

Міністерство охорони здоров'я України  
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

Нестуля Катерина Ігорівна

УДК 616.716.4-001.5-099-085

## ДИСЕРТАЦІЯ

УЧАСТЬ ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ФАКТОРІВ NF-κB ТА Nrf2 У  
МЕХАНІЗМАХ РЕГЕНЕРАЦІЇ КІСТОК НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ ПІСЛЯ  
ЇХ НЕПОВНОГО ПЕРЕЛОМУ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ  
ІНТОКСИКАЦІЇ

222 Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне  
джерело \_\_\_\_\_ К.І. Нестуля

Науковий керівник

Костенко Віталій Олександрович  
доктор медичних наук, професор

Полтава – 2024

## АНОТАЦІЯ

*Нестуля К.І.* Участь транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 у механізмах регенерації кісток нижньої щелепи після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина». – Полтавський державний медичний університет МОЗ України, Полтава, 2024; Полтавський державний медичний університет МОЗ України, Полтава, 2024.

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і розв’язання наукового завдання, що полягає у з’ясування ролі факторів транскрипції NF-κB та Nrf2 у механізмах порушень репаративного остеогенезу кісток нижньої щелепи після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

Дослідження було проведено на 70 самцях щурів лінії Вістар з масою тіла ( $225 \pm 20$ ) г. Використовували експериментальні, біохімічні, біомеханічні, морфологічні та математико-статистичні методи дослідження.

Показано, що дозоване ушкодження нижньої щелепи (модель неповного перелому нижньої щелепи) на тлі хронічної алкогольної інтоксикації супроводжується на 14-му добу посттравматичного періоду вірогідним збільшенням активності ферментів-маркерів резорбції кісток у сироватці крові – кислої фосфатази та її кісткової (тарtratрезистентної) ізоформи (на 58,9%,  $P < 0,001$ , і 35,1%,  $P < 0,01$  відповідно). Окремий вплив травми та етанолу суттєво не впливає на активність цих ферментів. Водночас у всіх зазначених групах активність лужної фосфатази у сироватці крові, як маркера формування кісток, та концентрація загального кальцію в плазмі крові не зазнає значимих змін.

Відтворення хронічної алкогольної інтоксикації вірогідно збільшує в гомогенаті нижньої щелепи щурів індукцибельну NO-синтазну активність (98.8%,  $P < 0,001$  відповідно), що супроводжується зростанням концентрації ключового маркера нитрозативного стресу – пероксинітриту (на 39,2%,  $P < 0,01$ ).

Вперше показано, що на 14-ту добу після відтворення дозованого ушкодження нижньої щелепи (моделі її неповного перелому) на тлі хронічної алкогольної інтоксикації NO-синтазна активність та вміст пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у гомогенаті кістки перевищує результати груп з окремою дією травматичного чинника та етанолу. За цих умов значно знижується активність у гомогенаті нижньої щелепи орнітиндекарбоксилази, ключового ферменту біосинтезу поліамінів.

На 14-ту добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи (модель її неповного перелому) на тлі хронічної алкогольної інтоксикації значно зростає деполімеризація біополімерів кісткової тканини (колагену, глікопротеїнів і протеогліканів), що не відбувається за умов окремого впливу травми та етанолу.

Відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин порушує біомеханічні властивості нижньощелепної кістки, зокрема, пружність під час розтягу, на що вказує суттєве зменшення модуля Юнга. На 14 добу після відтворення дозованого ушкодження нижньої щелепи (модель її неповного перелому), у тому числі на тлі хронічної алкогольної інтоксикації, залишаються зменшеними пружність кістки в зоні ураження під час розтягу та її міцність, на що вказує зниження модуля Юнга та межа міцності.

Хронічна алкогольна інтоксикація сприяє затримці репаративної регенерації кісткової тканини після дозованого ушкодження нижньої

щелепи (модель її неповного перелому), що супроводжується зменшенням у ділянці ураження відносної кількості ретикулофіброзної кісткової тканини та клітинних елементів фібробластичного ряду, особливо зрілих фібробластів, а також затримкою дозрівання грануляційної тканини.

Активність маркерів резорбції кісткової тканини в сироватці крові, баланс системи оксиду азоту та процеси деполімеризації колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи після її дозованого ушкодження на тлі хронічної алкогольної інтоксикації залежать від функціональної активності транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2.

Вперше виявлено, що призначення специфічних модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 (піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату) після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації призводить до вірогідного зменшення активності ферменту-маркера резорбції кісткової тканини, кислої фосфатази (на 29,7%,  $P < 0,01$ , і 25,0%,  $P < 0,01$  відповідно) у сироватці крові, значного зниження активності індукбельної ізоформи NO-синтази (на 41,8%,  $P < 0,001$ , і 43,1%,  $P < 0,001$  відповідно) та концентрації пероксинітритів (на 42,5%,  $P < 0,001$ , і 44,8%,  $P < 0,01$  відповідно) у гомогенаті нижньощелепної кістки, а також до зменшення деполімеризації колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів.

Введення природного модулятора транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 кверцетину істотно зменшує на 14 добу посттравматичного періоду після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації активність у сироватці крові ферментів-маркерів резорбції кісток кислої фосфатази та її кісткової (тарtratрезистентної) ізоформи (на 35,3%,  $P < 0,001$ , і 23,1%,  $P < 0,05$

відповідно), обмежує у гомогенаті нижньощелепної кістки активність індукцйбельної ізоформи NO-синтази (на 35,0%,  $P < 0,01$ ) та концентрацію пероксинітритів (вдвічі,  $P < 0,001$ ), підвищує активність орнітиндекарбоксилази, гальмує деполімеризацію біополімерів кісткової тканини (колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів).

Вперше показано, що введення кверцетину за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації суттєво покращує на 14 добу посттравматичного періоду біомеханічні властивості нижньощелепної кістки у ділянці перелому, збільшує її пружність і міцність, покращує процес репаративної регенерації, що супроводжується збільшенням відносної кількості ретикулофіброзної кісткової тканини, переважанням у грануляційній тканині клітин фібробластичного ряду, прискоренням формування кровоносного мікроциркуляторного русла регенерата.

**Ключові слова:** кістковий дефект, нижня щелепа, алкогольна інтоксикація, транскрипційні фактори NF- $\kappa$ B і Nrf2, амонію піролідиндитіокарбамат, маркери ремоделювання та мінералізації кісткової тканини, кістковий метаболізм, оксидативно-нітрозативний стрес, сполучна тканина, позаклітинний матрикс, колаген, оксипролін, глікозаміноглікани, сіалові кислоти, морфологія (морфометрія), щури.

## SUMMARY

*Nestulia K.I.* Role of NF- $\kappa$ B and Nrf2 transcription factors in the mechanisms of mandibular bone regeneration following incomplete fracture under chronic alcohol intoxication. – Qualification research work (manuscript).

Dissertation for a Doctor of Philosophy Degree, Specialty “Medicine”.  
– Poltava State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Poltava,

2024; Poltava State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Poltava, 2024.

This dissertation presents a theoretical synthesis and resolution of the scientific problem aimed at clarifying the role of NF- $\kappa$ B and Nrf2 transcription factors in the mechanisms of impaired reparative osteogenesis of mandibular bones following incomplete fracture under conditions of chronic alcohol intoxication.

The study was conducted on 70 male Wistar rats weighing (225 $\pm$ 20) g. Experimental, biochemical, biomechanical, morphological, and mathematical-statistical methods were employed.

The study revealed that a controlled mandibular injury (incomplete fracture) in rats chronically exposed to alcohol resulted in a significant upregulation of bone resorption markers on the 14th day post-trauma. Specifically, serum levels of acid phosphatase and its bone (tartrate-resistant) isoform increased by 58.9% ( $P < 0.001$ ) and 35.1% ( $P < 0.01$ ), respectively. In contrast, neither trauma nor ethanol exposure alone had a significant impact on these enzyme activities. Furthermore, no significant changes were observed in alkaline phosphatase activity (a marker of bone formation) and total plasma calcium levels in any of the groups.

Reproduction of chronic alcohol intoxication significantly increases the inducible NO synthase activity in the homogenate of the rat mandible (by 98.8%,  $P < 0.001$ , respectively) that is accompanied by a rise in the concentration of the key marker of nitrosative stress, peroxynitrite, by 39.2% ( $P < 0.01$ ).

This study demonstrated for the first time that on day 14 after the reproduction of dosed injury to the mandible (model of its incomplete fracture) during chronic alcohol intoxication, NO synthase activity and the content of peroxynitrites of alkaline and alkaline-earth metals in the bone homogenate exceed the results in groups exposed to trauma or alcohol along.

Under these conditions, the activity of ornithine decarboxylase, a key enzyme of polyamine biosynthesis, significantly decreases in the mandibular homogenate.

On the 14th day after controlled injury to the mandible (model of its incomplete fracture) during chronic alcohol intoxication, depolymerization of bone biopolymers (collagen, glycoproteins and proteoglycans) significantly increases that does not occur under conditions of separate exposure to trauma and ethanol.

Reproduction of chronic alcohol intoxication with subsequent sham trauma to the mandible disrupts the biomechanical properties of the bone, in particular, tensile elasticity, as indicated by a significant decrease in Young's modulus. On the 14th day after the reproduction of a controlled injury to the mandible (model of its incomplete fracture), including the latter during chronic alcohol intoxication, the elasticity of the bone in the affected area during tension and its strength remain reduced, as indicated by a decrease in Young's modulus and tensile strength.

Chronic alcohol intoxication was found to delay reparative regeneration of bone tissue after controlled injury to the mandible (model of its incomplete fracture), accompanied by a decrease in the relative amount of reticulofibrous bone tissue and cellular elements of the fibroblastic series, especially mature fibroblasts, as well as a delay in the maturation of granulation tissue in the lesion area.

The activity of bone resorption markers in blood serum, the balance of the nitric oxide system, and the depolymerization processes of collagen, proteoglycans, and sialoglycoproteins in the extracellular organic matrix of mandibular bones following controlled injury under chronic alcohol intoxication are dependent on the functional activity of the transcription factors NF- $\kappa$ B and Nrf2.

This study is the first to have found that the administration of specific modulators of NF- $\kappa$ B and Nrf2 transcription factors (ammonium pyrrolidinium dithiocarbamate and dimethyl fumarate) after dosed injury to the mandible against the background of chronic alcohol intoxication leads to a significant decrease in the activity of the enzyme-marker of bone resorption, acid phosphatase (by 29, 7%,  $P<0.01$ , and 25.0%,  $P<0.01$ , respectively) in blood serum, a significant decrease in the activity of the inducible isoform of NO synthase (by 41.8%,  $P<0.001$ , and 43.1%,  $P<0.001$ , respectively) and the concentration of peroxynitrite (by 42, 5%,  $P<0.001$ , and 44.8%,  $P<0.01$ , respectively) in the mandibular bone homogenate, as well as to a decrease in the depolymerization of collagen, proteoglycans, and sialoglycoproteins.

Furthermore, the administration of quercetin, a natural modulator of NF- $\kappa$ B and Nrf2 transcription factors, significantly decreased the activity of bone resorption marker enzymes, acid phosphatase, and its bone (tartrate-resistant) isoform in blood serum on the 14th day of the posttraumatic period after controlled mandibular injury under chronic alcohol intoxication (by 35.3%,  $P<0.001$ , and 23.1%,  $P<0.05$ , respectively). It also reduced the activity of the inducible isoform of NO synthase in mandibular bone homogenate (by 35.0%,  $P<0.01$ ) and halved the concentration of peroxynitrite ( $P<0.001$ ), while increasing ornithine decarboxylase activity and inhibiting the depolymerization of bone biopolymers such as collagen, proteoglycans, and sialoglycoproteins.

This study has demonstrated for the first time that quercetin administration in conditions of controlled mandible injury during chronic alcohol intoxication significantly improves the biomechanical properties of the mandibular bone in the fracture area on day 14 of the post-traumatic period, increases its elasticity and strength, improves the process of reparative regeneration that is accompanied by a rise in the relative amount of reticulofibrous bone tissue, predominance of fibroblastic cells in the



granulation tissue, and enhanced formation of the regenerate blood microvasculature.

**Key words:** bone defect, mandible, alcohol intoxication, transcription factors NF- $\kappa$ B and Nrf2, ammonium pyrrolidinium dithiocarbamate, markers of bone remodeling and mineralization, bone metabolism, oxidative-nitrosative stress, connective tissue, extracellular matrix, collagen, oxypoline, glycosaminoglycans, sialic acids, morphology (morphometry), rats.

### Список публікацій здобувача за темою дисертації

*1) в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:*

1. Нестуля КІ, Костенко ВО. Механізми нітрозативного стресу та деструкції органічного матриксу нижньої щелепи щурів у відновлювальному періоді після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2023;23(3):126-129. DOI: 10.31718/2077-1096.23.3.126 *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Костенко В.О. здійснював загальне керівництво дослідженням).*

2. Нестуля КІ, Костенко ВО. Вплив модуляторів транскрипційних факторів NF- $\kappa$ B і Nrf2 на метаболічні характеристики кісток нижньої щелепи щурів у відновлювальному періоді після їх неповного перелому на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024;23(1):114-118. DOI: 10.31718/2077-1096.24.1.114 *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних*

досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Костенко В.О. здійснював загальне керівництво дослідженням).

3. Нестуля КІ, Старченко П, Костенко ВО. Вплив кверцетину на патоморфологічні характеристики кісток нижньої щелепи щурів після її перелому на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024; 24(2):120-124. DOI: 10.31718/2077-1096.24.2.120 (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Старченко І.І. здійснював консультативну допомогу з використання та інтерпретації результатів морфологічних методів дослідження. Костенко В.О. виконував загальне керівництво дослідженням).

4. Нестуля КІ, Ксьонз ІВ, Макаренко ВІ, Макаренко ОВ, Костенко ВО. Вплив кверцетину на органічний матрикс і біомеханічні властивості нижньої щелепи щурів після її неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Фізіол. журн. 2024;70(3):51-58. DOI: 10.15407/fz70.03.051 (Scopus) (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Ксьонз І.В. брав участь у відтворенні експериментальної моделі, Макаренко В.І. та Макаренко О.В. здійснювали консультативну допомогу з використання та інтерпретації результатів тензометричних методів дослідження. Костенко В.О. виконував загальне керівництво дослідженням).

2) які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко ММ, Гутнік ОМ, Волкова ОА, Назаренко СМ, Нестуля КІ, Таран ОВ, Романцева ТО, Моргун ЄО. Низько- та високоступеневі фенотипи системної запальної відповіді: спільні механізми та відмінності. Особливості науково-педагогічного процесу в період пандемії COVID-19: матеріали пленуму Українського наукового товариства патофізіологів (Тернопіль, 15-17 вересня 2022 р.). Тернопіль: ТНМУ; 2022. С.42-43. *(Дисертантці належать результати щодо розвитку системної запальної відповіді, оксидативно-нітрозативного стресу та дезорганізації сполучної тканини в організмі щурів за умов травматичного процесу).*

6. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко ММ, Гутнік ОМ, Назаренко СМ, Нестуля КІ, Таран ОВ, Романцева ТО, Моргун ЄО. Модуляція редокс-чутливих транскрипційних факторів поліфенолами як засіб патогенетичної терапії системної запальної відповіді. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.). Тернопіль; 2022. С.33. *(Здобувачці належать результати щодо ролі кверцетину як засобу патогенетичної терапії травматичного процесу).*

7. Нестуля КІ. Маркери деструкції органічного матриксу нижньої щелепи щурів після її неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: VI науково-практична Інтернет-конференція з міжнародною участю: тези доп. (Харків, 16 листопада 2023 р.). Харків: Вид-во НФаУ; 2023. С. 337-338.

*3) які додатково відображають наукові результати дисертації:*

8. Nestulia KI, Ksonz IV, Bilash SM, Koptev MM, Vasko LM. The possibilities of cone-beam computer tomography in the diagnostic of fractures

of the mandible within the dental row. *Wiad Lek.* 2021;74(6):1372-1375. DOI: 10.36740/WLek202106116 (**Scopus**) *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).*

9. Нестуля КІ, Ксьонз ІВ, Акімов ОЄ, Міщенко АВ, Костенко ВО. Технологія експериментального моделювання перелому нижньої щелепи. Реєстраційна картка технології (РКТ): державний реєстраційний № 0624U000056. *(Здобувачці належать ідея та методика реалізації технології експериментального моделювання перелому нижньої щелепи).*

## ЗМІСТ

Анотація	2
Перелік умовних скорочень	15
Вступ	17
Розділ 1. Огляд літератури	26
1.1. Механізми ремоделювання та посттравматичної регенерації кісток: вплив алкоголю	26
1.2. Роль транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 у механізмах репаративного остеогенезу	40
Розділ 2. Матеріали та методи дослідження	49
2.1. Експериментальний розподіл лабораторних тварин	49
2.2. Методика відтворення «хибного» травмування та дозованого ушкодження нижньої щелепи (неповного перелому нижньої щелепи)	51
2.3. Методика відтворення хронічної алкогольної інтоксикації	52
2.4. Специфічні та природний модулятори факторів транскрипції NF-κB та Nrf2	52
2.5. Біохімічні методи дослідження	53
2.6. Оцінка біомеханічних характеристик кісток	56
2.7. Морфологічні методи дослідження	59
2.8. Статистична обробка результатів експерименту	59
Розділ 3. Метаболічні, біомеханічні та патоморфологічні характеристики кісток нижньої щелепи щурів у посттравматичному періоді після їх дозованого ушкодження за умов хронічної алкогольної інтоксикації	60
3.1. Зміни біохімічних маркерів ремоделювання та репаративної регенерації кісткової тканини за умов експерименту	60
3.2. Показники нітродергічної системи у гомогенаті кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту	65

3.3. Показники деполімеризації біополімерів позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту	71
3.4. Тензометричні характеристики кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту	76
3.5. Патоморфологічна характеристика кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту	80
Розділ 4. Вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 на метаболічні, біомеханічні та патомор-фологічні характеристики кісток нижньої щелепи щурів у посттравматичному періоді після їх дозованого ушкодження за умов хронічної алкогольної інтоксикації	87
4.1. Вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 на біохімічні маркери ремоделювання та репаративної регенерації кісткової тканини за умов експерименту	87
4.2. Вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 на показники нітродергічної системи у гомогенаті кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту	91
4.3. Вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 на показники деполімеризації біополімерів позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту	96
4.4. Вплив біофлавоноїду кверцетину на тензометричні характеристики кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту	100
4.5. Вплив біофлавоноїду кверцетину на патоморфологічну характеристику кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту	102
Розділ 5. Аналіз та узагальнення результатів дослідження	106
Висновки	122
Практичні рекомендації	125
Список використаних джерел	126
Додатки	153

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- Akt – протеїнкіназа B (англ. Protein Kinase B, PKB)
- ARE – антиоксидант-респонсивний елемент (англ. Antioxidant Response Element)
- BMPs – морфогенетичні білки кісткової тканини (англ. Bone Morphogenetic Proteins)
- DAMPs – молекулярні патерни, пов'язані з пошкодженням (англ. Damage-Associated Molecular Patterns)
- DMF – диметилфумарат
- EtOH – етанол (англ. ethanol, ethylic alcohol)
- FGF – фактор росту фібробластів (англ. Fibroblast Growth Factors)
- FoxO – транскрипційний фактор (англ. Forkhead box O)
- GAGs – глікозаміноглікани (англ. Glycosaminoglycans).
- GM-CSF – гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (англ. Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor)
- GPs – глікопротеїни (англ. Glycoproteins)
- IGF – інсуліноподібний фактор росту (англ. Insulin-Like Growth Factor)
- IKK – ІкВ-кіназний комплекс (англ. ІкВ-Kinase Complex)
- IL, ILs – інтерлейкін (и) (англ. Interleukin (s))
- Keap1 – репресорний білок (англ. Kelch Like ECH Associated Protein 1)
- МАРК – мітоген-активована протеїнкіназа (англ. Mitogen-Activated Protein Kinase)
- M-CSF – макрофагальний колонієстимулюючий фактор (англ. Macrophage Colony-Stimulating Factor)
- NANA – N-ацетилнейрамінова кислота (англ. N-Acetylneuraminic Acid)
- NF-κB – ядерний фактор капа B (англ. Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B Cells)

NOS (cNOS, nNOS, eNOS, iNOS) – синтази нітроген монооксиду (конститутивні, нейрональна, ендотеліальна, індукцйбельна ізоформи) (англ. Nitric Oxide Synthases; constitutive, neuronal, endothelial, inducible isoforms)

Nrf2 – транскрипційний фактор (англ. Nuclear Factor Erythroid 2–Related Factor 2)

OPG – остеопротегерин (англ. Osteoprotegerin)

PAMPs – молекулярні патерни, пов'язані з патогеном (англ. Pathogen-Associated Molecular Patterns)

PDTC – піролідиндитіокарбамат амонію

PGs – протеоглікани (англ. Proteoglycans)

PDGF – тромбоцитарний фактор росту (англ. Platelet-Derived Growth Factor)

PGE – простагландин E (англ. Prostaglandin E)

RANK – активатор рецептора NF-κB (англ. Receptor Activator of NF-κB)

RANKL – ліганд активатора рецептора NF-κB (англ. Receptor Activator of NF-κB Ligand)

ROS – активні форми кисигену (англ. Reactive Oxygen Species)

RNS - активні форми нітрогену (англ. Reactive Nitrogen Species)

Runx2 – фактор транскрипції, пов'язаний з Runt 2 (англ. Runt-Related Transcription Factor 2)

SPCs – скелетні клітини-попередники (англ. Skeletal Progenitor Cells)

TBA – тіобарбітурова кислота (англ. Thiobarbituric Acid)

TGF – трансформувальний фактор росту (англ. Transforming Growth Factor)

TNF – фактор некрозу пухлини (англ. Tumor Necrosis Factor)

VEGF – фактор росту ендотелію судин (англ. Vascular Endothelial Growth Factor)



## ВСТУП

**Актуальність теми.** Постраждали з травмами щелепно-лищевої ділянки складають до 25% всіх пацієнтів клінік щелепно-лищевого профілю, відзначається зростання числа важких пошкоджень кісток лищевого скелета, які в 10-12% випадків поєднуються з ушкодженнями інших органів і систем, досить високим залишається рівень розвитку ускладнень – до 15-25% [4, 48, 56, 65, 167, 168]. Невогнепальні переломи нижньої щелепи становлять від 85 до 90% всіх переломів кісток лищевого скелета. Така частота ушкоджень нижньої щелепи обумовлена її анатомічними особливостями [4].

Значною проблемою щелепно-лищевій хірургії є порушення консолідації відламків, що утворюються при переломі нижньої щелепи, що спостерігається у 8,7% випадків [23].

Останньорічні дослідження вказують, що найбільше значення в розвитку цього ускладнення разом з локальними порушеннями періапикальних тканин та психосоціальним статусом пацієнтів відіграє алкоголізм [142, 199]. Взагалі лише 16,2% осіб з ознаками сповільненої консолідації не мали шкідливих звичок [23]. Зловживання алкоголем притаманне 48,6% хворим з ускладненнями переломів нижньої щелепи, а вживання наркотичних речовин – 2,7% пацієнтам.

Алкоголізм відіграє ключову роль у розвитку ускладнень при переломах кісток. Доведено, що тривале надмірне вживання алкоголю порушує гомеостаз кісткової тканини та значно уповільнює процес зрощення переломів [107, 151, 203, 219]. Експериментальні дослідження на щурах, яким вводили EtOH, показують, що ця речовина негативно впливає на ранні стадії репаративного остеогенезу переломів [99].

Однак механізм порушення процесу відновлення кісткової тканини після травмування при зловживанні алкоголем залишається

недостатньо дослідженим. Існує припущення, що EtOH посилює оксидативно-нітрозативний стрес, який призводить до неповноцінного репаративного остеогенезу, опосередкованого активацією певних транскрипційних факторів. Наприклад, введення EtOH значно зменшує ендохондральну осифікацію у мишей, що супроводжується підвищенням експресії транскрипційного фактора FoxO (Forkhead box O) у мозолі перелому [169], який є індуктором NF-κB (Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) [135].

Активація останнього під впливом EtOH сприяє експресії численних генів, продукти яких мають прозапальну, прооксидантну та гістолітичну дію, змінюють функціональний стан системи оксиду азоту (NO) [140, 145]. Це часто призводить до розвитку оксидативно-нітрозативного стресу та дезорганізації сполучної тканини, що порушує біомеханічні властивості кісток [105, 122].

Нещодавно було виявлено, що цитопротекторні та антиоксидантні функції транскрипційного фактора Nrf2 суттєво пом'якшують шкідливий вплив оксидативно-нітрозативного стресу на кісткові тканини, але точні клітинні та молекулярні механізми, за допомогою яких це відбувається, все ще вивчені не повністю [162].

На сьогодні відомо, що біофлавоноїди можуть одночасно пригнічувати NF-κB та активувати його функціонального антагоніста, фактор Nrf2 (Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2), який забезпечує резистентність сполучної тканини до впливу патогенних чинників і відіграє важливу роль у підтримці остеорепації [128, 215]. Через індукцію Nrf2 опосередковуються також антиоксидантні та цитопротективні властивості кверцетину [75]. Дослідження показали, що кверцетин позитивно впливає на біомеханічні властивості кісткової тканини при моделюванні перфорованого дефекту великогомілкової кістки у щурів [50]. Його застосування в умовах впливу токсичних

чинників підвищує масу та щільність стегнової кістки й хребців щурів, а також покращує їхні остеометричні показники [28]. Проте вплив кверцетину на маркери ремоделювання та регенерації кісткової тканини, показники системи NO, деполімеризацію біополімерів сполучної тканини та біомеханічні характеристики кісток за умов їх перелому та алкогольної інтоксикації залишається недослідженим.

Таким чином, тісний зв'язок розвитку ускладнень переломів нижньої щелепи з надмірним вживанням пацієнтами алкоголю та відсутність даних щодо участі транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 у механізмах регенерації нижньої щелепи за умов хронічної алкогольної інтоксикації обґрунтовує актуальність цього експериментального дослідження. Перспективним є також розробка нових технологій медикаментозного попередження посттравматичних ускладнень за допомогою модуляторів активації NF-κB та Nrf2, у тому числі природних, зокрема, біофлавоноїду кверцетину.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана як самостійний фрагмент планової науково-дослідницької теми Полтавського державного медичного університету МОЗ України «Роль транскрипційних факторів, системи циркадіанного осцилятора та метаболічних розладів в утворенні та функціонуванні патологічних систем» (№ держреєстрації 0119U103898). Здобувачка є співвиконавицею теми.

**Мета дослідження:** Метою цієї роботи було з'ясування ролі транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 у механізмах порушень репаративного остеогенезу кісток нижньої щелепи після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

**Завдання дослідження:**

1. Дослідити зміни біохімічних маркерів ремоделювання та репаративної регенерації кісткової тканини в сироватці крові, показників

системи оксиду азоту та продуктів деполімеризації біополімерів позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи щурів після їх дозованого ушкодження (модель неповного перелому нижньої щелепи) за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

2. Оцінити зміни тензометричних та патоморфологічних характеристик кісток нижньої щелепи щурів у посттравматичному періоді після їх дозованого ушкодження (модель неповного перелому нижньої щелепи) за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

3. Вивчити вплив специфічних модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 (піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату) на біохімічні маркери ремоделювання та репаративної регенерації кісткової тканини в сироватці крові, показники системи оксиду азоту та продукти деполімеризації біополімерів позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи щурів після їх дозованого ушкодження (модель неповного перелому нижньої щелепи) за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

4. Дослідити вплив водорозчинної форми біофлавоноїду-модулятора транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 кверцетину на біохімічні маркери ремоделювання та репаративної регенерації кісткової тканини в сироватці крові, показники системи оксиду азоту та продукти деполімеризації біополімерів позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи щурів після їх дозованого ушкодження (модель неповного перелому нижньої щелепи) за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

5. Оцінити вплив водорозчинної форми біофлавоноїду-модулятора транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 кверцетину на тензометричні та патоморфологічні характеристики кісток нижньої щелепи щурів у посттравматичному періоді після їх дозованого ушкодження (модель

неповного перелому нижньої щелепи) за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

*Об'єкт дослідження:* патогенез порушень репаративного остеогенезу кісток нижньої щелепи за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

*Предмет дослідження:* роль транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 у патогенезі механізмів регенерації кісток нижньої щелепи після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

*Методи дослідження:* експериментальні – моделювання дозованого ушкодження нижньої щелепи (її неповного перелому), оцінка впливу модуляторів факторів транскрипції NF-κB та Nrf2 на біохімічні маркери ремоделювання та репаративної регенерації кісткової тканини, показники системи оксиду азоту та продукти деполімеризації біополімерів позаклітинного матриксу кісткової тканини нижньої щелепи; *біохімічні* – оцінка активності ферментів-маркерів ремоделювання та репаративної регенерації кісткової тканини в сироватці крові, показників системи оксиду азоту та продуктів деполімеризації біополімерів позаклітинного матриксу кісткової тканини нижньої щелепи; *біомеханічні* – визначення тензометричних характеристик кісток нижньої щелепи; *морфологічні* – гістологічні дослідження зразків кісткової тканини нижньої щелепи; *математико-статистичні методи*.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Показано, що дозоване ушкодження нижньої щелепи (модель неповного перелому нижньої щелепи) на тлі хронічної алкогольної інтоксикації супроводжується на 14-му добу посттравматичного періоду вірогідним збільшенням активності ферментів-маркерів резорбції кісток у сироватці крові – кислої фосфатази та її кісткової (тарtratрезистентної) ізоформи.

Окремий вплив травми та етанолу суттєво не впливає на активність цих ферментів.

Вперше показано, що на 14-ту добу після відтворення дозованого ушкодження нижньої щелепи (моделі її неповного перелому) на тлі хронічної алкогольної інтоксикації NO-синтазна активність та вміст пероксинітритів у гомогенаті кістки перевищує результати груп з окремою дією травматичного чинника та етанолу. За цих умов значно знижується активність у гомогенаті нижньої щелепи орнітиндекарбоксилази, ключового ферменту біосинтезу поліамінів, зростає деполімеризація біополімерів кісткової тканини (колагену, глікопротеїнів і протеогліканів), порушуються біомеханічні характеристики кістки в зоні ураження та темп її регенерації, що не відбувається за умов окремого впливу травми та етанолу.

Вперше виявлено, що призначення модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 піролідиндитіокарбамату амонію, диметилфумарату та біофлавоноїда кверцетину зменшує у посттравматичному періоді після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації резорбцію кісток, а також активність NO-синтази (за рахунок індукцйбельної ізоформи) та концентрацію пероксинітритів, деполімеризацію колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів у гомогенаті нижньощелепної кістки.

Вперше показано, що введення кверцетину за умов експерименту суттєво покращує на 14 добу посттравматичного періоду біомеханічні властивості нижньощелепної кістки у ділянці перелому, збільшує її пружність і міцність, покращує процес репаративної регенерації.

**Практичне значення одержаних результатів.** Отримані результати можуть бути використані для покращення діагностики ускладнень при переломах нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної

інтоксикації шляхом моніторингу активності кислої фосфатази та її кісткової ізоформи в сироватці крові.

Дані про вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 можуть бути основою для розробки нових терапевтичних підходів, що спрямовані на зниження резорбції кісткової тканини та покращення її відновлення після травм, особливо у пацієнтів з хронічною алкогольною інтоксикацією.

Результати дослідження свідчать про потенційну користь застосування кверцетину як засобу, що покращує біомеханічні характеристики кісток та прискорює процес репаративної регенерації після переломів.

Дослідження показало, що хронічна алкогольна інтоксикація в поєднанні з травмами значно погіршує регенерацію кісткової тканини. Це може бути використано для підвищення обізнаності медичних працівників і населення про ризики алкоголізму та необхідність його контролю в період лікування переломів.

Виявлення негативного впливу нітрозативного стресу на регенерацію кісткової тканини відкриває можливість для розробки комплексних методів лікування переломів, які поєднують застосування модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 з традиційними методами лікування переломів.

Одержано реєстраційну картку технології (РКТ) «Технологія експериментального моделювання перелому нижньої щелепи» (державний реєстраційний № 0624U000056).

Результати роботи впроваджено у науково-педагогічний процес на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету МОЗ України, на кафедрі патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України, на кафедрі патофізіології

Івано-Франківського національного медичного університету МОЗ України, на кафедрі медичної біології та хімії, біохімії, мікробіології, фізіології, патофізіології та фармакології Чорноморського національного університету ім. Петра Могили МОН України (м. Миколаїв).

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачкою спільно з науковим керівником була розроблена програма дослідження, визначені його мета та завдання, а також обрані методичні підходи до проведення роботи. Дисертантка оволоділа всіма необхідними методами дослідження, особисто здійснила опрацювання літературних джерел з досліджуваної теми та виконала експериментальну роботу. Вона самостійно провела математико-статистичний аналіз отриманих результатів. Крім того, здобувачка особисто або у співавторстві підготувала наукові публікації, у яких висвітлені основні положення дисертації, а також самостійно сформулювала ключові положення та висновки роботи. Дослідження тензометричних характеристик кісток нижньої щелепи було виконано в лабораторії кафедри фізики ПДМУ за консультативної підтримки кандидата педагогічних наук, доцента В.І. Макаренка. Морфологічні дослідження проводилися за консультативної допомоги доктора медичних наук, професора І.І. Старченка.

**Апробація результатів дослідження.** Основні наукові положення і результати дисертації були представлені та обговорені на Пленумі Українського наукового товариства патофізіологів (Тернопіль, 15-17 вересня 2022 р.), на XIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.) та на VI науково-практичній Інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 16 листопада 2023 р.).



**Публікації.** Результати дослідження опубліковано в 9 друкованих працях, з яких – 5 статей, а саме 3 статті у фахових журналах України категорії Б, 1 стаття у фаховому журналі України категорії А, що реферується міжнародною наукометричною базою *Scopus*; 1 стаття у іноземному періодичному виданні (Польща), що реферується міжнародною наукометричною базою *Scopus*. Окрім того, опубліковано 3 тези доповідей у матеріалах конференцій, одержано 1 реєстраційну картку технології.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація викладена на 160 сторінках комп'ютерного набору, містить 4 таблиці та 35 рисунків. Складається з анотації, вступу, огляду літератури, характеристики матеріалів і методів дослідження, 2-х розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, який містить 219 джерел – 62 кирилицею та 157 латиницею, додатків.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Механізми ремоделювання та посттравматичної регенерації кісток: вплив алкоголю

У кістках, як відомо, постійно відбувається її ремоделювання, що визначається як безперервний (протягом усього життя) процес резорбції та формування кісткової тканини [100, 116, 137, 170, 187, 204, 209]. Процес ремоделювання складається з різних послідовних фаз і контролюється низкою локальних і системних факторів. У ньому беруть участь кілька типів клітин, що безпосередньо взаємодіють між собою, включаючи остецити, остеобласти, остеокласти та їхні клітини-попередники, відомі як основні багатоклітинні одиниці (англ. Basic Multicellular Unit, BMU) [79, 100, 118, 178, 183, 198].

Це є передумовою для відновлення кісткових мікропошкоджень під час щоденних фізичних навантажень, адаптації архітекtonіки кісток до різних механічних навантажень, а також для запобігання старінню кісткової тканини [12, 79, 100, 187].

За сучасними уявленнями такі фази складають *цикл ремоделювання кісток* [100]:

1) *активація* – виявлення сигналу, що ініціює ремоделювання, за допомогою різних механізмів, таких як пряме механічне навантаження/пошкодження мінералізованого кісткового матриксу, що призводить до ремоделювання (спрямоване ремоделювання – англ. targeted remodeling); вплив гормонів на метаболізм кісткової тканини (нецільове ремоделювання – англ. non-targeted remodeling);

2) *рекрутування остеокластів та резорбція* – рекрутування попередників остеокластів до ділянки ремоделювання; диференціація

остеокластів і подальша активація резорбції; розпад мінералізованого кісткового матриксу;

3) *реверсія* – перехід від кісткової резорбції до кісткоутворення; зникнення остеокластів; видалення демінералізованого колагену та підготовка поверхні кістки реверсивними клітинами;

3) *рекрутування остеобластів, формування та мінералізація* – заміна остеокластичних клітин на остеобласти та утворення нової кістки; створення багатого на колаген osteoїдного матриксу; відкладення кристалів гідроксиапатиту серед колагенових фібрил;

4) *припинення і спокій* – припинення циклу ремоделювання після заміщення резорбованого кісткового матриксу; диференціювання зрілих остеобластів у клітини кісткової тканини, остеоцити або апоптоз.

Регуляторні фактори, що впливають на послідовність процесу ремоделювання кісток наведено в табл. 1.1. Місцеві чинники та сигнальні шляхи, що регулюють цикл ремоделювання, включають фактори росту (IGF-1 та IGF-2, M-CSF, GM-CSF, PDGF, FGF, TGF- $\beta$  та ін.), простагландини (PGE2), цитокіни (IL-1, IL-6, IL-18, TNF- $\alpha$ , BMPs та ін.), систему RANK / RANKL / OPG, глікопротеїни – представники родини секреторних сигнальних молекул Wnt, фактор транскрипції Runx2, склеростин – компонент родини глікопротеїнів DAN (англ. Differential screening-selected gene Aberrant in Neuroblastoma), представники семафорин-плексинової системи та ін. [51, 116, 183, 191, 208]. Процес ремоделювання кісткової тканини регулюється низкою системних чинників, зокрема паратиреоїдним гормоном, вітаміном D3 (1,25(OH)<sub>2</sub> вітамін D<sub>3</sub>), кальцитоніном, гормонами щитоподібної залози, соматотропіном, глюкокортикоїдами, естрогенами й андрогенами та ін. [81, 144, 183, 194].

Таблиця 1.1

**Регуляторні фактори, що впливають на послідовність процесу  
ремоделювання кісток [183]**

Фази ремоделювання	Гормони та фактори, що регулюють ремоделювання кісткової тканини
Фаза активації	↑ Паратиреоїдний гормон, IGF-1, IL-1, IL-6, PGE2, TNF- $\alpha$ , кальцитріол ↓ Естроген
Фаза рекрутування остеокластів та резорбції	↑ RANKL, M-CSF, $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ інтегрини, IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , ретиноева кислота, сфінгозин-1-фосфат ↓ OPG, GM-CSF, естрогени, кальцитонін, IL-4, IL-18, TGF- $\beta$
Фаза реверсії	↑ TGF- $\beta$ , IGF-1, IGF-2, BMPs, PDGF або FGF
Фаза рекрутування остеобластів, формування та мінералізації	↑ WNTs, BMPs, IGF-1, FGF-2, FGF-18, PDGF, паратиреоїдний гормон, 1,25(OH) <sub>2</sub> вітамін D <sub>3</sub> , Runx2, TGF- $\beta$ , кардіотрофін-1, ефрін B2 ↓ PDGF, глюкокортикоїди, лептин, пірофосфат, семафорин 4D
Фаза припинення і спокою	Сигнали зворотного зв'язку нормальної експресії склеростину

Примітка. ↑ – активаційний вплив; ↓ – пригнічувальний вплив.

Разом з фізіологічним процесом ремоделювання кісток іншим важливим аспектом підтримки нормального морфофункціонального стану скелету є репаративна регенерація. Ці процеси мають як спільні, так і відмінні характеристики, які варто розглянути. В обох випадках

беруть участь остеобласти та остеокласти, що взаємодіють для підтримання кісткового балансу. Обидва процеси формують нову матрицю кістки, яка надає останній міцність і стабільність. Як ремоделювання кісток, так і їхня репаративна регенерація піддаються впливу локальних і системних факторів, таких як гормони, харчування та фізична активність тощо. Тобто, багато процесів, які відбуваються під час загоєння перелому, подібні до тих, що реалізуються в ході формування скелета [103, 171].

Важливі компоненти позаклітинного матриксу разом з гідроксиапатитом виконують важливу роль при реалізації обох названих процесів. Так, поряд з колагеном, переважно типу I, що становить до 90% складу кісткової тканини, в органічному матриксі кісткової тканини містяться інші біополімери. Ці білки можна поділити на дві групи – протеоглікани (PGs) і глікопротеїни (GPs). PGs – це білки, які мають в своєму складі олігосахариди з прикріпленими бічними ланцюгами глікозаміногліканів (GAGs). GPs включають остеонектин, фібронектин, остеокальцин, лужну фосфатазу та багато інших. Окрім того, у кістковій тканині містяться кристали гідроксиапатиту та аморфний фосфат кальцію. Поряд з кальцієм, фосфором і магнієм, у кістках зустрічаються практично низка мікроелементів, таких як цинк, мідь, алюміній, залізо, стронцій та ін. Фосфорнокислі солі кальцію, забезпечуючи міцність кісток, одночасно слугують депо для зберігання кальцію та фосфору в організмі [117].

Головною відмінною характеристикою ремоделювання кісток та їх репаративної регенерації є цільова спрямованість. Ремодування кісток зазвичай відбувається для підтримки кісткового балансу та адаптації скелету до фізичних потреб організму. Репаративна регенерація, натомість, відбувається як реакція на травму або пошкодження кісток з метою її відновлення. Крім того, ремоделювання кісток – це процес,

який триває протягом життя та відбувається постійно, тоді як репаративна регенерація має обмежені часові рамки та відбувається лише за необхідністю. Розуміння їх спільних та відмінних рис допомагає розробляти ефективні стратегії для підтримки здоров'я кісток та лікування їх ушкоджень.

Процес репаративної регенерації кісток є значною проблемою для щелепно-лицевих пластичних та реконструктивних хірургів. Для успішної регенерації кістки необхідним є наявність усіх необхідних компонентів, серед яких є клітини (остеобласти, остеокласти та імуніцити), позаклітинний матрикс та неорганічні сполуки (кальцій і фосфати) тощо [119, 161, 196].

Переломи кісток можуть виникати внаслідок надмірної механічної сили, прикладеної до нормальної кістки, попередніх мікропошкоджень або звичайної сили, прикладеної до кістки, ослабленої основним захворюванням (патологічний перелом) [171]. Кістка – це один із небагатьох видів тканин, який за відповідних умов може повністю відновлюватися, заміщуючи дефект тканиною, ідентичною до втраченої (реституція).

Процес консолідації механічного перелому може мати два можливі шляхи. Якщо відстань між уламками становить приблизно 0.1 мм, то можливе пряме (первинне) зрощення перелому, що призводить до відновлення кістки через процес ремоделювання. У цьому випадку, при мінімальному порушенні кровотоку, остеогенні клітини починають активно розмножуватися та диференціюватися в остеобласти, які формують пластинчасту кістку для відновлення пошкодженої області. Ділянки, які розташовані поблизу лінії перелому, можуть зазнавати гіпоксію, через порушення кровообігу, і це може спричинити посттравматичний некроз. Непряме (вторинне) зрощення перелому

відбувається, коли між кістковими фрагментами існує діастаз [6, 33, 34, 171].

Слід зазначити, що первинне зрощення перелому є радше винятковим випадком, оскільки вимагає повної стабільності в місці перелому [139], що зазвичай не досягається [90, 159]. Навпаки, вторинне зрощення перелому, що є найпоширенішою формою цього процесу [139], стимулюється міжфрагментарним рухом [90]. При вторинному зрощенні переломів відновлення кісткової тканини відбувається шляхом багатоетапного процесу, що включає як інтрамембранну, так і ендохондральну осифікацію [134], при якій кістка формується безпосередньо з мезенхімальної тканини або з проміжної хрящової тканини, відповідно. Проте висока міжфрагментарна рухомість може гальмувати прогресування загоєння кістки [90], що призводить до порушення загоєння.

Процес *репаративної регенерації* кісток проходить кілька послідовних стадій [9, 94, 96, 119, 125, 171]. Спочатку виникає запалення, після чого настає стадія проліферації. Після проліферації клітини диференціюються в спеціалізовані типи, що формують структури, характерні для кісткової тканини. Наступною є стадія мінералізації, під час якої мінеральні солі осідають на цих структурах, забезпечуючи їхню міцність. Після цього розпочинається етап ремоделювання регенерату. Важливо відмітити, що протягом процесу формування регенерату відбуваються одночасно реакції катаболізму та анаболізму [132, 157].

Розподіл фаз вторинного загоєння перелому на *запалення*, *репарацію* та *ремоделювання* отримав подальший розвиток у сучасній літературі, де були запропоновані додаткові підетапи, що накладаються один на одного: утворення гематоми, гостре запалення, утворення грануляційної тканини, ангіогенез, утворення фіброзної тканини та

фіброхряща, розвиток м'якої мозолі, мінералізація хряща, розвиток твердої мозолі і, нарешті, ремоделювання [121, 125, 134].

Хронологію фаз загоєння кістки наведено на рис. 1.1 [125]. На стадії *запалення* (англ. inflammation) утворення гематоми запускає інвазію запальних клітин (нейтрофілів, моноцитів і макрофагів) та вивільнення цитокінів – прозапальних (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) і протизапальних (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13). Відбувається поляризація макрофагів за фенотипами – на класичні (M1) та альтернативні (M2) клітини.

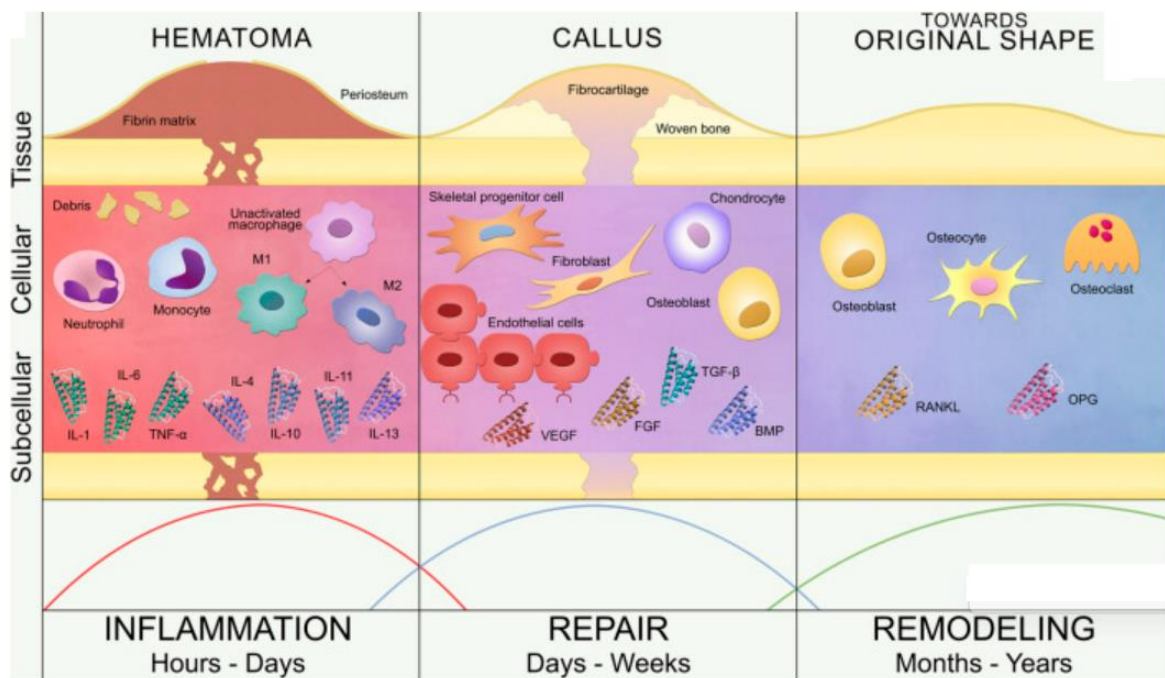


Рис. 1.1. Хронологія фаз загоєння кістки [125] (пояснення у тексті).

У фазі *репарації* (англ. repair) відбуваються процеси реваскуляризації (ендотеліальні клітини), утворення м'якої мозолі (англ. soft callus, фіброхрящ) і подальше формування твердої мозолі (англ. hard callus, утворення «плетеної кістки», англ. woven bone) регулюються



скелетними клітинами-попередниками (англ. skeletal progenitor cells, SPCs), фібробластиами, хондроцитами й остеобластиами), а також факторами росту (VEGF, FGF, BMPs, TGF- $\beta$ ) [77, 125]. На стадії *ремоделювання* (англ. remodeling) спостерігається відновлення початкової форми кістки остеобластиами, остеоцитами та остеокластами, що регулюється балансом RANKL / OPG. У сучасній літературі ці 3 фази не вважаються жорстко визначеними на часовій шкалі та накладаються одна на одну [125].

Одразу після травми внаслідок розриву кровоносних судин утворюється гематома, що запускає каскад згортання крові, створюючи таким чином фібринову сітку. Ця фібринозна сітка слугує тимчасовим позаклітинним матриксом для надходження запальних клітин, а також клітин-попередників з окістя та кісткового мозку [121, 134]. Хоча цю фазу загоєння кістки здебільшого визначають як інвазію запальних клітин, гематома також містить імуніцити, присутні в крові, що витікає з ушкоджених судин [121]. Процес загоєння починається з активації нейтрофілів, моноцитів і макрофагів [121], які вивільняють фактори росту та цитокіни. Початкова гематома та подальша запальна реакція вважаються критичними для загоєння перелому [172]. Гематома очищується протягом декількох діб під дією макрофагів, які видаляють фібриновий матрикс і некротичні клітини шляхом фагоцитозу [134]. У місці перелому зберігається гіпоксичне середовище, оскільки процес неоваскуляризації ще не встигає розвинутиися [125].

Наприкінці фази запалення грануляційна тканина замінює фібринову мережу гематоми завдяки залученню та проліферації SPCs і фіброblastів [139], що сприяє ангиогенезу [83]. Васкуляризація місця перелому посилюється низкою чинників ангиогенезу (FGF, PDGF, VEGF) [125, 193]. Тим часом, гіпоксичне середовище в центральній

ділянці місця перелому індукує диференціацію SPCs у хондроцити [90, 193], що запускає фазу репарації.

Під час цього процесу спостерігаються тривалі порушення мікроциркуляції та гемостазу, що проявляються зниженням ендотеліального синтезу NO та гіперкоагуляцією. Ці явища негативно впливають на ангиогенез та тканинне відновлення, супроводжуються підвищенням вмісту білків гострої фази, таких як гаптоглобін, церулоплазмін, фібриноген, С-реактивний білок та маркери деструкції сполучної тканини. Наслідком цього може бути уповільнення консолідації кісткових відламків [49].

У ході фази репарації хондроцити виробляють хрящ для сполучення зламаних кінців кісток, формуючи м'яку мозоль, яка забезпечує початкову механічну стабільність і є каркасом для ендохондрального окостеніння [134, 139]. Водночас, SPCs диференціюються в остеобласти в періостальній ділянці, віддаленій від місця перелому [90, 134]. Обидва процеси окостеніння регулюються факторами росту, зокрема, BMPs, TGF- $\beta$ , що контролюють проліферацію, диференціацію та апоптоз як хондроцитів, так і остеобластів [125, 193]. Коли хондроцити м'якої мозолі проліферують, вони набувають здатності секретувати VEGF, створюючи належне середовище для ангиогенезу. Гіпертрофовані хондроцити врешті-решт зазнають апоптоз, а кровоносні судини залучають клітини-попередники, які диференціюються в остеобласти, що призводить до мінералізації хряща і формування твердої мозолі [139]. Її формування тягне за собою завершення репаративної фази загоєння кістки. Цей етап починається через декількох тижнів або навіть місяців після травми. Він створює механіко-біологічні умови для запуску процесу ремоделювання кісток [125, 134].

Фаза ремоделювання є завершальною стадією процесу загоєння кісток і може тривати роками. Вона включає резорбцію незрілої тканинної кістки та хрящового матриксу остеокластами, осифікацію, а також апоптоз остеобластів, або їх дозрівання та вбудовування в кісткову тканину у вигляді остеоцитів. Клітинні функції остеокластів та остеобластів, як відомо, регулюються системою RANK / RANKL / OPG [191]. Процес ремоделювання встановлює остеонну структуру та систему Гаверса, відновлюючи початкову форму, міцність та стабільність кістки [125, 134, 156].

Важливою медичною проблемою є порушення репаративної регенерації у зоні перелому кісток при старінні та наявності супутньої патології [57, 181, 185]. Розвиток системних захворювань, таких як цукровий діабет або хронічні серцево-судинні захворювання, може призводити до порушення гемодинаміки в зоні перелому, що ускладнює відновлення кістки [68, 101, 141, 146, 197]. Крім цього, патологія суміжних тканин (м'язів, сухожиль або суглобів) здатна спричинити дисфункцію та неспроможність відновлення кісткової структури [177].

Внаслідок безпосереднього впливу травмуючого агента на кісткову тканину, клітини окістя зазнають морфофункціональні зміни, які виявляються втратою їх здатності до подальшої проліферації та порушенням структури клітин [27, 71].

В.С. Астахова та Л.М. Панченко [6] встановили, що тип регенерації кісткової тканини головним чином визначається місцевими умовами в локусі пошкодження та залежить від рівня редокс-статусу та  $pO_2$ . Показано, що для успішного первинного загоєвання перелому кістки необхідна більш значна активація окисно-відновних процесів, ніж це потрібно для регенерації інших видів сполучної тканини. У випадках значного зниження  $pO_2$  у кістковій тканині, збільшення в ній утворення ROS та активації анаеробного гліколізу суттєво посилюється ПОЛ.

Проте ще більш тяжкі порушення виникають після відновлення кровообігу у кістках. Показано, що реперфузія після тривалої ішемії може призвести до ще більшого погіршення функціонально-метаболичного стану кісткової тканини. Механізм цього явища повністю залежить від генерування ROS / RNS [26, 73]. Високі концентрації ROS у кістковій тканині спричиняють різке погіршення остеогенезу і порушують зрощення переломів, але значне зниження вмісту ROS також негативно впливає на процес загоєння [182].

Відтворення перелому нижньої щелепи на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію, що супроводжується утворенням RNS, потенціює негативну дію токсичного чинника на стан біополімерів сполучнотканинних структур нижньої щелепи щурів, а також на її тензометричні характеристики [2, 17]. Мінеральний компонент, за даними дослідників, не зазнає суттєвих змін [1]. Примітно, що пригнічення NOS вірогідно зменшує вміст вільної фукози та сіалової кислоти у ранні терміни репаративного процесу (14-та доба). Введення скевенджера пероксинітриту L-селенометіоніну значно зменшує вміст хондроїтинсульфатів, вільної фукози та NANA у ранні терміни репаративного остеогенезу. Далі пероксинітрит-залежна деструкція сполучної тканини виявляється пов'язаною, головним чином, з деполімеризацією GAGs [3, 14-16].

Варто зазначити, що відтворення експериментального остеопорозу на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію потенціює активацію колагенолізу і деполімеризацією PGs у тканині великогомілкової кістки та хребців щурів без ознак деполімеризації фукоглікопротеїнів, забезпечує високий рівень кісткового обміну, при якому підвищена резорбція не компенсується механізмами формування кістки. Цей процес супроводжується зниженням щільності та мінеральної насиченості кісток, порушеннями їх біомеханічних властивостей [52-54].

Відомо, що порушення репаративної регенерації кісток є одним з типових ускладнень остеопорозу – захворювання, що характеризується зниженням мінеральної щільності кісткової тканини та збільшенням ризику переломів [13, 186]. Так, упродовж запально-проліферативної фази відмічається порушення балансу клітин регенерату, що виявляється у зменшенні кількості макрофагів та мастоцитів. Макрофаги демонструють низьку активність щодо фагоцитозу та секреції медіаторів, і пул фібробластів зменшується. Катаболізм продуктів запальних реакцій сповільнюється, і процеси диференціювання та утворення специфічних тканин затримуються у часі. Це означає, що перебіг етапів репаративної регенерації кісток відбуваються з відставанням, що призводить до пізнього формування остеїду та кісткових трабекул. Це вказує на те, що навіть на початкових етапах репаративного остеогенезу можуть виникнути умови, здатні спричинити порушення переходу від фази травматичного запалення до стадії клітинної проліферації та диференціювання фібробластів й остеобластів [13]. Порушення репаративної регенерації кісток за умов перелома щелепи на тлі остеопорозу зазвичай має тяжкі клінічні наслідки [205].

У дослідженні О.О. Ліхницького [38] було вивчено динаміку репаративного остеогенезу після експериментального моделювання відкритого ангулярного перелому щелепи на тлі остеопорозу у щурів. Автором виявлено, що на 7-й день посттравматичного періоду спостерігається деструкція кісткової тканини, запалення та прогресування остеопорозу. На 14-ту добу було найбільші прояви системної та локальної запальної відповіді, а саме ендотоксемію, оксидативно-нітрозативний стрес, остеодеструктивні процеси та катаболізм колагену. На 30-й день спостерігалася максимальна інтенсивність ангіогенезу, колагенуутворення та остеогенезу. Більшість

біохімічних параметрів та показників цитокінового профілю нормалізувалися на 45-й день після травми.

А.М. Goltsev та О.О. Lykhytskyi [106] провели математичне прогнозування перебігу репаративного остеогенезу у щурів з відкритим переломом нижньої щелепи, який розвивався на тлі остеопорозу. Дослідники визначили, що важливими біохімічними маркерами для прогнозування процесів остеорепарації за умов цієї патології є такі параметри, як вміст VEGF, TGF- $\beta$ 1, карбонільних груп протеїнів, нітритів та нітратів у сироватці крові. На думку дослідників, вимірювання вмісту VEGF і TGF- $\beta$ 1 може слугувати ефективним інструментом прогнозування та контролю за відновленням кісткової тканини у постраждалих від перелому нижньої щелепи, особливо коли такі травми відбуваються на тлі остеопорозу. Отже, ця робота відкриває нові можливості для діагностики та контролю за процесами відновлення кісткової тканини у пацієнтів із переломами нижньої щелепи та остеопорозом, допомагаючи визначати оптимальні підходи до лікування та реабілітації таких хворих.

У зв'язку зі зростанням споживання EtOH, важливим є вивчення можливих наслідків його вживання на стан кісткової тканини та здатність організму до відновлення після травм. Частота переломів у людей, які зловживають алкоголем, у 4 рази вища, ніж у тих, хто не зловживає. До 40% пацієнтів з ортопедичною травмою мають позитивний вміст EtOH в крові на момент госпіталізації, а вживання EtOH суттєво підвищує ризик ускладнень при зрощенні, що призводить до незрощення переломів та подовження термінів зрощення переломів [85, 169].

Нині існують узгоджені докази того, що надмірне споживання EtOH пов'язане з вищим ризиком остеопоротичних переломів [72, 89, 104, 127]. Однак роль EtOH у менших дозах є невизначеною, оскільки

мінеральна щільність кісткової тканини є навіть вищою у тих, хто вживає легкі алкогольні напої, порівняно з тими, хто утримується від них [76, 104, 158].

На підставі систематичного огляду та метааналізу «доза-відповідь» проспективних когортних досліджень зроблено висновок, що будь-який рівень споживання EtOH є фактором ризику переломів кісток [70, 115]. Показано, що перебіг травматичного процесу при переломах нижньої щелепи, які є наслідком міжособистісного насильства, виявляється більш тяжким у пацієнтів, якщо вони регулярно вживають EtOH [154]. Це корелює з більшим обсягом хірургічного втручання, економічним і соціальним тягарем для громади.

Зловживання психоактивними речовинами звично збільшує випадки післяопераційних ускладнень. Виявлено, що в таких осіб морфологічні та функціональні результати лікування можуть бути гіршими на 17-32% [25]. Рівень післяопераційних ускладнень у пацієнтів, які мають залежність від алкоголю або наркотиків, у 3.6 рази вищий порівняно з тими, хто не вживає ці речовини [175]. Також виявлено значне зростання випадків післяопераційних інфекцій у осіб з наркотичною чи алкогольною залежністю [78].

A. Askew et al. [69] виконали ретроспективне дослідження 30 пацієнтів (12 алкоголіків і 18 неалкоголіків), щоб визначити, чи був час загоєння переломів довшим у алкоголіків. Час загоєння перелому був вірогідно довшим у алкоголіків ( $24 \pm 6$  тижнів проти  $11 \pm 1$  тижнів у неалкоголіків). Затримка зрощення, визначена як  $T > 26$  тижнів, була більш поширеною серед алкоголіків (4 з 12), ніж серед неалкоголіків (0 з 18). Експериментальні дослідження загоєння переломів у щурів, яким вводили EtOH, вказують на те, що ця речовина негативно впливає на ранні стадії загоєння переломів. Результати цього дослідження, на думку дослідників, свідчать про те, що стандартного ортопедичного лікування

може бути недостатньо, щоб запобігти затримці зрощення переломів у алкоголіків.

Проте механізм порушення процесу репаративного остеогенезу при зловживання алкоголем все ще залишається недостатньо вивченим. Припускають, що вплив EtOH посилює оксидативний стрес, що призводить до неповноцінного відновлення кісткової тканини шляхом активації певних транскрипційних факторів. Так, введення EtOH значно зменшує утворення зовнішньої, хрящової мозолі та ознак ендохондральної осифікації, і ці зміни супроводжуються підвищенням у мозолі перелому у цих мишей експресії транскрипційного чинника FoxO [169].

Таким чином, фізіологічна та репаративна регенерація кісткової тканини характеризуються певними фазами, на які суттєвий вплив мають чинники навколишнього середовища, включаючи EtOH. Згідно з літературними джерелами, надмірне вживання EtOH може бути пов'язане із збільшеним ризиком остеопоротичних переломів та порушенням процесів репаративного остеогенезу, у тому числі при травмуванні нижньої щелепи. Деякі наукові публікації також наголошують на важливій ролі активації певних редокс-чутливих транскрипційних факторів у механізмах репаративної регенерації кісток, але це потребує подальших досліджень.

## **1.2. Роль транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 у механізмах репаративного остеогенезу**

Одиними з ключових молекулярних гравців, що беруть участь у регуляції остеогенезу, є редокс-чутливі транскрипційні фактори. За умов алкогольної інтоксикації активність таких їх представників, як NF-κB [92, 152] та Nrf2 [148, 179], зазвичай змінюється, що, вочевидь, може



призводити до подальших функціонально-метаболических і структурних порушень у кістковій тканині.

*Ядерний фактор κВ* (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF-κB) – це родина, що складається з 5-ти чинників транскрипції: p50/p105, p52/p100, p65 (relA), c-Rel і RelB, які разом утворюють гомо- або гетеродимери [109, 111]. NF-κB у цитоплазмі зв'язується з інгібіторними молекулами IκBs, IκBα, IκBβ, IκBγ та IκBε. Коли клітини стимулюються запальними цитокінами, такими як TNF-α та IL-1, IκB фосфорилується комплексом IκB-кіназ – IKKα, IKKβ та NEMO (англ. NF-κB essential modulator), убіквітинується, а потім деградує за допомогою убіквітин-протеасомної системи [109, 111, 188]. Після цього вільний NF-κB транслокується в ядро, розпізнає специфічні послідовності ДНК і зв'язується з ними для регуляції експресії генів-мішеней (рис. 1.2). Це так званий «канонічний» (класичний) шлях активації NF-κB .

Однак існує також механізм активації NF-κB, який не залежить від деградації IκB. У нестимульованому стані p100 залишається в цитоплазмі, асоціюючись з RelB. При активації С-кінцевий кінець p100, який виконує ту саму функцію, що й IκB, деградує, після чого утворюється гетеродимер RelB/p52, який транслокується в ядро. Цей шлях активації відомий як «неканонічний» (альтернативний) шлях активації NF-κB [109, 111, 188]. Оскільки ці 2 шляхи відіграють різні ролі, очікується, що гетеродимери p50/p65, p50/c-Rel і p52/RelB зв'язуються зі своїми специфічними послідовностями ДНК.

NF-κB є транскрипційним фактором, що регулює гени, які контролюють імунні та запальні реакції, але миші з подвійним нокаутом NF-κB1 (p50) та NF-κB2 (p52) демонструють важкий остеопетроз і не містять остеокластів, що свідчить про те, що NF-κB також безпосередньо контролює диференціацію цих клітин [112]. Нині відомо,

що NF- $\kappa$ B також прямо або опосередковано регулює диференціацію остеобластів [67, 86].

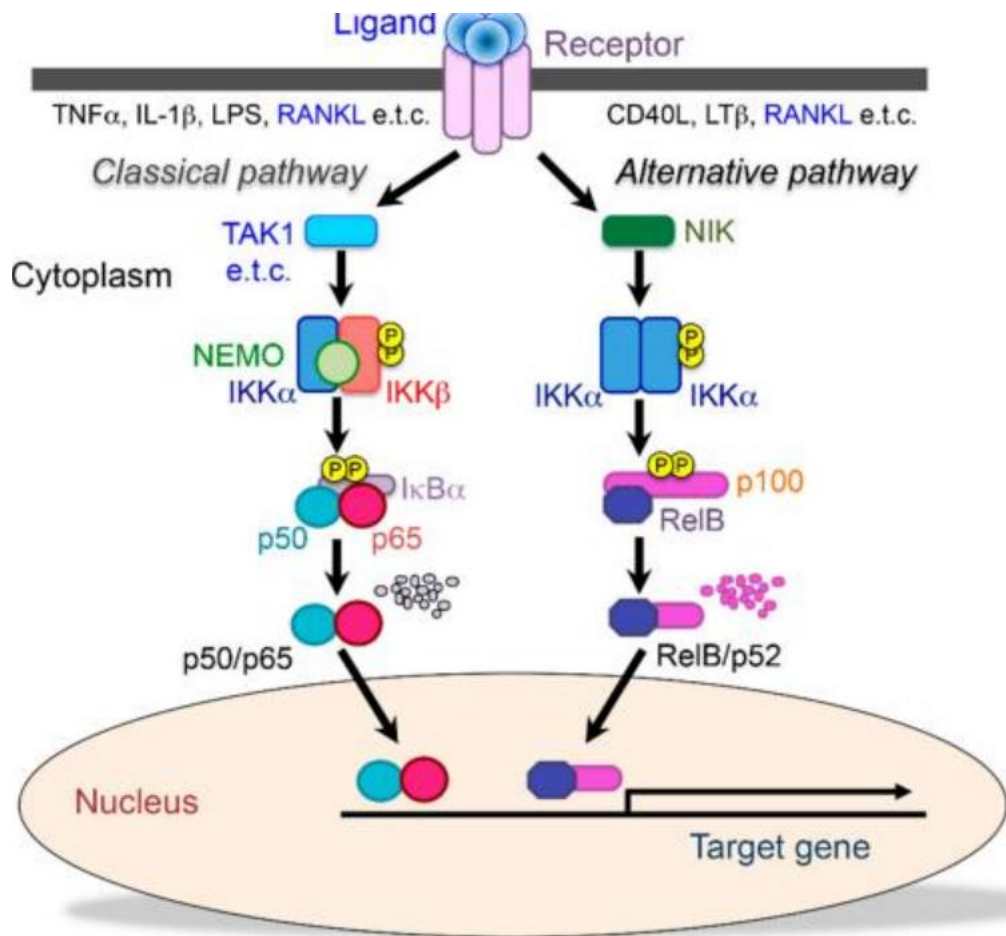


Рис. 1.2. «Канонічний» (класичний) та «неканонічний» (альтернативний) шляхи активації NF- $\kappa$ B [112] (пояснення у тексті).

Нещодавно повідомлялося, що інгібування NF- $\kappa$ B за участю IKK $\beta$  посилює кісткоутворення [112]. Результати, одержані *in vitro*, *in vivo* та *ex vivo* свідчать про те, що IKK2 порушує дозрівання остеобластів і хондроцитів та погіршує розвиток скелета [189]. Існують також публікації, що підтверджують, що естрогенові рецептори пригнічують активацію канонічного шляху NF- $\kappa$ B через взаємодію з його компонентами [164]. Також повідомляється, що TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 та

IL-17, які продукуються Т-клітинами та іншими клітинами при остеопорозі, активують класичний шлях NF-κB [195]. При цьому компонент NF-κB p65 пригнічує BMP2-індуковане остеобластичне утворення кісткової тканини шляхом втручання у зв'язування ДНК внутрішньоклітинного білка Smad, що посилює трансдукцію позаклітинних сигналів від TGF-β у ядро, через взаємодію з білком Smad4 [110].

На кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету було доведено, що при використанні інгібіторів активації NF-κB 4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діаміну та піролідиндітіокарбамату амонію значно обмежується деструкція кісткової тканини альвеолярного відростка щелеп, стегнових кісток і хребців щурів за різних експериментальних умов (при відтворенні ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді, хронічної інтоксикації нітратом і фторидом натрію) [8, 28, 214]. Отримані результати вказують на можливість корекції структурних і функціонально-метаболічних властивостей губчастих і трубчастих кісток при їх взаємодії з токсичними агентами.

Однак, на думку дослідників, виклики NF-κB-таргетної терапії при кісткових ураженнях включають [131]:

- 1) складність канонічних і неканонічних шляхів активації NF-κB;
- 2) фундаментальну роль NF-κB-опосередкованої сигналізації для репаративного остеогенезу у ранні фази пошкодження тканин і гострого запалення;
- 3) потенційний токсичний вплив на нецільові клітини, зокрема, лімфоцити.

Нещодавні розробки нових інгібіторів з диференційованими підходами для модуляції активності NF-κB, а також контрольоване локальне вивільнення чи націлена на кісткову тканину стратегія

системної доставки ліків вважаються вкрай важливими для розширення трансляційного застосування NF-κB-орієнтованої терапії при ураженнях кісткової тканини.

У контексті теми нашого дослідження викликає зацікавлення той факт, що інгібітори NF-κB здатні також пригнічувати ознаки EtOH-опосередкованого запалення [153, 207].

*Nrf2* (англ. *Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2*) належить до факторів транскрипції лейцинової блискавки (англ. leucine zipper, bZIP). Вперше він був ідентифікований як активатор антиоксидант-респонсивного елемента (англ. antioxidant response element, ARE), Цей цис-регуляторний енансер регулює експресію генів, що кодують клітинні антиоксидантні ферменти (гемоксигеназу-1, каталазу, глутатіонпероксидазу, глутатіонредуктазу та ін.) і впливає на експресію білків II фази метаболізму ксенобіотиків (нікотінаміднуклеотид-дегідрогеназу типу 1, глутатіонтрансферазу, уридиндифосфат-глюкуронілтрансферазу, сульфотрансферазу та ін.) [95, 180].

*Nrf2* вважається контрольною точкою в регуляторній відповіді на окиснювальний стрес в організмі [108, 210] (рис. 1.3).

Цитоплазматичне убіквітинування *Nrf2* опосередковується інгібіторним Keap1 (англ. Kelch like ECH associated protein 1), білком, який кон'югований з *Nrf2* і сприяє подальшому убіквітинуванню *Nrf2*. Після впливу ROS або електрофілів залишки цистеїну в Keap1 модифікуються, що призводить до конформаційних змін цього протеїну [95]. Далі вільний *Nrf2* транслокується до ядра та активує транскрипцію підконтрольних генів [192]. Keap1 регулює убіквітинування *Nrf2* шляхом активації або вимкнення активності убіквітинлігази E3 завдяки своїм високореактивним залишкам цистеїну, що робить його високоефективним і чутливим редокс-біосенсором [210].

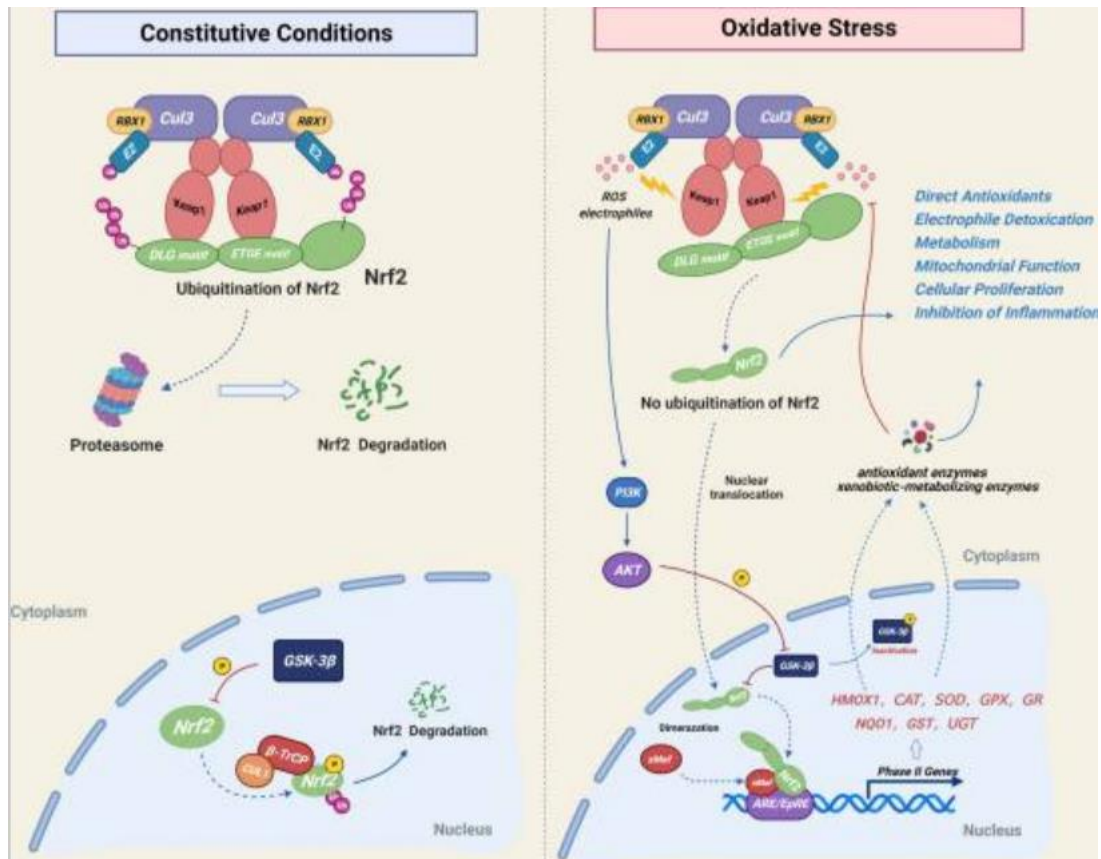


Рис. 1.3. Механізми активації Nrf2 за умов оксидативного стресу [108] (пояснення у тексті).

Nrf2-сигналізація активується шляхом опосередкованого фосфатидилінозитол-3-кіназою / протеїнкіназою В (АКТ) фосфорилювання глікогенсинтази-кінази 3  $\beta$  за умов оксидативного стресу [163, 180, 210]. На додаток до дії на окисно-відновний гомеостаз, Nrf2 відіграє важливу роль у забезпеченні протизапального стану, репарації ДНК, функції мітохондрій, проліферації клітин, клітинного циклу та імунної відповіді, а також у метаболізмі заліза, ліпідів і глюкози [95, 97, 180, 184].

Nrf2, як один з головних регуляторних факторів оксидативного стресу, безпосередньо й опосередковано (через регуляцію редокс-стану

клітин) бере участь у кістковому метаболізмі. Цей транскрипційний фактор відіграє важливу та суперечливу роль у регуляції кісткового гомеостазу в остеобластах і остеокластах [108]. Роль Nrf2 у кістках є складною і залежить від кількох чинників, таких як рівень його експресії, вік, стать, наявність різних фізіологічних і патологічних станів, а також його взаємодія з іншими факторами транскрипції, що підтримують нормальну фізіологічну функцію кісткової тканини. Показано, що властивості агоністів Nrf2 виявляють захисний вплив на виживання остеогенних клітин, включаючи остеобласти, остеоцити та стовбурові клітини [138, 190, 216]. Активація Nrf2 безпосередньо пригнічує диференціацію остеокластів, протидіючи окиснювальному стресу.

Вплив інгібування та гіперактивації Nrf2 на скелет тварин все ще залишається суперечливим, більшість досліджень свідчать про те, що наявність Nrf2 є необхідною для набуття та підтримки кісткової маси, а також захисту кісткової маси за умов різних стресових станів [108].

Ефективність індукторів Nrf2 для захисту та підтримки кісткової тканини підтверджена у великій кількості досліджень *in vivo* та *in vitro* [108, 124]. Крім того, ці сполуки позитивно впливають на алкоголь-опосередковані порушення, включаючи окиснювальний стрес і апоптоз [88, 130]. Проте вважається, що додаткові дослідження ролі Nrf2 у репаративному остеогенезі важливі для визначення нових мішеней для покращення відновлення кісток після їхньої травматизації, у тому числі за умов алкогольної інтоксикації.

Певні перспективи пов'язані з використанням з цією метою біофлавоноїдів, які є потужними регуляторами транскрипційних факторів NF- $\kappa$ B і Nrf2 [122]. Їх спроможність модулювати запалення, окиснювальний стрес та остеогенез робить їх об'єктом інтенсивних досліджень щодо можливого використання в клінічній практиці для

підтримки процесів репаративної регенерації кісток та зменшення ризику остеопатій [31, 122, 123, 128].

Деякі з біофлавоноїдів, включаючи кверцетин, можуть активувати Nrf2, підвищуючи його рівень і посилюючи антиоксидантні та цитопротективні властивості клітин [122], у тому числі у разі інтоксикації EtOH [211]. Найцікавіше, що біофлавоноїди здатні одночасно пригнічувати NF-κB та активувати Nrf2, що може суттєво покращувати остеогенез. Ці властивості є важливими для підтримки процесів остеорепарації та фармакологічного контролю над запаленням, деструкцією кісткової тканини й окиснювальним стресом.

Дослідження показують, що флавоноїд кверцетин здатний інгібувати активацію NF-κB, зменшуючи утворення ROS / RNS, активність ферментів-маркерів резорбції кістки, обмежуючи деполімеризацію колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів кісткової тканини, а також сприяючи розвитку остеогенезу [28, 30].

Нещодавно на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету було показано, що біофлавоноїди кверцетин [18] та епігалокатехін-3-галат [215] є ефективними засобами корекції деструкції кісткової тканини альвеолярних відростків щелеп щурів, зменшуючи деполімеризацію колагену, PGs і GPs, що супроводжується обмеженням кісткової резорбції.

Виявлено, що кверцетин має позитивний вплив на біомеханічні характеристики кісткової тканини при створенні перфорованого дефекту у великогомілковій кістці щурів [50]. Застосування кверцетину при гіпоксії та гіпертермії сприяє збільшенню індексу міцності плечової, великогомілкової, стегнової кісток і хребців щурів [7].

Таким чином, дослідження ролі NF-κB та Nrf2 у механізмах репаративного остеогенезу за умов алкогольної інтоксикації є актуальним напрямком, що вимагає подальших наукових досліджень.

Розуміння взаємозв'язку між цими транскрипційними факторами та остеогенезом є важливим для розробки нових стратегій лікування та профілактики ускладнень репаративної регенерації кісткової тканини, у тому числі у посттравматичному періоді після перелому щелепи, у пацієнтів із алкогольною залежністю. Перспективним лікарським засобом, нетоксичним і здатним модулювати редокс-чутливі транскрипційні фактори, є біофлавоноїд кверцетин, проте ефективність його остеогенної дії за умов інтоксикації EtOH все ще залишається нез'ясованою, що обґрунтовує доцільність цього дослідження.



## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Експериментальний розподіл лабораторних тварин

Дослідження було проведено на 70 самцях щурів лінії Вістар з масою тіла ( $225\pm 20$ ) г, яких утримували в умовах 12-годинного циклу світло-темрява при контрольованій температурі ( $22,0\pm 2,0^\circ\text{C}$ ) і вологості ( $55,0\pm 5,0\%$ ). Щурам забезпечували належний догляд, з необмеженим доступом до стандартного комбікорму (відповідно до норм повноцінного раціону) та водопровідної води. Перед введенням у наркоз щурів відлучали від корму за 12 годин.

Комісія з етичних питань та біоетики Полтавського державного медичного університету на своєму засіданні (протокол № 230 від 26 вересня 2024 р.) розглянула матеріали дисертаційної роботи і дійшла висновку, що проведені наукові дослідження відповідають етичним стандартам, а порушень морально-етичних норм не виявлено. Під час роботи з тваринами дотримувалися положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментах та інших наукових цілях» (Страсбург, 18 березня 1986 р.), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» і рекомендацій Європейського наукового фонду щодо використання тварин у дослідженнях.

Розподіл щурів за групами наведений у таблиці 2.1.

Щурів декапітували через 14 діб після «хибного» травмування або відтворення неповного ПНЦ під внутрішньоочеревинним тіопенталовим наркозом (50 мг/кг маси тіла).

Таблиця 2.1

## Розподіл тварин за експериментальними групами

№ групи	Умови експерименту	Кількість тварин
1-ша	«Хибнотравмовані» тварини	10
2-га	«Хибне травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації	10
3-тя	Дозоване ушкодження нижньої щелепи	10
4-та	Дозоване ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації	10
5-та	Введення інгібітора активації NF-κB піролідиндитіокарбамату амонію після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації	10
6-та	Введення індуктора Nrf2 диметилфумарату після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації	10
7-ма	Введення кверцетину після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації	10

Після проведення розтину тварин відбирали кров шляхом пункції серця. Кров збирали у спеціальні флакони, які містили літій-гепарин («Скай Медика», Україна) у співвідношенні 30 міжнародних одиниць на 1 мілілітр крові для запобігання згортанню. Далі, для відділення сироватки від клітинних елементів крові, пробірки центрифугували при температурі кімнати зі швидкістю 3000 обертів за хвилину протягом 15

хвилин. Верхній, прозорий шар сироватки використовували для подальшого вивчення.

Для біохімічних досліджень гнучкою хірургічною пилкою Джильї вирізали стандартні зразки нижньощелепної кістки у зоні ушкодження розміром  $5 \times 5$  мм, які далі гомогенізували. Для виготовлення 10% гомогенату наважку нативної кістки, промиту ізотонічним розчином хлориду натрію, подрібнювали ножицями та розтирали в фарфоровій ступці з кварцевим піском до отримання гомогенної маси. Далі додавали буферний розчин (Тріс-НСІ, рН = 7,4) з розрахунку 1 г тканини на 9 мл середовища. Гомогенат переносили в чисту центрифужну пробірку. Центрифугували 10 хв при 3000 об/хв.

## **2.2. Методика відтворення «хибного» травмування та дозованого ушкодження нижньої щелепи (неповного перелому нижньої щелепи)**

«Хибне» травмування та дозоване ушкодження нижньої щелепи, як модель неповного перелому нижньої щелепи) проводили під внутрішньоочеревинним наркозом тіопенталом натрію (ПАТ «Київмедпрепарат», 50 мг/кг) з подальшим відшарування слизово-окісного клаптя з боку щоки дистальніше лівого різця (у першому випадку – без ушкодження кістки). Для відтворення дозованого ушкодження нижньої щелепи (неповного перелому нижньої щелепи) скелетовану ділянку кістки просвердлювали на глибину 1 мм твердосплавним свердлом діаметром 1,5 мм зі швидкістю до 1000 об./хв. М'які тканини не ушивали, оскільки вони спонтанно зрощувалися впродовж декількох діб.

Дозоване ушкодження нижньої щелепи може вважатися адекватною моделлю її неповного перелому, оскільки відтворює

часткове порушення цілісності кістки через вплив механічної сили. Раніше цей різновид моделі перелому нижньої щелепи (з використанням твердосплавного бора або свердла певного діаметра) використовували інші дослідники [10, 22].

### 2.3. Методика відтворення хронічної алкогольної інтоксикації

Хронічну алкогольну інтоксикацію відтворювали шляхом внутрішньошлункового введення 40%-го розчину етанолу в добовій дозі 12 мл/кг маси тіла протягом 14 діб [123] до «хибного» травмування або дозованого ушкодження нижньої щелепи.

### 2.4. Специфічні та природний модулятори факторів транскрипції NF-κB та Nrf2

Щурам 5-ї та 6-ї груп протягом 14 діб після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації внутрішньоочеревинно вводили специфічні модулятори транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2: піролідиндитіокарбамат амонію та диметилфумарат (таблиця 2.2).

*Таблиця 2.2*

#### Модулятори факторів транскрипції, що використовувалися при виконанні експерименту

Назва сполуки	Вплив на транскрипційні фактори	Походження	Денна доза
1	2	3	4

Продовження табл. 2.2

1	2	3	4
Піролідиндитіокарбамат амонію	Специфічний пригнічувач NF-κB	“Sigma-Aldrich, Inc.”, США	76 мг/кг [21]
Диметилфумарат	Специфічний активатор Nrf2	“Sigma-Aldrich, Inc.”, США	15 мг/кг у 10% розчині диметилсульфоксиду [217]
Кверцетин (IUPAC: 2-(3,4-дигідроксифеніл)-3,5,7-тригідроксхромен-4-он) у вигляді комплексу з полівінілпіролідом (корвітин)	Флавоноїд, природний інгібітор NF-κB та індуктор Nrf2	ЗАТ НВЦ «Борцагівський хіміко-фармацевтичний завод», Україна	100 мг/кг (10 мг/кг у перерахунку на кверцетин) [212]

Тваринам 7-ї групи протягом 14 діб після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації внутрішньоочеревинно вводили біофлавоноїд-модулятор транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 кверцетин (корвітин).

## 2.5. Біохімічні методи дослідження

Перелік біохімічних методів дослідження наведено в таблиці 2.3.

Активність у сироватці крові ферментів-маркерів формування та резорбції кісток, а саме (лужної фосфатази, кислої фосфатази та її кісткової (тартратрезистентної) ізоформи, визначали на фотометрі “Solar PM 2111” кінетичним методом з використанням набору реактивів фірми «СпайнЛаб» (Україна).

Таблиця 2.3

**Біохімічні методи дослідження**

№	Параметр, що вивчається	Об’єкт дослідження	Літературні джерела
1	2	3	4
1.	Активність лужної фосфатази (кінетичний метод)	Сироватка крові	Набір реактивів фірми «СпайнЛаб» (Україна)
2.	Активність кислої фосфатази (кінетичний метод)	Сироватка крові	Набір реактивів фірми «СпайнЛаб» (Україна)
3.	Активність кісткової (тартратрезистентної) ізоформи кислої фосфатази (кінетичний метод)	Сироватка крові	Набір реактивів фірми «СпайнЛаб» (Україна)
4.	Концентрація загального кальцію	Плазма крові	Набір реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Продовження табл. 2.3

1	2	3	4
5.	Загальна NO-синтазна активність	Гомогенат нижньощелепної кістки	Akimov O. Ye., Kostenko V.O. (2016) [66]
6.	Ізоформи NOS (конститутивні, індукцибельна)	Гомогенат нижньощелепної кістки	Yelins'ka A.M, Akimov O.Ye, Kostenko V.O. (2019) [213]
7.	Активність орнітиндекарбоксилази	Гомогенат нижньощелепної кістки	Акімов О.Є., Костенко В.О. (2022) [5]
8.	Концентрація пероксинітритів лужних та лужноземельних металів	Гомогенат нижньощелепної кістки	Акімов О.Є., Костенко В.О. (2022) [5]
9.	Вміст вільного оксипроліну	Гомогенат нижньощелепної кістки	Кайдашев І.П. та співавт. (2003) [24]
10.	Концентрація гексуронових кислот	Гомогенат нижньощелепної кістки	Шараєв П.Н. та співавт. (1987) [61]
11.	Вміст N-ацетилнейрамінової кислоти	Гомогенат нижньощелепної кістки	Кайдашев І.П. та співавт. (2003) [24]

Концентрацію загального кальцію у плазмі крові визначали на спектрофотометрі “ULAB 101” (Китай) з використанням набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Загальну активність NOS оцінювали за різницею концентрації нітрит-іонів до та після інкубації гомогенату нижньощелепної кістки у середовищі, що містить L-аргінін і NADPH. Вміст нітрит-іонів вимірювали на спектрофотометрі Ulab-101 (Китай) за поглинанням на довжині хвилі 540 нм за утворенням забарвлених діазосполук у реакції з 1% сульфаніламідною кислотою з подальшим додаванням 1% розчину 1-нафтиламіну (реактиву Гріса-Ілосвая) [66].

Для оцінки активності конститутивних ізоформ NOS (cNOS) додавали 1% розчин аміногуанідину гідрохлориду (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США). Активність iNOS розраховували за різницею між загальною активністю NOS та активністю cNOS.

Концентрацію пероксинітритів лужних та лужноземельних металів в гомогенаті нижньощелепної кістки вимірювали, використовуючи їхню здатність відновлювати атомарний йод із солей калію [5].

Колагеноліз оцінювали за концентрацією у гомогенаті нижньощелепної кістки вільного оксипроліну, метод визначення якої ґрунтується на реакції пірол-2-карбонової кислоти, яка утворюється при окисненні оксипроліну, з 4-диметиламінобензальдегідом [24]. Оптичну щільність вимірювали на спектрофотометрі “ULAB 101” (Китай) при довжині хвилі 540 нм. Про деполімеризацію сіалоглікопротеїнів і протеогліканів судили за вмістом у гомогенаті кістки їх мономерів – гексуронових [61] і N-ацетилнейрамінової кислот [24].

## **2.6. Оцінка біомеханічних характеристик кісток**



Дослідження біомеханічних властивостей нижньощелепної кістки проводили за 4-х точковою схемою (випробовування на згин) за допомогою деформаційної установки МРК-1 з розрахунком модулю Юнга, межі міцності, межі пружості та відносного видовження до руйнування [29].

Товщину і ширину зразків вимірювали за допомогою мікрометра МК 0-25 з похибкою  $\pm 0,01$  мм не менше ніж у трьох місцях поблизу зони ураження. Відстань між опорами вимірювали за допомогою штангенциркуля з похибкою  $\pm 0,02$  мм.

При випробовуванні на деформаційній установці МРК-1 використовували пристрій, що забезпечував деформацію згину за 4-х точковою схемою навантаження. Зразок поміщали в робочу зону установки та здійснювали згин зі стабільною швидкістю  $0,25 \pm 0,01$  мм/хв до руйнування кістки. Процес деформації фіксувався на діаграмній стрічці при швидкості її руху 12 мм/хв за допомогою самописця КСП-4 в координатах «навантаження-прогин». Калібрування діаграми здійснювалося тарувальним вантажем масою 5 кг.

За діаграмою визначали модуль Юнга для згину ( $E$ ), межу пружності  $\sigma_{пр}$ , межу міцності  $\sigma_{ми}$  та відносне залишкове видовження крайніх волокон до руйнування  $\delta$ .

Модуль Юнга під час згину ( $E_{зг}$ ) в МПа обчислювали за формулою:

$$E_{зг} = \frac{0,185 \cdot L_v^3 \cdot (F_2 - F_1)}{bh^3 \cdot (z_2 - z_1)},$$

де:  $L_v$  – відстань між опорами, мм;

$F_2$  – навантаження, що відповідає величині відносної деформації крайніх волокон 0,3%, Н;

$F_1$  – навантаження, що відповідає величині відносної деформації крайніх волокон 0,1%, Н;

$b$  – ширина зразка, мм;

$h$  – товщина зразка, мм;

$z_2$  – прогин зразка, який відповідає відносній деформації крайніх волокон 0,3%, мм;

$z_1$  – прогин зразка, який відповідає відносній деформації крайніх волокон 0,1%, мм.

Відносну деформацію крайніх волокон ( $\varepsilon$ ) обчислювали за формулою:

$$\varepsilon = \frac{zh}{0,185L_v^2},$$

де:  $L_v$  – відстань між опорами, мм;

$h$  – товщина зразка, мм;

$z$  – прогин зразка, мм.

Межа пружності та міцності (або тимчасовий опір) розраховувалися за формулою:

$$\sigma = \frac{F \cdot L_v}{bh^2},$$

де:  $F$  – навантаження, що відповідає відповідній межі, Н;

$L_v$  – відстань між опорами, мм;

$b$  – ширина зразка, мм;

$h$  – товщина зразка, мм.

Для розрахунку відносного видовження крайніх волокон до руйнування  $\varepsilon_{\max}$  (характеристика пластичності матеріалу) використовували максимальне значення прогину зразка.

Для визначення величини навантажень та стріли прогину за діаграмою деформації використовували масштаб за відповідними осями.

## 2.7. Морфологічні методи дослідження

Перед виготовленням мікропрепаратів проводили фіксацію фрагментів щелеп у 10%-му розчині нейтрального формаліну протягом 48 годин. Декальцинацію проводили у 4%-му розчині трилону Б (етилендіамінтетраацетату) [20]. Після цього матеріал проводили через батарею спиртів зростаючої концентрації, через хлороформ та заливали у парафін. З парафінових блоків виготовляли зрізи 4-6 мкм завтовшки, які забарвлювали гематоксиліном та еозином.

## 2.8. Статистична обробка результатів експерименту

Одержані результати були статистично оброблені за допомогою програмного пакета Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics 2019 із застосуванням тесту Шапіро-Уїлка для перевірки нормальності дисперсій. Були розраховані основні статистичні показники, такі як середнє арифметичне ( $M$ ) і стандартна помилка середнього ( $m$ ). У разі нормального розподілу застосували параметричний дисперсійний аналіз ANOVA з подальшим попарним порівнянням груп за критерієм  $t$  Стьюдента для незалежних зразків. При невідповідності рядів даних нормальному розподілу для статистичної обробки застосовували непараметричний метод –  $U$ -критерій Мана-Уїтні. Проблему множинних порівнянь вирішували за допомогою поправки Дана-Шідака, а в разі ненормального розподілу – за допомогою  $H$ -критерію Крускала-Уоліса.

### РОЗДІЛ 3

## МЕТАБОЛІЧНІ, БІОМЕХАНІЧНІ ТА ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ КІСТОК НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ ЩУРІВ У ПОСТТРАВМАТИЧНОМУ ПЕРІОДІ ПІСЛЯ ЇХ ДОЗОВАНОГО УШКОДЖЕННЯ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

### 3.1. Зміни біохімічних маркерів ремоделювання та репаративної регенерації кісткової тканини за умов експерименту

Як маркер формування кісток у сироватці крові досліджували активність лужної фосфатази кінетичним методом з використанням набору реактивів фірми «СпайнЛаб» (рис 3.1). На 14-му добу після «хибного травмування» нижньої щелепи значення цього показника становило  $382,8 \pm 14,1$  од. акт.

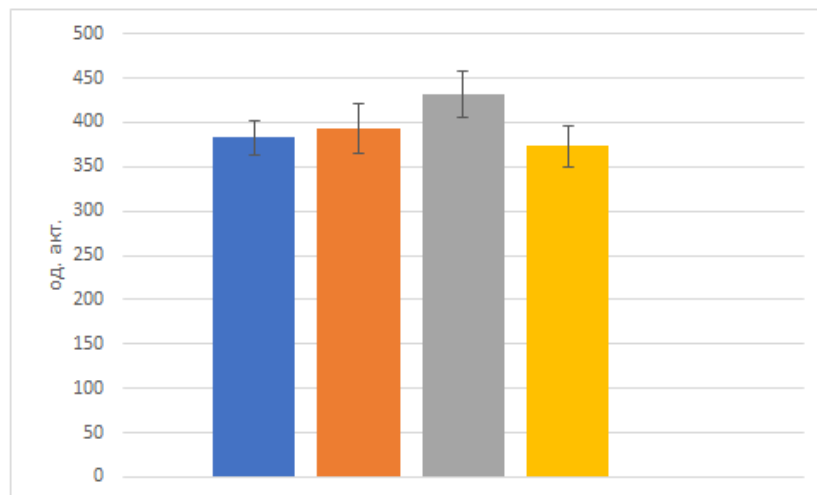


Рис. 3.1. Активність лужної фосфатази у сироватці крові «хибно травмуваних» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

За відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин цей показник ( $393,5 \pm 25,6$  од. акт.) суттєво не відрізнявся від контролю. На 14-му добу після окремого дозованого ушкодження нижньої щелепи та відтворення цього ураження на тлі хронічної алкогольної інтоксикації активність лужної фосфатази становила  $431,4 \pm 17,4$  і  $373,5 \pm 23,4$  од. акт., що також відповідало значенню контрольної групи.

Як маркери резорбції кісток кінетичним методом з використанням набору реактивів фірми «СпайнЛаб» у сироватці крові досліджували активність кислої фосфатази (рис 3.2) та її кісткової (тарtratрезистентної) ізоформи (рис 3.3).

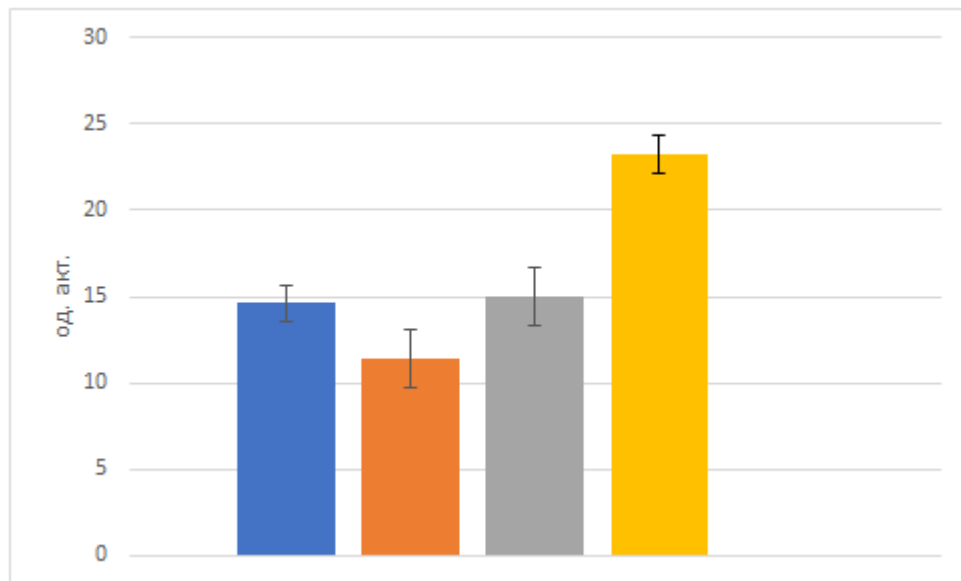


Рис. 3.2. Активність кислої фосфатази у сироватці крові «хибнотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

На 14-му добу після «хибного травмування» нижньої щелепи значення цих показників становило  $14,6 \pm 0,7$  і  $7,7 \pm 0,3$  од. акт. відповідно. За відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин ці показники ( $11,4 \pm 1,3$  і  $8,8 \pm 0,6$  од. акт.) також суттєво не відрізнялися від контролю.

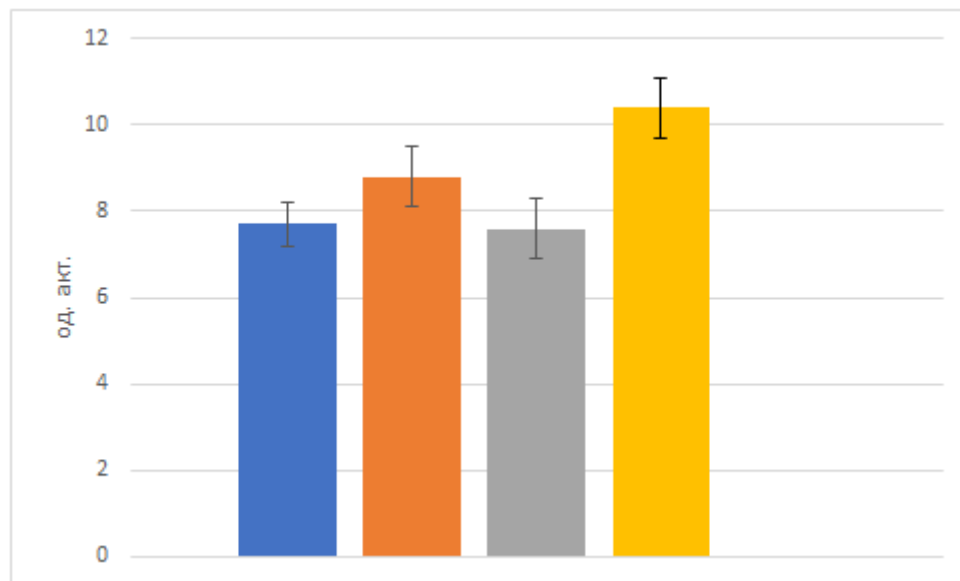


Рис. 3.3. Активність кісткової (тартратрезистентної) ізоформи кислої фосфатази у сироватці крові «хибнотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

На 14-му добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи активність кислої фосфатази та її кісткової (тартратрезистентної) ізоформи становила  $15,0 \pm 1,4$  і  $7,6 \pm 0,7$  од. акт., що також відповідало значенню контрольної групи.

Проте через 14 діб після моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації активність кислої фосфатази становила  $23,2 \pm 1,1$  од. акт., тобто на 58,9% ( $P < 0,001$ ) перевищувала контроль і на 103,0% ( $P < 0,001$ ) та 54,7% ( $P < 0,01$ ) була більшою за відповідні значення 2-ї та 3-ї груп. Активність тартратрезистентної ізоформи кислої фосфатази, в свою чергу, була на рівні  $10,4 \pm 0,6$  од. акт., що на 35,1% ( $P < 0,01$ ) перевищувало результат контролю та на 36,8% ( $P < 0,02$ ) значення 3-ї групи.

Концентрація загального кальцію у плазмі крові «хибноотравмованих» тварин (рис. 3.4) становила  $2,12 \pm 0,18$  ммоль/л.

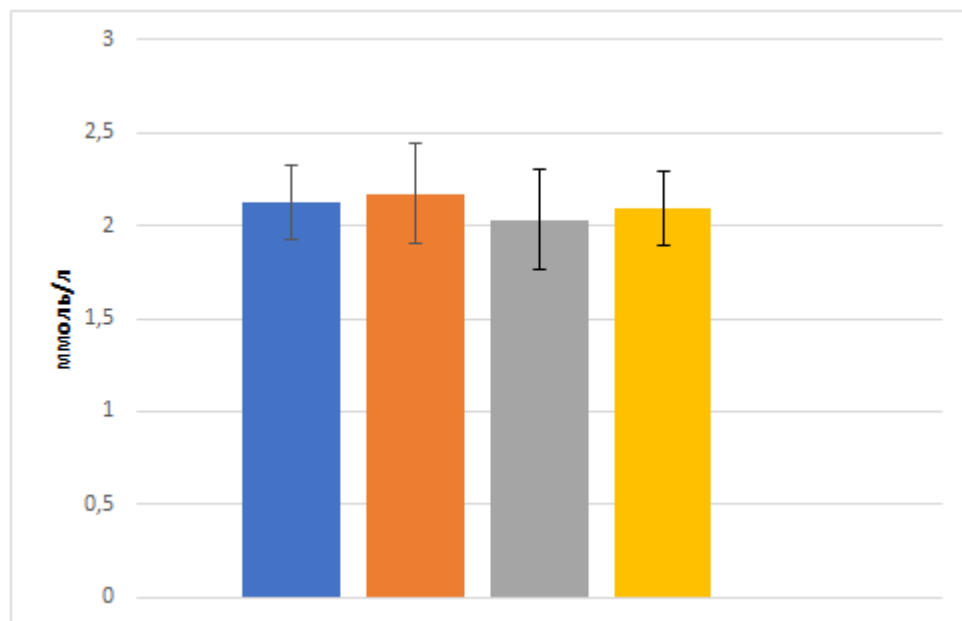


Рис. 3.4. Концентрація загального кальцію у плазмі крові «хибноотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

У щурів групи «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації –  $2,17 \pm 0,26$  ммоль/л, дозованого ушкодження нижньої щелепи –  $2,03 \pm 0,19$  ммоль/л, дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації –  $2,09 \pm 0,27$  ммоль/л. Вірогідних відмінностей у значеннях цього показника у різних групах тварин не виявлено.

### **Висновки до п. 3.1:**

1. На 14-му добу після «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації, дозованого ушкодження нижньої щелепи (модель неповного перелому нижньої щелепи) та дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації вірогідних змін маркера формування кісток (активності лужної фосфатази у сироватці крові) та концентрації загального кальцію у плазмі крові не виявлялося.

2. «Хибне травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації та дозоване ушкодження нижньої щелепи (модель неповного перелому нижньої щелепи) не викликали на 14-му добу посттравматичного періоду суттєвих змін активності ферментів-маркерів резорбції кісток у сироватці крові – кислої фосфатази та її кісткової (тарtratрезистентної) ізоформи.

3. Дозоване ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації супроводжується на 14-му добу посттравматичного періоду вірогідним збільшенням активності ферментів-маркерів резорбції кісток у сироватці крові – кислої фосфатази та її кісткової (тарtratрезистентної) ізоформи.



### 3.2. Показники нітросидергічної системи у гомогенаті кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту

На 14-му добу після «хибного травмування» нижньої щелепи активність NOS у гомогенаті нижньощелепної кістки (рис. 3.5) становила  $2,83 \pm 0,34$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ . За відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин цей показник ( $5,11 \pm 0,34$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ ) на 80.6% ( $P < 0,01$ ) перевищував значення контролю.

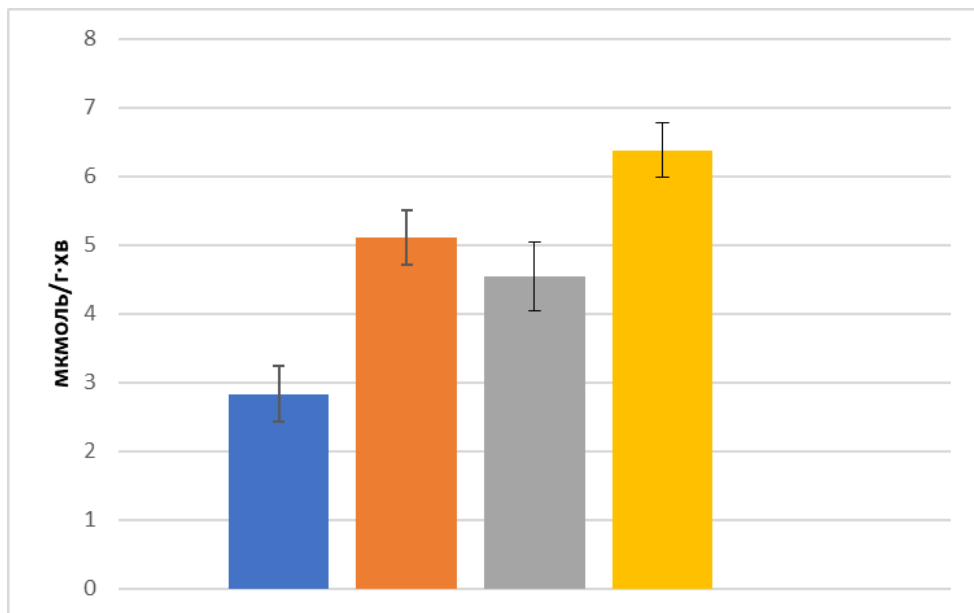


Рис. 3.5. Загальна активність NOS у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибнотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

На 14-му добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи активність NOS у гомогенаті нижньощелепної кістки становила

4,54±0,52 мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г}\cdot\text{хв}$ , що на 60,4% ( $P<0,05$ ) був вищим за результат 1-ї групи.

Водночас за умов моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації активність NOS у гомогенаті нижньощелепної кістки становила 6,38±0,37 мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г}\cdot\text{хв}$ , тобто в 2,25 раза ( $P<0,001$ ) перевищувала контроль і на 24,9% ( $P<0,05$ ) та на 40,5% ( $P<0,05$ ) була більшою за відповідні значення 2-ї та 3-ї груп.

Активність cNOS у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибно травмованих» тварин (рис. 3.6) становила 0,36±0,07 мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г}\cdot\text{хв}$ .

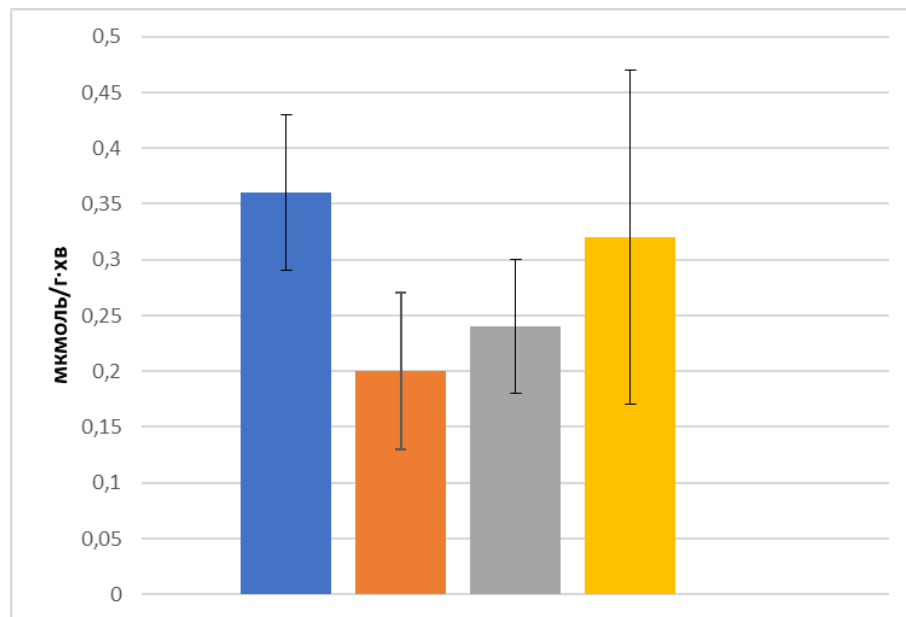


Рис. 3.6. Активність cNOS у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибно травмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

У щурів групи «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації –  $0,20 \pm 0,06$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ , дозованого ушкодження нижньої щелепи –  $0,24 \pm 0,07$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ ; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації –  $0,32 \pm 0,15$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ . Вірогідних відмінностей у значеннях цього показника у різних групах тварин не виявлено.

На 14-му добу після «хибного травмування» нижньої щелепи активність iNOS у гомогенаті нижньощелепної кістки (рис. 3.7) становила  $2,47 \pm 0,32$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ .

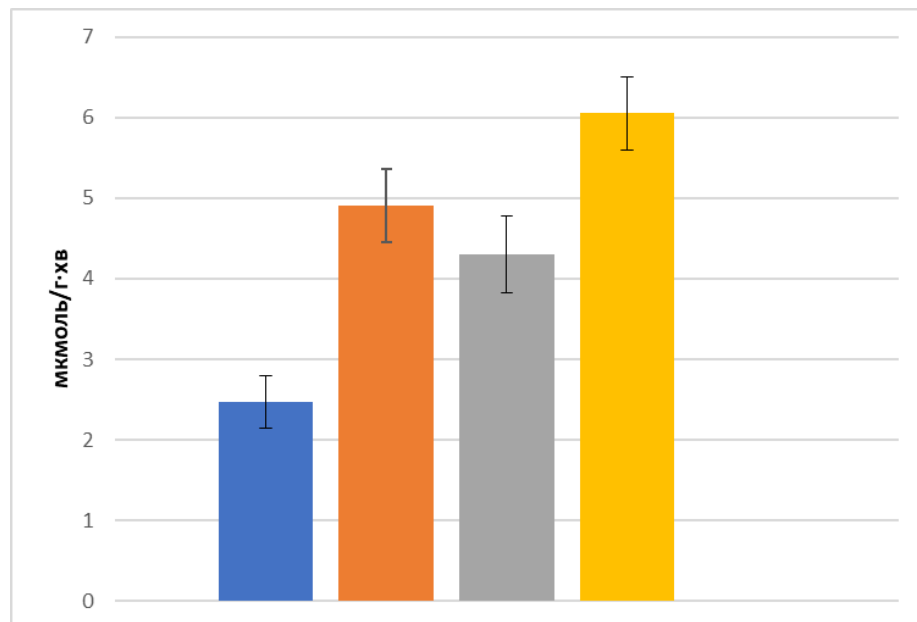


Рис. 3.7. Активність iNOS у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибнотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

За відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин значення цього показника ( $4,91 \pm 0,34$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв.}$ ) на 98,8% ( $P < 0,001$ ) перевищувало результат контролю.

На 14-му добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи активність iNOS у гомогенаті нижньощелепної кістки становила  $4,30 \pm 0,48$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв.}$ , що на 74,1% ( $P < 0,02$ ) був вищим за результат 1-ї групи.

Водночас за умов моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації активність iNOS у гомогенаті нижньощелепної кістки становила  $6,05 \pm 0,38$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв.}$ , тобто в 2,44 раза ( $P < 0,001$ ) перевищувала контроль і на 40,7% ( $P < 0,05$ ) була більшою за значення 3-ї групи.

У ході дослідження оцінювали активність у гомогенаті нижньощелепної кістки орнітиндекарбоксилази (рис. 3.8), ферменту конкурентного щодо NOS неокисного шляху метаболізму L-аргініну. На 14-му добу після «хибного травмування» нижньої щелепи значення цього показника становило  $290,0 \pm 7,3$  нмоль/ $\text{г} \cdot \text{хв.}$

За відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин активність орнітиндекарбоксилази у гомогенаті нижньощелепної кістки ( $311,6 \pm 6,1$  нмоль/ $\text{г} \cdot \text{хв.}$ ) також суттєво не відрізнялися від контролю.

На 14-му добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи активність орнітиндекарбоксилази у гомогенаті нижньощелепної кістки становила  $278,1 \pm 7,3$  нмоль/ $\text{г} \cdot \text{хв.}$ , що також відповідало значенню 1-ї групи.

Проте через 14 діб після моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації активність орнітиндекарбоксилази у гомогенаті нижньощелепної кістки становила

259,3±2,7 нмоль/г·хв, тобто була нижчою на 10,6% ( $P<0,01$ ) за контроль і на 16,8% ( $P<0,001$ ) та на 6,8% ( $P<0,05$ ) за відповідні значення 2-ї та 3-ї груп.

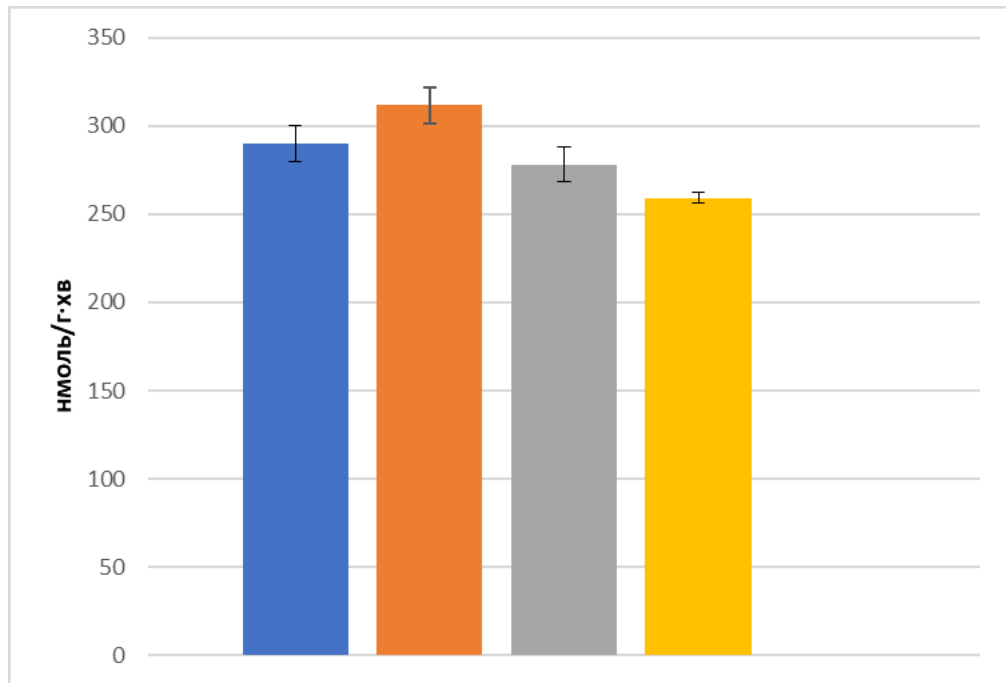


Рис. 3.8. Активність орнітиндекарбоксилази у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибно-травмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого uszkodження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого uszkodження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

На 14-му добу після «хибного травмування» нижньої щелепи концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у гомогенаті нижньощелепної кістки (рис. 3.9) становила  $0,79 \pm 0,07$  мкмоль/г.

За відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин значення цього показника ( $1,10 \pm 0,02$  мкмоль/г) на 39,2% ( $P<0,01$ ) перевищувало значення контролю.

На 14-му добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у гомогенаті нижньощелепної кістки становила  $0,98 \pm 0,14$  мкмоль/г, що вірогідно не відрізнялося від результату 1-ї групи.

Водночас за умов моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у гомогенаті нижньощелепної кістки становила  $1,34 \pm 0,02$  мкмоль/г, тобто на 69,6% ( $P < 0,001$ ) перевищувала контроль і на 21,8% ( $P < 0,001$ ) і 36,7% ( $P < 0,05$ ) була більшою за значення 2-ї та 3-ї груп відповідно.

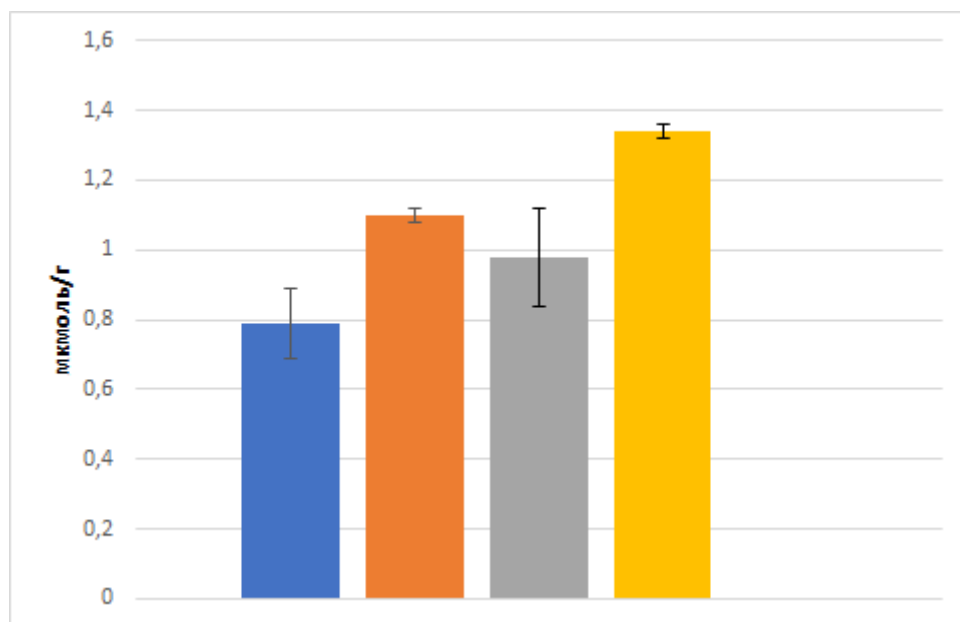


Рис. 3.9. Концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибно травмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

### **Висновки до п. 3.2:**

1. Відтворення хронічної алкогольної інтоксикації вірогідно збільшує в гомогенаті нижньої щелепи щурів загальну та індукцибельну NO-синтазну активність, що супроводжується зростанням концентрації ключового маркера нітрозативного стресу – пероксинітриту.

2. На 14-ту добу після відтворення дозованого ушкодження нижньої щелепи (моделі її неповного перелому) на тлі хронічної алкогольної інтоксикації NO-синтазна активність та вміст пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у гомогенаті кістки перевищує результати груп з окремою дією травматичного та токсичного чинників.

3. На 14-ту добу після відтворення дозованого ушкодження нижньої щелепи (моделі її неповного перелому) на тлі хронічної алкогольної інтоксикації значно знижується активність ключового ферменту біосинтезу поліамінів – орнітиндекарбоксилази.

### **3.3. Показники деполімеризації біополімерів позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту**

Як показники деструкції біополімерів позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи щурів у гомогенаті нижньощелепної кістки досліджували вміст вільного оксипроліну (маркера колагенолізу), N-ацетилнейрамінової кислоти (маркера деполімеризації сіалоглікопротеїнів), гексуранових кислот (маркера деполімеризації претеогліканів).

На 14-му добу після «хибного травмування» нижньої щелепи концентрація вільного оксипроліну (рис. 3.10) становила  $3,45 \pm 0,11$  мкмоль/г. За відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з

подальшим «хибним» травмуванням тварин цей показник ( $3,45 \pm 0,08$  мкмоль/г) також суттєво не відрізнялися від контролю.

На 14-му добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи вміст вільного оксипроліну становив  $3,50 \pm 0,08$  мкмоль/г, що також відповідало значенню контрольної групи.

Проте через 14 діб після моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації концентрація вільного оксипроліну становила  $4,46 \pm 0,08$  мкмоль/г, тобто на 29,3% ( $P < 0,001$ ) перевищувала контроль і на 29,3% ( $P < 0,001$ ) та на 27,4% ( $P < 0,001$ ) була більшою за відповідні значення 2-ї та 3-ї груп.

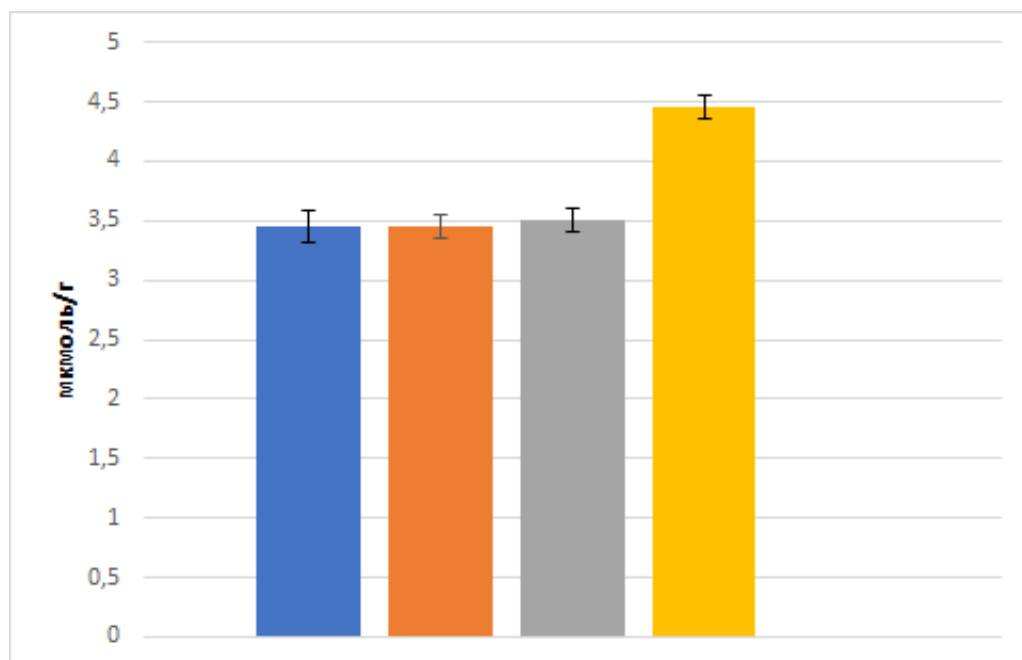


Рис. 3.10. Концентрація вільного оксипроліну в гомогенаті нижньощелепної кістки «хиботравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.



Водночас після «хибного травмування» нижньої щелепи концентрація гексуронових кислот (рис. 3.11) становила  $1,98 \pm 0,25$  мкмоль/г. За відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин цей показник ( $2,18 \pm 0,14$  мкмоль/г) також суттєво не відрізнялися від контролю.

На 14-му добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи вміст гексуронових кислот становив  $1,97 \pm 0,28$  мкмоль/г, що також відповідало значенню контрольної групи.

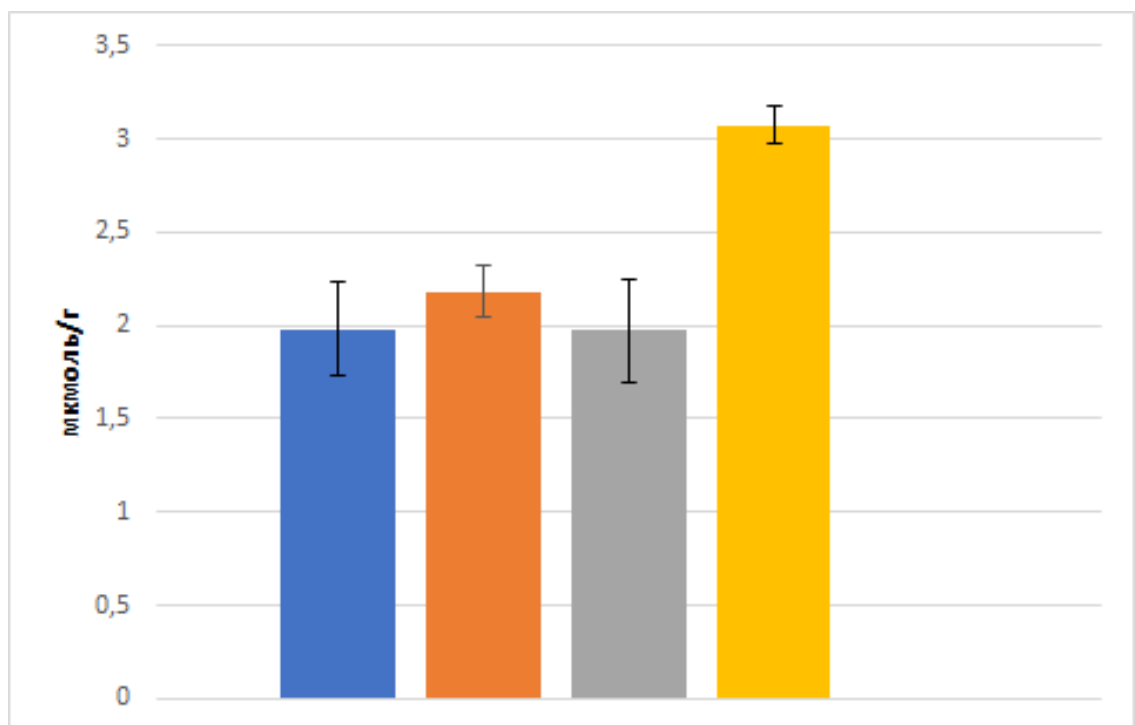


Рис. 3.11. Концентрація гексуронових кислот у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибнотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

Проте через 14 діб після моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації концентрація гексуранових кислот становила  $3,07 \pm 0,10$  мкмоль/г, тобто на 55,1% ( $P < 0,01$ ) перевищувала контроль і на 40,8% ( $P < 0,001$ ) та на 55,8% ( $P < 0,01$ ) була більшою за відповідні значення 2-ї та 3-ї груп.

На 14-му добу після «хибного травмування» нижньої щелепи концентрація N-ацетилнейрамінової кислоти (рис. 3.12) становила  $1,74 \pm 0,23$  мкмоль/г. За відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин цей показник ( $2,02 \pm 0,13$  мкмоль/г) також суттєво не відрізнялися від контролю.

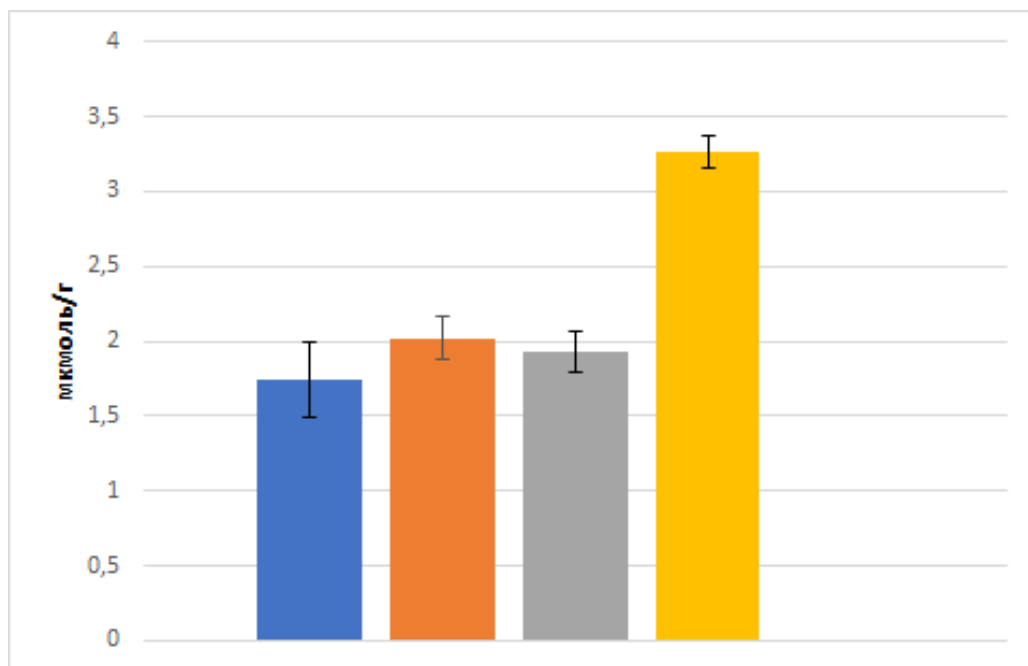


Рис. 3.12. Концентрація N-ацетилнейрамінової кислоти в гомогенаті нижньощелепної кістки «хибнотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

На 14-му добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи вміст N-ацетилнейрамінової кислоти становив  $1,93 \pm 0,14$  мкмоль/г, що також відповідало значенню контрольної групи.

Проте через 14 діб після моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації концентрація N-ацетилнейрамінової кислоти становила  $3,26 \pm 0,11$  мкмоль/г, тобто на 87,4% ( $P < 0,001$ ) перевищувала контроль і на 61,4% ( $P < 0,001$ ) та на 68,9% ( $P < 0,001$ ) була більшою за відповідні значення 2-ї та 3-ї груп.

### **Висновки до п. 3.3:**

1. Відтворення хронічної алкогольної інтоксикації суттєво не впливає на концентрацію мономерів біополімерів органічного матриксу нижньої щелепи щурів – вільного оксипроліну, гексуронових і N-ацетилнейрамінової кислот.

2. Дозоване ушкодження нижньої щелепи (модель її неповного перелому) не призводить на 14-ту добу посттравматичного періоду до істотних змін концентрації мономерів біополімерів органічного матриксу нижньої щелепи щурів – вільного оксипроліну, гексуронових і N-ацетилнейрамінової кислот.

3. На 14-ту добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи (модель її неповного перелому) на тлі хронічної алкогольної інтоксикації значно зростає деполімеризація біополімерів кісткової тканини (колагену, глікопротеїнів і протеогліканів), що створює передумови для порушення репаративних процесів у ділянці перелому.

### 3.4. Тензометричні характеристики кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту

На 14-му добу після «хибного травмування» нижньої щелепи значення модулю пружності під час розтягу (модулю Юнга) зразка нижньощелепної кістки (рис. 3.13) становило  $589,6 \pm 4,8$  МПа.

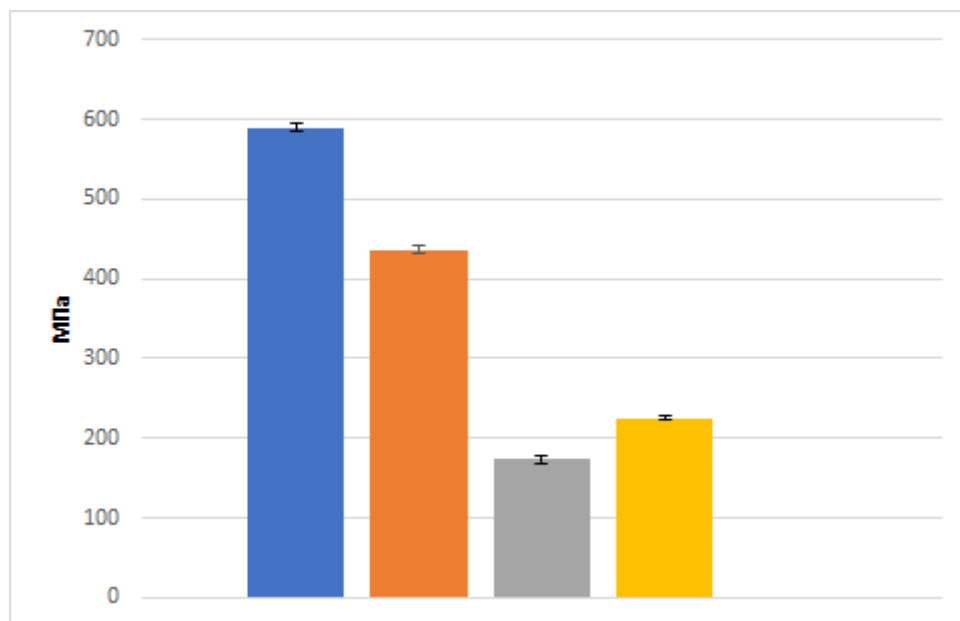


Рис. 3.13. Модуль пружності під час розтягу (модуль Юнга) зразка нижньощелепної кістки «хиботравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

За відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин значення цього показника ( $436,2 \pm 3,2$  МПа) на 26,0% ( $P < 0,001$ ) було меншим за контроль.

На 14-му добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи модуль Юнга зразка нижньощелепної кістки становив  $173,9 \pm 3,0$  МПа, що вірогідно на 70,5% ( $P < 0,001$ ) було нижчим за результат 1-ї групи.

Водночас за умов моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації модуль Юнга зразка нижньощелепної кістки становив  $225,4 \pm 1,1$  МПа, тобто був меншим на 61,8% ( $P < 0,001$ ) порівняно з контролем і на 48,3% ( $P < 0,001$ ) щодо значення 2-ї групи, але на 29,6% ( $P < 0,001$ ) перевищував результат 3-ї групи.

Межа пружності зразка нижньощелепної кістки «хибно травмованих» тварин (рис. 3.14) становила  $26,3 \pm 6,0$  МПа, у щурів групи «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації –  $18,7 \pm 3,0$  МПа, дозованого ушкодження нижньої щелепи –  $13,7 \pm 5,3$  МПа. Вірогідних відмінностей у значеннях цього показника у цих групах тварин не виявлено.

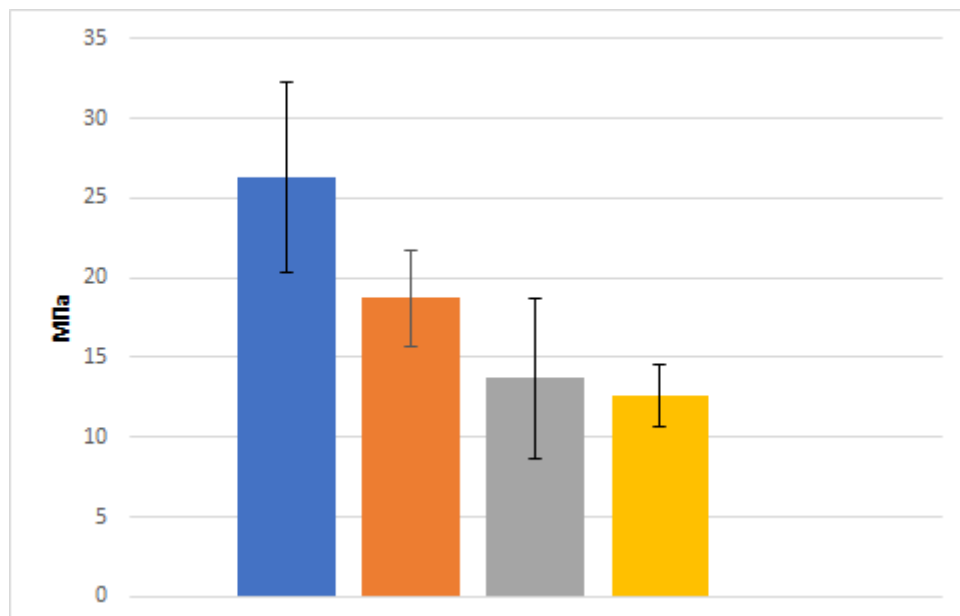


Рис. 3.14. Межа пружності зразка нижньощелепної кістки «хибно травмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2;

дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

Проте межа пружності зразка нижньощелепної кістки щурів, яким відтворювали неповний перелом нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації, становила  $12,6 \pm 1,3$  МПа, що на 52,1% ( $P < 0,05$ ) було меншим за значення контрольної групи.

На 14-му добу після «хибного травмування» нижньої щелепи межа міцності зразка нижньощелепної кістки (рис. 3.15) становила  $27,4 \pm 4,0$  МПа.

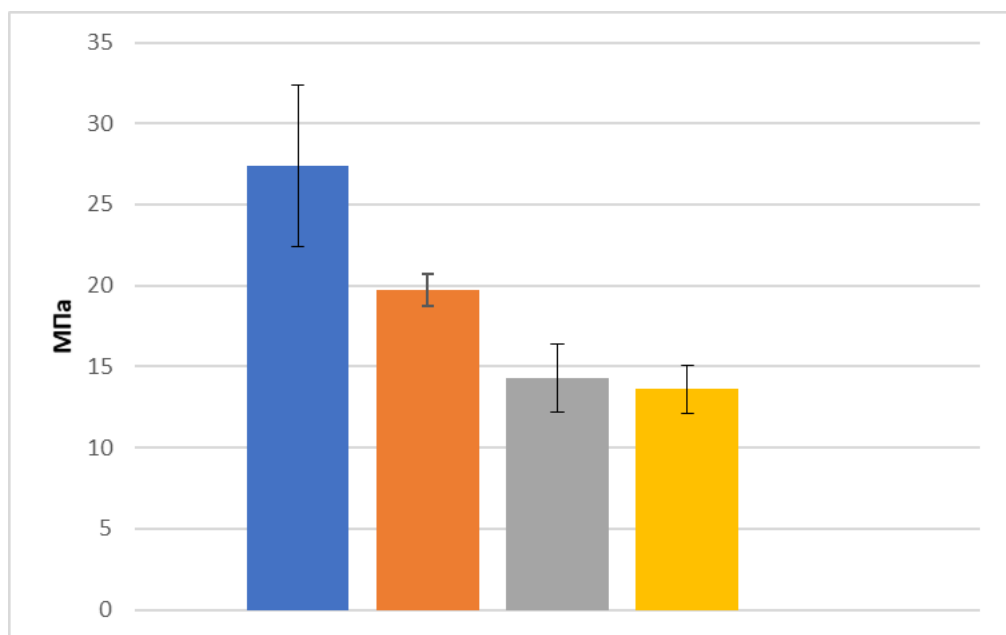


Рис. 3.15. Межа міцності зразка нижньощелепної кістки «хибнотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

За відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин значення цього показника ( $19,7 \pm 0,4$  МПа) істотно не відрізнялося від значення контролю.

На 14-му добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи межа міцності зразка нижньощелепної кістки становила  $14,3 \pm 2,1$  МПа, що вірогідно на 47.8% ( $P < 0,02$ ) було нижчим за результат 1-ї групи.

Водночас за умов моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації межа міцності зразка нижньощелепної кістки становила  $13,6 \pm 1,5$  МПа, тобто була меншою на 50.4% ( $P < 0,02$ ) порівняно з контролем і на 31,0% ( $P < 0,01$ ) щодо значення 2-ї групи.

Відносне видовження до руйнування зразка нижньощелепної кістки «хибнотравмованих» тварин (рис. 3.16) становила  $0,63 \pm 0,03\%$ , у щурів групи «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації –  $0,61 \pm 0,07\%$ , дозованого ушкодження нижньої щелепи –  $0,38 \pm 0,14\%$ , дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації –  $0,60 \pm 0,06\%$ . Вірогідних відмінностей у значеннях цього показника у різних групах тварин не виявлено.

#### **Висновки до п. 3.4:**

1. Відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин порушує біомеханічні властивості нижньощелепної кістки, зокрема, пружність під час розтягу, на що вказує суттєве зменшення модуля Юнга.

2. На 14 добу після відтворення дозованого ушкодження нижньої щелепи (модель її неповного перелому), у тому числі на тлі хронічної алкогольної інтоксикації, залишаються зменшеними пружність кістки в зоні ураження під час розтягу та її міцність, на що вказує зниження модуля Юнга та межа міцності.

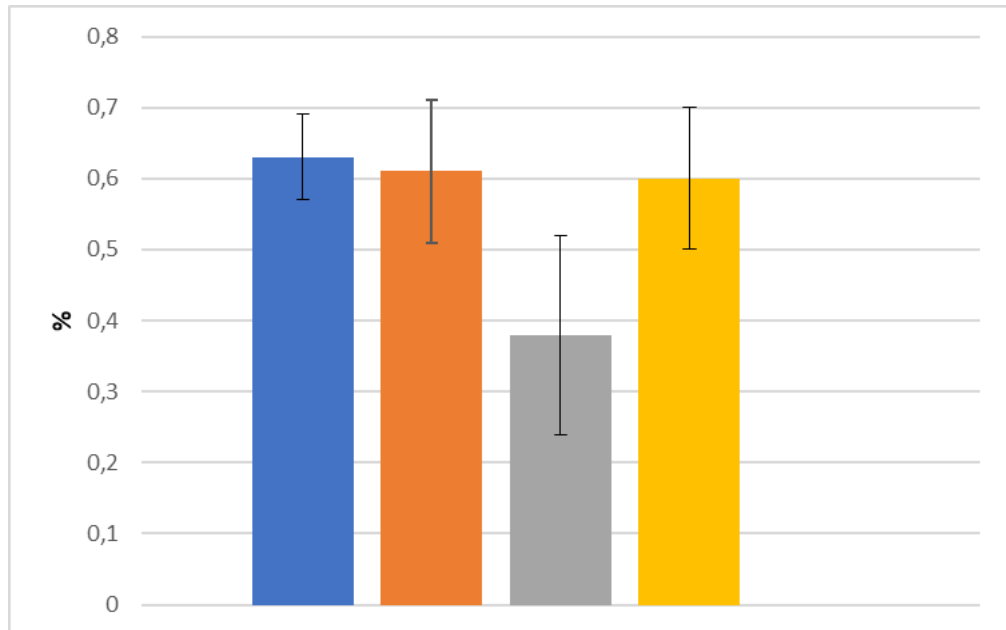


Рис. 3.16. Відносне видовження до руйнування зразка нижньощелепної кістки «хибно травмованих» тварин – стовпчик 1; за умов «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2; дозованого ушкодження нижньої щелепи – стовпчик 3; дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 4.

### 3.5. Патоморфологічна характеристика кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту

У тварин, які зазнавали дозоване ушкодження нижньої щелепи, на 14-ту добу посттравматичного періоду кістковий дефект був заповнений молодою сполучною і ретикулофіброзною кістковою тканиною, при цьому межа між краями дефекту і регенератом була виражена чітко. Місцями, по краю материнської кістки відмічалися явища резорбції. По периферії кісткового дефекту періодично зустрічалися нечисленні порожні остеочитарні лакуни (рис. 3.17).



Згідно з проведеними морфометричними дослідженнями 58% регенерату припадало на сполучну тканину і, відповідно, 42% - на ретикулофіброзну кісткову тканину.

Для сполучної тканини була характерна наявність помірної кількості клітинних елементів із переважанням зрілих фібробластів, що мали витягнуту, веретеноподібну форму, базофільну цитоплазму, світле, овальної форми ядро, з 1-2 ядрами (рис. 3.17).

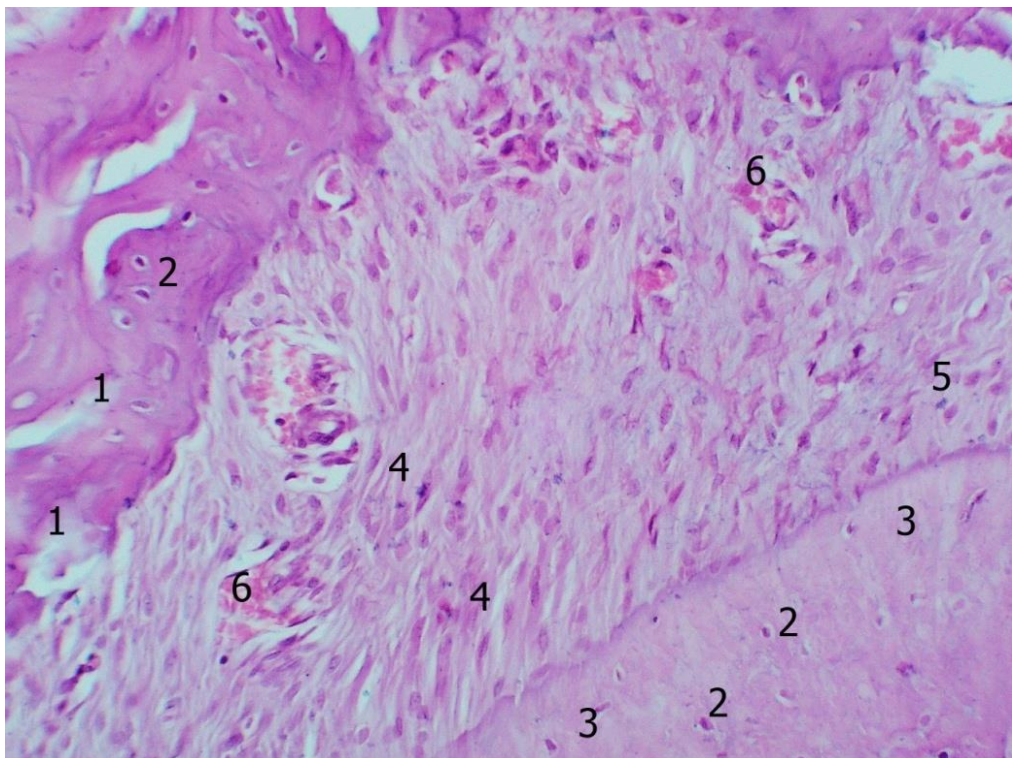


Рис. 3.17. Ділянка експериментального перелому на 14-ту добу посттравматичного періоду. Мікропрепарат. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об. 20×, ок. 10×. 1 – ділянки резорбції материнської кістки; 2 – остеоцити; 3 – новоутворена трабекула; 4 – зрілі фібробласти; 5 – малоспеціалізовані фібробласти; 6 – кровоносні судини.

Рідше зустрічалися малоспеціалізовані фібробласти, що мають овальну форму і відносно велике ядро, яке займає, зазвичай, більшу частину цитоплазми. Крім клітин фібробластичного ряду постійно

зустрічалися диференційовані макрофаги, лімфоцити і плазматичні клітини.

Макрофаги характеризувалися відносно великими розмірами, нерівними контурами цитоплазми, в якій розташовувалося ядро, яке займало, як правило, ексцентричне положення. Лімфоцити мали округлу форму і ядро, що займало практично всю цитоплазму. Плазматичні клітини в типових випадках мали витягнуту форму, відносно невеликі розміри, ексцентрично розташоване ядро з характерним розподілом гетерохроматину. Вкрай рідко, переважно в навколосудинних просторах, виявляли поодинокі нейтрофільні й еозинофільні поліморфноядерні лейкоцити (рис. 3.17, 3.18).

Серед кровоносних судин регенерату переважали капіляри синусоїдного типу, з широким просвітом, відносно тонкою стінкою, у складі якої чітко диференціювалися ендотеліоцити, які входять до складу внутрішньої оболонки, та перицити, які становлять клітинну основу зовнішньої оболонки.

Періодично зустрічалися тяжі витягнутих клітин з набряклими ядрами, які за морфологічними особливостями були подібні до ендотеліоцитів. Такі структури мали, як правило, видимий зв'язок із капілярами. Описані утворення, поряд із наявністю частково редукованих мікросудин, свідчили про незавершений ангиогенез у ділянці ранового дефекту. У той же час у ділянці регенерату досить часто виявляли кровоносні мікросудини з чітко вираженими морфологічними ознаками венул і артеріол (рис. 3.18).

Ретикулофіброзна кісткова тканина була представлена трабекулами, що формували крупнопетлисті сітчасті структури з наявністю остеобластів і остеоцитів.

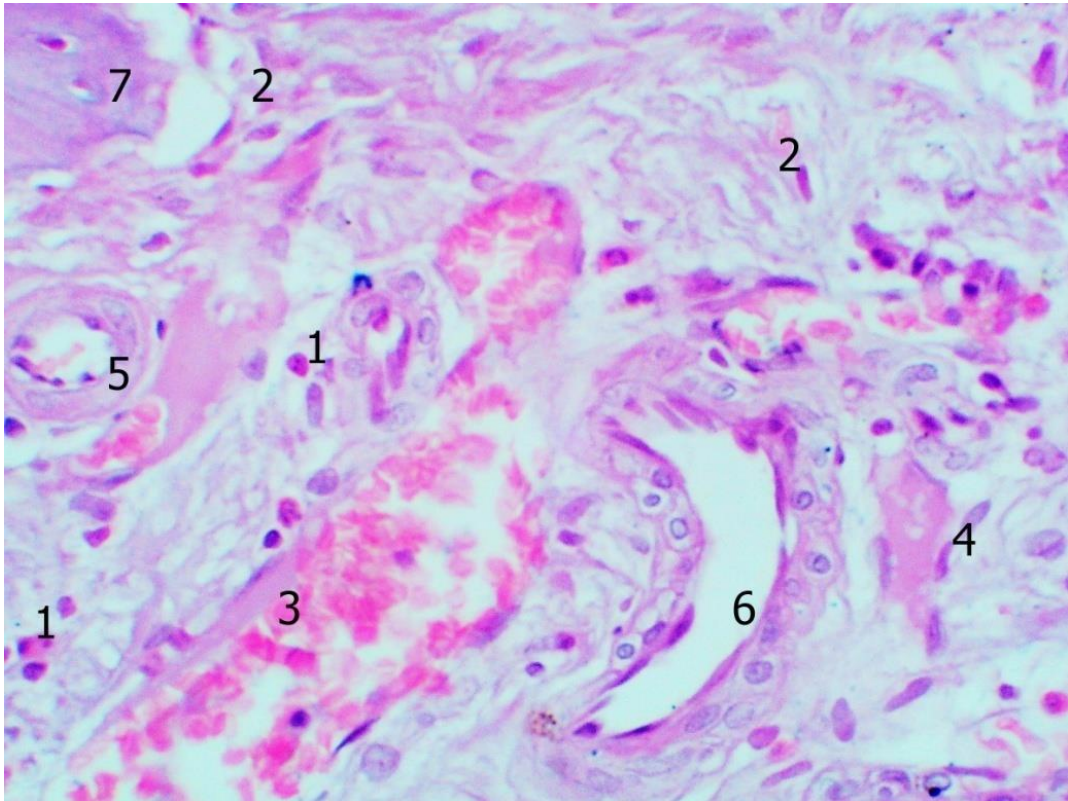


Рис. 3.18. Ділянка експериментального перелому на 14-ту добу посттравматичного періоду. Мікропрепарат. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об. 40×, ок. 10×. 1 – еозинофільні лейкоцити; 2 – фібробласти; 3 – кровоносний капіляр; 4 – клітинні тяжі; 5 – аттеріола; 6 – венула; 7 – новоутворена кісткова трабекула.

Новоутворені трабекули характеризувалися нерівномірним забарвленням, і в більшості випадків забарвлювалися менш інтенсивно порівняно з такими, що розташовувалися по периферії кісткового дефекту, що свідчить про незавершену мінералізацію новоутворених трабекул. Міжтрабекулярний простір був заповнений сполучною тканиною, аналогічною описаній вище.

Під час мікроскопічного дослідження області експериментального перелому у тварин з хронічною алкогольною інтоксикацією було виявлено молоду сполучну та ретикулофіброзну кісткову тканину.

Ділянка регенерату чітко відмежовувалася від материнської кістки. Морфометричний аналіз показав, що 65% об'єму регенерату становила сполучна тканина, а 35% – ретикулофіброзна кісткова тканина.

На відміну від тварин, що зазнавали дозоване ушкодження нижньої щелепи без відтворення адкогольної інтоксикації, сполучна тканина в ділянці регенерату характеризувалася більшим вмістом клітинних елементів, серед яких домінували клітини гематогенного походження. Популяція останніх була представлена переважно макрофагами, лімфоцитами, нейтрофільними й еозинофільними гранулоцитами.

Лейкоцити досить часто утворювали дрібновогнищеві скупчення, що виявлялися, переважно, в центральних зонах регенерату. У безпосередній близькості від кровоносних судин періодично спостерігалися мастоцити, окремі з яких були з явищами дегрануляції.

Серед клітин фібробластичного ряду значно частіше, ніж у контрольній групі, зустрічалися малоспеціалізовані фібробласти (рис. 3.19).

Новоутворені кровоносні мікросудини зустрічалися як у центральних відділах, так і по периферії регенерату. Кількість останніх була дещо більшою порівняно з контрольною групою.

Практично всі новоутворені мікросудини характеризувалися тонкою стінкою, відносно широким внутрішнім просвітом, у якому візуалізувалася помірна кількість формених елементів крові. Періодично зустрічалися кровоносні судини з явищами повнокров'я та крайовим стоянням лейкоцитів.

Досить часто навколо кровоносних судин спостерігалися «оптично порожні» кільцеподібні простори, що свідчать про наявність периваскулярного набряку.



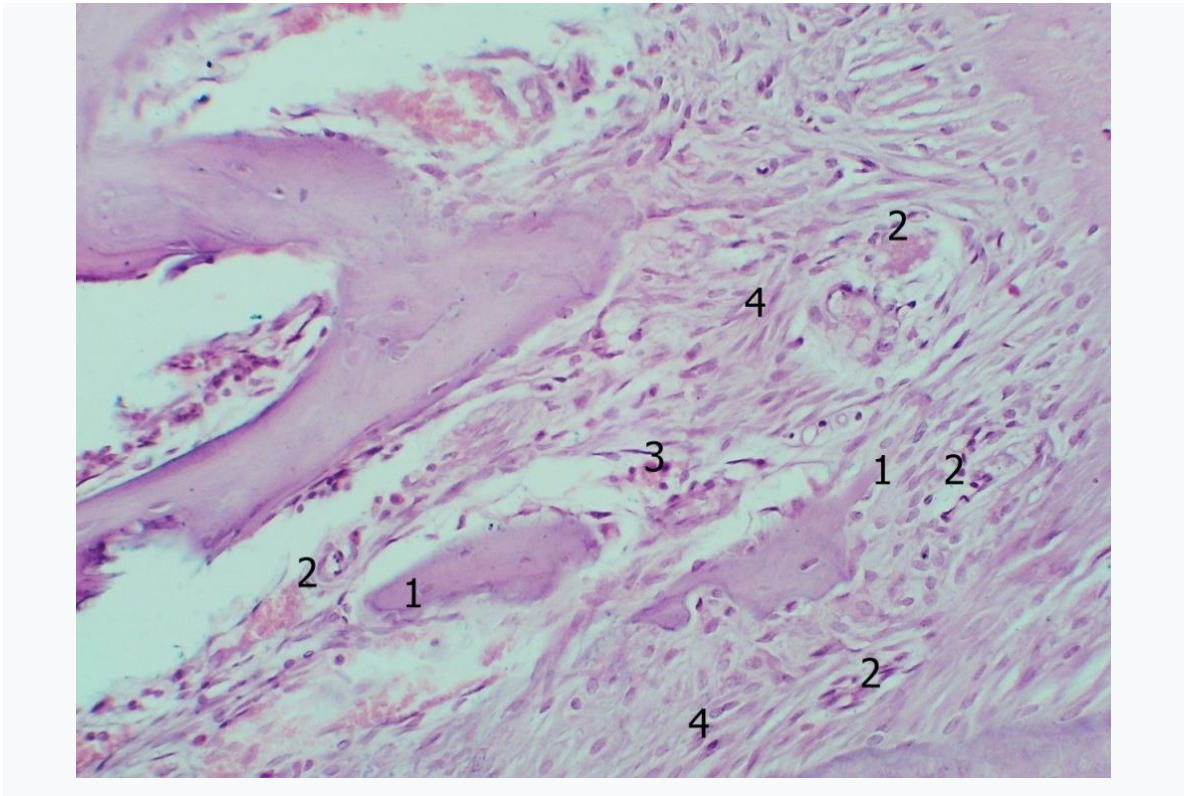


Рис. 3.19. Ділянка експериментального перелому у тварин із хронічною алкогольною інтоксикацією на 14-ту добу посттравматичного періоду. Мікропрепарат. Збарвлення гематоксиліном і еозином. Об. 20×, ок. 10×. 1 – новоутворені трабекули; 2 – кровоносні мікросудини; 3 – еозинофіли; 4 – малоспеціалізовані фібробласти.

Більшість описаних кровоносних мікросудин не мала достовірних морфологічних ознак, що дають змогу віднести їх до венозних або артеріальних сегментів кровоносного мікроциркуляторного русла.

Ретикулофіброзна кісткова тканина була представлена відносно тонкими трабекулами, що розташовувалися переважно ізольовано одна від одної. В окремих випадках кісткові трабекули, з'єднуючись, формували сітчасті структури. Новоутворені трабекули забарвлювалися менш інтенсивно порівняно з такими структурами материнської кістки. Періодично навколо новоутворених кісткових трабекул зустрічалися

«оптично порожні» зони, аналогічні описаним вище в навколосудинних просторах. Наявність останніх може свідчити про підвищену гідратацію інтерстицію в зонах остеогенезу.

**Висновок до п. 3.5:**

Хронічна алкогольна інтоксикація сприяє затримці репаративної регенерації кісткової тканини після дозованого ушкодження нижньої щелепи (модель її неповного перелому), що супроводжується зменшенням у ділянці ураження відносної кількості ретикулофіброзної кісткової тканини та клітинних елементів фібробластичного ряду, особливо зрілих фібробластів, а також затримкою дозрівання грануляційної тканини.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях [42, 43, 44] і тезах [36, 45].

**РОЗДІЛ 4**

**ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ФАКТОРІВ NF-κB  
І Nrf2 НА МЕТАБОЛІЧНІ, БІОМЕХАНІЧНІ ТА  
ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ КІСТОК НИЖНЬОЇ  
ЩЕЛЕПИ ЩУРІВ У ПОСТТРАВМАТИЧНОМУ ПЕРІОДІ ПІСЛЯ  
ЇХ ДОЗОВАНОГО УШКОДЖЕННЯ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ  
АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ**

**4.1. Вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 на біохімічні маркери ремоделювання та репаративної регенерації кісткової тканини за умов експерименту**

Досліджували вплив специфічного інгібітора активації NF-κB піролідиндитіокарбамату амонію та індуктора Nrf2 диметилфумарату, а також природного модулятора цих транскрипційних факторів флавоноїду кверцетину на активність у сироватці крові ферменту-маркера формування кісток лужної фосфатази (рис. 4.1).

При застосуванні піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату на 14-ту добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації активність лужної фосфатази у сироватці крові становила  $375,7 \pm 21,8$  і  $372,8 \pm 28,6$  од. акт. відповідно. При введенні кверцетину значення цього показника становило  $389,2 \pm 17,5$ . Вірогідних відмінностей одержаних результатів від значення 4-ї групи тварин не виявлено.

Призначення піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату зменшувало на 14-ту добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації активність ферменту-маркера резорбції кісток кислої фосфатази (рис. 4.2) до  $16,3 \pm 0,9$  і  $17,4 \pm 1,1$  од. акт. відповідно.

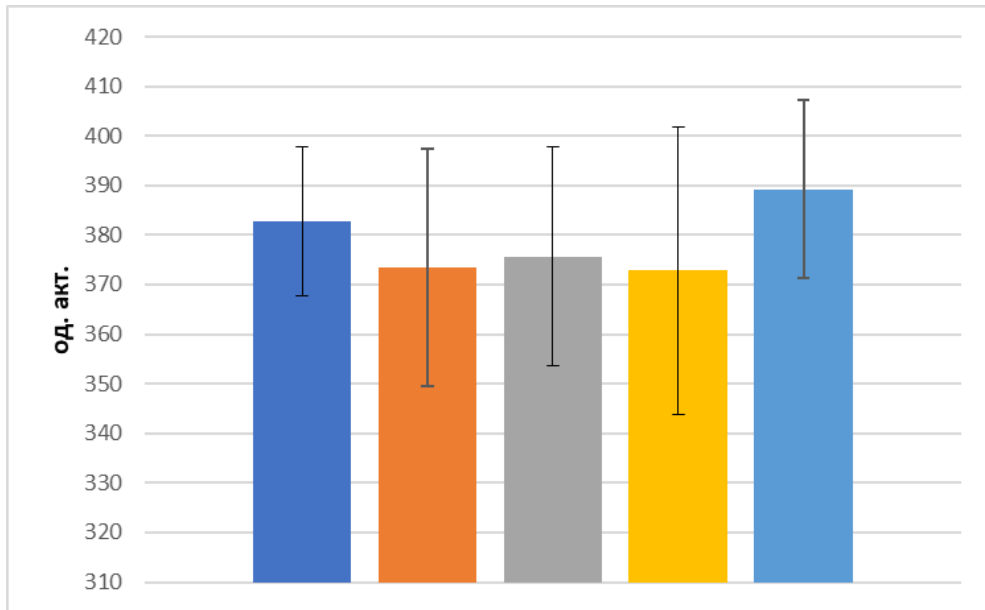


Рис. 4.1. Активність лужної фосфатази у сироватці крові «хибнотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2, введення за цих умов піролідидитіокарбамату амонію – стовпчик 3, диметилфумарату – стовпчик 4, кверцетину – стовпчик 5.

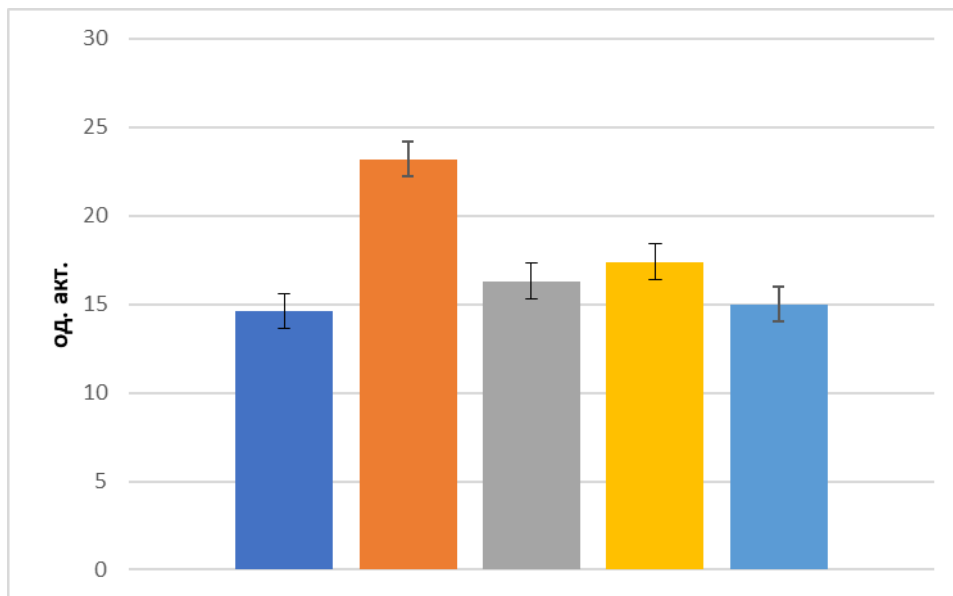


Рис. 4.2. Активність кислої фосфатази у сироватці крові «хибнотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2, введення за цих умов піролідидитіокарбамату амонію – стовпчик 3, диметилфумарату – стовпчик 4, кверцетину – стовпчик 5.



Ці значення на 29,7 і 25,0% (обидва значення на рівні  $P < 0,01$ ) були меншими за відповідні результати 4-ї групи.

Введення кверцетину за умов експерименту також вірогідно зменшувало активність кислої фосфатази (до  $15,0 \pm 0,8$  од. акт.), що на 35,3% ( $P < 0,001$ ) було меншим порівняно зі значенням 4-ї групи.

При застосуванні піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату активність іншого ферменту-маркера резорбції кісток кісткової (тарtratрезистентної) ізоформи кислої фосфатази (рис. 4.3) на 14-ту добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації становила  $8,8 \pm 0,9$  і  $9,5 \pm 0,9$  од. акт. відповідно.

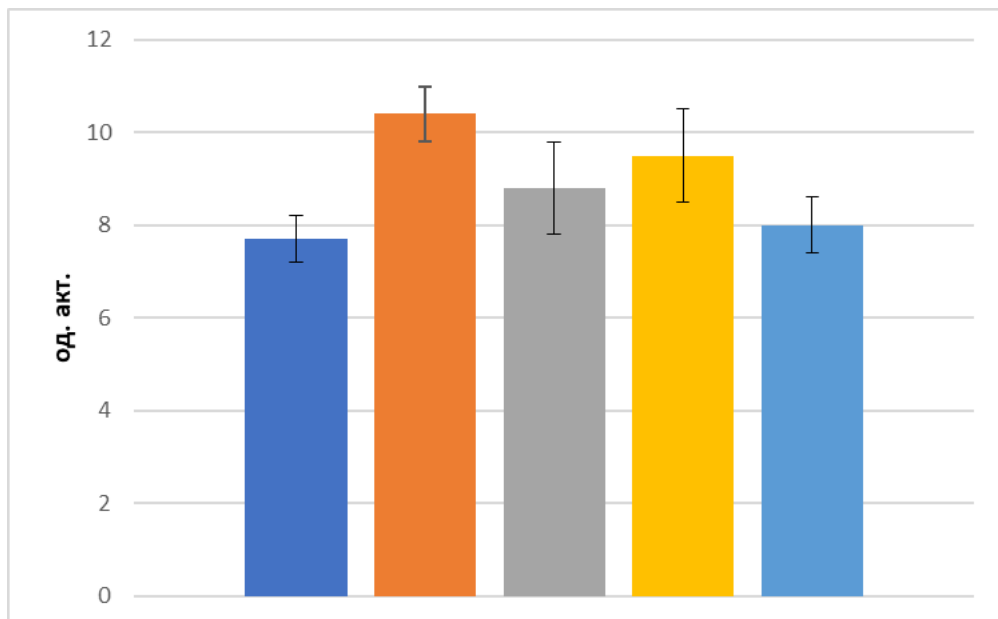


Рис. 4.3. Активність кісткової (тарtratрезистентної) ізоформи кислої фосфатази у сироватці крові «хибноотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2, введення за цих умов піролідиндитіокарбамату амонію – стовпчик 3, диметилфумарату – стовпчик 4, кверцетину – стовпчик 5.

Ці значення вірогідно не відрізнялися від відповідних результатів 4-ї групи.

Водночас введення кверцетину за умов експерименту зменшувало активність тартратрезистентної ізоформи кислої фосфатази на 23,1% ( $P < 0,05$ ) відповідно порівняно з результатами 4-ї групи.

#### **Висновки до п. 4.1:**

1. Застосування специфічних і природних модуляторів транскрипційних факторів NF- $\kappa$ B та Nrf2 (піролідіндитіокарбамату амонію, диметилфумарату та кверцетину) суттєво не впливає на активність у сироватці крові ферменту-маркера формування кісток лужної фосфатази на 14 добу посттравматичного періоду після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації.

2. Призначення специфічних модуляторів транскрипційних факторів NF- $\kappa$ B та Nrf2 (піролідіндитіокарбамату амонію та диметилфумарату) вірогідно зменшує активність у сироватці крові ферменту-маркера резорбції кісток кислої фосфатази на 14 добу посттравматичного періоду після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації.

3. Введення природного модулятора транскрипційних факторів NF- $\kappa$ B та Nrf2 флавоноїду кверцетину істотно зменшує активність у сироватці крові ферментів-маркерів резорбції кісток кислої фосфатази та її кісткової (тартратрезистентної) ізоформи на 14 добу посттравматичного періоду після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації.

#### 4.2. Вплив модуляторів транскрипційних факторів NF- $\kappa$ B та Nrf2 на показники нітродергічної системи у гомогенаті кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту

Призначення піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату зменшувало на 14-ту добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації загальну активність NOS у гомогенаті піднижньощелепної кістки (рис. 4.4) до  $3,83 \pm 0,27$  і  $3,83 \pm 0,32$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ . Обидва ці значення на 40,0% ( $P < 0,001$ ) були меншими за відповідні результати 4-ї групи.

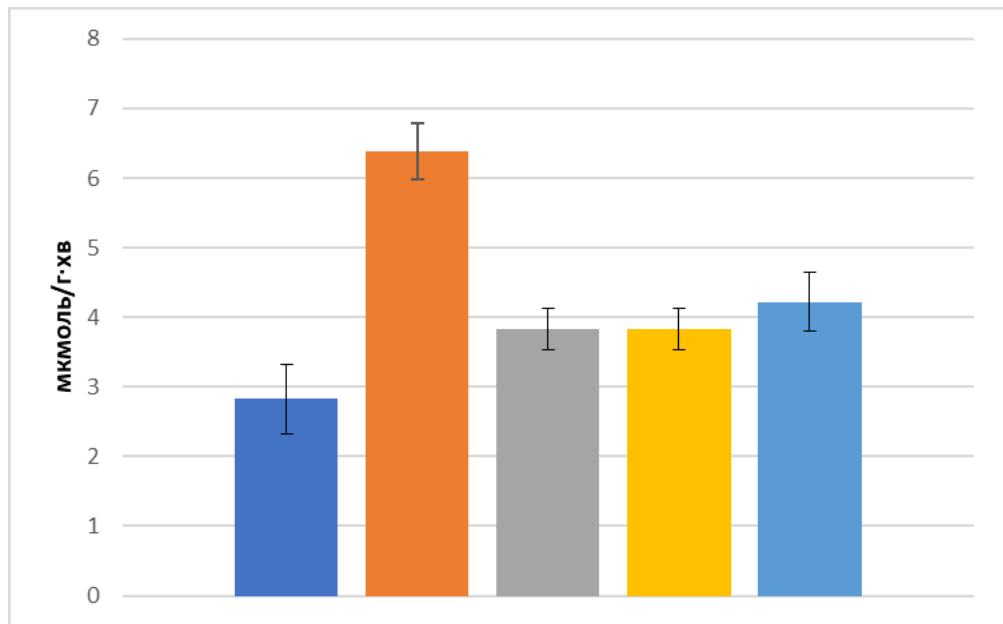


Рис. 4.4. Загальна активність NOS у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибно травмованих» тварин – стовпчик 1; за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2, введення за цих умов піролідиндитіокарбамату амонію – стовпчик 3, диметилфумарату – стовпчик 4, кверцетину – стовпчик 5.

Введення кверцетину за умов експерименту також знижувало загальну активність NOS у гомогенаті піднижньощелепної кістки – до  $4,22 \pm 0,43$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ , що на 33,9% ( $P < 0,01$ ) було меншим за значення 4-ї групи.

При застосуванні піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату на 14-ту добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації активність cNOS у гомогенаті нижньощелепної кістки (рис. 4.5) становила  $0,31 \pm 0,06$  і  $0,38 \pm 0,11$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$  відповідно.

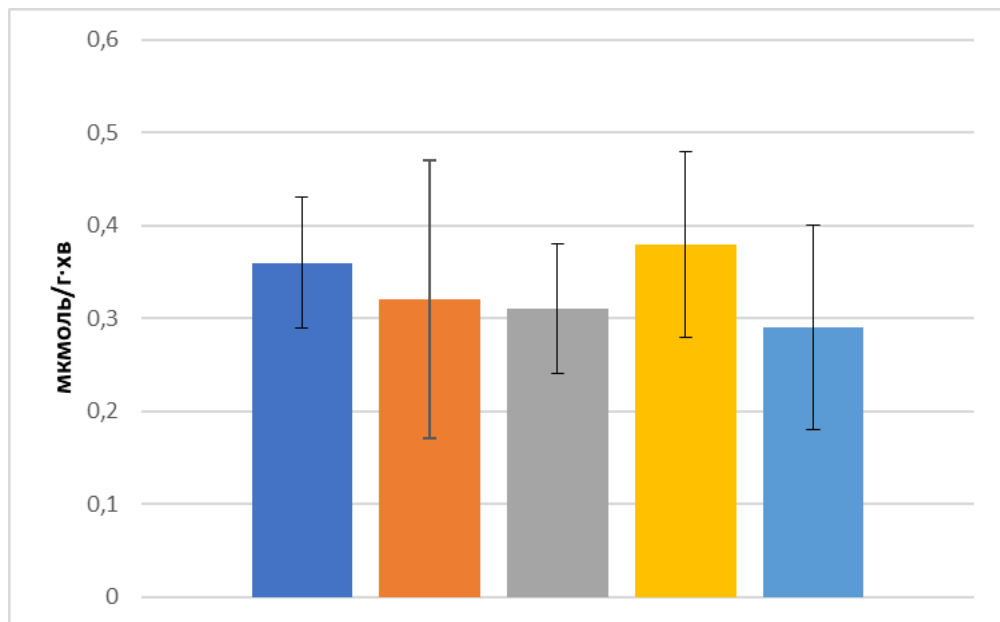


Рис. 4.5. Активність cNOS у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибно травмованих» тварин – стовпчик 1; за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2, введення за цих умов піролідиндитіокарбамату амонію – стовпчик 3, диметилфумарату – стовпчик 4, кверцетину – стовпчик 5.

При введенні кверцетину значення цього показника становило  $0,29 \pm 0,11$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ . Вірогідних відмінностей одержаних результатів від значення 4-ї групи тварин не виявлено.

Призначення піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату зменшувало на 14-ту добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації активність iNOS у гомогенаті піднижньощелепної кістки (рис. 4.6) до  $3,52 \pm 0,21$  і  $3,44 \pm 0,23$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ . Ці значення на 41,8 і 43,1% (обидва на рівні  $P < 0,001$ ) були меншими за відповідні результати 4-ї групи.

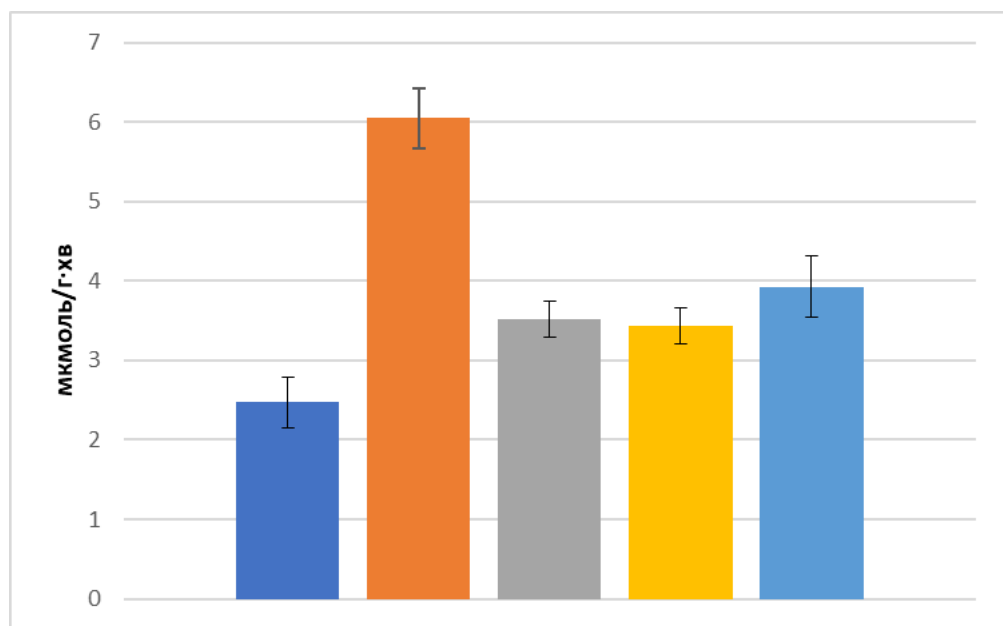


Рис. 4.6. Активність iNOS у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибнотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2, введення за цих умов піролідиндитіокарбамату амонію – стовпчик 3, диметилфумарату – стовпчик 4, кверцетину – стовпчик 5.

Застосування кверцетину за умов експерименту також знижувало активність iNOS у гомогенаті піднижньощелепної кістки – до  $3,93 \pm 0,39$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ , що на 35,0% ( $P < 0,01$ ) було меншим за значення 4-ї групи.

Активність орнітиндекарбоксилази, що конкурує з NOS за субстрат, при введенні піролідіндитіокарбамату амонію та диметилфумарату (рис. 4.7) збільшувалася на 14-ту добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації до  $289,0 \pm 3,0$  і  $287,5 \pm 2,8$  нмоль/г·хв. Ці значення на 11,4 і 10,9% відповідно (обидва на рівні  $P < 0.001$ ) перевищували результати 4-ї групи.

Призначення кверцетину за умов експерименту також підвищувало активність орнітиндекарбоксилази у гомогенаті піднижньощелепної кістки – до  $293,2 \pm 4,01$  нмоль/г·хв, що на 13,1% ( $P < 0,001$ ) було більшим за значення 4-ї групи.

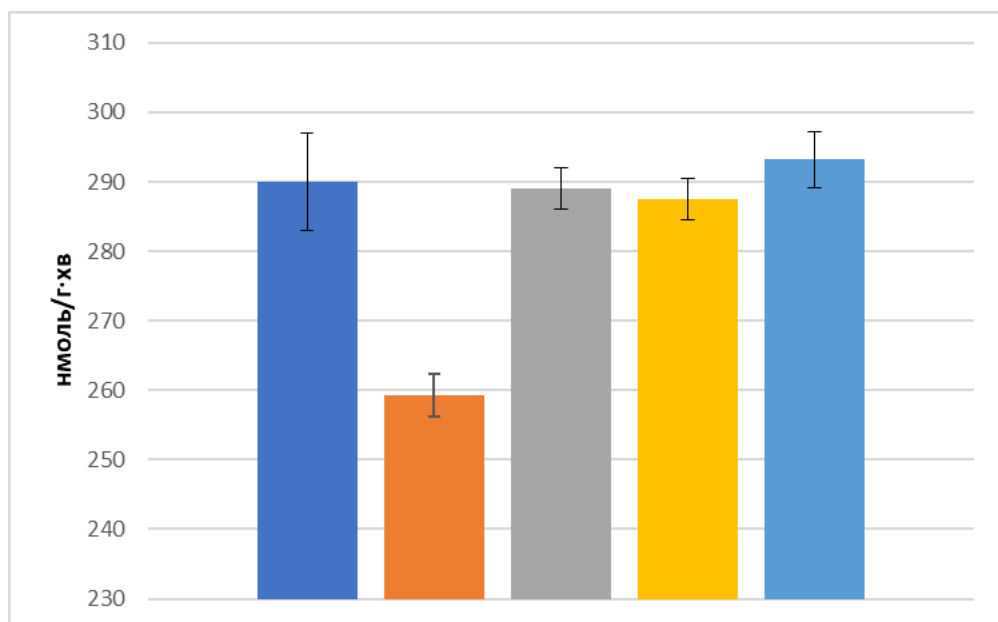


Рис. 4.7. Активність орнітиндекарбоксилази у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибнотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2, введення за цих умов піролідіндитіокарбамату амонію – стовпчик 3, диметилфумарату – стовпчик 4, кверцетину – стовпчик 5.

Специфічні модулятори транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 піролідиндитіокарбамат амонію та диметилфумарат зменшували вміст пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у гомогенаті нижньощелепної кістки (рис. 4.8) до  $0,77\pm 0,11$  і  $0,74\pm 0,13$  мкмоль/г. Ці значення на 42,5% ( $P<0,001$ ) і 44,8% ( $P<0,01$ ) були меншими за відповідні результати 4-ї групи.

Застосування кверцетину за умов експерименту також знижувало концентрацію пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у гомогенаті нижньощелепної кістки – до  $0,67\pm 0,10$  мкмоль/г, що вдвічі ( $P<0,001$ ) було меншим за значення 4-ї групи.

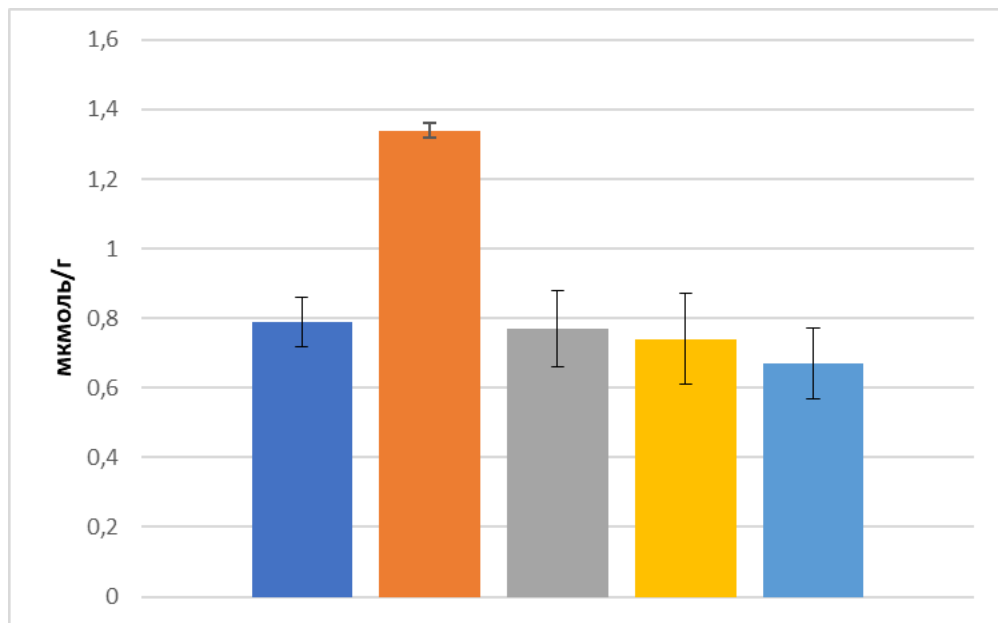


Рис. 4.8. Концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибно травмованих» тварин – стовпчик 1; за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2, введення за цих умов піролідиндитіокарбамату амонію – стовпчик 3, диметилфумарату – стовпчик 4, кверцетину – стовпчик 5.

### **Висновки до п. 4.2:**

1. Стан нітроксидергічної системи кісток нижньої щелепи щурів на 14 добу посттравматичного періоду після моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації залежить від функціональної активності транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2.

2. Призначення протягом 14 діб після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації специфічних модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 (піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату) істотно зменшує у гомогенаті нижньощелепної кістки активність NO-синтази (за рахунок її індукцйбельної ізоформи) та концентрацію пероксинітритів, підвищує активність ключового ферменту біосинтезу поліамінів – орнітиндекарбоксилази.

3. Введення природного модулятора транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 кверцетину протягом 14 діб після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації вірогідно обмежує у гомогенаті нижньощелепної кістки активність NO-синтази (за рахунок її індукцйбельної ізоформи) та концентрацію пероксинітритів, підвищує активність орнітиндекарбоксилази.

### **4.3. Вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 на показники деполімеризації біополімерів позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту**

Призначення піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату зменшувало на 14-ту добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації



вміст маркера колагенолізу вільного оксипроліну в гомогенаті піднижньощелепної кістки (рис. 4.9) до  $3,51 \pm 0,14$  і  $3,66 \pm 0,12$  мкмоль/г. Ці значення на 21,3 і 17,9% (обидва на рівні  $P < 0,001$ ) були меншими за відповідні результати 4-ї групи.

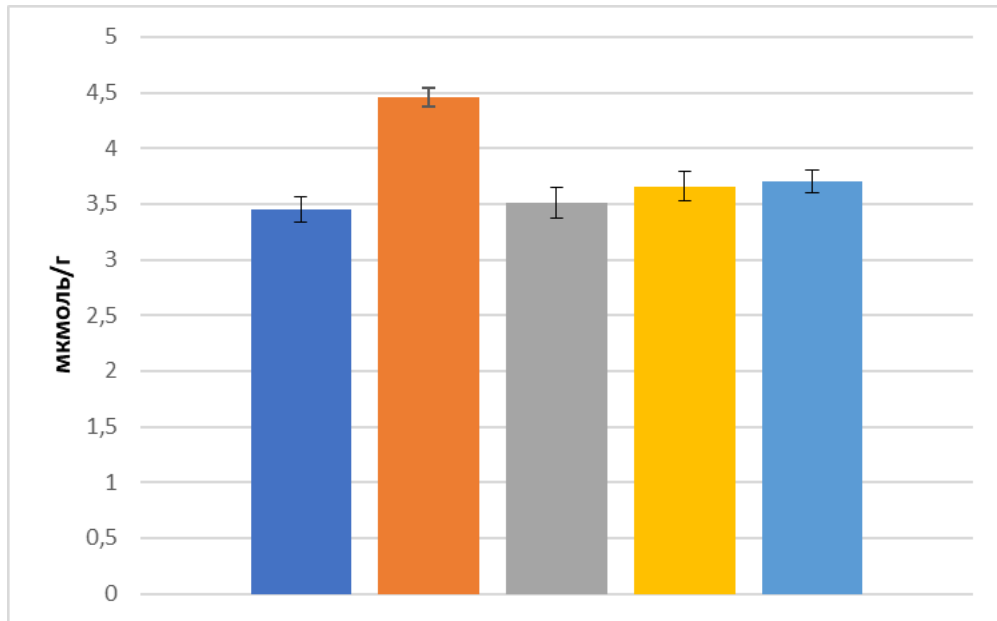


Рис. 4.9. Концентрація вільного оксипроліну в гомогенаті нижньощелепної кістки «хибнотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2, введення за цих умов піролідиндитіокарбамату амонію – стовпчик 3, диметилфумарату – стовпчик 4, кверцетину – стовпчик 5.

Введення кверцетину за умов експерименту також знижувало концентрацію вільного оксипроліну в гомогенаті нижньощелепної кістки – до  $3,70 \pm 0,08$  мкмоль /г, що на 17,0 % ( $P < 0,001$ ) було меншим за значення 4-ї групи.

Застосування піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату знижувало на 14-ту добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації

вміст маркера деполімеризації протеогліканів гексуронових кислот у гомогенаті піднижньощелепної кістки (рис. 4.10) до  $2,02 \pm 0,16$  і  $2,12 \pm 0,20$  мкмоль/г. Ці значення на 34,2% ( $P < 0,001$ ) і 30,9% ( $P < 0,001$ ) були меншими щодо результатів 4-ї групи.

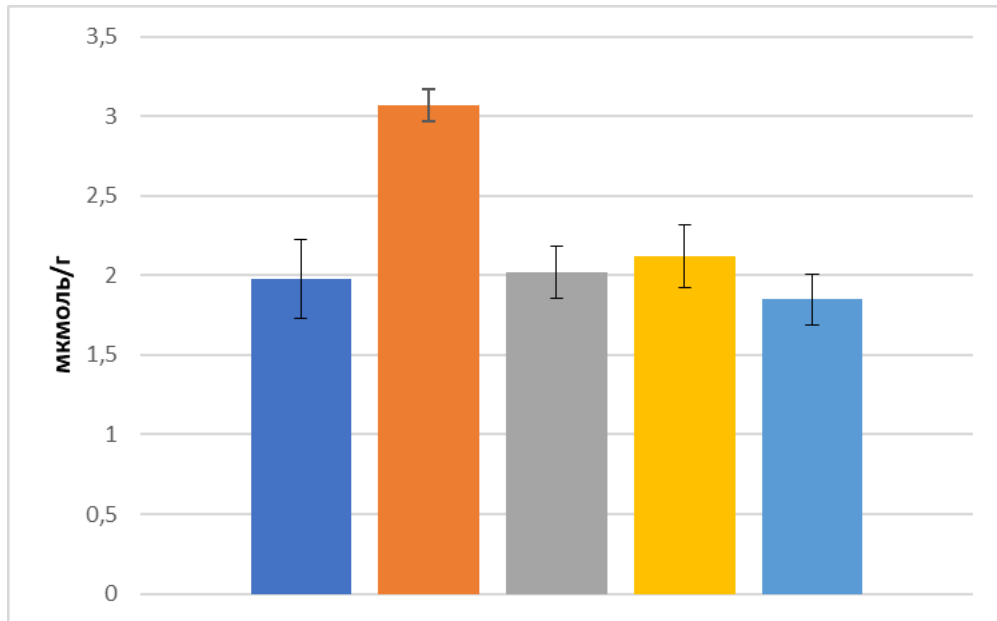


Рис. 4.10. Концентрація гексуронових кислот у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибнотравмованих» тварин – стовпчик 1; за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2, введення за цих умов піролідиндитіокарбамату амонію – стовпчик 3, диметилфумарату – стовпчик 4, кверцетину – стовпчик 5.

Кверцетин за умов експерименту також був здатний зменшувати концентрацію гексуронових кислот у гомогенаті нижньощелепної кістки – до  $1,85 \pm 0,16$  мкмоль/г, що на 30,6% ( $P < 0,001$ ) було меншим порівняно зі значенням 4-ї групи.

Призначення піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату зменшувало на 14-ту добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації

вміст маркера деполімеризації сіалоглікопротеїнів N-ацетилнейрамінової кислоти в гомогенаті піднижньощелепної кістки (рис. 4.11) до  $1,79 \pm 0,10$  і  $1,85 \pm 0,11$  мкмоль/г. Ці значення на 45,1 і 43,3% (обидва на рівні  $P < 0,001$ ) були меншими за відповідні результати 4-ї групи.

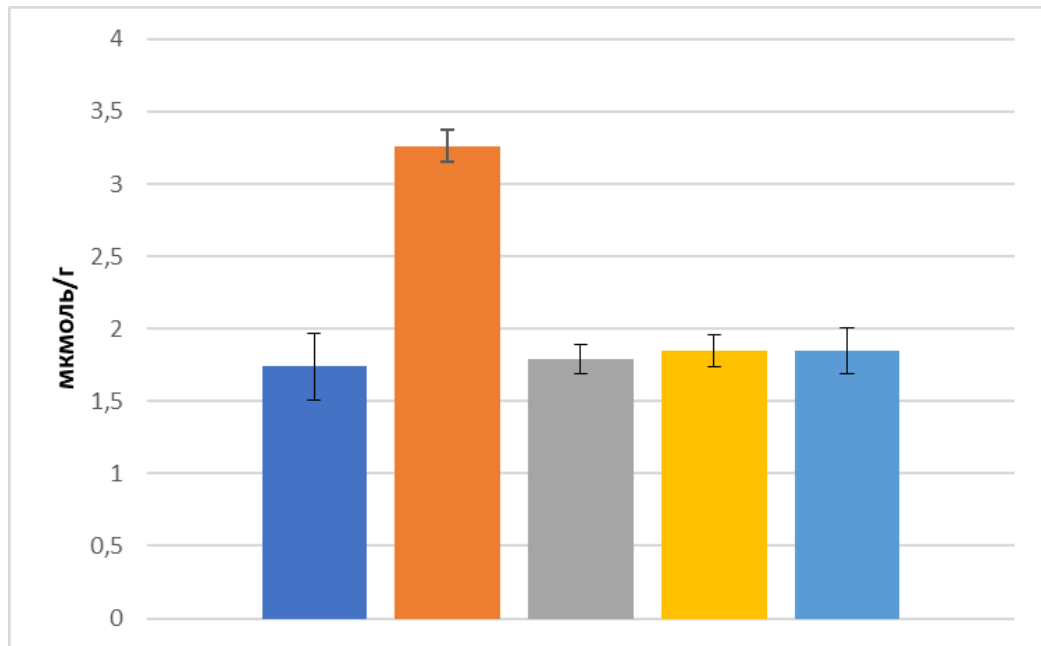


Рис. 4.11. Концентрація N-ацетилнейрамінової кислоти у гомогенаті нижньощелепної кістки «хибно травмованих» тварин – стовпчик 1; за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації – стовпчик 2, введення за цих умов піролідиндитіокарбамату амонію – стовпчик 3, диметилфумарату – стовпчик 4, кверцетину – стовпчик 5.

Введення кверцетину за умов експерименту також знижувало концентрацію вільного оксипроліну в гомогенаті нижньощелепної кістки – до  $1,85 \pm 0,16$  мкмоль /г, що на 43,3% ( $P < 0,001$ ) було меншим за значення 4-ї групи.

### **Висновки до п. 4.3:**

1. Процеси деполімеризації колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи щурів на 14 добу посттравматичного періоду після моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації залежать від функціональної активності транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2.

2. Призначення протягом 14 діб після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації специфічних модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 (піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату) істотно обмежує деполімеризацію біополімерів кісткової тканини (колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів), що забезпечує ефективний репаративний остеогенез.

3. Введення природного модулятора транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 кверцетину протягом 14 діб після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації також вірогідно гальмує деполімеризацію біополімерів кісткової тканини (колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів).

### **4.4. Вплив біофлавоноїду кверцетину на тензометричні характеристики кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту**

Застосування кверцетину після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації значно покращувало біомеханічні властивості кісток у зоні перелому (табл. 4.1). Модуль Юнга був на 72,3% ( $P < 0,001$ ) вищим за значення 4-ї групи. Межа пружності перевищувала результати цієї групи на 53,2% ( $P < 0,01$ ), межа

міцності – на 59,6% ( $P<0,01$ ), а відносно видовження до руйнування – на 30,0% ( $P<0,05$ ).

Таблиця 4.1

**Вплив кверцетину на тензометричні характеристики  
нижньощелепних кісток щурів після їх дозованого ушкодження  
(модель неповного перелому) за умов хронічної алкогольної  
інтоксикації ( $M\pm m$ )**

Умови досліджу	Модуль Юнга, МПа	Межа пружності, МПа	Межа міцності, МПа	Відносне видовження до руйнування, %
1	2	3	4	5
«Хибнотравмовані» тварини	589,6±4,8	26,3±6,0	27,4±4,0	0,63±0,03
Дозоване ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації	225,4±1,1 *	12,6±1,3	13,6±1,5 *	0,60±0,06

Продовження табл. 4.1

1	2	3	4	5
Введення кверцетину після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації	388,3±1,4 *,**	19,3±0,4 **	21,7±0,9 **	0,78±0,04 **

Примітка: \* P<0,05 порівняно зі значеннями 1-ї групи контролю;  
\*\* P<0,05 порівняно зі значеннями 4-ї групи

**Висновок до п. 4.4:** введення кверцетину за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації суттєво покращує на 14 добу посттравматичного періоду біомеханічні властивості нижньощелепної кістки у ділянці перелому, збільшує її пружність і міцність.

#### **4.5. Вплив біофлавоноїду кверцетину на патоморфологічну характеристику кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту**

У тварин, яким вводили кверцетин, у ділянці експериментального перелому під час мікроскопічного вивчення гістологічних препаратів визначали ретикулофіброзну і молоду сполучну тканину з переважанням у кількісному відношенні останньої. Згідно з проведеним морфометричним дослідженням 60% об'єму регенерату припадало на

сполучну тканину і, відповідно 40% на ретикулофіброзну кісткову тканину. Як і в групі порівняння, що не одержувала кверцетин, межа між краями дефекту і регенератом була виражена чітко.

Сполучна тканина регенерату характеризувалася помірною кількістю клітинних елементів, з деяким переважанням клітин фібробластичного ряду. Серед останніх зустрічалися як зрілі, так і малоспеціалізовані фібробласти. Більшість зрілих фібробластів мала тенденцію до впорядкованого розташування паралельними рядами, формуючи тяжисті структури. Досить часто безпосередньо в сполучній тканині та навколо кровоносних мікросудин візуалізувалися великі зони набряку (рис. 4.12).

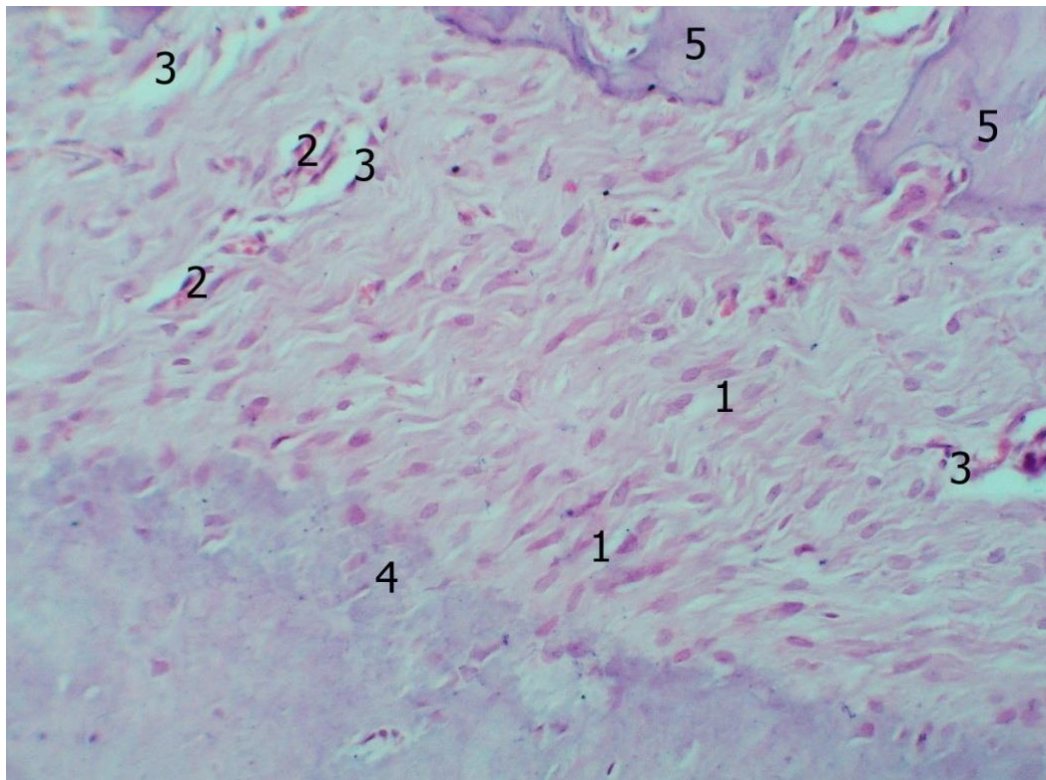


Рис. 4.12. Ділянка експериментального перелому у тварин з хронічною алкогольною інтоксикацією та корекцією кверцетином. Мікропрепарат. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об. 20×, ок.10×. 1 – зрілі фібробласти; 2 – кровоносні мікросудини; 3 – прояви набряку; 4 – ретикулофіброзна тканина; 5 – материнська кістка.

Серед клітинних елементів гематогенного походження переважали макрофаги, лімфоцити, плазматичні клітини. Рідше зустрічалися нейтрофільні та еозинофільні гранулоцити, які розташовувалися переважно поодиноці, рідше дрібними групами. Як і в попередній експериментальній групі, в навколосудинних просторах періодично, в незначних кількостях зустрічалися мастоцити, окремі з яких були з явищами дегрануляції.

Судинна мережа регенерату була представлена переважно капілярами синусоїдного типу. Більшість із них містили помірну кількість формених елементів крові, дещо рідше мали місце явища помірного повнокров'я. Виявлення кровоносних судин з ознаками недокрів'я реєструвалося в окремих випадках. Зрідка в регенераті зустрічалися мікросудини, що формуються, і частково редуковані капіляри, що свідчить про триваюче формування кровоносного мікроциркуляторного русла. Поряд із капілярами синусоїдного типу і мікросудинами, що формуються, періодично зустрічалися сформовані венули й артеріоли.

Для ретикулофіброзної тканини у тварин експериментальної групи були характерні чітко сформовані, сполучені між собою трабекули, в яких розташовувалися остеобласти й остецити на різних стадіях диференціювання. Більшість новоутворених трабекул характеризувалися менш інтенсивним забарвленням порівняно з материнською кістковою тканиною (див. рис. 4.12).

**Висновок до п. 4.5:** введення кверцетину за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації достатньою мірою сприяє на 14 добу посттравматичного періоду покращенню процесу репаративної регенерації, що супроводжується



збільшенням відносної кількості ретикулофіброзної кісткової тканини, переважанням у грануляційній тканині клітин фібробластичного ряду, прискоренням формування кровоносного мікроциркуляторного русла регенерата.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях [42, 44, 46] і тезах [35].

## РОЗДІЛ 5

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Переломи нижньої щелепи є одними з найпоширеніших травм лицевого скелету, які часто зустрічаються внаслідок фізичної агресії, дорожньо-транспортних пригод та падінь [4, 48, 56, 65, 167, 168]. Найчастішим ускладненням цієї травми, як показано нашими попередніми дослідженнями, є затримка консолідації перелому [40, 41, 47, 149, 150]. У осіб, що зловживають алкоголем, часто спостерігається не тільки затримка, але і відсутність зрощення переломів [107, 151, 203, 219]. Це пов'язано із зниженням активності остеобластів, а також погіршенням кровопостачання в зоні перелому. Недостатня консолідація може призвести до необхідності проведення повторних хірургічних втручань. Окрім того, особи з алкогольною залежністю мають ослаблений імунний статус, що збільшує ризик інфікування в місці перелому. Інфекції можуть варіюватися від поверхневих ранових інфекцій до глибоких абсцесів та остеомієліту [201]. Лікування таких ускладнень потребує більш тривалої антибактеріальної терапії та може вимагати хірургічного втручання. Посттравматичний період також ускладнюється через порушення згортання крові, ризик розвитку абстинентного синдрому та інших соматичних ускладнень.

Посттравматична регенерація кісток є складним процесом, який відбувається після перелому або іншої травми кісток. Цей процес вимагає взаємодії різних клітинних та молекулярних механізмів для ефективного відновлення кісткової структури. Проте, дослідження показують, що споживання EtOH може негативно впливати на ці механізми, призводячи до затримки або ускладнення процесу регенерації кісток.

Найбільш авторитетне класичне керівництво з загальної патології «Основи патології за Роббінсом і Кумаром» (2024) пропонує таке визначення перелому кісток: «Переломом називають порушення цілості кістки внаслідок неадекватного механічного навантаження чи / та зниженої міцності кісток» [37]. Підручник «Sabiston Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practice» (2021) визначає перелом як «часткове або повне порушення цілісності кістки, яке спричинює вплив на неї механічної сили: насильно або в результаті падіння, удару, а також внаслідок патологічного процесу, пухлини, запалення» [93], Official CPC Certification Study Guide (American Medical Association, 2013) як «медичний стан, при якому відбувається часткове або повне порушення безперервності будь-якої кістки в організмі» [63], а інтернет-ресурс Johns Hopkins School of Medicine (2024) як «часткове або повне руйнування кістки» [113].

Таким чином, дозоване ушкодження нижньої щелепи може вважатися адекватною моделлю її неповного перелому, оскільки відтворює часткове порушення цілісності кістки через вплив механічної сили. Раніше цей різновид моделі перелому нижньої щелепи використовували інші дослідники [2, 3, 10, 11, 14-17, 22, 38, 55]. При цьому найбільш оптимальним засобом дозування ушкодження вважається створення у кістці повного або неповного перфоративного отвору за допомогою сепарувального диску, титанового бора (за допомогою фізіодіспенсера) або свердла певного діаметра [10, 22, 38].

Сучасні наукові дослідження переконливо показують, що EtOH має негативний вплив на механізми посттравматичної регенерації кісток. Він може сповільнювати клітинні процеси, знижувати вироблення необхідних молекул та погіршувати кровопостачання до місця ушкодження. Ці впливи EtOH можуть призводити до затримки загоєння

кістки, нестабільного зцілення перелому та інших ускладнень [69, 85, 169].

Проте, за нашими даними, на 14-му добу після «хибного травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації або дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації вірогідних змін маркера формування кісток (активності лужної фосфатази у сироватці крові) та концентрації загального кальцію у плазмі крові не виявлялося. «Хибне травмування» на тлі хронічної алкогольної інтоксикації не викликало на 14-му добу посттравматичного періоду суттєвих змін активності ферментів-маркерів резорбції кісток у сироватці крові – кислої фосфатази та її кісткової (тарtratрезистентної) ізоформи. Водночас дозоване ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації супроводжується вірогідним збільшенням активності ферментів-маркерів резорбції кісток у сироватці крові – кислої фосфатази та її кісткової (тарtratрезистентної) ізоформи.

Раніше було встановлено, що вживання EtOH дорослими самцями щурів призводить до порушення трабекулярної структури кісткової тканини внаслідок посиленої резорбції кістки [82]. Виявлення того факту, що одночасне застосування ризедронату (піридинілового бісфосфонату, який зв'язується з гідроксиапатитом кісткової тканини та пригнічує опосередковану остеобластами резорбцію кісткової тканини) усуває ці порушення, підтверджує гіпотезу про значну роль кісткової резорбції у втраті кісткової тканини, спричиненій впливом EtOH.

Відомо, що процес репаративної регенерації кісткової тканини проходить через кілька послідовних стадій, таких як запалення, репарація та ремоделювання [125], перебіг яких може бути порушений утворенням активних форм кисню та нітрогену [16, 28].

Раніше було доведено, що хронічна алкогольна інтоксикація, особливо в поєднанні з факторами системної запальної відповіді, сприяє

розвитку оксидативно-нітрозативного стресу [32, 123]. Крім того, цей клітинний стрес призводить до активації остеокластів і пригнічення остеобластної активності, що в результаті порушує баланс між резорбцією і формуванням кісткової тканини [98].

Наші дані підтверджують, що відтворення хронічної алкогольної інтоксикації значно підвищує загальну та індукцибельну активність NOS, що супроводжується збільшенням утворення високотоксичного маркера нітрозативного стресу — пероксинітриту. У випадках відтворення перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації активність NOS та вміст пероксинітритів лужних і лужно-земельних металів у гомогенаті кісткової тканини суттєво перевищують показники груп із окремим впливом цих патогенних чинників. У таких умовах значно пригнічується активність орнітиндекарбоксилази – одного з ключових ферментів неокисного (аргіназного) шляху обміну L-аргініну, що конкурує з NOS за субстрат [165]. Це закономірно обмежує синтез поліамінів, що регулюють біосинтез білка та клітинну проліферацію [74].

Також хронічний вплив EtOH знижує експресію генів, відповідальних за синтез колагену та інших компонентів матриксу кісткової тканини, що додатково ускладнює процес регенерації [82].

Дійсно, за нашими даними, на 14-ту добу після відтворення перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації спостерігається значне збільшення вмісту маркерів деструкції колагену, сіалоглікопротеїнів та протеогліканів у гомогенаті кісткової тканини, зокрема вільного оксипроліну, N-ацетилнейрамінової кислоти та гексуранових кислот.

Раніше було показано, що вживання EtOH зменшує відсоток колагену, товщину кісткових трабекул і підвищує крихкість кісток [174]. Деполімеризація біополімерів сполучної (кісткової) тканини може бути

зумовлена як безпосередньою дією активних форм кисню та нітрогену, так і індукцією останніми NF-κB-залежної експресії гістолітичних ферментів – матриксних металопротеїназ [176, 200]. Доведено, що EtOH здатен активувати NF-κB, що є важливим механізмом розвитку патологічних процесів в умовах хронічної алкогольної інтоксикації [153].

Наші результати вказують на те, що за умов одночасного впливу EtOH та травми переважає резорбція кісткової тканини, що супроводжується деполімеризацією колагену, глікопротеїнів і протеогліканів. Такі зміни свідчать про порушення процесу регенерації кісткової тканини та можуть бути пов'язані з утворенням білків, біосинтез яких контролюється активністю NF-κB, включаючи цитокін-активатор остеокластів RANKL (Receptor Activator of NF-κB), гістолітичні ферменти, а також прооксидантні та прозапальні білки [80, 155]. Крім того, продукування ROS/RNS на тлі хронічної алкогольної інтоксикації є додатковим фактором активації цього транскрипційного фактора [173].

Результати проведеного дослідження дозволяють припустити існування декількох механізмів, що лежать в основі порушення репаративних процесів в кістковій тканині нижньої щелепи у експериментальних тварин з хронічною алкогольною інтоксикацією після неповного перелому. Зокрема, вважаємо, що нітрозативний стрес може індукувати:

- 1) гальмування біосинтезу білка та клітинної проліферації шляхом пригнічення активності орнітиндекарбоксилази;
- 2) активацію деградаційних процесів біополімерів кісткового матриксу, таких як колаген, глікопротеїни та протеоглікани.

Деструкція неколагенових білків кісткової тканини, таких як протеоглікани та сіалоглікопротеїни, є важливим маркером порушення

утворення та диференціювання остеобластів [91]. Відповідно, деполімеризація цих біополімерів може розглядатися як один з ключових механізмів, що призводять до біомеханічних розладів нижньощелепних кісток за умов експерименту.

Зміни пружних властивостей кісткової тканини, згідно з нашими даними, формуються як при ізольованій дії хронічної алкогольної інтоксикації, так і при дозованому ушкодженні нижньої щелепи (моделі її неповного перелому). Це підтверджується достовірним зниженням модуля Юнга, що вказує на зниження здатності кістки протистояти розтягуванню та стисканню під час пружної деформації. Однак, хронічна алкогольна інтоксикація, змодельована в експерименті, не мала значного впливу на межу пружності та міцності нижньощелепних кісток на 14 добу після травми, що може вказувати на наявність компенсаторних механізмів у посттравматичному періоді.

Отримані результати узгоджуються з даними проведеного нами патоморфологічного дослідження кісток нижньої щелепи щурів після її перелому на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. Ми виявилм, що хронічна алкогольна інтоксикація сприяє затримці репаративної регенерації кісткової тканини після дозованого ушкодження нижньої щелепи, що супроводжується зменшенням у ділянці ураження відносної кількості ретикулофіброзної кісткової тканини та клітинних елементів фібробластичного ряду, особливо зрілих фібробластів, а також затримкою дозрівання грануляційної тканини.

Тобто, вплив EtOH суттєво уповільнює репаративну регенерацію кісткової тканини після експериментального перелому, оскільки наявність достатньої кількості ретикулофіброзної кісткової тканини в зоні перелому на досліджуваному етапі регенерації є важливою умовою правильного формування, реорганізації та ремоделювання кісткового регенерату [125, 134].

Крім того, за умов хронічної алкогольної інтоксикації спостерігається затримка дозрівання грануляційної тканини в області перелому. Про це свідчить підвищена кількість клітин гематогенного походження, таких як макрофаги, лейкоцити та лімфоцити, що характерно для ранніх етапів репаративних процесів. У той же час, у цій групі спостерігається відносно зменшення кількості клітинних елементів фібробластичного ряду, зокрема зрілих фібробластів, що є індикатором затримки дозрівання грануляційної тканини у волокнисту сполучну тканину.

Таким чином, результати свідчать про негативний вплив хронічної алкогольної інтоксикації на процеси регенерації кісткової тканини, що виявляється у сповільненому дозріванні як кісткового регенерату, так і грануляційної тканини. Ці порушення можуть значно ускладнювати відновлення кісток після їх переломів.

Одержані дані підкреслюють важливість пошуку патогенетично обґрунтованих терапевтичних стратегій щодо протидії комплексному патогенному впливу травми і хронічної алкогольної інтоксикації на кісткову тканину, оскільки EtOH впливає на різні етапи регенерації та відновлення кісток, а також на їх механічні властивості. Розуміння взаємозв'язку між транскрипційними факторами NF-κB та Nrf2 та остеогенезом дає підставу вважати їх модулятори перспективними засобами лікування та профілактики ускладнень репаративної регенерації кісткової тканини, у тому числі у посттравматичному періоді після перелому щелепи, у осіб із алкогольною залежністю.

Так, за нашими даними, призначення специфічних модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 (піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату) вірогідно зменшує активність у сироватці крові ферменту-маркера резорбції кісток кислої фосфатази на 14 добу посттравматичного періоду після дозованого ушкодження нижньої



щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. Проте ці сполуки суттєво не впливають за умов експерименту на активність у сироватці крові ферменту-маркера формування кісток лужної фосфатази.

Одержані результати узгоджуються з даними літератури, що повідомляють про роль NF-κB сигналізації у опосередкуванні RANK-ліганд-індукованого остеокластогенезу [64]. Було показано, що інгібування NF-κB є ефективним підходом до пригнічення утворення остеокластів та резорбтивної активності кісткової тканини. Ідентифікація молекулярних механізмів, що лежать в основі активації NF-κB, дозволила остеокластоспецифічно виділити основні компоненти цього шляху. Активність NF-κB була описана як центральна ланка патогенезу запалення і вважається потужним медіатором запального остеолізу. Дійсно, запальні порушення посилюють фізіологічні RANKL-індуковані сигнали NF-κB, що призводить до надмірної реакції та деструкції кісткової тканини. Ця активність NF-κB, як видається, лежить в основі декількох патологічних процесів у кістках та порушує репаративний остеогенез.

В результаті проведених досліджень встановлено, що призначення протягом 14 діб після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації специфічних модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 (піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату) істотно зменшує у гомогенаті нижньощелепної кістки активність NO-синтази (за рахунок її індукбельної ізоформи) та концентрацію пероксинітритів, підвищує активність ключового ферменту біосинтезу поліамінів – орнітиндекарбоксілази.

Як раніше вже повідомлялося, молекулярні патерни, пов'язані з пошкодженням (DAMPs), що вивільняються при травматичному процесі, так і EtOH, здатні активувати NF-κB [62, 145, 153, 202]. В

результаті цього спостерігається індукція прозапальних та прооксидантних генів, зокрема iNOS, що призводить до посиленої генерації ROS / RNS. Зміни окисно-відновного гомеостазу тканин посилюють цей патологічний процес завдяки активації редокс-чутливих факторів транскрипції. Для обривання цього порочного кола перспективним виявилось модулювання сигнальної системи Nrf2 – антиоксидант респонсивний елемент, що супроводжується зменшенням генерації RNS.

У цілому результати нашого дослідження дозволяють зробити висновок, що стан нітродергічної системи кісток нижньої щелепи щурів на 14 добу посттравматичного періоду після моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації залежить від функціональної активності транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2.

За нашими даними, призначення протягом 14 діб після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації специфічних модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 (піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату) істотно обмежує деполімеризацію біополімерів кісткової тканини (колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів), що забезпечує ефективний репаративний остеогенез.

Зростання концентрації маркерів деградації кісткового матриксу (вільного оксипроліну, N-ацетилнейрамінової та гексуронової кислот) може бути опосередковане як прямим токсичним ефектом ROS / RNS, так і індукцією NF-κB-залежної експресії матриксних металопротеїназ [16, 200].

Одержані нами результати узгоджуються з даними інших досліджень, що виявили здатність інгібіторів активації NF-κB гальмувати деструкцію кісткової тканини альвеолярного відростка

щелеп, стегнових кісток і хребців щурів при моделюванні ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді та інтоксикацій [28, 214]. Було продемонстровано посилення кісткоутворення при пригніченні комплексу ІКК [112]. Показана здатність ІКК2 порушувати дозрівання остеобластів і хондроцитів, погіршувати розвиток скелета [189].

Ефективність індукторів Nrf2 для захисту та підтримки кісткової тканини також була підтверджена у дослідженнях *in vivo* та *in vitro* [108]. Крім того, ці сполуки позитивно впливали на EtOH-опосередковані порушення, включаючи окисний стрес і апоптоз [88].

На підставі отриманих результатів можна зробити висновок, що процеси деполімеризації колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи щурів на 14 добу посттравматичного періоду після моделювання неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації залежать від функціональної активності транскрипційних факторів NF- $\kappa$ B і Nrf2.

Однак, як і інші хімічні речовини подібного типу, піролідиндитіокарбамат амонію та диметилфумарат може мати потенційні токсичні ефекти. Так, піролідиндитіокарбамат амонію широко використовується в складі пестицидів, таких як фунгіциди, гербіциди й інсектициди [87, 166], виявляє такі небажані властивості як генотоксичність, канцерогенність, тератогенність, а також гонадо- та нейротоксичність [84, 87, 166]. Диметилфумарат, у свою чергу, може викликати важкі алергічні реакції, такі як ангіоневротичний набряк (набряк обличчя, губ, язика) і анафілаксія, що потребують негайної медичної допомоги. Найбільш поширеними побічними ефектами диметилфумарату є симптоми з боку шлунково-кишкового тракту, такі як біль у животі, діарея, нудота і блювання. Крім того, диметилфумарат

може спричиняти лімфопенію, що підвищує ризик розвитку інфекцій, включаючи серйозні інфекції, які можуть загрожувати життю [147, 160, 206].

З огляду на серйозні побічні ефекти, що можуть виникати при застосуванні специфічних модуляторів NF-κB і Nrf2, таких як піролідиндитіокарбамат амонію та диметилфумарат, з'являється необхідність пошуку більш безпечних альтернатив для регуляції наведених сигнальних шляхів. Однією з таких перспективних альтернатив є природні модулятори NF-κB і Nrf2, зокрема, поліфеноли. Так, кверцетин є одним з найвідоміших і найкраще вивчених біофлавоноїдів, що проявляє здатність модуляції сигнальних шляхів NF-κB і Nrf2 [28, 30, 122, 123].

Відомо, що кверцетин може пригнічувати активацію NF-κB шляхом інгібування 26S протеасоми. Ця протеасома відповідає за убіквітинзалежний протеоліз інгібіторного білка IκB, який у нормальних умовах утворює комплекс із димерами білків родини NF-κB [114]. Завдяки цьому механізму блокується експресія генів, відповідальних за синтез прозапальних цитокінів і прооксидантних протеїнів [133]. Окрім того, дослідження свідчать про здатність кверцетину знижувати синтез білка p65, який також належить до родини NF-κB [126]. Примітно, що індукція Nrf2 під дією кверцетину та підвищення експресії гемоксигенази-1 можуть також порушувати активацію NF-κB [120].

Кверцетин має значно менший ризик розвитку побічних ефектів порівняно з синтетичними модуляторами транскрипційних факторів [39, 59]. Він добре переноситься організмом і не викликає серйозних алергічних реакцій, гастроінтестинальних розладів або нейропатологічних ефектів, характерних для таких препаратів, як диметилфумарат.

За нашими даними, введення кверцетину істотно не поступається синтетичним модуляторам транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 щодо впливу на активність у сироватці крові ферментів-маркерів резорбції кісток на 14 добу посттравматичного періоду після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. Він зменшує активність як кислої фосфатази, так і її кісткової (тартратрезистентної) ізоформи.

Застосування кверцетину за умов експерименту вірогідно обмежує у гомогенаті нижньощелепної кістки активність NOS (за рахунок її індукбельної ізоформи) та концентрацію пероксинітритів, підвищує активність орнітиндекарбоксилази.

Зменшенню вміста пероксинітритів, очевидно, сприяє здатність кверцетину пригнічувати продукцію супероксидного аніон-радикала мітохондріями, мікросомами та NOS, а також NADPH-оксидазою фагоцитів [19, 58, 60, 123, 212]. Розвиток окисно-нітрозативного стресу також може гальмуватися кверцетином через блокування ним вільнорадикальних ланцюгових реакцій, утворення хелатів з металами змінної валентності, пригнічення прооксидантних ферментів (ліпоксигенази, циклооксигенази та ксантинооксидази) [39, 129, 143].

Водночас, за нашими даними, введення кверцетину протягом 14 діб після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації вірогідно гальмує деполімеризацію біополімерів кісткової тканини (колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів), про що свідчить зниження концентрації вільного оксипроліну, гексуранових і N-ацетилнейрамінової кислот.

Раніше було встановлено, що пригнічення активності остеокластів і деполімеризації біополімерів сполучної тканини може бути пов'язане зі здатністю кверцетину зупиняти біосинтез прозапальних цитокінів, прооксидантних білків і матриксних металопротеїназ, які залежать від

активації NF-κB [122]. Окрім того, кверцетин, діючи як індуктор сигнальної системи Nrf2–ARE, знижує ризик оксидативно-нітрозативного стресу, індукованого активацією NF-κB та інших прозапальних редокс-чутливих факторів [102]. Така дія кверцетину свідчить про його перспективність як засобу для попередження негативних наслідків травматичних процесів у осіб, які зловживають алкоголем.

Дійсно, введення кверцетину за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації суттєво покращує на 14 добу посттравматичного періоду біомеханічні властивості нижньощелепної кістки у ділянці перелому, збільшує її пружність і міцність.

Одержані результати узгоджуються з даними літератури. Раніше було встановлено, що введення водорозчинної форми кверцетину за умов поєданого введення фториду та нітрату натрію збільшує щільність і мінеральну насиченість стегнової кістки та хребців, величину розривного навантаження при дослідженні стегнових кісток на лінійний розрив і на згин, що вказує на суттєве зростання міцності кісткової тканини [30].

Повідомлялося про покращення внаслідок дії кверцетину показників питомої стріли вигину, руйнівного моменту, межі міцності, модуля пружності та мінімальної роботи руйнування великогомілкової кістки щурів після її наскрізного дірчастого дефекту [50]. Крім того, застосування кверцетину при впливі гіпоксії та гіпертермії також призводило до збільшення індексу міцності кісток (плечової, великогомілкової, стегнової, хребців) у щурів [12].

Серед механізмів остеопротективної дії кверцетину дослідники відмічають його здатність активувати сигнальні шляхи, пов'язані з MAPK p38 у мезенхімальних стовбурових клітинах, що сприяє їхній

проліферації, остеогенній диференціації та секреції ангіогенного фактора [218].

Проведені нами патоморфологічні дослідження показали, що введення цього біофлавоноїду за умов експерименту достатньою мірою сприяє на 14 добу посттравматичного періоду нормалізації регенераторного процесу, підтвердженням чого є збільшення відносної кількості ретикулофіброзної кісткової тканини, переважання в грануляційній тканині клітин фібробластичного ряду, прискорення формування кровоносного мікроциркуляторного русла регенерата.

Таким чином, використання природних модуляторів, таких як кверцетин, замість синтетичних агентів є доцільним підходом, що дозволяє знизити ризик розвитку серйозних побічних ефектів і підвищити безпеку терапії.

Схематично участь факторів транскрипції NF-κB та Nrf2 у механізмах метаболічних, структурних і біомеханічних порушень у кістках нижньої щелепи після їх перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації згідно з результатами нашого дослідження та даними літератури наведено на рис. 6.1.

Таким чином, підбиваючи підсумки дослідження ролі факторів транскрипції NF-κB та Nrf2 у механізмах порушень репаративного остеогенезу кісток нижньої щелепи після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації можна констатувати, що використання специфічних і природних модуляторів цих транскрипційних факторів за цих умов експерименту призводить до зменшення негативних змін у кістковій тканині, зокрема, знижує нітрозативний стрес і деполімеризацію біополімерів органічного матриксу кісток, покращує їх біомеханічні властивості.

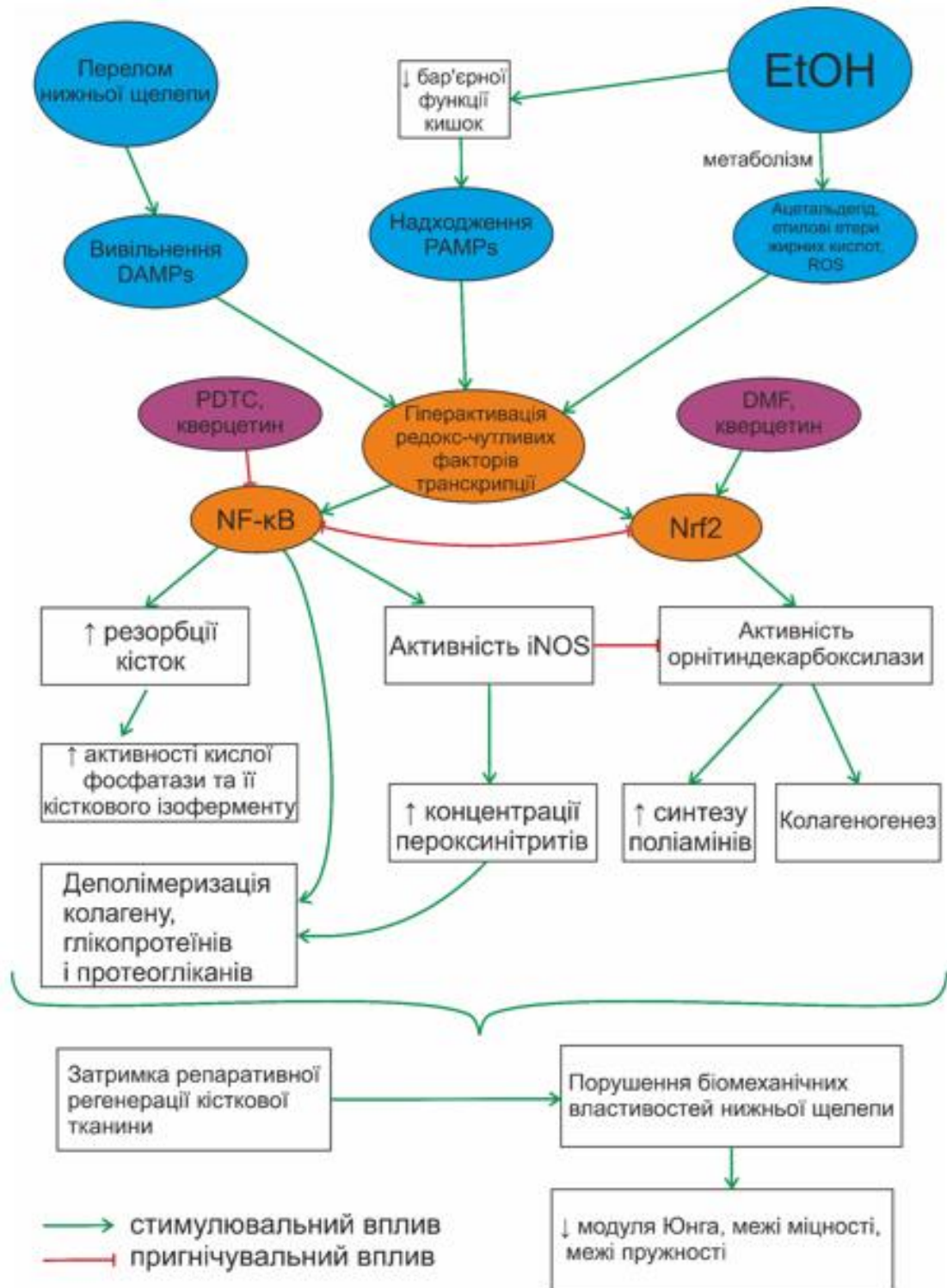


Рис. 6.1. Концептуальна схема участі факторів транскрипції NF-κB та Nrf2 у механізмах метаболічних, структурних і біомеханічних порушень у кістках нижньої щелепи після їх перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації



Введення біофлавоноїду кверцетину сприяє ефективній регенерації у зоні перелому, суттєво покращує пружність і міцність нижньої щелепи. Це відкриває перспективи для розробки нових підходів до лікування травм нижньої щелепи на фоні алкогольної інтоксикації.

## ВИСНОВКИ

**У дисертації наведене теоретичне узагальнення і розв’язання наукового завдання, що полягає у з’ясуванні ролі факторів транскрипції NF-κB та Nrf2 у механізмах порушень репаративного остеогенезу кісток нижньої щелепи після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації.**

1. Дозоване ушкодження нижньої щелепи (модель неповного перелому нижньої щелепи) на тлі хронічної алкогольної інтоксикації супроводжується на 14-му добу посттравматичного періоду вірогідним збільшенням активності ферментів-маркерів резорбції кісток у сироватці крові – кислої фосфатази та її кісткової (тартратрезистентної) ізоформи (на 58,9%,  $P < 0,001$ , і 35,1%,  $P < 0,01$  відповідно). Окремий вплив травми та етанолу суттєво не впливає на активність цих ферментів. Водночас у всіх зазначених групах активність лужної фосфатази у сироватці крові, як маркера формування кісток, та концентрація загального кальцію в плазмі крові не зазнає значимих змін.

2. Відтворення хронічної алкогольної інтоксикації вірогідно збільшує в гомогенаті нижньої щелепи щурів індукцибельну NO-синтазну активність (на 98,8%,  $P < 0,001$  відповідно), що супроводжується зростанням концентрації ключового маркера нітрозативного стресу – пероксинітриту (на 39,2%,  $P < 0,01$ ). На 14-ту добу після відтворення дозованого ушкодження нижньої щелепи (моделі її неповного перелому) на тлі хронічної алкогольної інтоксикації NO-синтазна активність та вміст пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у гомогенаті кістки перевищує результати груп з окремою дією травматичного чинника та етанолу. За цих умов значно знижується активність у

гомогенаті нижньої щелепи орнітиндекарбоксилази, ключового ферменту біосинтезу поліамінів.

3. На 14-ту добу після дозованого ушкодження нижньої щелепи (модель її неповного перелому) на тлі хронічної алкогольної інтоксикації значно зростає деполімеризація біополімерів кісткової тканини (колагену, глікопротеїнів і протеогліканів), що не відбувається за умов окремого впливу травми та етанолу.

4. Відтворення хронічної алкогольної інтоксикації з подальшим «хибним» травмуванням тварин порушує біомеханічні властивості нижньощелепної кістки, зокрема, пружність під час розтягу, на що вказує суттєве зменшення модуля Юнга. На 14 добу після відтворення дозованого ушкодження нижньої щелепи (модель її неповного перелому), у тому числі на тлі хронічної алкогольної інтоксикації, залишаються зменшеними пружність кістки в зоні ураження під час розтягу та її міцність, на що вказує зниження модуля Юнга та межа міцності.

5. Хронічна алкогольна інтоксикація сприяє затримці репаративної регенерації кісткової тканини після дозованого ушкодження нижньої щелепи (модель її неповного перелому), що супроводжується зменшенням у ділянці ураження відносної кількості ретикулофіброзної кісткової тканини та клітинних елементів фібробластичного ряду, особливо зрілих фібробластів, а також затримкою дозрівання грануляційної тканини.

6. Активність маркерів резорбції кісткової тканини в сироватці крові, баланс системи оксиду азоту та процеси деполімеризації колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи після її дозованого ушкодження на тлі хронічної алкогольної інтоксикації залежать від функціональної активності транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2. Застосування

специфічних модуляторів транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 (піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату) після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації призводить до вірогідного зменшення активності ферменту-маркера резорбції кісткової тканини, кислій фосфатази (на 29,7%,  $P < 0,01$ , і 25,0%,  $P < 0,01$  відповідно) у сироватці крові, значного зниження активності індукбельної ізоформи NO-синтази (на 41,8%,  $P < 0,001$ , і 43,1%,  $P < 0,001$  відповідно) та концентрації пероксинітритів (на 42,5%,  $P < 0,001$ , і 44,8%,  $P < 0,01$  відповідно) у гомогенаті нижньощелепної кістки, а також до зменшення деполімеризації колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів.

7. Введення природного модулятора транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 кверцетину істотно зменшує на 14 добу посттравматичного періоду після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації активність у сироватці крові ферментів-маркерів резорбції кісток кислій фосфатази та її кісткової (тарtratрезистентної) ізоформи (на 35,3%,  $P < 0,001$ , і 23,1%,  $P < 0,05$  відповідно), обмежує у гомогенаті нижньощелепної кістки активність індукбельної ізоформи NO-синтази (на 35,0%,  $P < 0,01$ ) та концентрацію пероксинітритів (вдвічі,  $P < 0,001$ ), підвищує активність орнітиндекарбоксилази, гальмує деполімеризацію біополімерів кісткової тканини (колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів).

8. Введення кверцетину за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації суттєво покращує на 14 добу посттравматичного періоду біомеханічні властивості нижньощелепної кістки у ділянці перелому, збільшує її пружність і міцність, покращує процес репаративної регенерації, що супроводжується збільшенням відносної кількості ретикулофіброзної кісткової тканини, переважанням у грануляційній тканині клітин

фібробластичного ряду, прискоренням формування кровоносного мікроциркуляторного русла регенерата.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Рекомендувати впровадження моніторингу активності кислій фосфатази та її кісткової ізоформи в сироватці крові у пацієнтів з переломами нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації для раннього виявлення та запобігання ускладненням.

2. Рекомендувати розробку та впровадження нових терапевтичних підходів для лікування переломів, які включають використання модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2, з метою зниження резорбції кісткової тканини та покращення її відновлення, особливо у осіб з хронічною алкогольною інтоксикацією.

4. Рекомендувати доклінічні та клінічні дослідження кверцетину як додаткового засобу комплексної терапії переломів з метою покращення біомеханічних характеристик кісток та прискорення процесу їх репаративної регенерації.

5. Підвищити обізнаність медичних працівників та пацієнтів про негативний вплив хронічної алкогольної інтоксикації на процеси регенерації кісткової тканини, з метою запобігання та контролю алкогольної залежності під час лікування переломів.

6. Використовувати отримані дані про негативний вплив нітрозативного стресу на регенерацію кісткової тканини для розробки комплексних методів патогенетичної терапії, що поєднують застосування модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 з традиційними підходами до лікування переломів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аветіков ДС, Локес КП, Іщенко ВВ. Зміни мінерального компоненту нижньощелепної кістки в динаміці репаративного остеогенезу за умов хронічної нітратної інтоксикації. Вісник проблем біології і медицини. 2014;2(1):37-39.
2. Аветіков ДС, Локес КП. Тензіометричні характеристики нижньощелепної кістки щурів при моделюванні її перелому за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2013;13(2):177-179.
3. Аветиков ДС, Локес ЕП, Ставицкий СА и др. Влияние селективного и неселективного ингибиторов iNOS на процессы репаративного остеогенеза при моделировании перелома нижней челюсти у крыс. Universum: Медицина и фармакология [Интернет]. 2013;(1):1. Доступно по адресу: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/327>.
4. Аветіков ДС, Локес КП, Ставицький СО и др. Переломи нижньої щелепи: аналіз частоти виникнення, локалізації та ускладнень. Вісн. пробл. біол. і мед. 2014;3(3):62-64.
5. Акімов ОЄ, Костенко ВО. Оксидативно-нітрозативний стрес і методи його дослідження. Львів: Магнолія; 2022. 152 с.
6. Астахова ВС, Маланчук ВА, Панченко ЛМ, Циленко ОЛ. Оценка показателей репаративного остеогенеза нижней челюсти и крыла подвздошной кости у человека. Український медичний часопис. 2002;3(29):136-141.
7. Білик ОВ. Зміни кісток щурів за умов гіпоксії і гіпертермії та корекція їх кверцетином. Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.04 «Патологічна фізіологія». Луганськ; 2010. 21 с.

8. Богданов ОВ. Роль компонентів системи оксиду азоту у патогенезі ушкодження пародонта щурів за умов сполученого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію. Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 «Патологічна фізіологія». Харків; 2018. 24 с.

9. Брагина ВГ, Горбатова ЛН. Травма челюстно-лицевой области у детей. Экология человека. 2014;(2):20-24.

10. Брашкін АП. Патогенетичне обґрунтування способу регенерації кісткової тканини щелепи при запально-деструктивному процесі. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 «Патологічна фізіологія», Державна установа «Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака», Донецький національний медичний університет ім. М. Горького. Донецьк; 2011. 148 с.

11. Гулюк АГ, Желнин ЕВ. Метаболиты оксида азота при посттравматической регенерации альвеолярной кости у крыс в условиях введения дексаметазона. Вісник стоматології. 2013;(2):19-22.

12. Дедух НВ, Пошелок ДМ, Малышкина СВ. Моделирование и ремоделирование кости. Український морфологічний альманах. 2014;12(1):107-111.

13. Дедух НВ, Нікольченко ОА. Регенерація кістки при аліментарному остеопорозі (експериментальне дослідження). Ортопедія, травматологія і протезування. 2009;(2):34-40.

14. Должкова КП. Вплив хронічної інтоксикації нітратом натрію на процеси репаративної регенерації нижньощелепної кістки у щурів. Загальна патологія та патологічна фізіологія. 2010;5(3):51-55.

15. Должкова КП. Вплив хронічної інтоксикації нітратом натрію на репаративну регенерацію нижньої щелепи. Актуальні проблеми

сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2009;9(2):44-45.

16. Должкова КП, Костенко ВО. Вплив пригнічення та індукції NO-синтаз на біохімічний склад кісткової тканини нижньої щелепи при відтворенні її перелому на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію. Проблеми екології та медицини. 2010;14(1-2):35-38.

17. Должкова КП. NO-залежні механізми регенерації кісток нижньої щелепи за умов надмірного надходження в організм нітрату натрію. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 «Патологічна фізіологія», Українська медична стоматологічна академія. Полтава; 2011. 159 с.

18. Єлінська АМ, Костенко ВО. Вплив водорозчинної форми кверцетину на дезінтеграцію органічного матриксу пародонта щурів за умов системного введення ліпополісахариду *Salmonella typhi*. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2019;19(1):56-60.

19. Єлінська АМ, Назаренко СМ, Костенко ВО. Кверцетин обмежує розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканинах пародонта за умов відтворення різних моделей системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2019;19(4):83-87.

20. Єлінська АМ, Старченко П, Костенко ВО. Вплив модуляторів редоксчутливих транскрипційних чинників на патоморфологічні зміни пародонта щурів за умов системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2019;19(3):127-132.

21. Єлінська АМ, Швайковська ОО, Костенко ВО. Вплив піролідиндитіокарбамату амонію на продукцію активних форм кисню і азоту в тканинах пародонта та слинних залоз щурів за умов системного



введення ліпополісахариду *Salmonella typhi*. Фізіол. журн. 2018;64(5):63-69.

22. Желнин ЕВ. Посттравматическая регенерация альвеолярной кости и ее связь с метаболическими показателями крови при глюкокортикоидном остеопорозе у крыс. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2013;13(4):97-103.

23. Ідашкіна НГ. Сповільнена консолідація нижньої щелепи: аналіз загальних та місцевих факторів. Медичні перспективи. 2019, 24(1):50-61.

24. Кайдашев ІІ, редактор. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. Полтава; 2003. 320 с.

25. Каліновський ДК. Лікування та реабілітація постраждалих з переломами нижньої щелепи, що зловживають алкоголем. Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.22 «Стоматологія», Українська медична стоматологічна академія; Полтава; 2003. 22 с.

26. Кладченко ЛА, Горидова ЛД, Малышкина СВ, Романенко КК. Особливості метаболізму компонентів регенерату кістки при різних умовах репаративного остеогенезу. Український медичний альманах. 2001; 4(4): 67-72.

27. Климовицкий ВГ, Оксимец ВМ, Черныш ВЮ и др. Влияние механизма травмы на состояние периостальных источников остеорепарации. Травма. 2008; 9(4):30-35.

28. Ковальова ІО, Костенко ВО. Вплив інгібіторів транскрипційного чинника каппа В на метаболічні та структурні порушення кісткової тканини за умов поєданого надлишкового надходження фториду та нітрату натрію. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2019;19(1):65-70.

29. Ковальова ІО, Макаренко ВІ, Сілкова ОВ та ін. Вплив піролідиндитіокарбамату амонію на біомеханічні характеристики стегнової кістки щурів за умов поєданого надлишкового надходження фториду та нітрату натрію. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2021;21(1):89-92.

30. Ковальова ІО. Механізми метаболічних і біомеханічних порушень у кістках щурів за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію та їх корекція. Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина». Українська медична стоматологічна академія МОЗ України. Полтава; 2020. 201 с.

31. Козаєва РС, Клименко МО. Вплив поліфенолів на пероксидне окиснення ліпідів та антиоксидантну систему в піднижньощелепних слинних залозах при поєданому введенні алкоголю та ліпополісахариду *S. typhi*. Український журнал медицини, біології та спорту. 2022;7(6): 45-50.

32. Козаєва РС, Клименко МО, Костенко ВО. Ліпополісахарид-індукована системна запальна відповідь обтяжує розвиток окисно-нітрозативного стресу в слинних залозах щурів при їх алкогольному ураженні. Фізіол. журн. 2021;67(6):60-67.

33. Корж НА, Горидова ЛД, Романенко КК. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Локальные факторы, влияющие на заживление перелома (сообщение 4). Ортопедия, травматология и протезирование. 2006;(2):99-106.

34. Корж НА, Дедух НВ, Никольченко ОА. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Системные факторы, влияющие на заживление перелома (сообщение 3). Ортопедия, травматология и протезирование. 2006;(2):93-99.

35. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко ММ, Гутнік ОМ, Назаренко СМ, Нестуля КІ, Таран ОВ, Романцева ТО, Моргун ЄО. Модуляція редокс-чутливих транскрипційних факторів поліфенолами як засіб патогенетичної терапії системної запальної відповіді. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.). Тернопіль; 2022. С. 33.

36. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко ММ, Гутнік ОМ, Волкова ОА, Назаренко СМ, Нестуля КІ, Таран ОВ, Романцева ТО, Моргун ЄО. Низько- та високоступеневі фенотипи системної запальної відповіді: спільні механізми та відмінності. Особливості науково-педагогічного процесу в період пандемії COVID-19: матеріали пленуму Українського наукового товариства патофізіологів (Тернопіль, 15-17 вересня 2022 р.). Тернопіль: ТНМУ; 2022. С. 42-43.

37. Кумар В, Аббас АК, Астер ДжК, Дейруп АТ, Дас А. Основи патології за Роббінсом і Кумаром. 11-е вид. Сорокіна І, Гичка С, Давиденко І, наукові редактори перекладу. Київ: ВСВ «Медицина»; 2024. 895 с.

38. Ліхницький О.О. Застосування кріоконсервованої тканини плаценти для корекції процесів репаративного остеогенезу нижньої щелепи при ангулярному переломі на тлі остеопорозу (експериментальне дослідження). Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.35 «Кріомедицина», Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків; 2020. 206 с.

39. Максютіна НІ, Мойбенко АА, Мохорт НА и др. Биофлавоноиды как органопротекторы (кверцетин, корвитин, квертин). Киев: Наукова думка; 2012. 274 с.

40. Нестуля КІ, Васько ЛМ, Шармазанова ОП. Цифрова рентгенографія в діагностиці переломів нижньої щелепи в межах зубного ряду. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Помилки променевої діагностики захворювань різних органів та систем» (Одеса, 20-21 вересня 2018 р.). Одеса; 2018. С. 86-87.

41. Нестуля КІ, Васько МЮ. КПКТ у діагностиці травматичних ушкоджень нижньої щелепи. Тези VII Національного конгресу з міжнародною участю «Радіологія в Україні» (Київ, 27-29 березня 2019 р.). Київ; 2019. С. 105.

42. Нестуля КІ, Костенко ВО. Вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 на метаболічні характеристики кісток нижньої щелепи щурів у відновлювальному періоді після їх неповного перелому на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024;23(1):114-118.

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

44. Нестуля КІ, Ксьонз ІВ, Макаренко ВІ, Макаренко ОВ, Костенко ВО. Вплив кверцетину на органічний матрикс і біомеханічні властивості нижньої щелепи щурів після її неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Фізіол. журн. 2024;70(3): 51-58.

45. Нестуля КІ. Маркери деструкції органічного матриксу нижньої щелепи щурів після її неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: VI науково-практична

Інтернет-конференція з міжнародною участю: тези доп. (Харків, 16 листопада 2023 р.). Харків: Вид-во НФаУ; 2023. С. 337-338.

46. Нестуля КІ, Старченко П, Костенко ВО. Вплив кверцетину на патоморфологічні характеристики кісток нижньої щелепи щурів після її перелому на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024; 24(2):120-124.

47. Нестуля КІ, Шармазанова ОП, Васько ЛМ. ОПТГ в діагностиці переломів нижньої щелепи в межах зубного ряду. VI Національний конгрес з міжнародною участю «Радіологія в Україні» (Київ, 28-30 березня 2018 р.). Київ; 2018. С. 80-81.

48. Рибачук АВ, Мамонов РО, Маланчук ВО. Епідеміологія травматичних переломів нижньої щелепи в період з 2005 по 2014 р. за матеріалами клініки кафедри. Харківська хірургічна школа. 2016;1:117-122.

49. Рубленко МВ, Семеняк СА, Андрієць ВГ. Молекулярно-біологічні механізми репаративного остеогенезу. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2017;(2):11-20.

50. Сак НН. Прочность плечевой кости белых крыс различного возраста при нанесении дырчатого дефекта большеберцовых костей. Український морфологічний альманах. 2012;10(2):196-198.

51. Слободян ОМ, Лаврів ЛП, Лопушняк ЛЯ, Бамбуляк АВ, Бойчук ОМ. Сучасний погляд на молекулярно-генетичні механізми міжклітинної взаємодії у процесі кісткового ремоделювання. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2018;17(3):88-98.

52. Сорокин БВ, Костенко ВА. Характер ремоделирования костей при воспроизведении экспериментального остеопороза при хронической интоксикации нитрата натрия. Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2013;4(44):74-76.

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

54. Сорокін БВ, Костенко ВО. Роль утворення пероксинітриту на структурно-метаболичні зміни кісткової тканини при відтворенні експериментального остеопорозу за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію. Загальна патологія та патологічна фізіологія. 2012;7(4 дод. Б):78-82.

55. Ставицький СО, Аветіков ДС, Локес КП. Біоетичні аспекти при вивченні експериментальної моделі перелому нижньої щелепи щурів за умов надмірного надходження в організм нітрату натрію. Матеріали Шостого національного конгресу з біоетики. Київ; 2016. С. 115–116.

56. Тимофєєв ОО. Щелепно-лицева хірургія: підручник. 3-є вид., перероб. і доп. Київ: Медицина; 2022. 792 с.

57. Федірко ГВ. Сучасне уявлення про механізм регенерації нижньої щелепи в умовах політравми. Клін. стоматол. 2015;(1):89-92.

58. Френкель ЮД, Зюзін ВО, Черно ВС, Костенко ВО. Вплив епігалокатехін-3-галату та кверцетину на утворення активних форм кисню та азоту в печінці щурів за умов їх цілодобового освітлення та утримання на вуглеводно-ліпідній дієті. Фізіол. журн. 2022; 68(1):20-27.

59. Френкель ЮД, Козаєва РС, Назаренко СМ и др. Перспективи застосування біофлавоноїдів – модуляторів транскрипційних факторів як засобів патогенетичної терапії системної запальної відповіді. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: III науково-практична конференція з міжнародною участю: тези доп. (Харків, 12 травня 2021 р.). Харків: Вид-во НФаУ; 2021. С. 168-169.

60. Френкель ЮД, Черно ВС, Костенко ВО. Вплив біофлавоноїдів на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів за умов їх цілодобового освітлення та утримання на вуглеводно-ліпідній дієті. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2021;15(6):406-413.

61. Шараев ПН, Пишков ВН, Соловьева НИ и др. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях. Лаб. дело. 1987;(5):330-332.

62. Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Пригнічення транскрипційних чинників NF kappa B та AP-1 обмежує розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканині великих півкуль головного мозку щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2020;20(1):80-85.

63. Abel K. Official CPC Certification Study Guide. Chicago: American Medical Association; 2013. 108 p.

64. Abu-Amer Y. NF-κB signaling and bone resorption. Osteoporos Int. 2013 Sep;24(9):2377-86.

65. Adeyemo WL, Ladeinde AL, Ogunlewe MO, James O. Trends and characteristics of oral and maxillofacial injuries in Nigeria: a review of the literature. Head Face Med. 2005;1:7-15.

66. 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.

67. Alles N, Soysa NS, Hayashi J et al. Suppression of NF-κB increases bone formation and ameliorates osteopenia in ovariectomized mice. Endocrinology. 2010;151:4626-4634.

68. Ashournia H, Johansen FT, Folkestad L et al. Heart disease in patients with osteogenesis imperfecta - A systematic review. *Int J Cardiol.* 2015 Oct 1;196:149-157.

69. Askew A, Chakkalakal D, Fang X, McGuire M. Delayed Fracture Healing in Alcohol Abusers – A Preliminary Retrospective Study. *Open Bone J.* 2011;3.

70. Asoudeh F, Salari-Moghaddam A, Larijani B, Esmailzadeh A. A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies on the association between alcohol intake and risk of fracture. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2022;62(20):5623-5637.

71. Augat P, Simon U, Liedert A. Mechanics and mechnobiology of fracture healing in normal and osteoporotic bone. *Osteoporos Int.* 2005; 16: 36-43.

72. Badel T, Savić Pavičin I, Kocijan Lovko S et al. Alcohol Abuse in the Dental Patient and Temporomandibular Disorder Caused by Trauma. *Psychiatr Danub.* 2021 Spring-Summer;33(Suppl 4):649-655.

73. Bădilă AE, Rădulescu DM, Ilie A et al. Bone Regeneration and Oxidative Stress: An Updated Overview. *Antioxidants.* 2022; 11(2):318.

74. Bae DH, Lane DJR, Jansson PJ, Richardson DR. The old and new biochemistry of polyamines. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2018 Sep;1862(9): 2053-2068.

75. Bayazid AB, Lim BO. Quercetin Is An Active Agent in Berries against Neurodegenerative Diseases Progression through Modulation of Nrf2/HO1. *Nutrients.* 2022 Dec 2;14(23):5132.

76. Berg KM, Kunins HV, Jackson JL et al. Association between alcohol consumption and both osteoporotic fracture and bone density. *Am J Med.* 2008 May;121(5):406-418.

77. Bianco P, Robey PG. Skeletal stem cells. *Development.* 2015 Mar 15;142(6):1023-1027.



78. Biller JA, Pletcher SD, Goldberg AN, Murr AH. Complications and the time to repair of mandible fractures. *Laryngoscope*. 2005 May;115(5):769-772.

79. Bolamperti S, Villa I, Rubinacci A. Bone remodeling: an operational process ensuring survival and bone mechanical competence. *Bone Res*. 2022 Jul 18;10(1):48.

80. Boyce BF, Xiu Y, Li J et al. NF- $\kappa$ B-Mediated Regulation of Osteoclastogenesis. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2015 Mar 27;30(1):35-44.

81. Brown JP, Don-Wauchope A, Douville P et al. Current use of bone turnover markers in the management of osteoporosis. *Clin Biochem*. 2022 Nov-Dec;109-110:1-10.

82. Callaci JJ, Juknelis D, Patwardhan A et al. The effects of binge alcohol exposure on bone resorption and biomechanical and structural properties are offset by concurrent bisphosphonate treatment. *Alcohol Clin Exp Res*. 2004 Jan;28(1):182-191.

83. Carano RA, Filvaroff EH. Angiogenesis and bone repair. *Drug Discov Today*. 2003 Nov 1;8(21):980-989.

84. Chabicovsky M, Prieschl-Grassauer E, Seipelt J et al. Pre-clinical safety evaluation of pyrrolidine dithiocarbamate. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2010;107(3):758-767.

85. Chakkalakal DA. Alcohol-induced bone loss and deficient bone repair. *Alcohol Clin Exp Res*. 2005 Dec;29(12):2077-2090.

86. Chang J, Wang Z, Tang E et al. Inhibition of osteoblastic boneformation by nuclear factor- $\kappa$ B. *Nat Med*. 2009;15:682–689.

87. Chen YW, Chen KL, Chen CH et al. Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC)/Cu complex induces lung epithelial cell apoptosis through mitochondria and ER-stress pathways. *Toxicol Lett*. 2010 Dec 15;199(3):333-340.

88. Chen X, Liu J, Chen SY. Over-expression of Nrf2 diminishes ethanol-induced oxidative stress and apoptosis in neural crest cells by inducing an antioxidant response. *Reprod Toxicol.* 2013;42:102-109.

89. Cheraghi Z, Doosti-Irani A, Almasi-Hashiani A et al. The effect of alcohol on osteoporosis: A systematic review and meta-analysis. *Drug Alcohol Depend.* 2019;197:197-202.

90. Claes L, Recknagel S, Ignatius A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. *Nat Rev Rheumatol.* 2012 Jan 31;8(3):133-143.

91. Dapunt U, Giese T, Stegmaier S et al. The osteoblast as an inflammatory cell: production of cytokines in response to bacteria and components of bacterial biofilms. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016 Jun 2;17:243.

92. Davis RL, Syapin PJ. Ethanol increases nuclear factor-kappa B activity in human astroglial cells. *Neurosci Lett.* 2004 Nov 23;371(2-3):128-132.

93. Dawson J, Atassi O, Sun D, Sheth M. Chapter 19, Emergency Care of Musculoskeletal Injuries. In: Townsend CM, editor. *Sabiston Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practice.* 21st ed. Philadelphia: Elsevier; 2021. p. 440-483.

94. Deschaseaux F, Sensébé L, Heymann D. Mechanisms of bone repair and regeneration. *Trends Mol Med.* 2009 Sep;15(9):417-429.

95. Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Kensler TW. The Role of Keap1 in Cellular Protective Responses. *Chem Res Toxicol.* 2005;18:1779-1791.

96. Dittmer KE, Firth EC. Mechanisms of bone response to injury. *J Vet Diagn Invest.* 2017;29(4):385-395.

97. Dodson M, de la Vega MR, Cholanians AB et al. Modulating NRF2 in Disease: Timing Is Everything. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2019;59:555-575.

98. Domazetovic V, Marcucci G, Iantomasi T, Brandi ML, Vincenzini MT. Oxidative stress in bone remodeling: role of antioxidants. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2017 May-Aug;14(2):209-216.

99. Eby JM, Sharieh F, Azevedo J, Callaci JJ. Episodic alcohol exposure attenuates mesenchymal stem cell chondrogenic differentiation during bone fracture callus formation. *Alcohol Clin Exp Res.* 2022 Jun;46(6):915-927.

100. Feger J. Bone Remodeling [Internet]. Accessed September 17, 2023. Available from: <https://radiopaedia.org/articles/100272>.

101. Folkestad L, Hald JD, Gram J et al. Cardiovascular disease in patients with osteogenesis imperfecta – a nationwide, register-based cohort study. *Int J Cardiol.* 2016 Dec 15;225:250-257.

102. Gao W, Guo L, Yang Y et al. Dissecting the Crosstalk Between Nrf2 and NF- $\kappa$ B Response Pathways in Drug-Induced Toxicity. 2022 Feb 2;9:809952.

103. Ghiasi MS, Chen J, Vaziri A et al. Bone fracture healing in mechanobiological modeling: A review of principles and methods. *Bone Rep.* 2017;6:87-100.

104. Godos J, Giampieri F, Chisari E et al. Alcohol Consumption, Bone Mineral Density, and Risk of Osteoporotic Fractures: A Dose-Response Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health.* 2022 Jan 28;19(3):1515.

105. Golovach I, Rekalov D, Akimov OY et al. Molecular mechanisms and potential applications of chondroitin sulphate in managing post-traumatic osteoarthritis. *Reumatologia.* 2023;61(5):395-407.

106. Goltsev AM, Lykhytskyi OO. Prognosis of Reparative Osteogenesis in Rats with Open Mandibular Fracture on the Background of Osteoporosis. *World Med Biol.* 2018;(1):109-112.

107. Guo M, Huang YL, Wu Q et al. Chronic Ethanol Consumption Induces Osteopenia via Activation of Osteoblast Necroptosis. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:3027954.

108. Han J, Yang K, An J et al. The Role of NRF2 in Bone Metabolism – Friend or Foe? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Feb 23;13:813057.

109. Hayden MS, Ghosh S. Regulation of NF- $\kappa$ B by TNF family cytokines. *Semin Immunol*. 2014;26:253-266.

110. Hirata-Tsuchiya S, Fukushima H, Kokabu S et al. Fine-tuning between BMP and NF- $\kappa$ B pathways regulates osteoblastic bone formation. *J Oral Biosci*. 2016;58(3):73-77.

111. Jimi E, Ghosh S. Role of nuclear factor- $\kappa$ B in the immune system and bone. *Immunol Rev*. 2005;208:80-87.

112. Jimi E, Takakura N, Hiura F et al. The Role of NF- $\kappa$ B in Physiological Bone Development and Inflammatory Bone Diseases: Is NF- $\kappa$ B Inhibition “Killing Two Birds with One Stone”? *Cells*. 2019; 8(12):1636.

113. Johns Hopkins Medicine. Fractures [Internet]. Baltimore: Johns Hopkins School of Medicine; [cited 2024 Aug 6]. Available from: <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/fractures>

114. Kang CH, Choi YH, Moon SK et al. Quercetin inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in BV2 microglial cells by suppressing the NF- $\kappa$ B pathway and activating the Nrf2-dependent HO-1 pathway. *Int Immunopharmacol*. 2013 Nov;17(3):808-813.

115. Ke Y, Hu H, Zhang J et al. Alcohol Consumption and Risk of Fractures: A Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Adv Nutr*. 2023 Jul;14(4):599-611.

116. Kenkre JS, Bassett JH. The bone remodelling cycle. *Ann Clin Biochem*. 2018;55(3):308-327.

117. Khodadadyan-Klostermann C, Liebig T, Melcher I et al. Osseous integration of hydroxyapatite grafts in metaphyseal bone defects of the

proximal tibia (CT-study). *Acta Chir Orthop Traumatol Cech.* 2002;69(1):16-21.

118. Kim JH, Kim N. Bone Cell Communication Factors Provide a New Therapeutic Strategy for Osteoporosis. *Chonnam Med J.* 2020 May; 56(2):94-98.

119. Kim SG. Multiple ways for the same destination: bone regeneration. *Maxillofac Plast Reconstr Surg.* 2022;44:9.

120. Kim Y, Kim CS, Joe Y et al. Quercetin Reduces Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Muscle Atrophy by Upregulation of Heme Oxygenase-1. *J Med Food.* 2018 Jun;21(6):551-559.

121. Kolar P, Schmidt-Bleek K, Schell H et al. The early fracture hematoma and its potential role in fracture healing. *Tissue Eng Part B Rev.* 2010 Aug;16(4):427-434.

122. Kostenko V, Akimov O, Gutnik O et al. Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response. *Heliyon.* 2023 Apr;9(4):e15551.

123. Kozaeva R, Klymenko MO, Katrushov OV, Kostenko VO. Bioflavonoids as agents for correcting nitro-oxidative stress and salivary gland functions in rats exposed to alcohol during modeled lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response. *Wiad Lek.* 2022;75(3):685-690.

124. Kubo Y, Wruck CJ, Fragoulis A et al. Role of Nrf2 in Fracture Healing: Clinical Aspects of Oxidative Stress. *Calcif Tissue Int.* 2019 Oct; 105(4):341-352.

125. Lafuente-Gracia L, Borgiani E, Nasello G, Geris L. Towards in silico Models of the Inflammatory Response in Bone Fracture Healing. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021 Sep 30;9:703725.

126. Lai WW, Hsu SC, Chueh et al. Quercetin inhibits migration and invasion of SAS human oral cancer cells through inhibition of NF- $\kappa$ B and

matrix metalloproteinase-2/-9 signaling pathways. *Anticancer Res.* 2013 May;33(5):1941-1950.

127. Lau A, Ridout R, Gagnon C et al. Recommendations from Osteoporosis Canada Rapid Response Team. Alcohol Intake and Bone Health. March 3, 2023. Available from: <https://osteoporosis.ca/position-statements/alcohol-intake-and-bone-health/>

128. Léotoing L, Wauquier F, Guicheux J et al. The Polyphenol Fisetin Protects Bone by Repressing NF- $\kappa$ B and MKP-1-Dependent Signaling Pathways in Osteoclasts. *PLoS One.* 2013;8(7):e68388.

129. Lesjak M, Beara I, Simin N et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *J Functional Foods.* 2018;40:68-75.

130. Li JP, Gao Y, Chu SF et al. Nrf2 pathway activation contributes to anti-fibrosis effects of ginsenoside Rg1 in a rat model of alcohol- and CCl4-induced hepatic fibrosis. *Acta Pharmacol Sin.* 2014;35:1031-1044.

131. Lin TH, Pajarinen J, Lu L et al. NF- $\kappa$ B as a Therapeutic Target in Inflammatory-Associated Bone Diseases. *Adv Protein Chem Struct Biol.* 2017;107:117-154.

132. Little DG, Ramachandran M, Schindeler A. The anabolic and catabolic responses in bone repair. *J Bone Joint Surg Br.* 2007;89-B(4):425-433.

133. Liu X, Lin R, Zhao B et al. Correlation between oxidative stress and the NF- $\kappa$ B signaling pathway in the pulmonary tissues of obese asthmatic mice. *Mol Med Rep.* 2016 Feb;13(2):1127-1134.

134. Loi F, Córdova LA, Pajarinen J et al. Inflammation, fracture and bone repair. *Bone.* 2016 May;86:119-130.

135. Lu J, Chen Y, Wang Z et al. The Role of the FOXO1/ $\beta$ 2-AR/p-NF- $\kappa$ B p65 Pathway in the Development of Endometrial Stromal Cells in Pregnant Mice under Restraint Stress. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(3):1478.

136. Lykhytskyi OO. Modern views on etiopathogenesis of traumatic injuries of the lower jaw against the background of osteoporosis and the use of drugs for correction of the processes of reparative osteogenesis. *Rep Vinnytsia Natl Med Univ.* 2019;23(2):309-315.

137. Maciel GBM, Maciel RM, Danesi CC. Bone cells and their role in physiological remodeling. *Mol Biol Rep.* 2023 Mar;50(3):2857-2863.

138. Marchev AS, Dimitrova PA, Burns AJ et al. Oxidative stress and chronic inflammation in osteoarthritis: can NRF2 counteract these partners in crime? *Ann N Y Acad Sci.* 2017 Aug;1401(1): 114-135.

139. Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury.* 2011 Jun;42(6):551-555.

140. Matsumoto H, Fukui Y. Alcohol action and activation of NF-kappa B. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi.* 2002;37(2):93-110.

141. Melekhovets OK, Tovazhnyanska VD, Yakovtsova II. Effects of diabetes mellitus on reparative osteogenesis. *Wiad Lek.* 2019;72(9 cz 2): 1723-1726.

142. Michalak P, Wszyńska-Pawełec G, Szuta M et al. Fractures of the Craniofacial Skeleton in the Elderly: Retrospective Studies. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(21):11219.

143. Mohos V, Pánovics A, Fliszár-Nyúl E et al. Inhibitory Effects of Quercetin and Its Human and Microbial Metabolites on Xanthine Oxidase Enzyme. *Int J Mol Sci.* 2019 May 31;20(11):2681.

144. Muresan GC, Hedesiu M, Lucaciu O et al. Effect of Vitamin D on Bone Regeneration: A Review. *Medicina (Kaunas).* 2022 Sep 23;58(10):1337.

145. Mykytenko AO, Akimov OYe, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of NF-κB on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. *Ukr Biochem J.* 2022;94(6):57-66.

146. Nahirniy YP, Fesyk VL, Avetikov DS, Lokes KP. Adaptive responses of cardiovascular system and non-specific resistance of the body in cases of mandibular fracture. *Світ медицини та біології*. 2019;(1):79-83.

147. Naismith RT, Wundes A, Ziemssen T et al. Diroximel Fumarate Demonstrates an Improved Gastrointestinal Tolerability Profile Compared with Dimethyl Fumarate in Patients with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis: Results from the Randomized, Double-Blind, Phase III EVOLVE-MS-2 Study. *CNS Drugs*. 2020 Feb;34(2):185-196.

148. Narasimhan M, Mahimainathan L, Rathinam ML et al. Overexpression of Nrf2 Protects Cerebral Cortical Neurons from Ethanol-Induced Apoptotic Death. *Mol Pharmacol*. 2011 Dec;80(6):988-999.

149. Nestulia KI, Ksonz IV, Bilash SM, Koptev MM, Vasko LM. The possibilities of cone-beam computer tomography in the diagnostic of fractures of the mandible within the dental row. *Wiad Lek*. 2021;74(6):1372-1375.

150. Nestulia KI, Sharmazanova OP, Vasko LM. Using cone-beam computed tomography for the diagnosis of lower jaw fractures within the tooth boundary. International Scientific and Practical Conference “Radiodiagnostics of the XXI Century” (Budva, May 31-June 01, 2018). Budva, Montenegro; 2018. P. 35-36.

151. Nicholson JA, Makaram N, Simpson A, Keating JF. Fracture nonunion in long bones: A literature review of risk factors and surgical management. *Injury*. 2021 Jun;52 Suppl 2:S3-S11.

152. Nkpaa KW, Adedara IA, Amadi BA et al. Ethanol via Regulation of NF- $\kappa$ B/p53 Signaling Pathway Increases Manganese-Induced Inflammation and Apoptosis in Hypothalamus of Rats. *Biol Trace Elem Res*. 2019;190:101-108.

153. Nowak AJ, Relja B. The Impact of Acute or Chronic Alcohol Intake on the NF- $\kappa$ B Signaling Pathway in Alcohol-Related Liver Disease. *Int J Mol Sci*. 2020;21(24):9407.



154. O'Meara C, Witherspoon R, Hapangama N, Hyam DM. Mandible fracture severity may be increased by alcohol and interpersonal violence. *Aust Dent J*. 2011 Jun;56(2):166-170.

155. Ono T, Hayashi M, Sasaki F, Nakashima T. RANKL biology: bone metabolism, the immune system, and beyond. *Inflamm Regen*. 2020 Feb 7;40:2.

156. Oryan A, Monazzah S, Bigham-Sadegh A. Bone injury and fracture healing biology. *Biomed Environ Sci*. 2015 Jan;28(1):57-71.

157. Papachristou DJ, Georgopoulos S, Giannoudis PV, Panagiotopoulos E. Insights into the Cellular and Molecular Mechanisms That Govern the Fracture-Healing Process: A Narrative Review. *J Clin Med*. 2021; 10(16):3554.

158. Peel A, Jesudason D, Martin S, Wittert G. Association of alcohol and bone mineral density dependent on type of alcohol consumed. *J Bone Miner Metab*. 2023 Sep;41(5):702-713.

159. Perren SM. Evolution of the internal fixation of long bone fractures. The scientific basis of biological internal fixation: choosing a new balance between stability and biology. *J Bone Joint Surg Br*. 2002 Nov;84(8):1093-1110.

160. Phillips JT, Hutchinson M, Fox R et al. Managing flushing and gastrointestinal events associated with delayed-release dimethyl fumarate: Experiences of an international panel. *Mult Scler Relat Disord*. 2014 Jul;3(4):513-519.

161. Pohranychna KR. Reparative processes in jaw bones under using of different plastic materials. *Fiziol Zh*. 2016;62(6):110-117.

162. Priddy C, Li J. The role of the Nrf2/Keap1 signaling cascade in mechanobiology and bone health. *Bone Rep*. 2021;15:101149.

163. Rada P, Rojo AI, Chowdhry S et al. SCF/ $\beta$ -TrCP Promotes Glycogen Synthase Kinase 3-Dependent Degradation of the Nrf2

Transcription Factor in a Keap1-Independent Manner. *Mol Cell Biol.* 2011;31:1121-1133.

164. Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: Concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Investig.* 2005;115:3318-3325.

165. Rath M, Müller I, Kropf P et al. Metabolism via Arginase or Nitric Oxide Synthase: Two Competing Arginine Pathways in Macrophages. *Front Immunol.* 2014 Oct 27;5:532.

166. Rath N, Rasaputra K, Liyanage R et al. Dithiocarbamate Toxicity – An Appraisal. In: Stoytcheva M, editor. *Pesticides in the Modern World – Effects of Pesticides Exposure.* IntechOpen; 2011. P. 323-340.

167. Reddipogu JS, Lightfoot E, Scott C, Thomas M. Recurrent mandibular fractures: a retrospective study over 17 years on aetiology, demographics, fracture patterns, and management. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2021 Dec;50(12):1596-1602.

168. Rivis M, Juncar RI, Moca AE et al. Patterns of Mandibular Fractures through Human Aggression: A 10-Year Cross-Sectional Cohort Retrospective Study. *J Clin Med.* 2023;12(12):4103.

169. Roper PM, Abbasnia P, Vuchkovska A et al. Alcohol-related deficient fracture healing is associated with activation of FoxO transcription factors in mice. *J Orthop Res.* 2016 Dec;34(12):2106-2115.

170. Sadek KM, El Moshy S, Radwan IA et al. Molecular Basis beyond Interrelated Bone Resorption / Regeneration in Periodontal Diseases: A Concise Review. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb 27;24(5):4599.

171. Salhotra A, Shah HN, Levi B, Longaker MT. Mechanisms of bone development and repair. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020 Nov;21(11):696-711.

172. Schlundt C, Schell H, Goodman SB et al. Immune modulation as a therapeutic strategy in bone regeneration. *J Exp Orthop.* 2015 Dec;2(1):1.

173. Schwenck J, Mehling R, Thaiss WM et al. Temporal Dynamics of Reactive Oxygen and Nitrogen Species and NF- $\kappa$ B Activation During Acute

and Chronic T Cell-Driven Inflammation. *Mol Imaging Biol.* 2020 Jun;22(3):504-514.

174. Seabra O, Pereira VG, Espindula AP et al. Even without changing the bone mineral density, alcohol consumption decreases the percentage of collagen, the thickness of bone trabeculae, and increases bone fragility. *An Acad Bras Cienc.* 2022;94(suppl 3):e20210661.

175. Serena-Gómez E, Passeri LA. Complications of mandible fractures related to substance abuse. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Oct;66(10):2028-2034.

176. Shadrina AS, Plieva YZ, Kushlinskiy DN. Classification, regulation of activity, and genetic polymorphism of matrix metalloproteinases in health and disease. *Alm Clin Med.* 2017;45(4):266-279.

177. Shah K, Majeed Z, Jonason J, O'Keefe RJ. The role of muscle in bone repair: the cells, signals, and tissue responses to injury. *Curr Osteoporos Rep.* 2013 Jun;11(2):130-135.

178. Shaikh A, Wesner AA, Abuhattab M et al. Cell cycle regulators and bone: development and regeneration. *Cell Biosci.* 2023;13:35.

179. Shanmugam S, Patel D, Wolpert JM et al. Ethanol Impairs NRF2/Antioxidant and Growth Signaling in the Intact Placenta In Vivo and in Human Trophoblasts. *Biomolecules.* 2019 Oct 30;9(11):669.

180. Shaw P, Chattopadhyay A. Nrf2-ARE Signaling in Cellular Protection: Mechanism of Action and the Regulatory Mechanisms. *J Cell Physiol.* 2020;235:3119-3130.

181. Sheen JR, Mabrouk A, Garla VV. Fracture Healing Overview. [Updated 2023 Apr 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551678/>

182. Sheppard AJ, Barfield AM, Barton S, Dong Y. Understanding Reactive Oxygen Species in Bone Regeneration: A Glance at Potential

Therapeutics and Bioengineering Applications. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022 Feb 7;10:836764.

183. Siddiqui JA, Partridge NC. Physiological Bone Remodeling: Systemic Regulation and Growth Factor Involvement. *Physiology (Bethesda)*. 2016 May;31(3):233-245.

184. Silva-Islas CA, Maldonado PD. Canonical and non-Canonical Mechanisms of Nrf2 Activation. *Pharmacol Res.* 2018;134:92-99.

185. Slugina AS, Iordanishvili AK, Serikov AA et al. Optimization of reparative osteogenesis jaws on aging (preclinical studies). *Adv Gerontol.* 2016;29(1):128-133.

186. Sohuyko R, Masna Z, Pavliv K. Posttraumatic density of the bone tissue of the rat's mandible without pathology, on the background of nalbuphine intake and after lincomycin treatment. *World Sci.* 2019;2(11(51)):25-29.

187. Song L. Effects of Exercise or Mechanical Stimulation on Bone Development and Bone Repair. *Stem Cells Int.* 2022 Sep 28;2022:5372229.

188. Sun SC. The non-canonical NF- $\kappa$ B pathway in immunity and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2017;17:545-558.

189. Swarnkar G, Zhang K, Mbalaviele G et al. Constitutive activation of IKK2/NF- $\kappa$ B impairs osteogenesis and skeletal development. *PLoS One.* 2014 Mar 11;9(3):e91421.

190. Tian X, Cong F, Guo H et al. Downregulation of Bach1 protects osteoblasts against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in vitro by enhancing the activation of Nrf2/ARE signaling. *Chem Biol Interact.* 2019 Aug 25;309:108706.

191. Tobeiha M, Moghadasian MH, Amin N, Jafarnejad S. RANKL/RANK/ OPG Pathway: A Mechanism Involved in Exercise-Induced Bone Remodeling. *Biomed Res Int.* 2020 Feb 19;2020:6910312.

192. Tong KI, Kobayashi A, Katsuoka F, Yamamoto M. Two-Site Substrate Recognition Model for the Keap1-Nrf2 System: A Hinge and Latch Mechanism. *Biol Chem*. 2006;387:1311-1320.

193. Tsiridis E, Upadhyay N, Giannoudis P. Molecular aspects of fracture healing: which are the important molecules? *Injury*. 2007 Mar;38 Suppl 1:S11-25.

194. Tunheim EG, Skallevoid HE, Rokaya D. Role of hormones in bone remodeling in the craniofacial complex: A review. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2023 Mar-Apr;13(2):210-217.

195. Tyagi AM, Srivastava K, Mansoori MN et al. Estrogen deficiency induces the differentiation of IL-17 secreting Th17 cells: A new candidate in the pathogenesis of osteoporosis. *PLoS ONE*. 2012;7:e44552.

196. Usatov D, Usatova G, Shaikhaliev A et al. Morphological Characteristics of Reparative Osteogenesis in Mandibular Repair with Different Osteoplastic Materials. *J Maxillofac Oral Surg*. 2021. doi:10.1007/s12663-021-01669-z.

197. Valilshchykov M, Babalyan M, Ionov I, Babaieva O. Peculiarities of Reparative Osteogenesis in Fractures of the Proximal Femur in Patients with Concomitant Arterial Hypertension. *Biomed Pharmacol J*. 2021;14(4): 1815-1822.

198. Veis DJ, O'Brien CA. Osteoclasts, Master Sculptors of Bone. *Annu Rev Pathol*. 2023 Jan 24;18:257-281.

199. Villavicencio-Ayala B, Rojano-Mejía D, Quiroz-Williams J, Albarrán-Becerril Á. Epidemiological profile of mandibular fractures in an emergency department. *Cir Cir*. 2021;89(5):646-650.

200. Vincenti MP, Brinckerhoff CE. Transcriptional regulation of collagenase (MMP-1, MMP-13) genes in arthritis: integration of complex signaling pathways for the recruitment of gene-specific transcription factors. *Arthritis Res*. 2002;4(3):157-164.

201. Voss JO, Heiland M, Preissner R, Preissner S. The risk of osteomyelitis after mandibular fracture is doubled in men versus women: analysis of 300,000 patients. *Sci Rep.* 2023 Nov 27;13(1):20871.

202. Vourc'h M, Roquilly A, Asehnoune K. Trauma-Induced Damage-Associated Molecular Patterns-Mediated Remote Organ Injury and Immunosuppression in the Acutely Ill Patient. *Front Immunol.* 2018 Jun 15;9:1330.

203. Wang X, Chen X, Lu L, Yu X. Alcoholism and Osteoimmunology. *Curr Med Chem.* 2021;28(9):1815-1828.

204. Weivoda MM, Bradley EW. Macrophages and Bone Remodeling. *J Bone Miner Res.* 2023 Mar;38(3):359-369.

205. Werning JW, Downey NM, Brinker RA et al. The Impact of Osteoporosis on Patients With Maxillofacial Trauma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004;130(3):353-356.

206. Wicks P, Rasouliyan L, Katic B et al. The real-world patient experience of fingolimod and dimethyl fumarate for multiple sclerosis. *BMC Res Notes.* 2016 Sep 7;9(1):434.

207. Wu XQ, Yang Y, Li WX et al. Telomerase reverse transcriptase acts in a feedback loop with NF- $\kappa$ B pathway to regulate macrophage polarization in alcoholic liver disease. *Sci Rep.* 2016;6:18685.

208. Xu H, Wang W, Liu X et al. Targeting strategies for bone diseases: signaling pathways and clinical studies. *Signal Transduct Target Ther.* 2023 May 17;8(1):202.

209. Xu J, Yu L, Liu F et al. The effect of cytokines on osteoblasts and osteoclasts in bone remodeling in osteoporosis: a review. *Front Immunol.* 2023 Jul 5;14:1222129.

210. Yamamoto M, Kensler TW, Motohashi H. The KEAP1-NRF2 System: A Thiol-Based Sensor-Effector Apparatus for Maintaining Redox Homeostasis. *Physiol Rev.* 2018;98:1169-1203.

211. Yao P, Nussler A, Liu L et al. Quercetin protects human hepatocytes from ethanol-derived oxidative stress by inducing heme oxygenase-1 via the MAPK/Nrf2 pathways. *J Hepatol.* 2007 Aug;47(2): 253-261.

212. Yavtushenko IV, Nazarenko SM, Katrushov OV, Kostenko VO. Quercetin limits the progression of oxidative and nitrosative stress in the rats' tissues after experimental traumatic brain injury. *Wiad Lek.* 2020; 73(10): 2127-2132.

213. Yelins'ka AM, Akimov OYe, Kostenko VO. Role of AP-1 transcriptional factor in development of oxidative and nitrosative stress in periodontal tissues during systemic inflammatory response. *Ukr Biochim J.* 2019; 91(1):80-85.

214. Yelinska AM, Denisenko SV, Liashenko LI, Kostenko VO. Influence of inhibitors of transcription factor kappa B on depolymerization of biopolymers in periodontal connective tissue under systemic inflammatory response in rats. *World Med Biol.* 2020; (1):180-183.

215. Yelins'ka AM, Shvaykovs'ka OO, Kostenko VO. Epigallocatechin-3-gallate prevents disruption of connective tissue in periodontium and salivary glands of rats during systemic inflammation. *Wiad Lek.* 2018;71(4):869-873.

216. Yin Y, Corry KA, Loughran JP, Li J. Moderate Nrf2 Activation by Genetic Disruption of Keap1 Has Sex-Specific Effects on Bone Mass in Mice. *Sci Rep.* 2020 Jan 15;10(1):348.

217. Zhao X, Sun G, Zhang J et al. Dimethyl Fumarate Protects Brain From Damage Produced by Intracerebral Hemorrhage by Mechanism Involving Nrf2. *Stroke.* 2015 Jul;46(7):1923-1928.

218. Zhou Y, Wu Y, Jiang X et al. The Effect of Quercetin on the Osteogenic Differentiation and Angiogenic Factor Expression of Bone

Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. *PLoS One*. 2015 Jun 8;10(6):e0129605.

219. Zhu D, Fang H, Yu H et al. Alcohol-induced inhibition of bone formation and neovascularization contributes to the failure of fracture healing via the miR-19a-3p/FOXF2 axis. *Bone Joint Res*. 2022 Jun;11(6):386-397.



## ДОДАТКИ

### Додаток А

#### СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*1) в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:*

1. Нестуля КІ, Костенко ВО. Механізми нітрозативного стресу та деструкції органічного матриксу нижньої щелепи щурів у відновлювальному періоді після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2023;23(3):126-129. DOI: 10.31718/2077-1096.23.3.126 *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Костенко В.О. здійснював загальне керівництво дослідженням).*

2. Нестуля КІ, Костенко ВО. Вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 на метаболічні характеристики кісток нижньої щелепи щурів у відновлювальному періоді після їх неповного перелому на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024;23(1):114-118. DOI: 10.31718/2077-1096.24.1.114 *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Костенко В.О. здійснював загальне керівництво дослідженням).*

3. Нестуля КІ, Старченко ІІ, Костенко ВО. Вплив кверцетину на патоморфологічні характеристики кісток нижньої щелепи щурів після її перелому на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. Актуальні проблеми

сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024; 24(2):120-124. DOI: 10.31718/2077-1096.24.2.120 *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Старченко І.І. здійснював консультативну допомогу з використання та інтерпретації результатів морфологічних методів дослідження. Костенко В.О. виконував загальне керівництво дослідженням).*

4. Нестуля КІ, Ксьонз ІВ, Макаренко ВІ, Макаренко ОВ, Костенко ВО. Вплив кверцетину на органічний матрикс і біомеханічні властивості нижньої щелепи щурів після її неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Фізіол. журн. 2024;70(3):51-58. DOI: 10.15407/fz70.03.051 **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Ксьонз І.В. брав участь у відтворенні експериментальної моделі, Макаренко В.І. та Макаренко О.В. здійснювали консультативну допомогу з використання та інтерпретації результатів тензометричних методів дослідження. Костенко В.О. виконував загальне керівництво дослідженням).*

2) які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко ММ, Гутнік ОМ, Волкова ОА, Назаренко СМ, Нестуля КІ, Таран ОВ, Романцева ТО, Моргун ЄО. Низько- та високоступеневі фенотипи системної запальної відповіді: спільні механізми та відмінності. Особливості науково-педагогічного процесу в період пандемії COVID-19: матеріали пленуму Українського наукового товариства патофізіологів (Тернопіль, 15-17 вересня 2022 р.). Тернопіль: ТНМУ; 2022. С.42-43. *(Дисертантці належать результати*

*щодо розвитку системної запальної відповіді, оксидативно-нітрозативного стресу та дезорганізації сполучної тканини в організмі щурів за умов травматичного процесу).*

6. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко ММ, Гутнік ОМ, Назаренко СМ, Нестуля КІ, Таран ОВ, Романцева ТО, Моргун ЄО. Модуляція редокс-чутливих транскрипційних факторів поліфенолами як засіб патогенетичної терапії системної запальної відповіді. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.). Тернопіль; 2022. С.33. *(Здобувачці належать результати щодо ролі кверцетину як засобу патогенетичної терапії травматичного процесу).*

7. Нестуля КІ. Маркери деструкції органічного матриксу нижньої щелепи щурів після її неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: VI науково-практична Інтернет-конференція з міжнародною участю: тези доп. (Харків, 16 листопада 2023 р.). Харків: Вид-во НФаУ; 2023. С. 337-338.

*3) які додатково відображають наукові результати дисертації:*

8. Nestulia KI, Ksonz IV, Bilash SM, Koptev MM, Vasko LM. The possibilities of cone-beam computer tomography in the diagnostic of fractures of the mandible within the dental row. *Wiad Lek.* 2021;74(6):1372-1375. DOI: 10.36740/WLek202106116 (**Scopus**) *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).*

9. Нестуля КІ, Ксьонз ІВ, Акімов ОЄ, Міщенко АВ, Костенко ВО. Технологія експериментального моделювання перелому нижньої щелепи. Реєстраційна картка технології (РКТ): державний реєстраційний

№ 0624U000056. *(Здобувачці належать ідея та методика реалізації технології експериментального моделювання перелому нижньої щелепи).*

## **Додаток Б**

### **ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Пленум Українського наукового товариства патофізіологів (Тернопіль, 15-17 вересня 2022 р., публікація матеріалів).
2. XIII Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р., усна доповідь).
3. VI науково-практична Інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна» (Харків, 16 листопада 2023 р., публікація матеріалів).

## Додаток В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної  
роботи Полтавського державного  
медичного університету, професор

Валентин Дворник

11 вересня 2024 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Назва впровадження:** Механізми порушення репаративного остеогенезу за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

**2. Установа-розробник, автор:** Полтавський державний медичний університет МОЗ України, кафедра патофізіології, здобувачка кафедри, асистент кафедри онкології та радіології з радіаційною медициною Нестуля Катерина Ігорівна.

**3. Джерело інформації:**

1. Нестуля КІ, Костенко ВО. Вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 на метаболічні характеристики кісток нижньої щелепи щурів у відновлювальному періоді після їх неповного перелому на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2024;23(1):114-118.

2. Нестуля КІ, Старченко П, Костенко ВО. Вплив кверцетину на патоморфологічні характеристики кісток нижньої щелепи щурів після її перелому на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2024; 24(2):120-124.

3. Нестуля КІ, Ксьонз ІВ, Макаренко ВІ, Макаренко ОВ, Костенко ВО. Вплив кверцетину на органічний матрикс і біомеханічні властивості нижньої щелепи щурів після її неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. *Фізіол. журн*. 2024;70(3):51-58.

**4. Де впроваджено:** на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету.

**5. Терміни впровадження:** березень-травень 2024 р.

**6. Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень Нестулі Катерини Ігорівни в навчальному дозволяє розширити знання здобувачів вищої освіти про роль нітрозативного стресу в порушенні репаративного остеогенезу.

**7. Зауваження та пропозиції:** Немає.

**8. Обговорено** на засіданні кафедри 26 серпня 2024 р., протокол № 1.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патофізіології

Полтавського державного

медичного університету,

д.мед.н., професор

Віталій Костенко





### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Закономірності відновлення органічного матриксу та біомеханічних властивостей нижньої щелепи щурів після її неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Полтавський державний медичний університет, м. Полтава, вул. Шевченко, 23, 36000, кафедра патофізіології. Здобувачка – ас. Нестуля К.І.
3. **Джерело інформації:**  
 Нестуля КІ, Ксьонз ІВ, Макаренко ВІ, Макаренко ОВ, Костенко ВО. Вплив кверцетину на органічний матрикс і біомеханічні властивості нижньої щелепи щурів після її неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Фізіологічний журнал. 2024;70(3): 51-58. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz70.03.051>  
 Встановлено, що введення щурам водорозчинної форми кверцетину протягом 14 діб після неповного перелому нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації покращує репаративні процеси в ділянці пошкодження, обмежує процеси резорбції кістки та деполімеризації біополімерів сполучної (кісткової) тканини – колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів. За цих умов посилюються біомеханічні властивості нижньощелепної кістки у ділянці перелому, збільшує її пружність і міцність.
4. **Впроваджено:** на кафедрі патофізіології Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та практичних заняттях за темою: «Патофізіологія системи травлення».
6. **Результати впровадження:** використання результатів роботи Нестулі К.І. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про механізми репаративного остеогенезу нижньої щелепи за умов алкогольної інтоксикації.
7. **Термін впровадження:** 2024 р.
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патофізіології

Івано-Франківського національного медичного університету,

Заслужений діяч науки і техніки України,

д. мед. н., професор

Любомир ЗАЯЦЬ



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Запорізького державного  
медико-фармацевтичного університету,  
доктор медичних наук, професор,



Вадим ВІЗІР

« 25 »

2024 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** Роль транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 у механізмах регенерації кісток нижньої щелепи після їх перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

**2. Установа, автор:** Полтавський державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36000. Ас. Нестуля Катерина Ігорівна

**3. Джерело інформації:**

Нестуля КІ, Костенко ВО. Вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 на метаболічні характеристики кісток нижньої щелепи шурів у відновлювальному періоді після їх неповного перелому на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024;23(1):114-118.

**4. Де впроваджено:** Запорізький державний медико-фармацевтичний університет. Кафедра патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології,

**5. Форма впровадження:** навчальний процес, у курсі лекцій та практичних занять за темою «Патофізіологія клітини».

**6. Ефективність впровадження:** викладається додаткова інформація, що сприяє кращому засвоєнню матеріалу.

**7. Строки впровадження:** березень-травень 2024 р.

**8. Зауваження та пропозиції:** Немає.

**9. Обговорено** на засіданні кафедри « 21 » 06 2024 р., протокол № 15

Відповідальна за впровадження:

Завідувачка кафедри патологічної фізіології

з курсом нормальної фізіології

Запорізького державного медико-фармацевтичного університету,

д.мед.н., професор

Ольга ГАНЧЕВА

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор

Чорноморського національного  
університету імені Петра Могили,  
д.і.н., професор

Юрій КОТЛЯР

« 11 вересня » 2024 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Пропозиція для впровадження:** Механізми деструкції органічного матриксу нижньої щелепи щурів у відновлювальному періоді після їх неповного перелому.

**2. Установа-розробник:** Полтавський державний медичний університет, кафедра патофізіології, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36000. Асистентка кафедри онкології та радіології з радіаційною медициною Нестуля Катерина Ігорівна.

**3. Джерело інформації:**

Нестуля КІ, Костенко ВО. Механізми нітрозативного стресу та деструкції органічного матриксу нижньої щелепи щурів у відновлювальному періоді після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2023;23(3):126-129. DOI: 10.31718/2077-1096.23.3.126

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** Чорноморський національний університет імені Петра Могили, корпус №4, вулиця Десантників, 68, Миколаїв, Миколаївська область, 54000.

**5. Термін впровадження:** вересень-грудень 2023 р.

**6. Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – в лекційному курсі та на практичних заняттях з курсу патофізіології (за темою «Патофізіологія системи травлення»).

**7. Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

професор кафедри медичної біології та фізики,  
мікробіології, гістології, фізіології  
та патофізіології Чорноморського національного  
університету імені Петра Могили,  
доктор мед. наук, професор

Микола КЛИМЕНКО