

ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ВОЛКОВА ОКСАНА АНАТОЛІВНА

УДК 616.831-002:615.21/.27:612.08

ДИСЕРТАЦІЯ

**NF-κB-ЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ МЕТАБОЛІЧНИХ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ
РОЗЛАДІВ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ЗМІНІ ТРИВАЛОСТІ ЦИКЛІВ
«СВІТЛО-ТЕМРЯВА» ЗА УМОВ ЛІПОПОЛІСАХАРИД-ІНДУКОВАНОЇ
СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ**

222 Медицина

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

_____ О.А. Волкова

Науковий керівник

Костенко Віталій Олександрович
доктор медичних наук, професор

Полтава – 2025

АНОТАЦІЯ

Волкова О.А. NF-κB-залежні механізми метаболічних та функціональних розладів головного мозку при зміні тривалості циклів «світло-темрява» та за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина». – Полтавський державний медичний університет МОЗ України, Полтава, 2025.

У дисертації наведене теоретичне узагальнення і розв’язання наукового завдання, що полягає у з’ясуванні впливу транскрипційного фактора NF-κB на розвиток біохімічних і функціональних змін у великих півкулях головного мозку за умов поєднання ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді та зміни тривалості циклів «світло-темрява».

Експерименти виконані на 161 білих щурах лінії Wistar масою 180-220 г. Використовували експериментальні, біохімічні, функціональні та математико-статистичні методи дослідження.

Виявлено, що модельований гострий десинхроноз призводить до розвитку оксидативного стресу, зниження антиоксидантного захисту та збільшення вмісту токсичних метаболітів оксиду азоту в тканинах головного мозку щурів: підвищується швидкість базової продукції супероксидного аніон-радикала на 75,8%, $p < 0,001$, мікросомальним шляхом - на 20,2%, $p < 0,001$, в мітохондріях - на 28,0%, $p < 0,001$, вміст і приріст ТБК-реактантів відповідно на 36,8%, $p < 0,001$ і 30,2%, $p < 0,001$, зменшується активність супероксиддисмутази на 53,3%, $p < 0,001$, каталази на 14,3%, $p < 0,001$. Також порушення світлового режиму знижує загальну активність NOS на 59,1%, $p < 0,001$, її ізоформ iNOS на 61,1%, $p < 0,001$, cNOS на 9,0%, $p < 0,001$, але збільшує концентрацію пероксинітритів - на 69,3% $p < 0,001$, нітритів - на 23,8%, $p < 0,05$, нітрозотіолів - на 19,2%, $p < 0,05$ та активність орнітиндекарбоксилази - на 26,5%, $p < 0,05$, що може свідчити про розвиток нітрозативного стресу.

За умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді інтенсивність вільнорадикальних процесів збільшується, але це супроводжується зростанням активності антиоксидантної ферментативної системи. Загальна активність NOS та її ізоформ (iNOS, cNOS) знижується в меншій мірі, ніж при гострому десинхронозі, але в більшій мірі підвищується активність орнітиндекарбоксилази та вміст в тканинах пероксинітритів, концентрація нітрозотіолів знижується, нітритів – незначно підвищується.

Вперше встановлено, що при поєднанні системної запальної відповіді та гострого десинхронозу інтенсивність вільнорадикальних процесів зростає, активність ферментативної антиоксидантної системи знижується в більшій мірі, ніж при окремому їх відтворенні: швидкість базової продукції супероксидного аніон-радикала збільшується на 8,3%, $p < 0,001$ порівняно з системною запальною відповіддю та на 41,2%, $p < 0,001$ порівняно з гострим десинхронозом, приріст ТБК-реактантів зростає на 31,5%, $p < 0,001$ та 20,9%, $p < 0,001$ щодо гострого десинхронозу та системної запальної відповіді відповідно, їх концентрація на 20,7%, $p < 0,001$ і 9,4%, $p < 0,001$ відповідно, активність супероксиддисмутази знижується на 25%, $p < 0,05$, хоча каталази підвищується на 4%, $p < 0,001$ порівняно з гострим десинхронозом та зменшуються на 52%, $p < 0,001$ і 8,2%, $p < 0,001$ порівняно з системною запальною відповіддю, знижуються активності загальної NOS на 16,4%, $p < 0,01$ порівняно з гострим десинхронозом, 35,6%, $p < 0,001$ в порівнянні з системною запальною відповіддю, та iNOS – на 18%, $p < 0,01$ і 37,5%, $p < 0,001$ відповідно.

Було вперше з'ясовано закономірності впливу модуляторів циркадіаного осцилятора на метаболічні процеси у головному мозку за умов поєднання ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді та зміни циклів «світло-темрява». Додавання глутамату натрію за умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу суттєво посилює інтенсивність оксидативно-нітрозативних процесів у великих півкулях головного мозку, на що вказують підвищення швидкості продукції супероксидного аніон-радикала на 11,1%, $p < 0,01$, зростання вмісту ТБК-активних продуктів на 11,1%, $p < 0,001$,

пригнічення активності супероксиддисмутази на 26,7%, $p < 0,01$, каталази на 30,6%, $p < 0,001$, збільшення концентрації пероксинітритів на 25,5%, $p < 0,001$. Зростають загальна активність NOS та iNOS (на 267,5%, $p < 0,001$ і 300%, $p < 0,001$), але знижується cNOS на 11,5%, $p < 0,001$, що може сприяти розвитку дисфункції судин.

Виявлено вперше, що ведення флуоксетину при поєднанні системної запальної відповіді і гострого десинхронозу зменшує інтенсивність вільнорадикальних процесів: знижуються швидкість базової продукції супероксидного аніон-радикала на 35,4%, $p < 0,001$, концентрація і приріст ТБК-реактантів відповідно на 23,7%, $p < 0,001$ і 54,3%, $p < 0,001$, зростає активність супероксиддисмутази на 85,7%, $p < 0,001$, каталази - на 12,4%, $p < 0,001$. Але зменшується загальна активність NOS на 55%, $p < 0,001$, iNOS на 60%, $p < 0,001$, cNOS на 16,5%, $p < 0,001$, посилюється нітрозативний стрес, про що свідчить зростання в тканинах концентрації пероксинітритів на 37,5%, $p < 0,001$, нітрозотіолів на 76,8%, $p < 0,001$.

Введення 40% розчину етанолу за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу зменшує активність оксидативно-нітрозативного стресу: знижується швидкість базової продукції супероксидного аніон-радикала на 25,0%, $p < 0,001$, в мікросомах на 4,2%, $p < 0,01$, в мітохондріях на 5,6%, $p < 0,01$, приріст ТБК-активних продуктів на 6,8%, $p < 0,001$, хоча збільшується їх концентрація на 5,1%, $p < 0,001$, знижується концентрація пероксинітритів на 18,1%, $p < 0,01$, зростає загальна активність NOS на 17,8%, $p < 0,01$, iNOS на 22%, $p < 0,01$, cNOS зменшується на 20,2%, $p < 0,001$, підвищується вміст нітрозотіолів на 43,8%, $p < 0,001$.

Введення інгібітора транскрипційного фактора NF- κ B піролідіндитіокарбамату амонію за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу прискорює швидкість базової продукції супероксидного аніон-радикала на 22,9%, $p < 0,001$, збільшує концентрацію і приріст ТБК-активних сполук на 14,2%, $p < 0,001$ і 19,6%, $p < 0,001$, знижує активність супероксиддисмутази на 36,6%, $p < 0,001$, каталази на 7,3%, $p < 0,001$,

що свідчить про посилення вільнорадикальних процесів в тканинах головного мозку. За цих умов піролідиндитіокарбамату амонію сповільнює активність загальної NOS на 35,7%, $p < 0,001$ та iNOS на 40%, $p < 0,001$, cNOS на 7,8%, $p < 0,001$, підвищує вміст пероксинітритів на 31,3%, $p < 0,001$, нітрозотіолів на 9,1%, $p < 0,05$, що вказує на можливість посилення нітрозативного стресу.

Вперше з'ясовано, що глутамат натрію на фоні додавання піролідиндитіокарбамату амонію за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу зменшує продукцію активних форм кисню і процеси пероксидного окиснення ліпідів та посилює антиоксидантний захист: знижує швидкість базової продукції супероксидного аніон-радикала на 10%, $p < 0,01$, концентрацію і приріст ТБК-активних сполук відповідно на 6,6%, $p < 0,001$, і 14,6%, $p < 0,001$, підвищує активність супероксиддисмутази на 35,2%, $p < 0,05$, каталази на 10,5%, $p < 0,05$, зменшує накопичення пероксинітритів в тканинах на 6,5%, $p < 0,001$ порівняно з групою поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронозу та глутамату натрію .

Виявлено вперше, що флуоксетин після введення піролідиндитіокарбамату амонію при поєднанні системної запальної відповіді і гострого десинхронозу збільшує швидкість базової продукції супероксидного аніон-радикала на 21,5%, $p < 0,01$ та концентрацію ТБК-активних сполук на 12,1%, $p < 0,001$, натомість зменшує їх приріст на 34,6%, $p < 0,001$, покращує роботу ферментативної антиоксидантної системи та NO-синтазної: активність загальної NOS зростає на 164%, $p < 0,001$, iNOS на 200%, $p < 0,001$, cNOS на 11,7%, $p < 0,001$, знижує можливість розвитку нітрозативного стресу (зменшується концентрація пероксинітритів на 15,2%, $p < 0,01$, нітрозотіолів на 44,4%, $p < 0,01$) порівняно з групою поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронозу та флуоксетину.

40% розчин етанолу після застосування піролідиндитіокарбамату амонію за умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу знижує інтенсивність вільнорадикальних процесів, концентрацію пероксинітритів в тканинах, суттєво підвищує активність антиоксидантних

ферментів та NO-синтазної системи порівняно з групою поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронозу, введення 40% розчину етанолу.

Неврологічний дефіцит внаслідок порушення координації, зміни поведінки виникає при гострому десинхронозі у 61,5%, $p < 0,05$ та 57,1%, $p < 0,05$ тварин при поєднанні системної запальної відповіді і гострого десинхронозу. Найвищий показник неврологічного дефіциту відмічається у групах при поєднанні системної запальної відповіді, гострого десинхронозу і введення 40% розчину етанолу та за цих умов і дії глутамату натрію. Зниження тонуспостерігається лише у 53,3%, $p < 0,05$ тварин після введення 40% розчину етанолу та у 28,6%, $p < 0,05$ при поєднанні системної запальної відповіді і гострого десинхронозу.

Виявлено вперше, що після додавання інгібітора транскрипційного фактора NF- κ B піролідиндитіокарбамату при поєднанні системної запальної відповіді і гострого десинхронозу покращується показник неврологічного дефіциту у групі з додатковою дією глутамату і погіршується після введення флуоксетину. Найвищий показник неврологічного дефіциту після застосування піролідиндитіокарбамату амонію залишається у групі з додатковою дією 40% розчину етанолу. Введення піролідиндитіокарбамату амонію при поєднанні системної запальної відповіді, гострого десинхронозу та дії глутамату зменшує кількість тварин з неврологічним дефіцитом та розладами координації рухів на 86,7%, $p < 0,05$, зі зміною поведінки на 84,6%, $p < 0,05$. Застосування інгібітора транскрипційного фактора NF- κ B піролідиндитіокарбамату при поєднанні системної запальної відповіді, гострого десинхронозу та дії флуоксетину вдвічі підвищує кількість тварин з неврологічним дефіцитом, розладами координації рухів та зміною поведінки. В групі поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронозу, дії глутамату та введення піролідиндитіокарбамату амонію відмічається найнищий показник неврологічного дефіциту. Всі тварини за умов поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронозу, дії 40% розчину етанолу та введення піролідиндитіокарбамату амонію мають

неврологічний дефіцит, тут спостерігається найвищий показник неврологічного дефіциту.

Після моделювання гострого десинхронозу у щурів відмічається зниження рухової та дослідницької активності, тривожність. У всіх групах щурів, яким за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу вводили модулятори, спостерігається суттєве зниження рухової і дослідницької активності, орієнтувальних реакцій, наявність страху чи агресії. Найбільш виражені зміни виникають за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу та дії 40% розчину етанолу. Застосування блокатора транскрипційного фактора NF- κ B за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу та дії як глутамату натрію, так і 40% розчину етанолу суттєво покращує рухову, дослідницьку, орієнтувальну активності, зменшує тривожність, страх.

Ключові слова: циркадіанні ритми, десинхроноз, світлова експозиція, фотоперіод, ліпополісахарид-індуковане запалення, активні форми кисню, оксидативний і нітрозативний стрес, головний мозок, хронічна ішемія головного мозку, моторна активність, тест «відкрите поле», розлади поведінки (тривожність, депресія), неврологічний дефіцит, алкоголь, глутамат натрію.

ABSTRACT

Volkova O.A. NF- κ B-dependent mechanisms of metabolic and functional brain disorders under altered light-dark cycle duration and under conditions of lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response. – A qualifying scientific work submitted as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 222 “Medicine.” - Poltava State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Poltava, 2025.

The thesis provides a theoretical generalization and solution to the scientific task of determining the effect of the transcription factor NF- κ B on the development of biochemical and functional changes in the cerebral cortex under conditions of a combination of lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response and changes in the duration of light-dark cycles.

The experiments were performed on 161 white Wistar rats weighing 180-220 g. Experimental, biochemical, functional, and mathematical and statistical methods were used.

It was found that the modeled acute desynchronization leads to the development of oxidative stress, a decrease in antioxidant defense and an increase in the content of toxic nitric oxide metabolites in rat brain tissue: the rate of basic production of superoxide anion radical increases by 75.8%, $p < 0.001$, by microsomal pathway - by 20.2%, $p < 0.001$, in mitochondria - by 28.0%, $p < 0.001$, the content and increase of TBK-reactants by 36.8%, $p < 0.001$ and 30.2%, $p < 0.001$, respectively, the activity of superoxide dismutase decreased by 53.3%, $p < 0.001$, catalase by 14.3%, $p < 0.001$. In addition, the violation of the light regime reduces the total activity of NOS by 59.1%, $p < 0.001$, its isoforms iNOS by 61.1%, $p < 0.001$, cNOS by 9.0%, $p < 0.001$, but increases the concentration of peroxynitrite by 69.3%, $p < 0.001$, nitrite - by 23.8%, $p < 0.05$, nitrosothiols - by 19.2%, $p < 0.05$ and ornithine decarboxylase activity - by 26.5%, $p < 0.05$, which may indicate the development of nitrosative stress.

Under the conditions of lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response, the intensity of free radical processes increases, but this is accompanied by an increase in the activity of the antioxidant enzymatic system. The total activity of NOS and its isoforms (iNOS, cNOS) decreases to a lesser extent than in acute desynchronization, but the activity of ornithine decarboxylase and the content of peroxynitrite in tissues increase, the concentration of nitrosothiols decreases, and nitrite slightly increases.

For the first time, it was found that the combination of a systemic inflammatory response and acute desynchronization increases the intensity of free radical processes, and the activity of the enzymatic antioxidant system decreases to a greater extent than

in their separate reproduction: the rate of basic production of superoxide anion radical increases by 8.3%, $p < 0.001$ compared to the systemic inflammatory response and by 41.2%, $p < 0.001$ compared to acute desynchronization, increase of TBA-reactants increased by 31.5%, $p < 0.001$ and 20.9%, $p < 0.001$ in relation to acute desynchronization and systemic inflammatory response, respectively, their concentration by 20.7%, $p < 0.001$ and 9.4%, $p < 0.001$, respectively, superoxide dismutase activity decreased by 25%, $p < 0.05$, although catalase activity increased by 4%, $p < 0.001$ compared to acute desynchronization and decreased by 52%, $p < 0.001$ and 8.2%, $p < 0.001$ compared to the systemic inflammatory response, decreased activity of total NOS by 16.4%, $p < 0.01$ compared to acute desynchronization, 35.6%, $p < 0.001$ compared to the systemic inflammatory response, and iNOS - by 18%, $p < 0.01$ and 37.5%, $p < 0.001$, respectively.

For the first time, the patterns of influence of circadian oscillator modulators on metabolic processes in the brain under conditions of a combination of lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response and changes in the light-dark cycles were elucidated. The addition of sodium glutamate in the context of a combination of a systemic inflammatory response and acute desynchronization significantly increases the intensity of oxidative and nitrosative processes in the cerebral hemispheres, as evidenced by an increase in the rate of superoxide anion radical production by 11.1%, $p < 0.01$, an increase in the content of TBA-active products by 11.1%, $p < 0.001$, inhibition of superoxide dismutase activity by 26.7%, $p < 0.01$, catalase by 30.6%, $p < 0.001$, and an increase in the concentration of peroxynitrite by 25.5%, $p < 0.001$. The total activity of NOS and iNOS increased (by 267.5%, $p < 0.001$ and 300%, $p < 0.001$), but cNOS decreased by 11.5%, $p < 0.001$, which may contribute to the development of vascular dysfunction.

It was revealed for the first time that fluoxetine administration in combination with a systemic inflammatory response and acute desynchronization reduces the intensity of free radical processes: the rate of basic production of superoxide anion radical decreases by 35.4%, $p < 0.001$, the concentration and increase of TBK-reactants by 23.7%, $p < 0.001$ and 54.3%, $p < 0.001$, respectively, the activity of superoxide

dismutase increases by 85.7%, $p<0.001$, and catalase by 12.4%, $p<0.001$. However, the total activity of NOS decreased by 55%, $p<0.001$, iNOS by 60%, $p<0.001$, cNOS by 16.5%, $p<0.001$, nitrosative stress increased, as evidenced by an increase in the concentration of peroxynitrite in tissues by 37.5%, $p<0.001$, nitrosothiols by 76.8%, $p<0.001$.

The administration of 40% ethanol solution under conditions of a combination of systemic inflammatory response and acute desynchronization reduces the activity of oxidative-nitrosative stress: the rate of basic production of superoxide anion radical decreases by 25.0%, $p<0.001$, in microsomes by 4.2%, $p<0.01$, in mitochondria by 5.6%, $p<0.01$, the increase of TBA-active products by 6.8%, $p<0.001$, although their concentration increases by 5.1%, $p<0.001$, peroxynitrite concentration decreased by 18.1%, $p<0.01$, total NOS activity increased by 17.8%, $p<0.01$, iNOS by 22%, $p<0.01$, cNOS decreased by 20.2%, $p<0.001$, $p<0.05$, and nitrosothiols content by 43.8%, $p<0.001$.

The introduction of an inhibitor of the transcription factor NF- κ B, ammonium pyrrolidinium dithiocarbamate, under conditions of a combination of a systemic inflammatory response and acute desynchronization accelerates the rate of basic production of superoxide anion radical by 22.9%, $p<0.001$, increases the concentration and increase of TBA-active compounds by 14.2%, $p<0.001$ and 19.6%, $p<0.001$, reduces the activity of superoxide dismutase by 36.6%, $p<0.001$, catalase by 7.3%, $p<0.001$, indicating an increase in free radical processes in brain tissue. Under these conditions, ammonium pyrrolidine dithiocarbamate slows down the activity of total NOS by 35.7%, $p<0.001$, and iNOS by 40%, $p<0.001$, cNOS by 7.8%, $p<0.001$, increases the content of peroxynitrite by 31.3%, $p<0.001$, nitrosothiols by 9.1%, $p<0.05$, indicating the possibility of increased nitrosative stress.

For the first time, it was detected that sodium glutamate in the presence of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate in the context of a combination of systemic inflammatory response and acute desynchronization reduces the production of reactive oxygen species and lipid peroxidation processes and enhances antioxidant protection: reduces the rate of basic production of superoxide anion radical by 10%, $p<0.01$, the

concentration and increase of TBA-active compounds by 6.6%, $p < 0.001$, and 14.6%, $p < 0.001$, respectively, increases the activity of superoxide dismutase by 35, 2%, $p < 0.05$, catalase by 10.5%, $p < 0.05$, reduces the accumulation of peroxynitrites in tissues by 6.5%, $p < 0.001$ compared to the group of combination of systemic inflammatory response, acute desynchronization and sodium glutamate.

It was found for the first time that fluoxetine after administration of ammonium pyrrolidinium dithiocarbamate in combination with a systemic inflammatory response and acute desynchronization increases the rate of basic production of superoxide anion radical by 21, 5%, $p < 0.01$ and the concentration of TBA-active compounds by 12.1%, $p < 0.001$, while reducing their increase by 34.6%, $p < 0.001$, improves the functioning of the enzymatic antioxidant system and NO synthase: the activity of total NOS increases by 164%, $p < 0.001$, iNOS by 200%, $p < 0.001$, cNOS by 11.7%, $p < 0.001$, reduces the possibility of nitrosative stress (decreases the concentration of peroxynitrites by 15.2%, $p < 0.01$, nitrosothiols by 44.4%, $p < 0.01$) compared to the group of combination of systemic inflammatory response, acute desynchronization and fluoxetine.

40% ethanol solution after the use of ammonium pyrrolidinium dithiocarbamate in the setting of a combination of systemic inflammatory response and acute desynchronization reduces the intensity of free radical processes, the concentration of peroxynitrites in tissues, significantly increases the activity of antioxidant enzymes and NO synthase system compared to the group of combination of systemic inflammatory response, acute desynchronization, and administration of 40% ethanol solution.

Neurological deficit due to impaired coordination, behavioral changes occurs in acute desynchronization in 61.5%, $p < 0.05$ and 57.1%, $p < 0.05$ of animals in the combination of systemic inflammatory response and acute desynchronization. The highest rate of neurological deficit was observed in the groups with a combination of systemic inflammatory response, acute desynchronization and administration of 40% ethanol solution and under these conditions and the action of sodium glutamate. A decrease in tone was observed only in 53.3%, $p < 0.05$, of animals after administration

of 40% ethanol solution and in 28.6%, $p < 0.05$, in the combination of a systemic inflammatory response and acute desynchronization.

It was found for the first time that after the addition of the NF- κ B transcription factor inhibitor pyrrolidine dithiocarbamate in combination with a systemic inflammatory response and acute desynchronization, the neurological deficit score improves in the group with additional glutamate and worsens after fluoxetine administration. The highest rate of neurological deficit after the use of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate remains in the group with the additional effect of 40% ethanol solution. The administration of ammonium pyrrolidinium dithiocarbamate in combination with a systemic inflammatory response, acute desynchronization and glutamate action reduces the number of animals with neurological deficits and movement coordination disorders by 86.7%, $p < 0.05$, with behavioral changes by 84.6%, $p < 0.05$. The use of the NF- κ B transcription factor inhibitor pyrrolidine dithiocarbamate in combination with a systemic inflammatory response, acute desynchronization and fluoxetine doubled the number of animals with neurological deficits, movement coordination disorders and behavioral changes. In the group of combination of systemic inflammatory response, acute desynchronization, glutamate and ammonium pyrrolidinium dithiocarbamate administration, the lowest rate of neurological deficit was observed. All animals with a combination of a systemic inflammatory response, acute desynchronization, 40% ethanol solution and ammonium pyrrolidinium dithiocarbamate administration have a neurological deficit, with the highest rate of neurological deficit.

After modeling of acute desynchronization, rats showed a decrease in motor and exploratory activity, anxiety. In all groups of rats treated with modulators under conditions of a combination of a systemic inflammatory response and acute desynchronization, a significant decrease in motor and exploratory activity, orientation reactions, and the presence of fear or aggression was observed. The most pronounced changes occur when a systemic inflammatory response and acute desynchronization are combined with the effect of 40% ethanol solution. The use of a blocker of the transcription factor NF- κ B in the conditions of a combination of systemic

inflammatory response and acute desynchronization and the action of both sodium glutamate and 40% ethanol solution significantly improves motor, exploratory, orientation activities, reduces anxiety, fear.

Key words: circadian rhythms, desynchronization, light exposure, photoperiod, lipopolysaccharide-induced inflammation, reactive oxygen species, oxidative and nitrosative stress, brain, chronic cerebral ischemia, motor activity, open field test, behavioral disorders (anxiety, depression), neurological deficit, alcohol, sodium glutamate.

Список публікацій здобувача за темою дисертації.

1). в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Волкова ОА. Оксидативні механізми пошкодження клітин головного мозку при зміні циклів «світло-темрява». Актуальні проблеми сучасної медицини Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2023;23(2):17-21.

2. Волкова ОА., Акімов ОЄ., Костенко ВО. Вплив глутамату натрію на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу у великих півкулях головного мозку щурів при поєднанні зміни циклу «світло-темрява» та системної запальної відповіді. Сучасні медичні технології. 2024;(2):115-121. Scopus, Q4. (Безпосередньо дисертантом виконано аналіз літературних даних, організація та проведення досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).

3. Волкова ОА., Костенко ВО. Інтенсивність розвитку оксидативного стресу у великих півкулях головного мозку щурів за умов поєднаної дії системної запальної відповіді, зміни нормального циклу «світло-темрява» та введення флуоксетину. Проблеми екології та медицини. 2024;(2):13-18. (Дисертантом виконано аналіз літературних даних, організація та проведення досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).

4. Волкова ОА., Костенко ВО. Вплив NF-κB на інтенсивність оксидативного стресу у великих півкулях головного мозку щурів при поєднанні зміни циклу «світло-темрява» і системної запальної відповіді та введення глутамату натрію. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024;24(3):104-107. (Дисертантом виконано аналіз літературних даних, організація та проведення досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).

2) які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Волкова ОА. Вплив десинхронозу на продукцію реактивних форм азоту в тканинах головного мозку щурів. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XIII Всеукраїнської науково-

практичної конференції (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022р.). Тернопіль:ТНМУ; 2022. С.15.

6. 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.

7. Волкова ОА. Вплив десинхронозу на інтенсивність перекисного окислення ліпідів та стан антиоксидантної системи в тканинах головного мозку щурів. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: матеріали V науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю (Харків, 17 листопада 2022р.). Харків: НФаУ; 2022. С.103-104.

8. Волкова ОА. Вплив порушення тривалості циклів «світло-темрява» на інтенсивність перекисного окислення ліпідів та стан антиоксидантної системи в тканинах головного мозку щурів за умов системної запальної відповіді. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю (Харків, 15 листопада 2023 р.). Харків: НФаУ; 2023. С.137-138.

9. Волкова ОА. Результат дії флуоксетину на продукцію реактивних форм азоту в тканинах головного мозку щурів за умов поєднання десинхронозу та системної запальної відповіді. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції (Тернопіль, 23-25 жовтня 2024р.). Тернопіль: ТНМУ; 2024. С.15.

10. Волкова ОА. Наслідки дії NF-κB на перебіг оксидативного стресу у великих півкулях головного мозку щурів при поєднанні системної запальної відповіді та зміни циклу «світло-темрява». Механізми розвитку патологічних

процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю (Харків, 14 листопада 2024 р.). Харків: НФаУ; 2024, с.112-113.

3) які додатково відображають наукові результати дисертації:

11. Реєстраційна картка технології № 0624U000094. Технологія експериментального моделювання гострого десинхронозу / заяв. В.О. Костенко, А.В. Міщенко, О.Є. Акімов, В.Г. Костенко, О.М. Гутнік, О.А. Волкова; власник Полтавський державний медичний університет. – № Держреєстрації НДДКР : 0124U000092. – Дата реєстрації: 04.10.24.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	20
ВСТУП	22
РОЗДІЛ 1. ВПЛИВ ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРА NF-κB НА ПАТОГЕНЕЗ МЕТАБОЛІЧНИХ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОРУШЕНЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА УМОВ ЛІПОПОЛІСАХАРИД-ІНДУКОВАНОЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ ТА ЗМІНИ ТРИВАЛОСТІ ЦИКЛІВ «СВІТЛО-ТЕМРЯВА»	30
1.1. Системна запальна відповідь та роль ядерних транскрипційних факторів, зокрема NF-κB, у розвитку запальних процесів головного мозку	30
1.2. Значення порушень біологічних циклів «світло-темрява» у функціонально - метаболічних розладах головного мозку.	40
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	49
2.1. Загальна характеристика матеріалів та методів дослідження	49
2.2. Розподіл тварин на групи	49
2.3. Експериментальні моделі	50
2.4. Біохімічні методи дослідження	51
2.5. Методи дослідження неврологічного статусу щурів	53
2.6. Методи дослідження поведінкових реакцій	56
2.7. Математико – статистичні методи	56
РОЗДІЛ 3. МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ В ТКАНИНАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ ПОРУШЕННЯХ БІОРИТМУ «СВІТЛО - ТЕМРЯВА» ЗА УМОВ ЛІПОПОЛІСАХАРИД – ІНДУКОВАНОЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ	58
3.1. Активність вільнорадикальних процесів у великих півкулях головного мозку щурів при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу	58
3.2. Стан NO-ергічної системи в тканинах головного мозку щурів при порушенні циклів «світло - темрява» за умов системної запальної відповіді	61

3.3. Робота ферментативної антиоксидантної системи за умов порушення біоритмів «світло-темрява» та системної запальної відповіді 68

РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ЦИРКАДІАННОГО ОСЦИЛЯТОРА НА СТАН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА NO-ЕРГІЧНУ СИСТЕМУ У ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТВАРИН ЗА УМОВ ПОЄДНАННЯ ПОРУШЕННЯ ЦИКЛУ «СВІТЛО-ТЕМРЯВА» ТА ЛІПОПОЛІСАХАРИД – ІНДУКОВАНОЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ 73

4.1. Значення модуляторів циклів «світло-темрява» у перебігу вільнорадикальних процесів у великих півкулях головного мозку щурів при поєднанні системної запальної відповіді та гострого десинхронозу 73

4.2. Дія модуляторів циркадіанного осцилятора на стан NO-синтазної системи за умов поєднання системної запальної відповіді та порушення циклів «світло-темрява» 76

4.3. Вплив модуляторів циркадіанного осцилятора на показники антиоксидантної системи за умов ліпополісахарид - індукованої системної запальної відповіді при порушенні циклів «світло-темрява» 83

РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ NF-κB – ОПОСЕРЕДКОВАНИХ ЗМІН БІОРИТМУ «СВІТЛО - ТЕМРЯВА» НА МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ ПОРУШЕННІ БІОРИТМУ ЗА УМОВ ЛІПОПОЛІСАХАРИД – ІНДУКОВАНОЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ 88

5.1. Дія поєднаного застосування інгібітора активації NF-κB і модуляторів циклів «світло-темрява» на продукцію супероксидного аніон-радикала в тканинах головного мозку щурів при порушенні світлового режиму за умов системної запальної відповіді 88

5.2. Наслідки поєднаного застосування інгібітора активації NF-κB і модуляторів циркадіанного осцилятора на роботу NO-ергічної системи у великих півкулях головного мозку щурів при порушенні циклів «світло-темрява» за умов ліпополісахарид - індукованої системної запальної відповіді 92

5.3. Вплив поєднаного застосування транскрипційного фактора NF-κB і модуляторів циклів «світло-темрява» на показники антиоксидантного стану за умов гострого десинхронозу і системної запальної відповіді	100
РОЗДІЛ 6. ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ЦИРКАДІАННОГО ОСЦИЛЯТОРА НА НЕВРОЛОГІЧНИЙ СТАТУС ТА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ЩУРІВ ЗА УМОВ ПОЄДНАННЯ ПОРУШЕННЯ ЦИКЛУ «СВІТЛО-ТЕМРЯВА» І ЛІПОПОЛІСАХАРИД – ІНДУКОВАНОЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ НА ФОНІ ЗАСТОСУВАННЯ БЛОКАТОРА ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРА NF-κB	106
6.1. Розвиток неврологічного дефіциту в інтактних тварин, при гострому десинхронозі, при системній запальній відповіді та при їх поєднанні	106
6.2. Вплив модуляторів глутамату натрію, флуоксетину, 40% розчину етанолу на розвиток неврологічного дефіциту та порушень функціональних проб за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу	109
6.3. Дія модуляторів циркадіанного осцилятора на неврологічний стан щурів за умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу на фоні застосування блокатора транскрипційного фактора NF-κB	112
6.4. Стан поведінкових реакцій щурів у тесті «відкрите поле» за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу та дії модуляторів циркадіанного осцилятора	118
6.5. Вплив модуляторів біоритмів на поведінкові реакції у тесті «відкрите поле» при поєднанні системної запальної відповіді та гострого десинхронозу на тлі застосування блокатора транскрипційного фактора NF-κB	121
РОЗДІЛ 7. Аналіз та узагальнення результатів дослідження	125
ВИСНОВКИ	135
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	140
ДОДАТКИ	159

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АДФ – аденозиндифосфат

АКТГ - адренкортикотропний гормон

АТФ – аденозинтрифосфат

АФА - активні форми азоту

АФК – активні форми кисню

ГД - гострий десинхроноз

ГЕБ – гематоенцефалічний бар'єр

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

Е1 – піруватдегідрогеназа

Е2 – дегідроліпоїлтрансфераза

Е3 - дегідроліпоїлдегідрогеназа

ЕТЛ – електронно-транспортний ланцюг

ЛПС - ліпополісахарид

МОЗ – Міністерство охорони здоров'я

НАДН - нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений

НАДФН– нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений

ОДК - орнітиндекарбоксилаза

ПДТК – піролідиндитіокарбамат амонію

ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів

РНК – рибонуклеїнова кислота

СЗВ – системна запальна відповідь

СОД – супероксиддисмутаза

ССЗВ– синдром системної запальної відповіді

СХЯ - супрахіазматичні ядра

ТБК – тіобарбітурова кислота

ТБК-реактанти, ТБК-активні продукти - продукти, які реагують з тіобарбітуровою кислотою

ТФ - транскрипційний фактор

ФНП – фактор некрозу пухлин

ЦНС – центральна нервова система

Ig - імуноглобулін

IκB – інгібітор NF-κB

IKK – інгібітор кіназного комплексу

IL - інтерлейкіни

NF-κB – ядерний фактор капа В (англ. Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B Cells)

NOS (iNOS, cNOS) - нітроген монооксиду (індуцибельна, конститутивна ізоформи)

ONOO- – пероксинітрити

ВСТУП

Актуальність проблеми. На сьогодні до найпоширеніших хвороб в Україні належать неврологічні захворювання, розповсюдженість яких в останні роки значно зросла. За даними Центра громадського здоров'я Міністерства охорони здоров'я України за 2019 рік неврологічні розлади все частіше визнають як одну з основних причин смерті та інвалідності в усьому світі. Серед неврологічної патології найбільш актуальними та соціально значущими визначають судинні захворювання головного мозку, демієлінізуючі ураження нервової системи, захворювання периферичної нервової системи, наслідки черепно-мозкових травм. Основними причинами зростання кількості неврологічних хворих в Україні є розповсюдження бактеріальних та вірусних захворювань, імунна недостатність, алергізація, що сприяє зростанню кількості запальних, аутоімунних і демієлінізуючих захворювань нервової системи. Також інтенсивний вплив мають такі фактори ризику як шкідливі звички, гіперхолістеринемія, нераціональне харчування, гіподинамія, надмірна маса тіла, хронічний стрес [1,2].

Також все більша увага приділяється проблемам негативних наслідків порушення циркадіанних ритмів в результаті зміни світлового режиму. В останні роки за рахунок використання комп'ютерів, засобів мобільного зв'язку зростає можливість працювати в нічний час. До того ж закордонні відрядження, подорожування, специфіка певних професій (водії транспорту дальніх рейсів, бізнесмени, спортсмени) сприяє збільшенню кількості осіб, які займаються активною діяльністю в нічний час. Це призводить до неузгодженості і перебудови біологічних ритмів, що порушує пристосування організму до циклічних змін навколишнього середовища та негативно впливає на органи і системи [3,4,5,6]. На сьогодні відомо, що розвиток біполярних розладів, хвороби Паркінсона, модулювання когнітивних функцій та процесів пізнання протягом дня пов'язані зі зміною світлового режиму [7,8,9]. Вченими з'ясовано, що розвиток системної запальної відповіді (СЗВ) теж пов'язаний з порушенням

нормального циклу «світло-темрява»: зміна тривалості сну порушує імунну відповідь на ліпополісахарид (ЛПС) [10,11,12,13]. Протягом останніх років науковцями підтверджено, що СЗВ є важливою ланкою патогенезу сучасних хвороб цивілізації (метаболічного синдрому, атеросклерозу, цукрового діабету 2-го типу тощо) [13,14,15]. Виявлено, що оксидативний стрес відіграє важливу роль у розвитку і прогресуванні когнітивних порушень і хвороб нервової системи, а ознаки нітрозативно-оксидативного стресу виявляються при ішемічних станах головного мозку, аутизмі, нейродегенеративних захворюваннях, що може сприяти прогресуванню захворювань головного мозку [16,17,18,19].

Сучасні дослідження показують, що у розвитку оксидативного стресу приймають участь сигнальні трансдукційні шляхи та генні регуляторні механізми, що призводять до експресії запальних генів. Провідну роль в цьому відіграють ядерні транскрипційні фактори - білкові комплекси, що безпосередньо не беруть участі в каталітичному процесі синтезу рибонуклеїнової кислоти (РНК), однак необхідні для проведення основних етапів транскрипції чи її регуляції, зокрема нуклеарний фактор NF-κB [20,21].

Протягом останніх років розглядається проблеми наслідків впливу різних харчових речовин на організм. Однією з найбільш широко поширеною харчовою добавкою є глутамат натрію, який впливає на різні фізіологічні процеси і метаболізм. Відомо, що його вживання призводить до розвитку порушень легеневої, травневої системи [22,23]. Глутамат є важливим нейротрансмітером у центральній нервовій системі (ЦНС), тому доцільно постає питання його впливу на діяльність головного мозку. Також, зважаючи проживання населення в умовах військового стану, одним з популярних лікарських засобів є флуоксетин, який покращує депресивну симптоматику при неврологічних та психічних захворюваннях [24].

Враховуючи інтенсивний темп сучасного життя, збільшення чинників факторів ризику та постійну дію зовнішніх патогенних агентів, набуває актуальності проблема дослідження біохімічних порушень в тканинах головного

мозку та розладів функцій нервової системи при дії різних етіологічних факторів. На сьогодні механізми розвитку метаболічних порушень та дисфункцій головного мозку при поєднанні СЗВ, зміни нормального циклу «світло-темрява» та додатковій дії таких модуляторів як глутамат натрію, флуоксетин та 40% розчин етанолу не з'ясовані.

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). Здобувач є співвиконавцем теми.

Мета дослідження: Метою цієї роботи було з'ясувати роль транскрипційного фактора NF-κB у механізмах метаболічних і функціональних розладів великих півкуль головного мозку за умов поєднання ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді та зміни тривалості фаз «світло-темрява».

Завдання дослідження:

1. Визначити показники вільнорадикальних процесів, антиоксидантної та NO-синтазної системи у тканинах головного мозку щурів при порушенні циклів «світло-темрява» за умов відновлення ліпополісахарид - індукованої системної запальної відповіді.

2. З'ясувати закономірності впливу модуляторів циркадіанного осцилятора - активатора транскрипції генів Per (глутамату), їх пригнічувача (селективного інгібітора зворотного захоплення серотоніну флуоксетин) та 40% розчину етанолу на показники вільнорадикальних процесів, антиоксидантної та NO-ергічної системи у тканинах головного мозку щурів при зміні тривалості циклів «світло-темрява» за умов відновлення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

3. Вивчити механізми дії глутамату натрію, флуоксетину та 40% розчину етанолу на тлі пригнічення активації NF-κB на показники вільнорадикальних

процесів, антиоксидантної та NO-синтазної системи у тканинах головного мозку щурів при зміні тривалості циклів «світло-темрява» за умов відновлення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

4. Оцінити неврологічний стан та поведінкові реакції щурів при порушенні нормального світлового режиму за умов моделювання ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

5. Визначити вплив модуляторів біологічних циклів «світло-темрява»-активатора (глутамату) та їх пригнічувача (флуоксетину) та 40% розчину етанолу на неврологічний стан та поведінкові реакції щурів при зміні тривалості нормального світлового режиму за умов відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

6. Вивчити вплив глутамату натрію, флуоксетину і 40% розчину етанолу на тлі пригнічення активації NF-κB на неврологічний стан та поведінкові реакції щурів при порушенні тривалості світлового режиму за умов моделювання ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

Об'єкт дослідження: патогенез ураження головного мозку внаслідок зміни тривалості фаз «світло-темрява» за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

Предмет дослідження: участь транскрипційного фактора NF-κB у механізмах метаболічних і функціональних порушень головного мозку щурів при експериментальній зміні тривалості фаз циклів «світло-темрява» та за умов експериментальної ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

Методи дослідження: поставлена мета досягнута шляхом використання експериментальних, біохімічних, функціональних і математико-статистичних методів.

Експериментальні методи: моделювання зміни тривалості циклів «світло-темрява», ліпополісахарид-індукованої СЗВ, впливу модуляторів глутамату натрію, флуоксетину та 40% розчину етанолу на функціональні проби та перебіг біохімічних процесів у великих півкулях головного мозку. *Біохімічні методи:* оцінка активності процесів ПОЛ (швидкості продукції САР, приросту і вмісту

ТБК-активних продуктів, активності СОД і каталази), наявності нітрозативного стресу (активність NOS та її індукцйбельної і конститутивної ізоформ, ОДК, концентрації нітритів, пероксинітритів, нітрозотіолів) у гомогенаті великих півкуль головного мозку. *Функціональні методи*: оцінка рівня свідомості, мязового тону, дихання, координації рухів, поведінки, рефлексів; локомоторної, дослідницької, орієнтувальної здатності, наявності тривожності, страху. *Математико-статистичні методи*: програма Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics.

Наукова новизна одержаних результатів. Показано вперше, що порушення циклу «світло-темрява» за умов системної запальної відповіді викликає функціональні порушення та більш інтенсивний перебіг оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах великих півкуль головного мозку щурів, що супроводжується суттєвим зростанням швидкості продукції САР, приросту і вмісту ТБК-активних продуктів, зниженням активності СОД і каталази, NOS та її індукцйбельної і конститутивної ізоформ, зменшенням концентрації нітритів, нітрозотіолів, збільшенням активності ОДК, в порівнянні з окремим відтворенням як гострого десинхронозу, так і хронічного запалення.

Вперше були з'ясовані закономірності впливу модуляторів біологічних циклів «світло-темрява» на метаболічні та функціональні розлади головного мозку за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді та роль NF-κB у цих процесах. Так, вперше показано, що глутамат натрію за умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу викликає функціональні розлади (атаксію, порушення поведінки), суттєво посилює інтенсивність оксидативно-нітрозативних процесів у великих півкулях головного мозку, на що вказують ще більше зниження активності антиоксидантної ферментативної системи та підвищення швидкості продукції САР, вмісту ТБК-активних продуктів, концентрації пероксинітритів, нітрозотіолів, активності iNOS, але зниження cNOS, що сприяє розвитку ендотеліальної дисфункції. Доведено, що флуоксетин за умов СЗВ та ГД покращує результати функціональних проб та поведінкових реакцій, зменшує

інтенсивність окисних процесів за рахунок зниження швидкості продукції САР та покращення роботи антиоксидантних ферментатив, але ще більше посилює нітрозативний стрес, про що свідчить зростання концентрації пероксинітритів, нітрозотіолів в тканинах. Вперше виявлено, що 40% розчин етанолу за умов СЗВ і ГД має виражений негативний вплив на поведінкові реакції і функціональні проби, але дещо зменшує активність окисних процесів, накопичення пероксинітритів в тканинах головного мозку.

Вперше виявлено, що застосування інгібітора транскрипційного чинника NF-κB за умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронізму посилює оксидативно - нітрозативний стрес. Але за цих умов, введення ПДТК та дії як глутамат натрію, так і 40% розчин етанолу відбувається зменшення інтенсивності вільнорадикальних процесів і покращення ферментативного антиоксидантного захисту. Додавання флуоксетину за цих умов та введення ПДТК посилює інтенсивність оксидативного стресу, знижує вміст пероксинітритів в тканинах головного мозку щурів. Також вперше виявлено покращення функціональних проб та поведінкових реакцій при дії глутамату натрію за умов поєднання СЗВ та ГД і пригнічення NF-κB через введення ПДТК та їх погіршення при дії флуоксетину за вказаних умов.

Практичне значення одержаних результатів. Одержані результати можуть бути використані для вдосконалення профілактики та лікування метаболічних і функціональних розладів головного мозку, що виникають при зміні тривалості фаз циклів «світло-темрява» та системній запальній відповіді та розробки нових підходів до патогенетичної терапії подібних порушень.

Отримані дані свідчать про негативний вплив глутамату натрію на біохімічні процеси в тканинах головного мозку та функціональний стан нервової системи, особливо в осіб з хронічним запаленням та можливими порушеннями світлового режиму. Застосування інгібітора транскрипційного чинника NF-κB в даній ситуації може бути потенціальним засобом для корекції метаболічних та функціональних змін.

Результати роботи впроваджено у науково-педагогічний процес на кафедрі патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, на кафедрі медичної біології та фізики, мікробіології, гістології, фізіології та патофізіології Чорноморського національного університету імені Петра Могили МОН України, на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету МОЗ України.

Особистий внесок здобувача. Здобувачем разом із науковим керівником розроблено програму, визначено мету та завдання дослідження, методичні підходи до його проведення. Дисертантом особисто здійснено опрацювання наукової літератури з досліджуваної проблеми, оволодіння необхідними методами досліджень, виконання експериментальних робіт, функціональних тестів, здійснення статистичної обробки отриманих результатів. Частину дослідів проведено разом із співавторами (аспірантами Гутніком О.М., Чеботарем О.В.), які досліджували інші органи. Здобувачем особисто та у співавторстві підготовлено до друку наукові праці, у яких викладені основні положення дисертації, самостійно сформульовано висновки та наукові і практичні рекомендації.

Апробація результатів дослідження. Основні наукові положення і результати дисертації доповідалися та обговорювалися на XIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022р., публікація матеріалів); Пленумі Українського наукового товариства патофізіологів «Особливості науково-педагогічного процесу в період пандемії COVID-19» (Тернопіль, 15-17 вересня 2022 р., публікація матеріалів); V науково-практичній internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 17 листопада 2022 р., публікація матеріалів), VI науково-практичній internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (Харків, 15 листопада 2023 р., публікація матеріалів); XIV Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання

патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 23-25.10.2024 р., публікація матеріалів); VII науково-практичній internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (Харків, 14 листопада 2024 р., публікація матеріалів).

Публікації. Результати дослідження опубліковано в 11 друкованих праць, з яких 3 статті у фаховому журналі України категорії Б, 1 стаття у фаховому журналі України категорії А, що реферується міжнародною наукометричною базою *Scopus*, віднесеному до 4-го квартилю (Q4) відповідно до класифікації *SCImago Journal and Country Rank*. Окрім того, опубліковано 6 тез доповідей у матеріалах конгресів і конференцій, оформлено 1 технологію.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 160 сторінках комп'ютерного набору, містить 42 рисунка та 28 таблиць. Складається з анотації, вступу, огляду літератури, характеристики матеріалів і методів дослідження, 4-х розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, який містить 161 джерело 27 кирилицею та 134 латиницею, 3 додатки.

РОЗДІЛ 1

ВПЛИВ ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРА NF-κB НА ПАТОГЕНЕЗ МЕТАБОЛІЧНИХ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОРУШЕНЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА УМОВ ЛІПОПОЛІСАХАРИД-ІНДУКОВАНОЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ ТА ЗМІНИ ТРИВАЛОСТІ ЦИКЛІВ «СВІТЛО-ТЕМРЯВА»

1.1. Системна запальна відповідь та роль ядерних транскрипційних факторів, зокрема NF-κB, у розвитку запальних процесів головного мозку.

Хронічні неінфекційні захворювання є однією з головних причин втрати працездатності, інвалідності та смертності у будь-якому віці.

Системна запальна відповідь - типовий, мультисиндромний, фазоспецифічний патологічний процес, що розвивається внаслідок системних пошкоджень і характеризується загальною запальною реактивністю ендотеліоцитів, плазменних факторів та клітин крові, сполучної тканини та, на кінцевій стадії, порушеннями мікроциркуляції у життєво важливих органах і тканинах [25,26,27].

Виявлено, що особливе місце серед медіаторів запалення займає цитокінова мережа, що контролює процеси реалізації імунної і запальної реактивності. Основними продуцентами цитокінів є Т-клітини і активовані макрофаги, а також, в тому або іншому ступені, інші види лейкоцитів, ендотеліоцити післякапілярних венул, тромбоцити і різні типи стромальних клітин. Цитокіни пріоритетно діють у вогнищі запалення і на території реагуючих лімфоїдних органів, виконуючи у результаті ряду захисних функцій [28,29,30].

Малі кількості медіаторів здатні активувати макрофаги, тромбоцити, викид з ендотелію молекул адгезії. Гострофазова реакція, що розвивається, контролюється прозапальними медіаторами – інтерлейкінами (IL): IL-1, IL-6, IL-8, факторами некрозу пухлини (ФНП), а також їх ендогенними антагоністами, такими як IL-4, IL-10, IL-13, рецепторами до ФНП та іншими, що отримали назву

антизапальних медіаторів. За рахунок підтримки балансу взаємин між про- і антизапальними медіаторами в нормальних умовах, створюються передумови для загоєння ран, знищення патогенних мікроорганізмів, підтримки гомеостазу [31,32,33,34].

При локальному запаленні хемоатрактантний градієнт орієнтує нейтрофіли в центр вогнища пошкодження, тоді як при розвитку СЗВ активовані нейтрофіли дифузно інфільтрують периваскулярні простори в різних органах і тканинах. Запуск СЗВ супроводжується активацією процесів вільно-радикального окислення і пошкодженням ендотелію з локальною активацією тромбоцитів у місці пошкодження. Через ендотеліальне пошкодження, зниження перфузії і мікротромбозів у деяких зонах мікроциркуляції кровотік може повністю зупинитися. Повна зупинка кровотоку в окремих відділах мікроциркуляторного русла є причиною появи локальних некрозів. Тканинні некрози, що виникли внаслідок СЗВ, у свою чергу, є стимулами для його повторної активації. Процес СЗВ стає аутокаталітичним, що підтримує сам себе навіть в умовах радикальної санації інфекційного вогнища або зупинки кровотечі, усунення іншого первинного ушкоджувального чинника [35,36,37,38,39].

Отже, синдром системної запальної відповіді (ССЗВ) — це системна неспецифічна реакція організму, що проявляється активацією всіх медіаторних систем і патобіохімічних каскадів. Як було показано вище, в основі патогенезу ССЗВ, по-перше, лежить активація всіх компонентів цитокінової мережі: поліморфноядерних лейкоцитів, моноцитів/макрофагів, лімфоцитів, виділених ними цитокінів та інших медіаторів запалення. Крім цього, відзначається підвищення активності всіх біологічних структурі клітин, відповідальних за гомеостаз, серед яких найбільше значення мають ендотеліоцити. Паралельно з активацією цитокінів відбувається і пригнічення полісистеми каскадного протеолізу плазми крові та інгібування синтезу протизапальних цитокінів (IL-10, IL-13) [40,41,42,43,44].

Дослідженнями підтверджено, що на ранніх стадіях системного запалення важливу роль відграє оксидативний стрес. Незважаючи на першопричини, оксидативний стрес є головним фактором деструкції тканини. Активні форми кисню зумовлюють розвиток некрозу і модифікують утворення цитокінів та молекул адгезії. Продукти перекисного окислення ліпідів є хемотаксичними і можуть призводити до посилення запального процесу. Крім того, окисно-відновний дисбаланс призводить до ураження та пошкодження інших органів. Так, виявлено, що відтворення системного запалення супроводжується збільшенням продукції супероксидного аніон-радикала у тканинах пародонта та слинних залоз мітохондріальним і НАДФН-залежними електроннотранспортними ланцюгами мікросом і NOS-синтази, а також НАДФН-оксидазою лейкоцитів [45,46]. Також встановлено порушення механізму авторегуляції фізіологічної концентрації NOS у тканинах пародонта та піднижньощелепних слинних залоз, що призводить до одночасного збільшення утворення NOS через NO-синтазний та нітрат-/нітрит-редуктазний механізм, наслідком чого є розвиток оксидативно-нітрозативного стресу зі збільшенням концентрації пероксинітриту [46,47].

Щоб зрозуміти патогенез запального процесу на молекулярному рівні та розробити оптимальні підходи до терапії, слід знати сигнальні трансдукційні шляхи та генні регуляторні механізми, що призводять до експресії запальних генів. Розвиток патології, що в основі має хронічний запальний процес, часто відбувається за рахунок порушення механізмів реалізації апоптозу, що призводить до його надлишкової активації чи пригнічення. Дослідження свідчать про провідну роль взаємодії ядерних транскрипційних факторів у регуляції активності хронічного запального процесу, що є основою розвитку патології хвороб сучасності [48,49,50,51,52].

До основних індукторів запалення відносяться ядерні фактори білок-активатор 1 і ядерний фактор карра В (NF-κB). NF-κB – один з головних показників, що опосередковує імунну та запальну відповіді та регулює апоптоз [53,54,55,56].

Транскрипційний фактор (ТФ) – білковий комплекс, що безпосередньо не бере участі в каталітичному процесі синтезу РНК, однак необхідний для проведення основних етапів транскрипції чи її регуляції. ТФ регулює процес транскрипції після транслокації у ядро клітини, зв'язуючись зі специфічними регуляторними послідовностями дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) (промоторами чи енансерами), за рахунок ДНК-зв'язуючих доменів чи стехіометрично з іншим білком, що може формувати специфічний до послідовності ДНК комплекс «білок-ДНК» [57,58,59,60].

Транскрипційний фактор NF-κB (ядерний фактор «каппа-бі»; англ. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF-κB) - універсальний фактор транскрипції, що контролює експресію генів імунної відповіді, апоптозу та клітинного циклу. Порушення регуляції NF-κB викликає запалення, аутоімунні захворювання, а також розвиток вірусних інфекцій та раку [60,61]. За своєю морфологією NF-κB вважається гетеродимерним комплексом, що складається з 2-х субодиниць. Сімейство NF-κB складається з 5 білків: NF-κB1 (або p50), NF-κB 2 (або p52), RelA (або p65), RelB та c-Rel, що утворюють 15 комбінацій димерів. Існує 2 класи цих білків: клас I (нагорі) та клас II (внизу). Всі ці білки мають у своєму складі Rel домен – висококонсервативну N-кінцеву послідовність з 300 амінокислот, який необхідний для димеризації, зв'язування з ДНК та асоціації з білками IκB – цитоплазматичним інгібітором NF-κB. На C-кінці білків класу I знаходиться анкіринові повтори з репресорною активністю, а у білків класу II тут знаходиться ділянка, що трансактивує. Всі білки, що входять до сімейства NF-κB, мають гомологію з ретровірусним онкобілком v-Rel, тому класифікуються як білки NF-κB/Rel. Гомодимери p50 та p52 відіграють роль супресорів генної експресії, в той час як p65, c-Rel та RelB в будь-яких поєднаннях відіграють роль активаторів транскрипції. Фактор NF-κB проявляє активність тільки в димерній формі, причому найбільш поширені форми - димер субодиниць p50 або p52 із субодиницею p65 [16,57,58,59].

Окрім Rel домена дані білки мають спеціальні послідовності, котрі необхідні для транспорту даних білків в ядро з цитоплазми. За відсутності

стимулів NF- κ B знаходиться в цитоплазмі у неактивному вигляді, перебуваючи в комплексі з білками родини інгібіторів κ B (IkB). Родина IkB нараховує 6 окремих білків: IkB- α , IkB- β , IkB- γ (С-кінцевий домен білка p100 родини Rel), IkB- δ (С-кінцевий домен білка p105 родини Rel), IkB- ϵ и Bcl-3. Всі члени даної родини містять в своїй послідовності анкіриновий повтор, що дозволяє їм зв'язуватись з NF- κ B та забезпечувати його цитоплазматичну локалізацію. IkB - білки є мішенями для різноманітних сигнальних шляхів, що активуються внутрішньо- та позаклітинними стимулами (цитокіни, віруси, оксиданти, фактори росту). У клітині, в стані спокою, NF- κ B накопичується та зберігається в неактивному стані. Під впливом IkB NF- κ B активується цілою низкою стимулів, включаючи цитокіни (такі як ФНП та інтерлейкін 1), Т- та В-клітинні мітогени, бактеріальні та вірусні продукти (всі ліганди толл-подібних рецепторів, наприклад ліпополісахарид або дволанцюжкова вірусна РНК), стресовими індукторами (ультрафіолетове випромінювання та фактори такі як реактивні форми кисню). Стимулюючий агент призводить до того, що IkB фосфорилується під дією кінази IKK (IkB - кіназа), що призводить до деградації IkB в результаті протеосоми 26S через систему убіквітину, в якій молекула-мішень маркується ланцюгом убіквітину для деградації в 26S-протеосомі. При цьому NF- κ B звільняється від інгібуючого комплексу. Вільна форма NF- κ B транслокується у ядро та зв'язується з κ B - сайтами всередині промоторів відповідних генів для активації їх транскрипції [16,59,60,61].

Протеасома – це високомолекулярний білковий комплекс, що функціонує в клітинах за певних умов як кілька протеолітичних ферментів, причому свою руйнівну дію він виявляє лише при нефізіологічних станах – під впливом речовин, здатних змінювати його структуру. Цей комплекс виявлено в клітинах як найбільш примітивних, так і вищих еукаріот, як в ядрі, так і в цитоплазмі, що свідчить про його важливу роль у нормальній життєдіяльності клітин. Протеасомою названі дві частинки з різною складністю будови, з різними молекулярними масами та коефіцієнтами седиментації (S): уперше виділений

комплекс з молекулярною масою близько 700 кДа та коефіцієнтом седиментації 20 S (т. зв. 20S-протеасома) як протеолітичне ядро входить до складу ще більш складної частинки – 26S-протеасоми. У ссавців до 90 % клітинних білків – як з коротким, так і з тривалим терміном життя – підлягають гідролізу в порожнині протеасоми. Зрозуміло, що для початку такого процесу протеасома має розпізнати об'єкт гідролізу за певною ознакою. Таке «маркування» здійснює спеціальна система ферментів – система убіквітинування, а «ярликом» служить ланцюг не менш ніж із чотирьох молекул білка убіквітину, кожна з яких складається із 76 амінокислотних залишків. Як утворення ланцюга через залишок лізину в 48-му положенні кожної молекули, так і приєднання його до білка-субстрату здійснюється зазначеною ферментативною системою. Вона включає три типи ферментів – E1, E2 і E3, є високо специфічною та вибірковою за рахунок того, що побудована за принципом ієрархічного ускладнення. Фермент E1 (у клітині він лише один) активує молекулу убіквітину та передає її одному із ферментів родини E2 (це так звані «кон'югуючі» ферменти). Надалі залучається третій ензим – представник родини E3 – лігаза, або «зшивний» фермент. Він приймає убіквітин від E2, з'єднується з білком-субстратом і ковалентно пришиває до нього ланцюг убіквітину [16,62,63].

На сьогодні встановлена генетично зумовлена активність клітин імунної відповіді та медіаторів запалення у сироватці крові, а також з'ясована ключова роль ядерного транскрипційного фактора NF-κB у патогенезі бронхіальної астми, дистрес-синдрому [55,62]. Слід зазначити, що пригнічення NF-κB може як послаблювати запалення та імунні реакції, так і посилювати клітинну загибель, оскільки цей фактор призводить до експресії ряду молекул, що сприяють виживанню клітин. Транскрипційні фактори регулюють експресію білків, характерних для розвитку та перебігу бронхіальної астми, у тому числі інтерлейкінів, IgE, а також проліферацію ключових клітин бронхіальної астми – еозинофілів, В-лімфоцитів, Т-хелперів [63]. Експериментально доведено, що реплікація кишкової палички слизової оболонки кишківника при хворобі Крона

корелює зі стійкістю до супероксиду і сильно залежить від передачі сигналів NF- κ B макрофагів [64].

Вагому роль має транскрипційний фактор NF- κ B і на сполучну тканину та імунну систему. Виявили, що без гена c-Rel нормально розвивається лімфоїдний процес, але є глибокі дефекти антиген-індукованої проліферації, виживання та вироблення цитокінів Т-клітинами та В-клітинами. Інші члени сімейства NF- κ B відіграють значну роль у розвитку або дозріванні лімфоцитів і гемопоетичних клітини: делеція ланцюга Ig α , Ig β або Ig μ зупиняє розвиток В-клітин на стадії про-В, в той час як умовна делеція на зрілих В-клітинах призводить до швидкої втрати В-клітин. Крім того, делеція сигнальних молекул впливають на дозрівання фолікулярних В-клітин. NF- κ B є одним із ключових факторів транскрипції, що активуються сигнали цих процесів. Було показано, що члени родини NF- κ B порушують опосередковану проліферацію, виживання та дозрівання класу IgM. П'ять членів сімейства факторів транскрипції NF- κ B (p50, p52, p65, c-Rel, RelB) мають важливе значення у розвитку кровотворної системи. Кожен з них також піддається різному регулюванню кіназою I κ B (IKK). Дослідження, отримані з різних стадій диференціювання В-клітин, показали, що p50/p65 є основним індукованим комплексом у пре-В-клітинах і нелімфоїдних клітинах. Як бачимо, активність NF- κ B потрібна не тільки для загального виживання В-клітин на всіх стадіях розвитку, але також для дозрівання перехідних В-клітин у фолікулярні В-клітини на периферії [43,65,66].

Дослідженнями підтверджено провідну роль системного запалення за участю транскрипційного фактора NF- κ B не тільки у розвитку запальних неврологічних хвороб, а й деяких дегенеративних захворювань нервової системи, психічних розладів, травматичних пошкоджень, епілепсії [67,68,69,70,71].

Мозок особливо чутливий до окисного пошкодження внаслідок його високої швидкості споживання кисню, надлишкового вмісту ліпідів та відносної недостатності антиоксидантних ферментів порівняно з іншими тканинами. Нервові клітини особливо чутливі до шкідливої дії окисного

стресу, тому активні форми кисню (АФК) провокують розвиток нейродегенеративних процесів. В старіючих клітинах окисний стрес посилюється внаслідок зниження активності ферментів антиоксидантного захисту [71,72,73,73,74].

Активація системи комплементу є критичною у природному захисті імунної системи від інфекції й проявляється розвитком запалення та нейрональної дисфункції, яка передує сепсис-асоційованій енцефалопатії. Як тільки каскад системи комплементу активується ендотоксином, C5a діє на ендотелій мозку, мікроглію та мозкові паренхіматозні нейрони. За моделювання ішеміє-реперфузійної травми, C3a і C5a функціонують як лейкоцитарні хемоаттрактанти. Активуються ендотеліальні клітини, потім мікроглія, секретуючи ФНП- α та ІЛ-1 β , що в кінцевому підсумку призводить до вивільнення реактивних форм кисню, набряку головного мозку та серйозному пошкодженню функцій центральної нервової системи. Під час таких нейрозапальних станів, як травма, ішемія та сепсис, цитокіни відіграють ключову роль у патогенезі травми [71,77,78,79].

Показано, що за вказаних патологій кількість хемокіну і цитокінів ІЛ-1 β та ФНП- α збільшується у дослідних мозкових лізатах разом з індукованою синтазою оксиду азоту (iNOS). Це призводить до негативних наслідків у ЦНС, оскільки iNOS опосередковує ушкодження олігодендроцитів, а посилена експресія оксиду азоту індукує апоптоз в астроцитах через BAX- і p-53-залежні шляхи. Вважається, що окисний стрес порушує структуру ДНК, активуючи регенеративні полімерази, які блокують основний механізм утилізації глюкози в клітинах з накопиченням проміжних продуктів обміну. Саме проміжні продукти обміну запускають основні механізми клітинної патології. До них відносяться активізація порушень обміну глюкози, протеїнкінази C, утворення великої кількості кінцевих продуктів глікації, що утворюють комплекс із рецепторними білками активують ядерний фактор NF- κ B, що сумарно призводить до метаболічних змін у клітині [80,81,82,83].

Також епідеміологічні дані показують, що такі психічні порушення як біполярні розлади пов'язані з збільшення частоти запальних захворювань, включаючи численні аутоімунні стани, метаболічні захворювання. У пацієнтів з біполярними розладами було виявлено підвищення рівня медіаторів запалення (цитокінів, хемокинів, простагландинів, білків гострої фази, ознаки окисно-нітрозативного стресу), підвищення експресії генів запалення, аберантні клітинні (Т-клітини, моноцити) та активація системи комплементу. Крім цього виявлено підвищення активності тих чи інших медіаторів запалення (експресії цитокінів) в залежності від стадії (ранній, пізній) і фази (маніакальна, депресивна) захворювання, а також медикаментозного статусу. Так, у пацієнтів з біполярними розладами, в сироватці крові яких було виявлено підвищення концентрації ФНП- α , ФНП, IL-1 β , IL-4, IL-2 і IL-6, С-реактивний білок, спостерігались маніакальні розлади. Підвищення рівня прозапальних цитокінів (особливо IL-6) під час депресивної фази захворювання підвищують ймовірність подальшого переходу хвороби в маніакальну фазу. Зміни як IL-6, так і ФНП- α асоціюється зі зниженням експресії NF- κ B, що свідчать про виникнення більш обширних нейроденеративних змін в цей період. Встановлено, що ФНП- α має особливе значення і є постійно підвищеним на всіх стадіях манії та депресії. Під час запальних реакцій ФНП- α , що секретується мікроглією та іншими джерелами центральної нервової системи, відіграє центральну роль у зміні проникності гематоенцефалічного бар'єру. Він посилює вивільнення цитокінів і підтримання прозапального середовища в ЦНС частково через посилення активності інфламасоми. Це сприяє подальшому розвитку хронічного процесу нейродегенерації, появі когнітивних та поведінкових порушень [84,85,86].

Також дослідженнями встановлена роль нуклеарного транскрипційного фактора NF- κ B в розвитку циркуляторних порушень головного мозку. Так, з'ясовано, що NF- κ B є головним регулятором запалення, яке є основним фактором патології ішемічного інсульту [71,72,73]. Канонічний шлях NF- κ B при цьому включає фосфорилювання та деградація I κ B, що призводить до ядерної транслокації гетеродимерів p65/p50 NF- κ B до ядра, де вони стимулюють

вироблення прозапальних молекул. При цьому інгібується спричинене ЛПС фосфорилювання та деградація ІкВ- α , одночасно зменшуючи ядерну транслокацію р65. Це свідчить про те, що механізми протизапального/нейропротекторного ефекту включають ослаблення канонічного шляху NF-кВ. Індукція експресії прозапального гена за допомогою NF-кВ вимагає, щоб цитоплазматичний NF-кВ р65/p50 переміщався в ядро, але зміна рівня білка NF-кВ не відбувається необхідний для посередництва цього ефекту. Дані свідчать про те, що інсульт викликає активація транскрипції через зв'язування NF-кВ р65. Вважається, що існує альтернативний шлях NF-кВ. Він активує членів родини кіназ, яке активує ІКК α , в результаті чого відбувається транслокація гетеродимерів RelB/p52 NF-кВ до ядра. Опосередкована таким чином активація NF-кВ пов'язана з індукцією антиапоптичних та протизапальних цитокінів. Альтернативний шлях повільніший від канонічного шляху, і лише певні індуктори здатні індукувати його активність [58,87,88].

Канонічний шлях NF-кВ має важливе значення як для гострих, так і для хронічних запальних реакцій. Більше того, цей шлях стосується проліферації та виживання клітин, що підтверджує конститутивно активна NF-кВ сигналізація у багатьох клітинах, включаючи нейрони та гліюцити. Тригером неканонічного шляху є активація представників надсімейства ФНП-рецепторів, включаючи фактор активації В-клітин, CD40, лімфотоксин β , рецептор активатор NF-кВ. Проте ці рецептори одночасно запускають не тільки неканонічний шлях, але й канонічний шлях активації NF-кВ. NF-кВ регулює експресію майже 500 різних генів, включаючи ферменти (циклооксигеназу-2, 5-ліпоксигеназу, iNOS), цитокіни (IL-1, IL-6, IL-8, хемокіни, ФНП- α), молекули адгезії, регуляторні молекули клітинного циклу та ангіогенні фактори [58].

Загалом, дані свідчать про те, що більшість пацієнтів з морфологічними та функціональними порушеннями нервової системи мають ознаки NF-кВ-залежного хронічного запального процесу низького ступеня, який може

диференційовано посилюватися під час гострих епізодів хвороби, а також може загострити інші патологічні процеси в головному мозку та сприяє загальному зниженню когнітивних функцій і прогресуванню функціональних і психічних порушень нервової системи [87,88,89].

Отже, у ЦНС NF-κB є ключовим учасником фізіологічних і патологічних процесів. Активація NF-κB обумовлена різними стимулами, що включають молекулярні патерни, асоційовані з ушкодженням, та патоген-асоційовані молекулярні патерни, синаптичну активність, нейромедіатори, нейротрофічні чинники, нейротоксини, B- і T-клітинні мітогени, цитокіни, молекули клітинної адгезії, фактори окисно-нітрозативного стресу. Існують дані про те, що транскрипційний фактор бере участь у механізмах нейрогенезу, синаптичної пластичності, когнітивної активності та пам'яті. Активація NF-κB може захищати нейрони від різних патогенних впливів, таких як ексайтотоксичність та окисний стрес.

1.2. Значення порушень біологічних циклів «світло-темрява» у функціонально-метаболічних розладах головного мозку.

На сьогодні виявлено, що чинниками NF-κB-залежної прозапальної гіперцитокінемії є порушення циркадіанних ритмів — зміна тривалості циклів «світло-темрява», порушення світлового режиму, тривалості сну [4,5,90].

Фізіологічні ритми періодичні коливання різних функцій організму, що відображають закономірності здійснення процесів життєдіяльності в часі. Вони виявлені у мікроорганізмів, рослин, тварин і людини. Ритмічна діяльність властива таким важливим функціям організмів: диханню, поділу клітин, руховій активності, температурі тіла, обмінним процесам, утворенню формених елементів крові тощо. Фізіологічні ритми - робочі цикли функціонування клітин, органів, систем органів, організму, що способом реалізації відповідних фізіологічних функцій у людини, спостерігаються у циклах сну і неспання, фізичній і розумовій діяльності, виділенні різних речовин нирками, секреції гормонів тощо. Вважають, що фізіологічні ритми успадковуються і

підпорядковуються генетичному контролю. Параметри їх змінюються як у процесі індивідуального розвитку організму, так і при різних діях на нього. Це є важливим чинником пристосування людини до змін умов зовнішнього середовища. Внаслідок узгодженості всіх фізіологічних ритмів між собою і з періодичними змінами в довкіллі в організмів існує надійна система регуляції функцій - гомеостаз. Розлади у цій системі призводять до порушень життєдіяльності організмів і можуть послужити причиною захворювань у тварин і людини. Функціонуванню будь-якого органа підпорядковані і морфологічні структури, і зумовлені ними фізіологічні процеси. Наприклад, нирки виконують різноманітні функції, які забезпечують сталість водовиділення (діурез), регулюють іонну рівновагу, екскрецію низки субстратів із сечею, гломерулярну фільтрацію, секрецію, реабсорбцію тощо. Регуляторні системи, що функціонують у нирках, чітко синхронізовані з циркадіанними ритмами поведінкової активності, споживання їжі та рідини, фотоперіодом довкілля та ін. Загальновідомі добові коливання діурезу, виділення з сечею іонів натрію, калію, кальцію, креатиніну, сечовини тощо [17,90,91].

Циркадіанний (цілодобовий) ритм є видозміною добового ритму з періодом 24 годин. Він перебігає у сталих умовах і належить до так званих вільноперебігаючих ритмів, які мають не нав'язаний їм зовнішніми умовами період. Такі ритми вважають уродженими, ендогенними, зумовленими властивостями самого організму. Так, доведено, що екскреторна функція нирок уночі на 40 % переважає таку у світловий період доби, властива також добова ритміка швидкості клубочкової фільтрації та ниркового кровотоку [92].

Циркадіанний годинник - це еволюційно висококонсервативна особливість бактерій, рослин і тварин, яка дозволяє організмам пристосовувати фізіологічні процеси на добу. Цей внутрішній механізм синхронізації координує біохімічні, фізіологічні та поведінкові процеси для підтримки синхронності з циклами світла, температури та надходженням поживних речовин. У ссавців, у тому числі у людини, циркадіанні ритми регулюються системою тимчасового контролю, що складається з основного пейсмекера в супрахіазматичних ядрах (СХЯ)

гіпоталамуса та периферичних осциляторів, розташованих у всьому організмі. Незалежні циркадіанні осцилятори існують у кожній клітині будь-якої тканини або органу, включаючи печінку та серце. СХЯ управляє і координує периферичний годинник з допомогою ще не визначених гуморальних і нейронних сигналів, а також побічно, модулюючи активність та харчування. СХЯ є циркадіанним пейсмейкером мозку ссавців, що здійснюють регуляцію щоденної циклічної активності рівня гормонів та інших фізіологічних процесів. Світло може призводити до фазового зсуву ендогенних коливань в СХЯ, синхронізуючи його діяльність із циклом день-ніч довкілля. Дослідження показали, що світло є самим потужним тимчасовим фактором для ініціювання циркадіанної системи ссавців. У ссавців сприйняття світла відбувається в сітківці, де присутні три різних типи фоторецепторів: колбочки, палички та нещодавно відкриті світлочутливі гангліонарні клітини сітківки. Останні відіграють ключову роль у зорі, що не формує зображення, тобто реєструючому освітленість, а також передають світлову інформацію від паличок та колбочок на додаток до їх власного меланопсин-залежного шляху і можуть контролювати різні види світла, що надають впливом геть поведінка. Проте, відкриття «генів годинника» призвело до встановлення факту та здатності циркадіанних генів експресуватись в організмі повсюдно. Кожна клітина в організмі має циркадіанний годинник. Крім центральних механізмів, у регуляції циркадіанних ритмів важливу роль відіграють і «периферичні годинники». Показано, що циркадіанні зміни передачі больових сигналів за участю субстанції Р потребують процесів циркадіанно регульованої периферичної сигналізації [17,90,91].

Циркадіанні ритми тісно пов'язані зі сном. Сон є важливим регулятором багатьох фізіологічних функцій, які відносяться до метаболізму. Встановлено, що тривалість і частота сну, зокрема, недостатня тривалість сну та/або обмеження сну, погана якість сну, можуть бути факторами ризику розвитку метаболічних порушень [93,94,95,96].

У ссавців механізм циркадіанного годинника є клітинно автономним і виходить від ауторегуляторної транскрипційного зворотного зв'язку. В основі

такої годинної системи знаходиться ауторегуляторна транскрипційна петля для зворотного зв'язку: активатори транскрипції CLOCK (і його паралог NPAS2) та BMAL1, які позитивно регулюють експресію генів Period (Per1, Per2) та Cryptochrome (Cry1, Cry2) на початку тимчасового циклу. Генні продукти Per і Cry накопичуються, димеризуються і утворюють комплекс, який транслокується в ядро для взаємодії з CLOCK і BMAL1, репресуючи їх власну транскрипцію. Такий цикл зворотного зв'язку займає близько 24 годин, і обмін Per і Cry ретельно регулюється E3 убіквітін лігазним комплексом. Існують додаткові петлі зворотний зв'язок, що примикають до основної петлі - CLOCK-BMAL1/PER-CRY. Ефект зворотного зв'язку ініціюється транскрипцією Bmal1 (і менш виражено, Clock) і викликає протифазні коливання BMAL1 [17].

Хоча основний «годинний» механізм є консервативним для клітин різних тканин, існують значні відмінності у відносних поширеностях індивідуальних компонентів «годинника» і в моделі налаштування таких периферичних годин. Такий ендогенний клітинний годинник регулюють великі ритми генної транскрипції. Проте гени, які знаходяться під циркадіанним контролем, не перекриваються в кожній окремій тканині, відображуючи необхідність тимчасового контролю фізіологічного стану клітин, притаманного для кожного унікального клітинного типу. Результатом цього є те, що циркадіанний годинник здійснює широкомасштабний контроль над багатьма біологічними процесами, включаючи багато аспектів метаболізму, такі як детоксикація ксенобіотиків, гомеостаз глюкози та ліпогенез [17,91].

Складні петлі зворотного зв'язку зв'язують циркадіанний годинник з ритмічною метаболічною мережею, об'єднуючи ці системи у світло-незалежну модель. Циркадіанний контроль метаболізму єна центральному і на місцевих рівнях і включає в себе годинник у багатьох периферичних тканинах (в печінці, підшлунковій залозі, скелетних м'язах, кишечнику та жировій тканині). Взаємовідносини між годинником і метаболізмом є прикладом того, як циркадіанна система інтегрується і виявляється під впливом фізіологічних процесів. Таким чином, організація циркадіанної системи включає поєднання

автономної іннервації периферичних тканин, ендокринних сигналів, температури, місцевих сигналів [5,93,94,95,96].

Симпатична іннервація також модулює чутливість наднирників до адренокортикотропного гормону (АКТГ) і прямо впливає на виділення глюкокортикоїдів. Осцилятори в кірковій та мозковій речовині надниркових залоз відповідають на нейрональні сигнали від СХЯ. Серед ендокринних сигналів центральне місце займають глюкокортикоїди. Ритмічне вивільнення глюкокортикоїдів залежить від ритмічної продукції АКТГ та кортикотропін-рилізінг гормону і від вхідних симпатичних сигналів. Наднирникові годинники самі по собі також здійснюють тимчасовий контроль чутливості до АКТГ-індукованому вивільненню глюкокортикоїдів [17].

Важливими місцевими сигналами є транскрипційні фактори, які виявляють циркадіанні ритми транскрипції в печінці та метаболічно активних тканинах. Серед ритмічних ядерних рецепторів знаходяться PPAR та члени сімейств REV-ERB та ROR. ROR α та REV-ERB2 прямо беруть участь у годинниковому механізмі шляхом регулювання транскрипції BMAL, але вони також важливі і для багатьох аспектів метаболічної регуляції. Рецептори глюкокортикоїдів індукують транскрипцію Per і, можливо, інші гени. PPAR α , який відповідає за стан обміну ліпідів і глюкокортикоїдів, може також регулювати транскрипцію BMAL1. PPAR- γ ко-активатор-1 α (PGC-1 α), транскрипційний ко-активатор забезпечує зв'язок між змінами стану обміну речовин і годинами. PGC-1 α є важливим для адаптаційних відповідей на стан харчування та метаболізму, особливо тривале голодування. Клітинний редокс-потенціал також може служити механізмом, за допомогою якого стан обміну речовин клітини діє на циркадіанну систему. Рівні НАД відображають циркадіанні коливання в печінці через CLOCK:BMAL1. Рівні НАД також змінюються відповідно до клітинного редокс-потенціалу як наслідок метаболічних змін, і це в свою чергу може прямо впливати на функцію годинника [91].

СХЯ серед інших фізіологічних функцій регулює й імунну відповідь. Відомо, що зміщення робочого часу порушує циркадіанні ритми і пов'язано з

розвитком підвищеної чутливості до деяких захворювань. Експериментально встановлено, що зміна робочого часу порушує імунну відповідь на ЛПС. При цьому продукувалися підвищені рівні цитокінів, таких як ФНП- α . Ці дані показали, що циркадіанна синхронізація має значний вплив на запальну відповідь організму [97,98].

Дослідженнями підтверджено важливу роль зміни світлового режиму у розвитку метаболічних та ендокринних порушень. Виявлено, що більшість аспектів енергетичного порушення метаболізму мають чіткі коливання вдень і вночі. Ця щоденна ритмічність метаболічних функцій, включаючи виділення гормонів, регулюється циркадіанною системою, яка складається з головного годинника в СХЯ і багатьох вторинних годинників у мозку та периферичних органах. СХЯ контролює периферичний час через вегетативну та нейроендокринну систему, а також через поведінкові вихідні сигнали. Цикл сну-неспанья, ритм годування/голодування та більшість гормональних ритмів, включаючи ритм лептину, глюкокортикоїдів, зазвичай демонструють протилежну фазу (відносно циклу світло-темрява) у денних і нічних видів. Навпаки, годинник СХЯ найактивніший в один і той же астрономічний час. Мелатонін виділяється шишковидною залозою тільки вночі. Отже, регуляція метаболізму глюкози та ліпідів здійснюється за допомогою центральних і периферичних механізмів годинника. Тому внаслідок тісного зв'язку між циркадіанною системою годинника та енергетичним метаболізмом, порушення добового годинника (наприклад, мутації або вилучення генів годинника) і збій добового годинника (наприклад, під час змінної роботи) мають несприятливий вплив на енергетичний метаболізм, що може викликати або посилити симптоми ожиріння та діабету. На тваринних моделях ожиріння та діабету спостерігаються циркадіанні зміни. І навпаки, коли циркадіанний ритм порушується через генетично дефектні циркадіанні годинники або через циркадіанну десинхронізацію (хронічне опромінення світла або повторні прийоми їжі в непарні моменти циклу), метаболізм ліпідів і глюкози порушується [17,91].

Було досліджено біологічні ритми синтезу і виділення таких важливих в передачі, регуляції та імунній сигналізації гормонів як кортизол, серотонін, дофамін і норадреналін. У здорових людей кортизол демонструє протилежну циркадіанну схему, ніж мелатонін: досягає піку на початку вранці і найнижча вночі. Циркулюючий кортизол діє за механізмом негативного зворотного зв'язку на кількох рівнях зв'язку гіпоталамус-гіпофіз-наднирники. Виявлено, що глюкокортикоїди мають як протизапальну, так і прозапальну (збільшення NF- κ B) функцію. В звичайному стані прозапальні цитокіни (IL-1, IL-6, ФНП- α) безпосередньо стимулюють вивільнення глюкокортикоїдів, які, в свою чергу, пригнічують подальшу продукцію прозапальних факторів. Однак надмірне запалення може порушити нормальний зворотний зв'язок гіпоталамічних глюкокортикоїдних рецепторів і пригнічення вироблення кортизолу, що призводить до подальшого запалення [17].

На сьогодні активно вивчається зв'язок порушення світлового режиму із захворюваннями органів та систем у ссавців та механізми патогенезу хвороб. Так, виявлені зміни ритмів біохімічних показників у сироватці крові тварин з гострим десинхронозом свідчать про значні зміни інтенсивності вуглеводно-ліпідного обміну, що вплинуло на процеси біоенергетики клітин. Ці зміни найбільш виражені в групі тварин, які утримувалися в умовах постійної темряви, що може служити маркером початкової стадії патологічного десинхронозу [93,94,95,96]. Десинхроноз призводить до змін у складі і функціональній активності мікрофлори кишківника, порушує баланс прооксидантів/антиоксидантів з переважанням процесів ліпопероксидації та дефіциту ферментів групи глутатіону в міокарді, впливає на перебіг патологічних змін легеневої тканини, розвиток онкологічних процесів [99,100,101,102,103].

Висновки до розділу.

Організм людини, як єдине ціле, може існувати тільки при певному співвідношенні різних коливальних процесів в клітинах, тканинах, органах і

функціональних системах та їх синхронізації з умовами навколишнього середовища. Всі живі організми відчувають фізіологічні зміни, що регулюються ендогенними циркадіанними ритмами. Основним фактором, що керує цим годинником, є тривалість світлового дня.

Циркадіанний ритм є важливою складовою фізіологічних процесів, який забезпечує їм 24-годинну тимчасову організацію та пристосування до циклічних змін навколишнього середовища. На всі аспекти енергетичного метаболізму, від прийому їжі до внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, циркадіанний ритм має значний вплив. Біоритми є основою раціональної регламентації всього життєвого розпорядку людини. Цим забезпечується висока продуктивність праці і добре самопочуття. У результаті порушення фізіологічних біоритмів виникають розлади адаптаційних механізмів, що сприяє виникненню захворювань.

Головні чинники порушень циркадіанних ритмів - зміна тривалості циклів «світло-темрява», порушення світлового режиму, тривалості сну - є чинниками системної запальної відповіді, яка лежить в основі багатьох хронічних захворювань і протікає за участю медіаторів запалення, головним чином цитокінової мережі. На ранніх стадіях системного запалення виявляються ознаки пероксидного окиснення ліпідів та оксидативного стресу, зниження активності антиоксидантної системи. Окисно-відновний дисбаланс призводить до подальшого ураження та пошкодження інших органів.

В даний час активно вивчаються механізми системної запальної відповіді на молекулярному рівні, сигнальні трансдукційні шляхи та генні регуляторні механізми, що призводять до експресії запальних генів. Дослідженнями встановлено, що головну роль у регуляції активності хронічного запального процесу, мають ТФ - білкові комплекси, що безпосередньо не беруть участі в каталітичному процесі синтезу РНК, але необхідні для проведення основних етапів транскрипції чи її регуляції. Одним з них є нуклеарний фактор NF- κ B - один з головних показників, що опосередковує імунну та запальну відповіді та регулює апоптоз.

На даний час встановлена ключова роль NF-κB у патогенезі різних систем і органів, в тому числі і нервової системи. Дослідження показали, що особливо чутливими до шкідливої дії окисного стресу є нервові клітини, внаслідок чого розвиваються та прогресують нейродегенеративні процеси в головному мозку, виникають маніакальні та депресивні стани. Ознаки NF-κB-залежного хронічного запального процесу були виявлено у пацієнтів з циркуляторними порушеннями головного мозку. Встановлено, що активація NF-κB сприяє загальному зниженню когнітивних функцій, прогресуванню функціональних і психічних порушень нервової системи.

Також на сьогодні дослідженнями підтверджено важливу роль десинхронозу у розвитку метаболічних та ендокринних порушень, патологічних функціональних змінах деяких органів. Активно досліджуються наслідки порушення синтезу мелатоніну в контексті розвитку хронічної патології серця та судин.

Проте закономірності порушень метаболічних і функціональних процесів у головному мозку ссавців при зміні тривалості циклів «світло-темрява» за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді залишаються нез'ясованими.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Загальна характеристика матеріалів та методів дослідження.

Експерименти виконані на 161 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г. Тварин утримували в умовах віварію згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)». При роботі з тваринами дотримувалися вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 18.03.1986 р.). Дослідження затверджені комісією з питань біомедичної етики ПДМУ № 197 від 23.09.2021 року. Комісією з питань біоетики Полтавського державного медичного університету протокол № 235 від 20.02.2025 року порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено. Тварин декапітували під тіопенталовою анестезією.

2.2. Розподіл тварин на групи.

Для вирішення наведених питань виконали експерименти на 161 білих щурах в 11 групах.

Таблиця 2.1

Експериментальні групи тварин

№ групи	Кількість щурів	Умови досліджу
1	2	3
1	15	Контрольна група
2	13	Відтворення порушень тривалості циклів «світло-темрява» (гострого десинхронозу)
3	15	Моделювання ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді

Закінчення таблиці 2.1

1	2	3
4	14	Поєднання відтворення СЗВ та ГД
5	14	На тлі моделювання СЗВ та ГД введення інгібітору NF-κВ амонію піролідіндитіокарбамату.
6	15	При поєднанні відтворення СЗВ та ГД введення модулятора циркадіанного осцилятора - активатора транскрипції генів Per глутамату натрія
7	15	За умов поєднання моделювання СЗВ та ГД введення модулятора циркадіанного осцилятора - пригнічувача транскрипції генів Per флуоксетину - селективного інгібітора зворотного захоплення серотоніну
8	15	При поєднанні відтворення СЗВ та ГД введення модулятора циркадіанного осцилятора 40% розчину етанолу
9	15	На тлі відтворення СЗВ та ГД введення інгібітора NF-κВ амонію піролідіндитіокарбамата та модулятора циркадіанного осцилятора глутамату натрія
10	15	На фоні моделювання СЗВ та ГД введення інгібітора NF-κВ амонію піролідіндитіокарбамата і модулятора циркадіанного осцилятора флуоксетину
11	15	На тлі відтворення СЗВ та ГД введення інгібітора NF-κВ амонію піролідіндитіокарбамата і модулятора циркадіанного осцилятора 40% розчину етанолу

2.3. Експериментальні моделі, які були застосовані.

Синдром системної запальної відповіді відтворюють шляхом внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду (ЛПС) *Salmonella typhi* (препарат «Пірогенал», фірма «Медгамал») у дозі, яка сприяла у щурів підвищенню температури на 1,5⁰С: протягом першого тижня вводиться по 4 мінімальні пірогенні дози (МПД), що складають 0,4 мкг, на 1 кг маси щура 3 рази на тиждень. Протягом наступних семи тижнів експерименту тваринам вводять по 4 МПД/кг маси щура 1 раз на тиждень [104].

Для моделювання гострого десинхронозу спочатку формували нормальний цикл «світло-темрява» (12 годин світло, 12 годин темрява) впродовж 3 тижнів. Світлова фаза циклу відповідала періоду з 8 годин ранку до 20 годин вечора, інший період доби відповідав темновій фазі. Для стандартизації світлової фази використовували світлодіодні лампи, що забезпечують загальний світловий потік 820 люмен та освітленість 205 люкс. Протягом наступних 3 діб проводили зміщення фаз циклу «світло-темрява» на 6 годин назад [100].

З метою зміни активності транскрипційних чинників застосовували інгібітор активації NF- κ B амонію піролідиндитіокарбамат (ПДТК) – (виробництво "Sigma-Aldrich, Inc.", США), який вводили у дозі 76 мг/кг 3 рази на тиждень, починаючи з 36 доби експерименту [104].

Натрію глутамат вводили протягом 20-ти днів внутрішньошлунково у дозі 30 мг/кг, розчинений у 0,5 мл дистильованої води кімнатної температури [23,105].

Флуоксетин вводили протягом 21 днів внутрішньошлунково у дозі 10 мг/кг, розчинений у 0,5 мл дистильованої води кімнатної температури [24,105].

40% розчин етанолу застосовували у дозі 48 мг/кг, розчинений у 0,5 мл дистильованої води кімнатної температури, внутрішньошлунково протягом 14 днів [106].

2.4. Біохімічні методи дослідження

Для досліджень використовували 10% гомогенат великих півуль головного мозку. Після видалення головний мозок поміщали у чашку Петрі та подрібнювали ножицями. Тканини гомогенізували у 10 мМ трис-HCl буфері, pH 7,4 (1 г тканин мозку на 9 мл середовища) протягом 30-40 с. Після фільтрації гомогенат центрифугують протягом 10 хв при 1000 g. Супернатант використовують для біохімічних досліджень.

Утворення супероксидного аніон-радикала (CAP) оцінювали при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм з використанням спектрофотометру

Улабз індукторами у вигляді у нікотинамідаденіндинуклеотиду відновленого (НАДН) для оцінки продукції САР мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом та нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату відновленого (НАДФН) для оцінки мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом [107].

Концентрацію продуктів, які реагують з тіобарбітурової кислотою (ТБК-активних продуктів, ТБК-реактантів) досліджували тіобарбітуровим методом, що базується на здатності тіобарбітурової кислоти утворювати стійкий забарвлений комплекс із проміжними продуктами пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Активність антиоксидантної системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних продуктів за час 1,5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині [107].

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали методом порівняння швидкостей автоокиснення адреналіну без гомогенату та у його присутності, активність каталази – методом визначення забарвлених продуктів, утворених при реакції пероксиду водню з молібдатом амонію [107].

Концентрацію нітритів оцінювали шляхом визначення діазосполук, що утворилися у реакції з сульфаніловою кислотою, а потім проводили реакцію з *α*-нафтиламіном (реактив Грісса-Ілосвая) [107].

Методика визначення концентрації пероксинітритів лужних та лужно-земельних в гомогенаті базується на їхній здатності відновлювати атомарний йод із йодиду калію [107].

Вміст нітрозотіолів знаходили за різницею в концентрації нітритів з використанням реактиву Грісса-Ілосвая до та після окиснення нітрозотіольних комплексів до нітритів розчином хлориду ртуті [107].

Сумарну активність NOS визначали за різницею концентрації нітрит-іонів до та після інкубації гомогенату тканин у середовищі, що містить L-аргінін та НАДФН. Для оцінки активності конститутивних ізоформ ферменту (сNOS) додавали 1% розчин аміногуанідину гідрохлориду. Активність індукцбельної ізоформи (іNOS) визначали за різницею активностей загальної та сNOS [107].

Активність орнітиндекарбоксилази (ОДК) оцінювали методом Chinard у модифікації Храмова, який базується на зміні забарвлення розчину, пропорційному концентрації орнітину в досліджуваному субстраті під час нінгідринової реакції при $pH=1,0$ [107].

2.5. Оцінка неврологічного статусу щурів

Для об'єктивної оцінки ступеня неврологічного дефіциту застосовували 100-бальну шкала Todd [108]. Оцінювали 14 ознак, які відображають рівень свідомості тварин; стан рефлекторної сфери, у тому числі ширину й реакцію зіниць на світло, рогівковий рефлекс, рефлекторну реакцію на гучний звук, реакцію на світло і біль, м'язовий тонус тулуба і кінцівок, координацію рухів і деякі поведінкові реакції [108].

Таблиця 2.2

100-бальна шкала для визначення неврологічного дефіциту (Todd et al)

№	Показники	Бали	Максимум балів
1	2	3	4
1	Рівень свідомості		
	норма	0	
	затемнення або збудження	5	
	ступор	10	
	кома	20	
2	Рефлекторна сфера		
2.1	Ширина зіниці -норма	0	

Продовження таблиці 2.2

1	2	3	4
	звужена	1	
	розширена	2	
2.2	Реакція зіниці на світло - є	0	
	ослаблена	2	
	відсутня	5	
2.3.	Рогівковий рефлекс - є	0	
	ослаблений	2	
	відсутній	5	
2.4.	Слух (реакція на удар, стукіт)		
	норма	0	
	ослаблений	2	
	відсутній	5	
2.5.	М'язовий тонус тулуба - норма	0	
	спастичний	2	
	млявий	5	
2.6.	М'язовий тонус кінцівок -		
	Передні - норма	0	
	спастичний	1	
	відсутній	2	
	Задні - норма	0	
	спастичний	1	
	відсутній	2	
2.7.	Реакція на біль – є	0	
	ослаблена	1	
	відсутня	2	
3	Дихання		
	нормальне	0	

Закінчення таблиці 2.2

1	2	3	4
	часте	6	
	відсутнє	12	
4	Рух		
	нормальні координовані рухи	0	
	здатна ходити з незначною атаксією	5	
	стоїть, не може рухатись, падає, спотикається	10	
	не може стояти самостійно	15	
	не підтримує позу	20	
	відсутність рухів	25	
5	Поведінка		
5.1.	Реагує на появу вченого	0	
	не реагує на появу вченого	5	
5.2.	Здатна самостійно пити та їсти	0	
	здатна ковтати при вливанні	2	
	не здатна	5	
5.3.	Догляд за собою		
	активна, дотримується чистоти	0	
	похмура, сумовита, погано стежить за собою	2	
	пасивна, не дотримується чистоти	5	
	РАЗОМ	100	

Оцінка м'язового тону: в даному тесті визначають спроможність підтягування на горизонтальній перекладині, для чого на висоті 30 см від поверхні столу закріплюють у горизонтальному напрямку проволоку та підвішують тварин. Відсутність підтягування тваринами експериментальної групи свідчить про наявність неврологічного дефіциту та порушення м'язового тону [108].

Для оцінки координації рухів тварин підіймали на 5 с та відпускали на плоску поверхню. Порушення координації рухів фіксували при виявленні манежних рухів, ознак атаксії (розладів координації довільних рухів з порушенням рівноваги при стоянні, нечіткості, неузгодженості та надмірності рухів) та абазії (втрати здатності рухатися) [108].

2.6. Дослідження поведінкових реакцій

Вивчення поведінкових реакцій тварин проводили за допомогою тесту «відкрите поле».

Тест «відкрите поле» призначений для вивчення поведінки гризунів за нових стресогенних умов і дозволяє оцінити характеристики окремих поведінкових елементів, рівень емоційно-поведінкової активності тварин, стратегію дослідницької та захисної поведінки, ознаки неврологічного дефіциту та системної реакції на стрес.

Установка складалася з прямокутного поля розміром (140x70) см, розділеного на квадрати (10x10) см і обгородженого непрозорими стінками заввишки 50 см, забарвленими у білий колір, окрім передньої прозорої стінки, через яку здійснювалося спостереження впродовж 5 хв [108]. Не менше ніж за 60 хв до тестування щурів переносили в тихе, слабо освітлене приміщення, залишаючи їх у спокої. Під час дослідження реєстрували тривалість латентного періоду (час перебування тварини у стані спокою після переміщення на арену), показники вертикальної і горизонтальної рухової активності, кількість виходів до центру, число дефекацій і актів грумінгу (вмивання) [109].

2.7. Статистична обробка результатів експерименту

Статистичні розрахунки проводили з використанням пакету програм Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Shapiro–Wilk. Якщо дані відповідали нормальному розподілу,

то для їх порівняння використовували критерій t (Student's t -test) для незалежних або пов'язаних вибірок. У разі, коли ряди результатів не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод - Mann–Whitney U-test. Для незалежного аналізу відмінностей номінальних показників у незалежних групах досліджень для перевірки нульової статистичної гіпотези про тотожність частот при оцінці показників шкали Todd et al. застосовували розрахунок точного критерію Фішера (Fisher's exact test). Для результатів тестів «Відкрите поле» використовували непараметричний Mann–Whitney U-test.

РОЗДІЛ 3

МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ В ТКАНИНАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ ПОРУШЕННЯХ БІОРИТМУ «СВІТЛО - ТЕМРЯВА» ЗА УМОВ ЛІПОПОЛІСАХАРИД – ІНДУКОВАНОЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ

3.1. Активність вільнорадикальних процесів у великих півкулях головного мозку щурів при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу.

Швидкість базової продукції супероксидного аніон-радикала у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин становила $0,58 \pm 0,01$ нмоль/с·г, НАДФН – індукована – $12,04 \pm 0,04$ нмоль/с·г, НАДН – індукована – $7,27 \pm 0,04$ нмоль/с·г.

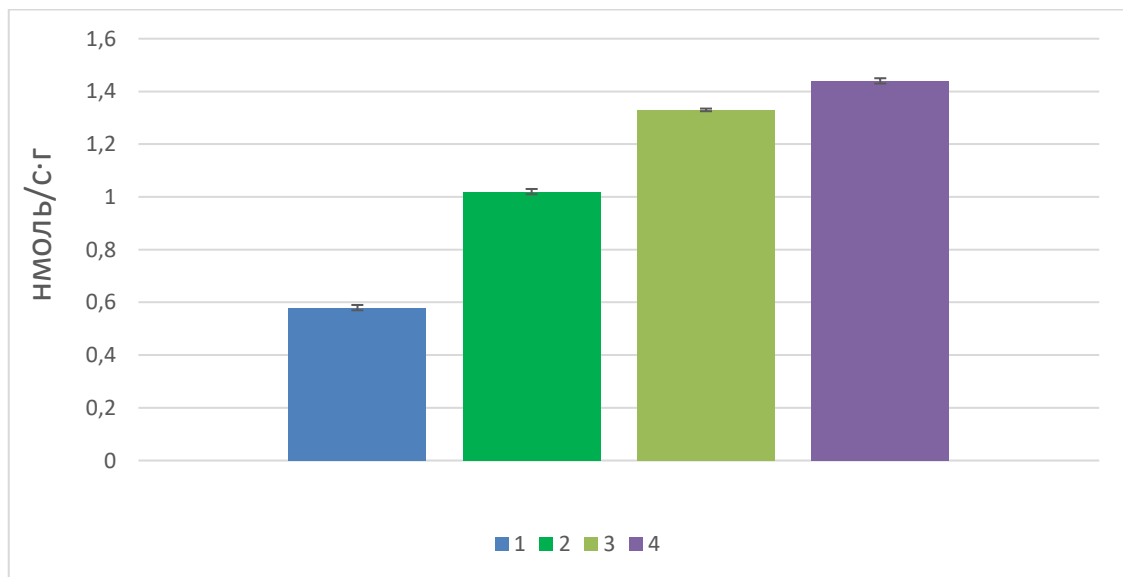


Рис. 3.1. Швидкість базової генерації супероксидного аніон-радикала (нмоль/с·г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); при десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

Величини даного показника в експериментальних групах відрізняються від контрольного та між собою і становили: при десинхронозі - $1,02 \pm 0,01$ нмоль/с·г, при СЗВ - $1,33 \pm 0,005$ нмоль/с·г та при поєднанні СЗВ та десинхронозу – $1,44 \pm 0,01$ нмоль/с·г.

ГД підвищував швидкість базової продукції САР на 75,8%, $p < 0,001$, СЗВ - на 129,3%, $p < 0,001$ порівняно з групою інтактних щурів. При поєднанні СЗВ та ГД швидкість базової продукції зростала на 148,3%, $p < 0,001$.

При цьому СЗВ більшою мірою, ніж порушення нормальної тривалості циклів «світло-темрява», сприяла підвищенню швидкості базової продукції: вона збільшувалася на 30,4%, $p < 0,001$. Поєднання СЗВ і ГД на 8,3%, $p < 0,001$, більше активувало швидкість базової продукції САР порівняно з СЗВ та на 41,2%, $p < 0,001$ порівняно з ГД.

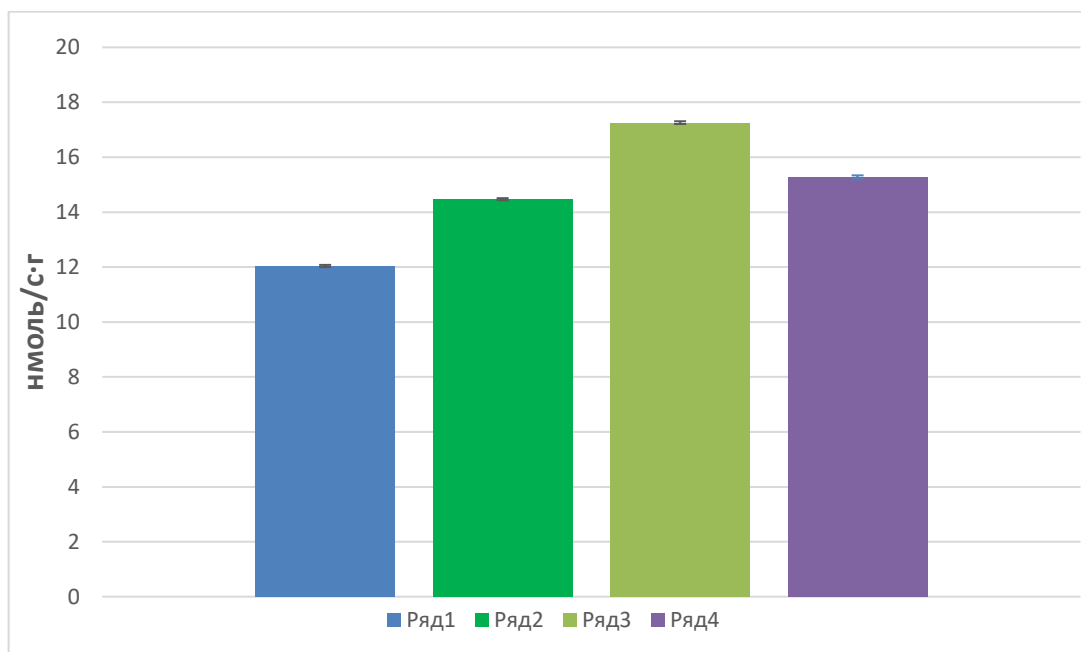


Рис. 3.2. Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мітросомальним шляхом (нмоль/с·г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); при десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

Величини даного показника в експериментальних групах помітно відрізняються від контрольного та між собою і становили: при десинхронозі - $14,47 \pm 0,04$ нмоль/с·г, при СЗВ - $17,26 \pm 0,05$ нмоль/с·г, при поєднанні СЗВ та десинхронозу – $15,27 \pm 0,07$ нмоль/с·г.

При порушенні циклу «світло – темрява» продукція САР мітросомальним шляхом зростала на 20,2%, $p < 0,001$, при СЗВ - на 43,3%, $p < 0,001$, за умов поєднання СЗВ та ГД на 26,8%, $p < 0,001$, порівняно з інтактними тваринами.

При цьому СЗВ більшою мірою, ніж порушення нормальної тривалості циклів «світло-темрява», сприяла утворенню САР - швидкість НАДФН-індукованої генерації підвищувалась - на 19,3%, $p < 0,001$. Поєднання СЗВ і ГД зменшувало продукцію САР в мітросомах на 11,5%, $p < 0,001$ порівняно з СЗВ та на 5,5%, $p < 0,001$ збільшувало порівняно з ГД.

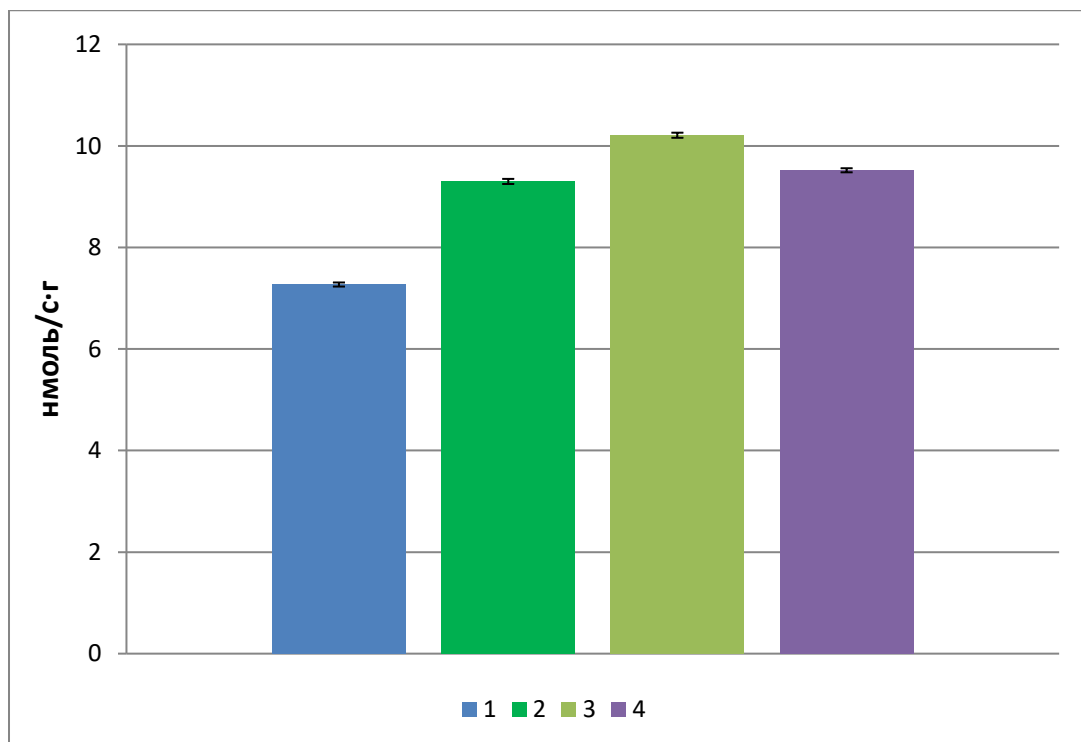


Рис. 3.3. Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мітохондріальним шляхом (нмоль/с·г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); при десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

Величини даного показника в експериментальних групах теж суттєво відрізняються від контрольного та між собою і становили: при десинхронозі – $9,30 \pm 0,05$ нмоль/с·г, при СЗВ - $10,21 \pm 0,05$ нмоль/с·г, при поєднанні СЗВ та десинхронозу – $9,52 \pm 0,04$ нмоль/с·г.

При порушенні циклу «світло – темрява» продукція САР в мітохондріях зростала на 28,0%, $p < 0,001$, при СЗВ - на 40,4%, $p < 0,001$, за умов поєднання СЗВ та ГД на 31,0%, $p < 0,001$ порівняно з інтактними тваринами.

При цьому СЗВ більшою мірою, ніж порушення нормальної тривалості циклів «світло-темрява», сприяла утворенню САР - швидкість НАДН-індукованої генерації підвищувалась - на 9,8%, $p < 0,001$. При поєднанні СЗВ і ГД продукція САР в в мітохондріях – знижувалася на 6,8%, $p < 0,001$, порівняно з СЗВ та зростала на 2,4%, $p < 0,01$ порівняно з ГД.

3.2. Стан NO-ергічної системи в тканинах головного мозку щурів при порушенні циклів «світло - темрява» за умов системної запальної відповіді.

Загальна активність NOS у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин становила $1,64 \pm 0,06$ мкмоль/г·хв, активність її індукцибельної ізоформи – $1,57 \pm 0,06$ мкмоль/г·хв, конститутивної – $0,0681 \pm 0,0006$ мкмоль/г·хв.

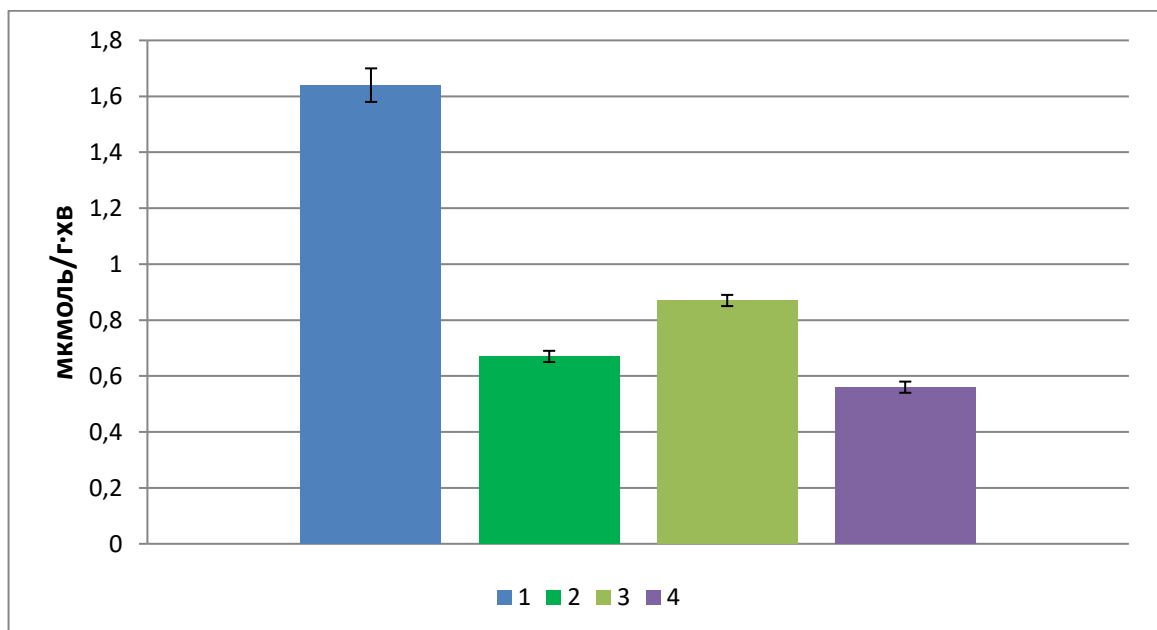


Рис. 3.4. Активність загальної NOS (мкмоль/г·хв)

у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); при

десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

Показники загальної активності NOS в експериментальних групах суттєво відрізняються від величин інтактних тварин і становлять: при десинхронозі – $0,67 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв, при СЗВ – $0,87 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання СЗВ та ГД – $0,56 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв.

При модельованому ГД відмічалось зниження загальної активності NOS на 59,1%, $p < 0,001$, СЗВ зменшувала загальну активність її на 47,0%, $p < 0,001$. За умов поєднання СЗВ та ГД загальна активність NOS знижувалася на 65,8%, $p < 0,001$. Зазначимо, що порушення нормальної тривалості циклів «світло-темрява» більшою мірою, ніж СЗВ, знижувало загальну активність NOS – на 29,9%, $p < 0,001$. Поєднання СЗВ і ГД ще більше зменшувало загальну активність NOS – на 16,4%, $p < 0,01$ порівняно з ГД, на 35,6%, $p < 0,001$ - порівняно з СЗВ.

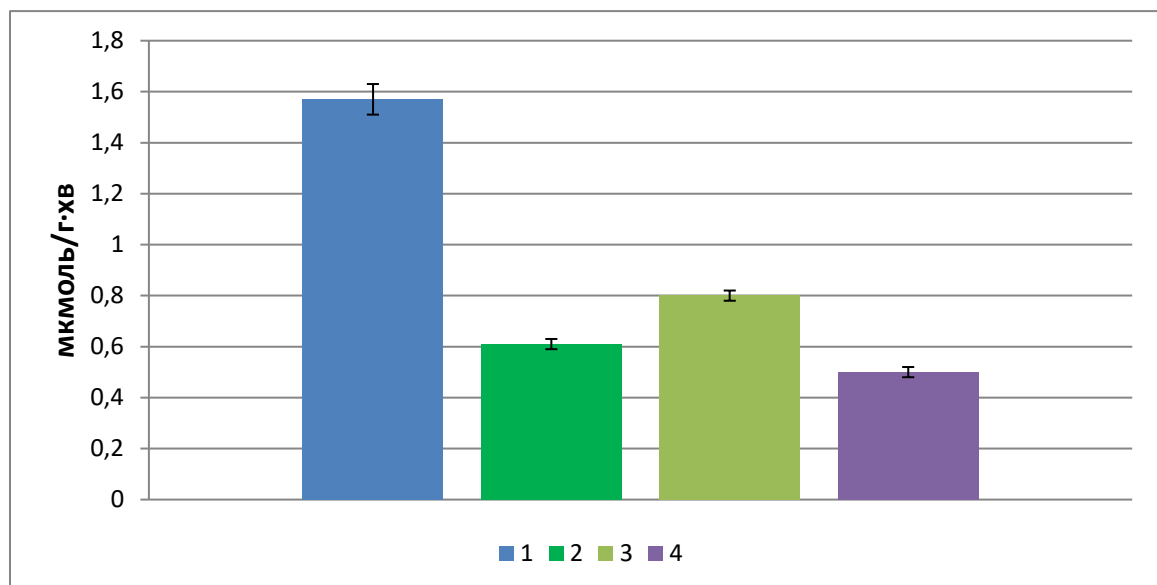


Рис. 3.5. Активність індукцйбельної NOS (мкмоль/г·хв) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); при десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

Показники активності індукцибельної NOS в експериментальних групах також суттєво відрізняються від величин інтактних тварин і становлять: при десинхронозі – $0,61 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв, при СЗВ – $0,80 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання СЗВ та ГД – $0,50 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв.

При модельованому ГД активність iNOS знижувалась – на 61,1%, $p < 0,001$, СЗВ зменшувала активність iNOS на 49,0%, $p < 0,001$, при поєднанні СЗВ та ГД активність iNOS знижувалася на 68,2%, $p < 0,001$ порівняно з контролем.

Зазначимо, що порушення нормальної тривалості циклів «світло-темрява» більшою мірою, ніж СЗВ, знижувало активність iNOS на 31,1%, $p < 0,001$. Поєднання СЗВ і ГД ще більше зменшувало активність iNOS – на 18%, $p < 0,01$, порівняно з ГД, на 37,5%, $p < 0,001$ порівняно з СЗВ.

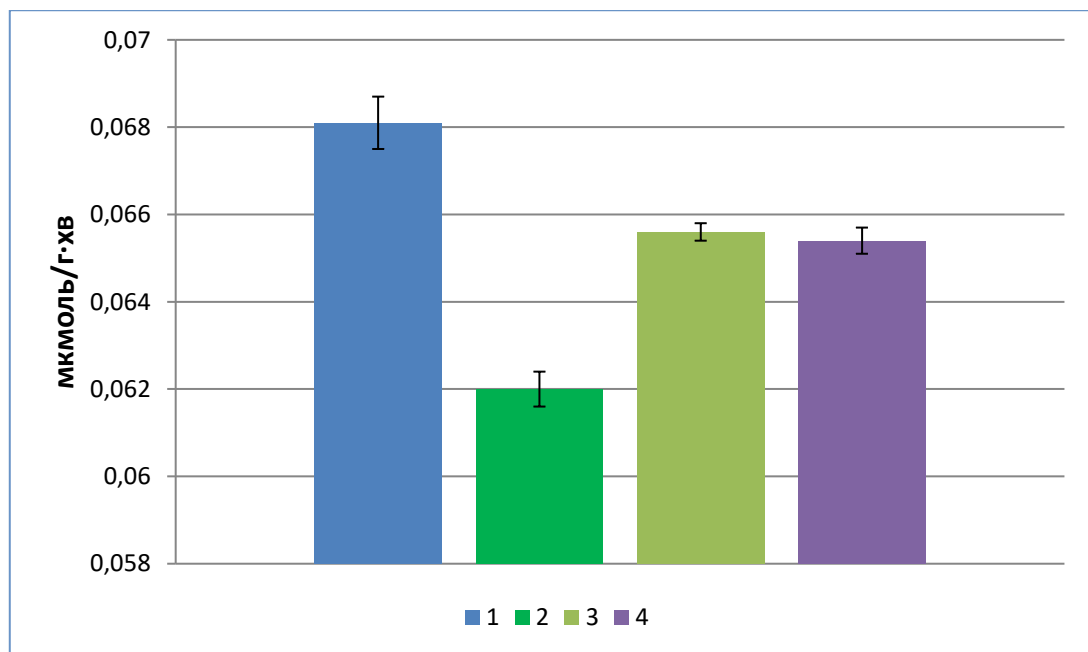


Рис. 3.6. Активність конститутивної NOS (мкмоль/г·хв) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); при десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

Показники активності конститутивної NOS в експериментальних групах суттєво не відрізняються від величин інтактних тварин і становлять: при

десинхронозі – $0,0620 \pm 0,0004$ мкмоль/г·хв, при СЗВ – $0,0656 \pm 0,0002$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання СЗВ та ГД – $0,0654 \pm 0,0003$ мкмоль/г·хв.

При модельованому ГД активність сNOS знижувалась – на 9,0%, $p < 0,001$, СЗВ зменшувала активність сNOS на 3,7%, $p < 0,001$, за умов поєднання СЗВ та ГД активність сNOS знижувалася на 4,0%, $p < 0,001$, порівняно з контролем.

Зазначимо, що порушення нормальної тривалості циклів «світло-темрява» більшою мірою, ніж СЗВ, знижувало з активність сNOS на 5,8%, $p < 0,001$. При поєднанні СЗВ і ГД активність сNOS зростала на 5,5%, $p < 0,001$ порівняно з ГД та залишалась без суттєвої різниці порівняно з СЗВ.

У інтактних тварин орнітиндекарбоксилази становила $36,43 \pm 0,98$ нмоль/г·хв, що суттєво відрізнялося від показників експериментальних груп: десинхроноз – $46,08 \pm 1,01$ нмоль/г·хв, системна запальна відповідь – $53,63 \pm 0,97$ нмоль/г·хв, поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу – $84,52 \pm 1,43$ нмоль/г·хв.

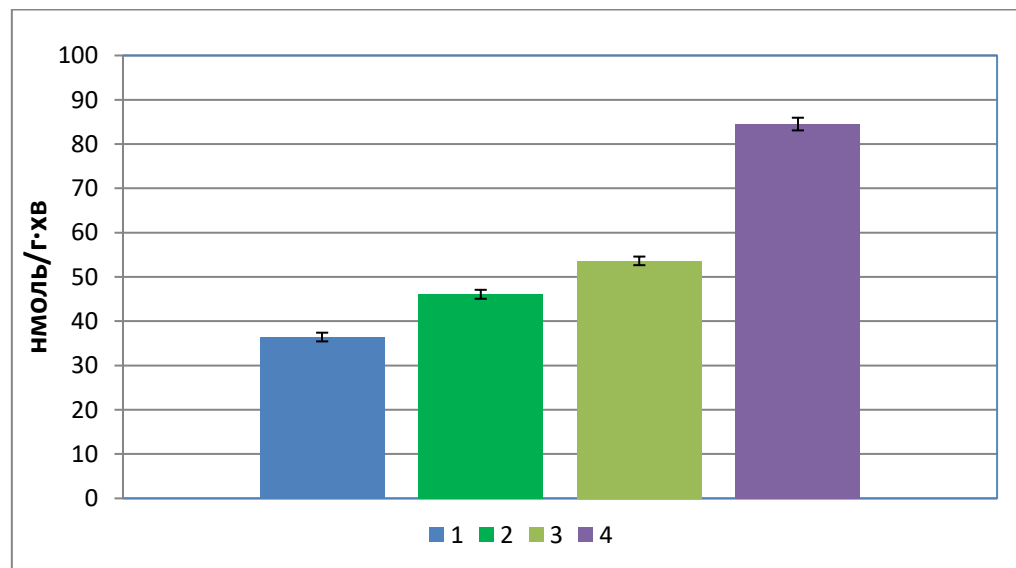


Рис. 3.7. Активність орнітиндекарбоксилази (нмоль/г·хв.) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); при десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

Активність ОДК підвищувалась в усіх експериментальних групах: при ГД - на 26,5 %, $p < 0,001$, за умов СЗВ - на 47,2%, $p < 0,001$, за умов поєднання СЗВ та

ГД - 132,0%, $p < 0,001$. За умов СЗВ активність ОДК збільшувалася на 16,4%, $p < 0,01$, ніж при порушенні світлового режиму. Поєднання СЗВ і зміни тривалості циклів «світло-темрява» підвищувало її активність на 83,6%, $p < 0,001$ порівняно з ГД та на 57,6%, $p < 0,001$ порівняно з СЗВ.

В усіх експериментальних групах відмічалася збільшення концентрації пероксинітритів у гомогенаті великих півкуль головного мозку і становили: ГД $-2,54 \pm 0,01$ мкмоль/г, СЗВ $-2,79 \pm 0,02$ мкмоль/г, за умов поєднання СЗВ та ГД - $2,59 \pm 0,01$ мкмоль/г. У інтактних тварин – $1,50 \pm 0,01$ мкмоль/г.

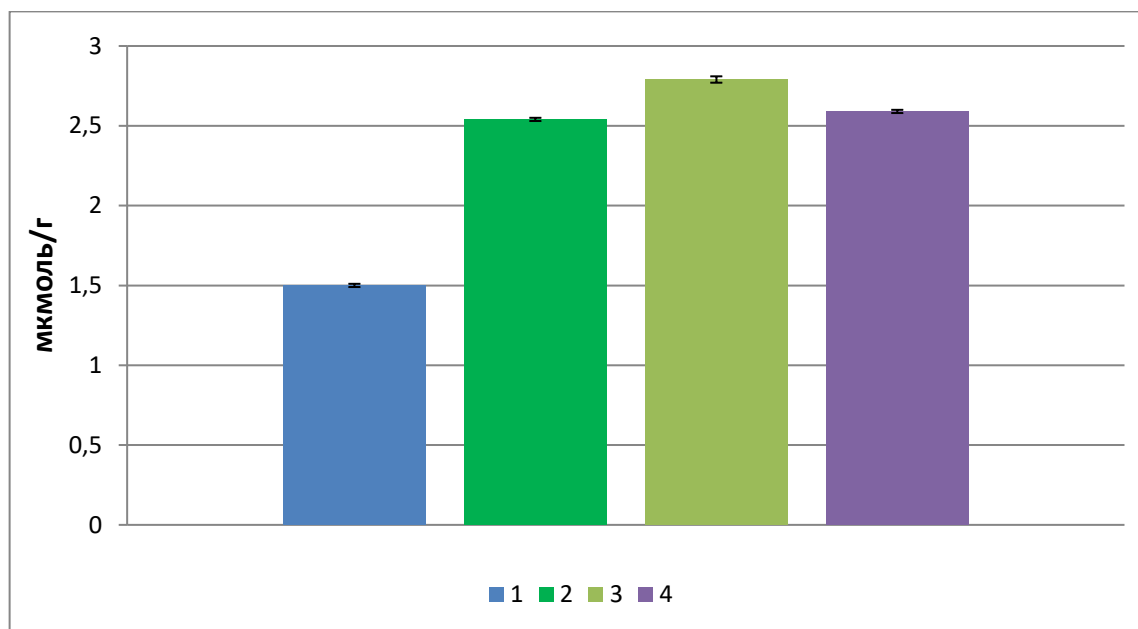


Рис. 3.8. Вміст пероксинітритів (мкмоль/г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); при десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

Концентрація пероксинітритів у гомогенаті головного мозку тварин підвищувалася в усіх дослідних групах щурів порівняно з контролем: при ГД - на 69,3%, $p < 0,001$, при СЗВ – на 86,0%, $p < 0,001$, за умов поєднання СЗВ і ГД - на 72,7%, $p < 0,001$. При цьому відмічено, що за умов СЗВ зростання вмісту пероксинітритів в тканинах було найбільше: на 9,8%, $p < 0,001$, більшим, ніж при

порушенні нормальної тривалості циклів «світло-темрява». Поєднання СЗВ і розладів світлового режиму зменшувало їх вміст на 2%, $p < 0,05$, порівняно з ГД і на 7,2%, $p < 0,001$, порівняно з СЗВ.

Таким чином, при порушенні нормальної тривалості циклів «світло-темрява», при хронічному запальному процесі та за умов їх поєднання у тканинах великих півкуль головного мозку щурів виявляються ознаки окисно-нітрозативного стресу: збільшення вироблення супероксидного аніон-радикала НАДФН - і НАДН - залежними електронотранспортними ланцюгами, зниження активності синтази оксиду азоту (загальної та індукцйбельної) на фоні збільшення активності ферменту ОДК.

Концентрація нітритів у гомогенаті великих півкуль головного мозку в експериментальних групах виявилась різною. У інтактних тварин вона становила $4,86 \pm 0,11$ нмоль/г, при ГД - $6,02 \pm 0,14$ нмоль/г, СЗВ - $5,29 \pm 0,12$ нмоль/г, за умов поєднання СЗВ та ГД $3,63 \pm 0,08$ нмоль/г.

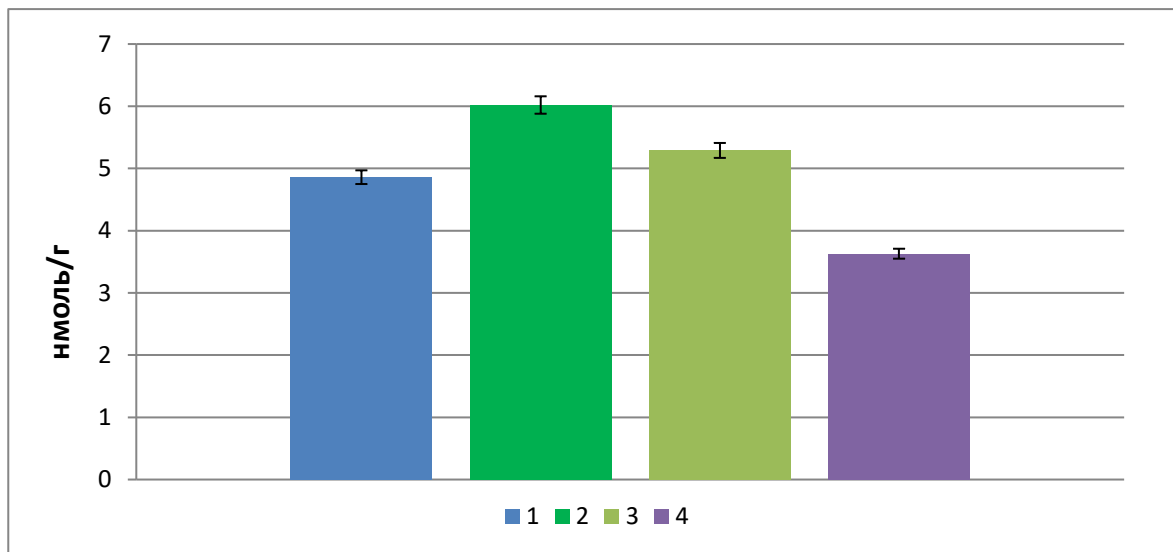


Рис. 3.9. Концентрація нітритів у великих півкулях головного мозку в інтактних тварин (1); при десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

Зазначимо, що порівняно з контролем при ГД концентрація нітритів у великих півкулях головного мозку щурів підвищувалась на 23,8%, $p < 0,001$, при СЗВ - лише на 8,8%, $p < 0,05$. За умов поєднання СЗВ і ГД концентрація нітритів знижувалася на 25,3%, $p < 0,001$. При порушенні нормальної тривалості циклів

«світло-темрява» концентрація нітритів в тканинах головного мозку на 12,1%, $p < 0,01$, була більшою, ніж при СЗВ. Поєднання СЗВ і порушення нормального світлового режиму зменшувало їх вміст на 39,7 %, $p < 0,001$ порівняно з ГД і на 31,4%, $p < 0,001$ щодо СЗВ.

Концентрація нітрозотіолів у гомогенаті великих півкуль головного мозку в експериментальних групах також була різною. У інтактних тварин вона становила $0,177 \pm 0,004$ мкмоль/г, при ГД - $0,211 \pm 0,002$ мкмоль/г, СЗВ - $0,137 \pm 0,002$ мкмоль/г, за умов поєднання СЗВ та ГД - $0,121 \pm 0,002$ мкмоль/г.

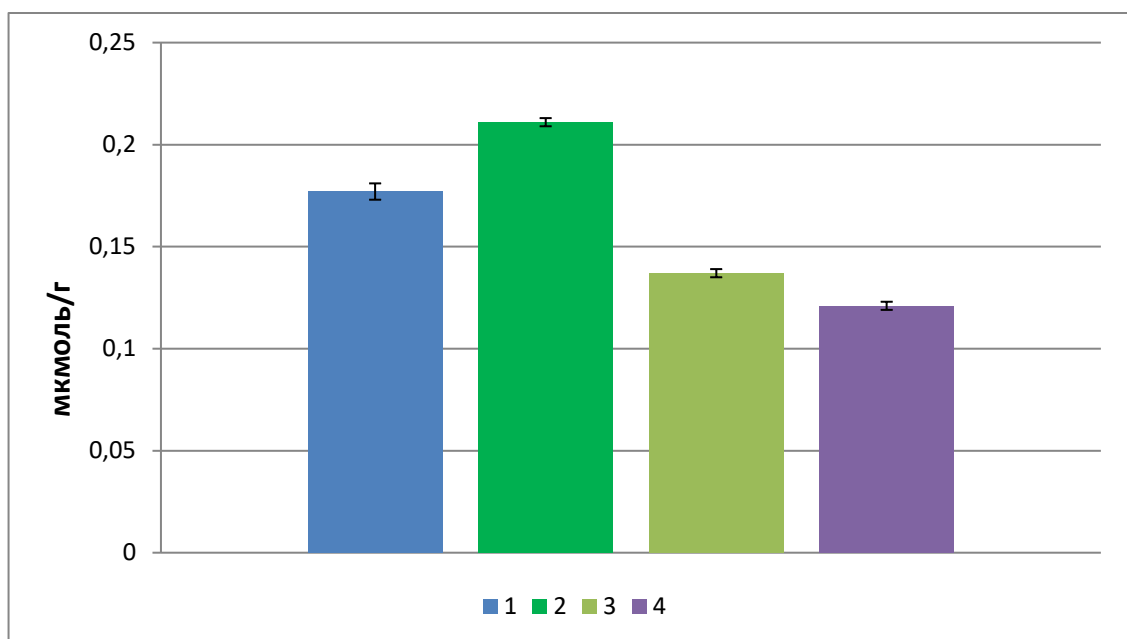


Рис. 3.10. Концентрація нітрозотіолів у великих півкулях головного мозку в інтактних тварин (1); при десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

Відмічено, що при ГД концентрація нітрозотіолів у великих півкулях головного мозку щурів підвищувалась на 19,2%, $p < 0,001$, при СЗВ зменшувалась на 22,6%, $p < 0,001$. За умов поєднання СЗВ і ГД концентрація нітрозотіолів знижувалася на 31,6%, $p < 0,001$. При порушенні нормальної тривалості циклів «світло-темрява» концентрація нітрозотіолів в тканинах головного мозку виявилась найвищою і була більшою на 35,0%, $p < 0,001$ щодо СЗВ та на 42,7%, $p < 0,001$, ніж за умов поєднання СЗВ і ГД. Концентрація нітрозотіолів при поєднанні СЗВ і ГД на 11,7%, $p < 0,001$ була меншою щодо СЗВ.

3.3. Робота ферментативної антиоксидантної системи за умов порушення біоритмів «світло-темрява» та системної запальної відповіді.

Про розвиток ПОЛ в тканинах головного мозку щурів свідчить підвищення концентрації ТБК-активних продуктів. Посилення приросту ТБК-реактивів вказує на антиоксидантну недостатність та неспроможність тканин гальмувати ПОЛ.

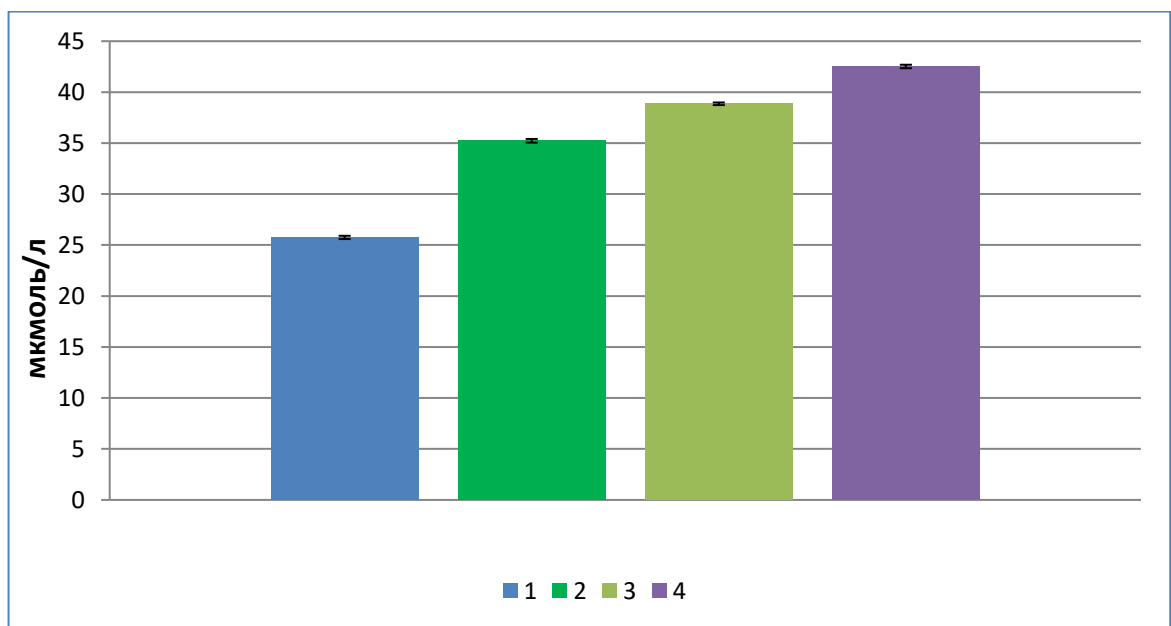


Рис. 3.11. Концентрація ТБК-активних сполук (мкмоль/л) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); при десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

В інтактних тварин вміст ТБК-активних продуктів становив $25,75 \pm 0,16$ мкмоль/л, що суттєво відрізнялося від показників експериментальних груп: десинхроноз – $35,23 \pm 0,18$ мкмоль/л, системна запальна відповідь – $38,86 \pm 0,13$ мкмоль/л, поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу – $42,52 \pm 0,17$ мкмоль/л. Показники їх приросту: $23,96 \pm 0,29$, $31,19 \pm 0,21$, $33,94 \pm 0,20$, $41,02 \pm 0,20$ мкмоль/л відповідно.

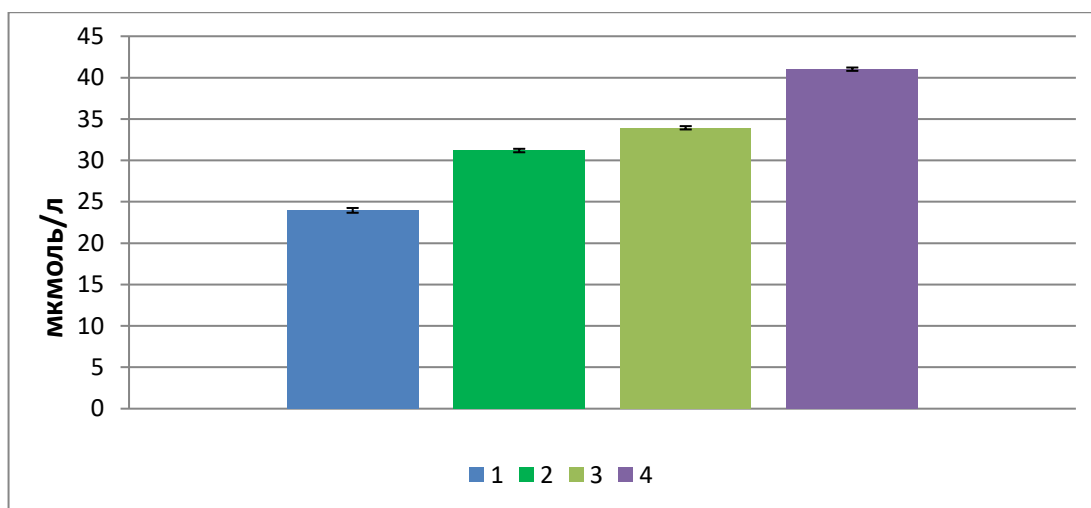


Рис. 3.12. Приріст ТБК-активних сполук (мкмоль/л) за час інкубації гомогенату великих півкуль головного мозку в прооксидантному буферному розчині інтактних тварин (1); при десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

При ГД вміст ТБК-реактантів в тканинах великих півкуль головного мозку зростав - на 36,8%, $p < 0,001$, а їх приріст - на 30,2%, $p < 0,001$, за умов СЗВ - на 51,0%, $p < 0,001$, та 41,6%, $p < 0,001$ відповідно. За умов поєднання СЗВ і ГД концентрація ТБК-активних продуктів збільшувалася на 65,1%, $p < 0,001$, а їх приріст - на 71,2%, $p < 0,001$.

За умов СЗВ вміст ТБК-реактантів збільшувався на 10,3%, $p < 0,001$, порівняно з ГД. При поєднанні ГД і СЗВ концентрація ТБК-активних сполук зростала більше на 20,7%, $p < 0,001$, ніж при порушенні світлового циклу, і на 9,4%, $p < 0,001$, щодо СЗВ. Порівняно з ГД СЗВ на 8,8%, $p < 0,001$, посилювала приріст ТБК-реактантів. Поєднання СЗВ та порушення світлового циклу збільшувало їх приріст на 31,5%, $p < 0,001$ та 20,9%, $p < 0,001$ щодо ГД та СЗВ відповідно.

Активність СОД в інтактних тварин становила $14,78 \pm 0,46$ у.о. У даних тварин експериментальних груп величини суттєво відрізнялися: десинхроноз – $6,90 \pm 0,43$ у.о, системна запальна відповідь – $18,00 \pm 0,41$ у.о., поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу – $8,63 \pm 0,68$ у.о.

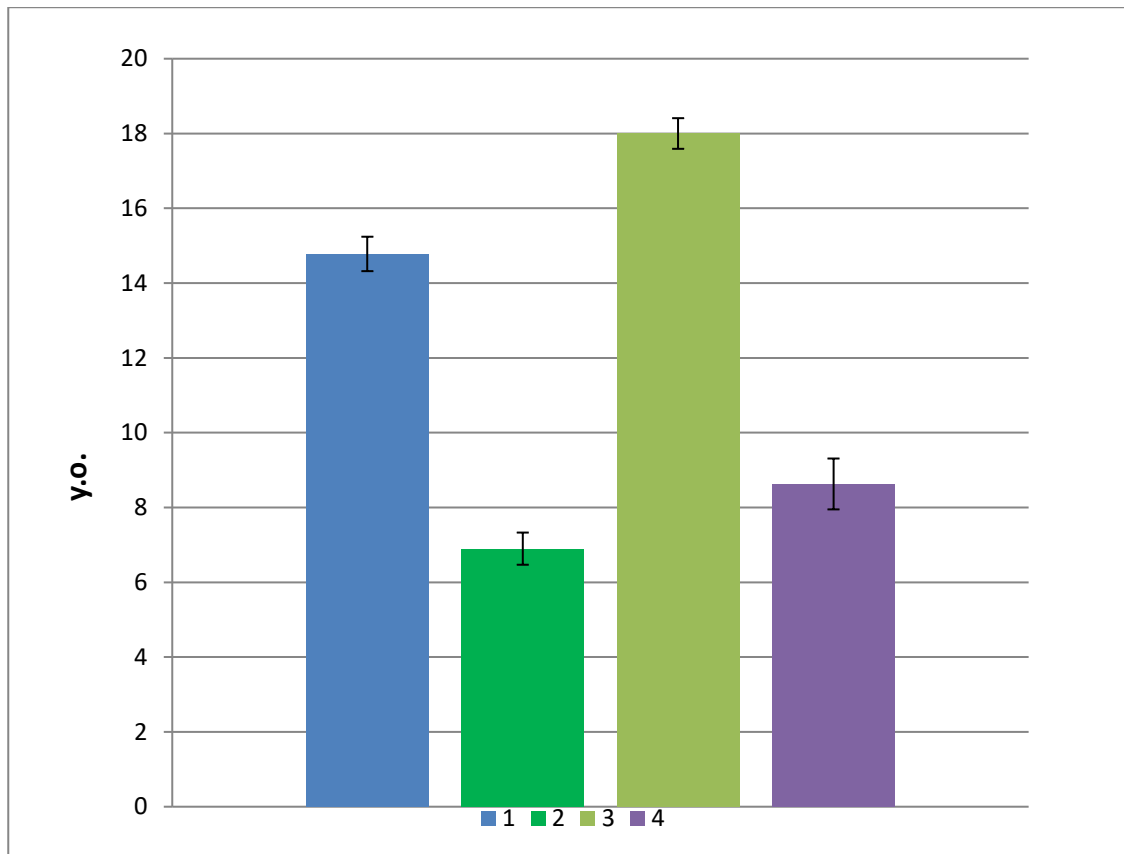


Рис. 3.13. Активність СОД у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); при десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

При ГД активність СОД знижувалася на 53,3%, $p < 0,001$, при СЗВ - зростала на 21,8%, $p < 0,001$. За умов поєднання СЗВ і ГД активність СОД зменшувалася на 41,6, $p < 0,001$.

Зазначимо, що при СЗВ спостерігалася активація СОД на 160%, $p < 0,001$ порівняно з ГД та на 106%, $p < 0,001$ переважала щодо поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу. Відтворення ГД за умов СЗВ погіршувало роботу ферментної системи: активність СОД була вищою на 25%, $p < 0,05$, ніж за умов ГД, та на 52%, $p < 0,001$ нижчою, ніж при СЗВ.

Активність каталази в інтактних тварин становила $0,477 \pm 0,003$ мккат/г. У даних тварин експериментальних груп виявили наступні показники: десинхроноз – $0,409 \pm 0,001$ мккат/г, системна запальна відповідь – $0,463 \pm 0,001$

мккат/г, поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу – $0,425 \pm 0,001$ мккат/г.

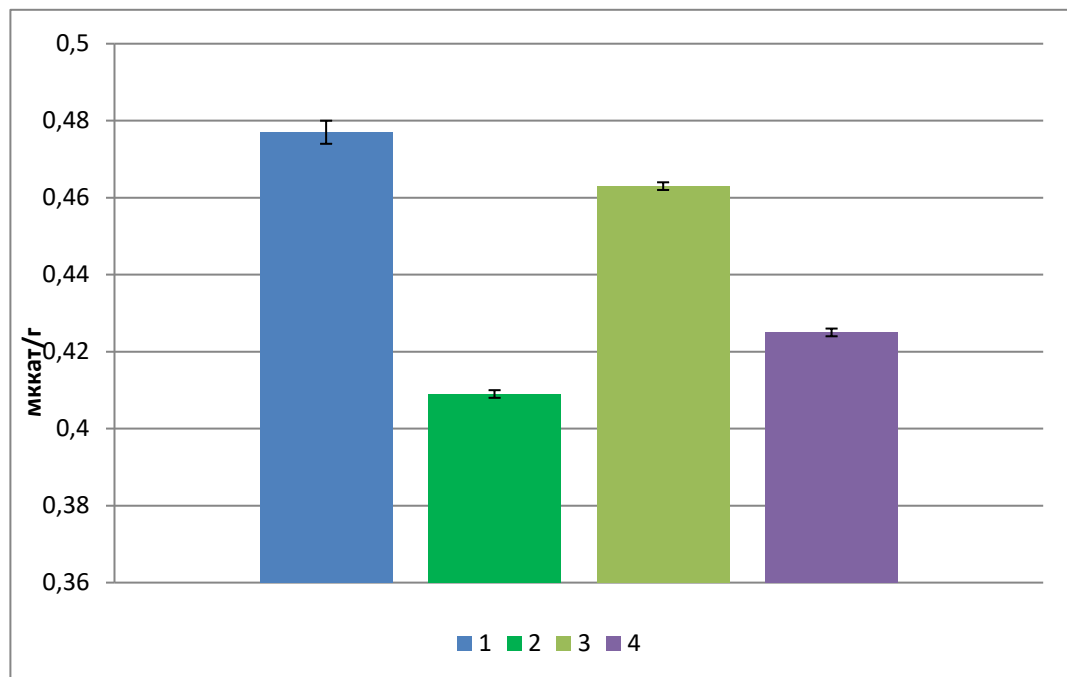


Рис. 3.14. Активність каталази (мккат/г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); при десинхронозі (2), за умов системної запальної відповіді (3), за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (4).

При ГД активність каталази знижувалась на 14,3%, $p < 0,001$, при СЗВ - на 3,0%, $p < 0,001$, за умов поєднання СЗВ і ГД - на 11,0%, $p < 0,001$. Натомість при СЗВ спостерігалася активація каталази на 13,2%, $p < 0,001$ порівняно з ГД. Відтворення ГД за умов СЗВ погіршувало роботу ферментної системи: активність була каталази була на 4%, $p < 0,001$ вищими, ніж за умов ГД, та на 8,2%, $p < 0,001$ нижчими, ніж при СЗВ.

Висновки до розділу 3:

1. При поєднанні системної запальної відповіді та гострого десинхронозу інтенсивність вільнорадикальних процесів зростає, активність ферментативної антиоксидантної системи знижується в більшій мірі, ніж при окремому їх

відтворенні, що супроводжується збільшенням ТБК-реактантів в тканинах великих півкуль головного мозку.

2. Знижується активність загальної NO-синтази та її індукцибельної ізоформи, зростає вміст пероксинітритів в гомогенаті великих півкуль головного мозку щурів.

Матеріали цього розділу оприлюднені в статтях [110] і тезах [111-114].

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ЦИРКАДІАННОГО ОСЦИЛЯТОРА НА СТАН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА NO-ЕРГІЧНУ СИСТЕМУ У ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТВАРИН ЗА УМОВ ПОЄДНАННЯ ПОРУШЕННЯ ЦИКЛУ «СВІТЛО-ТЕМРЯВА» ТА ЛІПОПОЛІСАХАРИД – ІНДУКОВАНОЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ

4.1. Значення модуляторів циклів «світло-темрява» у перебігу вільнорадикальних процесів у великих півкулях головного мозку щурів при поєднанні системної запальної відповіді та гострого десинхронозу.

Швидкість продукції супероксидного аніон-радикала у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу становила $1,44 \pm 0,01$ нмоль/с·г., НАДФН – індукована – $15,27 \pm 0,07$ нмоль/с·г., НАДН – індукована – $9,52 \pm 0,04$ нмоль/с·г.

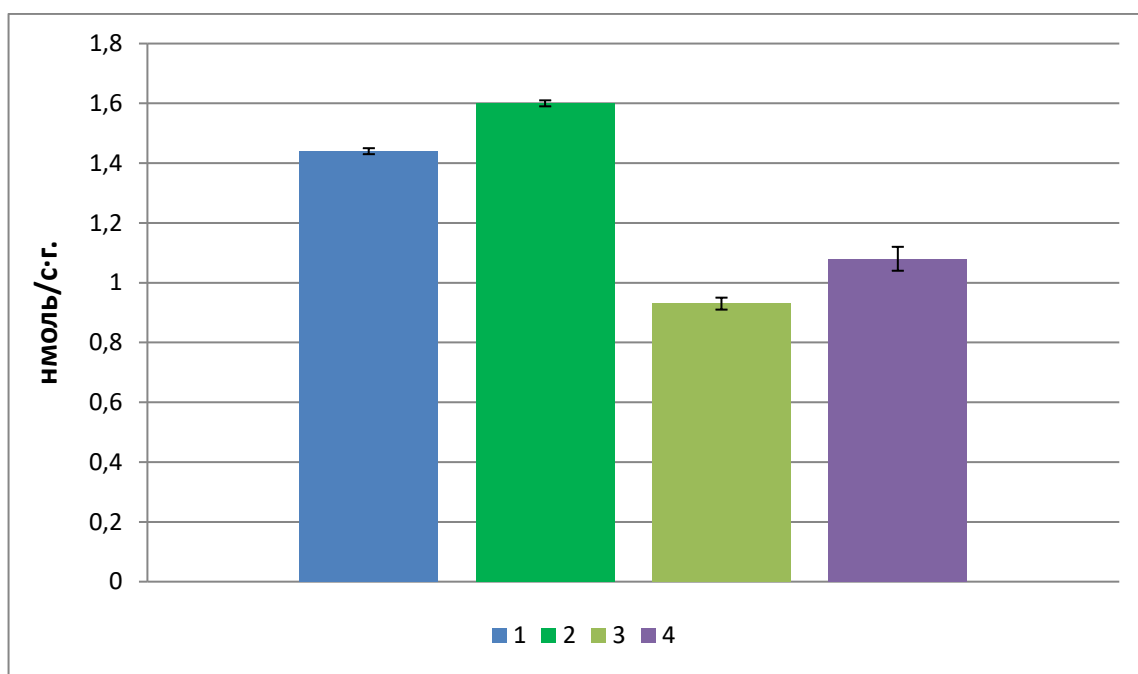


Рис. 4.1. Швидкість базової генерації супероксидного аніон-радикала (нмоль/с·г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (1), за умов поєднання системної

запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію (2), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину (3), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

Величини даного показника в експериментальних групах суттєво відрізняються від контрольного та між собою і становили: при поєднанні СЗВ та десинхронозу – $1,44 \pm 0,01$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію - $1,60 \pm 0,01$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину $0,93 \pm 0,02$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу $1,08 \pm 0,04$ нмоль/с·г.

Введення глутамату натрію значно прискорювало процеси утворення САР: швидкість базової продукції була на 11,1%, $p < 0,01$ більшою, ніж за умов поєднання СЗВ і ГД. Додавання флуоксетину при поєднанні гострого десинхронозу і СЗВ зменшувало швидкість базової продукції САР на 35,4%, $p < 0,001$, а введення етанолу - зменшувало її на 25,0%, $p < 0,001$.

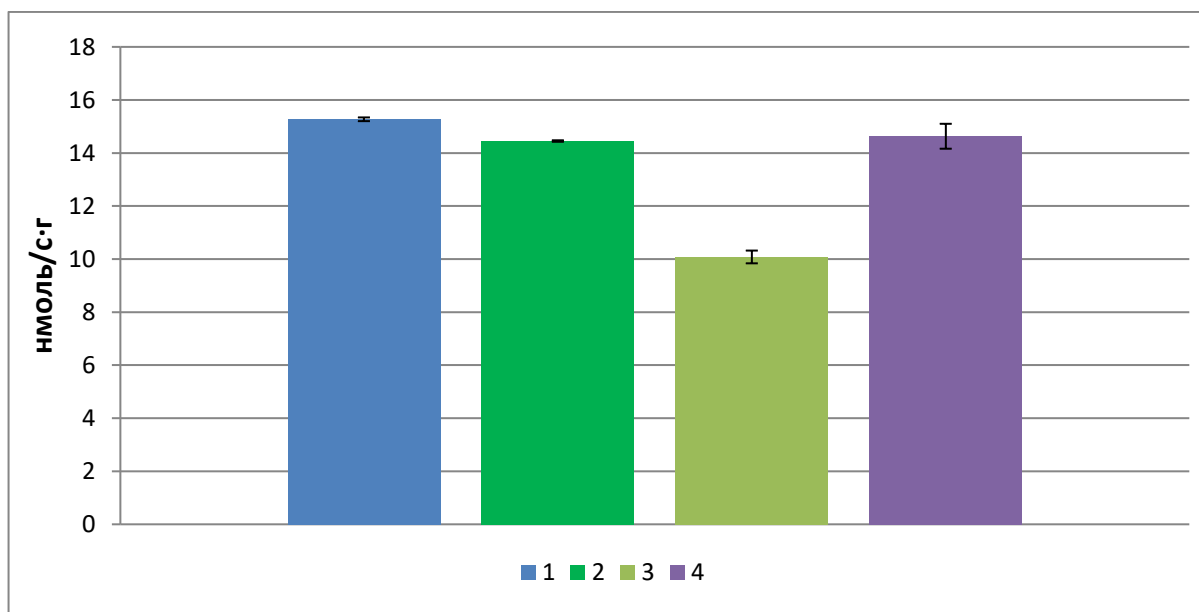


Рис. 4.2. Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мітросомальним шляхом (нмоль/с·г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (1), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату

натрію (2), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину (3), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

Величини даного показника в експериментальних групах становили: при поєднанні СЗВ та десинхронозу – $15,27 \pm 0,07$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію – $14,45 \pm 0,28$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину $10,08 \pm 0,24$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу $14,63 \pm 0,47$ нмоль/с·г.

Як бачимо, за умов поєднання СЗВ та ГД введення глутамату натрію дещо гальмувало продукцію САР в мітросомах – її швидкість знизилась на 5,4%, $p < 0,01$. Додавання флуоксетину за цих умов зменшувало швидкість НАДФН-індукованої продукції на 34%, $p < 0,001$, введення етанолу – на 4,2%, $p < 0,01$.

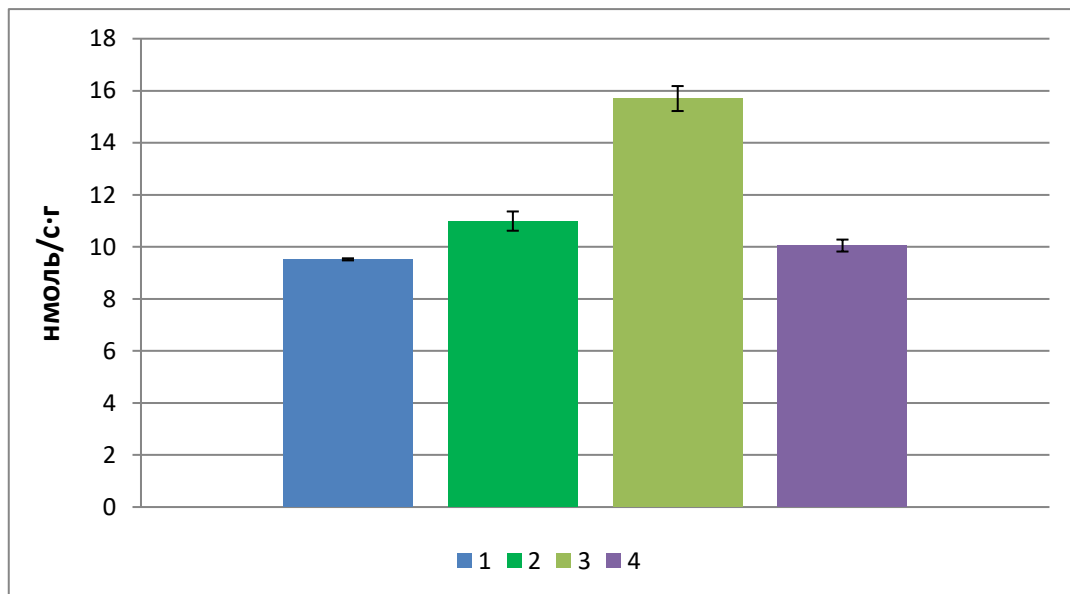


Рис. 4.3. Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мітохондріальним шляхом (нмоль/с·г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (1), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію (2), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії

флуоксетину (3), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

Величини даного показника в експериментальних групах суттєво відрізнялися між собою і становили: при поєднанні СЗВ та десинхронозу – $9,52 \pm 0,04$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію – $10,99 \pm 0,37$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину – $15,70 \pm 0,48$ нмоль/с·г умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу – $10,05 \pm 0,23$ нмоль/с·г.

За умов поєднання СЗВ та ГД введення глутамату натрію суттєво посилювало продукцію САР в мітохондріях клітин – зростання на 18,2%, $p < 0,001$, додавання флуоксетину ще більше підвищувало НАДН-індуковану продукцію – на 65%, $p < 0,001$, під дією етанолу даний процес прискорювався на 5,6%, $p < 0,01$.

4.2. Дія модюляторів циркадіанного осцилятора стан на NO-ергічної системи за умов поєднання системної запальної відповіді та порушення циклів «світло-темрява».

Загальна активність NOS у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу становила $0,56 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв, активність її індукцйбельної ізоформи – $0,50 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв, конститутивної – $0,0654 \pm 0,0003$ мкмоль/г·хв.

Показники загальної активності NOS в експериментальних групах становлять: за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію – $2,06 \pm 0,04$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину – $0,25 \pm 0,01$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу – $0,66 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв.

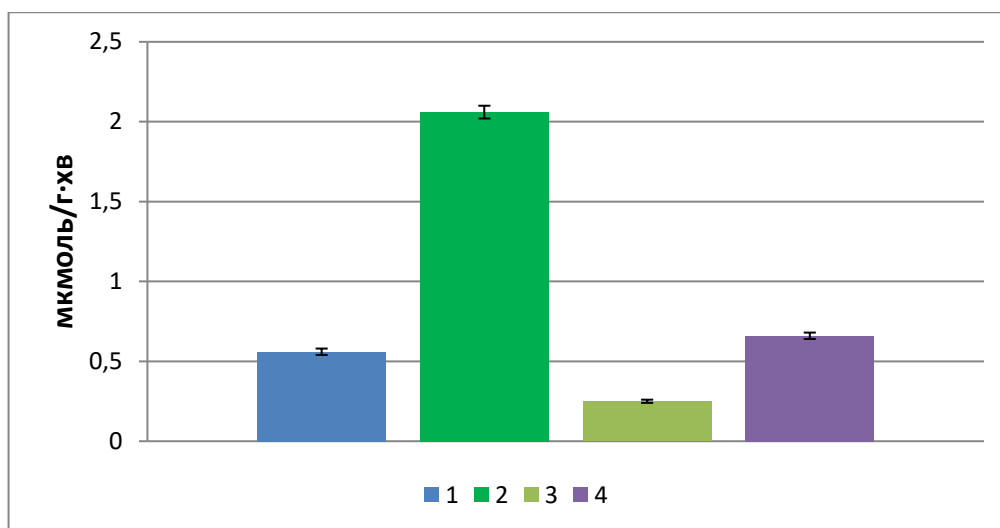


Рис. 4.4. Активність загальної NOS (мкмоль/г·хв) у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (1), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію (2), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину (3), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

За умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу при додатковому введенні глутамату натрію спостерігалось значне зростання загальної активності NOS - на 267,5%, $p < 0,001$. Додавання флуоксетину знижувало її на 55%, $p < 0,001$, введення етанолу – підвищувало на 17,8%, $p < 0,01$.

Показники активності індуцибельної NOS в експериментальних групах також суттєво відрізняються і становлять: за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію - $2,00 \pm 0,04$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину $0,20 \pm 0,01$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу $0,61 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв.

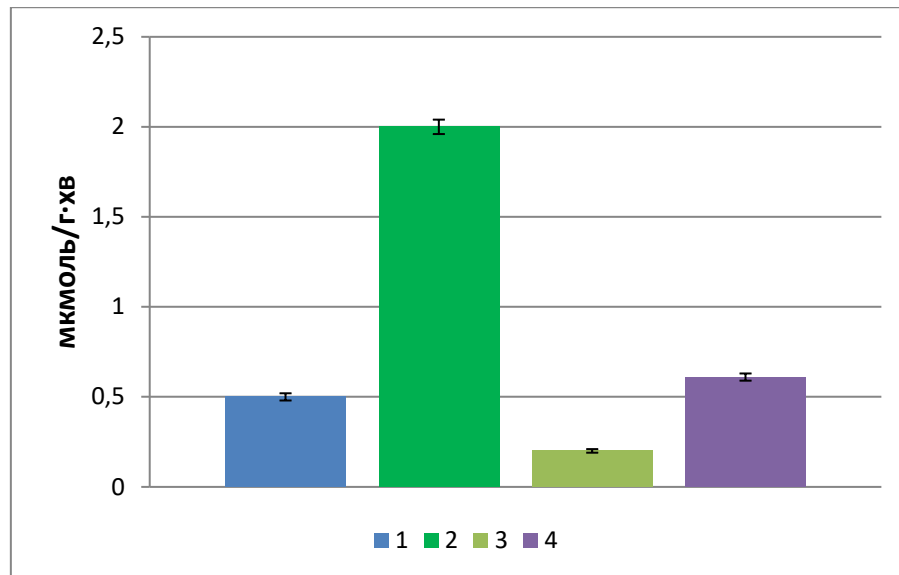


Рис. 4.5. Активність індуцибельної NOS (мкмоль/г·хв) у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу (1), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію (2), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину (3), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

За умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу додаткове введення глутамату натрію сприяє значному зростанню активності iNOS - на 300,0%, $p < 0,001$, додавання флуоксетину знижувало її на 60%, $p < 0,001$, введення етанолу підвищувало на 22%, $p < 0,01$.

Показники активності cNOS в експериментальних групах не суттєво відрізняються від величин за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та становлять: за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію $0,0579 \pm 0,000$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину $0,0546 \pm 0,000$ мкмоль/г·хв, а умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу $0,0522 \pm 0,000$ мкмоль/г·хв.

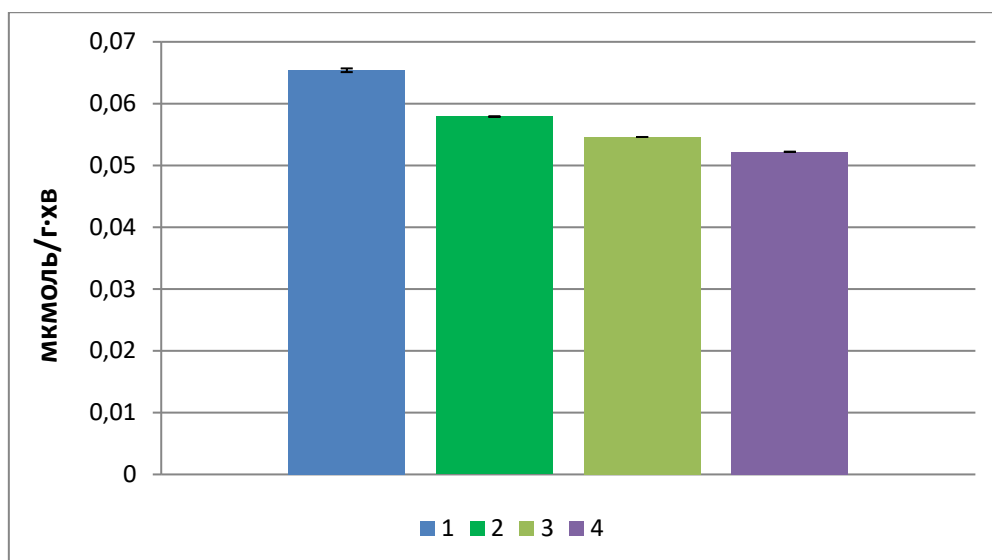


Рис. 4.6. Активність конститутивної NOS (мкмоль/г·хв) у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (1), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію (2), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину (3), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

В усіх експериментальних групах: при введенні глутамату натрію, флуоксетину, а також 40% етанолу за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу активність cNOS знижувалась відповідно на 11,5%, $p < 0,001$, 16,5%, $p < 0,001$, та 20,2%, $p < 0,001$.

Показники активності орнітиндекарбоксилази при поєднанні системної запальної відповіді і десинхронозу становлять: $84,52 \pm 1,43$ нмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію - $95,26 \pm 3,30$ нмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину $47,19 \pm 2,14$ нмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу $55,79 \pm 3,59$ нмоль/г·хв.

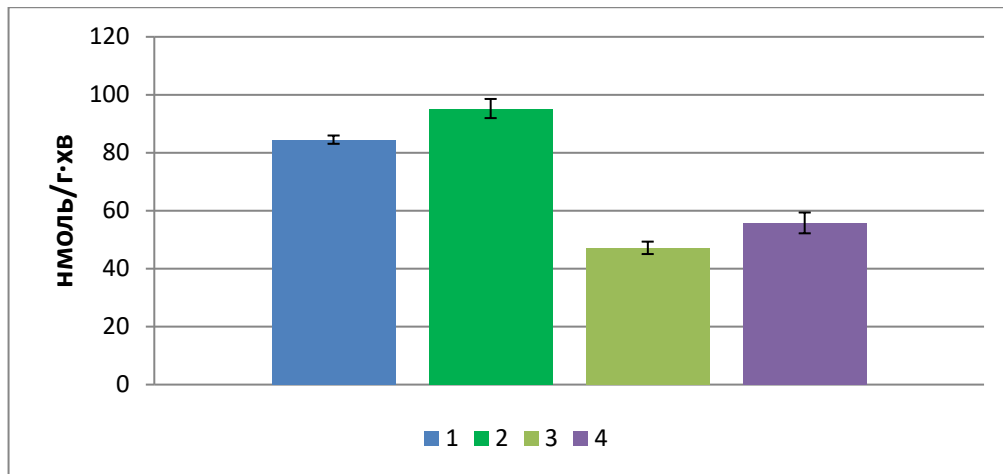


Рис. 4.7. Активність орнітиндекарбоксилази (нмоль/г·хв) у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (1), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію (2), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину (3), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

Зазначимо, що при поєднанні системної запальної відповіді і десинхронозу при додатковому введенні глутамату натрію активність ОДК зростала на 12,7%, $p < 0,05$, при додаванні флуоксетину та етанолу вона знижувалась на 44,2%, $p < 0,001$, та 34,0%, $p < 0,001$ відповідно.

Концентрації пероксинітритів у гомогенаті великих півкуль головного мозку даних експериментальних груп становила: при поєднанні системної запальної відповіді і десинхронозу – $2,59 \pm 0,01$ мкмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію – $3,25 \pm 0,02$ мкмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину $3,56 \pm 0,11$ мкмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу $2,11 \pm 0,07$ мкмоль/г.

Додаткове введення глутамату натрію, а також флуоксетину за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу сприяло зростанню концентрації пероксинітритів в тканинах головного мозку тварин на 25,5%,

$p < 0,001$, та 37,5%, $p < 0,001$, відповідно. Додавання етанолу за цих умов знижувало їх вміст на 18,1%, $p < 0,01$.

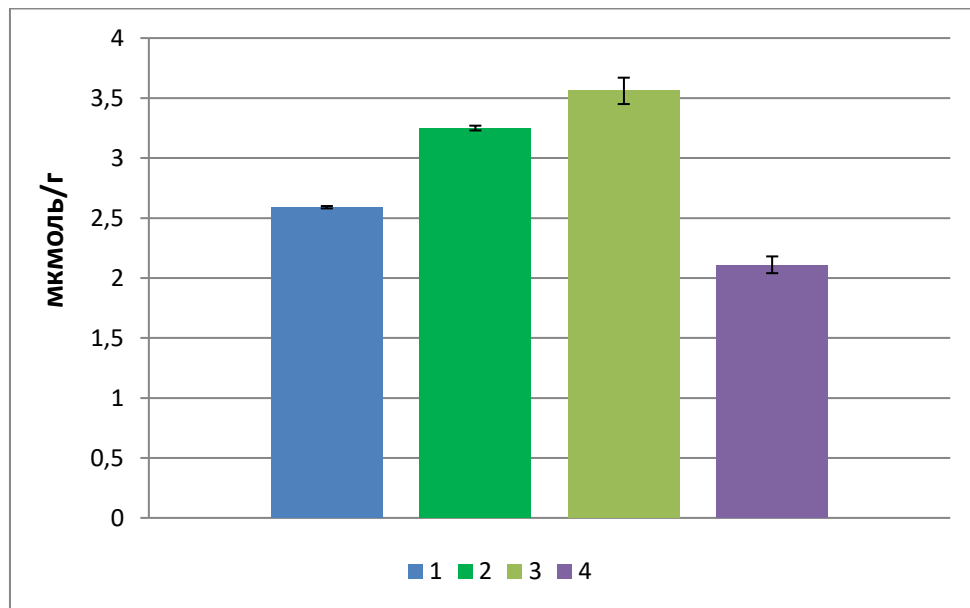


Рис. 4.8. Вміст пероксинітритів (мкмоль/г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (1), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію (2), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину (3), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

Концентрація нітритів у гомогенаті великих півкуль головного мозку в експериментальних групах виявилась різною. При поєднанні СЗВ та ГД вона становила $3,63 \pm 0,08$ нмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію - $3,16 \pm 0,19$ нмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину – $6,53 \pm 0,14$ нмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу - $4,78 \pm 0,07$ нмоль/г.

Зазначимо, що дані не є достовірними щодо вмісту нітритів при додатковому введенні глутамату натрію за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу - $p > 0,05$. При додаванні флуокетину, а також етанолу

при вказаних умовах вміст нітритів в тканинах головного мозку підвищувався на 79,9%, $p < 0,001$, та 31,7%, $p < 0,001$ відповідно.

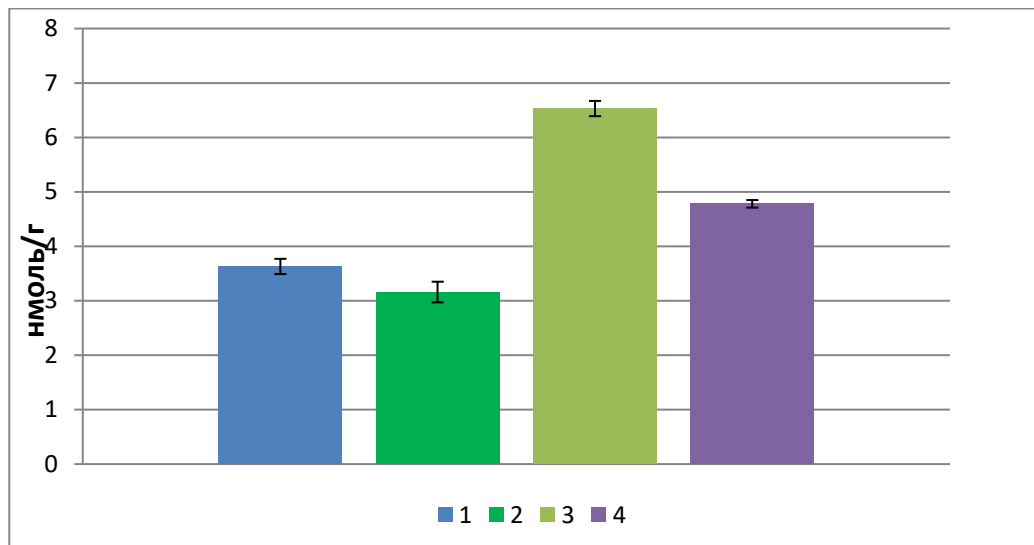


Рис. 4.9. Концентрація нітритів у великих півкулях головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (1), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію (2), за умов поєднання системної запальної дії та дії флуоксетину (3), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

Концентрація нітрозотіолів у гомогенаті великих півкуль головного мозку в експериментальних групах також була різною. При поєднанні СЗВ та ГД вона становила $0,121 \pm 0,002$ мкмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію – $0,134 \pm 0,010$ мкмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину – $0,214 \pm 0,002$ мкмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу та дії етанолу - $0,174 \pm 0,004$ мкмоль/г.

Відмічено, що концентрація нітрозотіолів у великих півкулях головного мозку щурів за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та додатковій дії флуоксетину підвищувалась на 76,8%, $p < 0,001$, етанолу - 43,8%, $p < 0,001$, при додаванні глутамату натрію - дані не є достовірними, $p > 0,05$.

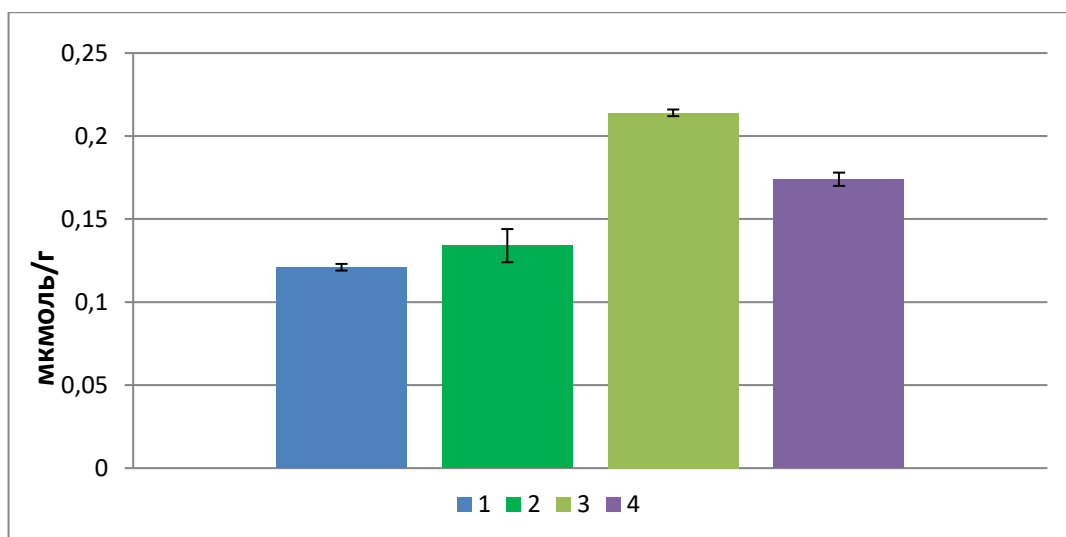


Рис. 4.10. Концентрація нітрозотіолів у великих півкулях головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (1), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію (2), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину (3), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

4.3. Вплив модуляторів циркадіанного осцилятора на показники антиоксидантної ситеми за умов ліпополісахарид - індукованої системної запальної відповіді при порушенні циклів «світло-темрява».

При поєднанні СЗВ та ГД вміст ТБК-активних продуктів становив $42,52 \pm 0,17$ мкмоль/л, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію – $47,23 \pm 0,17$ мкмоль/л, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину – $32,44 \pm 0,12$ мкмоль/л, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу – $44,70 \pm 0,67$ мкмоль/л.

Показники приросту становили: $41,02 \pm 0,20$ мкмоль/л, $38,75 \pm 0,33$ мкмоль/л, $18,75 \pm 0,53$ мкмоль/л, $38,24 \pm 0,57$ мкмоль/л відповідно.

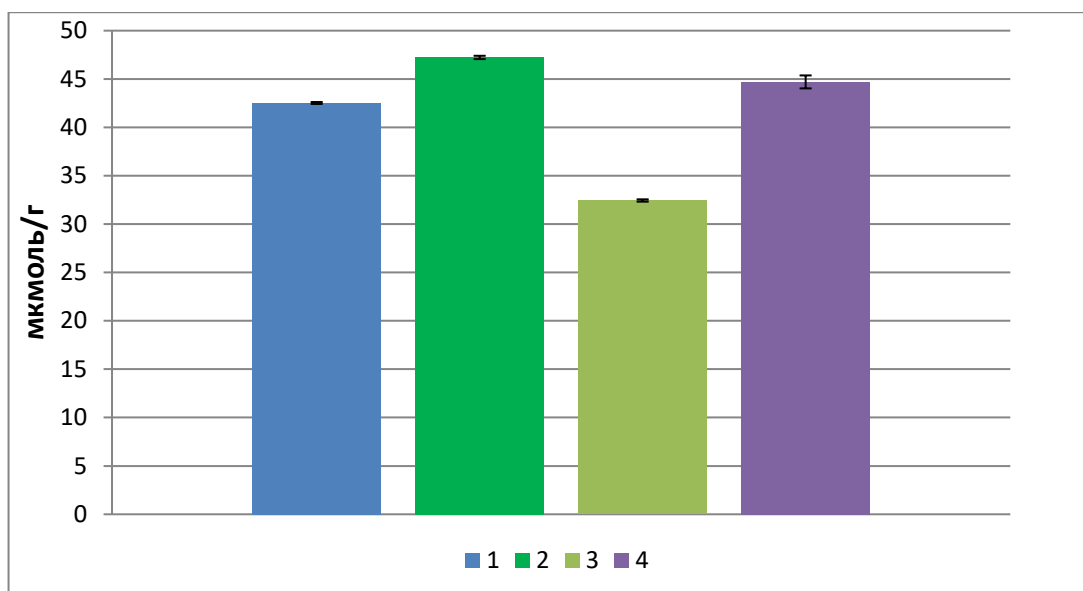


Рис. 4.11. Концентрація ТБК-активних сполук (мкмоль/л) в гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (1), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію (2), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину (3), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

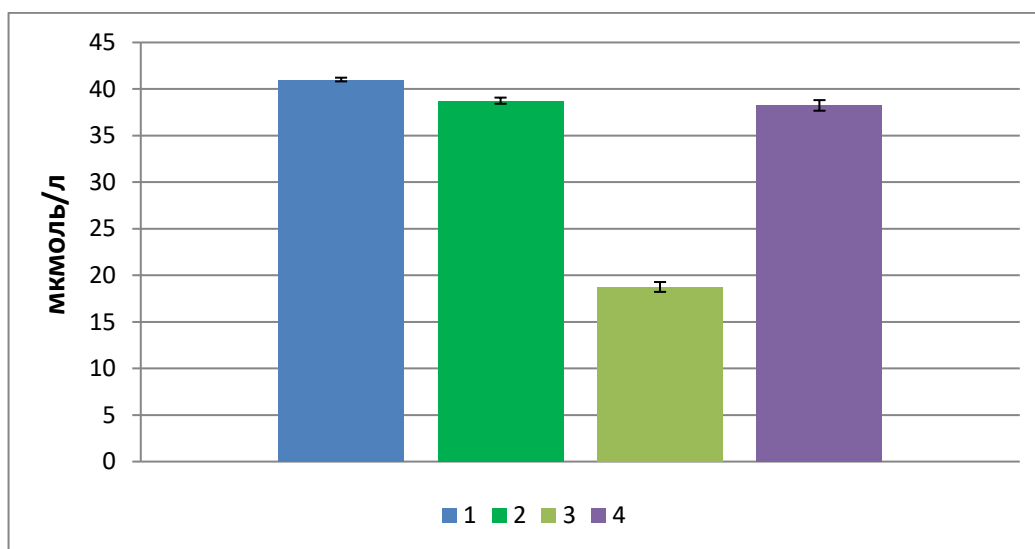


Рис. 4.12. Приріст ТБК-активних сполук (мкмоль/л) за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (1), при поєднанні системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію (2), при поєднанні системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину (3), при поєднанні системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

За умов поєднання ГД і СЗВ введення глутамату натрію збільшенню концентрації ТБК-активних продуктів в тканинах на 11,1%, $p < 0,001$, але знижувало їх приріст на 5,52%, $p < 0,001$. Додавання флуоксетину за цих умов зменшувало концентрацію ТБК-активних продуктів на 23,7%, $p < 0,001$, а їх приріст – на 54,3%, $p < 0,001$. При введенні етанолу концентрація ТБК-активних продуктів в тканинах зростала на 5,1%, $p < 0,001$, їх приріст зменшувався на 6,8%, $p < 0,001$.

Активність СОД при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу становила $8,63 \pm 0,68$ у.о. За умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію показники були $6,33 \pm 0,27$ у.о., за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину – $16,03 \pm 0,72$ у.о., за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу – $9,73 \pm 0,50$ у.о.

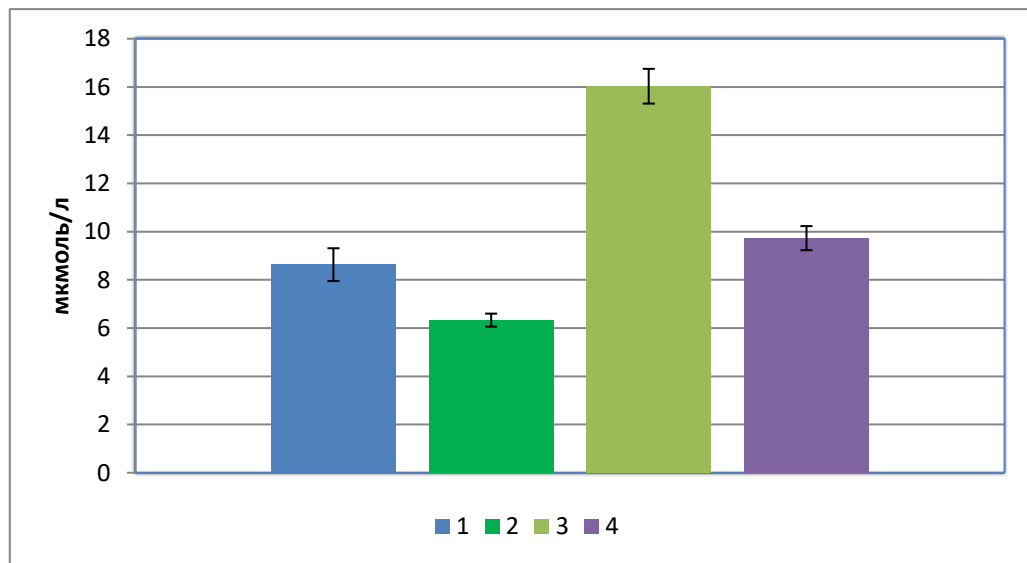


Рис. 4.13. Активність СОД у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (1), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію (2), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину (3), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

Введення глутамату натрію за умов поєднання СЗВ та ГД пригнічувало активність СОД на 26,7%, $p < 0,01$. Натомість, при додаванні флуоксетину активність СОД зростала на 85,7%, $p < 0,001$. Дані щодо впливу 40% етанолу на активність СОД не є достовірними - $p > 0,05$.

Активність каталази при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу становила $0,425 \pm 0,001$ мккат/г. За умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію показники були $0,295 \pm 0,005$ мккат/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину – $0,4775 \pm 0,000$ мккат/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу – $0,354 \pm 0,005$ мккат/г.

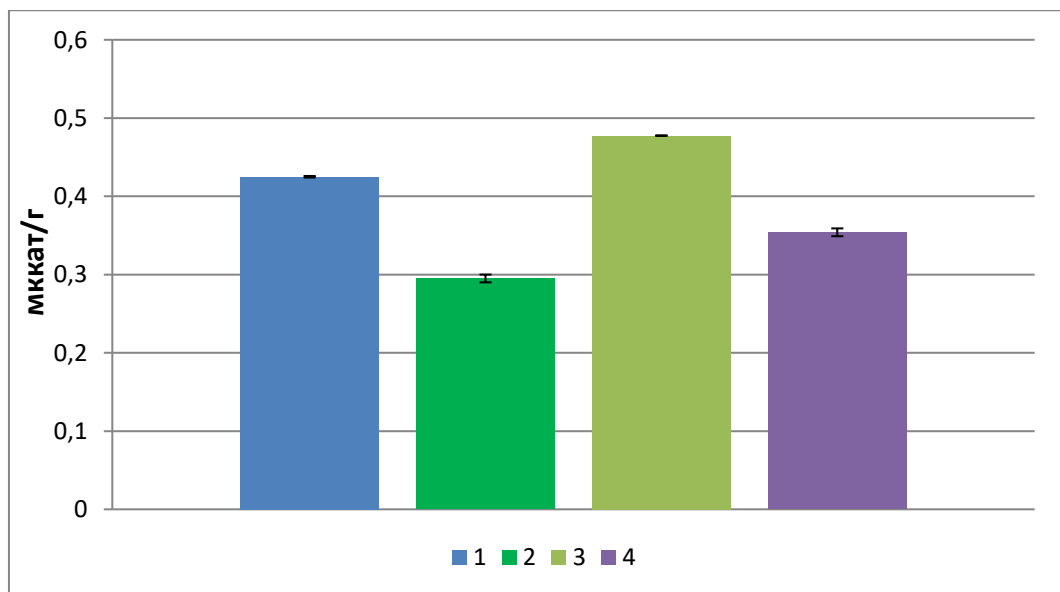


Рис. 4.14. Активність каталази (мккат/г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу (1), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію (2), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину (3), за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу (4).

За умов поєднання СЗВ та ГД введення глутамату натрію, як і етанолу пригнічувало активність каталази на 30,6%, $p < 0,001$, та 16,7%, $p < 0,001$ відповідно. При додаванні флуоксетину за даних умов активність каталази зростала на 12,4%, $p < 0,001$.

Висновки до розділу 4:

1. Внаслідок введення глутамату натрію за умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу в більшій мірі, ніж після додавання інших модуляторів, посилюється інтенсивність оксидативно-нітрозативного стресу у великих півкулях головного мозку: зростає швидкість продукції САР, знижується ферментативний антиоксидантний захист, накопичуються пероксинітрити; зростають загальна активність NOS та iNOS, але знижується cNOS.

2. Введення флуоксетину при поєднанні системної запальної відповіді і гострого десинхронозу в цілому зменшує інтенсивність окисних процесів: знижується швидкість базової продукції САР, концентрація і приріст ТБК-реактантів, зростає активність антиоксидантних ферментів, але зменшується активність NO-синтазної системи, посилюється нітрозативний стрес, про що свідчить зростання в тканинах концентрації пероксинітритів.

4. Застосування 40% розчину етанолу при поєднанні системної запальної відповіді та гострого десинхронозу супроводжується зменшенням активності оксидативно стресу та вмісту пероксинітритів, посиленням антиоксидантного захисту, зростанням загальної активності NOS .

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях [115,116] і тезах [117].

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ NF- κ B – ОПОСЕРЕДКОВАНИХ ЗМІН БІОРИТМУ «СВІТЛО - ТЕМРЯВА» НА МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ ПОРУШЕННІ БІОРИТМУ ЗА УМОВ ЛІПОПОЛІСАХАРИД – ІНДУКОВАНОЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ

5.1. Дія поєднаного застосування інгібітора активації NF- κ B і модуляторів циклів «світло-темрява» на продукцію супероксидного аніон-радикала в тканинах головного мозку щурів при порушенні світлового режиму за умов системної запальної відповіді.

Швидкість продукції супероксидного аніон-радикала у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу становила - $1,44 \pm 0,01$ нмоль/с·г, НАДФН – індукована – $15,27 \pm 0,07$ нмоль/с·г, НАДН – індукована – $9,52 \pm 0,04$ нмоль/с·г (рис. 5.1- 5.3).

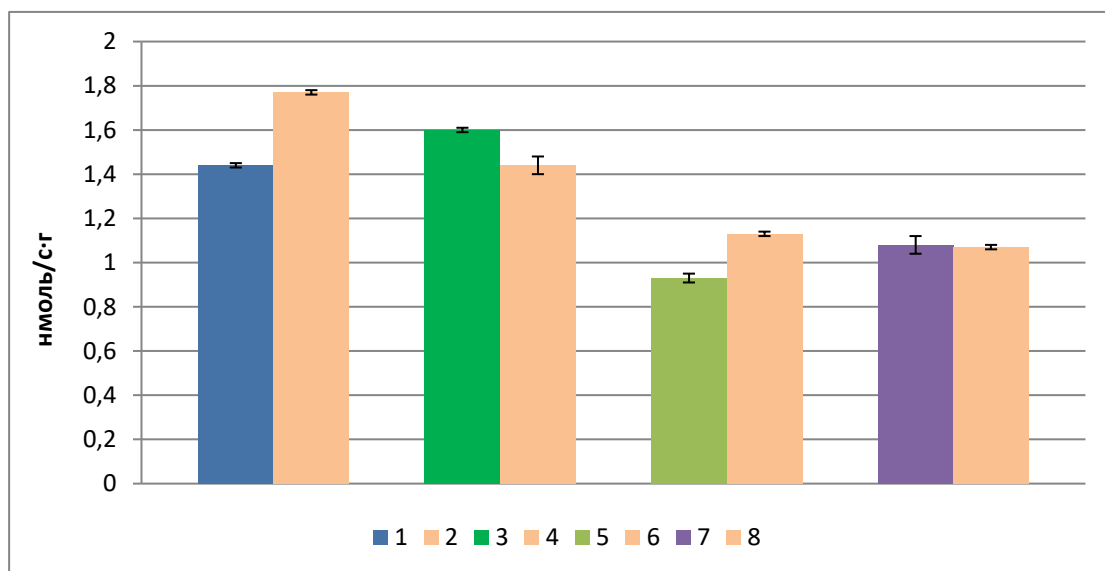


Рис. 5.1. Швидкість базової генерації супероксидного аніон-радикала (нмоль/с·г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3), за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату

натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

Величини даного показника в експериментальних групах суттєво відрізняються від контрольного та між собою і становили: при поєднанні СЗВ та десинхронозу – $1,44 \pm 0,01$ нмоль/с·г, після введення ПДТК – $1,77 \pm 0,01$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію - $1,60 \pm 0,01$ нмоль/с·г, після введення ПДТК – $1,44 \pm 0,04$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину $0,93 \pm 0,02$ нмоль/с·г, після введення ПДТК $1,13 \pm 0,01$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу $1,08 \pm 0,04$ нмоль/с·г, після введення ПДТК – $1,07 \pm 0,0$ 1нмоль/с·г.

Введення ПДТК за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу прискорювало швидкість базової продукції САР на 22,9%, $p < 0,001$, за цих умов та при дії глутамату натрію – сповільнювало на 10%, $p < 0,01$, при додаванні флуоксетину – підвищувало на 21,5%, $p < 0,01$, при дії етанолу - $p > 0,05$, дані не є достовірними (без суттєвої різниці).

Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мітросомальним шляхом в експериментальних групах становила: при поєднанні СЗВ та десинхронозу – $15,27 \pm 0,07$ нмоль/с·г, після введення ПДТК – $16,33 \pm 0,09$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію - $14,45 \pm 0,28$ нмоль/с·г, після введення ПДТК – $11,91 \pm 0,13$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину $10,08 \pm 0,24$ нмоль/с·г, після введення ПДТК – $10,73 \pm 0,12$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу $14,63 \pm 0,47$ нмоль/с·г, після введення ПДТК - $12,65 \pm 0,18$ нмоль/с·г.

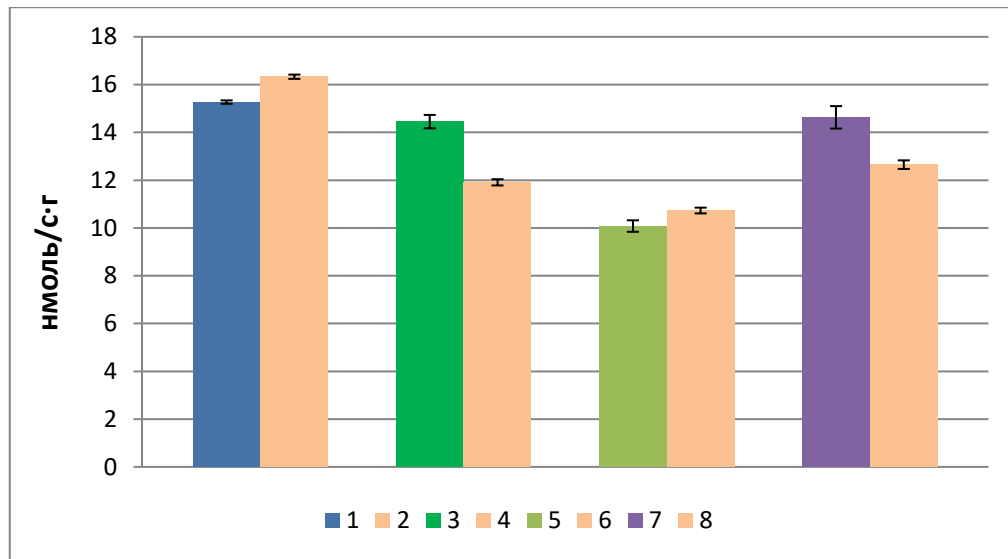


Рис. 5.2. Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мітросомальним шляхом (нмоль/с·г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3), за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

Як бачимо, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронізації введення ПДТК прискорювало продукцію САР в мітросомах – її швидкість зростала на 6,9%, $p < 0,001$, за цих умов і введення глутамату натрію вона знижувалась на 17,6%, $p < 0,001$. Додавання флуоксетину за цих умов підвищувало швидкість НАДФН-індукованої продукції на 6,4%, $p < 0,01$, введення етанолу – зменшувало на 4,2%, $p < 0,001$.

Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мітохондріальним шляхом в експериментальних групах становила: при поєднанні СЗВ та десинхронізації – $9,52 \pm 0,04$ нмоль/с·г, після введення ПДТК – $11,11 \pm 0,10$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронізації та дії глутамату натрію – $10,99 \pm 0,37$ нмоль/с·г, після введення ПДТК – $9,56 \pm 0,36$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і

десинхронозу та дії флуоксетину - $15,70 \pm 0,48$ нмоль/с·г, після введення ПДТК - $12,96 \pm 0,20$ нмоль/с·г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу - $10,05 \pm 0,23$ нмоль/с·г, після введення ПДТК – $10,81 \pm 0,32$ нмоль/с·г.

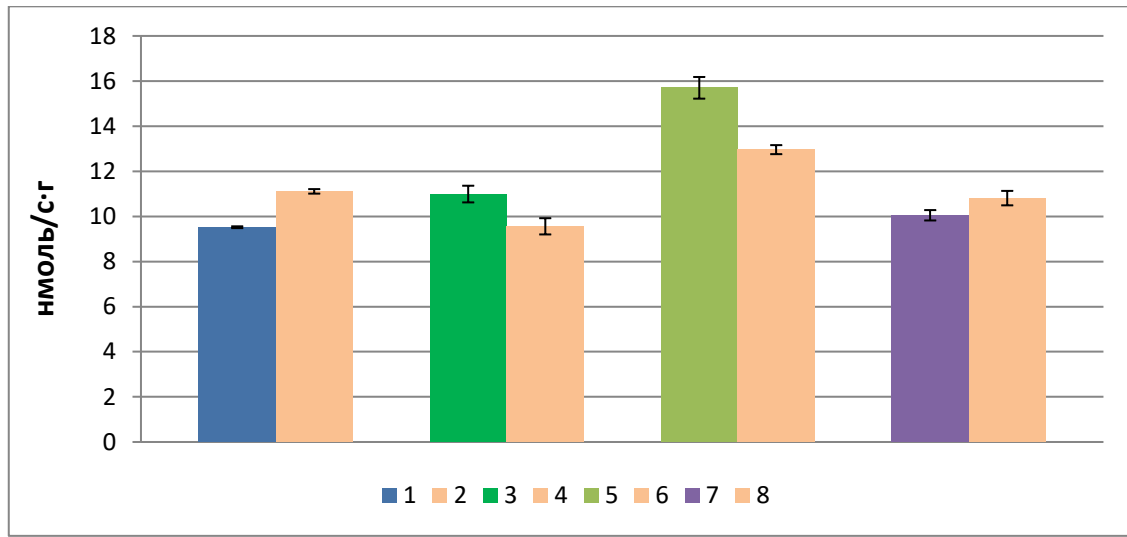


Рис. 5.3. Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мітохондріальним шляхом (нмоль/с·г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3), за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

За умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу введення ПДТК прискорювало продукцію САР в мітохондріях клітин на 16,7%, $p < 0,001$, за цих умов і введення глутамату натрію вона знижувалась на 13,0%, $p < 0,01$, при додаванні флуоксетину швидкість НАДН-індукованої продукції зменшувалась на 17,5%, $p < 0,001$, під дією етанолу даний процес прискорювався на 7,6%, $p < 0,01$.

5.2. Наслідки поєднаного застосування інгібітора активації NF-κB і модуляторів циркадіанного осцилятора на роботу NO-синтазної системи у великих півкулях головного мозку щурів при порушенні циклів «світло-темрява» за умов ліпополісахарид - індукованої системної запальної відповіді.

Загальна активність NOS у гомогенаті великих півкуль головного мозку за умов поєднання системної запальної відповіді та десинхронозу становила $0,56 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв, активність її індукцйбельної ізоформи – $0,50 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв, конститутивної – $0,0654 \pm 0,0003$ мкмоль/г·хв.

Показники загальної активності NOS в експериментальних групах становлять: за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію – $2,06 \pm 0,04$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину - $0,25 \pm 0,01$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу- $0,66 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв.

Після введення ПДТК за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу величини становили відповідно: $0,36 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв, $1,71 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв, $0,66 \pm 0,01$ мкмоль/г·хв, $1,17 \pm 0,04$ мкмоль/г·хв.

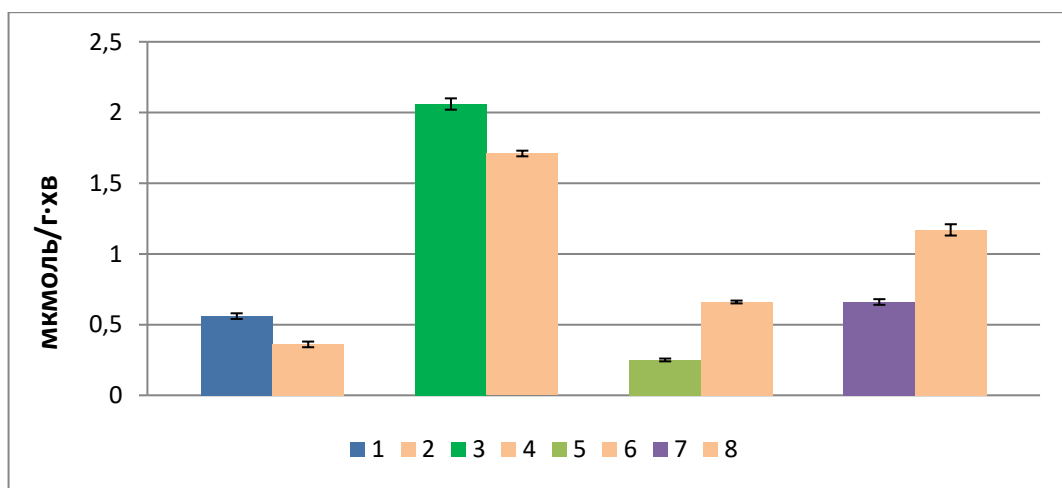


Рис. 5.4. Загальна активність NOS (мкмоль/г·хв) у гомогенаті великих півкуль головного мозку при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3),

за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

За умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу введення ПДТК сповільнювало активність загальної NOS на 35,7%, $p < 0,001$, за цих умов і введення глутамату натрію вона знижувалась на 17,0%, $p < 0,001$. При додаванні флуоксетину вона зростала на 164%, $p < 0,001$, під дією етанолу даний процес прискорювався на 77,3%, $p < 0,001$.

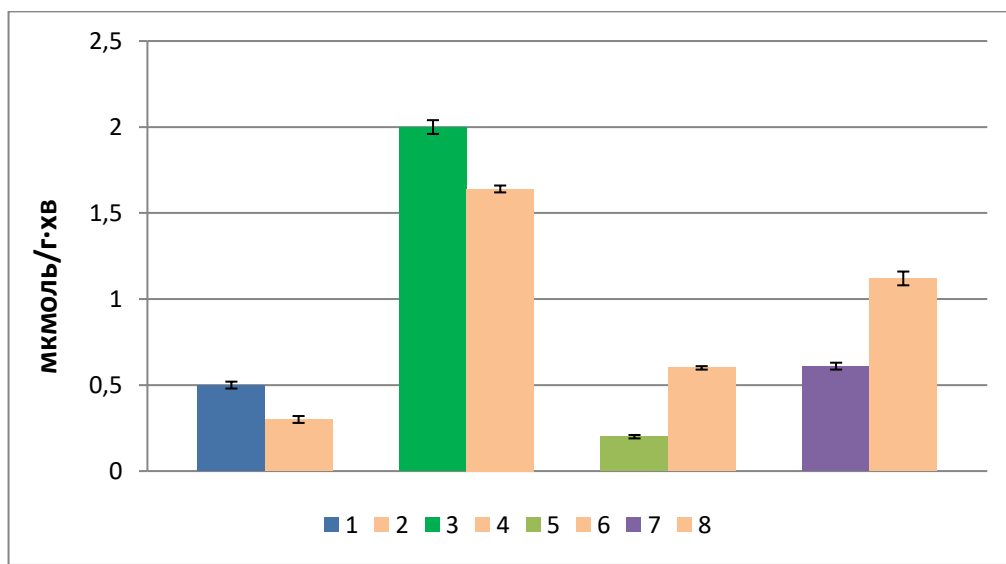


Рис. 5.5. Активність індуцибельної NOS (мкмоль/г·хв) у гомогенаті великих півкуль головного мозку при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3), за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

Показники активності iNOS в експериментальних групах також суттєво відрізняються і становлять: за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу - $0,50 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної

відповіді і десинхронізації та дії глутамату натрію— $2,00 \pm 0,04$ мкмоль/г·хв, при поєднанні системної запальної відповіді і десинхронізації та дії флуоксетину $0,20 \pm 0,01$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронізації та дії етанолу $0,61 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв.

Після введення ПДТК за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронізації та за цих умов і додавання модуляторів циркадіанного осцилятора глутамата, флуоксетина і 40% розчину етанолу показники активності iNOS в тканинах головного мозку становили відповідно: $0,30 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв, $1,64 \pm 0,02$ мкмоль/г·хв, $0,60 \pm 0,01$ мкмоль/г·хв, $1,12 \pm 0,04$ мкмоль/г·хв.

За умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронізації введення ПДТК сповільнювало активність індукцибельної NOS на 40%, $p < 0,001$, за цих умов і введення глутамату натрію вона знижувалась на 18,0%, $p < 0,001$. При додаванні флуоксетину вона зростала на 200%, $p < 0,001$, під дією етанолу даний процес прискорювався на 83,6%, $p < 0,001$.

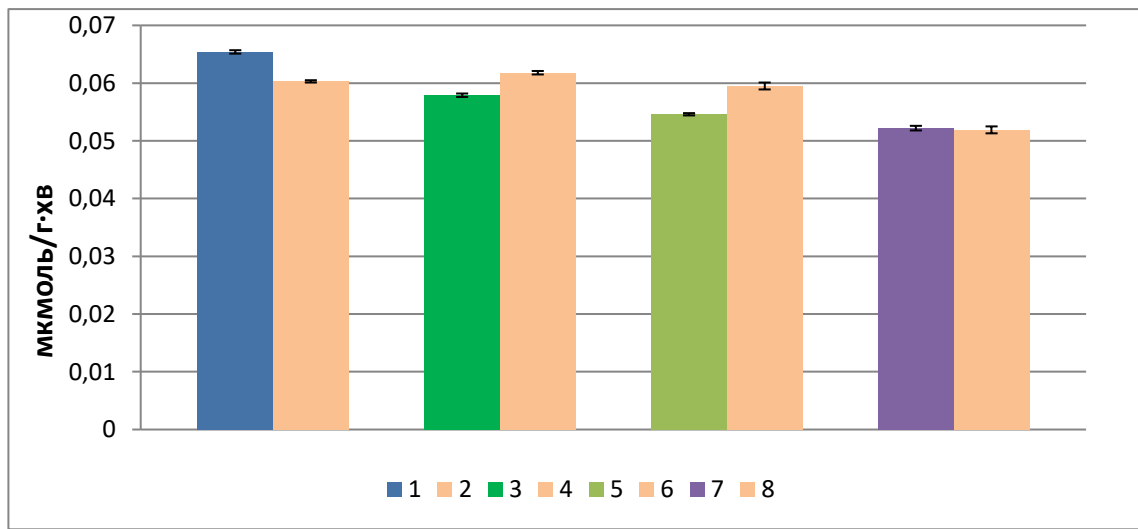


Рис. 5.6. Активність конститутивної NOS (мкмоль/г·хв) у гомогенаті великих півкуль головного мозку при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3), за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

Показники активності cNOS становлять: за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу - $0,0654 \pm 0,0003$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію - $0,0579 \pm 0,0003$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину $0,0546 \pm 0,0002$ мкмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу $0,0522 \pm 0,0004$ мкмоль/г·хв.

Після введення ПДТК при поєднанні системної запальної відповіді і десинхронозу та за цих умов і додавання модуляторів циркадіанного осцилятора глутамата, флуоксетина і 40% розчину етанолу величини становили відповідно: $0,0603 \pm 0,0002$ мкмоль/г·хв, $0,0618 \pm 0,0003$ мкмоль/г·хв, $0,0595 \pm 0,0006$ мкмоль/г·хв, $0,0519 \pm 0,0006$ мкмоль/г·хв.

За умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу введення ПДТК сповільнювало активність cNOS на 7,8%, $p < 0,001$, за цих умов і введення глутамату натрію вона зростала на 6,7%, $p < 0,001$. При додаванні флуоксетину активність cNOS підвищувалась на 11,7%, $p < 0,001$, етанолу – без значущих змін ($p > 0,05$).

Показники активності ОДК становлять: за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу - $84,52 \pm 1,43$ нмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію – $95,26 \pm 3,30$ нмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину $47,19 \pm 2,14$ нмоль/г·хв, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу $55,79 \pm 3,59$ нмоль/г·хв.

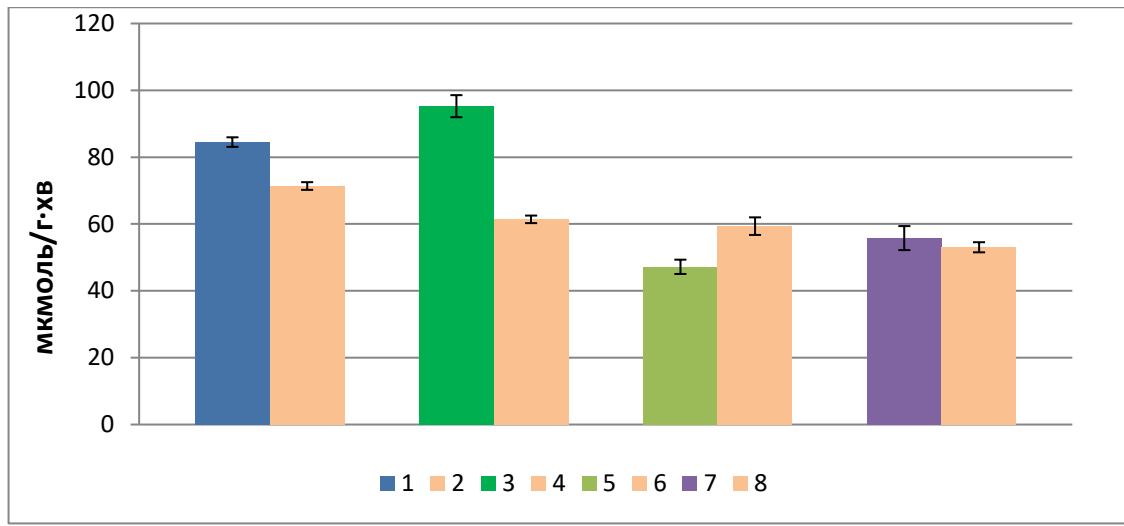


Рис. 5.7. Активність орнітиндекарбоксилази (нмоль/г·хв) у гомогенаті великих півкуль головного мозку при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3), за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

Після введення ПДТК за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та за цих умов і додавання модуляторів циркадіанного осцилятора глутамата, флуоксетина і 40% розчину етанолу величини становили відповідно: $71,37 \pm 1,15$ нмоль/г·хв, $61,40 \pm 1,13$ нмоль/г·хв, $59,36 \pm 2,63$ нмоль/г·хв, $53,04 \pm 1,51$ нмоль/г·хв.

За умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу введення ПДТК активність ОДК сповільнювалась на 15,6%, $p < 0,001$, за цих умов і введення глутамату натрію - на 35,5%, $p < 0,001$, етанолу – на 4,9%, $p < 0,05$. При додаванні флуоксетину активність ОДК збільшувалась на 25,8%, $p < 0,01$.

Концентрації пероксинітритів у гомогенаті великих півкуль головного мозку даних експериментальних груп становила: при поєднанні системної запальної відповіді і десинхронозу – $2,59 \pm 0,01$ мкмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію - $3,25 \pm 0,02$

мкмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину $3,56 \pm 0,11$ мкмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу $2,11 \pm 0,07$ мкмоль/г.

Після введення при поєднанні системної запальної відповіді і гострого десинхронозу ПДТК показники становили відповідно: $3,40 \pm 0,04$ мкмоль/г, $3,04 \pm 0,02$ мкмоль/г, $3,02 \pm 0,06$ мкмоль/г, $1,78 \pm 0,04$ мкмоль/г.

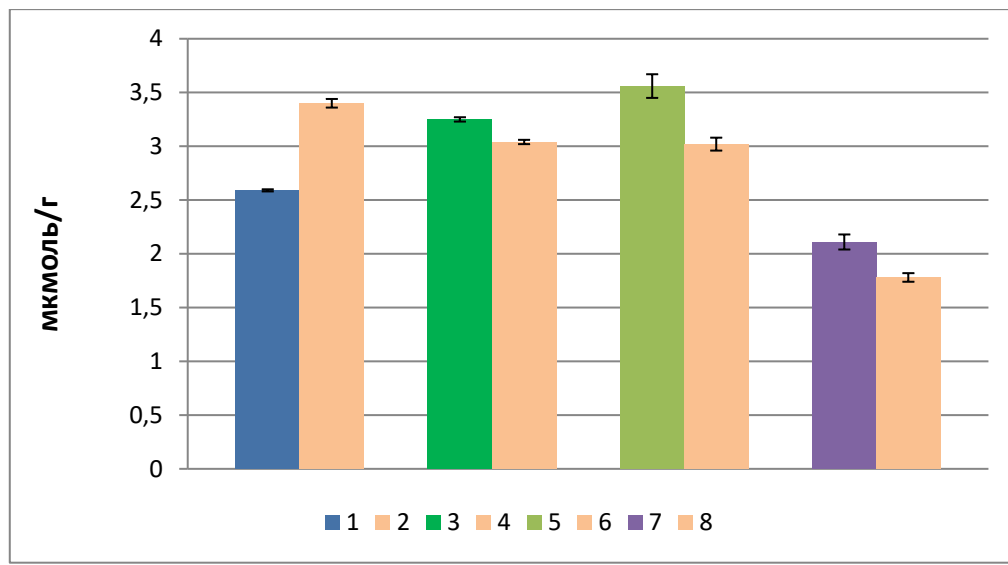


Рис. 5.8. Вміст пероксинітритів (мкмоль/г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3), за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

За умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та введення ПДТК вміст пероксинітритів у тканинах великих півкуль головного мозку збільшувався на 31,3%, $p < 0,001$. За цих умов і введення глутамату натрію він знижувався на 6,5%, $p < 0,001$, додаванні флуоксетину – на 15,2%, $p < 0,01$, етанолу – на 15,6% $p < 0,01$.

Концентрація нітритів у гомогенаті великих півкуль головного мозку в експериментальних групах виявилась різною. При поєднанні СЗВ та ГД вона становила $3,63 \pm 0,08$ нмоль/г, після введення піролідиндитіокарбамату амонію – $4,48 \pm 0,13$ нмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію – $3,16 \pm 0,19$ нмоль/г, після введення піролідиндитіокарбамату амонію – $2,33 \pm 0,09$ нмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину – $6,53 \pm 0,14$ нмоль/г, після введення піролідиндитіокарбамату амонію – $5,80 \pm 0,12$ нмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу – $4,78 \pm 0,07$ нмоль/г, після введення піролідиндитіокарбамату амонію – $6,44 \pm 0,12$ нмоль/г.

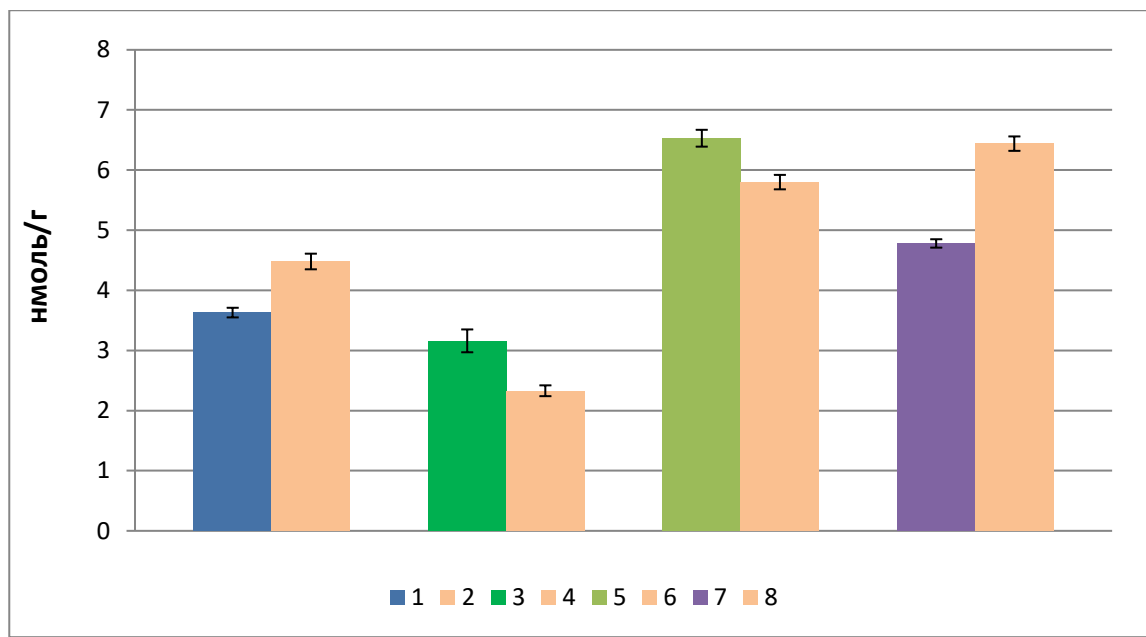


Рис. 5.9. Концентрація нітритів у великих півкулях головного мозку при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3), за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

За умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу введення ПДТК концентрація нітритів у тканинах великих півкуль головного мозку збільшувався на 33,3%, $p < 0,001$. За цих умов і введення глутамату натрію він знижувався на 26,3%, $p < 0,01$, при додаванні флуоксетину – на 11,2%, $p < 0,01$, натомість, при дії етанолу – зростала на 34,7%, $p < 0,001$.

Концентрація нітрозотіолів у гомогенаті великих півкуль головного мозку в експериментальних групах також була різною. При поєднанні СЗВ та ГД вона становила $0,121 \pm 0,002$ мкмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію – $0,134 \pm 0,010$ мкмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину – $0,214 \pm 0,002$ мкмоль/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% етанолу – $0,174 \pm 0,004$ мкмоль/г.

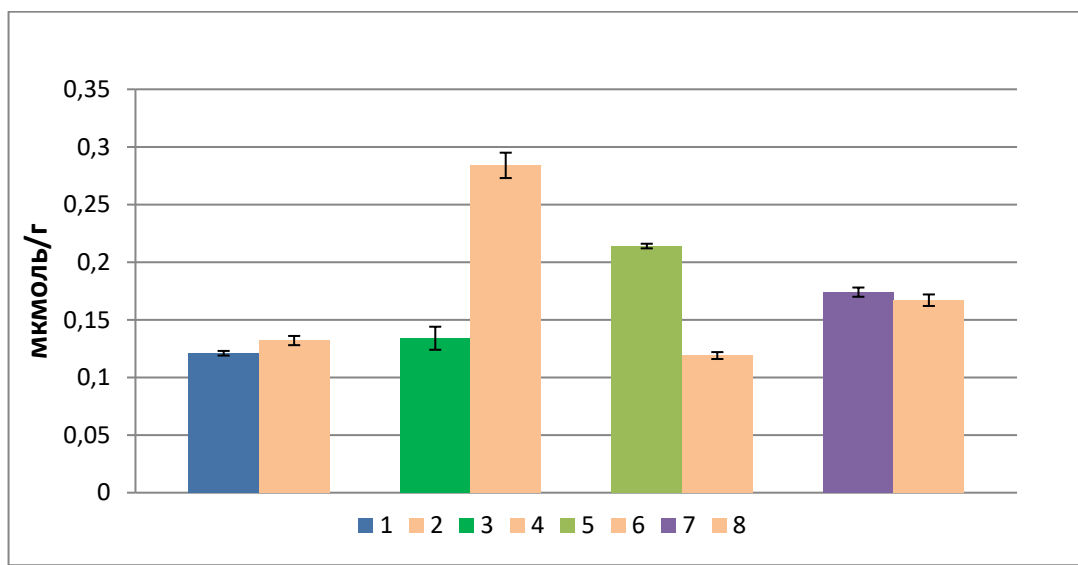


Рис. 5.10. Концентрація нітрозотіолів у великих півкулях головного мозку при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3), за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

Після введення піролідиндитіокарбамату амонію величини становили відповідно: $0,132 \pm 0,004$ мкмоль/г; $0,284 \pm 0,011$ мкмоль/г; $0,119 \pm 0,003$ мкмоль/г; $0,167 \pm 0,005$ мкмоль/г.

Відмічено, що концентрація нітрозотіолів у великих півкулях головного мозку щурів за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та введення ПДТК збільшувалася на 9,1%, $p < 0,05$. За цих умов і введення глутамату натрію вона зростала на 112,0%, $p < 0,001$. При додаванні флуоксетину – знижувалась на 44,4%, $p < 0,001$, при дії етанолу – суттєво не змінювалась ($p > 0,05$).

5.3. Вплив поєднаного застосування транскрипційного фактора NF- κ B і модуляторів циклів «світло-темрява» на показники антиоксидантного стану за умов гострого десинхронозу і системної запальної відповіді.

При поєднанні СЗВ та ГД вміст ТБК-активних продуктів становив $42,52 \pm 0,17$ мкмоль/л, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію – $47,23 \pm 0,17$ мкмоль/л, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину – $32,44 \pm 0,12$ мкмоль/л, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу – $44,70 \pm 0,67$ мкмоль/л.

Після введення ПДТК показники становили відповідно: $48,56 \pm 0,43$ мкмоль/л; $44,12 \pm 0,19$ мкмоль/л; $36,38 \pm 0,96$ мкмоль/л; $39,33 \pm 1,02$ мкмоль/л.

Концентрація ТБК-активних сполук у великих півкулях головного мозку щурів за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та введення ПДТК збільшувалася на 14,2%, $p < 0,001$. За цих умов і введення глутамату натрію вона зменшувалась на 6,6%, $p < 0,001$, при дії етанолу – на 12,0%, $p < 0,01$. При додаванні флуоксетину – збільшувалась на 12,1%, $p < 0,001$.

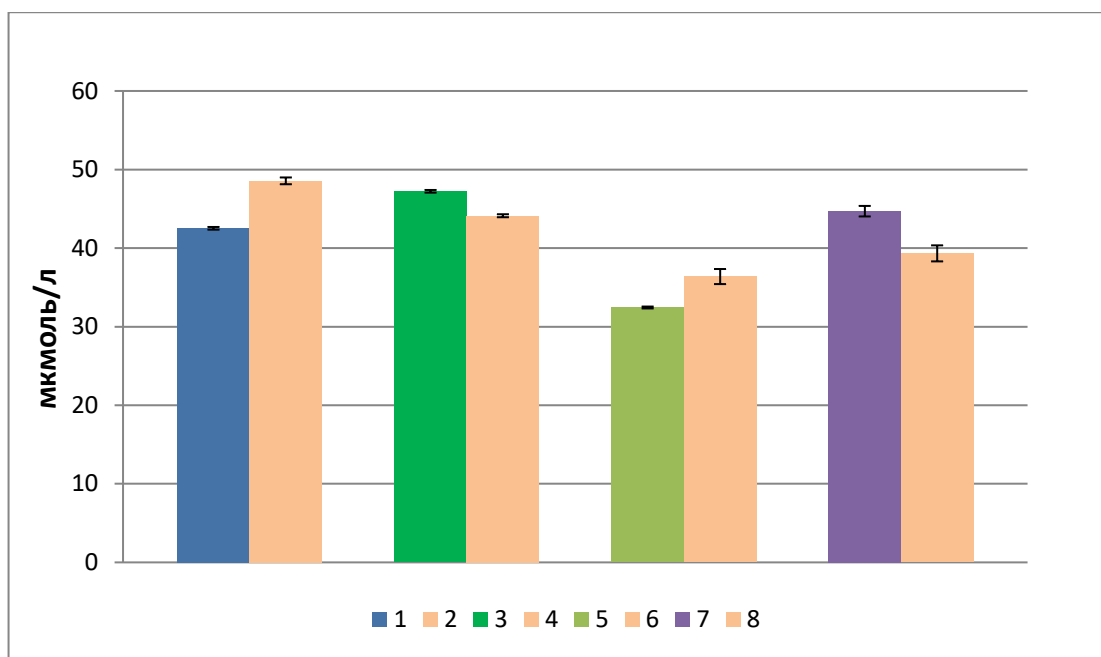


Рис. 5.11. Концентрація ТБК-активних сполук (мкмоль/л) за час інкубації гомогенату великих півкуль головного мозку при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3), за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

Показники приросту при поєднанні СЗВ та ГД становили: $41,02 \pm 0,20$ мкмоль/л, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію - $38,75 \pm 0,33$ мкмоль/л, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину - $18,75 \pm 0,53$ мкмоль/л, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу - $38,24 \pm 0,57$ мкмоль/л відповідно.

Після введення піролідиндитіокарбамату амонію показники становили відповідно: $49,04 \pm 0,56$ мкмоль/л, $33,11 \pm 0,30$ мкмоль/л, $12,26 \pm 0,23$ мкмоль/л, $31,33 \pm 1,06$ мкмоль/л.

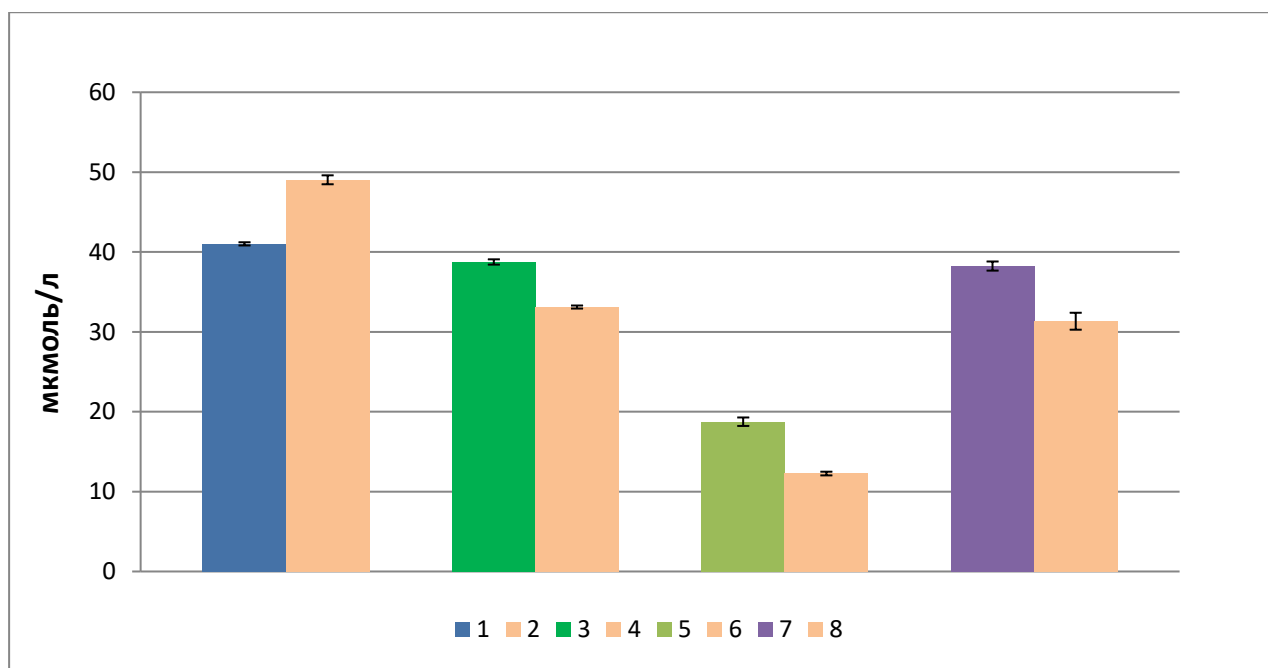


Рис. 5.12. Приріст ТБК-активних сполук (мкмоль/л) при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3), за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

Приріст ТБК-активних продуктів у великих півкулях головного мозку щурів за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та введення ПДТК збільшувалася на 19,6%, $p < 0,001$. За цих умов і введення глутамату натрію він зменшувався на 14,6%, $p < 0,001$, при додаванні флуоксетину – на 34,6%, $p < 0,001$, при дії етанолу – на 18,1%, $p < 0,001$.

Активність СОД при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу становила $8,63 \pm 0,68$ у.о., після введення ПДТК - $5,47 \pm 0,18$ у.о. За умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію показники були $6,33 \pm 0,27$ у.о., після введення ПДТК - $8,56 \pm 0,65$ у.о., за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину

– $16,03 \pm 0,72$ у.о., після введення ПДТК $18,74 \pm 1,14$ у.о., за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу – $9,73 \pm 0,50$ у.о., після введення ПДТК $14,53 \pm 0,77$ у.о.

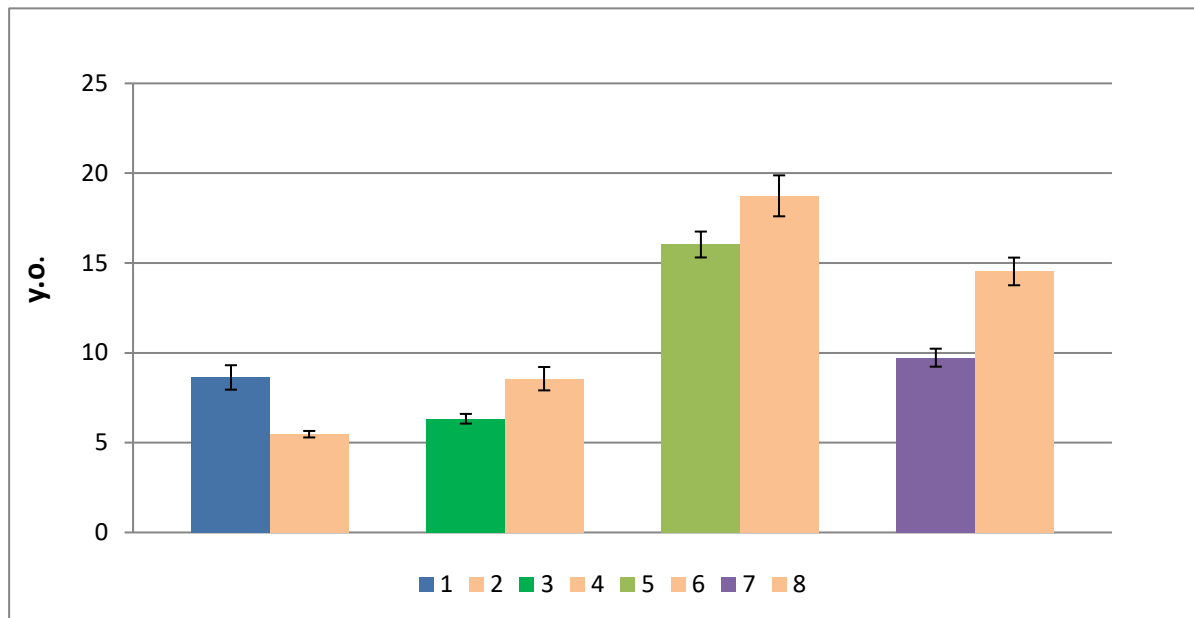


Рис. 5.13. Активність СОД у гомогенаті великих півкуль головного мозку при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3), за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

Активність СОД у великих півкулях головного мозку щурів за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та введення ПДТК знижувалась на 36,6%, $p < 0,001$. За цих умов і введення глутамату натрію вона зростала на 35,2%, $p < 0,01$, при дії етанолу – на 49,3%, $p < 0,001$, при додаванні флуоксетину – без значимої різниці, $p > 0,05$.

Активність каталази при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу становила $0,425 \pm 0,001$ мккат/г. За умов поєднання системної

запальної відповіді і десинхронозу та дії глутамату натрію показники були $0,295 \pm 0,005$ мккат/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину – $0,4775 \pm 0,000$ мккат/г, за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії етанолу – $0,354 \pm 0,005$ мккат/г.

Після введення ПДТК показники активності каталази становили відповідно: $0,394 \pm 0,002$ мккат/г; $0,326 \pm 0,005$ мккат/г; $0,492 \pm 0,002$ мккат/г; $0,401 \pm 0,001$ мккат/г.

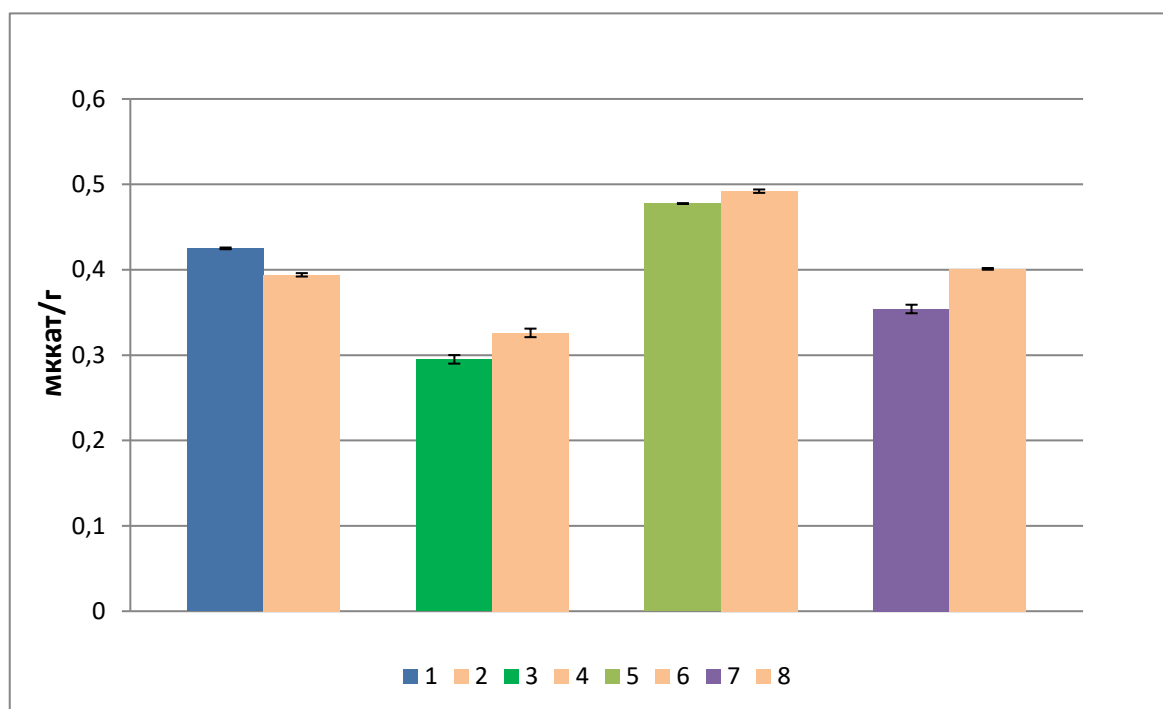


Рис. 5.14. Активність каталази (мккат/г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку при поєднанні СЗВ та ГД (1), при поєднанні СЗВ та ГД та введення ПДТК (2), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії глутамату натрію (3), за умов поєднання СЗВ та ГД, дії глутамату натрію та введення ПДТК (4), за умов поєднання СЗВ та ГД та дії флуоксетину (5), за умов поєднання СЗВ, ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК (6), при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% етанолу (7); при поєднанні СЗВ, ГД, дії 40% етанолу та введення ПДТК (8).

Активність каталази у великих півкулях головного мозку щурів за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та введення ПДТК

знижувалась на 7,3%, $p < 0,001$. За цих умов і введення глютамату натрію вона зростала на 10,5%, $p < 0,01$, при додаванні флуоксетину – на 3,0%, $p < 0,001$, при дії етанолу – на 13,3%, $p < 0,001$.

Висновки до розділу 5:

1. Введення інгібітора транскрипційного фактора ПДТК за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу посилює оксидативно-нітрозативний стрес у тканинах головного мозку.

2. Додавання глютамату натрію на фоні введення ПДТК за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу зменшує продукцію активних форм кисню і приріст ТБК-активних сполук, посилює антиоксидантний захист, зменшує накопичення пероксинітритів в тканинах великих півкуль головного мозку.

3. Застосування флуоксетину на фоні введення ПДТК при поєднанні системної запальної відповіді і гострого десинхронозу збільшує швидкість базової продукції САР та концентрацію ТБК-активних сполук в головному мозку щурів, натомість зменшує їх приріст, покращує роботу антиоксидантної та NO-синтазної системи, знижує вміст пероксинітритів та нітрозотіолів у великих півкулях головного мозку щурів.

4. 40% розчин етанолу після застосування ПДТК за умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу знижує інтенсивність вільнорадикальних процесів, нітрозативного стресу, підвищує активність антиоксидантних ферментів в тканинах великих півкуль головного мозку.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях [118] і тезах [119].

РОЗДІЛ 6

ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ЦИРКАДІАННОГО ОСЦИЛЯТОРА НА НЕВРОЛОГІЧНИЙ СТАТУС ТА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ЩУРІВ ЗА УМОВ ПОЄДНАННЯ ПОРУШЕННЯ ЦИКЛУ «СВІТЛО-ТЕМРЯВА» І ЛІПОПОЛІСАХАРИД – ІНДУКОВАНОЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ НА ФОНІ ЗАСТОСУВАННЯ БЛОКАТОРА ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРА NF-κB

Безпосередньо перед відтворенням експерименту було відібрано тварин, які мали нормальний фізичний та психоемоційний стан. Вертикальна рухова активність, що включає в себе стійки з упором на стінку, стійки без упору, кількість перетнутих квадратів, кількість виходів до центру, наявність латентного період свідчать про дослідницьку активність.

6.1. Розвиток неврологічного дефіциту та порушень функціональних проб при гострому десинхронозі, при системній запальній відповіді та за умов їх поєднання.

У всіх щурів виявлялися неврологічні розлади. У тварин виявляються такі ознаки неврологічного дефіциту за шкалою Todd як порушення м'язового тону, координації рухів та розлади поведінки. Серед видів порушень координації у щурів спостерігалась атаксія (похитування при ходьбі), зміни поведінки (похмурість, сумовитість). Також зменшувалася спроможність тварин підтягуватися та утримуватися на проволочі всіма кінцівками, що вказувало на порушення м'язового тону.

Найвищі показники неврологічного дефіциту відмічаються при відтворенні ГД та за умов поєднання СЗВ і ГД (таблиця 6.1)

Таблиця 6.1

Показники неврологічного дефіциту та функціональних проб

Функціональні проби	Контрольна група	ГД	СЗВ	Поєднання СЗВ і ГД
1	2	3	4	5

Закінчення таблиці 6.1

1	2	3	4	5
Неврологічний дефіцит	0,4±0,21	3,77±0,94*	0,73±0,37**,	3,14±0,84*, ***
Порушення м'язового тону	0±0,0	0±0,0	0±0,0	1,14±0,50*, **, ***
Координація рухів (атаксія)	0±0,0	3,08±0,70*	0±0,0**	1,43±0,63*, ***
Порушення поведінки	0,4±0,21	0,69±0,41	0,73±0,37	0,57±0,25

* - $p < 0,05$ при порівнянні з контролем

** - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД

*** - $p < 0,05$ при порівнянні з СЗВ

Таблиця 6.2

Кількість тварин з неврологічним дефіцитом

Дослідні групи	Без неврологічного дефіциту	З неврологічним дефіцитом
1	2	3
Контрольна група	80% (12)	20% (3)
ГД	38,5% (5)	61,5% (8)
СЗВ	73,3% (11)	26,7% (4)
Поєднання СЗВ і ГД	42,9% (6)	57,1% (8)

Немає різниці в частоті виникнення неврологічного дефіциту $p > 0,05$ (таблиця 6.2)

Таблиця 6.3

Кількість щурів з порушенням м'язового тону

Дослідні групи	Нормальний тонус	Порушення тону (зниження)
1	2	3
Контрольна	100% (15)	0%
ГД	100% (13)	0%

Закінчення таблиці 6.3

1	2	3
СЗВ	100% (15)	0%
Поєднання СЗВ і ГД	71,4 (10)	28,6% (4) *

* - $p < 0,05$ при порівнянні з контролем

Як бачимо, дія ГД та хронічне запалення не викликають патологічних змін тону м'язів кінцвок. Але при поєднанні обох патологічних чинників СЗВ та ГД м'язовий тонус порушується у 8,6%, $p < 0,05$ тварин (таблиця 6.3.).

Таблиця 6.4

Кількість щурів з порушенням координації (атаксія)

Дослідні групи	Нормальна координація	Порушення координації (атаксія)
1	2	3
Контрольна	100% (15)	0%
ГД	38,5% (5)	61,5% (8) *
СЗВ	100% (15)	0%
Поєднання СЗВ і ГД	71,4 (10)	28,6% (4) *

* - $p < 0,05$ при порівнянні з контролем

Порушення координації у вигляді атаксії відмічається у більшості тварин за умов десинхронозу - 61,5%, $p < 0,05$, за умов поєднання СЗВ та ГД - 28,6%, $p < 0,05$ щурів (таблиця 6.4.).

Таблиця 6.5

Кількість щурів з порушенням поведінки

Дослідні групи	Нормальна поведінка	Порушення поведінки
1	2	3
Контрольна	80% (12)	20% (3)
ГД	76,9% (10)	23,1% (3)
СЗВ	73,3% (11)	26,7% (4)
Поєднання СЗВ і ГД	71,4 (10)	28,6% (4)

Значущої різниці щодо появи змін поведінки у щурів даних груп не виявлено (таблиця 6.5).

6.2. Вплив модюляторів глутамату натрію, флуоксетину, 40% розчину етанолу на розвиток неврологічного дефіциту та порушень функціональних проб за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу.

Таблиця 6.6

**Показники неврологічного дефіциту та
функціональних проб при поєднанні системної запальної
відповіді і гострого десинхронозу та дії модюляторів**

Функціональні проби	Поєднання СЗВ і ГД	ГД+ СЗВ+ глутамат	ГД+ СЗВ+ флуоксетин	ГД+ СЗВ+ 40% етанол
1	2	3	4	5
Неврологічний дефіцит	3,14±0,84	7,73±0,46*	2,67±1,18**	10,13±0,76*, **, ***
Порушення м'язового тону	1,14±0,50	0±0,0*	0±0,0*	2,13±0,53**, ***
Координація рухів (атаксія)	1,43±0,63	5±0,0*	1,33±0,59**	5±0,0*, ***
Порушення поведінки	0,57±0,25	2,73±0,46*	1,33±0,59**	3±0,38*, ***

* - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ

** - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ+глутамат

***- $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ+флуоксетин

Як бачимо, найвищий показник неврологічного дефіциту відмічається в групі поєднання СЗВ, ГД та введення 40% розчину етанолу. Всі щури за умов поєднання СЗВ, ГД, введення глутамату натрію та при поєднанні СЗВ, ГД і введення 40% розчину етанолу вірогідно мають неврологічний дефіцит, $p < 0,05$ (таблиця 6.6).

Таблиця 6.7

**Кількість тварин з неврологічним дефіцитом
за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого
десинхронозу та за цих умов і дії модуляторів**

Дослідні групи	Немає неврологічного дефіциту	З неврологічним дефіцитом
1	2	3
Поєднання СЗВ і ГД	42,9% (6)	57,1% (8)
ГД+ СЗВ+глутамат	0%	100% (15) *
ГД+ СЗВ+флуоксетин	73,3% (11)	26,7% (4)
ГД+ СЗВ+40% етанол	0%	100% (15) *

* - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ

Додавання глутамату натрію при поєднанні СЗВ та ГД, а також 40% розчину етанолу достовірно збільшує число щурів з неврологічним дефіцитом, $p < 0,05$ (таблиця 6.7).

Таблиця 6.8

**Кількість тварин з порушенням м'язового тону
кінцівок за умов поєднання системної запальної відповіді
і гострого десинхронозу та за цих умов і дії модуляторів**

Дослідні групи	Нормальний тонус	Порушення тону (зниження)
1	2	3
Поєднання СЗВ і ГД	71,4% (10)	28,6% (4)
ГД+ СЗВ+глутамат	100% (15)	0% *
ГД+СЗВ+флуоксетин	100% (15)	0% *
ГД+СЗВ+40% етанол	46,7% (7)	53,3% (8)

* - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ

Застосування глутамату натрію за умов поєднання СЗВ і ГД та флуоксетину за цих же умов достовірно не викликає порушення м'язового у щурів, $p < 0,05$ (таблиця 6.8).

Таблиця 6.9

Кількість тварин з порушенням координації (атаксією) за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу та за цих умов і дії модуляторів

Дослідні групи	Нормальна координація	Порушення координації (атаксія)
1	2	3
Поєднання СЗВ і ГД	71,4 % (10)	28,6% (4)
ГД+ СЗВ+глутамат	0%	100% (15) *
ГД+ СЗВ+флуоксетин	73,3% (11)	26,7% (4)
ГД+ СЗВ+40% етанол	0%	100% (15) *

* - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ

У всіх тварини за умов поєднання СЗВ і ГД та введення глутамату натрію та при поєднанні СЗВ і ГД та введення 40% розчину етанолу спостерігаються достовірні порушення координації ($p < 0,05$). Кількість щурів з порушенням координації в інших двох групах суттєво не відрізняються (таблиця 6.9).

Таблиця 6.10

Кількість тварин з порушенням поведінки за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу та за цих умов і дії модуляторів

Дослідні групи	Нормальна поведінка	Порушення поведінки
1	2	3
Поєднання СЗВ і ГД	71,4 % (10)	28,6% (4)
ГД+ СЗВ+глутамат	13,3% (2)	86,7% (13) *
ГД+ СЗВ+флуоксетин	73,3% (11)	26,7% (4)
ГД+ СЗВ+40% етанол	0%	100% (15) *

* - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ

Вірогідне порушення поведінки відмічається у всіх тварин за умов поєднання СЗВ, ГД і введення 40% розчину етанолу та у 13 тварин у групі за умов поєднання СЗВ, ГД та дії глутамату натрію ($p < 0,05$). В інших двох групах кількість щурів з порушенням координації суттєво не відрізняються (таблиця 6.10).

6.3. Дія модуляторів циркадіанного осцилятора на неврологічний стан щурів за умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу на фоні застосування блокатора транскрипційного фактора NF- κ B.

Таблиця 6.11

Вплив ПДТК на показники неврологічного дефіциту та функціональних проб за умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу

Функціональні проби	ГД+СЗВ	СЗВ+ГД+ПДТК
1	2	3
Неврологічний дефіцит	3,14 $\pm$ 0,84	2,714 $\pm$ 0,93
Порушення м'язового тону	1,14 $\pm$ 0,50	0,57 $\pm$ 0,39
Координація рухів (атаксія)	1,43 $\pm$ 0,63	2,14 $\pm$ 0,69
Порушення поведінки	0,57 $\pm$ 0,25	0 $\pm$ 0,0

Немає значущої різниці між показниками неврологічного дефіциту при поєднанні системної запальної відповіді та гострого десинхронозу та за цих умов і введення блокатора транскрипційного фактора NF- κ B (таблиця 6.11).

Таблиця 6.12

Кількість тварин з неврологічним дефіцитом та порушенням функціональних проб за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу та за цих умов і введення ПДТК

Функціональні проби	ГД+ СЗВ	ГД+ СЗВ+ПДТК
1	2	3

Закінчення таблиці 6.12

1	2	3
Неврологічний дефіцит	57,1% (8)	42,9% (6)
Порушення м'язового тону	28,6% (4)	14,3% (2)
Координація рухів (атаксія)	28,6% (4)	42,9% (6)
Порушення поведінки	28,6% (4)	0%

Немає значущої різниці в частоті виникнення неврологічного дефіциту та порушень функціональних проб при поєднанні системної запальної відповіді і гострого десинхронізму та за цих умов і введення ПДТК (таблиця 6.12).

Таблиця 6.13

Вплив глутамату натрію на показники неврологічного дефіциту та порушення функціональних проб за умов поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронізму і введення ПДТК

Функціональні проби	ГД+СЗВ+глутамат	ГД+СЗВ+глутамат+ПДТК
1	2	3
Неврологічний дефіцит	7,73±0,46	0,933±0,64 *
Порушення м'язового тону	0±0,0	0±0,0
Координація рухів (атаксія)	5±0,0	0,67±0,45 *
Порушення поведінки	2,73±0,46	0,27±0,18 *

* - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ+глутамат

Застосування інгібітора транскрипційного фактора NF- κ B за умов поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронізму та додавання глутамату натрію достовірно зменшує інтегральний показник неврологічного дефіциту, $p < 0,05$ (таблиця 6.13).

Таблиця 6.14

**Кількість тварин з неврологічним дефіцитом
та порушенням функціональних проб за умов
поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронозу,
дії глутамату та за цих умов і введення ПДТК**

Функціональні проби	ГД+СЗВ+глутамат	ГД+СЗВ+глутамат+ПДТК
1	2	3
Неврологічний дефіцит	100% (15)	13,3% (2) *
Порушення м'язового тону	0%	0%
Координація рухів (атаксія)	100% (15)	13,3% (2) *
Порушення поведінки	86,7 (13)	13,3% (2) *

* - $p < 0,001$ при порівнянні з ГД+СЗВ+глутамат

Введення блокатора транскрипційного фактора при поєднанні СЗВ, ГД та дії глутамату достовірно покращує результати функціональних проб: зменшує кількість тварин з неврологічним дефіцитом та розладами координації рухів на 86,7%, зі зміною поведінки – на 84,6% (таблиця 6.14).

Таблиця 6.15

**Вплив флуоксетину на показники неврологічного
дефіциту та порушення функціональних проб при поєднанні
системної запальної відповіді, гострого десинхронозу і введення ПДТК**

Функціональні проби	ГД+СЗВ+флуоксетин	ГД+СЗВ+флуоксетин+ ПДТК
1	2	3
Неврологічний дефіцит	2,67±1,18	3,93±1,00
М'язовий тонус кінцівок	0±0,0	0±0,0
Координація рухів (атаксія)	1,33±0,59	2,67±0,67
Порушення поведінки	1,33±0,59	1,27±0,37

Значущої різниці в показниках неврологічного дефіциту та порушень функціональних проб при поєднанні системної запальної відповіді, гострого десинхронозу і дії флуоксетину та за цих умов і введення ПДТК не виявлено (таблиця 6.15).

Таблиця 6.16

**Вплив флуоксетину на кількість тварин
з неврологічним дефіцитом і порушенням функціональних проб
за умов поєднання системної запальної відповіді, гострого
десинхронозу і введення ПДТК**

Функціональні проби	ГД+ СЗВ+флуоксетин	ГД+СЗВ+флуоксетин +ПДТК
1	2	3
Неврологічний дефіцит	26,7% (4)	53,3% (8)
Порушення м'язового тону	0%	0%
Координація рухів (атаксія)	26,7% (4)	53,3% (8)
Порушення поведінки	26,7% (4)	53,3% (8)

Значущої різниці в показниках неврологічного дефіциту та порушень функціональних проб при поєднанні системної запальної відповіді, гострого десинхронозу, введення флуоксетину та за цих умов і застосування ПДТК не виявлено (таблиця 6.16).

Таблиця 6.17

**Вплив 40% розчину етанолу на показники
неврологічного дефіциту і порушення функціональних
проб за умов поєднання системної запальної відповіді,
гострого десинхронозу і введення ПДТК**

Функціональні проби	ГД+ СЗВ+40% етанол	ГД+ СЗВ+40% етанол + ПДТК
1	2	3

Закінчення таблиці 6.17

1	2	3
Неврологічний дефіцит	10,13±0,76	7,93±0,64 *
Порушення м'язового тону	2,13±0,53	0,53±0,36 *
Координація рухів (атаксія)	5±0,0	5±0,0
Порушення поведінки	3±0,38	2,4±0,27

* - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ+40% розчин етанолу

Введення блокатора транскрипційного фактора при поєднанні СЗВ, ГД та дії 40% розчину етанолу достовірно покращує м'язовий тонус та зменшує показник неврологічного дефіциту (таблиця 6.17).

Таблиця 6.18

**Вплив 40% розчину етанолу на кількість тварин
з неврологічним дефіцитом і порушенням функціональних проб
за умов поєднання системної запальної відповіді, гострого
десинхронозу і введення ПДТК**

Функціональні проби	ГД+ СЗВ+40% етанол	ГД+ СЗВ+ 40% етанол +ПДТК
1	2	3
Неврологічний дефіцит	100% (15)	100% (15)
Порушення м'язового тону	53,3% (8)	13,3% (2)
Координація рухів (атаксія)	100% (15)	100% (15)
Порушення поведінки	100% (15)	100% (15)

Значущої різниці в частоті виникнення неврологічного дефіциту та порушень функціональних проб при поєднанні системної запальної відповіді, гострого десинхронозу та введення ПДТК не виявлено (таблиця 6.18.).

Таблиця 6.19

Вплив модуляторів на інтегральні показники неврологічного дефіциту за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу та введення ПДТК

Функціональні проби	СЗВ+ГД+ПДТК	ГД+СЗВ+глутамат+ПДТК	ГД+ СЗВ+флуоксетин+ПДТК	ГД+ СЗВ+40% етанол+ПДТК
1	2	3	4	5
Неврологічний дефіцит	2,71±0,93	0,93±0,64	3,93±1,00**,	7,93±0,64*, **, ***
Порушення м'язового тону	0,57±0,39	0±0,0	0±0,0	0,53±0,36
Координація рухів (атаксія)	2,14±0,69	0,67±0,45	2,67±0,67**	5±0,0*, **, ***
Порушення поведінки	0±0,0	0,27±0,18	1,27±0,37*, **	2,4±0,27*, **, ***

* - $p < 0,05$ при порівнянні з СЗВ+ГД+ПДТК

** - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ+глутамат+ПДТК

***- $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+ СЗВ+флуоксетин+ПДТК

Найвищий інтегральний показник неврологічного дефіциту спостерігається після застосування блокатора транскрипційного фактора за умов поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронозу та дії 40% розчину етанолу.

Таблиця 6.20

Кількість тварин з неврологічним дефіцитом та порушеннями функціональних проб за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу, дії модуляторів та введення ПДТК

Дослідні групи	Неврологічний дефіцит	Порушення тону м'язів	Атаксія	Порушення поведінки
1	2	3	4	5

Закінчення таблиці 6.20

1	2	3	4	5
СЗВ +ГД+ПДТК	42,9% (6)	14,3% (2)	42,9% (6)	0%
ГД+СЗВ+ глутамат+ПДТК	13,3% (2)	0%	13,3% (2)	13,3% (2)
ГД+СЗВ+ флуоксетин+ПДТК	53,3% (8)	0%	53,3% (8)	53,3% (8)
ГД+ СЗВ+40% етанол+ПДТК	100% (15)	13,3% (2)	100% (15)	100% (15)

Висновок до п.6.3. При порівнянні вказаних дослідних груп відмічаємо, що введення ПДТК за умов поєднання СЗВ і ГД не впливає на поведінку щурів, майже у половини з них викликає неврологічний дефіцит та порушення координації рухів і лише у двох зниження тонусу.

При поєднанні СЗВ, ГД, дії глутамату та введення ПДТК спостерігаються найменші порушення функціональних проб та неврологічного дефіциту: атаксія і зміна поведінки у двох щурів. В цій групі відмічається найнищий показник неврологічного дефіциту. За умов поєднання СЗВ і ГД, дії флуоксетину та введення ПДТК у дослідних тварин виявляється неврологічний дефіцит, атаксія і зміна поведінки. Всі тварини за умов поєднання СЗВ і ГД, дії 40% розчину етанолу та введення ПДТК мають неврологічний дефіцит, тут спостерігається найвищий показник неврологічного дефіциту (таблиці 6.19 та 6.20).

6.4. Стан поведінкових реакцій щурів у тесті «відкрите поле» за умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу та дії модуляторів циркадіанного осцилятора.

Поведінкові реакції свідчать про стан локомоторної активності і психоемоційного стану щурів. Зокрема оцінюють рухову та дослідницьку активність, орієнтувальні реакції, рівень емоційної тривожності, страху.

Грумінг розглядається як прояв «замісної» поведінки за умов безвихідної стресорної ситуації, що має охоронний характер гальмівних механізмів у стресових ситуаціях», адаптивне значення, так як вона близька за характером до активності спокою, комфорту та підкріплення. Відомим показником, що характеризує емоційність є кількість актів дефекацій. Збільшення актів дефекацій вказують на появу тривожності і пов'язаний із ушкодженням нейронів гіпокампу, порушенням гемато-енцефалічного бар'єру.

Таблиця 6.21

**Показники поведінкових реакцій
при гострому десинхронозі, за умов системної запальної відповіді
та при поєднанні системної запальної відповіді і десинхронозу**

Показники	Контрольна група	ГД	СЗВ	Поєднання СЗВ і ГД
1	2	3	4	5
Латентний період, с	0±0,0	0,385±0,14 *	0,067±0,07**,	0,36±0,13*
Кількість вертикальних стійок	11,53± 0,92	6,85±1,25 *	6,6±1,40*	13,14±1,46**, ***
Кількість перетнутих квадратів	83,13±4,14	59±10,62	73,33±16,41	71,36±4,74
Кількість виходів до центру	1,13 ±0,13	0,77±0,23	1,2±0,26	1,57±0,17**,
Кількість дефекацій	0,8±0,26	1±0,20	2±0,52	1±0,18
Кількість актів грумінгу	8,67 ±1,07	3,08±0,58 *	4,27±0,57*	2,14±0,35*, ***

* - $p < 0,05$ при порівнянні з контролем

** - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД

***- $p < 0,05$ при порівнянні з СЗВ

Як бачимо, відсутність латентного періоду, найбільша кількість перетнутих квадратів, виходів до центру, грумінгу, вертикальних стійок та найменша кількість актів дефекацій спостерігається в інтактних тварин і

свідчить про нормальну рухову та дослідницьку активність, орієнтувальні реакції і рівень емоційної сфери. Вірогідно знижені показники дослідницької активності та орієнтувальних реакцій у щурів (кількість вертикальних стійок) за умов СЗВ та у групі ГД. При поєднанні СЗВ і ГД достовірно проявляється збільшення рухової активності (кількість вертикальних стійок, виходів до центру) порівняно з попередніми групами, що можливо пояснити підвищеною тривожністю (таблиця 6.21).

Таблиця 6.22

**Вплив модуляторів на поведінкові реакції
у тесті «відкрите поле» за умов поєднання системної
запальної відповіді та гострого десинхронозу**

Поведінкові реакції	Поєднання СЗВ і ГД	ГД+ СЗВ+ глутамат	ГД+ СЗВ+ флуоксетин	ГД+ СЗВ+ 40% етанол
1	2	3	4	5
Латентний період, с	0,36±0,13	0±0,0*	0,067±0,07	0,2±0,11
Кількість вертикальних стійок	13,14±1,46	3,27±0,80*	7,6±1,99*	3,53±1,01*
Кількість перетнутих квадратів	71,36±4,74	37,6±8,23*	61,13±14,66	23,6±5,53*
Кількість виходів до центру	1,57±0,17	0,33±0,13*	0,67±0,23*	0±0,0*
Кількість дефекацій	1±0,18	1,53±0,27	1,33±0,32	0,87±0,19
Кількість актів грумінгу	2,14±0,35	0,87±0,29*	2,93±0,89	0,8±0,28*

* - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+ СЗВ

В порівнянні з тваринами за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу у всіх інших групах щурів, яким вводили модулятори, відмічається помітне зменшення кількості перетнутих квадратів, вертикальних стійок, виходів до центру, а також збільшення актів дефекацій при дії глутамату і флуоксетину. Це вказує на суттєве зниження рухової і дослідницької активності, орієнтувальних реакцій і наявність страху у тварин. Найбільш

виражені ці зміни спостерігаються у щурів за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% розчину етанолу (таблиця 6.22).

6.5. Вплив модуляторів біоритмів на поведінкові реакції у тесті «відкрите поле» при поєднанні системної запальної відповіді, гострого десинхронозу та введення блокатора транскрипційного фактора NF-κB.

Таблиця 6.23

**Поведінкові реакції у тесті «відкрите поле»
за умов поєднання системної запальної відповіді
і гострого десинхронозу та за цих умов і введення ПДТК**

Поведінкові реакції	ГД+ СЗВ	СЗВ+ГД+ПДТК
1	2	3
Латентний період	0,36±0,13	0,21±0,11
Кількість вертикальних стійок	13,14±1,46	10,93±2,21
Кількість перетнутих квадратів	71,36±4,74	54,36±12,28
Кількість виходів до центру	1,57±0,17	0,93±0,31 *
Кількість дефекацій	1±0,18	0,64±0,17
Кількість актів грумінгу	2,14±0,35	1,14±0,21 *

* - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ

Як бачимо, введення блокатора транскрипційного фактора при поєднанні системної запальної відповіді та десинхронозу достовірно знижує показник кількості виходу до центру та грумінгу, що в цілому свідчить про зменшення тривожності (таблиця 6.23).

Таблиця 6.24

**Поведінкові реакції у тесті «відкрите поле» за умов
поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронозу
і дії глутамату натрію та за цих умов і введення ПДТК**

Поведінкові реакції	ГД+ СЗВ+глутамат	ГД+ СЗВ+глутамат+ПДТК
1	2	3

Закінчення таблиці 6.24

1	2	3
Латентний період	0±0,0	0±0,0
Кількість вертикальних стійок	3,27±0,80	11,47 ±2,36 *
Кількість перетнутих квадратів	37,6±8,23	83,2±7,92*
Кількість виходів до центру	0,33±0,13	1±0,20 *
Кількість дефекацій	1,53±0,27	2±0,34
Кількість актів грумінгу	0,87±0,29	1,4±0,19

* - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ+ глутамат

Введення блокатора транскрипційного фактора за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу та дії глутамату натрію помітно підвищує показники кількості вертикальних стійок, перетнутих квадратів і виходів в центр, що вказує на покращення рухової, дослідницької, орієнтувальної активності, зменшення тривожності (таблиця 6.24).

Таблиця 6.25

Поведінкові реакції у тесті «відкрите поле», за умов поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронозу, дії флуоксетину та за цих умов і введення ПДТК

Поведінкові реакції	ГД+СЗВ+флуоксетин	ГД+СЗВ+флуоксетин+ ПДТК
1	2	3
Латентний період	0,067±0,07	0,27±0,12
Кількість вертикальних стійок	7,6±1,99	11,13±1,69
Кількість перетнутих квадратів	61,13±14,66	63,8±10,42
Кількість виходів до центру	0,67±0,23	0,93±0,12

Закінчення таблиці 6.25

1	2	3
Кількість дефекацій	1,33±0,32	1,47±0,22
Кількість актів грумінгу	2,93±0,89	3,13±0,68

* - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ+флуоксетин

Застосування блокатора транскрипційного фактора за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії флуоксетину не має достовірної значущості щодо впливу на показники (таблиця 6.25).

Таблиця 6.26

Поведінкові реакції у тесті «відкрите поле» за умов поєднання системної запальної відповіді, десинхронозу, дії 40% розчину етанолу та за цих умов і введення ПДТК

Поведінкові реакції	ГД+ СЗВ+40% етанол	ГД+ СЗВ+40% етанол +ПДТК
1	2	3
Латентний період	0,20±0,11	0,2±0,11
Кількість вертикальних стійок	3,53±1,01	29,27±8,02*
Кількість перетнутих квадратів	23,6±5,53	66,13±14,35*
Кількість виходів до центру	0±0,0	1,2±0,34*
Кількість дефекацій	0,87±0,19	0,13±0,09*
Кількість актів грумінгу	0,8±0,28	2,53±0,46 *

* - $p < 0,05$ при порівнянні з ГД+СЗВ+40% етанол

Введення блокатора транскрипційного фактора за умов поєднання системної запальної відповіді і десинхронозу та дії 40% розчину етанолу достовірно підвищує кількість перетнутих квадратів, вертикальних стійок,

виходів до центру. Це є показником покращення рухової, дослідницької, орієнтувальної активності, зменшення тривожності чи страху (таблиця 6.26).

Висновки до розділу 6:

1. Найвищий показник неврологічного дефіциту відмічається у групах при поєднанні СЗВ, ГД, введення 40% розчину етанолу та за цих умов і дії глутамату натрію.

2. У всіх групах щурів, яким за умов поєднання СЗВ і ГД вводили модулятори, спостерігається зниження рухової і дослідницької активності, орієнтувальних реакцій, наявність страху чи агресії. Найбільші зміни виникають за умов поєднання СЗВ і десинхронозу та дії 40% розчину етанолу.

3. Найвищий показник неврологічного дефіциту після застосування ПДТК залишається у групі з додатковою дією 40% розчину етанолу.

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

За останні 10 років у нашій країні майже вдвічі збільшилася кількість хворих з неврологічною патологією. Така тенденція відзначається і в інших країнах світу. Основними причинами зростання кількості неврологічних хворих в Україні є: інтенсивний вплив факторів ризику (старіння населення, артеріальна гіпертензія, гіперхолістеринемія, цукровий діабет, нераціональне харчування, гіподинамія, надмірна маса тіла, хронічний стрес, несприятлива екологічна ситуація тощо). Розповсюдження серед населення інфекційних та вірусних захворювань, несприятлива екологічна ситуація, поширення імунної недостатності й алергізації сприяють зростанню кількості запальних, аутоімунних і демієлінізуючих захворювань нервової системи. Найбільш соціально значущими серед них є церебро-васкулярні захворювання, розсіяний склероз, епілепсія, хвороба Паркінсона, захворювання периферичної нервової системи. Також дуже важливою проблемою сучасної неврології є інфекційні, вірусні хвороби нервової системи. Почастішали ураження герпетичного, грипозного, цитомегаловірусного й іншого генезу: енцефаліти, церебральні арахноїдити [1,2].

З літературних оглядів відомо, що зі зміною циркадіанних ритмів пов'язані розвиток біполярних розладів, хвороби Паркінсона, а також модулювання когнітивних функцій та процесів пізнання протягом дня [7,17,102]. Також підтверджено зв'язок розвитку СЗВ з порушенням циркадіанного ритму: зміна тривалості сну порушує імунну відповідь на ліпополісахарид [10,17]. Встановлено, що на ранніх стадіях СЗВ у патогенезі розвитку і прогресуванні захворювань, в тому числі когнітивних порушень, хвороб нервової системи важливу роль відіграє оксидативний стрес [120-122]. Ознаки нітрозативно-оксидативного стресу виявляються при аутизмі, нейродегенеративних захворюваннях, ішемічних станах головного мозку, що може призводити до

вогнищевому порушенню гематоенцефалічного бар'єру і сприяти прогресуванню захворювань головного мозку [123-126].

Тому вивчення впливу модуляторів циркадіанних ритмів у розвитку нейрозахворювань за умов системної запальної відповіді може сприяти розробці нових стратегій лікування та профілактики патології хвороб нервової системи.

За нашими даними, окреме відтворення ЛПС-індукованої СЗВ і гострого десинхронозу призводить до суттєвого збільшення показників оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах великих півкуль головного мозку. Зокрема, було продемонстровано зростання швидкості базової продукції САР, як за мікросомальним шляхом, так і мітохондріальним. Зростання продукції САР свідчить про активність окисних процесів в тканинах, що можливе в мітохондріях клітин шляхом одноелектронного відновлення молекули кисню.

При фізіологічних умовах низькі концентрації АФК відіграють роль вторинних месенджерів у численних сигнальних каскадах, ініційованих гормонами, цитокінами, факторами росту, впливаючи на ключові ланки запалення, синаптичної пластичності, навчання [73]. Але нервова тканина є чутливою до негативного впливу АФК, що пояснюється високою інтенсивністю обмінних процесів в тканинах головного мозку, підвищеною необхідністю запасів енергії, високим вмістом субстратів ПОЛ.

Одним з основних показників активності ПОЛ, що дозволяє судити про інтенсивність цих процесів, є приріст ТБК-активних продуктів. Тому збільшення в тканинах вмісту ТБК-реактивних продуктів вказує на те, що причиною підвищеної продукції САР є активація процесів ПОЛ клітин головного мозку тварин за умов гострого десинхронозу, розвиток оксидативного стресу, що може бути ушкоджуючим фактором клітин головного мозку. У наших дослідженнях це підтверджувалося підвищенням концентрації та приросту ТБК-активних продуктів, а також зниженням активності основних антиоксидантних ферментів СОД і каталази.

Одержані нами результати узгоджуються з даними, представленими у дослідженнях О.В. Гутніка [127], де було продемонстровано підвищення

генерування АФК у нирках щурів під впливом ЛПС і порушень циклу «світло – темрява» та підтверджують негативний вплив ЛПС та циркадіанних порушень на метаболічні процеси в тканинах головного мозку і сприяння розвитку оксидативно-нітрозативного стресу.

Сучасні дослідження показують, що у виникненні численних патологічних процесів різних органів і систем організму, в тому числі і оксидативного стресу, приймають участь сигнальні трансдукційні шляхи та генні регуляторні механізми, що призводять до експресії запальних генів. В цих механізмах важливу роль відіграють ядерні транскрипційні фактори - білкові комплекси, що безпосередньо не беруть участі в каталітичному процесі синтезу РНК, але необхідні для проведення основних етапів транскрипції чи її регуляції, зокрема нуклеарний фактор NF-κB [128-132]. Можна припустити, що посилення продукції САР є наслідком активації транскрипційного фактора NF- κB при порушенні тривалості нормального циклу «світло-темрява».

Результати наших експериментів щодо зростання швидкості продукції САР та посилення процесів ПОЛ при СЗВ, десинхронозі схожі висновками досліджень інших науковців. Так, при запальних пошкодженнях слизових оболонок ротової порожнини спостерігається збільшення продукції САР, зниження активності антиоксидантних ферментів. Відомо, що підвищений рівень АФК при системному запаленні може стимулювати захисні механізми організму за рахунок активації сигнального шляху NF-κB, що індукує транскрипцію генів антиоксидантів, що спостерігається і в нашому дослідженні [133,134]. Дослідженнями доведено участь транскрипційних факторів, зокрема NF-κB, у регуляції активності хронічного запального процесу [135-139].

За результатами наших експериментів додавання глютаму натрію за умов СЗВ та порушення нормальної тривалості циклів «світло-темрява» сприяє посиленню розвитку оксидативного стресу та погіршенню антиоксидантного захисту.

Відомо, що глютамат є широко поширеною харчовою добавкою, яка впливає на різні фізіологічні процеси, включаючи нейрональну активність і

метаболізм. Результати вивчення її впливу на організм людини доводять, що його вживання призводить до розвитку порушень легеневої, травневої системи [22,23]. Крім цього, встановлено, що глутаматні рецептори опосередковують збудження нейронних синапсів, завдяки чому здійснюють антидепресивну функцію, посилюють нейротрофічну дію на нейрони. У зв'язку з тим, що глутамат є важливим нейротрансмітером у центральній нервовій системі, його введення може порушувати регуляцію циркадіанних ритмів через вплив на нейрональну збудливість і сигнальні шляхи, що контролюють внутрішній біологічний годинник [122].

Нашими дослідженнями виявлено, що введення глутамату натрію за умов поєднання СЗВ та ГД сприяє зростанню згальної активності NOS та її індукцйбельної ізоформи. Відомо, що глутамат у високих дозах здатен збільшувати активність iNOS, сприяти розвитку оксидативного стресу та призводити до розвитку запалення у нервовій тканині, що спостерігається і в нашому експерименті [140-143]. Існують дані, що зменшення експресії NOS в синергічній дії з деякими іншими умовами, такими як гіпоксія, може мати пошкоджуючий ефект і спричинити загибель клітин [123]. Науковцями встановлено вагому роль високих концентрацій оксиду азоту в патогенезі нейродегенеративних захворювань ЦНС, пов'язаних з нейротоксичним впливом глутамату, що є збуджуючим нейротрансмітером. Глутамат і його структурні аналоги можуть зв'язуватися з глутаматними рецепторами і проявляти нейротоксичну дію [144-147].

Крім цього, в результаті збільшення екзогенного глутамату в організмі зростає синтез аргініну та активується NO-синтазний шлях його метаболізму. А в результаті посилення активності аргіназного шляху метаболізму L-аргініну можливе надмірне утворення поліамінів, які можуть збільшувати проникність гематоенцефалічного бар'єру [144-147]. Можна припустити, що вплив даного модулятора на тлі поєднання СЗВ та ГД створює передумови для підвищення чутливості тканин головного мозку до глутамату.

Результати наших досліджень виявили зниження активності загальної NOS та її індукцйбельної і конститутивної ізоформ в тканинах головного мозку щурів з порушенням нормального циклу «світло-темрява». Дослідження показують, що порушення нормального циклу «світло-темрява» більшою мірою, ніж СЗВ, зменшує роботу NOS та її ізоформ в тканинах головного мозку щурів. При поєднанні СЗВ і ГД спостерігається синергічна дія обох патогенних факторів та ще більше зниження загальної активності NOS та iNOS.

Відомо, що оксид азоту, продукція якого каталізується NOS, має як регуляторну, так і пошкоджуючу дію на організм. При запаленні активується iNOS, отже, зниження її активності свідчить про відсутність активного запального процесу в тканинах. Конститутивна NOS експресується в ендотеліальних клітинах кровоносних судин, в нейронах головного мозку та має важливе значення у вазодилатації, регуляції артеріального тиску, синаптичній передачі імпульсів. Зниження активності cNOS може призвести до ішемії та гіпоксії в тканинах головного мозку щурів [148-151].

Наше дослідження виявило виражене зростання вмісту нітритів в тканинах головного мозку щурів при ГД і дещо менше при СЗВ. З літературних джерел відомо, що в організмі можливе перерозподіл і переміщення нітритів з кишківника до того органу, який його найбільше потребує для збереження гомеостазу організму [152]. Тому наші результати щодо вмісту нітритів можна пояснити тим, що в результаті суттєвого зниження активності NOS і зменшення продукції оксиду азоту, в організмі відбувається перерозподіл і переміщення нітритів з кишківника до тканин головного мозку, де вони використовуються як джерело оксиду азоту з метою попередження дисфункції судин та ішемії головного мозку. Поєднання ГД і СЗВ супроводжується зниженням активності NOS, а також вмісту нітритів в тканинах головного мозку. Так як одночасна дія двох патогенних чинників має потужніший оксидативний вплив на орган, вірогідно, нітрати можуть використовуватись не тільки для підтримання судинного гомеостазу, а й для утворення пероксинітриту, що може ще більше посилити дефіцит оксиду азоту у головному мозку. При введенні глютамату

натрію за умов поєднання СЗВ і ГД на тлі більшого зниження вмісту нітритів спостерігається суттєве підвищення загальної активності NOS та iNOS, тоді як активність sNOS зменшується, що вказує на посилення ендотеліальної дисфункції. При цьому накопичуються пероксинітрити, що є маркерами нітрозативного стресу, та зростає активність ОДК [152].

Дослідженнями виявлено підвищення активності ОДК в усіх групах тварин, найбільше при одночасній дії СЗВ, порушення нормального світлового режиму та введенні глутамату натрію. ОДК є ферментом аргіназного шляху перетворення L-аргініну, що каталізує лімітуючу стадію біосинтезу поліамінів - декарбоксилювання L-орнітину, проміжної сполуки циклу сечовини, з утворенням путресцину [142-143]. Як відомо, що метаболізм L-аргініну відбувається за NO-синтазним шляхом, де утворюється оксид азоту, та аргіназним. Підвищення активності ОДК свідчить про активацію саме аргіназного шляху метаболізму L-аргініну у тканинах головного мозку щурів другої групи. Очевидно, NO-синтазна ланка метаболізму L-аргініну сповільнена і продукція оксиду азоту знижена, на що також вказує і зниження активності NOS. Згідно з нашими дослідженнями, вочевидь, в головному мозку при стресових ситуаціях, якими є поєднання ГД та СЗВ, переважає аргіназний шлях метаболізму L-аргініну. Одним з продуктів метаболізму L-аргініну аргіназним шляхом є глутамат, підвищений вміст якого може спричинити оксидативний стрес.

Отримані результати свідчать про підвищення концентрації пероксинітритів в тканинах головного мозку тварин всіх груп порівняно з інтактними. Найбільші показники його вмісту спостерігаються у тварин груп при додаванні глутамату натрію за умов поєднання ГД та СЗВ, а також введення флуокетину за цих умов. Пероксинітрит є сильним окислювачем. Завдяки своїм властивостям він здатний викликати ушкодження широкого спектра молекул у клітині, у тому числі ДНК та білків. Утворення пероксинітриту *in vivo* відбувається в результаті взаємодії супероксидіону та оксиду азоту. Вірогідно, підвищення концентрації реактивних форм азоту сприяє пероксидному

окисненню ліпідів та розвитку оксидативно-нітрозативного стресу, що може призвести до пошкодження клітин в головному мозку [148,149].

На сьогодні одним з популярних лікарських засобів при неврологічних та психічних розладах є флуоксетин. Різноманітні дослідження дії препарату на органи, в тому числі і на головний мозок, свідчать, що він покращує депресивну симптоматику шляхом модуляції прозапального процесу, збільшує розміри та міцність кісток, але при лікуванні стресу - затримує розвиток скелета [148- 150]. Інші дослідження показують зниження метаболізму глюкози, зменшення пластичності нейронів, нейротоксичні та окислювальні ефекти в тканинах головного мозку при хронічному впливові флуоксетину, що може збільшити оксидативний стрес та викликати пошкодження мітохондрій [153-155].

У нашому експерименті при поєднанні порушення циклів «світло-темрява», СЗВ та дії флуоксетину спостерігається помітне збільшення базової продукції САР в порівнянні з контрольною групою, але менше, ніж при поєднанні десинхронозу і СЗВ. Вказані результати наших досліджень схожі з даними інших вчених щодо збільшення продукції САР при введенні флуоксетину, в більшій мірі мітохондріальним шляхом [156-157].

Це може бути пов'язано з відомими ефектами серотоніну, який підвищує внутрішньоклітинний рівень Ca^{2+} , стимулює вивільнення ацетилхоліну. Послідовна синергетична дія серотоніну та ацетилхоліну може інтенсифікувати поглинання Ca^{2+} , що, за даними інших джерел, може збільшити окислювальний стрес [154]. Ca^{2+} у високих концентраціях також може викликати пошкодження мітохондрій. Ініціація цих процесів відбувається через внутрішньоклітинне поглинання іонів кальцію або вивільнення з запасів ендоплазматичного ретикулуму. Деполяризація мітохондріальної мембрани є важливим механізмом вивільнення цитохрому с з мітохондрій, що індукує мітохондріальний апоптоз у клітинах [156-157].

Концентрація ТБК-реактантів в тканинах головного мозку тварин за умов поєднання десинхронозу і СЗВ та додатковому введенні флуоксетину менша, ніж при поєднанні порушення світлового режиму та СЗВ, але більша в порівнянні з

інтактними тваринами. Це вказує на те, що причиною підвищеної продукції САР є активація процесів ПОЛ клітин головного мозку тварин і розвиток оксидативного стресу, але флуоксетин дещо гальмує накопичення продуктів ПОЛ. На це також вказує зменшення приросту ТБК-реактантів нижче показника контрольної групи та зростання активності антиоксидантних ферментів при поєднанні дії гострого десинхронозу, СЗВ і флуоксетину.

Існують докази того, що антидепресанти викликають значну кількість молекулярних змін у багатьох областях мозку, включаючи зміни в стані хроматину та експресії генів, що свідчать про значне збільшення вироблення енергії при введенні флуоксетину. Зроблено висновок про те, що збільшення виробництва енергії у нашому дослідженні пов'язано з посиленням реакції на окислювальний стрес та відповідного антиоксидантного захисту [156-157].

Згідно даних наукової літератури вживання помірних та низьких доз алкоголю протягом тривалого часу викликає розвиток запального процесу печінки, що супроводжується оксидативним стресом в ендотелії судин. Під час алкоголь-індукованого оксидативного стресу ендотеліоцити продукують та виділяють речовини, що здатні знижувати тонус гладких м'язів судин (пероксид водню та оксид азоту) [158,159]. Також науковцями показано посилення окисно-нітрозативного стресу в слинних залозах щурів при їх алкогольному ураженні [106]. У нашому дослідженні за умов додаткового введення 40% розчину алкоголю при поєднанні СЗВ і ГД спостерігається зменшення інтенсивності вільнорадикальних процесів і вмісту пероксинітритів в тканинах головного мозку щурів, але знижується активність cNOS, що може призвести до дисфункції судин.

Згідно даних досліджень інгібітор транскрипційних чинників NF-κB піролідиндитіокарбамат амонію бере участь у регуляції активності хронічного запального процесу та зменшує прояви активності процесів ПОЛ [91,92]. Результати наших досліджень свідчать про зниження швидкості базової генерації САР, НАДФН-індуковану і НАДН-індуковану продукції АФК в тканинах головного мозку тварин після введення ПДТК. Також за цих умов ми

спостерігаємо зменшення приросту та концентрації ТБК-реактантів та суттєве підвищення активності основних антиоксидантних ферментів у великих півкулях головного мозку щурів при дії.

Показано, що піролідиндитіокарбамат амонію може пригнічувати роль NF-κB шляхом інгібування фосфорилювання IκB, таким чином блокуючи транслокацію NF-κB до ядра, зменшуючи експресію цитокінів [103,160]. Нуклеарний фактор NF-κB може відігравати важливу роль в імунній відповіді та запальній реакції, поєднуючи багато цитокінів і фіксовану нуклеотидну послідовність у генетичній промоторній області медіаторів запалення та запускаючи фактор. Крім цього, АФК самі можуть бути загальним механізмом для всіх подразників, що активують NF-κB, і ядром клітинної сигнальної системи, індукованої ЛПС. Проліферація АФК може регулювати активацію NF-κB, що може підвищити чутливість окисного сигнального шляху, збільшуючи генетичний продукт [103,160,161].

Крім метаболічних розладів, у щурів певних груп спостерігаються функціональні зміни. Так, неврологічний дефіцит внаслідок порушення координації та зміни поведінки виникає за умов ГД та при поєднанні СЗВ та ГД. Найвищий інтегральний показник неврологічного дефіциту відмічається у групах при поєднанні СЗВ, ГД і введення 40% розчину етанолу та за цих умов і дії глутамату натрію. Це співвідноситься з вираженістю вільнорадикальних процесів і метаболічних порушень в тканинах головного мозку тварин даних груп. Зниження тонуусу спостерігається лише у тварин після введення 40% розчину етанолу при поєднанні СЗВ і ГД. Додавання флуоксетину вдвічі зменшує кількість тварин з неврологічним дефіцитом, що відповідає інтенсивності метаболічних процесів. Після додавання блокатора транскрипційного фактора NF-κB при поєднанні СЗВ і ГД покращується інтегральний показник неврологічного дефіциту у групі з додатковою дією глутамату і погіршується після введення флуоксетину. Найвищий показник неврологічного дефіциту після застосування ПДТК залишається у групі з додатковою дією 40% розчину етанолу.

У всіх групах щурів, яким за умов поєднання СЗВ і ГД вводили модулятори, спостерігається суттєве зниження рухової і дослідницької активності, орієнтувальних реакцій, наявність страху чи агресії. Застосування блокатора транскрипційного фактора за умов поєднання СЗВ і ГД та дії як глутамату натрію, так і 40% розчину етанолу суттєво покращує рухову, дослідницьку, орієнтувальну активності, зменшує тривожність, страх.

Отже, поєднання двох патологічних фактора – порушення тривалості циклів «світло – темрява» та СЗВ призводить до метаболічних розладів у тканинах головного мозку щурів. Введення модулятора циркадіанного осцилятора глутамата натрію при поєднанні хронічного запалення і гострого десинхронозу посилює інтенсивність вільнорадикальних процесів, збільшує вміст пероксинітритів, викликає функціональні та поведінкові порушення. Вочевидь, за вказаних умов глутамат натрію посилює експресію транскрипційного фактора NF-κB, що активізує запальний процес. При застосуванні глутамата натрію за цих умов на тлі блокатора транскрипційного фактора NF-κB спостерігається суттєве зниження активності метаболічних і функціональних розладів. Додавання флуоксетину за умов ГД і СЗВ сприяє зниженню швидкості вільнорадикальних процесів в тканинах головного мозку, посилює нітрозативний стрес. Вірогідно, флуоксетин за вказаних умов пригнічує експресію транскрипційного фактора NF-κB і розвиток СЗВ. Введення флуоксетину на фоні піролідіндитіокарбамату при поєднанні СЗВ і гострого десинхронозу, сприяє експресії нуклеарного фактора і активації процесів хронічного запалення. Додавання 40% розчин етанолу при поєднанні СЗВ і гострого десинхронозу, а також за цих умов і введення блокатора транскрипційного фактора гальмує експресію NF-κB і зменшує інтенсивність вільнорадикальних процесів в тканинах.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і вирішення наукового завдання, яке полягає у з'ясуванні ролі транскрипційного фактора NF-κB у механізмах метаболічних та функціональних порушень головного мозку щурів за умов поєднання впливу системної запальної відповіді та зміни тривалості фаз циклу «світло-темрява».

1. При поєднанні системної запальної відповіді та гострого десинхронозу інтенсивність вільнорадикальних процесів у великих півкулях головного мозку зростає, активність ферментативної антиоксидантної системи знижується в більшій мірі, ніж при окремому їх відтворенні: швидкість базової продукції супероксидного аніон-радикала збільшується на 8,3%, $p < 0,001$ порівняно з системною запальною відповіддю та на 41,2%, $p < 0,001$ порівняно з гострим десинхронозом, приріст ТБК-реактивів - на 31,5%, $p < 0,001$ та 20,9%, $p < 0,001$ відповідно щодо гострого десинхронозу та системної запальної відповіді, їх концентрація на 20,7%, $p < 0,001$ і 9,4%, $p < 0,001$ відповідно, активність супероксиддисмутази знижується на 25%, $p < 0,05$, хоча каталази підвищується на 4%, $p < 0,001$ порівняно з гострим десинхронозом та зменшуються на 52%, $p < 0,001$ і 8,2%, $p < 0,001$ порівняно з системною запальною відповіддю, знижуються активності загальної NOS на 16,4%, $p < 0,01$ порівняно з гострим десинхронозом, 35,6%, $p < 0,001$ в порівнянні з системною запальною відповіддю, та iNOS – на 18%, $p < 0,01$ і 37,5%, $p < 0,001$ відповідно.

2. Додавання глютамату натрію за умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу суттєво посилює інтенсивність оксидативно-нітрозативних процесів у великих півкулях головного мозку, на що вказують підвищення швидкості продукції супероксидного аніон-радикала на 11,1%, $p < 0,001$, зростання вмісту ТБК-активних продуктів на 11,1%, $p < 0,01$, пригнічення активності супероксиддисмутази на 26,7%, $p < 0,01$, каталази на 30,6%, $p < 0,001$, збільшення концентрації пероксинітритів на 25,5%, $p < 0,001$. Зростають загальна активність NOS та iNOS (на 267,5%, $p < 0,001$ і 300%,

$p < 0,001$), але знижується cNOS на 11,5%, $p < 0,001$, що може сприяти розвитку дисфункції судин головного мозку щурів.

3. Введення флуоксетину при поєднанні системної запальної відповіді і гострого десинхронозу зменшує інтенсивність окисних процесів в тканинах головного мозку тварин: знижується швидкість базової продукції супероксидного аніон-радикала на 35,4%, $p < 0,001$, концентрація і приріст ТБК-реактантів відповідно на 23,7%, $p < 0,001$ і 54,3%, $p < 0,001$, зростає активність супероксиддисмутази на 85,7%, $p < 0,001$, каталази - на 12,4%, $p < 0,001$. Але зменшується загальна активність NOS на 55%, $p < 0,001$, iNOS на 60%, $p < 0,001$, cNOS на 16,5%, $p < 0,001$, посилюється нітрозативний стрес, про що свідчить зростання в тканинах головного мозку концентрації пероксинітритів на 37,5%, $p < 0,001$, нітрозотіолів на 76,8%, $p < 0,001$.

4. Застосування 40% розчину етанолу при поєднанні системної запальної відповіді та гострого десинхронозу супроводжується зменшенням активності оксидативного стресу та вмісту пероксинітритів, зростанням активності NO-синтазної систем у великих півкулях головного мозку щурів.

5. Введення інгібітора транскрипційного фактора піролідіндитіокарбамату амонію за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу прискорює швидкість базової продукції супероксидного аніон-радикала на 22,9%, $p < 0,001$, збільшує концентрацію і приріст ТБК-активних сполук на 14,2%, $p < 0,001$ і 19,6%, $p < 0,001$, знижує активність супероксиддисмутази на 36,6%, $p < 0,001$, каталази на 7,3%, $p < 0,001$, що свідчить про посилення вільнорадикальних процесів в тканинах головного мозку. За цих умов піролідіндитіокарбамат амонію сповільнює активність загальної NOS на 35,7%, $p < 0,001$ та iNOS на 40%, $p < 0,001$, cNOS на 7,8%, $p < 0,001$, підвищує вміст пероксинітритів на 31,3%, $p < 0,001$, нітрозотіолів на 9,1%, $p < 0,05$, що вказує на можливість посилення нітрозативного стресу в півкулях головного мозку.

6. Глутамат натрію на фоні додавання піролідіндитіокарбамату амонію за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу зменшує

продукцію активних форм кисню і процеси пероксидного окиснення ліпідів та посилює антиоксидантний захист в тканинах великих півкуль головного мозку щурів: знижує швидкість базової продукції супероксидного аніон-радикала на 10%, $p < 0,01$, концентрацію і приріст ТБК-активних сполук відповідно на 6,6%, $p < 0,001$, і 14,6%, $p < 0,001$, підвищує активність супероксиддисмутази на 35,2%, $p < 0,05$, каталази на 10,5%, $p < 0,05$, зменшує накопичення пероксинітритів в тканинах на 6,5%, $p < 0,001$ порівняно з групою поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронозу та глютамату натрію.

7. Введення флуоксетину на тлі піролідіндитіокарбамату амонію при поєднанні системної запальної відповіді і гострого десинхронозу збільшує в тканинах головного мозку швидкість базової продукції супероксидного аніон-радикала на 21,5%, $p < 0,01$ та концентрацію ТБК-активних сполук на 12,1%, $p < 0,001$, натомість зменшує їх приріст на 34,6%, $p < 0,001$, покращує роботу антиоксидантної системи та NO-синтазної: активність загальної NOS зростає на 164%, $p < 0,001$, iNOS на 200%, $p < 0,001$, cNOS на 11,7%, $p < 0,001$, знижує можливість розвитку нітрозативного стресу (зменшується концентрація пероксинітритів на 15,2%, $p < 0,01$, нітрозотіолів на 44,4%, $p < 0,01$) порівняно з групою поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронозу та флуоксетину.

8. Застосування 40% розчину етанолу на тлі піролідіндитіокарбамату амонію за умов поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу знижує інтенсивність вільнорадикальних процесів, концентрацію пероксинітритів, суттєво підвищує активність антиоксидантних ферментів та NO-синтазної системи в тканинах головного мозку порівняно з групою поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронозу, введення 40% розчину етанолу.

9. Найвищий інтегральний показник неврологічного дефіциту відмічається у групах за умов поєднання системної запальної відповіді, гострого десинхронозу і введенні 40% розчину етанолу та за цих умов і введення глютамату натрію.

10. Після додавання блокатора транскрипційного фактора NF- κ B при поєднанні системної запальної відповіді і гострого десинхронозу покращується показник неврологічного дефіциту у групі з додатковою дією глутамату. Найвищий показник неврологічного дефіциту після застосування піролідіндитіокарбамату амонію залишається у групі з додатковою дією 40% розчину етанолу.

11. Після моделювання гострого десинхронозу у щурів відмічається зниження рухової та дослідницької активності, тривожність. У всіх групах щурів, яким за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу вводили модулятори циркадіанного осцилятора, спостерігається суттєве зниження рухової і дослідницької активності, орієнтувальних реакцій, наявність страху чи агресії. Найбільш виражені зміни виникають за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу та дії 40% розчину етанолу. Застосування блокатора транскрипційного фактора піролідіндитіокарбамату амонію за умов поєднання системної запальної відповіді і гострого десинхронозу та введення глутамату натрію, а також за вказаних умов і введення 40% розчину етанолу суттєво покращує рухову, дослідницьку, орієнтувальну активності, зменшує тривожність, страх.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У лікарській практиці особливу увагу надавати пацієнтам з хронічними запальними процесами, хворобами головного мозку та нервової системи, наголошуючи про необхідність у роботі та повсякденному житті дотримуватись режиму природнього циклу «світло-темрява», адже порушення світлового режиму призводить до патологічних змін метаболічних та функціональних процесів головного мозку.

2. Рекомендувати обмежити вживання продуктів, які містять глутамат натрію, особливо пацієнтами з хронічними запальними хворобами в анамнезі та тим, хто працює в нічний час, тому що він може сприяти розвитку чи посиленню оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах головного мозку та функціональних порушень нервової системи.

3. Рекомендувати обмежити вживання алкоголю людям з хронічними запальними процесами та тим, хто має можливість працювати вночі, так як це може призвести до виражених порушень функціонального стану нервової системи та головного мозку.

4. Пацієнтам з хронічними запальними хворобами, особам, хто в повсякденні не дотримується правильного світлового режиму доби, рекомендувати регулярно проводити дослідження функціонального стану нервової системи з метою раннього виявлення метаболічних змін в тканинах головного мозку.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Міщенко Т.С. Епідеміологія захворювань нервової системи в Україні. Український вісник психоневрології. 2015;23(3):151-152.
2. Антонюк Т.В. Важливі питання сучасної неврології. За матеріалами науково-практичної школи з міжнародною участю «Карпатські читання-2017» (29 червня – 1 липня 2017 р., Ужгород, Україна). НейроNews: психоневрологія та нейропсихіатрія. 2017;6(90):34-36.
3. Sládek M, Klusáček J, Hamplová D, Sumová A. Population-representative study reveals cardiovascular and metabolic disease biomarkers associated with misaligned sleep schedules. *Sleep*. 2023;46(6):zsad037.
4. Izmailova O, Kabaliei A, Shynkevych V, Shlykova O, Kaidashev I. PPAR γ agonist pioglitazone influences diurnal kidney medulla mRNA expression of core clock, inflammation-, and metabolism-related genes disrupted by reverse feeding in mice. *Physiol Rep*. 2022;10(23):e15535.
5. Fedchenko T, Izmailova O, Shynkevych V, Shlykova O, Kaidashev I. PPAR- γ Agonist Pioglitazone Restored Mouse Liver mRNA Expression of Clock Genes and Inflammation-Related Genes Disrupted by Reversed Feeding. *PPAR Res*. 2022;2022:7537210.
6. Schilperoort M, van den Berg R, Bosmans LA, van Os BW, Dollé MET, Smits NAM, Guichelaar T, van Baarle D, Koemans L, Berbée JFP, Deboer T, Meijer JH, de Vries MR, Vreeken D, van Gils JM, Willems van Dijk K, van Kerkhof LWM, Lutgens E, Biermasz NR, Rensen PCN, Kooijman S. Disruption of circadian rhythm by alternating light-dark cycles aggravates atherosclerosis development in APOE*3-Leiden.CETP mice. *J Pineal Res*. 2020;68(1):e12614.
7. Tarianyk KA, Lytvynenko NV, Shkodina AD, Kaidashev IP. The role of circadian regulation of ghrelin levels in Parkinson's disease (literature review). *Wiadomosci lekarskie*. 2021;74:1750-1753.

8. de Leeuw M, Verhoeve SI, van der Wee NJA, van Hemert AM, Vreugdenhil E, Coomans CP. The role of the circadian system in the etiology of depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 2023;153:105383.
9. Gentry NW, Ashbrook LH, Fu YH, Ptáček LJ. Human circadian variations. *J Clin Invest.* 2021;131(16):e148282.
10. Li X, Peng H, Wu J, Xu Y. Brain Natriuretic Peptide-Regulated Expression of Inflammatory Cytokines in Lipopolysaccharide (LPS)-Activated Macrophages via NF- κ B and Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK) Pathways. *Med Sci Monit.* 2018;(24):3119-3126.
11. Cui J, Ding H, Yao Y, Liu W. Inhibition Mir-92a Alleviates Oxidative Stress and Apoptosis of Alveolar Epithelial Cells Induced by Lipopolysaccharide Exposure through TLR2/AP-1 Pathway. *Biomed Res Int.* 2020;2020: 9673284.
12. Wang X, et al. Gomisin A inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in N9 microglia via blocking the NF-kappaB/MAPKs pathway. *Food Chem Toxicol.* 2014;63:119-27.
13. Soares JB, Pimentel-Nunes P, Roncon-Albuquerque R, LeiteMoreira A. The role of lipopolysaccharide/toll-like receptor 4 signaling in chronic liver diseases. *Hepatol Int.* 2010;4(4):659-672.
14. Shih TL, Liu MH, Li CW, Kuo CF. Halo-Substituted Chalcones and Azachalcones-Inhibited, Lipopolysaccharited-Stimulated, ProInflammatory Responses through the TLR4-Mediated Pathway. *Molecules.* 2018;23(3):597.
15. Kostenko V, Akimov O, Gutnik O, Kostenko H, Kostenko V, Romantseva T et al. Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response. *Heliyon.* 2023;9(5):e15551.
16. Остапченко ЛІ, Синельник ТБ, Рибальченко ТВ, Рибальченко ВК. Біохімічні механізми апоптозу. Київ: Київський університет; 2010. 311с.
17. Jones GH, Vecera CM, Pinjari OF et al. Inflammatory signaling mechanisms in bipolar disorder. *J Biomed Sci.* 2021;28:45.

18. Mehta R, Bhandari R, Kuhad A. Effects of catechin on a rodent model of autism spectrum disorder: implications for the role of nitric oxide in neuroinflammatory pathway. *Psychopharmacology (Berl)*. 2021;238(11):3249-3271.
19. Tan BL, Norhaizan ME. Effect of High-Fat Diets on Oxidative Stress, Cellular Inflammatory Response and Cognitive Function. *Nutrients*. 2019;11(11):2579.
20. Shah A, Varma M, Bhandari R. Exploring sulforaphane as neurotherapeutic: targeting Nrf2-Keap & Nf-Kb pathway crosstalk in ASD. *Metab Brain Dis*. 2023;39:373-385.
21. Gallo FT, Kathe C, Morici JF et al. Immediate Early Genes, Memory and Psychiatric Disorders: Focus on c-Fos, Egr1 and Arc. *Front Behav Neurosci*. 2018;12:79.
22. Єрошенко ГА, Донець ІМ, Шевченко КВ, Григоренко АС, Кінаш ОВ, Лісаченко ОД. Вплив глутамату натрію на органи дихальної системи щурів. *Вісник проблеми біології і медицини*. 2021;3(161):31-34.
23. Yeroshenko GA, Grygorenko AS, Shevchenko KV, Lysachenko OD, Maksymenko NT, Vatsenko AV, et al. The features of the normal ultrastructure of the rat duodenum and under the combined effect of the food additives complex. *Wiad Lek*. 2022;75(6):1466-1470.
24. Kryst J, Majcher-Maślanka I, Chocyk A. Effects of chronic fluoxetine treatment on anxiety- and depressive-like behaviors in adolescent rodents - systematic review and meta-analysis. *Pharmacol Rep*. 2022;74(5):920-946.
25. Zotova NV, Chereshev VA, Gusev EY. Systemic Inflammation: Methodological Approaches to Identification of the Common Pathological Process. *PLoS One*. 2016;11(5):e0155138.
26. Margraf A, Ludwig N, Zarbock A, Rossaint J. Systemic Inflammatory Response Syndrome After Surgery: Mechanisms and Protection. *Anesth Analg*. 2020;131(6):1693-1707.
27. Wu W, Zhang D, Jin T, Lu T, Zhou F. Progress in the study of biomarkers for early prediction of systemic inflammatory response syndrome after percutaneous nephrolithotomy. *Front Immunol*. 2023;14:1142346.

28. Bayani M., Pourali M., Keivan M. Possible interaction between visfatin, periodontal infection, and other systemic diseases: A brief review of literature. *Eur JDent.* 2017;11(3): 407-410.
29. Ma C, Lu J, Zhu Y, Huo Y, Xia S, Shao Y. Systemic Inflammatory Response Syndrome Combined with Pre- and Postoperative White Blood Cell Ratio Is a Better Criterion to Identify Septic Shock Patients After Flexible Ureteroscopic Lithotripsy. *J Endourol.* 2021;35(7):973-978.
30. Barbieri SS, Amadio P, Gianellini S, Zacchi E, Weksler BB, Tremoli E. Tobacco smoke regulates the expression and activity of microsomal prostaglandin E synthase-1: role of prostacyclin and NADPH-oxidase. *FASEB J.* 2011;25(10): 3731-3740.
31. Shafik S, Mallick S, Fogel J, Tetrokalashvili M, Hsu CD. The utility of systemic inflammatory response syndrome (SIRS) for diagnosing sepsis in the immediate postpartum period. *J Infect Public Health.* 2019;12(6):799-802.
32. Patel JM. Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C). *Curr Allergy Asthma Rep.* 2022;22(5):53-60.
33. Gerasymenko ND. The role of systemic inflammation and peroxisome proliferator-activated receptors, in the pathogenesis of hypertension. *Bull Probl Biol Med.* 2015;120(3):16-19.
34. Ignarro LJ, Freeman B. Nitric Oxide: Biology and Pathobiology [3rd ed.]. Academic Press. 2017. 434 p.
35. Palsson-McDermott EM, O'Neill LAJ. Targeting immunometabolism as an anti-inflammatory strategy. *Cell Res.* 2020;30(4):300-314.
36. 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.
37. Bartesaghi S, Radi R. Fundamentals on the biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration. *Redox Biol.* 2018;14:618-625.

38. Shraibman GN, Dyagileva EP, Skibina AV. Spectrophotometric methods of determination of the peroxynitrite and the nitrite. Bull kemerovo State University. 2011;45:200-206.
39. Tao X, Sun X, Xu L, Yin L, Han X, Qi Y, Xu Y, Zhao Y, Wang C, Peng J. Total flavonoids from *Rosa laevigata* Michx fruit ameliorates hepatic ischemia/reperfusion injury through inhibition of oxidative stress and inflammation in rats. *Nutrients*. 2016; 8(7). pii: E418.
40. Wang Y, Loake GJ, Chu C. Cross-talk of nitric oxide and reactive oxygen species in plant programmed cell death. *Front Plant Sci*. 2013;4:314.
41. Akimov OY, Kostenko VO. Role of NF- κ B transcriptional factor activation during chronic fluoride intoxication in development of oxidative-nitrosative stress in rat's gastric mucosa. *J Trace Elem Med Biol*. 2020;61:126535.
42. Liu X, Lin R, Zhao B, Guan R, Li T, Jin R. Correlation between oxidative stress and the NF- κ B signaling pathway in the pulmonary tissues of obese asthmatic mice. *Mol Med Rep*. 2016;13(2):1127-1134.
43. El Assar M, Álvarez-Bustos A, Sosa P, Angulo J, Rodríguez-Mañas L. Effect of Physical Activity/Exercise on Oxidative Stress and Inflammation in Muscle and Vascular Aging. *Int J MolSci*. 2022;23(15):8713.
44. Kitaoka Y, Tamura Y, Takahashi K, Takeda K, Takemasa T, Hatta H. Effects of Nrf2 deficiency on mitochondrial oxidative stress in aged skeletal muscle. *Physiol Rep*. 2019;7(3):e13998.
45. Zalewska A, Ziembicka D, Żendzian-Piotrowska M, Maciejczyk M. The Impact of High-Fat Diet on Mitochondrial Function, Free Radical Production, and Nitrosative Stress in the Salivary Glands of Wistar Rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:2606120.
46. Yelins'ka AM, Shvaykovs'ka OO, Kostenko VO. Sources of production of reactive oxygen and nitrogen species in tissues of periodontium and salivary glands of rats under modeled systemic inflammation. *Probl ekol Med*. 2017;21(3-4):51-54.

47. Knaś M, Maciejczyk M, Daniszewska I et al. Oxidative Damage to the Salivary Glands of Rats with Streptozotocin-Induced DiabetesTemporal Study: Oxidative Stress and Diabetic Salivary Glands. *J Diabetes Res.* 2016;2016: 4583742.
48. Jin H, Zhu ZG, Yu PJ, Wang GF, Zhang JY, Li JR, Ai RT, Li ZH, Tian YX, Zhang WX, Wu SG. Myrislignan attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation reaction in murine macrophage cells through inhibition of NF- κ B signalling pathway activation. *Phytother Res.* 2012;26(9):1320-1326.
49. Ko HM, Koppula S, Kim BW, Kim IS, Hwang BY, Suk K, Park EJ, Choi DK. Inflexin attenuates proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB activation in LPS-treated microglia. *Eur J Pharmacol.* 2010;633(1-3):98-106.
50. Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009;1(6):a001651.
51. Napetschnig J, Wu H. Molecular basis of NF- κ B signaling. *Annu Rev Biophys.* 2013;42:443-68.
52. Rasin MS. The role of nuclear transcription factors in modern syntropy internal pathology (review). *Ukr. Med. Chasop.* 2014;1(99):17-21.
53. Mitchell JP, Carmody RJ. NF- κ B and the Transcriptional Control of Inflammation. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2018;335:41-84.
54. Tan C, Meng F, Reece EA, Zhao Z. Modulation of nuclear factor- κ B signaling and reduction of neural tube defects by quercetin-3-glucoside in embryos of diabetic mice. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;219(2):197.e1-197.e8.
55. Fang S, Livergood MC, Nakagawa P, Wu J, Sigmund CD. Role of the Peroxisome Proliferator Activated Receptors in Hypertension. *Circ Res.* 2021;128(7):1021-1039.
56. Pooladanda V, Thatikonda S, Bale S, Pattnaik B, Sigalapalli DK, Bathini NB, Singh SB, Godugu C. Nimbolide protects against endotoxin-induced acute respiratory distress syndrome by inhibiting TNF- α mediated NF- κ B and HDAC-3 nuclear translocation. *Cell Death Dis.* 2019;10(2):81.
57. Весніна ЛЕ, Шликова ОЛ, Ізмайлова ОВ, Кайдашев ІП. Особливості NF- κ B-опосередкованої сигнальної трансдукції та розвиток системного запалення у

- пацієнтів із захворюваннями внутрішніх органів визначаються мікробним фактором та індивідуальною реактивністю організму (огляд власних досліджень) . Проблеми екології і медицини. 2015;19(3-4):23-30.
58. Sun SC. The non-canonical NF- κ B pathway in immunity and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(9):545-558.
 59. Feng B, Cheng S, Pear WS, Liou HC. NF- κ B inhibitor blocks B cell development at two checkpoints. *Med Immunol*. 2004;3(1):1.
 60. Mitchell S, Vargas J, Hoffmann A. Signaling via the NF κ B system. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2016;8(3):227-41.
 61. Suzuki T. Systemic activation of NRF2 alleviates lethal autoimmune inflammation in scurfy mice. *Mol Cell Biol*. 2017;37:1-18.
 62. Rubio V, García-Pérez AI, Herráez A, Díez JC. Different roles of Nrf2 and NF κ B in the antioxidant imbalance produced by esculetin or quercetin on NB4 leukemia cells. *Chem Biol Interact*. 2018;294:158-166.
 63. Liu X, Lin R, Zhao B, Guan R, Li T, Jin R. Correlation between oxidative stress and the NF- κ B signaling pathway in the pulmonary tissues of obese asthmatic mice. *Mol Med Rep*. 2016;13(2):1127-34.
 64. Tawfik A, Knight P, Duckworth CA, Pritchard DM, Rhodes JM, Campbell BJ. Replication of Crohn's Disease Mucosal E. coli Isolates inside Macrophages Correlates with Resistance to Superoxide and Is Dependent on Macrophage NF- κ B Activation. *Pathogens*. 2019;8(2):74.
 65. Wang X, Shaalan A, Liefers S et al. Dysregulation of NF- κ B in glandular epithelial cells results in Sjögren's-like features. *PLoS One*. 2018;13(8):e0200212.
 66. Yelins'ka 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 of medicine and biology*. 2020;(1):180-183.
 67. Szklener S, Korchut A, Godek M, Balicka-Adamik L, Bielecki D, Rejdak R, Rejdak K. Systemic inflammatory response syndrome in the course of status epilepticus: 7-year, two-center observational study. *Epilepsy Res*. 2017;137:53-55.

68. Yue Y, Stone S, Lin W. Role of nuclear factor κ B in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neural Regen Res*. 2018;13(9):1507-1515.
69. Mettang M, Reichel SN, Lattke M, Palmer A, Abaei A, Rasche V, Huber-Lang M, Baumann B, Wirth T. IKK2/NF- κ B signaling protects neurons after traumatic brain injury. *FASEB J*. 2018;32(4):1916-1932.
70. Zhang H, Zhang D, Li H, Yan H, Zhang Z, Zhou C, Chen Q, Ye Z, Hang C. Biphasic activation of nuclear factor- κ B and expression of p65 and c-Rel following traumatic neuronal injury. *Int J Mol Med*. 2018;41(6):3203-3210.
71. Ridder DA, Schwaninger M. NF-kappaB signaling in cerebral ischemia. *Neuroscience*. 2009;158(3):995-1006.
72. Zhao Y, Huang Y, Fang Y, Zhao H, Shi W, Li J, Duan Y, Sun Y, Gao L, Luo Y. Chrysophanol attenuates nitrosative/oxidative stress injury in a mouse model of focal cerebral ischemia/reperfusion. *J Pharmacol Sci*. 2018;138(1):16-22.
73. Diaz-Cañestro C, Reiner MF, Bonetti NR et al. AP-1 (Activated Protein-1) Transcription Factor JunD Regulates Ischemia Reperfusion Brain Damage via IL-1 β (Interleukin-1 β). *Stroke*. 2019;50(2):469-477.
74. Angelova PR, Abramov AY. Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration. *FEBS Lett*. 2018;592(5):692-702.
75. Cenini G, Lloret A, Cascella R. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From a Mitochondrial Point of View. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 2019:2105607.
76. Dinkova-Kostova AT, Kostov RV, Kazantsev AG. The role of Nrf2 signaling in counteracting neurodegenerative diseases. *FEBS J*. 2018;285(19):3576-3590.
77. Mémet S. NF-kappaB functions in the nervous system: from development to disease. *Biochem Pharmacol*. 2006;72(9):1180-1195.
78. Vasconcelos AR, Dos Santos NB, Scavone C, Munhoz CD. Nrf2/ARE Pathway Modulation by Dietary Energy Regulation in Neurological Disorders. *Front Pharmacol*. 2019; 10:33.

79. Sun Y, Yang T, Leak RK et al. Preventive and Protective Roles of Dietary Nrf2 Activators Against Central Nervous System Diseases. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2017;16(3):326-338.
80. Sivandzade F, Prasad S, Bhalerao A, Cucullo L. NRF2 and NF- κ B interplay in cerebrovascular and neurodegenerative disorders: Molecular mechanisms and possible therapeutic approaches. *Redox Biol*. 2019;21:101059.
81. Zhou Y, Cui C, Ma X et al. Nuclear Factor κ B (NF- κ B)-Mediated Inflammation in Multiple Sclerosis. *Front Immunol*. 2020;11:391.
82. Kaltschmidt B, Kaltschmidt C. NF-kappaB in the nervous system [published correction appears in *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2(1):a001271.
83. Maqbool A, Latke M, Wirth T, Baumann B. Sustained, neuronspecific IKK/NF- κ B activation generates a selective neuroinflammatory response promoting local neurodegeneration with aging. *Mol Neurodegener*. 2013;8:40.
84. Ahn HJ, Hernandez CM, Levenson JM et al. c-Rel, an NF-kappaB family transcription factor, is required for hippocampal long-term synaptic plasticity and memory formation. *Learn Mem*. 2008;15(7):539-49.
85. Koo JW, Russo SJ, Ferguson D et al. Nuclear factor-kappaB is a critical mediator of stress-impaired neurogenesis and depressive behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(6):2669-2674.
86. Mattson MP, Meffert MK. Roles for NF-kappaB in nerve cell survival, plasticity, and disease. *Cell Death Differ*. 2006;13(5):852-860.
87. Gallo FT, Kathe C, Morici JF et al. Immediate Early Genes, Memory and Psychiatric Disorders: Focus on c-Fos, Egr1 and Arc. *Front Behav Neurosci*. 2018;12:79.
88. Teng FY, Tang BL. NF-kappaB signaling in neurite growth and neuronal survival. *Rev Neurosci*. 2010;21(4):299-313.
89. Tonelli C, Chio IIC, Tuveson DA. Transcriptional Regulation by Nrf2. *Antioxid Redox Signal*. 2018;29(17):1727-1745.

90. Соломенко ЛІ. Екологія людини. Київ: Центр учбової літератури; 2016. 120с.
91. Brown AJ, Pendergast JS, Yamazaki S. Peripheral Circadian Oscillators. *Yale J Biol Med.* 2019;92(2):327-335.
92. Гутнік ОМ, Сілкова ОВ, Хміль ДО, Костенко ВО. Вплив модуляторів циркадіанного ритму на екскреторну та натрійрегулювальну функцію нирок щурів за умов гострого десинхронозу та ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. *Український журнал нефрології та діалізу.* 2024;(2):52-61.
93. Osikov MV, Ogneva OI. Relationship between the change of ethological status and concentration of certain cytokines in blood in experimental desynchronosis under led lighting. *Patol Fiziol Eksp Ter.* 2016;60(4):93-100.
94. Challet E. Horloges circadiennes et métabolisme chez les rongeurs [Circadian clocks and energy metabolism in rodents]. *Biol Aujourd'hui.* 2014;208(4):269-74.
95. Kumar Jha P, Challet E, Kalsbeek A. Circadian rhythms in glucose and lipid metabolism in nocturnal and diurnal mammals. *Mol Cell Endocrinol.* 2015;418 Pt 1:74-88.
96. Desmet L, Thijs T, Mas R, Verbeke K, Depoortere I. Time-Restricted Feeding in Mice Prevents the Disruption of the Peripheral Circadian Clocks and Its Metabolic Impact during Chronic Jetlag. *Nutrients.* 2021;13(11):3846.
97. Witzig M, Grimm A, Schmitt K, Lejri I, Frank S, Brown SA, Eckert A. Clock-Controlled Mitochondrial Dynamics Correlates with Cyclic Pregnenolone Synthesis. *Cells.* 2020;9(10):2323.
98. Girtman KL, Baylin A, O'Brien LM, Jansen EC. Later sleep timing and social jetlag are related to increased inflammation in a population with a high proportion of OSA: findings from the Cleveland Family Study. *J Clin Sleep Med.* 2022;18(9):2179-2187.
99. Klimina KM, Batotsyrenova EG, Yunes RA, Gilyaeva EH, Poluektova EU, Kostrova TA, Kudryavtseva AV, Odorskaya MV, Kashuro VA, Kasianov AS, Ivanov MB, Danilenko VN. The effects of desynchronosis on the gut microbiota

- composition and physiological parameters of rats. *BMC Microbiol.* 2019;19(1):160.
100. Batotsyrenova EG, Bakulev SE, Nevzorova TG, Ivanov MB, Kashuro VA, Zolotoverkhaja EA, Kostrova TA, Sharabanov AV. Changes in the Biorhythms of Biochemical Parameters in Animals with Modeled Acute Desynchronosis. *Bull Exp Biol Med.* 2020;170(2):191-195.
 101. Кліщ ІМ, Безкоровайна ГО, Хара МР. Активність перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту міокарда тварин різної статті при пошкодженні адреналіном на тлі світлового десинхронозу. *Клінічна та експериментальна патологія.* 2019;4(18):30-35.
 102. Shlykova O, Izmailova O, Kabaliei A, Palchyk V, Shynkevych V, Kaidashev I. PPAR γ stimulation restored lung mRNA expression of core clock, inflammation- and metabolism-related genes disrupted by reversed feeding in male mice. *Physiol Rep.* 2023;11(17):e15823.
 103. Pariollaud M, Ibrahim LH, Irizarry E, Mello RM, Chan AB, Altman BJ, Shaw RJ, Bollong MJ, Wiseman RL, Lamia KA. Circadian disruption enhances HSF1 signaling and tumorigenesis in *Kras*-driven lung cancer. *Sci Adv.* 2022;8(39):eabo1123.
 104. 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.
 105. Sanggaard KM, Hannibal J, Fahrenkrug J. Serotonin inhibits glutamate- but not PACAP-induced per gene expression in the rat suprachiasmatic nucleus at night. *Eur J Neurosci.* 2003 Mar;17(6):1245-1252.
 106. Козаєва РС, Клименко МО., Костенко ВО. Ліпополісахаридіндукована системна запальна відповідь обтяжує розвиток окисно-нітрозативного стресу в слинних залозах щурів при їх алкогольному ураженні. *Фізіол. журн.* 2021;67(6):60-67.

107. Акімов ОО, Костенко ВО. Окислювально-нітрозативний стрес та методи його дослідження. Львів: Магнолія; 2021. 152 с.
108. Зябліцев СВ, Єльський ВМ. Синдроми травматичної хвороби при черепно-мозковій травмі. Краматорськ: Каштан; 2020. 264 с.
109. Луценко РВ. Оцінка нейротропної активності похідного 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти в тесті «відкрите поле». Вісник Вінницького національного медичного університету. 2008;(12):345-348.
110. Волкова ОА. Оксидативні механізми пошкодження клітин головного мозку при зміні циклів «світло-темрява». Актуальні проблеми сучасної медицини Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2023;23(2):17-21.
111. Волкова ОА. Вплив десинхронозу на продукцію реактивних форм азоту в тканинах головного мозку щурів. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022р.). Тернопіль: ТНМУ; 2022. С.15.
112. 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.
113. Волкова ОА. Вплив десинхронозу на інтенсивність перекисного окислення ліпідів та стан антиоксидантної системи в тканинах головного мозку щурів. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: матеріали V науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю (Харків, 17 листопада 2022р.). Харків: НФаУ; 2022. С.103-104.

114. Волкова ОА. Вплив порушення тривалості циклів «світло-темрява» на інтенсивність перекисного окислення ліпідів та стан антиоксидантної системи в тканинах головного мозку щурів за умов системної запальної відповіді. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю (Харків, 15 листопада 2023 р.). Харків: НФаУ; 2023. С.137-138.
115. Волкова ОА., Акімов ОЄ., Костенко ВО. Вплив глутамату натрію на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу у великих півкулях головного мозку щурів при поєднанні зміни циклу «світло-темрява» та системної запальної відповіді. Сучасні медичні технології. 2024;16(2):115-121. (Scopus, Q4).
116. Волкова ОА., Костенко ВО. Інтенсивність розвитку оксидативного стресу у великих півкулях головного мозку щурів за умов поєднаної дії системної запальної відповіді, зміни нормального циклу «світло-темрява» та введення флуоксетину. Проблеми екології та медицини. 2024;18(2):13-18.
117. Волкова ОА. Результат дії флуоксетину на продукцію реактивних форм азоту в тканинах головного мозку щурів за умов поєднання десинхронозу та системної запальної відповіді. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції (Тернопіль, 23-25 жовтня 2024р.). Тернопіль: ТНМУ; 2024. С.15.
118. Волкова ОА., Костенко ВО. Вплив NF-κB на інтенсивність оксидативного стресу у великих півкулях головного мозку щурів при поєднанні зміни циклу «світло-темрява» і системної запальної відповіді та введення глутамату натрію. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024;24(3):104-107.
119. Волкова ОА. Наслідки дії NF-κB на перебіг оксидативного стресу у великих півкулях головного мозку щурів при поєднанні системної запальної відповіді та зміни циклу «світло-темрява». Механізми розвитку патологічних

- процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю (Харків, 14 листопада 2024 р.). Харків: НФаУ; 2024, с.112-113.
120. Wu CY, Cilic A, Pak O, Dartsch RC, Wilhelm J, Wujak Met al. CEACAM6 as a Novel Therapeutic Target to Boost HO-1-mediated Antioxidant Defense in COPD. *Am J RespirCrit Care Med*. 2023;207(12):1576-1590.
 121. Yelins'ka AM, Akimov OYe, Kostenko VO. Role of AP-1 transcriptional factor development of oxidative and nitrosative stress in periodontal tissues during systemic inflammatory response. *UkrBiochem J*. 2019;91(1):80-5.
 122. Tewari D, Sah AN, Bawari S, Nabavi SF, Dehpour AR, Shirooie Set al. Role of Nitric Oxidein Neurodegeneration: Function, Regulation, andInhibition. *Curr Neuroparmacol*. 2021;19(2):114-126.
 123. Mehta R, Bhandari R, Kuhad A. Exploring nordihydroguareticacid (NDGA) as a plausible neurotherapeutic in the experimental paradigm of autism spectrum disorders targeting nitric oxide pathway. *MetabBrainDis*. 2021;Oct; 36(7):1833-1857. doi: 10.1007/s11011-021-00811-7.
 124. Yavtushenko IV, Kostenko VO. The influence of inducers of the transcription factor NRF2 on the development of oxidative-nitrosative stress in the tissue of the large cerebral hemispheres of rats after brain injury simulation. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports*. 2020;5(4)(26):117-123.
 125. Zhao Y, Huang Y, Fang Y, Zhao H, Shi W, Li J, Duan Y, Sun Y, Gao L, Luo Y. Chrysophanol attenuates nitrosative/oxidative stress injury in a mouse model of focal cerebral ischemia/reperfusion. *J Pharmacol Sci*. 2018;138(1):16-22.
 126. Nakamura T, Lipton SA. 'SNO'-Storms Compromise Protein Activity and Mitochondrial Metabolism in Neurodegenerative Disorders. *Trends Endocrinol Metab*. 2017;28(12):879-892.
 127. Гутнік ОМ, Костенко ВО. Вплив глютамату натрію на продукцію активних форм оксигена та нітрогену в тканинах нирок щурів за умов гострого десинхронозу та ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

- Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024;24(3):126-129.
128. Underly RG, Shih AY. Rapid, Nitric Oxide Synthesis-Dependent Activation of MMP-9 at Pericyte Somata During Capillary Ischemia in vivo. *Front Physiol.* 2021;11:619230.
 129. Abd Ghapor AA, Abdul Nasir NA, Iezhitsa I, Agarwal R, Razali N. Neuroprotection by trans-resveratrol in rats with N-methyl-D-aspartate (NMDA)-induced retinal injury: Insights into the role of adenosine A1 receptors. *Neurosci Res.* 2023;193:1-12.
 130. Yang Y, Li Y, Wang J, Hong L, Qiao S, Wang C, An J. Cholinergic receptors play a role in the cardioprotective effects of anesthetic preconditioning: Roles of nitric oxide and the CaMKK β /AMPK pathway. *ExpTherMed.* 2021;21(2):137.
 131. Filipović D, Todorović N, Bernardi RE, Gass P. Oxidative and nitrosative stress pathways in the brain of socially isolated adult male rats demonstrating depressive- and anxiety-like symptoms. *Brain Struct Funct.* 2017;222(1):1-20.
 132. Diaz-Cañestro C, Reiner MF, Bonetti NR et al. AP-1 (Activated Protein-1) Transcription Factor JunD Regulates Ischemia Reperfusion Brain Damage via IL-1 β (Interleukin-1 β). *Stroke.* 2019;50(2):469-477.
 133. Ishola IO, Olubodun-Obadun TG, Ojulari MA, Adeyemi OO. Rutin ameliorates scopolamine-induced learning and memory impairments through enhancement of antioxidant defense system and cholinergic signaling. *Drug Metab Pers Ther.* 2020:/j/dmdi.ahead-of-print/dmdi-2020-0118/dmdi-2020-0118.xml.
 134. Pawlowska E, Szczepanska J, Wisniewski K et al. NF- κ B- Mediated Inflammation in the Pathogenesis of Intracranial Aneurysm and Subarachnoid Hemorrhage. Does Autophagy Play a Role? *Int J Mol Sci.* 2018;19(4):1245.
 135. Paladino S, Conte A, Caggiano R et al. Nrf2 Pathway in Age- Related Neurological Disorders: Insights into MicroRNAs. *Cell Physiol Biochem.* 2018;47(5):1951-1976.
 136. Yang N, Yang X, Fang Y, Huang Y, Shi W, Li W et al. Nitric oxide promotes cerebral ischemia/reperfusion injury through up regulating hypoxia-inducible

- factor1- α -associated inflammation and apoptosis in rats. *NeurosciLett*. 2023;Jan 31;795:137034.
137. Schellino R, Boido M, Vercelli A. JNK Signaling Pathway Involvement in Spinal Cord Neuron Development and Death. *Cells*. 2019;8(12):1576.
 138. Onaolapo AY, Onaolapo OJ. Dietary glutamate and the brain: In the foot prints of a Jekylland Hydremolecule. *Neurotoxicology*. 2020;80:93-104.
 139. Fernstrom JD. Monosodium Glutamate in the Diet Does Not Raise Brain Glutamate Concentrations or Disrupt Brain Functions. *Ann NutrMetab*. 2018;73 Suppl 5:43-52.
 140. Ankul SS, Chandran L, Anuragh S, Kaliappan I, Rushendran R, Vellapandian C. A systematic review of the neuropathology and memory decline induced by monosodium glutamate in the Alzheimer's disease-like animal model. *Front Pharmacol*. 2023;14:1283440.
 141. Albrakati A. Monosodium glutamate induces cortical oxidative, apoptotic, and inflammatory challenges in rats: the potential neuroprotective role of apigenin. *Environ SciPollutResInt*. 2023;30(9):24143-24153.
 142. Khalaf D, Krüger M, Wehland M, Infanger M, Grimm D. The Effects of Oral l-Arginine and l-Citrulline Supplementation on Blood Pressure. *Nutrients*. 2019;11(7):1679.
 143. Максимчук НО, Коновчук ВМ. Метаболізм аргініну: перспективи клінічного використання (огляд літератури). *Буковинський медичний вісник*. 2017;1(21):205-210.
 144. Дацко ВА, Олещук ОМ, Головата ТК. Морфологічне підтвердження механізму проєктивної дії L-орнітину L-аспартату при цирозі печінки. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини*. 2021;2:54-61.
 145. Rabelo LA, Ferreira FO, Nunes-Souza V, da Fonseca LJ, Goulart MO. Arginase as a critical prooxidant mediator in the binomial endothelial dysfunction-atherosclerosis. *Oxid Med Cell longev*. 2015;2015:924860.
 146. Jiang S, Dandu C, Geng X. Clinical application of nitric oxide in ischemia and reperfusion injury: A literature review. *Brain Circ*. 2020;6(4):248-253.

147. Mys LA, Strutynska NA, Strutynskyi VR, Sagach, VF. Activation of endogenous hydrogen sulfide synthesis inhibits mitochondrial permeability transition pore opening and restores constitutive NO-synthase coupling in old rat heart. *Int J Physiol Pathophysiol*. 2018;9(1):59
148. Picón-Pagès P, Garcia-Buendia J, Muñoz FJ. Functions and dysfunctions of nitric oxide in brain. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019;1865(8):1949-1967.
149. RomanenkoYeH, Hryhorenko LV, Komskyi MP, Sribnyk PL, Sinkovska OO. Nitric oxide formation in the metabolism of nitrates in the oral cavity. *Zaporozhskyy medychnyj zhurnal*. 2019;5(21):685-690.
150. Glayciele Leandro de Albuquerque GL, Manhães-de-Castro R, Lacerda DC, Calado CMSDS, Bezerra de Moraes AT, Visco DB, Manhães-de-Castro FM, Toscano AE. Neonatal treatment with fluoxetine alters locomotor activity and the cortical glial/neuron index in rats with cerebral palsy. *Can J Physiol Pharmacol*. 2023;101(7):327-339.
151. Golub MS, Hackett EP, Hogrefe CE, Leranth C, Elsworth JD, Roth RH. Cognitive performance of juvenile monkeys after chronic fluoxetine treatment. *Dev Cogn Neurosci*. 2017;26:52-61.
152. García-García ML, Tovilla-Zárate CA, Villar-Soto M, Juárez-Rojop IE, González-Castro TB, Genis-Mendoza AD, Ramos-Méndez MÁ, López-Nárvaez ML, Saucedo-Osti AS, Ruiz-Quinones JA, Martinez-Magaña JJ. Fluoxetine modulates the pro-inflammatory process of IL-6, IL-1 β and TNF- α levels in individuals with depression: a systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Res*. 2022;307:114317.
153. Chirokikh AA, Uddin SMZ, Areikat N, Jones R, Duque E, Connor C, Hadjiargyrou M, Thanos PK, Komatsu DE. Combined methylphenidate and fluoxetine treatment in adolescent rats significantly impairs weight gain with minimal effects on skeletal development. *Bone*. 2023;167:116637.
154. Lam RW, Wong HK, Kumarsing RA, Chua AN, Ho RC, McIntyre RS, Ho CS. Fluoxetine improves bone microarchitecture and mechanical properties in rodents

- undergoing chronic mild stress - an animal model of depression. *Transl Psychiatry*. 2022;12(1):339.
155. Över SB, Güven C, Taskin E, Sevgiler Y. Oxidative and apoptotic effects of fluoxetine and its metabolite norfluoxetine in *Daphnia magna*. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2020;71(3):211-222.
 156. Deodhar M, Rihani SBA, Darakjian L, Turgeon J, Michaud V. Assessing the Mechanism of Fluoxetine-Mediated CYP2D6 Inhibition. *Pharmaceutics*. 2021;13(2):148.
 157. García-Domingo M, García-Pedraza JÁ, Fernández-González JF, López C, Martín ML, Morán A. Fluoxetine Treatment Decreases Cardiac Vagal Input and Alters the Serotonergic Modulation of the Parasympathetic Outflow in Diabetic Rats. *Int J Mol Sci*. 2022;23(10):5736.
 158. Микитенко А, Акімов О, Єрошенко Г, Непорада К. Зміни морфометричних показників судин печінки щурів за умов тривалої дії етанолу. *ЕКМ [інтернет]*. 30, Червень 2024 [цит. за 02, Квітень 2025]; 93(2):19-6. доступний у: <https://ecm.knmu.edu.ua/article/view/10.35339.ekm.2024.93.2.may>.
 159. Vena AA, Zandy SL, Cofresí RU, Gonzales RA. Behavioral, neurobiological, and neurochemical mechanisms of ethanol self-administration: A translational review. *Pharmacol Ther*. 2020;212:107573.
 160. Robledinos-Antón N, Fernández-Ginés R, Manda G, Cuadrado A. Activators and Inhibitors of NRF2: A Review of Their Potential for Clinical Development. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:9372182.
 161. Qin JD, Cao ZH, Li XF, Kang XL, Xue Y, Li YL, Zhang D, Liu XY, Xue YZ. Effect of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) on NF-κB activation and CYP2E1 content of rats with immunological liver injury. *Pharm Biol*. 2014;52(11):1460-6.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор

Чорноморського національного

університету імені Петра Могили,

д.і.н., професор

Юрій КОТЛЯР

« 28 » 2023 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: Вплив порушення циклів «світло-темрява» на інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів в півкулях головного мозку за умов відтворення моделі гострого десинхронозу.

2. Установа-розробник: Полтавський державний медичний університет, кафедра патофізіології, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36000. Аспірантка Волкова Оксана Анатоліївна.

3. Джерело інформації:

Волкова О.А. Оксидативні механізми пошкодження клітин головного мозку щурів при зміні тривалості циклів «світло-темрява». Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2023;23(2.2):17-21. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.23.2.2.17>

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

5. Термін впровадження: вересень-грудень 2023 р.

6. Форма впровадження: матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – на практичних заняттях з курсу патофізіології (за темами «Запалення» та «Патофізіологія нервової системи»).

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

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Тернопільського національного
медичного університету
імені І.Я.Горбачевського
д.біол.н., професор

Іван КЛІЩ

« 15 »

2025 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція для впровадження:** Вплив глутамату натрію на інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів та розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в півкулях головного мозку за умов відтворення моделі поєднання системної запальної відповіді та гострого десинхронозу.
- 2. Заклад, де проведена розробка, автори:** Полтавський державний медичний університет, кафедра патофізіології, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36000. Аспірантка Волкова Оксана Анатоліївна.
- 3. Джерело інформації:**
Волкова О.А., Акімов О.Є., Костенко В.О. Вплив глутамату натрію на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу у великих півкулях головного мозку щурів при поєднанні зміни циклу «світло-темрява» та системної запальної відповіді. Сучасні медичні технології. 2024; 2:115-121. Doi:10.14739/mmt.2024.2.300688.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.Горбачевського, майдан Волі, 1, Тернопіль, Тернопільська область, 46001, кафедра патологічної фізіології.
- 5. Термін впровадження:** червень - грудень 2024 р.
- 6. Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри на практичних заняттях з курсу патофізіології (за темами «Патологія клітини», «Патогенна дія екзогенних чинників» та «Патофізіологія нервової системи»).
- 7. Ефективність впровадження:** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі сприяє розширенню знань про причини та механізми пошкодження клітин і розвитку порушень нервової системи.
- 8. Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

завідувачка кафедри патологічної
фізіології Тернопільського
національного медичного
університету імені І.Я.Горбачевського,
доктор мед. наук, професор

Ольга ДЕНЕФІЛЬ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

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

Валентин Дворник



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва впровадження: Глутаматергічні механізми розвитку гострого десинхронозу та ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

2. Установа-розробник, автор: Полтавський державний медичний університет МОЗ України, кафедра патофізіології, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36000. Аспіранти Гутнік Олександр Михайлович, Волкова Оксана Анатоліївна.

3. Джерело інформації:

Гутнік О.М., Костенко В.О. Вплив глутамату натрію на продукцію активних форм оксигена та нітрогену в тканинах нирок щурів за умов гострого десинхронозу та ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024; 24(3): 108-112. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.24.3.108>.

Волкова О.А., Акімов О.Є., Костенко В.О. Вплив глутамату натрію на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу у великих півкулях головного мозку щурів при поєднанні зміни циклу «світло-темрява» та системної запальної відповіді. Сучасні медичні технології. 2024; 2:115-121. Doi:10.14739/mmt.2024.2.300688.

Гутнік ОМ, Волкова ОА, Костенко ВО, Міщенко АВ, Акімов ОЄ, Костенко ВГ. Технологія експериментального моделювання гострого десинхронозу. Реєстраційна картка технології (РТК): державний реєстраційний № 0624U000094.

4. Де впроваджено: на кафедра патофізіології Полтавського державного медичного університету.

5. Терміни впровадження: жовтень - грудень 2024 р.

6. Результати впровадження: використання результатів наукових досліджень Гутніка Олександра Михайловича, Волкової Оксани Анатоліївни в навчальному процесі дозволяє розширити знання здобувачів вищої освіти про роль глутаматергічних механізмів розвитку гострого десинхронозу та ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

7. Зауваження та пропозиції: немає.

8. Обговорено на засіданні кафедри 7 січня 2025 р., протокол № 10.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри патофізіології
Полтавського державного
медичного університету,
д.мед.н., професор

Віталій Костенко