cell line induced by silver nitrate. Tumour Biol. 2017; 39(4): 1010428317695033. doi: 10.1177/1010428317695033.

117. Hamed M, Soliman HAM, Sayed AEH. Ameliorative effect of *Spirulina platensis* against lead nitrate-induced cytotoxicity and genotoxicity in catfish *Clarias gariepinus*. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2019; 26(20): 20610-20618. doi: 10.1007/s11356-019-05319-3.
118. Bontemps A, Conquet L, Elie C, Magneron V, Gloaguen C, Kereselidze D et al. In Vivo Comparison of the Phenotypic Aspects and Molecular Mechanisms of Two Nephrotoxic Agents, Sodium Fluoride and Uranyl Nitrate. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(7): pii: E1136. doi: 10.3390/ijerph16071136.
119. Kramer SJ, Baur DA, Spicer MT, Vukovich MD, Ormsbee MJ. The effect of six days of dietary nitrate supplementation on performance in trained CrossFit athletes. *J Int Soc Sports Nutr*. 2016; 13: 39.
120. Kattaia AA, Abd El-Baset SA, Mohamed EM, Abdul-Maksou RS, Elfakharany YM. Molecular mechanisms underlying histological and biochemical changes induced by nitrate in rat liver and the efficacy of S-Allylcysteine. *Ultrastruct Pathol*. 2017; 41(1): 10-22. doi: 10.1080/01913123.2016.1252821.
121. Liu J, Zhang C2, Wang H, Zhang L, Jiang Z, Zhang J et al. Incorporation of nitric oxide donor into 1,3-dioxyxanthenes leads to synergistic anticancer activity. *Eur J Med Chem*. 2018; 151: 158-172. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.03.072.
122. Dong C, Yang R, Li H, Ke K, Luo C, Yang F et al. Econazole nitrate inhibits PI3K activity and promotes apoptosis in lung cancer cells. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 17987. doi: 10.1038/s41598-017-18178-0.
123. Liu Z, Yang S, Jin X, Zhang G, Guo B, Chen H et al. Synthesis and biological evaluation of memantine nitrates as a potential treatment for neurodegenerative diseases. *Medchemcomm*. 2016; 8(1): 135-147. doi: 10.1039/c6md00509h.
124. Luo F, Wu L, Zhang Z, Zhu Z, Liu Z, Guo B et al. The dual-functional memantine nitrate MN-08 alleviates cerebral vasospasm and brain injury in experimental subarachnoid haemorrhage models. *Br J Pharmacol*. 2019. doi: 10.1111/bph.14763.
125. He M, Shi W, Yu M, Li X, Xu J, Zhu J et al. Nicorandil Attenuates LPS-Induced Acute Lung Injury by Pulmonary Endothelial Cell Protection via NF- $\kappa$ B and MAPK Pathways. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 2019: 4957646. doi: 10.1155/2019/4957646.

126. Choi J, Kim R, Kim J, Jeong W, Park SW, Lee HW et al. Nicorandil reduces burn wound progression by enhancing skin blood flow. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2018; 71(8): 1196-1206. doi: 10.1016/j.bjps.2018.03.020.
127. Chen CC, Hong HJ, Hao WR, Cheng TH, Liu JC, Sung LC. Nicorandil prevents doxorubicin-induced human umbilical vein endothelial cell apoptosis. *Eur J Pharmacol*. 2019; 859: 172542. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172542.
128. He W, Su Q, Liang J, Sun Y, Wang X, Li L. The protective effect of nicorandil on cardiomyocyte apoptosis after coronary microembolization by activating Nrf2/HO-1 signaling pathway in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018; 496(4): 1296-1301. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.02.003.
129. Zhang F, Xuan Y, Cui J, Liu X, Shao Z, Yu B. Nicorandil modulated macrophages activation and polarization via NF- $\kappa$ B signaling pathway. *Mol Immunol*. 2017; 88: 69-78. doi: 10.1016/j.molimm.2017.06.019.
130. Refaie MMM, Shehata S, El-Hussieny M, Abdelraheem WM, Bayoumi AMA. Role of ATP-Sensitive Potassium Channel (KATP) and eNOS in Mediating the Protective Effect of Nicorandil in Cyclophosphamide-Induced Cardiotoxicity. *Cardiovasc Toxicol*. 2019. doi: 10.1007/s12012-019-09535-8.
131. Ivarsson N, Schiffer TA, Hernández A, Lanner JT, Weitzberg E, Lundberg JO et al. Dietary nitrate markedly improves voluntary running in mice. *Physiol Behav*. 2017; 168: 55-61. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.10.018.
132. Monaco CMF, Miotto PM, Huber JS, van Loon LJC, Simpson JA, Holloway GP. Sodium nitrate supplementation alters mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> emission but does not improve mitochondrial oxidative metabolism in the heart of healthy rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2018; 315(2): R191-R204. doi: 10.1152/ajpregu.00275.2017.
133. Whitfield J, Ludzki A, Heigenhauser GJ, Senden JM, Verdijk LB et al. Beetroot juice supplementation reduces whole body oxygen consumption but does not improve indices of mitochondrial efficiency in human skeletal muscle. *J Physiol*. 2016; 594(2): 421-35. doi: 10.1113/JP270844.
134. Larsen FJ, Schiffer TA, Borniquel S, Sahlin K, Ekblom B, Lundberg JO et al.

- Dietary inorganic nitrate improves mitochondrial efficiency in humans. *Cell Metab.* 2011; 13(2): 149-59. doi: 10.1016/j.cmet.2011.01.004.
135. Holloway GP. Nutrition and Training Influences on the Regulation of Mitochondrial Adenosine Diphosphate Sensitivity and Bioenergetics. *Sports Med.* 2017; 47(Suppl 1): 13-21. doi: 10.1007/s40279-017-0693-3.
136. Yang M, Xu Y, Heisner JS, Sun J, Stowe DF, Kwok WM et al. Peroxynitrite nitrates adenine nucleotide translocase and voltage-dependent anion channel 1 and alters their interactions and association with hexokinase II in mitochondria. *Mitochondrion.* 2019; 46: 380-392. doi: 10.1016/j.mito.2018.10.002.
137. DeMartino AW, Kim-Shapiro DB, Patel RP, Gladwin MT. Nitrite and nitrate chemical biology and signalling. *Br J Pharmacol.* 2019; 176(2): 228-245. doi: 10.1111/bph.14484.
138. Matthews VB, Hollingshead R, Koch H, Croft KD, Ward NC. Long-Term Dietary Nitrate Supplementation Does Not Prevent Development of the Metabolic Syndrome in Mice Fed a High-Fat Diet. *Int J Endocrinol.* 2018; 2018: 7969750. doi: 10.1155/2018/7969750.
139. Tiso M, Schechter AN. Nitrate reduction to nitrite, nitric oxide and ammonia by gut bacteria under physiological conditions. *PLoS One.* 2015; 10(3): e0119712. doi: 10.1371/journal.pone.0119712.
140. Kapil V, Rathod KS, Khambata RS, Bahra M, Velmurugan S, Purba A et al. Sex differences in the nitrate-nitrite-NO• pathway: Role of oral nitrate-reducing bacteria. *Free Radic Biol Med.* 2018; 126: 113-121. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.07.010.
141. Ramos LCB, Rodrigues FP, Biazzotto JC, de Paula Machado S, Slep LD, Hamblin MR et al. Targeting the mitochondrial VDAC in hepatocellular carcinoma using a polyclonal antibody-conjugated to a nitrosyl ruthenium complex. *J Biol Inorg Chem.* 2018; 23(6): 903-916. doi: 10.1007/s00775-018-1589-x.
142. Ravindran S, Swaminathan K, Ramesh A, Kurian GA. Nicorandil attenuates neuronal mitochondrial dysfunction and oxidative stress associated with murine model of vascular calcification. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2017; 77(1): 57-67.
143. Avetikov D, Bondarenko V, Danylchenko S, Pronina E, Stavitskyi S. Energy

metabolism disorders in rat salivary glands tissues in connection with chronic sodium nitrate intoxication. *Georgian Med News*. 2014; (237): 76-9.

144. Kouw IW, Cermak NM, Burd NA, Churchward-Venne TA, Senden JM, Gijsen AP et al. Sodium nitrate co-ingestion with protein does not augment postprandial muscle protein synthesis rates in older, type 2 diabetes patients. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2016; 311(2): E325-34. doi: 10.1152/ajpendo.00122.2016.

145. Zhang YJ, Zheng NR, Liu B, Ji AL, Li YZ, Huangfu CS. Sodium nitrite reduces lipid accumulation in steatotic cells by enhancing autophagy. *Yao Xue Xue Bao*. 2015; 50(8): 1000-7. (In Chinese)

146. Gui G, Meng SS, Li LJ, Liu B, Liang HX, Huangfu CS. Sodium nitrite enhanced the potentials of migration and invasion of human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells through induction of mitophagy. *Yao Xue Xue Bao*. 2016; 51(1): 59-67.

147. Shakib N, Khadem Ansari MH, Karimi P, Rasmi Y. Neuroprotective mechanism of low-dose sodium nitrite in oxygen-glucose deprivation model of cerebral ischemic stroke in PC12 cells. *EXCLI J*. 2019; 18: 229-242. doi: 10.17179/excli2018-1947.

148. Wu H, Ye M, Yang J, Ding J, Yang J, Dong W, Wang X. Nicorandil Protects the Heart from Ischemia/Reperfusion Injury by Attenuating Endoplasmic Reticulum Response-induced Apoptosis Through PI3K/Akt Signaling Pathway. *Cell Physiol Biochem*. 2015; 35(6): 2320-32. doi: 10.1159/000374035.

149. Jin L, Gao H, Wang J, Yang S, Wang J, Liu J et al. Role and regulation of autophagy and apoptosis by nitric oxide in hepatic stellate cells during acute liver failure. *Liver Int*. 2017; 37(11): 1651-1659. doi: 10.1111/liv.13476.

150. Zhang X, Jin L, Tian Z, Wang J, Yang Y, Liu J et al. Nitric oxide inhibits autophagy and promotes apoptosis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci*. 2019; 110(3): 1054-1063. doi: 10.1111/cas.13945.

151. Park SY, Park MY, Park HG, Lee KJ, Kook MS, Kim WJ et al. Nitric oxide-induced autophagy and the activation of activated protein kinase pathway protect against apoptosis in human dental pulp cells. *Int Endod J*. 2017; 50(3): 260-270. doi: 10.1111/iej.12616.

152. Liu B, Huang X, Li Y, Liao W, Li M, Liu Y et al. JS-K, a nitric oxide donor,



induces autophagy as a complementary mechanism inhibiting ovarian cancer. *BMC Cancer*. 2019; 19(1): 645. doi: 10.1186/s12885-019-5619-z.

153. Sadhu A, Moriyasu Y, Acharya K, Bandyopadhyay M. Nitric oxide and ROS mediate autophagy and regulate *Alternaria alternata* toxin-induced cell death in tobacco BY-2 cells. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 8973. doi: 10.1038/s41598-019-45470-y.

154. Park SK, La Salle DT, Cerbie J, Cho JM, Bledsoe A, Nelson A et al. Elevated arterial shear rate increases indexes of endothelial cell autophagy and nitric oxide synthase activation in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2019; 316(1): H106-H112. doi: 10.1152/ajpheart.00561.2018.

155. Shirazi MK, Azarnejhad A, Abazari MF, Poorebrahim M, Ghoraeian P, Sanadgol N et al. The role of nitric oxide signaling in renoprotective effects of hydrogen sulfide against chronic kidney disease in rats: Involvement of oxidative stress, autophagy and apoptosis. *J Cell Physiol*. 2019; 234(7): 11411-11423. doi: 10.1002/jcp.27797.

156. Jeong S, Kim BG, Kim DY, Kim BR, Kim JL, Park SH et al. Cannabidiol Overcomes Oxaliplatin Resistance by Enhancing NOS3- and SOD2-Induced Autophagy in Human Colorectal Cancer Cells. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(6). pii: E781. doi: 10.3390/cancers11060781.

157. Tegeder I. Nitric oxide mediated redox regulation of protein homeostasis. *Cell Signal*. 2019; 53: 348-356. doi: 10.1016/j.cellsig.2018.10.019.

158. Valek L, Heidler J, Scheving R, Wittig I, Tegeder I. Nitric oxide contributes to protein homeostasis by S-nitrosylations of the chaperone HSPA8 and the ubiquitin ligase UBE2D. *Redox Biol*. 2019; 20: 217-235. doi: 10.1016/j.redox.2018.10.002.

159. Jeong SO, Son Y, Lee JH, Choi SW, Kim SH, Cheong YK et al. Both nitric oxide and nitrite prevent homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress and subsequent apoptosis via cGMP-dependent pathway in neuronal cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017; 493(1): 164-169. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.09.054.

160. Suganya N, Mani KP, Sireesh D, Rajaguru P, Vairamani M, Suresh T et al. Establishment of pancreatic microenvironment model of ER stress: Quercetin attenuates  $\beta$ -cell apoptosis by invoking nitric oxide-cGMP signaling in endothelial cells. *J Nutr Biochem*. 2018; 55: 142-156. doi: 10.1016/j.jnutbio.2017.12.012.

161. Di Pietro N, Marcovecchio ML, Di Silvestre S, de Giorgis T, Cordone VGP, Lanuti P et al. Plasma from pre-pubertal obese children impairs insulin stimulated Nitric Oxide (NO) bioavailability in endothelial cells: Role of ER stress. *Mol Cell Endocrinol.* 2017; 443: 52-62. doi: 10.1016/j.mce.2017.01.001.
162. Khambata RS, Ghosh SM, Rathod KS, Thevathasan T, Filomena F, Xiao Q et al. Antiinflammatory actions of inorganic nitrate stabilize the atherosclerotic plaque. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017 Jan 24; 114(4): E550-E559. doi: 10.1073/pnas.1613063114.
163. Bhaswant M, Brown L, McAinch AJ, Mathai ML. Beetroot and Sodium Nitrate Ameliorate Cardiometabolic Changes in Diet-Induced Obese Hypertensive Rats. *Mol Nutr Food Res.* 2017; 61(12). doi: 10.1002/mnfr.201700478.
164. Ohtake K, Ehara N, Chiba H, Nakano G, Sonoda K, Ito J et al. Dietary nitrite reverses features of postmenopausal metabolic syndrome induced by high-fat diet and ovariectomy in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2017; 312(4): E300-E308. doi: 10.1152/ajpendo.00360.2016.
165. Andrews KL, Sampson AK, Irvine JC, Shihata WA, Michell DL, Lumsden NG et al. Nitroxyl (HNO) reduces endothelial and monocyte activation and promotes M2 macrophage polarization. *Clin Sci (Lond).* 2016; 130(18): 1629-40. doi: 10.1042/CS20160097.
166. Gaafar AGA, Messiha BAS, Abdelkafy AML. Nicorandil and theophylline can protect experimental rats against complete Freund's adjuvant-induced rheumatoid arthritis through modulation of JAK/STAT/RANKL signaling pathway. *Eur J Pharmacol.* 2018; 822: 177-185. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.01.009.
167. Murray PJ. Macrophage Polarization. *Annu Rev Physiol.* 2017; 79: 541-566. doi: 10.1146/annurev-physiol-022516-034339.
168. Vergadi E, Ieronymaki E, Lyroni K, Vaporidi K, Tsatsanis C. Akt Signaling Pathway in Macrophage Activation and M1/M2 Polarization. *J Immunol.* 2017; 198(3): 1006-1014. doi: 10.4049/jimmunol.1601515.
169. Xue Q, Yan Y, Zhang R, Xiong H. Regulation of iNOS on Immune Cells and Its Role in Diseases. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(12). pii: E3805. doi: 10.3390/ijms19123805.
170. Jones DA, Khambata RS, Andiapen M, Rathod KS, Mathur A, Ahluwalia A.

Intracoronary nitrite suppresses the inflammatory response following primary percutaneous coronary intervention. *Heart*. 2017; 103(7): 508-516. doi: 10.1136/heartjnl-2016-309748.

171. Petenkova AA, Kovalenko RI, Nozdrachev AD. The role of nitric oxide in regulation of leukocyte migration into the heart tissue in vitro. *Dokl Biol Sci*. 2015; 465(1): 296-8. doi: 10.1134/S0012496615060022.

172. Ustyugova IV, Zeman C, Dhanwada K, Beltz LA. Nitrates/nitrites alter human lymphocyte proliferation and cytokine production. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2002; 43(3): 270-6.

173. Tian H, He Y, Song X, Jiang L, Luo J, Xu Y et al. Nitrated T helper cell epitopes enhance the immunogenicity of HER2 vaccine and induce anti-tumor immunity. *Cancer Lett*. 2018; 430: 79-87. doi: 10.1016/j.canlet.2018.05.021.

174. García-Ortiz A, Serrador JM. Nitric Oxide Signaling in T Cell-Mediated Immunity. *Trends Mol Med*. 2018; 24(4) :412-427. doi: 10.1016/j.molmed.2018.02.002.

175. Thwe PM, Amiel E. The role of nitric oxide in metabolic regulation of Dendritic cell immune function. *Cancer Lett*. 2018; 412: 236-242. doi: 10.1016/j.canlet.2017.10.032.

176. Obregon C, Graf L, Chung KF, Cesson V, Nicod LP. Nitric oxide sustains IL-1 $\beta$  expression in human dendritic cells enhancing their capacity to induce IL-17-producing T-cells. *PLoS One*. 2015; 10(4): e0120134. doi: 10.1371/journal.pone.0120134.

177. Vasilieva SV, Petrishcheva MS, Yashkina EI, Osipov AN. Signaling and physiological activity of the NO-donating agent TNICthio in human blood lymphocytes, Jurkat and MCF7 cell lines. *Mol Biol Rep*. 2019; 46(1): 719-725. doi: 10.1007/s11033-018-4527-7.

178. Shakib MC, Gabriel SG, Gabriel GN. Beetroot-Carrot Juice Intake either Alone or in Combination with Antileukemic Drug 'Chlorambucil' As A Potential Treatment for Chronic Lymphocytic Leukemia. *Open Access Maced J Med Sci*. 2015; 3(2): 331-6. doi: 10.3889/oamjms.2015.056.

179. Lee TM, Lin SZ, Chang NC. Nicorandil regulates the macrophage skewing and ameliorates myofibroblasts by inhibition of RhoA/Rho-kinase signalling in infarcted rats.

J Cell Mol Med. 2018; 22(2): 1056-1069. doi: 10.1111/jcmm.13130.

180. Cook AB, Seifert AW. Beryllium nitrate inhibits fibroblast migration to disrupt epimorphic regeneration. *Development*. 2016;143(19): 3491-3505.

181. Kaplan A, Akalin Ciftci G, Kutlu HM. Cytotoxic, anti-proliferative and apoptotic effects of silver nitrate against H-ras transformed 5RP7. *Cytotechnology*. 2016; 68(5): 1727-35. doi: 10.1007/s10616-015-9922-5.

182. El-Kashef DH. Nicorandil ameliorates pulmonary inflammation and fibrosis in a rat model of silicosis. *Int Immunopharmacol*. 2018; 64: 289-297. doi: 10.1016/j.intimp.2018.09.017.

183. Jaganathan SK, Mani MP. Electrospinning synthesis and assessment of physicochemical properties and biocompatibility of cobalt nitrate fibers for wound healing applications. *An Acad Bras Cienc*. 2019; 91(3) :e20180237. doi: 10.1590/0001-3765201920180237.

184. O'Sullivan S, Wang J, Pigott MT, Docherty N, Boyle N, Lis SK. et al. Inhibition of matrix metalloproteinase-9 by a barbiturate-nitrate hybrid ameliorates dextran sulphate sodium-induced colitis: effect on inflammation-related genes. *Br J Pharmacol*. 2017; 174(7): 512-524. doi: 10.1111/bph.13712.

185. Rizzi E, Amaral JH, Guimarães DA, Conde-Tella SO, Pinheiro LC, Gerlach RF et al. Nitrite treatment downregulates vascular MMP-2 activity and inhibits vascular remodeling in hypertension independently of its antihypertensive effects. *Free Radic Biol Med*. 2019; 130: 234-243. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.11.002.

186. Meschiari CA, Pinheiro LC, Guimaraes DA, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. Sodium nitrite attenuates MMP-9 production by endothelial cells and may explain similar effects of atorvastatin. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2016; 389(2): 223-31. doi: 10.1007/s00210-015-1192-4.

187. Lu L, Li X, Xu P, Zheng Y, Wang X. Tenuigenin down-regulates the release of nitric oxide, matrix metalloproteinase-9 and cytokines from lipopolysaccharide-stimulated microglia. *Neurosci Lett*. 2017; 650: 82-88. doi: 10.1016/j.neulet.2017.04.001.

188. Bagheri M, Nair RR, Singh KK, Saini DK. ATM-ROS-iNOS axis regulates nitric oxide mediated cellular senescence. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2017; 1864(1):

177-190. doi: 10.1016/j.bbamcr.2016.11.008.

189. Liu RP. Principle and techniques for fluoride pollution control in drinking water. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*. 2019; 30(1): 30-36. doi: 10.13287/j.1001-9332.201901.005. (in Chinese)

190. Tu CL, He LL, Cui LF, Zhang QH, Zeng QB, Pan XL et al. Environmental and geochemical behaviors of fluorine and its impacts on ecological environment. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*. 2019; 30(1): 21-29. doi: 10.13287/j.1001-9332.201901.004. (in Chinese)

191. Yuan LZ, Wang JN, Ma CY, Guo SH. Fluorine speciation in soil and the remediation of fluorine contaminated soil. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*. 2019; 30(1): 10-20. doi: 10.13287/j.1001-9332.201901.003. (in Chinese)

192. Wang Y, Yu R, Zhu G. Evaluation of Physicochemical Characteristics in Drinking Water Sources Emphasized on Fluoride: A Case Study of Yancheng, China. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(6). pii: E1030. doi: 10.3390/ijerph16061030.

193. Bashash M, Thomas D, Hu H, Martinez-Mier EA, Sanchez BN, Basu N et al. Prenatal Fluoride Exposure and Cognitive Outcomes in Children at 4 and 6-12 Years of Age in Mexico. *Environ Health Perspect*. 2017; 125(9): 097017. doi: 10.1289/EHP655.

194. Das S, de Oliveira LM, da Silva E, Liu Y, Ma LQ. Fluoride concentrations in traditional and herbal teas: Health risk assessment. *Environ Pollut*. 2017; 231(Pt 1): 779-784. doi: 10.1016/j.envpol.2017.08.083.

195. Jain RB. Concentrations of fluoride in water and plasma for US children and adolescents: Data from NHANES 2013-2014. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2017; 50: 20-31. doi: 10.1016/j.etap.2017.01.006.

196. Malcuit E, Atteia O, Larroque F, Franceschi M, Pryet A. On the role of low-permeability beds in the acquisition of F and SO<sub>4</sub> concentrations in a multi-layer aquifer, South-West France. *J Contam Hydrol*. 2014; 169: 37-49. doi: 10.1016/j.jconhyd.2014.05.001.

197. Walna B, Kurzyca I, Bednorz E, Kolendowicz L. Fluoride pollution of atmospheric precipitation and its relationship with air circulation and weather patterns (Wielkopolski National Park, Poland). *Environ Monit Assess*. 2013; 185(7): 5497-514. doi:

10.1007/s10661-012-2962-9.

198. Poulsen R, Cedergreen N, Hansen M. Is nitrate an endocrine disruptor? *Integr Environ Assess Manag*. 2017; 13(1): 210-212. doi: 10.1002/ieam.1850.

199. Edwards TM, Hamlin HJ. Reproductive endocrinology of environmental nitrate. *Gen Comp Endocrinol*. 2018; 265: 31-40. doi: 10.1016/j.ygcen.2018.03.021.

200. Wu J, Lu J, Wen X, Zhang Z, Lin Y. Severe Nitrate Pollution and Health Risks of Coastal Aquifer Simultaneously Influenced by Saltwater Intrusion and Intensive Anthropogenic Activities. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2019; 77(1): 79-87. doi: 10.1007/s00244-019-00636-7.

201. Zhou J, Gu B, Schlesinger WH, Ju X. Significant accumulation of nitrate in Chinese semi-humid croplands. Significant accumulation of nitrate in Chinese semi-humid croplands. *Sci Rep*. 2016; 6: 25088. doi: 10.1038/srep25088.

202. Wang H, Gu HB, Chi BM, Li HJ, Jiang HN. Distribution Characteristics and Influencing Factors of Nitrate Pollution in Shallow Groundwater of Liujiang Basin. *Huan Jing Ke Xue*. 2016; 37(5): 1699-706. (in Chinese)

203. Zirkle KW, Nolan BT, Jones RR, Weyer PJ, Ward MH, Wheeler DC. Assessing the relationship between groundwater nitrate and animal feeding operations in Iowa (USA). *Sci Total Environ*. 2016; 566-567: 1062-1068. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.05.130.

204. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Ковальова ІО, Міщенко АВ, Френкель ЮД. Молекулярні механізми впливу фторидів на організм ссавців. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2018; 18(1): 303-8.

205. Акімов ОЕ. Современные подходы к поиску препаратов для дезинтоксикационной терапии при хронической интоксикации нитратами и фторидами. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2015; 15(2): 232-237.

206. Machida M, Goto T, Amano Y, Iida T. Adsorptive Removal of Nitrate from Aqueous Solution Using Nitrogen Doped Activated Carbon. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2016; 64(11): 1555-1559.

207. Zhao H, Xue Y, Long L, Hu X. Adsorption of nitrate onto biochar derived from agricultural residuals. *Water Sci Technol.* 2018; 77(1-2): 548-554. doi: 10.2166/wst.2017.568.
208. Alighardashi A, Mehrani MJ, Ramezani-pour AM. Pervious concrete reactive barrier containing nano-silica for nitrate removal from contaminated water. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018; 25(29): 29481-29492. doi: 10.1007/s11356-018-3008-9.
209. Ніцак ОВ, Геращенко П, Чекман ІС. Адсорбційні властивості суспензії нанодисперсного кремнезему. *Медична хімія.* 2008; 4: 32-35.
210. Pellen-Mussi P, Tricot-Doleux S, Neaime C, Nerambourg N, Cabello-Hurtado F, Cordier S et al. Evaluation of Functional SiO<sub>2</sub> Nanoparticles Toxicity by a 3D Culture Model. *J Nanosci Nanotechnol.* 2018; 18(5): 3148-3157. doi: 10.1166/jnn.2018.14619.
211. Gaikwad MS, Balomajumder C. Tea waste biomass activated carbon electrode for simultaneous removal of Cr(VI) and fluoride by capacitive deionization. *Chemosphere.* 2017; 184: 1141-1149. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.06.074.
212. Li Y, Zhang C1, Jiang Y1, Wang TJ. Electrically enhanced adsorption and green regeneration for fluoride removal using Ti(OH)<sub>4</sub>-loaded activated carbon electrodes. *Chemosphere.* 2018; 200: 554-560. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.02.112.
213. Vences-Alvarez E, Velazquez-Jimenez LH, Chazaro-Ruiz LF, Diaz-Flores PE2, Rangel-Mendez JR. Fluoride removal in water by a hybrid adsorbent lanthanum-carbon. *J Colloid Interface Sci.* 2015; 455: 194-202. doi: 10.1016/j.jcis.2015.05.048.
214. Ghassemi-Golezani K, Farhangi-Abriz S. Biochar alleviates fluoride toxicity and oxidative stress in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seedlings. *Chemosphere.* 2019; 223: 406-415. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.02.087.
215. Elliston T, Oliver IW. Ecotoxicological assessments of biochar additions to soil employing earthworm species *Eisenia fetida* and *Lumbricus terrestris*. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2019. doi: 10.1007/s11356-019-04542-2.
216. Chunhui L, Jin T, Puli Z, Bin Z, Duo B, Xuebin L. Simultaneous removal of fluoride and arsenic in geothermal water in Tibet using modified yak dung biochar as an adsorbent. *R Soc Open Sci.* 2018; 5(11): 181266. doi: 10.1098/rsos.181266.
217. Balarak D, Mahdavi Y, Joghatayi A. Adsorption of fluoride using SiO<sub>2</sub>

nanoparticles as adsorbent. *International Journal of Engineering Technologies and Management Research*. 2015; 2(2): 1-9.

218. Murugadoss S, Lison D, Godderis L, Van Den Brule S, Mast J, Brassinne F et al. Toxicology of silica nanoparticles: an update. *Arch Toxicol*. 2017; 91(9): 2967-3010. doi: 10.1007/s00204-017-1993-y.

219. Zellner T, Prasa D, Färber E, Hoffmann-Walbeck P, Genser D, Eyer F. The Use of Activated Charcoal to Treat Intoxications. *Dtsch Arztebl Int*. 2019; 116(18): 311-317. doi: 10.3238/arztebl.2019.0311.

220. El-Kafoury BM, Saleh NK, Saad DA, Shawky MK, Mahrose EG. Role of activated charcoal in limiting the progression of chronic kidney disease in experimental albino rats. *QJM: An International Journal of Medicine*. 2018; 111(1): hcy200.190 doi: 10.1093/qjmed/hcy200.190.

221. Davis DR, Yeary RA, Lee K. Activated Charcoal Decreases Plasma Bilirubin Levels in the Hyperbilirubinemic Rat. *Pediatr. Res*. 1983; 17: 208-209.

222. Physical-Chemical and Pharmacological Research on New Lignin Enterosorbent. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2014; 2(11): 642-651. Doi: 10.17265/2328-2150/2014.11.002.

223. Гороховський ВН, Деньга ОВ, Левицкий АП, Россаханова ЛН. Влияние различных доз цитрата кальция на протеолиз в костной ткани крыс при фторидной интоксикации. *Вісн. стоматології*. 2006; 2: 3-5.

224. Kostogrys RB, Pisulewski PM, Pecio A. Nitrates affect thyroid status and serum triacylglycerols in Wistar rats. *Pol. J. Food Nutr. Sci*. 2006; 15(1): 71-6.

225. Некрут ДО, Заїчко НВ, Струтинська ОБ. Рівень інсуліноподібного фактора росту-1 та гідроген сульфїду в щурів з неалкогольною жировою хворобою печінки, асоційованою з гіпергомоцистеїнемією. *Медична та клінічна хімія*. 2017; 19(1): 40-6. DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i1.7501.

226. Pongpiriyadacha Y, Matsuda H, Morikawa T, Asao Y, Yoshikawa M. Protective effects of polygodial on gastric mucosal lesions induced by necrotizing agents in rats and the possible mechanisms of action. *Biol Pharm Bull*. 2003; 26(5): 651-7.

227. Sakhno LA, Yurchenko OV, Maslenniy VN, Bardakhivskaya KI, Nikolaeva VV,



Ivanyuk AA et al. Enterosorption as a method to decrease the systemic toxicity of cisplatin. *Exp. Oncology*. 2013; 35( 1): 45-52.

228. Храмов ВА, Листопад ГГ. Модификация метода определения орнитина по Chinard и её использование для количественного определения сывороточной аргиназы. *Лабораторное дело*. 1973; 10: 591-592.

229. Храмов ВА. Нитратредуктазная активность слюны человека. *Вопросы питания*. 1992; 5-6: 65-68.

230. Шрайбман ГН, Дягилева ЕП, Скибина АВ. Спектрофотометрические методики определения пероксинитрита и нитрита. *Вестник КемГУ*. 2011; 45: 200-206.

231. Храмов ВА. Простой метод определения активности орнитиндекарбоксилазы в смешанной слюне человека. *Клин. лаб. диагностика*. 1997; 4: 14-15.

232. Цебржинский ОИ Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії*. 2002; 2( 1): 96-97.

233. Кайдашев ПП, редактор. *Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині*. Полтава: «Полімет»; 2003. 320 с.

234. Королюк МА, Иванова ЛИ, Майорова ИГ. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988;1: 16-19.

235. Дубинина ЕЕ, Бурмистров СО. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека. Метод ее определения. *Вопросы медицинской химии*. 1995; 1: 24-26.

236. Тетянец СС. Метод определения свободного оксипролина в сыворотке крови. *Лабор. дело*. 1985;1: 61-62.

237. Шараев ПН, Пишков ВН, Соловьева НИ, Широкова ТЮ, Соловьева ТВ, Зворыгина НГ, та ін. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях. *Лаб. Дело*. 1987;5: 330-332.

238. Volpi N. Purification of heparin, dermatan sulfate and chondroitin sulfate from mixtures by sequential precipitation with various organic solvents. *J Chromatogr B Biomed Appl*. 1996 Oct 11; 685(1): 27-34.

239. Меньшиков ВВ, редактор. Лабораторные методы исследования в клинике. Москва: Медицина; 1987. 364с.
240. Machin D, Campbell MJ, Walters SJ. Medical Statistics. 4th ed. Chichester: John Wiley & Sons Ltd; 2007. 346 p.
241. Akimov OYe, 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. DOI: 10.15407/ubj88.06.070.
242. Акимов ОЕ, Костенко ВА. Влияние фтора на продукцию оксида азота в крови и слизистой оболочке желудка крыс. Современные проблемы гигиены, радиационной и экологической медицины. 2017; 7: 22-34.
243. Tejero J, Shiva S, Gladwin MT. Sources of Vascular Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species and Their Regulation. *Physiol Rev.* 2019; 99(1): 311-379. doi: 10.1152/physrev.00036.2017.
244. Romero-Puertas MC, Sandalio LM. Nitric Oxide Level Is Self-Regulating and Also Regulates Its ROS Partners. *Front Plant Sci.* 2016; 7: 316. doi: 10.3389/fpls.2016.00316.
245. Akimov OYe, Kostenko VO. Superoxide and peroxynitrite production in gastric mucosa of rats under combined nitrate-fluoride intoxication. *Journal of the Grodno State Medical University.* 2018; 16(6): 730-734.
246. 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. Вестник Алматинского государственного института усовершенствования врачей. 2016; 3: 42-46.
247. Akimov OYe, Free radicals production in rat's gastric mucosa during chronic nitrate intoxication. Proceedings of 4th International Congress on "Drug Discovery, Designing and Development"; 2017 nov 2-3; Chicago. Chicago: Journal of Pharmacology and Therapeutic Research; 2017; Vol.2(1); p.52.
248. Акимов О.Е., Роль полового признака в развитии оксидативного стресса в слизистой оболочке желудка крыс при хронической нитратно-фторидной интоксикации. Матеріали ІІ Науково-практичної інтернет-конференції з

міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція». 2019 лис 21; Харків. Харків: Видавництво НФаУ; 2019; 66-68.

249. Cordero-Herrera I, Kozyra M, Zhuge Z, McCann Haworth S, Moretti C, Peleli M et al. AMP-activated protein kinase activation and NADPH oxidase inhibition by inorganic nitrate and nitrite prevent liver steatosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019; 116(1): 217-226. doi: 10.1073/pnas.1809406115.

250. Yang T, Zhang XM, Tarnawski L, Peleli M, Zhuge Z, Terrando N et al. Dietary nitrate attenuates renal ischemia-reperfusion injuries by modulation of immune responses and reduction of oxidative stress. *Redox Biol*. 2017; 13: 320-330. doi: 10.1016/j.redox.2017.06.002.

251. Hezel M, Peleli M, Liu M, Zollbrecht C, Jensen BL, Checa A et al. Dietary nitrate improves age-related hypertension and metabolic abnormalities in rats via modulation of angiotensin II receptor signaling and inhibition of superoxide generation. *Free Radic Biol Med*. 2016; 99: 87-98. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.07.025.

252. Gao X, Yang T, Liu M, Peleli M, Zollbrecht C, Weitzberg E et al. NADPH oxidase in the renal microvasculature is a primary target for blood pressure-lowering effects by inorganic nitrate and nitrite. *Hypertension*. 2015; 65(1): 161-70. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04222.

253. Lee JW, Lee DH, Park JK, Han JS. Sodium nitrite-derived nitric oxide protects rat testes against ischemia/reperfusion injury. *Asian J Androl*. 2019; 21: 92–97; doi: 10.4103/aja.aja\_76\_18;

254. Gholami F, Rahmani L, Amirzhad F, Cheraghi K. High doses of sodium nitrate prior to exhaustive exercise increases plasma peroxynitrite levels in well-trained subjects: Randomized, double-blinded cross-over study. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2019. doi: 10.1139/apnm-2018-0816. [Epub ahead of print]

255. Akimov OYe, Influence of chronic nitrate intoxication on the concentration of lipid hydroperoxides in the gastric mucosa. *Матеріали VII Пленуму наукового товариства патофізіологів «Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики»*; 2018 жов 11-12; Полтава.

Полтава: УМСА; 2018; с.134-135.

256. Akimov OYe, Mischenko AV, Kostenko VO. Influence of combined nitrate and fluoride intoxication on connective tissue disorders in rats gastric mucosa. *Archives of the Balkan Medical Union*. 2019; 54(3):11-15. DOI. 10.31688/ABMU.2019.54.3.03.
257. Акімов ОЄ, Вплив хронічної нітратно-фторидної інтоксикації на регенераторний потенціал слизової оболонки шлунка. *Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я»*; 2017 лис 17; Полтава. Полтава: ВДНЗУ УМСА; 2017; с.58.
258. Gao C, Fujinawa R, Yoshida T, Ueno M, Ota F, Kizuka Y et al. A keratan sulfate disaccharide prevents inflammation and the progression of emphysema in murine models. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2017; 312(2): L268-L276. doi: 10.1152/ajplung.00151.2016.
259. Kalayci M, Kocdor MA, Kuloglu T, Sahin İ, Sarac M, Aksoy A et al. Comparison of the therapeutic effects of sildenafil citrate, heparin and neuropeptides in a rat model of acetic acid-induced gastric ulcer. *Life Sci*. 2017; 186: 102-110. doi: 10.1016/j.lfs.2017.08.013.
260. Oikari LE, Okolicsanyi RK, Qin A, Yu C, Griffiths LR1, Haupt LM. Cell surface heparan sulfate proteoglycans as novel markers of human neural stem cell fate determination. *Stem Cell Res*. 2016; 16(1): 92-104. doi: 10.1016/j.scr.2015.12.011.
261. Taraballi F, Corradetti B, Minardi S, Powel S, Cabrera F, Van Eps JL et al. Biomimetic collagenous scaffold to tune inflammation by targeting macrophages. *J Tissue Eng*. 2016; 7: 2041731415624667. doi: 10.1177/2041731415624667.
262. Luo Q, Cui H, Deng H, Kuang P, Liu H, Lu Y et al. Sodium fluoride induces renal inflammatory responses by activating NF- $\kappa$ B signaling pathway and reducing anti-inflammatory cytokine expression in mice. *Oncotarget*. 2017; 8(46): 80192-80207. doi: 10.18632/oncotarget.19006
263. Krause BJ, Del Rio R, Moya EA, Marquez-Gutierrez M, Casanello P, Iturriaga R. Arginase-endothelial nitric oxide synthase imbalance contributes to endothelial dysfunction during chronic intermittent hypoxia. *J Hypertens*. 2015; 33(3): 515-24; discussion 524. doi: 10.1097/HJH.0000000000000453.

264. Fafula RV, Iefremova UP, Onufrovych OK, Maksymyuk HV, Besedina AS, Nakonechnyi IA, Vorobets DZ, Vorobets ZD. Alterations in Arginase-NO-synthase System of Spermatozoa in Human Subjects with Different Fertility Potential. *J Med Biochem*. 2018; 37(2): 134-140. doi: 10.1515/jomb-2017-0049.
265. Krause BJ, Hernandez C, Caniuguir A, Vasquez-Devaud P, Carrasco-Wong I, Uauy R et al. Arginase-2 is cooperatively up-regulated by nitric oxide and histone deacetylase inhibition in human umbilical artery endothelial cells. *Biochem Pharmacol*. 2016; 99: 53-9. doi: 10.1016/j.bcp.2015.10.018.
266. Ramachandran J, Peluffo RD. Threshold levels of extracellular l-arginine that trigger NOS-mediated ROS/RNS production in cardiac ventricular myocytes. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2017 Feb 1;312(2):C144-C154. doi: 10.1152/ajpcell.00150.2016.
267. Zhang J, Zhu Y, Liang C, Qie M, Niu R, Sun Z et al. Effects of Fluoride on Expression of P450, CREM and ACT Proteins in Rat Testes. *Biol Trace Elem Res*. 2017; 175(1): 156-160. doi: 10.1007/s12011-016-0753-9.
268. Mori M. Regulation of nitric oxide synthesis and apoptosis by arginase and arginine recycling. *J Nutr*. 2007; 137(6, Suppl2): 1616S-1620S. doi: 10.1093/jn/137.6.1616S.
269. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012; 33(7): 829-37, 837a-837d. doi: 10.1093/eurheartj/ehr304.
270. Ma Y, Ma Z, Yin S, Yan X, Wang J. Arsenic and fluoride induce apoptosis, inflammation and oxidative stress in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Chemosphere*. 2017; 167: 454-461. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.10.025.
271. Güner Ş, Uyar-Bozkurt S, Haznedaroğlu E, Menteş A. Dental Fluorosis and Catalase Immunoreactivity of the Brain Tissues in Rats Exposed to High Fluoride Pre- and Postnatally. *Biol Trace Elem Res*. 2016; 174(1): 150-157.
272. Kanagaraj VV, Panneerselvam L, Govindarajan V, Ameeramja J, Perumal E. Caffeic acid, a phyto polyphenol mitigates fluoride induced hepatotoxicity in rats: A possible mechanism. *Biofactors*. 2015; 41(2): 90-100. doi: 10.1002/biof.1203.
273. Yadav SS, Kumar R, Khare P, Tripathi M. Oxidative Stress Biomarkers in the Freshwater Fish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) Exposed to Sodium Fluoride:

- Antioxidant Defense and Role of Ascorbic Acid. *Toxicol Int.* 2015; 22(1): 71-6. doi: 10.4103/0971-6580.172261.
274. Qing-Feng S, Ying-Peng X, Tian-Tong X Matrix metalloproteinase-9 and p53 involved in chronic fluorosis induced blood-brain barrier damage and neurocyte changes. *Arch Med Sci.* 2019; 15(2): 457-466. doi: 10.5114/aoms.2019.83294.
275. Wang HW, Zhao WP, Tan PP, Liu J, Zhao J, Zhou BH. The MMP-9/TIMP-1 System is Involved in Fluoride-Induced Reproductive Dysfunctions in Female Mice. *Biol Trace Elem Res.* 2017; 178(2): 253-260. doi: 10.1007/s12011-016-0929-3.
276. Cvikl B, Lussi A, Carvalho TS, Moritz A, Gruber R. Stannous chloride and stannous fluoride are inhibitors of matrix metalloproteinases. *J Dent.* 2018; 78: 51-58. doi: 10.1016/j.jdent.2018.08.002.
277. Ansari FA, Ali SN, Mahmood R Taurine mitigates nitrite-induced methemoglobin formation and oxidative damage in human erythrocytes. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2017; 24(23): 19086-19097. doi: 10.1007/s11356-017-9512-5.
278. Ansari FA, Ali SN, Arif H, Khan AA, Mahmood R Acute oral dose of sodium nitrite induces redox imbalance, DNA damage, metabolic and histological changes in rat intestine. *PLoS One.* 2017; 12(4): e0175196. doi: 10.1371/journal.pone.0175196.
279. Sánchez-Sevilla L, Mendieta-Condado E, Hernández-Muñoz R. Putrescine treatment reverses  $\alpha$ -tocopherol-induced desynchronization of polyamine and retinoid metabolism during rat liver regeneration. *J Transl Med.* 2016; 14(1): 307.
280. Knoll GA, Romanelli SM, Brown AM, Sortino RM, Banerjee IA. Multilayered Short Peptide-Alginate Blends as New Materials for Potential Applications in Cartilage Tissue Regeneration. *J Nanosci Nanotechnol.* 2016; 16(3): 2464-73.
281. Hamon L, Savarin P, Pastré D. Polyamine signal through gap junctions: A key regulator of proliferation and gap-junction organization in mammalian tissues? *Bioessays.* 2016; 38(6): 498-507. doi: 10.1002/bies.201500195.
282. Russo F, Linsalata M, Orlando A. Probiotics against neoplastic transformation of gastric mucosa: effects on cell proliferation and polyamine metabolism. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(37): 13258-72. doi: 10.3748/wjg.v20.i37.13258.
283. Bae DH, Lane DJR, Jansson PJ, Richardson DR. The old and new biochemistry of

- polyamines. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2018; 1862(9): 2053-2068. doi: 10.1016/j.bbagen.2018.06.004.
284. Hsu CW, Chen YT, Hsieh YJ, Chang KP, Hsueh PC, Chen TW et al. Integrated analyses utilizing metabolomics and transcriptomics reveal perturbation of the polyamine pathway in oral cavity squamous cell carcinoma. *Anal Chim Acta*. 2019; 1050: 113-122. doi: 10.1016/j.aca.2018.10.070.
285. Al-Malki AL, Razvi SS, Mohammed FA, Zamzami MA, Choudhry H, Kumosani TA et al. Synthesis and in vitro antitumor activity of novel acylspermidine derivative N-(4-aminobutyl)-N-(3-aminopropyl)-8-hydroxy-dodecanamide (AAHD) against HepG2 cells. *Bioorg Chem*. 2019; 88: 102937. doi: 10.1016/j.bioorg.2019.102937.
286. Pernow J, Jung C. Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal? *Cardiovasc Res*. 2013; 98(3): 334-43. doi: 10.1093/cvr/cvt036.
287. Masi S, Colucci R, Duranti E, Nannipieri M, Anselmino M, Ippolito C et al. Aging Modulates the Influence of Arginase on Endothelial Dysfunction in Obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2018; 38(10): 2474-2483. doi: 10.1161/ATVBAHA.118.311074.
288. Nath N, Prasad HK, Kumar M. Cerebroprotective effects of hydrogen sulfide in homocysteine-induced neurovascular permeability: Involvement of oxidative stress, arginase, and matrix metalloproteinase-9. *J Cell Physiol*. 2019; 234(3): 3007-3019. doi: 10.1002/jcp.27120.
289. Pandya CD, Lee B, Toque HA, Mendhe B, Bragg RT, Pandya B et al. Age-Dependent Oxidative Stress Elevates Arginase 1 and Uncoupled Nitric Oxide Synthesis in Skeletal Muscle of Aged Mice. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 2019: 1704650. doi: 10.1155/2019/1704650.
290. Lee CY, Su CH, Tsai PK, Yang ML, Ho YC, Lee SS et al. Cadmium nitrate-induced neuronal apoptosis is protected by N-acetyl-l-cysteine via reducing reactive oxygen species generation and mitochondria dysfunction. *Biomed Pharmacother*. 2018; 108: 448-456. doi: 10.1016/j.biopha.2018.09.054.
291. Xie L, Zhang Y, Li X, Chai L, Wang H. Exposure to nitrate alters the histopathology and gene expression in the liver of *Bufo gargarizans* tadpoles.

- Chemosphere. 2019; 217 : 308-319. doi: 10.1016/j.chemosphere. 2018.11.029.
292. Tang Y, Guo Y, Zhang L, Cai J, Yang P. A novel electrochemical biosensor for monitoring protein nitration damage affected by NaNO<sub>2</sub>/hemin/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Biosens Bioelectron. 2014; 54: 628-33. doi: 10.1016/j.bios.2013.11.052.
293. Sies H. Role of metabolic H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation: redox signaling and oxidative stress. J Biol Chem. 2014; 289(13): 8735-41. doi: 10.1074/jbc.R113.544635.
294. Hayman EG, Patel AP, James RF, Simard JM. Heparin and Heparin-Derivatives in Post-Subarachnoid Hemorrhage Brain Injury: A Multimodal Therapy for a Multimodal Disease. Molecules. 2017; 22(5). pii: E724. doi: 10.3390/molecules22050724.
295. Melrose J. Keratan sulfate (KS)-proteoglycans and neuronal regulation in health and disease: the importance of KS-glycodynamics and interactive capability with neuroregulatory ligands. J Neurochem. 2019; 149(2): 170-194. doi: 10.1111/jnc.14652.
296. Акимов ОЕ, Мищенко АВ, Костенко ВА. Влияние суспензии нанодисперсного кремнезема на функционирование цикла оксида азота в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной нитратной и фторидной интоксикации. Вестник Белорусского государственного медицинского университета. 2017; 1: 40-44.
297. Акімов ОЄ, Костенко ВО. Вплив різних карбонових сорбентів на функціонування циклу оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2017; 17(2): 5-8.
298. Акимов ОЕ, Влияние нанодисперсного кремнезема на функционирование NO-синтетазного и аргиназного пути метаболизма L-аргинина в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной фтористой и нитратной интоксикациях. Сборник материалов XIX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье»; 2016 апр 23; Санкт-Петербург. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ; 2016; с.25-26.
299. Акімов ОЄ, Вплив сорбенту на основі активованого вугілля на NO-ергічну систему слизової оболонки шлунка щурів за умов нітратно-фторидної інтоксикації.



Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку»; 2017 січ 27-28; Львів. Львів: ГО «Львівська медична спільнота»; 2017; с.69-72.

300. Акимов ОЕ, Влияние энтеросорбентов на продукцию оксида азота в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной нитратно-фторидной интоксикации. Сборник материалов XXI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». 2018 апр 14; Санкт-Петербург. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ; 2018; с.19-20.

301. Акимов ОЕ, Костенко ВА, Коррекция гиперпродукции оксида азота в слизистой оболочке желудка при нитратно-фторидной интоксикации энтеросорбентами разных классов. Материалы 66 годичной научно-практической конференции ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием «Роль и место инновационных технологий в современной медицине»; 2018 ноя 23; Душанбе. Душанбе: ТГМУ; 2018; Т2; с.63-64.

302. Акімов ОЄ, Міщенко АВ, Костенко ВО. Корекція оксидативного стресу в слизовій оболонці шлунка щурів ентеросорбентами різних класів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2019; 19(2): 103-106. DOI 10.31718/2077-1096.19.2.103.

303. Акимов ОЕ, Влияние нанодисперсного кремнезёма на генерацию супероксидного анион-радикала в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной нитратной и фторидной интоксикации. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я»; 2016 гру 9; Полтава. Полтава: ВДНЗУ УМСА; 2016, с.84.

304. Акімов ОЄ, Вплив нанодисперсного кремнезему на стан антиоксидантних систем слизової оболонки шлунка щурів. Збірник матеріалів VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю: «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції»; 2016 жов 5-7; Харків. Харків: НФаУ; 2016; с.29.

305. Акімов ОЄ, Вплив суспензії нанодисперсного кремнезему на оксидативний

стресс в слизовій оболонці шлунка за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації. Збірник матеріалів IV Міжнародної науково-практичної конференції Студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини»; 2016 кві 21-22; Суми. Суми: СумДУ; 2016; с.55.

306. Акимов ОЕ, Влияние нанодисперсного оксида кремния на процессы пероксидации в слизистой оболочке желудка крыс при нитратно-фторидной интоксикации. Материалы XX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». 2017 апр 22; Санкт-Петербург. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ; 2017; с.26.

307. Акімов ОЄ, Вплив суспензії «Карболайн» на процеси пероксидації в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я»; 2018 лис 16; Полтава. Полтава УМСА; 2018; с.41-42.

308. Akimov OYe, Influence of carboline on reactive oxygen and nitrogen species production in gastric mucosa of rats under chronic nitrate-fluoride intoxication. Матеріали I науково-практичної інтернет-конференції «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція»; 2018 жов 18; Харків. Харків: НФаУ; 2018; с.15-16.

309. Акимов ОЕ, Влияние разных энтеросорбентов на развитие оксидационного стресса в слизистой оболочке желудка при хронической нитратно-фторидной интоксикации. Сборник материалов XXII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». 2019 апр 20; Санкт-Петербург. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ; 2019; с.24-25.

310. Akimov OYe, Kovalova IO, Kostenko VO. Correction of destructive changes in connective tissues of different organs during chronic nitrate and fluoride intoxication by nanosized silica oxide. Journal of Education, Health and Sport. 2019; 9(5): 547-555. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.3238594>.

311. Акімов ОЄ, Вплив суспензії на основі активованого вугілля на процеси деструкції сполучної тканини в слизовій оболонці шлунка за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації. Матеріали I Науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації»; 2019 трав 15; Харків. Харків: НФаУ; 2019; с. 37-39.
312. Акімов О.Є., Корекція дезорганізації сполучної тканини в слизовій оболонці шлунка в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації різними карбоновими сорбентами. Збірник матеріалів Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я»; 2019 лис 22; Полтава. Полтава УМСА; 2019; с.41-42.
313. Speckmann B, Steinbrenner H, Grune T, Klotz LO. Peroxynitrite: From interception to signaling. *Arch Biochem Biophys*. 2016; 595: 153-60. doi: 10.1016/j.abb.2015.06.022.
314. Ramdial K, Franco MC, Estevez AG. Cellular mechanisms of peroxynitrite-induced neuronal death. *Brain Res Bull*. 2017; 133: 4-11. doi: 10.1016/j.brainresbull.2017.05.008.
315. Pestoni JC, Klingeman Plati S, Valdivia Camacho OD, Fuse MA, Onatunde M, Sparrow NA et al. Peroxynitrite supports a metabolic reprogramming in merlin-deficient Schwann cells and promotes cell survival. *J Biol Chem*. 2019; 294(30): 11354-11368. doi: 10.1074/jbc.RA118.007152.
316. Ascenzi P, Leboffe L, Pesce A, Ciaccio C, Sbardella D, Bolognesi M et al. Nitrite-reductase and peroxynitrite isomerization activities of *Methanosarcina acetivorans* protoglobin. *PLoS One*. 2014; 9(5): e95391. doi: 10.1371/journal.pone.0095391.
317. Vishwakarma A, Kumari A, Mur LAJ, Gupta KJ. A discrete role for alternative oxidase under hypoxia to increase nitric oxide and drive energy production. *Free Radic Biol Med*. 2018; 122: 40-51. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.045.
318. Ascenzi P, Pesce A. Peroxynitrite scavenging by *Campylobacter jejuni* truncated hemoglobin P. *J Biol Inorg Chem*. 2017; 22(8): 1141-1150. doi: 10.1007/s00775-017-1490-z.

319. Ascenzi P, Leboffe L, Santucci R, Coletta M. Ferric microperoxidase-11 catalyzes peroxynitrite isomerization. *J Inorg Biochem.* 2015; 144: 56-61. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2014.12.013.
320. Koppenol WH. The chemistry of peroxynitrite, a biological toxin. *Química Nova.* 1998; 21(3): 326-331. Doi: 10.1590/S0100-40421998000300014
321. Дягилева ЕП, Миклин МБ. Изомеризация и диссоциация пероксонитрит иона при растворении кристаллического нитрата калия, облученного светом длиной волны 253.7 нм. *Вестник Кемеровского государственного университета.* 2015; 64(4): 233-236.
322. Meng H, Zhang T, Liu W, Wang H, Wang C, Zhao Z et al. Sodium fluoride induces apoptosis through the downregulation of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in primary cultured rat chondrocytes. *Int J Mol Med.* 2014 Feb; 33(2): 351-8. doi: 10.3892/ijmm.2013.1576.
323. Kuzenkov VS. Protective Role of Nitrate/Nitrite Reductase System during Transient Global Cerebral Ischemia. *Bull Exp Biol Med.* 2018; 165(1): 31-35. doi: 10.1007/s10517-018-4092-z.
324. Gasier HG, Reinhold AR, Loisele AR, Soutiere SE, Fothergill DM. Effects of oral sodium nitrate on forearm blood flow, oxygenation and exercise performance during acute exposure to hypobaric hypoxia (4300 m). *Nitric Oxide.* 2017; 69: 1-9. doi: 10.1016/j.niox.2017.07.001.
325. Mukhopadhyay D, Srivastava R, Chattopadhyay A. Sodium fluoride generates ROS and alters transcription of genes for xenobiotic metabolizing enzymes in adult zebrafish (*Danio rerio*) liver: expression pattern of Nrf2/Keap1 (INrf2). *Toxicol Mech Methods.* 2015; 25(5): 364-73. doi: 10.3109/15376516.2015.1025348.
326. Ling WC, Murugan DD, Lau YS, Vanhoutte PM, Mustafa MR. Sodium nitrite exerts an antihypertensive effect and improves endothelial function through activation of eNOS in the SHR. *Sci Rep.* 2016; 6: 33048. doi: 10.1038/srep33048.
327. Gheibi S, Jeddi S, Carlström M, Gholami H, Ghasemi A. Effects of long-term nitrate supplementation on carbohydrate metabolism, lipid profiles, oxidative stress, and inflammation in male obese type 2 diabetic rats. *Nitric Oxide.* 2018; 75: 27-41. doi: 10.1016/j.niox.2018.02.002.

328. Huang Y, Sun M, Li F, Li H, Jiang Z. Preliminary Study of Mechanisms of Fluoride-Induced Suppression of Nitric Oxide Synthesis in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Biol Trace Elem Res*. 2018; 185(2): 311-315. doi: 10.1007/s12011-018-1252-y.
329. Goschorska M, Baranowska-Bosiacka I, Gutowska I, Metryka E, Skórka-Majewicz M, Chlubek D. Potential Role of Fluoride in the Etiopathogenesis of Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(12). pii: E3965. doi: 10.3390/ijms19123965.
330. Norouzirad R, Gholami H, Ghanbari M, Hedayati M, González-Muniesa P, Jeddi S et al. Dietary inorganic nitrate attenuates hyperoxia-induced oxidative stress in obese type 2 diabetic male rats. *Life Sci*. 2019; 230: 188-196. doi: 10.1016/j.lfs.2019.05.068.
331. Menezes EF, Peixoto LG, Teixeira RR, Justino AB, Puga GM, Espindola FS. Potential Benefits of Nitrate Supplementation on Antioxidant Defense System and Blood Pressure Responses after Exercise Performance. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 2019: 7218936. doi: 10.1155/2019/7218936.
332. Carriker CR, Harrison CD, Bockover EJ, Ratcliffe BJ, Crowe S, Morales-Acuna F. Acute dietary nitrate does not reduce resting metabolic rate or oxidative stress marker 8-isoprostane in healthy males and females. *Int J Food Sci Nutr*. 2019; 1-7. doi: 10.1080/09637486.2019.1580683.
333. Qi Q, Guo Z, Liang Y, Li K, Xu H. Hydrogen sulfide alleviates oxidative damage under excess nitrate stress through MAPK/NO signaling in cucumber. *Plant Physiol Biochem*. 2019; 135: 1-8. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.11.017.
334. Nitrate decreases xanthine oxidoreductase-mediated nitrite reductase activity and attenuates vascular and blood pressure responses to nitrite. *Redox Biol*. 2017; 12: 291-299. doi: 10.1016/j.redox.2017.03.003.
335. Pinheiro LC, Amaral JH, Ferreira GC, Portella RL, Ceron CS, Montenegro MF et al. Gastric S-nitrosothiol formation drives the antihypertensive effects of oral sodium nitrite and nitrate in a rat model of renovascular hypertension. *Free Radic Biol Med*. 2015; 87: 252-62. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.038.
336. Belcastro E, Wu W, Fries-Raeth I, Corti A, Pompella A, Leroy P et al. Oxidative stress enhances and modulates protein S-nitrosation in smooth muscle cells exposed to S-

- nitrosoglutathione. *Nitric Oxide*. 2017; 69: 10-21. doi: 10.1016/j.niox.2017.07.004.
337. Hasan MK, Liu C, Wang F, Ahammed GJ, Zhou J, Xu MX et al. Glutathione-mediated regulation of nitric oxide, S-nitrosothiol and redox homeostasis confers cadmium tolerance by inducing transcription factors and stress response genes in tomato. *Chemosphere*. 2016; 161: 536-545. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.07.053.
338. Ansari FA, Mahmood R. Sodium Nitrate Induces Reactive Oxygen Species That Lower the Antioxidant Power, Damage the Membrane, and Alter Pathways of Glucose Metabolism in Human Erythrocytes. *J Agric Food Chem*. 2015; 63(48): 10372-9. doi: 10.1021/acs.jafc.5b04898.
339. Demicheli V, Moreno DM, Radi R. Human Mn-superoxide dismutase inactivation by peroxynitrite: a paradigm of metal-catalyzed tyrosine nitration in vitro and in vivo. *Metallomics*. 2018; 10(5): 679-695. doi: 10.1039/c7mt00348j.
340. Demicheli V, Moreno DM, Jara GE, Lima A, Carballal S, Ríos N et al. Mechanism of the Reaction of Human Manganese Superoxide Dismutase with Peroxynitrite: Nitration of Critical Tyrosine 34. *Biochemistry*. 2016; 55(24): 3403-17. doi: 10.1021/acs.biochem.6b00045.
341. Miao L, St Clair DK. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free Radic Biol Med*. 2009; 47(4): 344-56. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.018.
342. Lu J, Zhang H, Chen X, Zou Y, Li J, Wang L et al. A small molecule activator of SIRT3 promotes deacetylation and activation of manganese superoxide dismutase. *Free Radic Biol Med*. 2017; 112: 287-297. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.07.012.
343. Wang X, Song Q, Wang Z, Han F. A novel extracellular copper/zinc superoxide dismutase identified from *Nibea albiflora* and its characteristics under ammonia/nitrite stress. *Int J Biol Macromol*. 2018; 115: 608-617. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.03.069.
344. Möller MN, Rios N, Trujillo M, Radi R, Denicola A, Alvarez B. Detection and quantification of nitric oxide-derived oxidants in biological systems. *J Biol Chem*. 2019; pii: jbc.REV119.006136. doi: 10.1074/jbc.REV119.006136.
345. Merino L, Örnemark U, Toldrá F. Analysis of Nitrite and Nitrate in Foods: Overview of Chemical, Regulatory and Analytical Aspects. *Adv Food Nutr Res*. 2017;

- 81: 65-107. doi: 10.1016/bs.afnr.2016.11.004.
346. Pluta RM. To Be-et, or Not to Be-et, That is the Question: The Role(s) of Nitrate and Nitrite in Health and Illness. *Rev Recent Clin Trials*. 2016; 11(2): 135-40.
347. Glorieux C, Calderon PB. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. *Biol Chem*. 2017; 398(10): 1095-1108. doi: 10.1515/hsz-2017-0131.
348. Krych-Madej J, Gebicka L. Interactions of nitrite with catalase: Enzyme activity and reaction kinetics studies. *J Inorg Biochem*. 2017; 171: 10-17. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2017.02.023.
349. Sun Z, Li S, Guo Z, Li R, Wang J, Niu R et al. Effects of Fluoride on SOD and CAT in Testis and Epididymis of Mice. *Biol Trace Elem Res*. 2018; 184(1): 148-153. doi: 10.1007/s12011-017-1181-1.
350. Ameeramja J, Raghunath A, Perumal E. Tamarind seed coat extract restores fluoride-induced hematological and biochemical alterations in rats. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018; 25(26): 26157-26166. doi: 10.1007/s11356-018-2667-x.
351. Akdogan M, Kaleli S, Yazar H, Desdicioglu R, Yuvaci H. Effect of high-dose fluoride on antioxidant enzyme activities of amniotic Fluid in rats. *J Pak Med Assoc*. 2016; 66(4): 435-8.
352. Ameeramja J, Perumal E. Possible Modulatory Effect of Tamarind Seed Coat Extract on Fluoride-Induced Pulmonary Inflammation and Fibrosis in Rats. *Inflammation*. 2018; 41(3): 886-895. doi: 10.1007/s10753-018-0743-5.
353. Drabik-Markiewicz G, Dejaegher B, De Mey E, Impens S, Kowalska T, Paelinck H et al. Evaluation of the influence of proline, hydroxyproline or pyrrolidine in the presence of sodium nitrite on N-nitrosamine formation when heating cured meat. *Anal Chim Acta*. 2010; 657(2): 123-30. doi: 10.1016/j.aca.2009.10.028.
354. Stachon T, Kolev K, Flaskó Z, Seitz B, Langenbacher A et al. Arginase activity, urea, and hydroxyproline concentration are reduced in keratoconus keratocytes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2017; 255(1): 91-97. doi: 10.1007/s00417-016-3520-x.
355. Grasemann H, Dhaliwal R, Ivanovska J, Kantores C, McNamara PJ, Scott JA et al. Arginase inhibition prevents bleomycin-induced pulmonary hypertension, vascular

remodeling, and collagen deposition in neonatal rat lungs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2015; 308(6): L503-10. doi: 10.1152/ajplung.00328.2014.

356. Caldwell RW, Rodriguez PC, Toque HA, Narayanan SP, Caldwell RB. Arginase: A Multifaceted Enzyme Important in Health and Disease. *Physiol Rev*. 2018; 98(2): 641-665. doi: 10.1152/physrev.00037.2016.

357. Imamura M, Higashi K, Yamaguchi K, Asakura K, Furihata T, Terui Y et al. Polyamines release the let-7b-mediated suppression of initiation codon recognition during the protein synthesis of EXT2. *Sci Rep*. 2016; 6: 33549. doi: 10.1038/srep33549.

358. Yamaguchi K, Asakura K, Imamura M, Kawai G, Sakamoto T, Furihata T et al. Polyamines stimulate the CHSY1 synthesis through the unfolding of the RNA G-quadruplex at the 5'-untranslated region. *Biochem J*. 2018; 475(23): 3797-3812. doi: 10.1042/BCJ20180672.

359. Brack MJ, More RS, Hubner PJ, Gershlick AH. The effect of different nitrate preparations on plasma heparin concentrations and the activated partial thromboplastin time. *Postgrad Med J*. 1994; 70(820): 100-3.

360. Hendgen-Cotta UB, Messiha D, Esfeld S, Deenen R, Rassaf T, Totzeck M. Inorganic nitrite modulates miRNA signatures in acute myocardial in vivo ischemia/reperfusion. *Free Radic Res*. 2017; 51(1): 91-102. doi: 10.1080/10715762.2017.1282158.

361. Sparacino-Watkins CE, Tejero J, Sun B, Gauthier MC, Thomas J, Ragireddy V et al. Nitrite reductase and nitric-oxide synthase activity of the mitochondrial molybdopterins enzymes mARC1 and mARC2. *J Biol Chem*. 2014; 289(15): 10345-58. doi: 10.1074/jbc.M114.555177.

362. Dungal P, Penzenstadler C, Ashmwe M, Dumitrescu S, Stoegerer T, Redl H et al. Impact of mitochondrial nitrite reductase on hemodynamics and myocardial contractility. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 12092. doi: 10.1038/s41598-017-11531-3.

363. Xiao W, Wang RS, Handy DE, Loscalzo J. NAD(H) and NADP(H) Redox Couples and Cellular Energy Metabolism. *Antioxid Redox Signal*. 2018; 28(3): 251-272. doi: 10.1089/ars.2017.7216.

364. Cai D, Tien M. Kinetic studies on the formation and decomposition of compounds



II and III. Reactions of lignin peroxidase with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *J Biol Chem*. 1992; 267(16): 11149-55.

365. Falade AO, Nwodo UU, Iweriebor BC, Green E, Mabinya LV, Okoh AI. Lignin peroxidase functionalities and prospective applications. *Microbiologyopen*. 2017; 6(1). doi: 10.1002/mbo3.394.

366. Zucca P, Neves CM, Simões MM, Neves Mda G, Cocco G, Sanjust E. Immobilized Lignin Peroxidase-Like Metalloporphyrins as Reusable Catalysts in Oxidative Bleaching of Industrial Dyes. *Molecules*. 2016; 21(7). pii: E964. doi: 10.3390/molecules21070964.

367. MacDonald J, Goacher RE, Abou-Zaid M, Master ER. Comparative analysis of lignin peroxidase and manganese peroxidase activity on coniferous and deciduous wood using ToF-SIMS. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016; 100(18): 8013-20. doi: 10.1007/s00253-016-7560-2.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ****1) Публікації в яких були опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Akimov OYe, 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. DOI: 10.15407/ubj88.06.070 *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу результати та обговорення, відповідь рецензентам)*

2. Акімов ОЄ, Костенко ВО. Вплив різних карбонових сорбентів на функціонування циклу оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2017; 17(2): 5-8. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу результати та обговорення, відповідь рецензентам)*

3. Акімов ОЄ, Міщенко АВ, Костенко ВО. Корекція оксидативного стресу в слизовій оболонці шлунка щурів ентеросорбентами різних класів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2019; 19(2): 103-106. DOI 10.31718/2077-1096.19.2.103. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, написання розділу результати та обговорення)*

4. Akimov OYe, Kovalova IO, Kostenko VO. Correction of destructive changes in connective tissues of different organs during chronic nitrate and fluoride intoxication by nanosized silica oxide. Journal of Education, Health and Sport. 2019; 9(5): 547-555. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.3238594>. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз*

*результатів, статистична обробка результатів)*

5. Akimov OYe, Mischenko AV, Kostenko VO. Influence of combined nitrate and fluoride intoxication on connective tissue disorders in rats gastric mucosa. Archives of the Balkan Medical Union. 2019; 54(3):11-15. DOI. 10.31688/ABMU.2019.54.3.03. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, написання розділу результати та обговорення, відповідь рецензентам)*

6. Akimov OYe, Kostenko VO. Superoxide and peroxynitrite production in gastric mucosa of rats under combined nitrate-fluoride intoxication. Journal of the Grodno State Medical University. 2018; 16(6): 730-734. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу результати та обговорення, відповідь рецензентам)*

7. 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. Вестник Алматинского государственного института усовершенствования врачей. 2016; 3: 42-46. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, написання розділу результати та обговорення)*

8. Акимов ОЕ, Мищенко АВ, Костенко ВА. Влияние суспензии нанодисперсного кремнезема на функционирование цикла оксида азота в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной нитратной и фторидной интоксикации. Вестник Белорусского государственного медицинского университета. 2017; 1: 40-44. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу результати та обговорення)*

9. Акимов ОЕ, Костенко ВА. Влияние фтора на продукцию оксида азота в крови и слизистой оболочке желудка крыс. Современные проблемы гигиены,

радиационной и экологической медицины. 2017; 7: 22-34. (*Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення біохімічних аналізів в слизовій оболонці шлунка, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу результати та обговорення*)

## **2) Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

10. Акимов ОЕ, Влияние нанодисперсного кремнезёма на генерацию супероксидного анион-радикала в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной нитратной и фторидной интоксикации. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я»; 2016 груд 9; Полтава. Полтава: ВДНЗУ УМСА; 2016, с.84.

11. Акімов ОЄ, Вплив нанодисперсного кремнезему на стан антиоксидантних систем слизової оболонки шлунка щурів. Збірник матеріалів VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю: «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції»; 2016 жов 5-7; Харків. Харків: НФаУ; 2016; с.29.

12. Акімов ОЄ, Вплив суспензії нанодисперсного кремнезему на оксидативний стресс в слизовій оболонці шлунка за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації. Збірник матеріалів IV Міжнародної науково-практичної конференції Студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини»; 2016 кві 21-22; Суми. Суми: СумДУ; 2016; с.55.

13. Акимов ОЕ, Влияние нанодисперсного кремнезема на функционирование NO-синтетазного и аргиназного пути метаболизма L-аргинина в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной фтористой и нитратной интоксикациях. Сборник материалов XIX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье»; 2016 апр 23; Санкт-Петербург. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ; 2016; с.25-26.

14. Акімов ОЄ, Вплив хронічної нітратно-фторидної інтоксикації на регенераторний потенціал слизової оболонки шлунка. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я»; 2017 лис 17; Полтава. Полтава: ВДНЗУ УМСА; 2017; с.58.

15. Akimov OYe, Free radicals production in rat's gastric mucosa during chronic nitrate intoxication. Proceedings of 4th International Congress on "Drug Discovery, Designing and Development"; 2017 nov 2-3; Chicago. Chicago: Journal of Pharmacology and Therapeutic Research; 2017; Vol.2(1); p.52.

16. Акімов ОЄ, Вплив сорбенту на основі активованого вугілля на NO-ергічну систему слизової оболонки шлунка щурів за умов нітратно-фторидної інтоксикації. Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку»; 2017 січ 27-28; Львів. Львів: ГО «Львівська медична спільнота»; 2017; с.69-72.

17. Акимов ОЕ, Влияние нанодисперсного оксида кремния на процессы пероксидации в слизистой оболочке желудка крыс при нитратно-фторидной интоксикации. Материалы XX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». 2017 апр 22; Санкт-Петербург. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ; 2017; с.26.

18. Акімов ОЄ, Вплив суспензії «Карболайн» на процеси пероксидації в слизовій оболонці шлунка щурів за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я»; 2018 лис 16; Полтава. Полтава УМСА; 2018; с.41-42.

19. Akimov OYe, Influence of chronic nitrate intoxication on the concentration of lipid hydroperoxides in the gastric mucosa. Матеріали VII Пленуму наукового товариства патофізіологів «Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики»; 2018 жов 11-12; Полтава. Полтава: УМСА; 2018; с.134-135.

20. Акимов ОЕ, Влияние энтеросорбентов на продукцию оксида азота в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной нитратно-фторидной интоксикации. Сборник материалов XXI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». 2018 апр 14; Санкт-Петербург. Санкт-

Петербург: Изд-во СПбГУ; 2018; с.19-20

21. Акимов ОЕ, Костенко ВА, Коррекция гиперпродукции оксида азота в слизистой оболочке желудка при нитратно-фторидной интоксикации энтеросорбентами разных классов. Материалы 66 годичной научно-практической конференции ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием «Роль и место инновационных технологий в современной медицине»; 2018 ноя 23; Душанбе. Душанбе: ТГМУ; 2018; Т2; с.63-64.

22. Akimov OYe, Influence of carboline on reactive oxygen and nitrogen species production in gastric mucosa of rats under chronic nitrate-fluoride intoxication. Матеріали I науково-практичної інтернет-конференції «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція»; 2018 жов 18; Харків. Харків: НФаУ; 2018; с.15-16.

23. Акимов ОЕ, Вплив суспензії на основі активованого вугілля на процеси деструкції сполучної тканини в слизовій оболонці шлунка за умов хронічної нітратно-фторидної інтоксикації. Матеріали I Науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації»; 2019 трав 15; Харків. Харків: НФаУ; 2019; с. 37-39.

24. Акимов ОЕ, Влияние разных энтеросорбентов на развитие оксидационного стресса в слизистой оболочке желудка при хронической нитратно-фторидной интоксикации. Сборник материалов XXII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». 2019 апр 20; Санкт-Петербург. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ; 2019; с.24-25.

25. Акимов О.Е., Роль полового признака в развитии оксидативного стресса в слизистой оболочке желудка крыс при хронической нитратно-фторидной интоксикации. Матеріали II Науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція». 2019 лис 21; Харків. Харків: Видавництво НФаУ; 2019; 66-68.

26. Акімов О.Є., Корекція дезорганізації сполучної тканини в слизовій оболонці шлунка в умовах хронічної нітратно-фторидної інтоксикації різними карбоновими сорбентами. Збірник матеріалів Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я»; 2019 лис 22; Полтава. Полтава УМСА; 2019; с.41-42.

**3) Публікації, які додатково відображають наукові результати дисертації:**

27. Акімов ОЄ, Костенко ВО, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, власник; Спосіб визначення загальної аргіназної активності в гомогенаті м'яких тканин. Україна, патент на корисну модель UA № 111874. 2016 Лис 25. *(Особистий внесок здобувача – ідея та експериментальне обґрунтування)*

28. Акімов ОЄ, Костенко ВО, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, власник; Спосіб визначення загальної нітрат- та нітритредуктазної активності в гомогенаті м'яких тканин. Україна, патент на корисну модель UA № 111232. 2016 Лис 10. *(Особистий внесок здобувача – ідея та експериментальне обґрунтування)*

29. Акімов ОЄ, Костенко ВО, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, власник; Спосіб кількісного визначення концентрації пероксинітриту в гомогенаті м'яких тканин. Україна, патент на корисну модель UA № 120064. 2017 Жов 25. *(Особистий внесок здобувача – ідея та експериментальне обґрунтування)*

30. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Ковальова ІО, Міщенко АВ, Френкель ЮД. Молекулярні механізми впливу фторидів на організм ссавців. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2018; 18(1): 303-8. *(Особистий внесок здобувача: пошук, аналіз та узагальнення літературних джерел стосовно молекулярних механізмів впливу фторидів на слизову оболонку шлунка)*

31. Акимов ОЕ. Современные подходы к поиску препаратов для дезинтоксикационной терапии при хронической интоксикации нитратами и

фторидами. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2015; 15(2): 232-237.



**ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я». (Полтава, 2016). – публікація тез, усна доповідь.
2. VII Національний конгрес патофізіологів України з міжнародною участю: «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції». (Харків, 2016). – публікація тез.
3. IV Міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини». (Суми, 2016). – публікація тез.
4. XIX Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». (Санкт-Петербург, 2016). – публікація тез.
5. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я». (Полтава, 2017). – публікація тез, усна доповідь.
6. 4th International Congress on “Drug Discovery, Designing and Development”. (Чикаго, 2017). – публікація тез, усна доповідь (відео режим).
7. Міжнародна науково-практична конференція «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку». (Львів, 2017). – публікація тез.
8. XX Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». (Санкт-Петербург, 2017). – публікація тез.
9. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я». (Полтава, 2018). – публікація тез, усна доповідь.
10. VII Пленум наукового товариства патофізіологів «Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики». (Полтава, 2018). – публікація тез.
11. XXI Международная медико-биологическая конференция молодых

исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». (Санкт-Петербург, 2018). – публікація тез.

12. 66-я годовичная научно-практическая конференция ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием «Роль и место инновационных технологий в современной медицине». (Душанбе, 2018). – публікація тез.

13. I науково-практична інтернет-конференція «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція». (Харків, 2018). – публікація тез.

14. I Науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації». (Харків, 2019). – публікація тез.

15. XXII Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». (Санкт-Петербург, 2019). – публікація тез.

16. II Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція». (Харків, 2019). – публікація тез.

17. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я». (Полтава, 2019). – публікація тез.

## Додаток В

## Таблиця Д.1.

Розподіл досліджуваних біохімічних показників у групах, де використовувались ентеросорбенти за статтю. (M±m)

Показники	Групи					
	Група nSil, n=10		Група Carb, n=13		Група Lig, n=15	
	♂ (n=5)	♀ (n=5)	♂ (n=5)	♀ (n=8)	♂ (n=5)	♀ (n=10)
Активність NOS, мкмоль/хв на г білку	6,47 ±0,53	6,87 ±0,68	5,58 ±0,33	5,20 ±0,36	7,00 ±1,96	10,85 ±1,77
Активність нітрит редуктаз, мкмоль/хв на г білку	7,29 ±0,55	7,46 ±0,70	7,83 ±1,31	7,88 ±0,82	15,22 ±1,53	15,09 ±2,03
Активність нітрат редуктаз, мкмоль/хв на г білку	6,55 ±0,55	6,73 ±0,67	12,65 ±1,39	11,83 ±1,18	8,29 ±1,82	6,63 ±1,35
Вміст нітритів нмоль/г	7,59 ±1,02	7,59 ±1,02	3,31 ±0,46	3,27 ±0,38	6,62 ±1,22	6,62 ±0,81
Активність аргіназ, мкмоль/хв на г білку	2,03 ±0,03	2,06 ±0,06	6,32 ±0,55	4,2 ±0,51*	2,55 ±0,31	2,31 ±0,39
Активність ОрДК, нмоль/хв на г	59,30 ±3,6	59,30 ±3,6	66,14 ±3,29	70,07 ±3,86	51,75 ±5,77	55,96 ±5,91
Базова продукція O <sub>2</sub> <sup>-</sup> , нмоль/с на г тканини	0,86 ±0,01	0,86 ±0,01	0,94 ±0,03	0,93 ±0,03	0,92 ±0,05	0,92 ±0,03
Продукція O <sub>2</sub> <sup>-</sup> від мікосомального ЕТЛ, нмоль/с на г	7,16 ±0,23	7,21 ±0,27	12,4 ±1,73	11,58 ±1,28	8,13 ±0,30	7,75 ±0,33

тканини						
Продукція $O_2^{\cdot-}$ від мітохондріального ЕТЛ, нмоль/с на г тканини	6,12 ±0,13	6,12 ±0,13	7,17 ±0,15	7,37 ±0,12	12,64 ±0,97	12,00 ±0,94
Продукція $O_2^{\cdot-}$ від фагоцитів СОЩ, нмоль/с на г тканини	1,3 ±0,06	1,3 ±0,06	0,70 ±0,02	0,70 ±0,02	1,3 ±0,11	1,3 ±0,08
Активність СОД, у.о.	1,04 ±0,29	1,04 ±0,29	0,77 ±0,07	0,77 ±0,06	0,73 ±0,13	0,81 ±0,09
Активність каталази, нкат/хв на г	250 ±4,1	250 ±4,1	259 ±43,3	250 ±30,9	273 ±46,6	248 ±22,0
Вміст $ONOO^-$ , мкмоль/г	1,22 ±0,07	1,22 ±0,07	2,71 ±0,08	2,61 ±0,08	1,69 ±0,19	1,73 ±0,14
Нестимульована продукція $ONOO^-$ , нмоль/с на г	2,2 ±0,29	1,84 ±0,45	2,27 ±0,49	2,61 ±0,55	1,19 ±0,29	1,41 ±0,43
НАДФН <sub>2</sub> -стимульована продукція $ONOO^-$ , нмоль/с на г	36,21 ±1,0	36,21 ±1,0	31,77 ±0,81	31,92 ±0,47	71,76 ±1,59	71,65 ±1,0
НАДН <sub>2</sub> -стимульована продукція $ONOO^-$ , нмоль/с на г	39,24 ±1,32	41,51 ±1,66	36,37 ±0,88	35,57 ±0,55	72,83 ±1,57	72,71 ±1,07
Концентрація ДК, ммоль/мл	0,243 ±0,01	0,243 ±0,01	0,262 ±0,004	0,264 ±0,003	0,237 ±0,006	0,237 ±0,004
Концентрація ОДК,	0,298	0,298	0,287	0,288	0,329	0,329

ммоль/мл	±0,003	±0,003	±0,006	±0,005	±0,003	±0,002
Концентрація ТК, ммоль/мл	0,158 ±0,001	0,158 ±0,002	0,161 ±0,009	0,159 ±0,007	0,159 ±0,004	0,163 ±0,006
Концентрація ТБК- реагентів до інкубації, мкмоль/л	7,02 ±0,35	7,02 ±0,35	9,34 ±0,55	9,77 ±0,41	9,95 ±1,34	11,44 ±1,02
Концентрація ТБК- реагентів після інкубації, мкмоль/л	21,78 ±1,14	21,78 ±1,14	24,18 ±0,47	24,34 ±1,27	28,32 ±1,28	30,22 ±1,15
Приріст ТБК- реагентів після інкубації, мкмоль/л	14,76 ±1,0	14,76 ±1,0	14,81 ±0,26	14,57 ±1,22	18,37 ±0,29	18,78 ±0,53
Концентрація ОМБ, у.о.	0,060 ±0,009	0,060 ±0,009	0,050 ±0,011	0,068 ±0,011	0,075 ±0,004	0,075 ±0,003
Концентрація ГАГ, мкмоль/л	1,35 ±0,1	1,29 ±0,09	2,22 ±0,13	2,21 ±0,1	1,26 ±0,18	1,43 ±0,1
Концентрація НнГАГ, мкмоль/л	0,69 ±0,07	0,69 ±0,07	0,46 ±0,05	0,50 ±0,04	0,30 ±0,05	0,30 ±0,03
Концентрація КdГАГ, мкмоль/л	0,32 ±0,03	0,31 ±0,03	0,31 ±0,05	0,32 ±0,04	0,41 ±0,06	0,41 ±0,04
Концентрація СhГАГ, мкмоль/л	0,34 ±0,04	0,34 ±0,04	1,39 ±0,16	1,38 ±0,13	0,62 ±0,03	0,62 ±0,02
Концентрація L- оксипроліну, мкмоль/г тканини	0,132 ±0,011	0,132 ±0,012	0,368 ±0,060	0,303 ±0,049	0,178 ±0,045	0,178 ±0,030

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Перший проректор Української  
 медичної стоматологічної академії  
 професор  
 Дворник В.М.  
 « \_\_\_\_\_ 2020 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. *Пропозиція для впровадження:* Закономірності поєднаної дії нітрат- і фторид-йонів на слизову оболонку шлунка.

2. *Установа-розробник:* Українська медична стоматологічна академія, кафедра патофізіології, очний аспірант Акімов Олег Євгенович

3. *Джерела інформації:*

Статті:

1. Akimov O. Ye. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride / O.Ye. Akimov, V.O. Kostenko // Ukr. Biochem. J. – 2016. -Vol. 88, - № 6, - P.70-75.

2. Akimov OYe, Mischenko AV, Kostenko VO. Influence of combined nitrate and fluoride intoxication on connective tissue disorders in rats gastric mucosa. Archives of the Balkan Medical Union. 2019; 54(3):11-15. DOI. 10.31688/ABMU.2019.54.3.03.

4. *Базова установа, яка проводить впровадження:* Українська медична стоматологічна академія, кафедра патофізіології. Обговорено на засіданні кафедри 14.01.2020 р., протокол № 10.

5. *Термін впровадження:* 2019-2020 навчальний рік.

6. *Форма впровадження:* матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри - лекційному курсі та практичних заняттях за темою «Порушення травлення у ротовій порожнині, шлунку і кишках».

7. *Зауваження і пропозиції:* Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патофізіології  
 Української медичної стоматологічної академії,

д.мед.н., професор

Костенко В.О.

## Додаток Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Запорізького  
державного медичного університету,  
професорТуманський В.О.  
2019 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Пропозиція для впровадження:** Механізми розвитку окисно-нітрозативного стресу за умов поєднаного надлишкового надходження екзогенних забруднювачів (фториду та нітрату натрію) та їх корекція суспензією нанодисперсного кремнезему

**2. Установа-розробник:** Українська медична стоматологічна академія, кафедра патофізіології, аспіранти Акімов О.Є., Ковальова І.О.

**3. Джерело інформації:**

Статті :

Акімов О.Є. Влияние энтеросорбентов на метаболизм аргинина и процессы пероксидного окисления липидов в крови крыс в условиях хронической сочетанной интоксикации нитратом и фторидом натрия / О.Є. Акімов, И.А. Ковалёва, В.А.Костенко // Вестник Алматинского государственного института усовершенствования врачей (Казахстан). – 2016. – №3. – С.37-41.

Акімов О.Є. Вплив різних карбонових сорбентів на функціонування циклу оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації / О.Є. Акімов, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2017. – Т.17, №2. – С. 5-8.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** Запорізький державний медичний університет, кафедра патологічної фізіології

**5. Термін впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

**6. Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри - лекційному курсі та практичних заняттях з патофізіології (за темами "Патофізіологія клітини. Загальні механізми клітинного пошкодження і смерті. Некробіоз і апоптоз", "Патофізіологія системи травлення. Недостатність травлення").

**7. Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології,  
Запорізького державного медичного університету,  
д.мед.н., професор

О.В. Ганчева

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Харківського національного  
медичного університету  
д. мед. н., професор В.Д. Марковський



\_\_\_\_\_ 2019 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** Механізми розладів в слизовій оболонці шлунка за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію та їх корекція ентеросорбентами.

**2. Установа, автор:** очний аспірант Акімов Олег Євгенович, 36011, м. Полтава, вул. Шевченка, 23, кафедра патофізіології Української медичної стоматологічної академії, кафедра патофізіології.

**3. Джерела інформації:**

1. Akimov O.Ye. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride / O.Ye. Akimov, V.O. Kostenko // J. Ukr. Biochem. – 2016.– Vol.88 – №6. – P.70-75.

2. Акімов О.Е. Генерация свободных радикалов и процессы пероксидного окисления липидов в слизистой оболочке желудка крыс в условиях сочетанной нитратной и фторидной интоксикации / О.Е. Акімов, А.В. Мищенко, В.А. Костенко // Вестник АИГУВ (Казахстан). – 2016. - №3. – С.42-46.

3. Акімов О. Є. Вплив різних карбонових сорбентів на функціонування циклу оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка щурів за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації / О. Є. Акімов, В. О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії. – 2017. – Т.17. – №.2(58). – С.5-8.

4. Акімов О.Е. Влияние суспензии нанодисперсного кремнезёма на функционирование цикла оксида азота в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной нитратной и фторидной интоксикации / О.Е. Акімов, А.В. Мищенко, В.А. Костенко // Медицинский журнал БДМУ (Беларуссия). – 2017. - №1. – С.40-44

**4. Де і коли впроваджено:** Харківський національний медичний університет, кафедра патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна.

**5. Форма впровадження:** навчальний процес, у курсі лекцій та практичних занять за темою «Пошкодження клітини», «Патофізіологія системи травлення. Недостатність травлення».

**6. Ефективність впровадження:** викладається додаткова інформація, що сприяє кращому засвоєнню матеріалу.

**7. Строки впровадження:** 2018-2019 навчальний рік.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна  
Харківського національного медичного університету,  
д.мед.н., професор

О.В. Ніколасва





### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** Роль активних форм нітрогену у розладах слизової оболонки шлунка за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію та їх корекція нанодисперсим оксидом кремнію.

**2. Установа, автор:** 36011, м. Полтава, вул. Шевченка, 23, кафедра патофізіології Українська медична стоматологічна академія, кафедра патофізіології, очний аспірант Акімов Олег Євгенович.

**3. Джерела інформації:**

Статті:

1. Акімов О.Е. Влияние суспензии нанодисперсного кремнезёма на функционирование цикла оксида азота в слизистой оболочке желудка крыс при сочетанной нитратной и фторидной интоксикации / О.Е. Акімов, А.В. Мищенко, В.А. Костенко // Медицинский журнал БДМУ (Беларуссия). – 2017. - №1. – С.40-44.

2. Akimov O.Ye. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride / O.Ye. Akimov, V.O. Kostenko // J. Ukr. Biochem. – 2016.– Vol.88 – №6. – P.70-75.

**4. Де і коли впроваджено:** Національний фармацевтичний університет, кафедра патологічної фізіології.

**5. Форма впровадження:** навчальний процес, у курсі лекцій та практичних занять за темами "Патофізіологія клітини", "Патогенна дія факторів зовнішнього середовища".

**6. Ефективність впровадження:** викладається додаткова інформація, що сприяє кращому засвоєнню матеріалу.

**7. Строки впровадження:** 2018-2019 навчальний рік.

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач кафедри патологічної фізіології  
Національного фармацевтичного університету,  
д.мед.н., професор

Н.М. Кононенко