

Міністерство охорони здоров'я України  
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

Романцева Тамара Олександрівна

УДК 617.764.1:616-008-06-07

## ДИСЕРТАЦІЯ

МЕТАБОЛІЧНІ РОЗЛАДИ СЛЬОЗОВИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ  
ФОРМУВАННЯ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ ТА ЇХ  
КОРЕКЦІЯ МОДУЛЯТОРАМИ СПЕЦИФІЧНИХ ФАКТОРІВ  
ТРАНСКРИПЦІЇ

222 Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне  
джерело \_\_\_\_\_ Т.О. Романцева

Науковий керівник

Костенко Віталій Олександрович  
доктор медичних наук, професор

Полтава – 2026

## АНОТАЦІЯ

*Романцева Т.О.* Метаболічні розлади сльозових залоз за умов формування системної запальної відповіді та їх корекція модуляторами специфічних факторів транскрипції. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина». – Полтавський державний медичний університет МОЗ України, Полтава, 2026; Полтавський державний медичний університет МОЗ України, Полтава, 2026.

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і розв'язання наукового завдання, що полягає у з'ясуванні закономірностей впливу специфічних і природних модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції (інгібіторів NF- $\kappa$ B та індукторів сигнального шляху Nrf2 – антиоксидант респонсивний елемент) у патогенезі метаболічних розладів сльозових залоз щурів за умов відтворення ліпополісахарид (ЛПС)-індукованої системної запальної відповіді (СЗВ).

Експерименти виконані на 42 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 220-250 г. Використовували експериментальні, біохімічні, та математико-статистичні методи дослідження.

Виявлено, що внутрішньоочеревинне введення ліпополісахариду *Salmonella typhi* щурам викликає розвиток системної запальної відповіді, що підтверджується підвищенням вмісту церулоплазміну в сироватці крові на 66.8% ( $P < 0.001$ ) та зростанням концентрації вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактивів) на 113% ( $P < 0.001$ ). Після інкубації в прооксидантному середовищі вміст ТБК-реактивів та їх приріст збільшилися на 111% ( $P < 0.001$ ), що свідчить про виражене зниження антиоксидантного потенціалу крові та зростання прооксидантного навантаження. У сироватці крові також відзначається зростання загальної активності NO-синтази на 208% ( $P < 0.001$ ), головним

чином за рахунок індуцибельної ізоформи (збільшення на 214%,  $P < 0.001$ ), тоді як аргіназна активність знижувалася на 37.8% ( $P < 0.01$ ), що свідчить про домінування прозапального шляху метаболізму L-аргініну.

У тканинах слюзових залоз щурів на тлі ЛПС-індукованої СЗВ спостерігалось підвищення загального фонового генерування супероксидного аніон-радикала на 75.2% ( $P < 0.001$ ), зокрема за рахунок зростання його продукції NADPH-залежними мікосомальними монооксигеназами (на 64.6%,  $P < 0.001$ ), мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом (на 70.3%,  $P < 0.001$ ) та NADPH-оксидазою лейкоцитів (на 131% ( $P < 0.001$ )). Загальна активність NO-синтази в гомогенаті слюзових залоз зростала на 87.5% ( $P < 0.001$ ), причому індуцибельна ізоформа збільшувалась на 101% ( $P < 0.001$ )), тоді як активність конститутивної ізоформи знижувалась на 56.9% ( $P < 0.001$ ), а її індекс спряження – на 73.6% ( $P < 0.001$ ). Також встановлено зниження активності орнітиндекарбоксилази на 39,6% ( $P < 0.05$ ), зростання концентрації пероксинітритів на 211% ( $P < 0.001$ ) та S-нітрозотіолів на 23.4% ( $P < 0.001$ ).

Введення специфічних модуляторів редоксчутливих факторів транскрипції – інгібітора активації NF- $\kappa$ B піролідіндитіокарбамату амонію та індуктора сигнального шляху Nrf2 – антиоксидант респонсивний елемент диметилфумарату – на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді суттєво обмежує показники останньої: достовірно знижує вміст церулоплазміну в сироватці крові тварин на 30.9 і 32.4% ( $P < 0.001$ ) відповідно, інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів (при зростанні антиоксидантного потенціалу) у крові тварин, загальну активність NO-синтази в сироватці крові щурів на 58.8% ( $P < 0.001$ ), насамперед за рахунок пригнічення індуцибельної ізоформи ферменту. Водночас у сироватці крові підвищувалася аргіназна активність – на 34.8% ( $P < 0.001$ ) під дією піролідіндитіокарбамату амонію та на 39.1% ( $P < 0.001$ ) під дією диметилфумарату.

Піролідиндитіокарбамат амонію та диметилфумарат ефективно коригують індуковані системною запальною відповіддю порушення у сльозових залозах, достовірно знижуючи загальний фон продукції супероксидного аніон-радикала (на 39.4 і 34.8% відповідно,  $P < 0.001$ ), активність індукбельної NO-синтази (на 36.6 і 23.6%,  $P < 0.001$ ), а також вміст пероксинітритів (на 62.0 і 62.8%,  $P < 0.001$ ) та низькомолекулярних S-нітрозотіолів (на 16.8%,  $P < 0.001$ , і 10.5%,  $P < 0.05$ ). Обидві сполуки підвищують спряженість конститутивної ізоформи NO-синтази, сприяють відновленню активності орнітиндекарбоксилази у тканинах сльозових залоз.

Введення природних модуляторів факторів транскрипції NF- $\kappa$ B і Nrf2 кверцетину і сульфорафану щурам із ліпополісахарид-індукованою системною запальною відповіддю вірогідно знижує вміст церулоплазміну в сироватці крові тварин на 29.3 і 29.7% ( $P < 0.001$ ) відповідно, інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів (при зростанні антиоксидантного потенціалу) у крові тварин, сприяє відновленню активності ферментів метаболізму L-аргініну у сльозових залозах. Обидві сполуки знижували загальну активність NO-синтази переважно за рахунок інгібування індукбельної ізоформи: активність iNOS у тканинах зменшувалась на 49.7% ( $P < 0.001$ ) при введенні кверцетину та на 46.4% ( $P < 0.001$ ) при введенні сульфорафану.

Кверцетин і сульфорафан сприяють зменшенню оксидативно-нітрозативного стресу у сльозових залозах щурів із СЗВ. Так, загальний фон продукції супероксидного аніон-радикала зменшувався на 44.4 і 31.3% відповідно ( $P < 0.001$ ), активність індукбельної NO-синтази (на 40.5 і 33.7%,  $P < 0.001$ ), а також вміст пероксинітритів (на 65.4 і 60.1%,  $P < 0.001$ ) та S-нітрозотіолів (на 16.8%,  $P < 0.01$ , і 13.7%,  $P < 0.05$ ). Окрім того, обидві сполуки забезпечували зростання активності орнітиндекарбоксилази у тканинах сльозових залоз: на 36.5% ( $P < 0.05$ ) під дією кверцетину та на 58.9% ( $P < 0.02$ ) під дією сульфорафану, що свідчить про активацію

проліферативного напрямку метаболізму L-аргініну й поліпшення трофіки тканин. Обидві сполуки підвищують спряженість конститутивної ізоформи NO-синтази у тканинах слъзових залоз.

Диметилфумарат і сульфорафан, як індуктори Nrf2, не лише пригнічують індукцибельну NO-синтазу, але й активують конститутивну ізоформу цього ферменту у слъзових залозах щурів із СЗВ, що свідчить про ширший відновлювальний потенціал цих сполук.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше встановлено, що внутрішньоочеревинне введення ліпополісахариду *Salmonella typhi* щурам призводить до розвитку метаболічних ушкоджень у слъзових залозах, які супроводжуються активацією індукцибельної NO-синтази, пригніченням аргіназного та орнітиндекарбоксілазного шляху обміну L-аргініну, підвищенням утворенням активних форм кисню та нітрогену та порушенням антиоксидантного потенціалу. Отримані дані дістали подальшого розвитку завдяки вивченню ролі редоксчутливих факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 у регуляції цих порушень.

Уперше показано, що як специфічні (піролідиндитіокарбамат амонію та диметилфумарат), так і природні (кверцетин та сульфорафан) модулятори транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 виявляють потенціал до відновлення метаболізму L-аргініну та зменшення проявів оксидативно-нітрозативного стресу у слъзових залозах при системній запальній відповіді.

Вперше доведено, що ці сполуки ефективно знижують надмірне утворення супероксидного аніон-радикала, пероксинітритів, S-нітрозотіолів, сприяють відновленню активності орнітиндекарбоксілази та спряженості cNOS.

Показано, що диметилфумарат і сульфорафан, як індуктори Nrf2, не лише пригнічують у слъзових залозах щурів із СЗВ індукцибельну NO-синтазу, але й активують у них конститутивну ізоформу цього ферменту, що свідчить про ширший відновлювальний потенціал цих сполук.

**Практичне значення одержаних результатів.** Одержані результати розширюють уявлення про патогенетичні механізми метаболічних порушень у слъзових залозах за умов СЗВ, зокрема через дисбаланс між прооксидантними системами та метаболізмом L-аргініну.

Результати дослідження можуть бути використані як експериментальне обґрунтування для подальшої розробки нових напрямів фармакотерапії запальних ушкоджень екзокринних залоз, зокрема з метою зменшення проявів оксидативно-нітрозативного стресу. Дані щодо впливу природних сполук відкривають перспективи для створення профілактичних і терапевтичних засобів на основі флавоноїдів і ізотіоціанатів для застосування при патології, що супроводжується СЗВ і редокс-дисбалансом.

Одержано реєстраційну картку технології (РКТ) «Технологія експериментального моделювання системної запальної відповіді» (державний реєстраційний № 0625U000025).

**Ключові слова:** слъзові залози, око, запалення, ліпополісахарид, транскрипційні фактори NF-κB і Nrf2, окисно-нітрозативний стрес, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, оксид азоту, нітрит-іони, NO-синтаза, піролідиндитіокарбамат амонію, кверцетин (корвітин), сульфорафан, щури.

## SUMMARY

Romantseva T.O. Metabolic disorders of the lacrimal glands under conditions of systemic inflammatory response formation and their correction by modulators of specific transcription factors. – Qualification scientific work (manuscript).

Dissertation for a Doctor of Philosophy Degree, Specialty “Medicine”. – Poltava State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Poltava, 2026; Poltava State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Poltava, 2026.

The dissertation presents a theoretical generalization and solution to a scientific problem aimed at elucidating the patterns of influence exerted by specific and natural modulators of redox-sensitive transcription factors, namely, NF- $\kappa$ B inhibitors and Nrf2–ARE (antioxidant response element) pathway inducers, in the pathogenesis of metabolic disorders of the lacrimal glands in rats under conditions of lipopolysaccharide (LPS)-induced systemic inflammatory response (SIR).

Experiments were conducted on 42 male Wistar rats weighing 220–250 g. Experimental, biochemical, and mathematical-statistical research methods were applied.

The study found that intraperitoneal administration of *Salmonella typhi* lipopolysaccharide to rats induced the development of a systemic inflammatory response, as evidenced by a 66.8% increase in serum ceruloplasmin level ( $P < 0.001$ ) and a 113% increase in lipid peroxidation secondary products, specifically thiobarbituric acid–reactive substances (TBA-RS) ( $P < 0.001$ ).

After incubation in a pro-oxidant medium, the TBARS content and their increment increased by 111% ( $P < 0.001$ ), which indicates a marked reduction in the antioxidant potential of the blood and an increase in pro-oxidant load. In serum, total NO-synthase activity also elevated by 208% ( $P < 0.001$ ), mainly due to the inducible isoform (increase by 214%,  $P < 0.001$ ), whereas arginase activity lowered by 37.8% ( $P < 0.01$ ), indicating dominance of the pro-inflammatory L-arginine metabolic pathway.

In the lacrimal gland tissues of rats under conditions of LPS-induced systemic inflammatory response (SIR), a 75.2% increase in basal superoxide anion radical generation was observed ( $P < 0.001$ ). This increase was primarily attributed to enhanced activity of NADPH-dependent microsomal reductases (64.6%,  $P < 0.001$ ), the mitochondrial electron transport chain (70.3%,  $P < 0.001$ ), and leukocyte NADPH oxidase (131%,  $P < 0.001$ ). Total NO-synthase activity in lacrimal gland homogenates increased by 87.5% ( $P < 0.001$ ), with inducible NOS activity rising by 101% ( $P < 0.001$ ), whereas constitutive isoform activity decreased by 56.9% ( $P < 0.001$ ), and its coupling index declined by 73.6% ( $P < 0.001$ ). In addition, a 39.6% reduction in ornithine decarboxylase activity was observed ( $P < 0.05$ ), along with a 211% increase in peroxynitrite level ( $P < 0.001$ ) and a 23.4% increase in S-nitrosothiol content ( $P < 0.001$ ).

Administration of specific modulators of redox-sensitive transcription factors, namely, the NF- $\kappa$ B activation inhibitor ammonium pyrrolidine dithiocarbamate and the inducer of the Nrf2 signaling pathway (antioxidant response element) dimethyl fumarate, under conditions of lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response significantly attenuated its manifestations. Specifically, serum ceruloplasmin levels in animals were significantly reduced by 30.9% and 32.4%, respectively ( $P < 0.001$ ), along with a decrease in the intensity of lipid peroxidation (accompanied by an increase in antioxidant potential) in the blood. In addition, total nitric oxide synthase activity in rat serum decreased by 58.8% ( $P < 0.001$ ), primarily due to suppression of the inducible isoform of the enzyme. At the same time, serum arginase activity increased by 34.8% ( $P < 0.001$ ) following administration of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate and by 39.1% ( $P < 0.001$ ) following dimethyl fumarate treatment.

Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate and dimethyl fumarate effectively correct the disturbances in the lacrimal glands induced by systemic inflammatory response, significantly reducing total background superoxide

anion radical production (by 39.4% and 34.8% respectively,  $P < 0.001$ ), inducible NO-synthase activity (by 36.6% and 23.6% respectively,  $P < 0.001$ ), as well as peroxy-nitrite content (by 62.0% and 62.8% respectively,  $P < 0.001$ ) and low-molecular S-nitrosothiol levels (by 16.8%,  $P < 0.001$ , and 10.5%,  $P < 0.05$ ). Both compounds increased coupling of the constitutive NO-synthase isoform, promoted recovery of ornithine decarboxylase activity in the lacrimal gland tissues.

Administration of the natural modulators of the NF- $\kappa$ B and Nrf2 transcription factors, quercetin and sulforaphane, to rats with lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response significantly reduced serum ceruloplasmin levels by 29.3% and 29.7%, respectively ( $P < 0.001$ ), as well as the intensity of lipid peroxidation in the blood, accompanied by an increase in antioxidant potential, and promoted restoration of the activity of L-arginine metabolism enzymes in the lacrimal glands. Both compounds reduced total nitric oxide synthase activity predominantly through inhibition of the inducible isoform: iNOS activity in tissues was reduced by 49.7% ( $P < 0.001$ ) following quercetin administration and by 46.4% ( $P < 0.001$ ) following sulforaphane administration.

Quercetin and sulforaphane contributed to the reduction of oxidative–nitrosative stress in the lacrimal glands of rats with SIR. Specifically, basal superoxide anion radical production decreased by 44.4% and 31.3% respectively ( $P < 0.001$ ), inducible NO-synthase activity by 40.5% and 33.7% respectively ( $P < 0.001$ ), as well as peroxy-nitrite content by 65.4% and 60.1% respectively ( $P < 0.001$ ), and S-nitrosothiol levels by 16.8% ( $P < 0.01$ ) and 13.7% ( $P < 0.05$ ) respectively. Moreover, both compounds ensured an increase in ornithine decarboxylase activity in the lacrimal gland tissues: by 36.5% ( $P < 0.05$ ) under quercetin and by 58.9% ( $P < 0.02$ ) under sulforaphane, which indicates activation of the proliferative branch of L-arginine metabolism and improvement of tissue trophism. Both compounds increased the coupling of the constitutive NO-synthase isoform in the lacrimal gland tissues.

Dimethyl fumarate and sulforaphane, as Nrf2 inducers, not only suppressed inducible NO-synthase, but also activated the constitutive isoform of this enzyme, which indicates their broader restorative potential.

***Scientific novelty of the obtained results.*** This study is the first to have established that intraperitoneal administration of *Salmonella typhi* lipopolysaccharide to rats leads to metabolic damages in the lacrimal glands, which are accompanied by activation of inducible NO-synthase, suppression of the arginase and ornithine decarboxylase pathways of L-arginine metabolism, increased generation of reactive oxygen and nitrogen species, and impaired antioxidant potential. The obtained data were further developed through the investigation of the role of redox-sensitive transcription factors NF- $\kappa$ B and Nrf2 in regulation of these disturbances.

For the first time, it has been shown both specific (ammonium pyrrolidinedithiocarbamate and dimethyl fumarate) and natural (quercetin and sulforaphane) modulators of NF- $\kappa$ B and Nrf2 transcription factors exhibit potential to restore L-arginine metabolism and reduce manifestations of oxidative–nitrosative stress in the lacrimal glands during systemic inflammatory response.

For the first time, this study has revealed that these compounds effectively reduce excessive production of superoxide anion radicals, peroxynitrites, and S-nitrosothiols, and promote restoration of ornithine decarboxylase activity and cNOS coupling. It has been shown that dimethyl fumarate and sulforaphane as Nrf2 inducers not only inhibit iNOS but also activate the constitutive isoform, indicating their broader restorative potential.

***Practical significance of the obtained results.*** The obtained results expand current understanding of the pathogenetic mechanisms underlying metabolic disturbances in the lacrimal glands under conditions of systemic inflammatory response (SIR), particularly those associated with an imbalance between pro-oxidant systems and L-arginine metabolism. The findings may serve as an experimental basis for the further development of new

pharmacotherapeutic approaches to the treatment of inflammatory damage to exocrine glands, specifically aimed at reducing manifestations of oxidative and nitrosative stress. Data on the effects of natural compounds open prospects for the development of preventive and therapeutic agents based on flavonoids and isothiocyanates for use in pathologies accompanied by systemic inflammatory response and redox imbalance.

A technology registration card (TRC) “Technology for experimental modeling of systemic inflammatory response” (state registration № 0625U000025) was obtained.

**Keywords:** lacrimal glands, eye, inflammation, lipopolysaccharide, transcription factors NF- $\kappa$ B and Nrf2, oxidative-nitrosative stress, lipid peroxidation, antioxidant system, nitric oxide, nitrite ions, NO synthase, ammonium pyrrolidinedithiocarbamate, quercetin (Corvitin), sulforaphane, rats.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

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

1. Романцева ТО, Костенко ВО. Кверцетин як коректор оксидативних порушень у тканинах слъзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024; 24(4):223-228. doi: 10.31718/2077-1096.24.4.223 *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Костенко В.О. здійснював загальне керівництво дослідженням).*

2. Романцева ТО, Костенко ВО. Вплив модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах слъзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2025;25(1):134-139. doi: 10.31718/2077-1096.25.1.134 *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Костенко В.О. здійснював загальне керівництво дослідженням).*

3. Романцева ТО, Костенко ВО. Вплив сульфорафану на показники оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах слъзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Фізіол. журн. 2025; 71(6): 21-29. doi: 10.15407/fz71.06.02 *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Костенко В.О. здійснював загальне керівництво дослідженням).*

*2) які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

4. 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. (Безпосередньо дисертанткою проаналізовано результати щодо закономірностей функціонально-метаболических розладів слъзових залоз за умов розвитку ЛПС-індукованої СЗВ).

5. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко ММ, Гутнік ОМ, Назаренко СМ, Нестуля КІ, Таран ОВ, Романцева ТО, Моргун ЄО. Модуляція редокс-чутливих транскрипційних факторів поліфенолами як засіб патогенетичної терапії системної запальної відповіді. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.). Тернопіль; 2022. С. 33. (Безпосередньо здобувачкою представлено результати щодо впливу кверцетину на метаболическі розлади слъзових залоз за умов розвитку ЛПС-індукованої СЗВ).

6. Костенко ВО, Рябушко РМ, Адамович ІМ, Гутнік ОМ, Моргун ЄО, Романцева ТО. Фенотипи системної запальної відповіді: спільні риси, унікальні особливості, експериментальне моделювання. XXIII читання В.В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (16-17 травня 2024 р.). Одеса: УкрНДІ медицини транспорту; 2024. С. 62-63. (Безпосередньо дисертанткою проаналізовано результати щодо закономірностей розвитку метаболических розладів слъзових залоз за умов розвитку ЛПС-індукованої СЗВ).

7. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко РМ, Адамович ІМ, Моргун ЄО, Романцева ТО. Редокс-чутливі фактори транскрипції як перспективні

мішені експериментальної терапії патології, асоційованої з системною запальною відповіддю. Патологічна фізіологія охорони здоров'я України: тези доп. IX Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю, присвяченого 100-річчю Української патологічної фізіології (Івано-Франківськ, 19-21 вересня 2024 р.). Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет; 2024. С. 122-124. (Безпосередньо здобувачкою представлено результати щодо впливу модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції на запальні та нітрозильні порушення слъзових залоз за умов ЛПС-індукованої СЗВ).

8. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко РМ, Адамович ІМ, Моргун ЄО, Романцева ТО. Системна запальна відповідь: інноваційні підходи до патогенетичної терапії. Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» (Полтава, 30-31 жовтня 2024 р.): збірка тез та статей. Полтава; 2024. С.93-94. (Безпосередньо здобувачкою представлено результати щодо закономірностей дії модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції як засобів патогенетичної терапії функціонально-метаболических розладів слъзових залоз за умов розвитку ЛПС-індукованої СЗВ).

9. Романцева ТО. Сульфорафан як модулятор нітрооксидативного стресу у слъзових залозах при системному запаленні. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: матеріали VII науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (Харків, 15 травня 2025 року). Харків: Вид-во НФаУ; 2025. С. 252.

10. Романцева ТО. Сульфорафан – потенційний засіб корекції NF-κВ-опосередкованих механізмів оксидативно-нітрозативного ушкодження слъзових залоз за умов системної запальної відповіді. Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини: матеріали наук.-

практ. інтернет-конференції з міжнародною участю (м. Полтава, 23-24 жовтня 2025 р.). Полтава: ПДМУ; 2025. С.317-318.

*3) які додатково відображають наукові результати дисертації:*

11. Kostenko V, Akimov O, Gutnik O, Kostenko H, Kostenko V, Romantseva T, Morhun Y, Nazarenko S, Taran O. Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response. *Heliyon*. 2023 Apr 16;9(5):e15551. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e15551. **(Scopus, Q1)** (Безпосередньо дисертанткою проаналізовано результати щодо перспектив застосування модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції як засобів патогенетичної терапії пошкодження екзокринних залоз за умов формування низькоінтенсивного фенотипу СЗВ).

12. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Гутнік ОМ, Романцева Т.О., Моргун Є.О. Технологія експериментального моделювання системної запальної відповіді. Реєстраційна картка технології (РКТ): державний реєстраційний № 0625U000025. (Дисертанткою експериментально апробовано зазначену модель СЗВ у щурів, обґрунтовано доцільність її використання для вивчення патогенезу системних та органних проявів цієї патології, а також для оцінки ефективності засобів її корекції; розроблена модель слугувала експериментальною платформою для виконання наукового дослідження здобувачки).

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	19
ВСТУП	21
РОЗДІЛ 1. МЕХАНІЗМИ ПАТОГЕННОЇ ДІЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ НА МЕТАБОЛІЗМ І ФУНКЦІЇ СЛЬОЗОВИХ ЗАЛОЗ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	29
1.1. Системна запальна відповідь: етіологія, патогенез, вплив на метаболізм і функції сльозових залоз ссавців	29
1.2. Роль транскрипційних факторів у механізмах системної запальної відповіді та ушкодження сльозових залоз	39
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	49
2.1. Експериментальний розподіл лабораторних тварин	49
2.2. Біоетичні, правові та метрологічні аспекти дослідження	51
2.3. Методика відтворення експериментальних моделей	52
2.4. Введення специфічних і природних модуляторів факторів транскрипції	52
2.5. Біохімічні методи дослідження	53
2.6. Статистична обробка результатів експерименту	56
РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ ВНУТРІШНЬООЧЕРЕВИННОГО ВВЕДЕННЯ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ <i>S. TYPHI</i> НА ПОКАЗНИКИ ЗАПАЛЕННЯ ТА ОКСИДАТИВНОГО МЕТАБОЛІЗМУ В КРОВІ ТА СЛЬОЗОВИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ	58
3.1. Вплив внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду <i>S. typhi</i> на показники системної запальної відповіді в крові щурів	58
3.2. Вплив внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду <i>S. typhi</i> на показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в крові щурів	63

3.3. Вплив внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду <i>S. typhi</i> на джерела продукції супероксидного аніон-радикала в слъзових залозах щурів	66
3.4. Вплив внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду <i>S. typhi</i> на показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в слъзових залозах щурів	70
3.5. Вплив внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду <i>S. typhi</i> на концентрацію активних форм нітрогену в слъзових залозах щурів	74
РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ СПЕЦИФІЧНИХ МОДУЛЯТОРІВ ФАКТОРІВ ТРАНСКРИПЦІЇ NF-κB І NRF2 НА ПОКАЗНИКИ ЗАПАЛЕННЯ ТА ОКСИДАТИВНОГО МЕТАБОЛІЗМУ В КРОВІ ТА СЛЪЗОВИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВНУТРІШНЬООЧЕРЕВИННОГО ВВЕДЕННЯ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ <i>S. TYPHI</i>	77
4.1. Вплив специфічних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники системної запальної відповіді в крові щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	77
4.2. Вплив специфічних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в крові щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	83
4.3. Вплив специфічних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на джерела продукції супероксидного аніон-радикала в слъзових залозах щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	88
4.4. Вплив специфічних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в слъзових залозах щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	93
4.5. Вплив специфічних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на концентрацію активних форм нітрогену в слъзових залозах щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	98

РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ ПРИРОДНИХ МОДУЛЯТОРІВ ФАКТОРІВ ТРАНСКРИПЦІЇ NF-κB І NRF2 НА ПОКАЗНИКИ ЗАПАЛЕННЯ ТА ОКСИДАТИВНОГО МЕТАБОЛІЗМУ В КРОВІ ТА СЛЬОЗОВИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВНУТРІШНЬООЧЕРЕВИННОГО ВВЕДЕННЯ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ S. ТУРНІ	102
5.1. Вплив природних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники системної запальної відповіді в крові щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	102
5.2. Вплив природних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в крові щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	108
5.3. Вплив природних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на джерела продукції супероксидного аніон-радикала в слюзових залозах щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	112
5.4. Вплив природних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в слюзових залозах щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	118
5.5. Вплив природних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на концентрацію активних форм нітрогену в слюзових залозах щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	123
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	126
ВИСНОВКИ	153
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	157
ДОДАТКИ	192

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АФН – активні форми нітрогену

АФО – активні форми кисигену

ВІСЗФ – високоінтенсивний системний запальний фенотип

ЛПС – ліпополісахарид

НІСЗФ – низькоінтенсивний системний запальний фенотип

ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів

СЗВ – системна запальна відповідь

ТБК – тіобарбітурова кислота

AGEs – кінцеві продукти глікації (англ. Advanced Glycation End Products)

ARE – антиоксидант-респонсивний елемент (англ. Antioxidant Response Element)

JAK/STAT – сигнальний шлях (англ. Janus kinase/signal transducer and activator of transcription)

IFN – інтерферон

ІКК – ІкВ-кіназний комплекс (англ. ІкВ-kinase complex)

ІЛ – інтерлейкін

МАРК – мітоген-активована протеїнкіназа (англ. Mitogen-activated protein kinase)

NADH – нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений

NADPH – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений

NF-κB – транскрипційний ядерний фактор κB (англ. Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)

NOS (cNOS, iNOS) – синтази нітроген монооксиду (конститутивні та індукцибельна ізоформи)

Nrf2 – транскрипційний фактор (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2)

RAGE – рецептор до AGEs (англ. Receptor for Advanced Glycation End Products)

SIRS – синдром системної запальної відповіді (Systemic inflammatory response syndrome)

Sirt – сіртуїн

STAT – сигнальний білок і активатор транскрипції (Signal transducer and activator of transcription)

TFs – транскрипційні фактори

TLR – Toll-подібний рецептор

TNF – фактор некрозу пухлини

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Сльозова залоза є основним джерелом водного шару слъозової плівки, що живить та захищає поверхню ока. Зменшення або відсутність секреції слъозових залоз є основною причиною синдрому сухого ока, що розглядається як запальний розлад, який вражає поверхню ока та слъозову залозу. У деяких патологічних випадках слъозова залоза може стати мішенню імунної системи та виявляти ознаки запалення [281].

Механізми, що призводять до дисфункції слъозової залози, ще недостатньо вивчені. Апоптоз, вироблення автоантитіл, гормональний дисбаланс, зміни в сигнальних молекулах, нейронна дисфункція та підвищення рівня прозапальних цитокінів були запропоновані як можливі медіатори недостатності слъозових залоз при різних захворюваннях.

Постійно розширюється список хвороб внутрішніх органів та обміну речовин, які мають тісний зв'язок з патологією слъозових залоз і розвитком синдрому сухого ока (особливе місце серед них займає метаболічний синдром, цукровий діабет 2-го типу, синдром системної запальної відповіді – SIRS) [202, 213, 236]. Більшість із цих хвороб містить системну запальну відповідь (СЗВ) як провідну ланку патогенезу [170, 274].

Оскільки розвиток SIRS нерідко супроводжує травматичні та опікові ураження військового часу, профілактика та своєчасне лікування патогенетично пов'язаних з ним розладів слъозових залоз та ксерофтальмії має особливе значення для реабілітації поранених та їх повернення у зону бойових дій [110].

Примітно, що дисфункція слъозових залоз та розвиток синдрому сухого ока нерідко діагностуються у ветеранів, які страждають на

посттравматичний стресовий розлад [83, 91, 92], розвиток якого, за сучасними уявленнями, також асоційований з СЗВ [188, 230].

Останнім часом показано, що розвиток окисно-нітрозативного стресу як універсального механізму пошкодження слюзових залоз, у першу чергу регулюється активністю таких функціонально антагоністичних транскрипційних факторів, як NF-κB і Nrf2 [79]. В експерименті на білих щурах було підтверджено роль сигнальних шляхів NF-κB та Nrf2/ARE у розвитку окисдатовно-нітрозативного стресу в слинних залозах за умов відтворення ЛПС-індукованої СЗВ. При цьому виявилось ефективним застосування як специфічного інгібітора NF-κB піролідиндитіокарбамату амонію, так і біофлавоноїдів – водорозчинної форми кверцетину (корвітину) та епігалокатехіну-3-галату, які поєднують властивості інгібітора NF-κB та індуктора системи Nrf2/ARE [136].

Проте роль цих факторів транскрипції у механізмах ушкодження слюзових залоз щурів за умов СЗВ, індукованої введенням ліпополісахариду, залишається недослідженою.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана як самостійний фрагмент планової науководослідницької теми Полтавського державного медичного університету МОЗ України «Високо- та низько інтенсивні фенотипи системної запальної відповіді: молекулярні механізми та нові медичні технології їх профілактики та корекції» (державний реєстраційний номер: 0124U000092). Здобувачка є співвиконавицею теми.

**Мета дослідження.** Метою цієї роботи було з'ясування закономірностей впливу специфічних і природних модуляторів редоксчутливих факторів транскрипції (інгібіторів NF-κB та індукторів сигнального шляху Nrf2 – антиоксидант респонсивний елемент) у

патогенезі метаболічних розладів слюзових залоз щурів за умов відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

**Завдання дослідження:**

1. Дослідити вплив внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду *S. typhi* на маркери системної запальної відповіді та показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в крові щурів.

2. Вивчити зміни показників продукції супероксидного аніон-радикала, NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, концентрацію активних форм нітрогену в гомогенаті слюзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

3. Дослідити вплив специфічних модуляторів редоксчутливих факторів транскрипції (інгібітора NF-κB піролідіндитіокарбамату амонію та індуктора сигнального шляху Nrf2 – антиоксидант респонсивний елемент диметилфумарату) на маркери системної запальної відповіді, показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в крові та гомогенаті слюзових залоз щурів, а також на швидкість продукції в ньому супероксидного аніон-радикала та концентрацію активних форм нітрогену за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

4. З'ясувати вплив природних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 (кверцетину та сульфорафану) на маркери системної запальної відповіді, показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в крові та гомогенаті слюзових залоз щурів, а також на швидкість продукції в ньому супероксидного аніон-радикала та концентрацію активних форм нітрогену за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

*Об'єкт дослідження:* патогенез метаболічних ушкодження слюзових залоз за умов системної запальної відповіді.

*Предмет дослідження:* роль редоксчутливих факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 у механізмах метаболічних розладів слюзових залоз за умов системної запальної відповіді та терапевтичний потенціал застосування модуляторів цих чинників.

*Методи дослідження:* експериментальні – моделювання ЛПС-індукованої СЗВ, оцінка впливу специфічних і природних модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції (піролідиндитіокарбамату амонію, диметилфумарату, кверцетину та сульфорафану) на запальні та метаболічні показники в крові та слюзових залозах щурів; біохімічні – спектрофотометричне визначення концентрації в сироватці крові маркера СЗВ (церулоплазміну), вмісту вторинних продуктів ПОЛ (ТБК-активних сполук), загальної активності NOS та її ізоформ, загальної активності аргінази; спектрофотометричне визначення у гомогенаті слюзових залоз швидкості вироблення супероксидного аніон-радикала, загальної активності NOS та її ізоформ, активності орнітиндекарбоксилази, концентрації АФН (пероксинітритів і S-нітрозотіолів); математико-статистичні методи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше встановлено, що внутрішньоочеревинне введення ліпополісахариду *Salmonella typhi* щурам призводить до розвитку метаболічних ушкоджень у слюзових залозах, які супроводжуються активацією індукцйбельної NO-синтази, пригніченням аргіназного та орнітиндекарбоксилазного шляху обміну L-аргініну, підвищенням утворенням активних форм кисню та нітрогену і порушенням антиоксидантного потенціалу. Отримані дані дістали

подальшого розвитку завдяки вивченню ролі редоксчутливих факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 у регуляції цих порушень.

Уперше показано, що як специфічні (піролідиндитіокарбамат амонію та диметилфумарат), так і природні (кверцетин та сульфорафан) модулятори транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 виявляють потенціал до відновлення метаболізму L-аргініну та зменшення проявів оксидативно-нітрозативного стресу у слюзових залозах при системній запальній відповіді.

Вперше доведено, що ці сполуки ефективно знижують надмірне утворення супероксидного аніон-радикала, пероксинітритів, S-нітрозотіолів, сприяють відновленню активності орнітиндекарбоксілази та спряженості cNOS.

Показано, що диметилфумарат і сульфорафан, як індуктори Nrf2, не лише пригнічують у слюзових залозах щурів із СЗВ індукцибельну NO-синтазу, але й активують у них конститутивну ізоформу цього ферменту, що свідчить про ширший відновлювальний потенціал цих сполук.

**Практичне значення одержаних результатів.** Одержані результати розширюють уявлення про патогенетичні механізми метаболічних порушень у слюзових залозах за умов СЗВ, зокрема через дисбаланс між прооксидантними системами та метаболізмом L-аргініну.

Результати дослідження можуть бути використані як експериментальне обґрунтування для подальшої розробки нових напрямів фармакотерапії запальних ушкоджень екзокринних залоз, зокрема з метою зменшення проявів оксидативно-нітрозативного стресу. Дані щодо впливу природних сполук відкривають перспективи для створення профілактичних і терапевтичних засобів на основі флавоноїдів і ізотіоціанатів для

застосування при патології, що супроводжується СЗВ і редокс-дисбалансом.

Одержано реєстраційну картку технології (РКТ) «Технологія експериментального моделювання системної запальної відповіді» (державний реєстраційний № 0625U000025).

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

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачка, за наукової підтримки наукового керівника, самостійно визначила мету, завдання та послідовність виконання дослідження, обґрунтувала вибір експериментальних моделей і методів аналізу, необхідних для досягнення поставлених цілей. Вона провела аналіз і критичне опрацювання актуальної наукової літератури з теми дисертації, опанувала експериментальні методики та особисто виконала лабораторні дослідження. Отримані результати були опрацьовані з використанням методів математичної статистики, що дало змогу забезпечити їхню достовірність. Основні наукові положення роботи дисертантка виклала у публікаціях, а на основі результатів сформулювала висновки, що лягли в основу наукових рекомендацій і практичного застосування дослідження.

**Апробація результатів дослідження.** Основні наукові положення і результати дисертації були представлені та обговорені на пленумі Українського наукового товариства патофізіологів (м. Тернопіль, 15–17 вересня 2022 р.), XIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (м. Тернопіль, 26–28 жовтня 2022 р.), XXIII читаннях ім. В.В. Підвисоцького (м. Одеса, 16–17 травня 2024 р.), IX національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія охороні здоров'я України», присвяченому 100-річчю Української патологічної фізіології (м. Івано-Франківськ, 19–21 вересня 2024 р.), міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» (м. Полтава, 30–31 жовтня 2024 р.), VII науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (м. Харків, 15 травня 2025 р.) та на науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» (м. Полтава, 23–24 жовтня 2025 р.).

**Публікації.** Результати дослідження опубліковано в 12 друкованих працях, з яких – 4 статті (2 статті у фаховому журналі України категорії Б; 1 стаття у фаховому журналі України категорії А, що реферується міжнародною наукометричною базою *Scopus*; 1 стаття у іноземному періодичному виданні, що реферується міжнародною наукометричною базою *Scopus*, віднесеному до 1-го квартилю (Q1) відповідно до класифікації *SCImago Journal and Country Rank*. Окрім того, опубліковано 7 тез доповідей у матеріалах конгресів і конференцій, одержано 1 реєстраційну картку технології.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація викладена на 201 сторінці комп'ютерного набору, містить 40 рисунків і 8 таблиць. Складається з анотації, вступу, огляду літератури, характеристики матеріалів і методів дослідження, 3-х розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, який містить 282 джерела – 39 кирилицею та 243 латиницею, додатків.

# РОЗДІЛ 1

## МЕХАНІЗМИ ПАТОГЕННОЇ ДІЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ НА МЕТАБОЛІЗМ І ФУНКЦІЇ СЛЬОЗОВИХ ЗАЛОЗ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

### 1.1. Системна запальна відповідь: етіологія, патогенез, вплив на метаболізм і функції слюзових залоз ссавців

Одним із несприятливих наслідків гострої запальної реакції є її перехід у хронічну стадію або трансформація в агресивний процес. Провідну роль у цьому процесі відіграє СЗВ, що супроводжується продукцією про- та протизапальних цитокінів, білків гострої фази, а також активних форм кисню та нітрогену (АФО/АФН).

Запалення визначається як типовий патологічний процес. Його біологічна доцільність полягає у знищенні, інактивації, локалізації та розведенні агента, який викликав пошкодження (1), а також у запуску каскаду подій, що сприяють загоєнню та відновленню пошкоджених тканин (2) [66, 71, 182]. Тобто, «класичне» нормергічне запалення – це високорегульована захисна реакція з швидкою ініціацією та своєчасним вирішенням, або, загалом, адекватна відповідь організму на аномальну ситуацію (вплив флогогенних чинників).

Ситуація, коли генералізована дія патогенних агентів переважає над компенсаторними можливостями системи протизапальної резистентності, сприяє розвитку СЗВ як неконтрольованого процесу, що може бути причиною багатьох гострих і хронічних захворювань [11, 16]. З цієї точки зору, СЗВ розглядається як дисфункціональна система, яка ні сама по собі, ні окремі її компоненти не забезпечують достатньої захисної основи

організму, що в кінцевому підсумку може призводити до хронічного та/або агресивного перебігу патологічного процесу.

На думку дослідників, це твердження справедливе і для системних запальних реакцій різної інтенсивності, але вони, тим не менш, принципово відрізняються. З одного боку, СЗВ може розвиватися поступово, протягом тривалого часу, формуючи низькоінтенсивний системний запальний фенотип (НІСЗФ). З іншого боку, потужна дія патогенних факторів формує високоінтенсивний системний запальний фенотип (ВІСЗФ), що швидко долає систему протизапальної резистентності [136].

Перший варіант характерний для хронічного запалення низького ступеня активності («субклінічного» або «тихого» запалення) [66, 100, 111, 247], включаючи запальні стани, індуковані змінами метаболізму («мета-запалення») [112, 116, 141], гемокоагуляції («тромбозапалення») [119, 183, 214, 242] та порушеннями центральних і периферичних циркадіанних осциляторів [86, 87, 246]. НІСЗФ більшою мірою сприяє тривалому запаленню без його повного розсмоктування, але з подальшим переходом у хронічну форму, і супроводжується довготривалими метаболічними порушеннями [14, 16, 135]. На відміну від нього, ВІСЗФ сприяє агресивному, загрозливому для життя перебігу захворювання, що призводить до виникнення таких «реанімаційних» синдромів, як «цитокіновий шторм» при COVID-19, SIRS, синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання (ДВЗ-синдром), синдром поліорганної недостатності (MODS).

Згідно з гіпотезою енергозберігаючого «ощадливого фенотипу», НІСЗФ може починати формуватися ще в пренатальному періоді, і з цієї точки зору його можна розглядати як еволюційно вигідний для виживання найбільш пристосованих особин у середовищі з обмеженими харчовими

ресурсами, але платнею за цей адаптаційний патерн є підвищення ризику розвитку метаболічного синдрому та ожиріння [11, 116]. Наслідком цього можуть бути такі захворювання, як діабет 2 типу, ішемічна хвороба серця, інсульт, депресія та тривожні розлади, нейродегенеративні захворювання, стеатогепатит, синдром полікістозних яєчників, ревматоїдний артрит тощо [16, 135, 203, 226]. Іншими причинними факторами НІСЗФ є персистуючі інфекції, порушення мікробіоти та проникності кишечника, старіння, розлади системи виділення, вживання алкоголю тощо [106, 160, 171, 216]. Поступовий розвиток СЗВ притаманний певним септичним станам та системним наслідкам травматичних ушкоджень (травматичній хворобі) [35, 36, 56, 260].

Механізмами, що лежать в основі формування НІСЗФ за цих умов, можуть бути такі процеси: генералізована індукована продукція цитокінів та інших біорегуляторів, оксидативно-нітрозативний стрес, деполімеризація компонентів позаклітинного матриксу, системні мікроциркуляторні розлади з поліорганною дисфункцією [17, 42, 137, 264]. У свою чергу, ці процеси можуть призводити до вторинної системної альтерації та посилювати вплив низки патогенних факторів, включаючи гіпоксію, ацидоз, вторинну ендотоксемію (накопичення в крові ендотоксину грамнегативних бактерій та інших патоген-асоційованих молекулярних патернів (Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMPs) при порушенні біологічних бар'єрів), гіповолемію, накопичення в крові побічних продуктів розпаду тканин [17, 264].

Характерними ознаками НІСЗФ вважається підвищення в 2-4 рази сироваткових рівнів про- та протизапальних цитокінів, а також білків гострої фази за відсутності явних безпосередніх тригерів [66, 280].

До прозапальних цитокінів та їх рецепторів, що беруть участь у СЗВ, також належать фактор некрозу пухлин альфа (TNF- $\alpha$ ) та його розчинні рецептори 1 і 2 (sTNFR-1, sTNFR-2); інтерлейкіни IL-6, IL-8, іноді IL-1, IL-18; інтерферони IFN- $\alpha$  та IFN- $\gamma$  [13]. Деякі інші медіатори запалення також описані в літературі: гострофазові реактанти, такі як С-реактивний білок (СРБ), сироватковий амілоїд А, церулоплазмін і фібриноген; ліганди хемокінів CC 2, 3 і 5; молекули адгезії, такі як Е-селектин, молекула міжклітинної адгезії 1, молекула адгезії судинних клітин 1. Водночас може спостерігатися компенсаторне підвищення протизапальних цитокінів (IL-10, IL-4, IL-13) та антагоніста рецептора IL-1 (IL-1Ra). Однак підвищені рівні медіаторів запалення не досягають пікових значень, характерних для гострого запалення, що свідчить про СЗВ як про нерозв'язаний, тліючий запальний процес [66, 136, 280].

У разі формування ВІСЗФ стадія «досистемної» запальної відповіді займає кілька годин, тобто час, необхідний для залучення в патологічний процес продуктів експресії індукцибельних генів. За деяких критичних станів первинне вогнище альтерації може бути або взагалі відсутнім, або його роль у формуванні ВІСЗФ вкрай незначна, наприклад, при фульмінантному сепсисі у людини [136].

Крім того, ВІСЗФ може посилювати ефект поліорганної дисфункції внаслідок вторинної деструкції тканин, критичного порушення деяких параметрів гомеостазу (ацидоз, гіпоксія, гіповолемія та ін.), а також потрапляння мікробних ферментів у кровообіг у разі неспроможності кишкового епітелію виконувати свою бар'єрну функцію. Через ушкоджувальний ефект, спричинений MODS, ВІСЗФ може прогресувати, що у важких випадках призводить до високої смертності, незважаючи на заходи інтенсивної терапії.

Ймовірність виникнення та прогресування ВІСЗФ пов'язана з тим, що ссавці характеризуються надзвичайно високою реактивністю щодо дії патогенних чинників за участю ексудативно-судинного комплексу та демонструють високу чутливість життєво важливих органів до розладів мікроциркуляції [136].

Класичним проявом ВІСЗФ є розвиток SIRS, критерії діагностики якого були формалізовані на консенсусній конференції Американської колегії пульмонологів / Товариства медицини критичних станів, яка відбулася в Нортбруку в серпні 1991 року [63]. Об'єктивно SIRS визначається за умов виконанням будь-яких 2-х з наведених нижче критеріїв: температура тіла вище 38 °C (100.4 °F) або нижче 36 °C (96.8 °F), частота серцевих скорочень вище 90 ударів/хв, частота дихання вище 20 вдихів/хв або парціальний тиск вуглекислого газу нижче 32 мм рт. ст. (4.3 кПа), кількість лейкоцитів більше 12000 ( $12 \times 10^9$  клітин/л) або менше 4 000/мкл ( $4 \times 10^9$  клітин/л) або більше 10% незрілих нейтрофілів [63]. SIRS може бути наслідком пошкоджень, таких як сильні запальні подразники, які можуть бути бактеріальними або небактеріальними (травми, опіки, автоімунні розлади, панкреатит тощо).

На сьогоднішній день діагноз SIRS розглядається як несприятливий прогностичний фактор [85, 115], але в деяких випадках критерії SIRS виявилися недостатньо ефективними для прогнозування летальності, наприклад, при сепсисі [63]. Існують групи госпіталізованих пацієнтів, особливо похилого віку, які не відповідають критеріям SIRS, але прогресують до тяжкої інфекції, MODS і смерті [130]. Обсерваційне дослідження понад 130 тисяч пацієнтів з сепсисом показало, що один з восьми пацієнтів не відповідав 2-м або більше критеріям.

Зрозуміло, що критерії SIRS недостатньо специфічні і не підходять для всіх станів, що супроводжуються СЗВ, починаючи від «реанімаційних» синдромів (септичний шок, ДВЗ-синдром, MODS) до «малоінтенсивних» проявів (при метаболічному синдромі, атеросклерозі, цукровому діабеті 2 типу тощо). Наприклад, цитокиновий шторм при COVID-19 є компонентом розвинутого СЗВ, яка може варіювати за ступенем тяжкості від НІСЗФ до ВІСЗФ при відсутності ознак, що дозволяють встановити діагноз SIRS. Відомо, що COVID-19 погіршує стан пневмоцитів II типу та порушує процес альвеолярного імунологічного балансу через активацію локальної та загальної запальної реакції. Внаслідок дії ангіотензину II стимульовані запальні клітини викликають синтез і секрецію цитокинів («цитокиновий шторм»), що призводить до поширеного пошкодження тканин [248]. У деяких випадках тяжкий гострий респіраторний синдром, спричинений коронавірусом SARS-CoV-2, може формувати ВІСЗФ (підвищений рівень С-реактивного білка, фібриногену, прокальцитоніну, D-димеру, феритину, ІЛ-6, швидкості осідання еритроцитів, підвищений рівень нейтрофілів, знижений рівень лімфоцитів, низький рівень альбуміну), наслідком якого може бути мультисистемний запальний синдром у дітей та дорослих із запаленням різних систем органів, включаючи серце, легені, головний мозок, нирки, шлунково-кишковий тракт, шкіру та очі [102, 185, 187]. Проте критеріальні ознаки SIRS можуть бути відсутніми. Тому слід уникати ототожнення ВІСЗФ з SIRS.

Усі чинники СЗВ можуть впливати на метаболізм та функції залозистого епітелію. Наприклад, прозапальні цитокини спричинюють розвиток оксидативно-нітрозативного стресу та є потенційними медіаторами пошкодження слюзових залоз [96, 118, 140]. Кількість білка ІЛ-1 $\beta$  підвищується в ацинарних клітинах слюзових залоз, інфільтрованих

лімфоцитами. Ці результати свідчать про те, що підвищений рівень ІЛ-1 $\beta$ , як це відбувається в екзокринних залозах при синдромі Шегрена, може порушувати секреторну функцію цих тканин [282].

Було виявлено, що рівень ІЛ-6 у слюзовій рідині підвищується у пацієнтів з ксерофтальмією [143, 265]. Цікаво, що один з поліморфізмів гена ІЛ-6 був пов'язаний із захворюванням сухого ока [192]. Це не тільки свідчить про генетичну схильність до сухого ока у певних популяціях, але й обґрунтовує використання цього цитокіну як маркера сухого ока у схильних до нього людей [81]. Рівень протизапального цитокіну ІЛ-10 також достовірно корелює зі ступенем ксерофтальмії та ксеростомії [53].

Виявлено, що захворювання, які супроводжуються СЗВ, негативно впливають на слюзові залози, порушують місцеву гемодинаміку в цих органах та сприяють дистрофічним, атрофічним і запальним розладам у них [73, 78, 163, 174]. Це порушує секрецію слюзової рідини, яка крім зволоження органу зору виконує низку інших важливих функцій, а саме: сприяє загоєнню ран, пригнічує запалення, забезпечує антирадикальний та антимікробний захист [74, 190]. Захворювання та дисфункція слюзового функціонального блоку призводить до недостатнього слюзовиділення, зміни осмоляльності та підвищеного осмотичного стресу очної поверхні, запалення, нечіткості та нестабільності зору [190, 211].

Хоча клінічно синдром сухого ока проявляється нестабільністю слюзової плівки, пов'язаною з порушеннями епітелію рогівки/кон'юнктиви, дисфункцією мейбомієвих залоз і зниженням зорових функцій, останні лабораторні та клінічні дослідження вказують на наявність запалення в слюзових і мейбомієвих залозах, кон'юнктиві та рогівці. Крім того, запалення в цих місцях призводить до апоптозу келихоподібних клітин кон'юнктиви, порушення епітеліального бар'єру рогівки та пошкодження

рогівкового нерва. Ці наслідки можуть посилюватися такими чинниками, як СЗВ, старіння, зростання концентрації стероїдних гормонів, автоімунні захворювання [256].

К. Serefoglu Cabuk et al. [213] на підставі проведення проспективного клінічного дослідження зробили висновок, що пацієнти з метаболічним синдромом, компонентом якого є НІСЗФ, мають менший об'єм сльози та вищу частоту гіпофункції сльозових залоз, ніж особи без метаболічних розладів. Особливо у жінок з метаболічним синдромом спостерігається вища осмолярність сльози, що порушує нормальне функціонування очної поверхні і викликає запалення.

М. Kawashima et al. [131] при проведенні крос-секційного дослідження виявили, що метаболічний синдром істотно впливає на об'єм сльозової секреції, оскільки поширеність гіпофункції сльозових залоз у групі з цією патологією (34,0%) була приблизно вдвічі більшою, ніж у групі без неї.

Ожиріння також виявляє зв'язок з дисфункцією сльозових залоз через формування прозапального профілю, що сприяє розвитку та погіршенню перебігу синдрому сухого ока [78]. У більш важких та екстремальних випадках ожиріння, запалення та цукровий діабет 2 типу можуть провокувати повну втрату зору.

Останньорічні дослідження виявили тяжкі симптоми сухості очей також при інших захворюваннях, що містять СЗВ як провідну ланку патогенеза. Наприклад, показано, що пацієнти з COVID-19 можуть мати стійкі симптоми сухого ока протягом тижнів і місяців після одужання, а поширеність ксерофтальмії вища у хворих на COVID-19, ніж у людей без інфекції COVID-19 [150, 156].

L. Qian і W. Wei [193] виконали систематичний пошук за базами PubMed, Embase та Кокранівської бібліотеки досліджень, в яких вивчалися фактори ризику синдрому сухого ока, з моменту їх появи до вересня 2021 року. Серед факторів ризику синдрому сухого ока дослідники відмічають артеріальну гіпертензію, цукровий діабет, серцево-судинні захворювання, інсульти, подагру, остеоартрит, пухлини, депресію, посттравматичні стресові розлади та системні захворювання. Всі ці захворювання супроводжуються формуванням НІСЗФ або ВІСЗФ [136].

В іншому дослідженні було підтверджено зв'язок сухості очей з супутніми захворюваннями майже всіх систем організму, включаючи опорно-руховий апарат, шлунково-кишковий тракт, офтальмологічні, автоімунні, психіатричні, больові, дерматологічні та atopічні розлади. Було виявлено або підтверджено численні незалежні фактори ризику такі як синдром подразненого кишечника, синдром хронічної втоми, хірургічні втручання, остеоартрит, захворювання сполучної тканини, атеросклероз, депресія, та ін. Проте в цьому дослідженні не було виявлено чіткого зв'язку між сухістю очей та рівнем ліпідів або глюкози в крові [244].

J.V. García-Marqués et al. [95] оцінювали системні, екологічні та пов'язані зі способом життя фактори ризику захворювання на сухість очей у середземноморській європеїдній популяції. Поширеність цього захворювання, за даними дослідників, становила 57,7%. Серед потенційних факторів ризику ксерофтальмії, визначених шляхом застосування метода одномірної логістичної регресії, було відмічено системні ревматологічні захворювання, низька якість харчування, переважання ультрапереробленої їжі в раціоні, що, як відомо, формує НІСЗФ [136].

X. Chen et al. [65] виявили 190 білків, експресія яких збільшувалася у пацієнтів із синдромом сухого ока. Подальший функціональний аналіз

виявив біологічні процеси, залучені до патогенезу цього захворювання, особливо імунні та запальні. Загалом авторами було ідентифіковано 156 метаболітів, серед яких 34 виявилися значно зміненими у пацієнтів з ксерофтальмією. Результати дослідження висвітлюють патогенетичну роль ключових прозапальних і метаболічних розладів, включаючи каскади комплементу і коагуляції, гліколіз/глюконеогенез і обмін амінокислот.

С. Vaudouin [52] запропонував концепцію «порочного кола запалення» як основного механізму патогенезу ксерофтальмії, а розрив цього циклу вважається найважливішим кроком у лікуванні синдрому сухого ока [200]. Запальне порочне коло включає нестабільність слізної плівки, гіперосмолярність сльози, апоптоз клітин рогівки/кон'юнктиви та запалення очної поверхні. Внутрішні та зовнішні фактори, зокрема нейрогенне запалення та гіперцитокінемія, спричиняють стрес для поверхні ока, що прискорює цикл і, в свою чергу, загострює сухість очей [200, 189].

Дійсно, прозапальний стан ще більше погіршує сухість ока, призводячи до апоптозу і зниження продукції муцину келихоподібними клітинами кон'юнктиви [75, 267]. Матриксні металопротеїнази (MMPs), сімейство білків, необхідних для загоєння ран і деградації позаклітинного матриксу, є одним з таких прозапальних продуктів, які високо експресуються при ксерофтальмії та, як відомо, викликають дисфункцію епітеліального бар'єру [157].

А.О. Mykytenko, Y.K. Matsytska, O.Y. Akimov [174] дослідили метаболічні зміни у тканинах слезових залоз щурів за умов моделювання хронічного стресу та ЛПС-індукованої СЗВ. Автори виявили, що поєднання стресорного впливу (стрес уникнення води) та введення ЛПС істотно збільшує продукцію супероксидного аніон-радикала і концентрацію малонового діальдегіду, знижує активність iNOS при

підвищенні вмісту пероксинитритів, нітритів та S-нітрозотіолів. Введення щурам ЛПС за умов стресорного впливу посилює продукцію NO від iNOS, разом з тим така стимуляція посилює пошкодження білкових та ліпідних структур [163, 174]

Таким чином, у літературі наведено вагомі аргументи на користь визначення СЗВ як типового патологічного процесу, так і дисрегуляторної патології, що супроводжується втратою захисної основи, характерної для гострого запалення, генералізованим залученням запальних механізмів, які формувалися у філогенезі лише як локальні. Захворювання, пов'язані з формуванням НІСЗФ або ВІСЗФ, супроводжуються суттєвими функціонально-метаболічними розладами сльозових залоз, наслідком чого може бути розвиток синдрому сухого ока.

## **1.2. Роль транскрипційних факторів у механізмах системної запальної відповіді та ушкодження сльозових залоз**

Нещодавно повідомлялося, що NF-κB відіграє важливу роль у розвитку очних захворювань, таких як катаракта, глаукома та ретинопатія, а розвиток пов'язаних очних захворювань може бути пригнічений шляхом пригнічення активності NF-κB [155, 228].

Роль активації NF-κB у механізмах ушкодження сльозових залоз у найбільшій мірі була досліджена у хворих з ксерофтальмією, зокрема з таким з автоімунним системним захворюванням сполучної тканини, як синдром Шегрена [232]. Патогенез цього синдрому включає активацію NF-κB з наступним виробленням прозапальних цитокінів, таких як TNF-α, IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-17 та INF-γ. Через окиснювальний стрес вони

спричиняють некроз і апоптоз клітин слюзових залоз, що призводить до порушення їх секреторної функції або зменшення слюзовиділення.

Цитокіни IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  та IFN- $\gamma$  вважаються ключовими медіаторами запалення слюзових залоз, що впливають на експресію окситоцинових рецепторів міоепітеліальними клітинами, що погіршує скорочення цих залоз та критично порушує їх секреторну функцію [282].

У дослідженні на тваринних моделях синдрому Шегрена (миші NOD і MRL/lpr) було виявлено зниження рівня скоротливих білків міоепітеліальних клітин слюзової залози –  $\alpha$ -актину та кальпоніну, а також зменшення скорочення ацинусів, що вказує на те, що функція міоепітеліальних клітин порушується під час хронічного запалення слюзової залози [108]. Такі розлади пояснюють зменшення секреції слюзи, пов'язану із захворюванням сухого ока [96].

Низка досліджень підтверджує, що експресія більшості клітинних факторів запалення значно посилюється впродовж розвитку синдрому сухого ока [67]. Експресія та вивільнення цих запальних чинників також тісно пов'язані з активацією позаклітинної сигнальної кінази (ERK) та сигнальних шляхів p38 MAPK. Більше того, втручання у сигнальні шляхи ERK та p38 пригнічує передача прозапальних і проапоптотичних сигналів за умов ксерофтальмії [80, 240].

Примітно, що ефективним засобом лікування сухості очей, спричиненої синдромом Шегрена, є метформін [133], бігуанід з антигіперглікемічним ефектом, здатний пригнічувати NF- $\kappa$ B та знижувати JAK/STAT-регуляцію [208].

Введення метформіну щурам, яким відтворювали стрес уникнення води, знижувало у гомогенаті слюзових залоз активність iNOS, продукцію супероксидного аніон-радикала (до рівня контрольних тварин),

концентрацію вільного малонового діальдегіду [163]. Автори зробили висновок, що застосування метформіну за умов психоемоційного стресу може бути ефективним засобом корекції пошкодження слъзових залоз завдяки його здатності знижувати АФО/АФН.

Нещодавно була доведена роль NF-κB у зниженні інсулінової сигналізації та функції слъзових залоз при старінні [46]. Автори показали суттєве перевищення експресії кінцевих продуктів глікозилювання (Advanced Glycosylation End-products, AGE), рецепторів кінцевих продуктів глікозилювання (Receptor for Advanced Glycation End products, RAGE) та NF-κB у слъзових залозах старих щурів порівняно з молодими. Водночас були значно нижчими в групі старіння базальна слъзова секреція та активність пероксидази, а концентрації IL-1β і TNF-α виявилися вищими у слъзах старіючих щурів порівняно з молодими. Проте, незважаючи на те, що старіючі щури були інсулінорезистентними (що підтверджалося тестом на толерантність до інсуліну), рівні інсуліну в слъзовій плівці старіючих і контрольних щурів були подібними як *in vivo*, так і *in vitro*. Висока експресія AGEs, RAGE і NF-κB у слъзових залозах старіючих щурів, за даними дослідників, супроводжується системною інсулінорезистентністю і може бути залучена до дисфункції слъзових залоз. Ці спостереження вказують на те, що метаболічні події можуть бути пов'язані з розладами цих органів при старінні.

Проте у літературі до цього часу відсутня погоджена думка, щодо провідної ролі саме дисфункції слъзових залоз у патогенезі синдрому сухого ока. Розвитку ксерофтальмії може сприяти руйнування епітелію рогівки та зменшення кількості муцинсекретуючих клітин, що також здатне індукувати продукцію прозапальних цитокінів без зміни об'єму слъози та викликає збільшення ядерної транслокації NF-κB p65, гідролізу білка IκBa

та експресії фосфорильованих (p)-I $\kappa$ B $\alpha$  [145]. Порушення функції слъзової плівки та структури тканин поверхні ока є ще одним з механізмів підвищення експресії рогівкою TNF- $\alpha$ , p65 та фосфо-p65 [148].

Водночас численні дослідження підтверджують участь транскрипційного фактора NF- $\kappa$ B у механізмах пошкодження слинних залоз, структура яких у багатьох аспектах є подібною до слъзових залоз. Показано, що у клітинній лінії слинних залоз людини такі сигнальні шляхи, як NF- $\kappa$ B, p38 MAPK, ERK, PI3K/Akt, регулює вироблення IL-6 [249]. Крім того, активація NF- $\kappa$ B через стимулювання TLR2 в епітеліальних клітинах слинних залоз збільшує генерування IL-2 [142, 221]. Виявлено, що за умов ксеростомії епітелій слинних залоз виявляє значно меншу експресію I $\kappa$ B $\alpha$ , який пригнічує активність NF- $\kappa$ B [177, 220]. Поряд з цим, дослідники вважають, що з NF- $\kappa$ B-сигналізацією в ацинарних клітинах слинних залоз може взаємодіяти кальцієва сигналізація, яка значно знижується у пацієнтів з гіпосалівацією [151].

При застосуванні в експерименті на білих щурах за умов відтворення ЛПС-індукованої СЗВ специфічного інгібітора NF- $\kappa$ B піролідиндитіокарбамату амонію, а також біофлавоноїдів – водорозчинної форми кверцетину (корвітину) та епігалокатехіну-3-галату, які поєднують властивості інгібітора NF- $\kappa$ B та індуктора системи Nrf2/ARE, було виявлено зменшення у гомогенаті слинних залоз генерації супероксидного аніон-радикала, зниження активності iNOS, зменшення вмісту пероксинітриду та концентрації вторинних продуктів ПОЛ, збільшення антиоксидантного потенціалу, супероксиддисмутази та каталази активності, що супроводжується покращенням функціонального стану слинних залоз [136]. Доведено, що використання згаданих модуляторів транскрипційних факторів зменшує деструкцію біополімерів

позаклітинного матриксу піднижньощелепних слинних залоз, зокрема колагену, протеогліканів та сіалоглікопротеїнів [264].

Численні літературні джерела підкреслюють наявність антагонізму між NF-κB-асоційованими сигнальними шляхами та активністю іншого представника редокс-чутливих TFs – Nrf2 [51, 206, 222, 235]. За умов оксидативного стресу цитоплазматичний Nrf2 звільняється від інгібіторного білка Keap1 і транслокується в ядро, де активує транскрипцію великої кількості цитопротективних та антиоксидантних генів завдяки здатності зв'язуватися з цис-регуляторним енансером з нуклеотидною послідовністю 5'-A/GTGAC/TnnnGCA/G-3', відомим як ARE [129].

Дослідження, проведені на Nrf2-нокаутних тваринах, свідчать про захисну роль ARE у процесах запалення, канцерогенезу, фіброзу, а також у захисті від різних стресових впливів [158].

Індукція системи Nrf2/ARE сприяє припиненню гострих запальних процесів, запобігаючи таким чином їх переходу в хронічну стадію [199]. Специфічні індуктори Nrf2/ARE, наприклад, диметилфумарат, ефективно знижують показники СЗВ (рівень TNF-α та СРБ у сироватці крові) за умов експериментального метаболічного синдрому [88].

За даними дослідників, комбінація інгібіторів активації NF-κB- та індукторів Nrf2/ARE виявляється більш ефективним засобом корекції СЗВ та загальних метаболічних порушень, що підтверджується на прикладі комбінованого застосування піролідиндинітріокарбамату амонію та кверцетину [262, 263]. Завдяки комбінованій дії вищезазначені сполуки запобігають утворенню вторинних побічних продуктів ПОЛ у крові щурів, підвищують антиоксидантний потенціал, коригують порушення вуглеводного обміну (гіперінсулінемію, інсулінорезистентність), а також ефективніше стримують оксидативно-нітрозативний стрес і

деполімеризацію колагенових і неколагенових компонентів органічного матриксу пародонта порівняно з окремим введенням названих сполук.

Однак позитивний ефект синтетичних модуляторів транскрипційних факторів затьмарюється високим ризиком розвитку побічних реакцій. Наприклад, відомо, що специфічний інгібітор активації NF-κB піролідиндитіокарбамат амонію має потужну гено-, канцерогенну, тератогенну та нейротоксичну дію [62, 198]; специфічний індуктор Nrf2/ARE диметилфумарат може викликати тяжкі імунопатологічні процеси та шлунково-кишкові розлади [175, 191].

Тому значний практичний інтерес викликає ефективність застосування нетоксичних рослинних поліфенолів, які позитивно впливають на низку редокс-чутливих факторів транскрипції, в тому числі функціонально антагоністичних щодо NF-κB та Nrf2.

Лише одиничні публікації висвітлюють можливість профілактичного та терапевтичного застосування поліфенолів для покращення функціонально-метаболічного стану слюзових залоз.

Так, J. Ling et al. [152] показали, що активні інгредієнти дендробіуму лікарського (*Dendrobium officinale*), такі як полісахариди, алкалоїди та поліфеноли, рекомендуються для лікування синдрому сухого ока. Було виявлено, що екстракт дендробіуму покращує секреторну функцію слюзових і слинних залоз, а також підвищує рівень експресії білка водного каналу (аквапорину-5, AQP5) у пацієнтів з ксерофтальмією, забезпечує репаративний ефект. Пероральне введення щуром водних екстрактів *Dendrobium officinale Kimura et Migo* та *Dendrobium loddigesii Rolfe*, за даними дослідників, посилює у тварин слюзовиділення та чинить захисну дію на пошкоджену поверхню ока. Названі екстракти здатні регулювати експресію білків AQP5 та муцину (muc)5ac у слюзовій залозі та

зменшувати в ній запальну реакцію внаслідок пригнічення активації MAPKs та NF- $\kappa$ B. На думку авторів, це дослідження відкриває новий погляд на NF- $\kappa$ B-таргетне лікування ксерофтальмії, а препарати дендробіуму можуть бути потенційними терапевтичними засобами для лікування синдрому сухого ока.

Застосування в експерименті на мишах з відтворенням синдрому сухого ока відвару *Dendrobium nobile* разом з іншими традиційними засобами – *Lucium chinense*, *Cuscuta chinensis*, *Senna tora*, *Ophiopogon japonicus* – протягом 3-х місяців також значно полегшує стан епітелію рогівки та зменшує IL-1 $\beta$ -асоційовану запальну реакцію [257].

M.J. Seo et al. [212] досліджували вплив флавоноїду DA-6034 (7-карбоксиметилокси-3',4',5-триметоксифлавану) на експериментально індуковану запальну сухість очей у кролів. Введення DA-6034 чітко продемонструвало його здатність відновлювати сльозову функцію та пригнічуючи запалення після місцевого очного застосування. Ці ефекти DA-6034 автори пов'язують з послабленням фосфорилування JNK і p38 MAPK та пригніченням активації NF- $\kappa$ B.

Іншою природною поліфенольною сполукою, що виявила ефективність у лікуванні ксерофтальмії, пов'язаної з депресією, через вплив на сигнальний каскад Sirt1/NF- $\kappa$ B/NLRP3 виявився лютеолін [251]. Цей флавоноїд, за даними дослідників, здатний істотно знижувати секрецію прозапальних факторів IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18 та TNF- $\alpha$ , підвищувати експресію Sirt1 та зменшувати експресію NF- $\kappa$ B, NLRP3-інфламасоми, каспази-1, білків родини гасдерміну D (GSDMD-N), що є регуляторами вроджених імунних реакцій та реакцій клітинної загибелі, IL-1 $\beta$  та IL-18.

Abengózar-Vela et al. [40] на мишачій моделі хвороби сухого ока дослідили протизапальну дію 0,01%-го розчину кверцетину, 0,1%-го

розчину ресвератролу та їх комбінації (0,01% розчину кверцетину + 0,1% розчину ресвератролу) на моделі ксерофтальмії. На підставі оцінки забарвлення рогівки флуоресцеїном, обсягу сльозовиділення та рівня сльозових цитокінів (IL-1 $\alpha$ ) автори зробили висновок про ефективність місцевого застосування названих поліфенолів для лікування хвороби сухого ока.

Проте місцева дія цих сполук може забезпечувати лише симптоматичне лікування ксерофтальмії, оскільки не впливає на стан сльозових залоз. Усе ж таки внутрішньоочеревинне введення водорозчинної форми кверцетину (корвітину) виявило здатність цього біофлавоноїду коригувати пошкодження тканин сльозових залоз завдяки його здатності знижувати АФО/АФН. Так, застосування корвітину (у дозі 10 мг/кг за кверцетином) на тлі моделювання стресу уникнення води вірогідно зменшувало у гомогенаті сльозових залоз активність iNOS, продукцію супероксидного аніон-радикала (до рівня контрольних тварин), концентрацію вторинного продукту ПОЛ – малонового діальдегіду [163].

Таким чином, літературні джерела вказують на участь сигнальних шляхів, асоційованих з редокс-чутливими TFs, у патогенезі функціонально-метаболічних розладів сльозових залоз, наслідком чого може бути порушення їхньої секреторної функції та розвиток ксерофтальмії. Деякі публікації підкреслюють наявність у природних інгібіторів NF- $\kappa$ B та індукторів Nrf2 цитопротекторних властивостей щодо структурних елементів сльозових і слинних залоз. Проте закономірності дії цих сполук на патогенез ушкодження сльозових залоз при СЗВ залишаються нерозв'язаними, що потребує проведення додаткових досліджень.

Отже, у літературі наведено вагомі аргументи на користь визначення СЗВ як типового патологічного процесу, так і дисрегуляторної патології,

що супроводжується втратою захисної основи, характерної для гострого запалення, що може позначитися на функціонально-метаболічному стані сльозових залоз.

Транскрипційні фактори відіграють важливу роль в регуляції СЗВ та функціонуванні клітин, включаючи клітини сльозових залоз. Один з головних механізмів захисту організму від запальних реакцій - це активація системної запальної відповіді, яка забезпечує збереження гомеостазу та відновлення тканин. Однак, дисбаланс у регуляції транскрипційних факторів може привести до ушкодження клітин та органів, зокрема сльозових залоз. Один з таких факторів – NF-κB – є ключовим у формуванні НІСЗФ та ВІСЗФ [12, 14, 136]. Активація цього фактора спричинює вивільнення протизапальних цитокінів та факторів, що сприяють проникненню та активації інших агресивних чинників. Таким чином, інгібування NF-κB може бути корисним в лікуванні СЗВ та ушкоджень сльозових залоз. Навпаки, Nrf2 – це фактор, що відіграє важливу роль у захисті клітин від окиснювального стресу, який може призводити до ушкодження сльозових залоз. Активація цього фактора сприяє збільшенню продукції антиоксидантів та зменшенню окислювального стресу в клітинах. Таким чином, підвищення активності Nrf2 може бути корисним у профілактиці та лікуванні захворювань, пов'язаних з ушкодженням сльозових залоз. Крім того, застосування поліфенолів-інгібіторів NF-κB може бути ефективним методом протидії СЗВ в організмі, оскільки цей транскрипційний фактор є ключовим медіатором в запальній відповіді, відповідає за активацію важливих медіаторів запального процесу, таких як цитокіни, та інших молекул.

Таким чином, вивчення ролі транскрипційних факторів у СЗВ та ушкодженні сльозових залоз може допомогти в розробці нових методів

лікування та профілактики захворювань ока, зокрема ксерофтальмії. Проте роль факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 у механізмах ушкодження слюзових залоз щурів за умов СЗВ, індукованої введенням ліпополісахариду, залишається недослідженою.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Експериментальний розподіл лабораторних тварин

Дослідження проводилися на 42 білих лабораторних щурах-самцях лінії Вістар масою 180–220 г, яких утримували у віварії на стандартному раціоні повноцінного комбікорму з вільним доступом до питної води. Умови утримання відповідали вимогам «Стандартних правил облаштування, оснащення та утримання експериментально-біологічних клінік (віваріїв)» та принципам належної лабораторної практики. У віварії підтримувалися стабільні мікрокліматичні параметри: температура повітря –  $(21 \pm 1)^\circ\text{C}$ , відносна вологість –  $(50 \pm 20)\%$ , світловий режим – 12 годин освітлення / 12 годин темряви. Тварини мали необмежений доступ до корму та водопровідної води; за 12 годин до проведення евтаназії доступ до корму припиняли.

Розподіл щурів за групами наведений у таблиці 2.1.

*Таблиця 2.1*

#### Розподіл піддослідних тварин за групами

№ групи	Умови експерименту	Кількість тварин
1	2	3
1-ша	Інтактні тварини (контроль)	7
2-га	Моделювання ЛПС-індукованої СЗВ	7

Продовження табл. 2.1

1	2	3
3-тя	За умов відтворення ЛПС-індукованої СЗВ вводили специфічний інгібітор активації NF-κB піролідиндитіокарбамат амонію	7
4-та	За умов моделювання ЛПС-індукованої СЗВ призначали специфічний індуктор сигнального шляху Nrf2–ARE диметилфумарат	7
5-та	За умов моделювання ЛПС-індукованої СЗВ вводили флавоноїд, що є інгібітором активації NF-κB – кверцетин	7
6-та	За умов моделювання ЛПС-індукованої СЗВ вводили ізотіоціанат, що є індуктором сигнального шляху Nrf2 – сульфорафан	7

Після завершення експерименту тварин піддавали евтаназії шляхом внутрішньоочеревинного введення тіопенталу натрію («Київмедпрепарат», корпорація «Артеріум», Україна) в дозі 50 мг/кг маси тіла. Після досягнення глибокого наркозу проводили розтин і забір крові шляхом серцевої пункції. Отриману кров збирали в сухі стерильні пробірки, залишали при кімнатній температурі до утворення згустка, після чого центрифугували (3000 g, 15 хв) для відокремлення сироватки, яку використовували для біохімічного аналізу.

Після вилучення слізозові залози промивали фізіологічним розчином для видалення залишків крові. Залози зважували та гомогенізували у 10-кратному об'ємі охолодженого 0,1 М трис-НСІ буферу (рН 7,4).

Гомогенізацію проводили у фарфоровій ступці з додаванням кварцового піску до отримання однорідної маси.

Гомогенат залишали на 10 хв, після чого центрифугували при 3000 об/хв протягом 10 хв. Надосадову рідину відбирали для подальших досліджень.

## **2.2. Біоетичні, правові та метрологічні аспекти дослідження**

Усі експериментальні дослідження виконувались у повній відповідності до вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 18.03.1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006), міжнародних рекомендацій з проведення медико-біологічних досліджень, чинних нормативних документів МОЗ України, а також положень Етичного кодексу лікаря та Етичного кодексу науковця України.

Відповідність дослідження етичним нормам підтверджено рішенням Комісії з етики та біоетики Полтавського державного медичного університету (протокол № 245 від 22.01.2026), порушень морально-етичних вимог при виконанні наукової роботи не виявлено.

Метрологічне забезпечення дослідження здійснювалось із використанням сертифікованого обладнання та каліброваних вимірювальних приладів із чинною повіркою, що гарантує точність результатів, відповідність вимірювань встановленим стандартам і високий рівень дослідницького контролю.

### 2.3. Методика відтворення експериментальних моделей

Для моделювання СЗВ застосовували ЛПС *Salmonella typhi* (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) у дозі 0,4 мкг/кг маси тіла щура. Препарат вводили внутрішньочеревно тричі протягом першого тижня, а надалі – один раз на тиждень протягом наступних семи тижнів [263]. Зазначена схема індукції достовірно відтворює ключові прояви системної запальної відповіді, що підтверджується підвищенням рівнів прозапальних цитокінів TNF- $\alpha$  та ІЛ-6, а також білків гострофазової відповіді – С-реактивного протеїну й церулоплазміну [5, 8, 6, 17, 36]. Одночасно фіксувалося зниження концентрації протизапального цитокіну ІЛ-10, що свідчить про зсув імунного гомеостазу в напрямку прозапальної активації [6, 5]. Характерною ознакою цієї моделі є також розвиток декомпенсованого процесу перекисного окиснення ліпідів, який розглядається як маркер оксидативного стресу [2, 3, 4, 7, 138, 171, 172].

### 2.4. Введення специфічних і природних модуляторів факторів транскрипції

Модулятори транскрипційних факторів вводили щоденно протягом семи діб після відтворення системної запальної відповіді. Зокрема, інгібітор ядерної транслокації NF- $\kappa$ B – піролідиндитіокарбамат амонію (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) – застосовували внутрішньочеревинно у дозі 76 мг/кг [42]. Індуктор транскрипційного фактора Nrf2 – диметилфумарат (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) – вводили внутрішньочеревинно в дозі 15 мг/кг у 10% розчині диметилсульфоксиду [277].

Водорозчинну форму кверцетину – комплекс з полівінілпіролідом (препарат «Корвітин», ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна) – вводили внутрішньошлунково через зонд у дозі 200 мг/кг, що еквівалентно 20 мг/кг чистого кверцетину [137]. Індуктор сигнального шляху Nrf2 – ізотіоціанат сульфорафан – застосовували також внутрішньошлунково через зонд у дозі 10 мг/кг, розчинений в ізотонічному розчині натрію хлориду [179].

## 2.5. Біохімічні методи дослідження

Перелік біохімічних методів дослідження наведено в таблиці 2.2.

*Таблиця 2.2*

Біохімічні методи дослідження

№	Параметр, що вивчається	Досліджувані матеріали	Літературні джерела
1	2	3	4
1.	Вміст церулоплазміну	Сироватка крові	Кайдашев І.П. та співавт. (2003) [15]
2.	Загальна NO-синтазна активність	Сироватка крові, гомогенат сльозових залоз	Akimov O.Ye., Kostenko V.O. (2016) [43]
3.	Активність конститутивних та індукцибельної NO-синтаз	Сироватка крові, гомогенат сльозових залоз	Yelins'ka A.M., Akimov O.Ye., Kostenko V.O. (2019) [261]

Продовження табл. 2.2

1	2	3	4
4.	Загальна аргіназна активність	Кров	Akimov O.Ye., Kostenko V.O. (2016) [43]
5.	Концентрація вторинних продуктів ПОЛ (ТБК-реактантів)	Кров	Кайдашев І.П. та співавт. (2003) [15]
6.	Продукція супероксидного аніон-радикала	Гомогенат сльозових залоз	Костенко В.О., Цебржинський О.І. (2000) [24]
7.	Активність орнітиндекарбоксилази	Гомогенат сльозових залоз	Акімов О.Є., Костенко В.О. (2022) [1]
8.	Концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів	Гомогенат сльозових залоз	Akimov O.Ye., Kostenko V.O. (2016) [43]
9.	Концентрація S-нітрозотіолів	Гомогенат сльозових залоз	Gaston B. et al. (1993) [97]

Для оцінки гострофазової відповіді за умов СЗВ визначали концентрацію церулоплазміну в сироватці крові методом, що ґрунтується на його здатності окиснювати *n*-фенілендіамін [15].

Активність NO-синтази (NOS) у сироватці визначали за приростом концентрації нітритів у зразках до та після інкубації. Для цього до проб із доданим натрію цитратом як стабілізатором додавали суміш 96% етанолу та хлороформу для осадження гемоглобіну. Після інтенсивного перемішування проводили центрифугування при 3000 об/хв протягом 15

хвилин. Надосадову рідину використовували для визначення вмісту нітритів за допомогою реакції з сульфаніловою кислотою та  $\alpha$ -нафтиламіном (реактив Гріса-Ілосвая), що утворюють діазосполуки, інтенсивність забарвлення яких прямо пропорційна концентрації нітритів.

Для оцінки активності конститутивної ізоформи NOS (cNOS) до частини проб додавали 1% розчин гідрохлориду аміногуанідину – селективного інгібітора iNOS (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) [261]. Активність індукцйбельної форми (iNOS) розраховували як різницю між загальною NOS-активністю та активністю cNOS. Результати виражали у мкмоль NO на хвилину на грам білка. Вміст білка визначали біуретовим методом з використанням реактивів виробництва «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпро, Україна).

Активність аргінази визначали за кількістю орнітину, що утворюється в реакції з нінгідрином (реактив Чінарда), з подальшим фотометричним аналізом при 515 нм на спектрофотометрі Ulab-101 [43].

Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів у крові до та після 90-хвилинної інкубації. Для аналізу антиоксидантного потенціалу визначали приріст концентрації ТБК-реактантів після інкубації зразків у залізо-аскорбатному буферному середовищі [15].

Швидкість утворення супероксидного аніон-радикала в 10% гомогенаті сльозових залоз оцінювали за реакцією з нітросинім тетразолієм. Для ідентифікації джерел утворення (NADPH-оксидази, мітохондріального дихального ланцюга, мікросомальних монооксигеназ, NOS) гомогенат попередньо інкубували з NADPH, NADH або ЛПС *Salmonella typhi* (“Sigma-Aldrich Inc.”, США) [24]. Абсорбцію вимірювали на довжині хвилі 540 нм спектрофотометром Ulab-101.

Загальну NOS-активність у гомогенаті слюзових залоз визначали за підвищенням рівня нітритів після 30-хвилинної інкубації з 2.5 мл 0.1 М трис-буфера, 0.3 мл 320 мМ L-аргініну та 0.1 мл 1 мМ NADPH [43]. Інтенсивність утвореного забарвлення, яке виникало в реакції з сульфаніловою кислотою та  $\alpha$ -нафтиламіном, вимірювали при 540 нм. Для визначення активності cNOS додатково додавали 0,1 мл 1% розчину аміногуанідину (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США). Активність iNOS розраховували як різницю між загальною NOS-активністю та активністю cNOS. Індекс спряження cNOS визначали як відношення активності cNOS до швидкості утворення супероксидного аніон-радикала в NADPH-залежних електронно-транспортних ланцюгах [39].

Активність орнітиндекарбоксилази оцінювали за зменшенням вмісту орнітину в інкубаційному середовищі на основі специфічної нінгідринової реакції при рН 1.0. Оптичну щільність вимірювали при 490 нм [1].

Концентрацію пероксинітритів визначали у 10% гомогенаті слюзових залоз за реакцією з калій йодидом у 0.2 М фосфатному буфері (рН 7,0), з подальшим вимірюванням оптичної щільності при 355 нм [43]. Вміст S-нітрозотіолів визначали спектрофотометрично за допомогою реактиву Гріса, порівнюючи концентрацію нітритів до та після окиснення SNO розчином хлориду ртуті [97].

## **2.6. Статистична обробка результатів експерименту**

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel із надбудовою Real Statistics 2019. Перевірку нормальності розподілу виконували за критерієм Шапіро–Вілکا. У разі відповідності даних нормальному розподілу для аналізу

міжгрупових відмінностей застосовували t-критерій Стьюдента для незалежних вибірок та пост-хок аналіз із використанням методу Tukey's HSD. За відхилення від нормального розподілу використовували непараметричний U-критерій Мана-Вітні.

Для корекції помилок при множинних порівняннях застосовували поправки за методами Дана-Шідака та Бонфероні. У випадку порівняння більше ніж двох груп з ненормальним розподілом використовували критерій Крускала-Уоліса. Статистично значущими вважалися відмінності при значенні  $P < 0.05$ .

### РОЗДІЛ 3

## ВПЛИВ ВНУТРІШНЬООЧЕРЕВИННОГО ВВЕДЕННЯ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ *S. TYPHI* НА ПОКАЗНИКИ ЗАПАЛЕННЯ ТА ОКСИДАТИВНОГО МЕТАБОЛІЗМУ В КРОВІ ТА СЛЬОЗОВИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ

### 3.1. Вплив внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду *S. typhi* на показники системної запальної відповіді в крові щурів

Концентрація церулоплазміну у сироватці крові (рис. 3.1). У контрольній групі концентрація церулоплазміну в сироватці крові становила  $259.1 \pm 8.4$  мг/л.

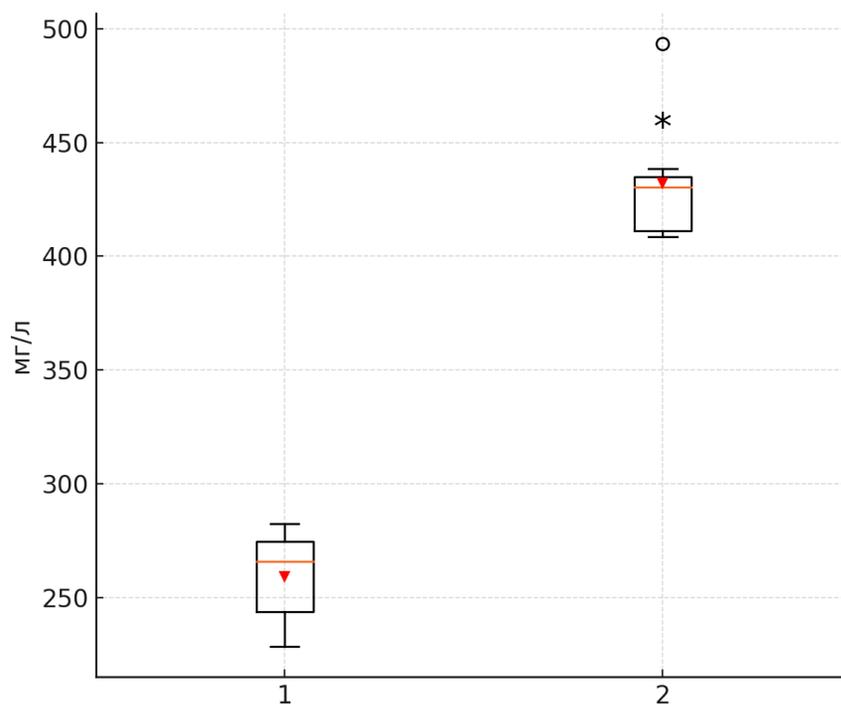


Рис. 3.1. Концентрація церулоплазміну у сироватці крові контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2). \*  $P < 0.05$  порівняно з контролем.

Після внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду *S. typhi* (група 2) вміст цього білка гострої фази достовірно підвищувався – до  $432.1 \pm 11.2$  мг/л, що на 66.8% ( $P < 0.001$ ) вище, ніж у контролі.

Отримані результати свідчать про активацію системної гострофазової відповіді, де церулоплазмін виступає маркером СЗВ

*Концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактивів) у крові.* У контрольній групі (група 1) вміст вторинних продуктів ПОЛ (ТБК-реактивів) у крові до її інкубації у прооксидантному буферному розчині (рис. 3.2) коливався в межах 8.41–15.87 мкмоль/л, із середнім значенням  $12.9 \pm 1.0$  мкмоль/л, що відображає фізіологічний рівень ліпопероксидації в умовах нормального метаболізму.

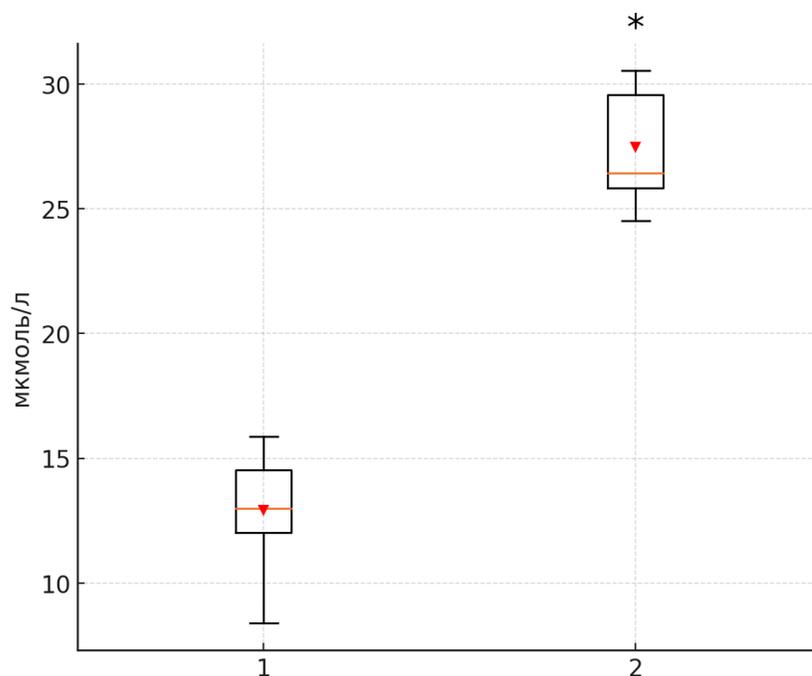


Рис. 3.2. Концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактивів) у крові (до її інкубації у прооксидантному буферному розчині) контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2). \*  $P < 0.05$  порівняно з контролем.

У тварин із ЛПС-індукованою СЗВ (група 2) концентрація ТБК-реактантів до інкубації крові у прооксидантному буферному розчині достовірно зростала до  $27.5 \pm 0.9$  мкмоль/л, що на 113% ( $P < 0.001$ ) перевищувало результат контролю. Значне накопичення продуктів ліпопероксидації свідчить про посилення оксидативного стресу внаслідок запального процесу.

У контрольній групі (група 1) вміст ТБК-реактантів після інкубації крові в прооксидантному буфері (рис. 3.3) становив у межах 23.6–35.3 мкмоль/л, із середнім значенням  $29.0 \pm 1.6$  мкмоль/л, що відображає базову чутливість до ПОЛ за стимульованих умов.

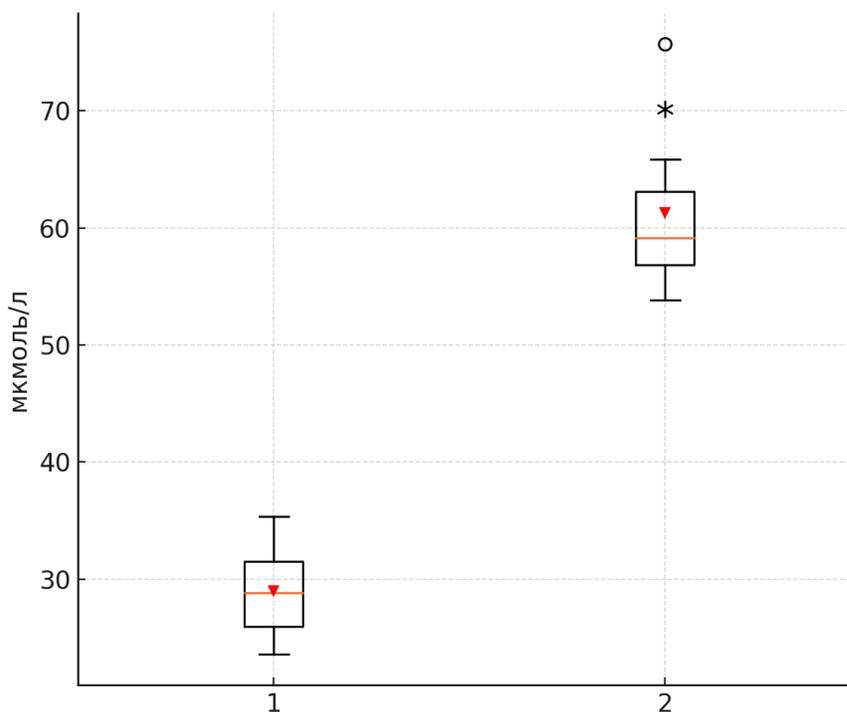


Рис. 3.3. Концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактантів) у крові (після її інкубації у прооксидантному буферному розчині) контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2). \*  $P < 0.05$  порівняно з контролем.

У тварин з ЛПС-індукованою СЗВ (група 2) концентрація ТБК-реактантів після інкубації достовірно зростала до  $61.2 \pm 2.8$  мкмоль/л, що на 111% ( $P < 0.001$ ) було більшим за значення контролю. Це свідчить про суттєво підвищену прооксидантну активність крові за умов СЗВ та зниження ефективності антиоксидантного захисту.

У контрольній групі (1) приріст рівня ТБК-реактантів за 1,5 години інкубації (рис. 3.4) становив у межах 10.6–23.8 мкмоль/л, із значенням  $16.0 \pm 2.0$  мкмоль/л.

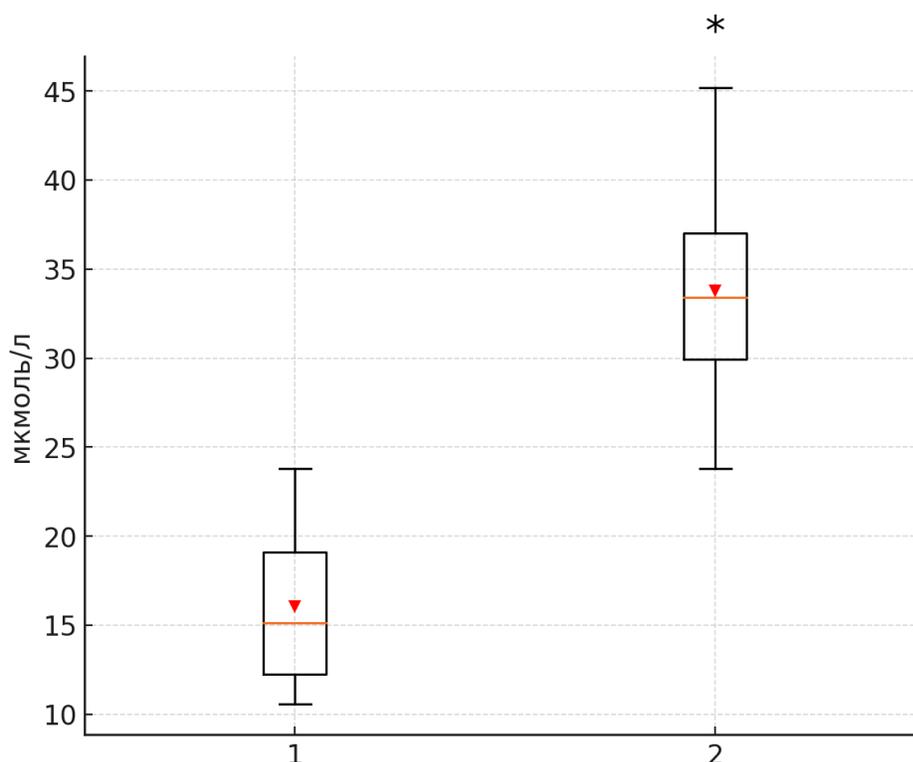


Рис. 3.4. Приріст концентрації ТБК-активних сполук за час 1,5-годинної інкубації крові у прооксидантному залізо-аскорбатному буферному розчині у контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2). \*  $P < 0.05$  порівняно з контролем.

У щурів з ЛПС-індукованою СЗВ (група 2) приріст концентрації ТБК-активних сполук був достовірно вищим – у середньому  $33.8 \pm 2.7$  мкмоль/л, що на 111% ( $P < 0.001$ ) більше порівняно з контролем.

Отримані дані свідчать про істотне посилення прооксидантного потенціалу плазми крові за умов системного запалення, зниження антиоксидантного резерву та схильність до ПОЛ.

### **Висновки до п. 3.1.**

1. Внутрішньоочеревинне введення ліпополісахариду *S. typhi* викликає активацію системної запальної відповіді, що проявляється достовірним підвищенням рівня церулоплазміну – білка гострої фази, який виконує функції маркера СЗВ.

2. За умов ЛПС-індукованої СЗВ спостерігається істотне посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів як у базальних умовах, так і після інкубації крові в прооксидантному буфері.

3. Інкубація крові у прооксидантному залізо-аскорбатному буфері додатково виявляє схильність до надлишкової генерації продуктів ПОЛ: приріст ТБК-реактивів у тварин із СЗВ істотно перевищує контрольні значення, що вказує на виснаження антиоксидантного захисту та підвищену вразливість до окисного ушкодження.

4. Загалом, отримані результати підтверджують наявність системного прооксидантно-запального стану при ЛПС-індукованій моделі, що супроводжується глибокими порушеннями у регуляції антиоксидантної та гострофазової відповіді крові.

### 3.2. Вплив внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду *S. typhi* на показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в крові щурів

Активність ізоформ NO-синтази в сироватці крові щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (таблиця 3.1). У контрольній групі щурів загальна активність NOS у сироватці крові становила  $0.70 \pm 0.01$  мкмоль NO/Г·хв, що зумовлено переважно активністю індукцибельної форми (iNOS) –  $0.57 \pm 0.01$  мкмоль  $\text{NO}_2^-$ /Г·хв, при значно нижчому рівні конститутивної форми (cNOS) –  $0.13 \pm 0.01$  мкмоль  $\text{NO}_2^-$ /Г·хв.

Таблиця 3.1

#### Активність ізоформ NO-синтази в сироватці крові щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (M±m)

Умови досліджу	Активність NO-синтази, мкмоль $\text{NO}_2^-$ /Г·хв.		
	Загальна	Конститутивна	Індукцибельна
Контроль (n = 7)	$0.70 \pm 0.01$	$0.13 \pm 0.01$	$0.57 \pm 0.01$
Моделювання ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (n = 7)	$2.16 \pm 0.09$ *	$0.38 \pm 0.04$ *	$1.79 \pm 0.05$ *

Примітка: \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю.

Після моделювання СЗВ введенням ліпополісахариду *S. typhi* спостерігалось достовірне зростання загальної активності NOS на 208% ( $P < 0.001$ ) щодо значення контрольної групи. Це зростання було

обумовлено як посиленням активності iNOS (підвищення на 214%), так і зростанням cNOS (на 192% вище за контроль,  $P < 0.001$ ).

Такі зміни свідчать про активну участь обох ізоформ NO-синтази у розвитку запального процесу, з домінуванням індукцйбельного шляху, що є характерним для фаз СЗВ.

*Активність аргінази у сироватці крові* (рис. 3.5). У контрольній групі (1) загальна аргіназна активність у сироватці крові варіювала в межах 0.54–0.85 мкмоль/хв·г білка, із середнім значенням  $0.74 \pm 0.04$  мкмоль/хв·г білка, що відображає фізіологічний рівень функціонування аргіназного шляху метаболізму L-аргініну.

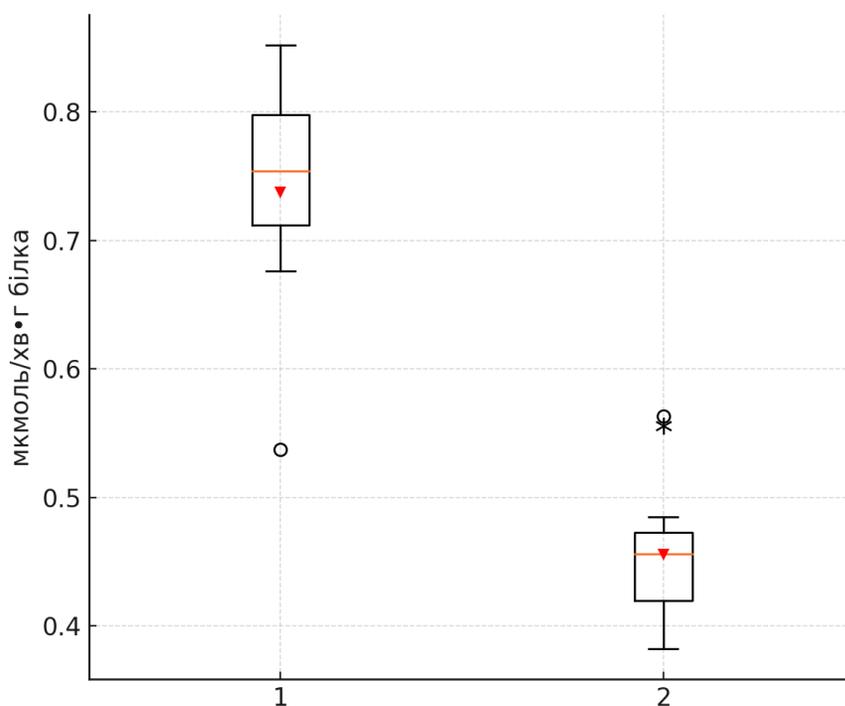


Рис. 3.5. Загальна аргіназна активність у сироватці крові контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2). \*  $P < 0.05$  порівняно з контролем.

У тварин, яким вводили ліпополісахарид *S. typhi* для моделювання СЗВ (група 2), загальна аргіназна активність достовірно знижувалася – до  $0.46 \pm 0.02$  мкмоль/хв·г білка, що на 37.8% ( $P < 0.01$ ) менше від контрольного значення.

Ці результати вказують на пригнічення аргіназного шляху за умов СЗВ, що може бути наслідком зрушення L-аргінінового метаболізму на користь індукцибельного NO-синтазного шляху за умов запалення.

### **Висновки до п. 3.2.**

1. Введення ліпополісахариду *S. typhi* спричиняє суттєву активацію NO-синтазного шляху метаболізму L-аргініну в крові щурів. Загальна активність NO-синтази зростає більш ніж утричі – на 208% відносно контролю, що відображає розвиток системної запальної відповіді.

2. Підвищення активності ферменту відбувається за рахунок посилення як індукцибельної ізоформи (iNOS) – на 214%, так і конститутивної (cNOS) – на 192% порівняно з інтактними тваринами. Домінування iNOS свідчить про переважання прозапального NO-залежного шляху синтезу оксиду азоту, характерного для СЗВ.

3. На тлі активації NO-синтазного шляху спостерігається пригнічення аргіназного метаболізму L-аргініну: активність аргінази знижується на 37.8% порівняно з контролем. Це вказує на зсув метаболічного балансу L-аргініну у бік синтезу оксиду азоту та підсилення нітрозативного стресу.

4. Виявлені зміни свідчать про тісну взаємодію між NO-синтазним та аргіназним шляхами у регуляції L-аргінінового обміну в умовах СЗВ. Активація iNOS на тлі пригнічення аргінази відображає ключовий механізм формування запальної реакції та оксидативно-нітрозативного дисбалансу в крові.

### 3.3. Вплив внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду *S. typhi* на джерела продукції супероксидного аніон-радикала в слъзових залозах щурів

Загальний фон генерування супероксидного аніон-радикала у гомогенаті слъзових залоз (рис. 3.6). У контрольних тварин (група 1) загальний фон утворення супероксидного аніон-радикала становив  $1.13 \pm 0.04$  нмоль/с·г, що відображає фізіологічну інтенсивність базального вільнорадикального утворення.

У другій групі, де застосовувався ЛПС для моделювання СЗВ, продукція супероксидного аніону зростала на 75.2% ( $P < 0.001$ ), до  $1.98 \pm 0.07$  нмоль/с·г.

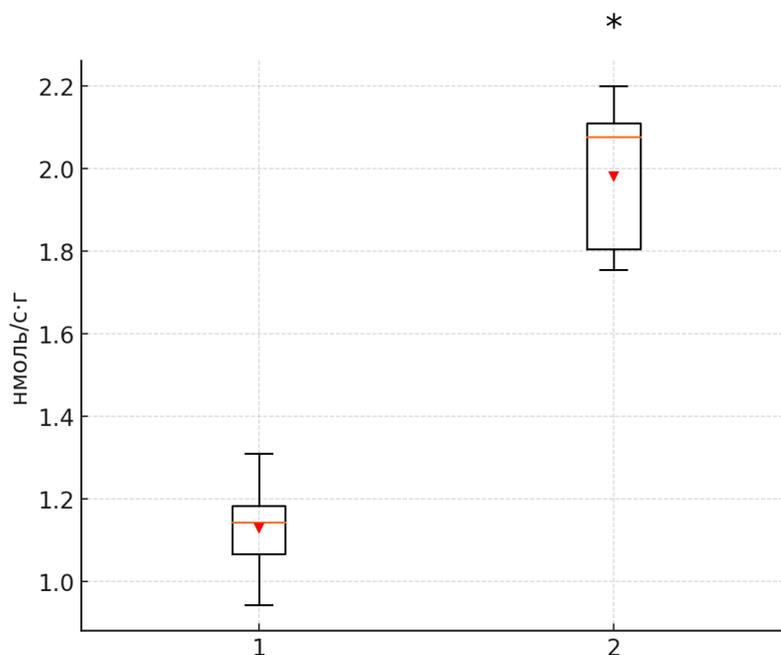


Рис. 3.6. Загальний фон генерування супероксидного аніон-радикала у гомогенаті слъзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2). \*  $P < 0.05$  порівняно з контролем.

Такий виражений приріст вказує на активацію оксидативного каскаду, ймовірно, що характерно для індукованого запалення.

*Продукція супероксидного аніон-радикала NADPH-залежними електронно-транспортними ланцюгами у гомогенаті слізозових залоз* (рис. 3.7). У тварин контрольної групи (група 1) рівень утворення супероксидного аніон-радикала становив  $12.39 \pm 0.45$  нмоль/с·г, що відповідає нормальним фізіологічним показникам базальної активності.

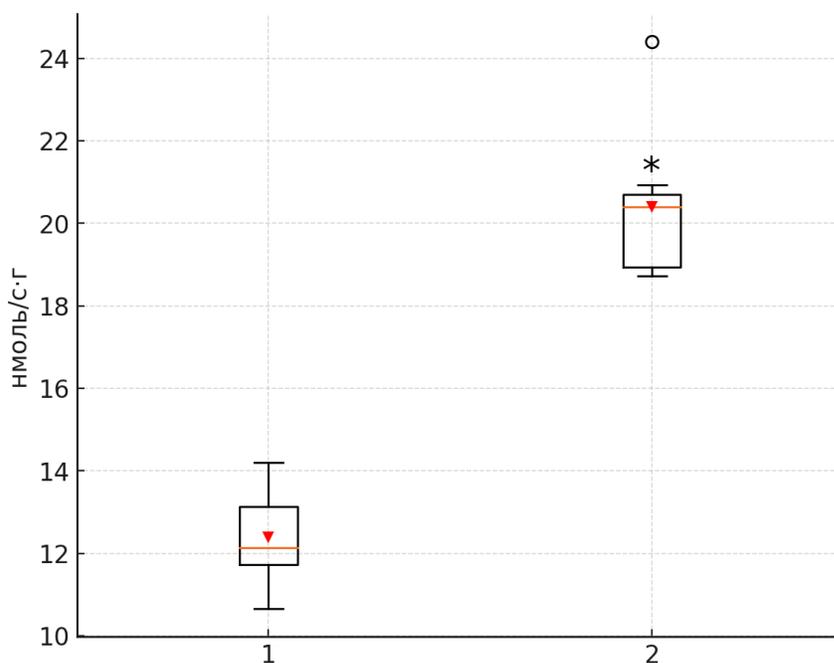


Рис. 3.7. Вироблення супероксидного аніон-радикала NADPH-залежними електронно-транспортними ланцюгами у гомогенаті слізозових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2). \*  $P < 0.05$  порівняно з контролем.

Введення ЛПС з метою індукції СЗВ призводило до суттєвого підвищення генерації супероксидного аніон-радикала у тварин 2-ї групи – на 64.6% ( $P < 0.001$ ), до рівня  $20.4 \pm 0.75$  нмоль/с·г. Цей ефект свідчить про

посилену активацію оксидативних механізмів, зокрема NADPH-оксидазозалежного утворення вільних радикалів.

*Продукція супероксидного аніон-радикала мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом у гомогенаті слюзових залоз (рис. 3.8). У контрольній групі швидкість утворення супероксидного аніон-радикала залишалася відносно низькою і становила  $16.64 \pm 0.60$  нмоль/с·г, що відображає фізіологічну активність мітохондріального дихального ланцюга щодо генерування цього радикала у нормальних умовах.*

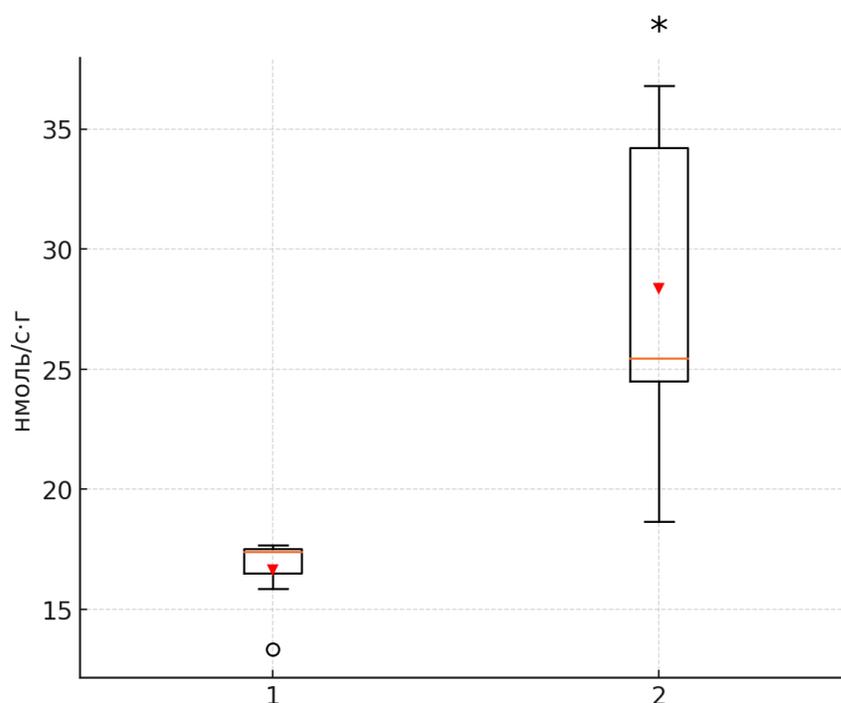


Рис. 3.8. Продукція супероксидного аніон-радикала NADH-залежним електронно-транспортним ланцюгом у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2). \*  $P < 0.05$  порівняно з контролем.

У тварин 2-ї групи спостерігалось значне підвищення продукції супероксидного аніону цим ланцюгом – на 70.3% ( $P < 0.001$ ), до

$28.33 \pm 2.60$  нмоль/с·г. Такий приріст свідчить про порушення або активацію мітохондріального електронно-транспортного ланцюга внаслідок СЗВ.

*Продукція супероксидного аніон-радикала NADPH-оксидазою лейкоцитів у гомогенаті слюзових залоз (рис. 3.9).* У контрольній групі активність NADPH-оксидазозалежного утворення супероксидного аніон-радикала відповідала фізіологічному базальному рівню і становила  $1.88 \pm 0.15$  нмоль/с·г.

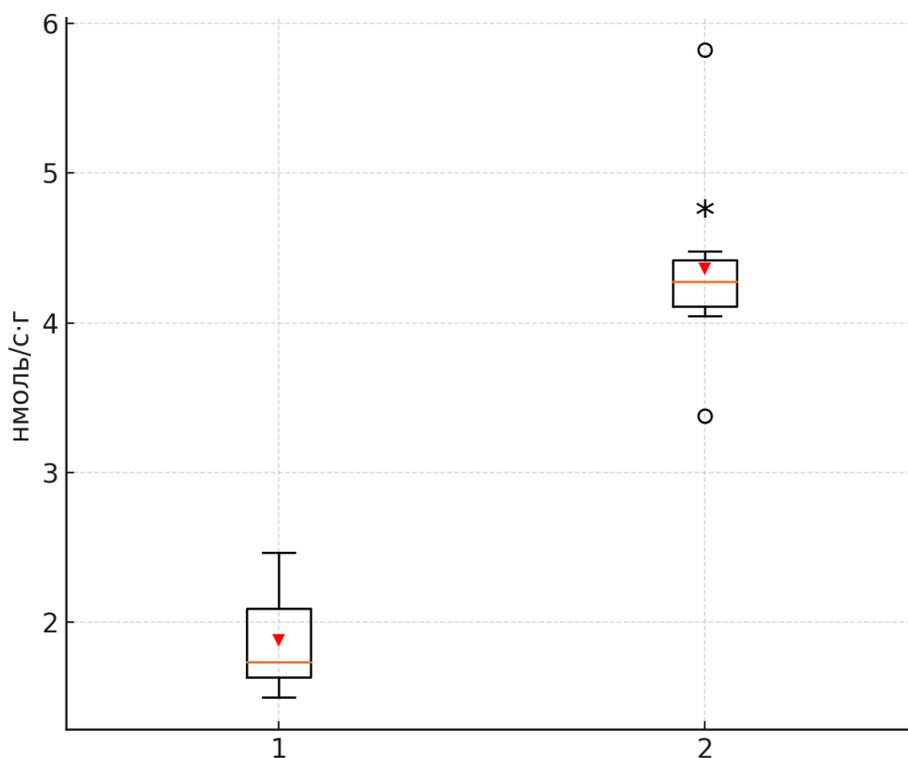


Рис. 3.9. Генерація супероксидного аніон-радикала NADPH-оксидазою лейкоцитів у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2). \*  $P < 0.05$  порівняно з контролем.

У другій групі, на тлі моделювання системної запальної відповіді, відзначалося різке підвищення продукції супероксидного аніону лейкоцитами – на 131% ( $P < 0.001$ ), до  $4.36 \pm 0.28$  нмоль/с·г, що свідчить про активацію запальних механізмів та посилення оксидативного стресу.

### **Висновки до п. 3.3.**

1. Введення ліпополісахариду як індуктору системної запальної відповіді супроводжується значним посиленням утворення супероксидного аніон-радикала в тканинах слюзових залоз щурів.

2. Основними джерелами надлишкової генерації супероксидного аніону в умовах ЛПС-індукованої системної запальної відповіді є активація його продукції NADPH-залежними електронно-транспортними системами, мітохондріальним дихальним ланцюгом і NADPH-оксидазою лейкоцитів.

### **3.4. Вплив внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду *S. typhi* на показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в слюзових залозах щурів**

*Активність ізоформ NO-синтази в гомогенаті слюзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.*

Моделювання ЛПС-індукованої СЗВ призводило до вираженого підвищення загальної активності NOS (таблиця 3.2) – на 87.5% ( $P < 0.001$ ), що переважно було обумовлено індукцією iNOS, активність якої зростала на 101% ( $P < 0.001$ ) порівняно з контролем.

Одночасно відзначалося істотне зниження активності cNOS – на 56.9% ( $P < 0.001$ ), що вказує на дисбаланс у NO-сигналінгу та порушення

фізіологічних механізмів регуляції оксиду азоту в умовах запального процесу.

Таблиця 3.2

**Активність ізоформ NO-синтази в гомогенаті слюзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (M±m)**

Умови дослідження	Активність NO-синтази, мкмоль NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /г·хв.		
	Загальна	Конститутивна	Індуцибельна
Контроль (n = 7)	7.03±0.35	0.65±0.04	6.39±0.32
Моделювання ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (n = 7)	13.18±0.53 *	0.28±0.04 *	12.90±0.49 *

Примітка: \* P<0.05 порівняно зі значеннями контролю.

*Індекс спряження cNOS у гомогенаті слюзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (рис. 3.10). У контрольній групі індекс спряження cNOS, який відображає ефективність ферментативного синтезу оксиду азоту без супровідного утворення супероксидного аніону, становив  $0.053 \pm 0.004$ .*

У моделі ЛПС-індукованої СЗВ відзначалося його достовірне зниження на 73.6% (P<0.001), що свідчить про роз'єднання активності cNOS та зсув у бік продукції супероксидного аніон-радикала замість NO, що є характерною ознакою оксидативного стресу.

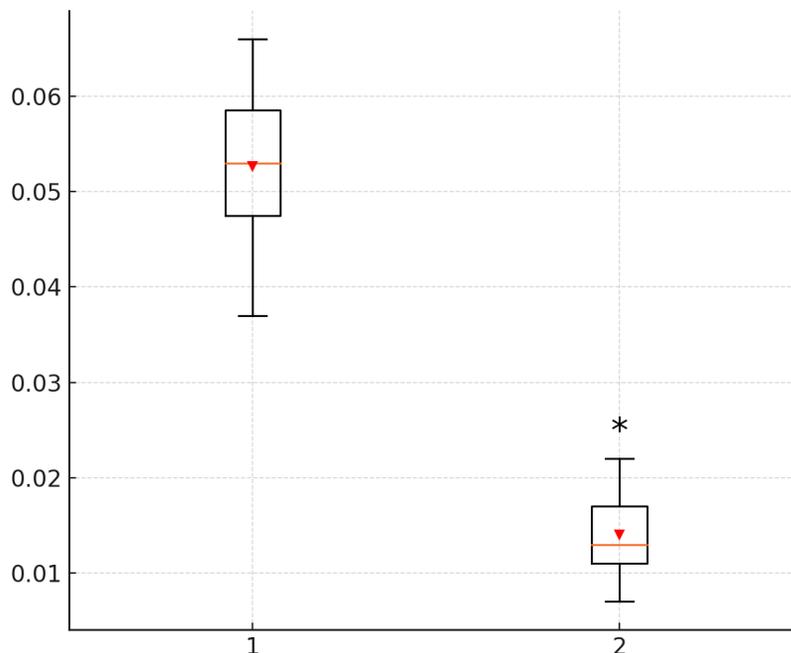


Рис. 3.10. Індекс спряження sNOS у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2). \*  $P < 0.05$  порівняно з контролем.

*Активність орнітиндекарбоксилази в гомогенаті слюзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (рис. 3.11). Активність орнітиндекарбоксилази – ферменту аргіназного шляху метаболізму L-аргініну, що функціонально конкурує з NOS, у гомогенаті слюзових залоз інтактних тварин становила  $250,1 \pm 16,9$  нмоль/Г·хв.*

За умов відтворення СЗВ цей показник знижувалася до  $151,1 \pm 10,6$  нмоль/Г·хв, тобто на 39,6% ( $P < 0.05$ ) порівняно з контролем.

#### **Висновки до п. 3.4.**

1. У моделі ЛПС-індукованої системної запальної відповіді спостерігалася значне підвищення загальної активності NO-синтази, що

зумовлено переважно індукцією iNOS. Це свідчить про активацію прозапального механізму синтезу NO, характерного для СЗВ.

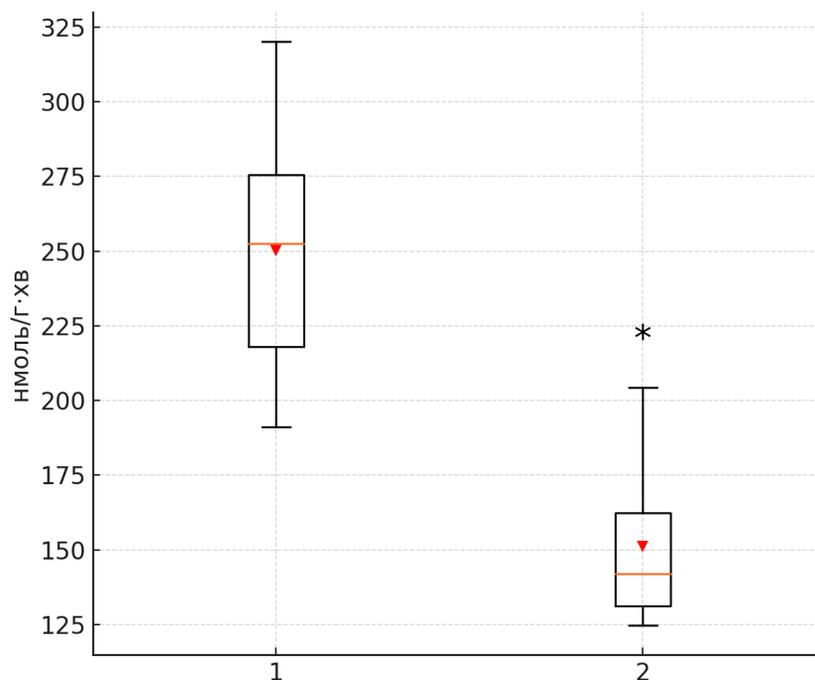


Рис. 3.11. Активність орнітиндекарбоксилази в гомогенаті слізозових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2). \*  $P < 0.05$  порівняно з контролем.

2. Отримані результати свідчать про виражений дисбаланс між прозапальними та відновними метаболічними шляхами L-аргініну в умовах системної запальної відповіді, що проявляється пригніченням активності cNOS і значним зниженням її індексу спряження, що, у свою чергу, вказує на порушення фізіологічного синтезу оксиду азоту та зсув у бік утворення супероксидного аніон-радикала.

3. Внутрішньоочеревинне введення ліпополісахариду *S. typhi* призводить до істотних змін у метаболізмі L-аргініну в слъзових залозах щурів, зокрема в активації NO-синтазного шляху та пригніченні аргіназного. Активність орнітиндекарбоксилази – ферменту аргіназного шляху метаболізму L-аргініну – також знижувалася при ЛПС-індукованій СЗВ, що може свідчити про гальмування проліферативних та репаративних процесів у тканинах слъзових залоз.

### **3.5. Вплив внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду *S. typhi* на концентрацію активних форм нітрогену в слъзових залозах щурів**

*Вміст пероксинітритів у гомогенаті слъзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (рис. 3.12).* Концентрація пероксинітритів лужних і лужноземельних металів у гомогенаті слъзових залоз у групі інтактних тварин становила  $1.15 \pm 0.06$  мкмоль/г.

За умов відтворення СЗВ цей показник збільшувався до  $3.58 \pm 0.38$  мкмоль/г, що на 211% ( $P < 0.001$ ) перевищувало значення контролю. Це свідчить про інтенсивне утворення токсичних похідних NO у відповідь на системне запалення, що є маркером нітрозативного ушкодження клітин.

*Концентрація S-нітрозотіолів у гомогенаті слъзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (рис. 3.13).* Вміст низькомолекулярних S-нітрозотіолів, які є стабільними резервними формами NO та беруть участь у клітинному сигнінгу, у гомогенаті слъзових залоз інтактних тварин становив  $0.77 \pm 0.01$  мкмоль/г.

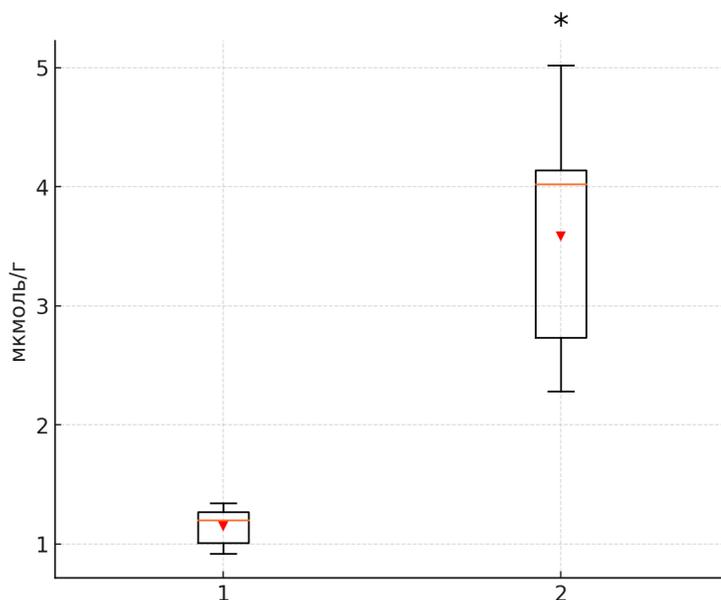


Рис. 3.12. Концентрація пероксинітритів лужних і лужноземельних металів у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2). \*  $P < 0.05$  порівняно з контролем.

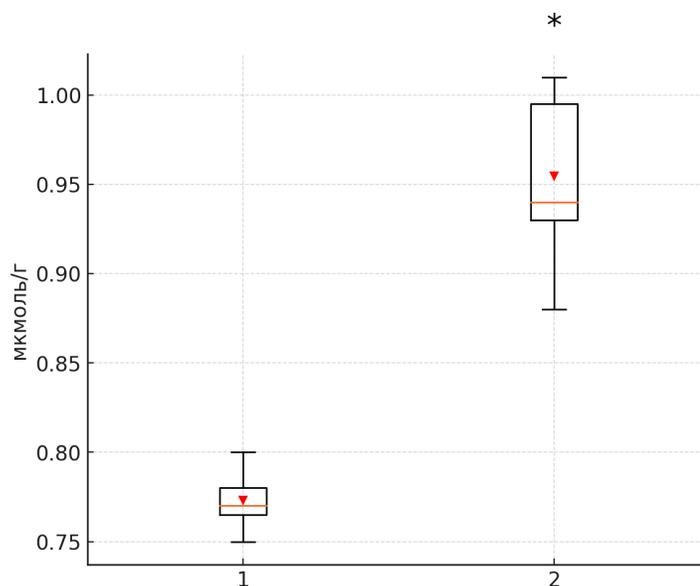


Рис. 3.13. Вміст S-нітрозотіолів у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2). \*  $P < 0.05$  порівняно з контролем.

Введення ліпополісахариду призводило до зростання концентрації S-нітрозотіолів до  $0.95 \pm 0.02$  мкмоль/г, що на 23.4% ( $P < 0.001$ ) перевищувало контрольні значення.

### **Висновки до п. 3.5**

1. Внутрішньоочеревинне введення ліпополісахариду *S. typhi* призводить до значного підвищення рівня активних форм нітрогену в слизових залозах щурів, що свідчить про розвиток нітрозативного стресу. Цей ефект підтверджується істотним зростанням концентрації пероксинітритів лужних і лужноземельних металів – високореактивних та цитотоксичних похідних оксиду азоту, накопичення яких асоціюється з вираженим ушкодженням клітинних структур у відповідь на системне запалення.

2. Вміст низькомолекулярних S-нітрозотіолів, які виконують роль стабільного депо оксиду азоту та беруть участь у регуляції клітинного сигналіngu, також достовірно підвищується порівняно з інтактною групою, що може свідчити про активацію компенсаторних механізмів у відповідь на запальне ушкодження тканин.

3. Сукупність змін вмісту активних форм нітрогену свідчить про порушення балансу між фізіологічною та патологічною дією оксиду азоту в тканинах слизових залоз на тлі ЛПС-індукованої системної запальної відповіді.

Матеріали цього розділу оприлюднені в статтях [27-29], тезах [19, 22, 23] і технології [18].

**РОЗДІЛ 4**  
**ВПЛИВ СПЕЦИФІЧНИХ МОДУЛЯТОРІВ ФАКТОРІВ**  
**ТРАНСКРИПЦІЇ NF- $\kappa$ B І NRF2 НА ПОКАЗНИКИ ЗАПАЛЕННЯ ТА**  
**ОКСИДАТИВНОГО МЕТАБОЛІЗМУ В КРОВІ ТА СЛЬОЗОВИХ**  
**ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВНУТРІШНЬООЧЕРЕВИННОГО**  
**ВВЕДЕННЯ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ *S. TYPHI***

**4.1. Вплив специфічних модуляторів факторів транскрипції NF- $\kappa$ B і Nrf2 на показники системної запальної відповіді в крові щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді**

*Концентрація церулоплазміну у сироватці крові* (рис. 4.1). У тварин, яким вводили піролідиндитіокарбамат амонію (група 3) або диметилфумарат (група 4) на тлі ЛПС-індукованої СЗВ, спостерігалось зниження концентрації церулоплазміну в сироватці крові порівняно з показниками групи запалення (група 2). Зокрема, вміст церулоплазміну в групі 3 становив  $298.6 \pm 7.9$  мг/л, що було на 30.9% ( $P < 0.001$ ) нижчим, ніж у тварин із моделлю СЗВ без корекції, тоді як у групі 4 він складав  $292.1 \pm 6.0$  мг/л, тобто був на 32.4% ( $P < 0.001$ ) меншим порівняно з результатом 2-ї групи. Водночас, щодо інтактних тваринам (група 1), значення цього показника у групах 3 і 4 залишалися підвищеними на 15.2% і 12.7% відповідно (при значенні  $P < 0.01$  для обох варіаційних рядів).

Отримані результати свідчать про здатність обох досліджуваних сполук знижувати індуковане запаленням підвищення вмісту церулоплазміну, однак повне відновлення до фізіологічних значень не відбувається.

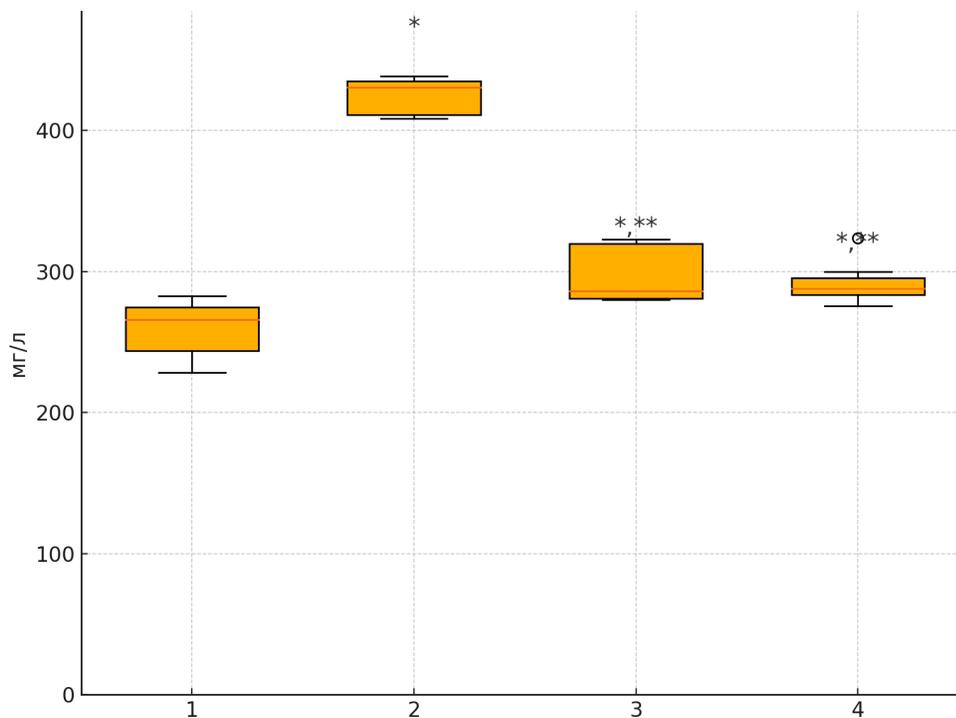


Рис. 4.1. Концентрація церулоплазміну у сироватці крові контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання піролідиндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

*Концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактантів) у крові. У тварин, яким вводили піролідиндитіокарбамат амонію (група 3) або диметилфумарат (група 4) на тлі ЛПС-індукованої СЗВ (рис. 4.2), спостерігалось зниження вмісту вторинних продуктів ПОЛ (ТБК-реактантів) у крові порівняно з показниками тварин без корекції (група 2). Середній рівень ТБК-реактантів у групі 3 становив  $17.3 \pm 0.8$  мкмоль/л, що на 37.1% ( $P < 0.001$ ) нижче, ніж у групі 2, тоді як у групі 4*

цей показник дорівнював  $16.2 \pm 1.1$  мкмоль/л, що відповідає зниженню на 41.1% ( $P < 0.001$ ).

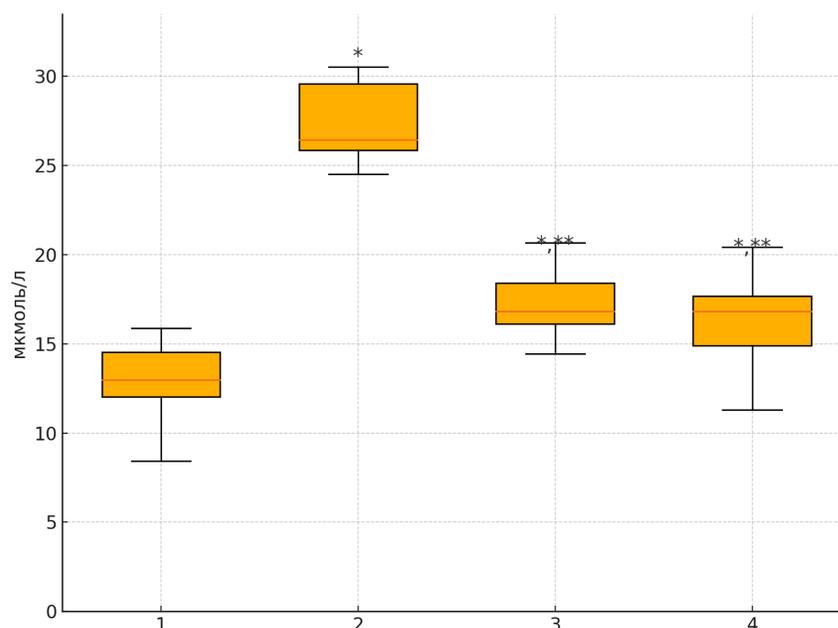


Рис. 4.2. Концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактантів) у крові (до її інкубації у прооксидантному буферному розчині) контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання піролідиндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

У порівнянні з інтактними тваринами (група 1), у яких концентрація ТБК-реактантів становила значно нижчі значення, у групі 3 цей показник був підвищений на 34.1% ( $P < 0.01$ ), а в групі 4 – на 25.6% ( $P < 0.001$ ).

Таким чином, обидві сполуки суттєво зменшують за умов експерименту інтенсивність ПОЛ у крові щурів, однак повного відновлення

до фізіологічних значень не досягається, що може свідчити про часткову нейтралізацію прооксидантного ефекту, індукованого ЛПС.

У тварин, кров яких інкубували в прооксидантному буферному розчині після введення піролідиндитіокарбамату амонію (група 3) або диметилфумарату (група 4), спостерігалось суттєве зниження рівня ТБК-реактивів (рис. 4.3) порівняно з показниками групи запалення без корекції (група 2). Зокрема, середня концентрація ТБК-реактивів у групі 3 становила  $37.8 \pm 1.1$  мкмоль/л, що на 38.2% ( $P < 0.001$ ) нижче, ніж у групі 2. У групі 4 цей показник дорівнював  $39.0 \pm 2.3$  мкмоль/л, що на 36.3% ( $P < 0.001$ ) нижче, ніж у тварин із моделлю СЗВ без втручання.

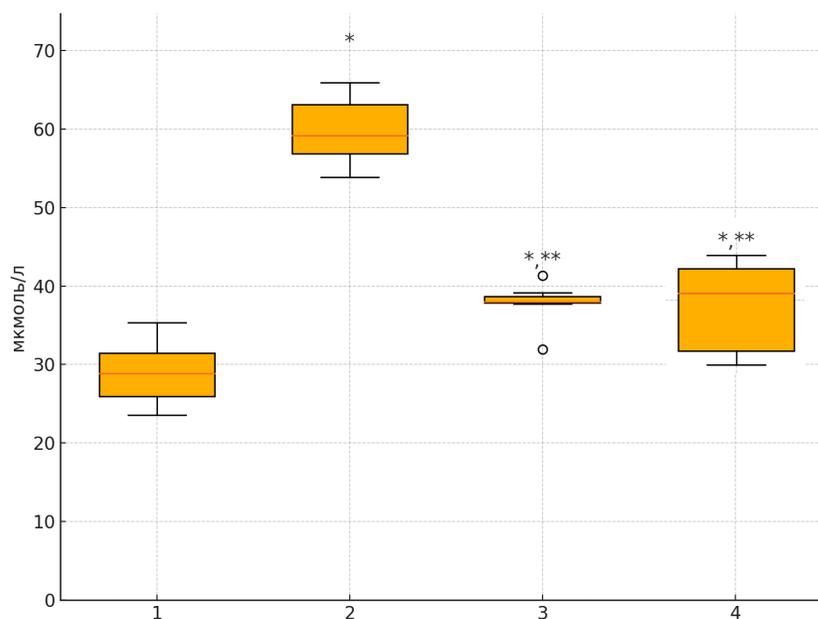


Рис. 4.3. Концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактивів) у крові (після її інкубації у прооксидантному буферному розчині) контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання піролідиндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Попри зниження відносно запалення, рівні ТБК-реактивів у групах 3 і 4 залишалися вищими за показники інтактних тварин (група 1): на 30.3% ( $P < 0.001$ ) для групи 3 та 34.5% ( $P < 0.01$ ) для групи 4.

Отримані дані свідчать, що обидва агенти знижують індуковану прооксидантним середовищем чутливість крові до ПОЛ, однак повне відновлення антиоксидантного балансу до рівня інтактних тварин не досягається.

У тварин, яким вводили піролідіндитіокарбамат амонію (група 3) або диметилфумарат (група 4), спостерігалось достовірне зниження приросту ТБК-реактивів порівняно з тваринами без корекції (рис. 4.4).

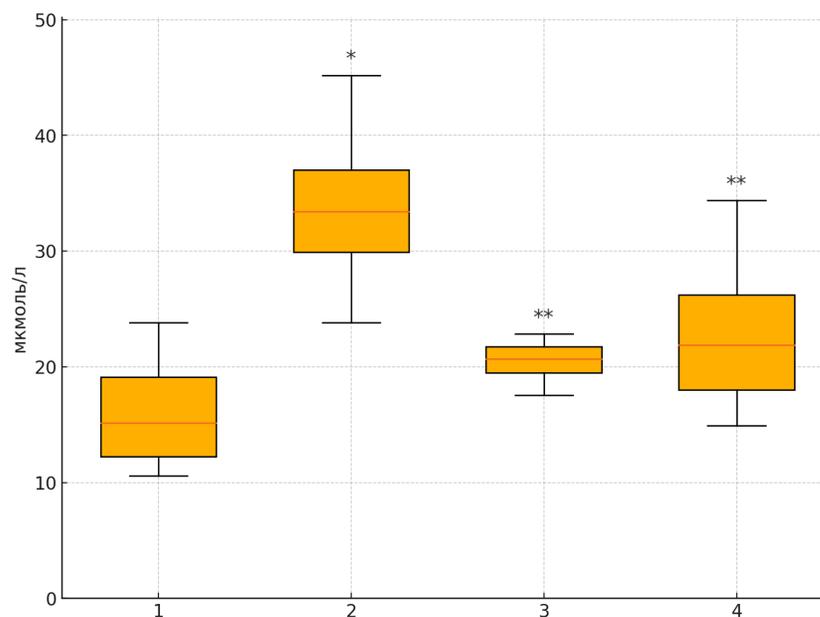


Рис. 4.4. Приріст концентрації ТБК-активних сполук за час 1,5-годинної інкубації крові у прооксидантному залізо-аскорбатному буферному розчині у контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання піролідіндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Середнє значення в групі 3 становило  $20.5 \pm 0.7$  мкмоль/л, а в групі 4 –  $22.8 \pm 2.5$  мкмоль/л. Ці результати на 39.3% ( $P < 0.001$ ) і 32.5% ( $P < 0.02$ ) поступалися відповідним значенням 2-ї групи та вірогідно не відрізнялися від даних інтактних тварин.

Таким чином, обидва агенти ефективно знижують чутливість крові до прооксидантного навантаження, однак не повністю відновлюють показник до фізіологічного рівня, що свідчить про часткову реалізацію антиоксидантного потенціалу на тлі системної запальної відповіді.

#### **Висновки до п. 4.1.**

1. Застосування піролідиндитіокарбамату амонію (інгібітора NF- $\kappa$ B) та диметилфумарату (активатора Nrf2) на тлі моделювання СЗВ сприяє достовірному зниженню концентрації церулоплазміну порівняно з некоригованою групою, однак не забезпечує повного повернення до рівня інтактних тварин, що вказує на часткову компенсацію прозапального фону.

2. Введення зазначених сполук також призводить до зниження вмісту ТБК-реактивів у крові як до, так і після її інкубації у прооксидантному буферному середовищі. При цьому концентрація ТБК-активних продуктів достовірно зменшується відносно групи СЗВ, але залишається підвищеною порівняно з контролем, що свідчить про обмежену ефективність нейтралізації ПОЛ.

3. Аналіз приросту ТБК-реактивів під час 1,5-годинної інкубації крові в умовах прооксидантного навантаження ( $Fe^{2+}$ /аскорбат) виявив, що обидві сполуки вірогідно зменшують інтенсивність окиснювальних процесів порівняно з ЛПС-групою. При цьому значення приросту у тварин, яким вводили піролідиндитіокарбамат амонію або диметилфумарат, не відрізнялися від показників інтактної групи.

4. Сукупні дані вказують на те, що як інгібування шляху NF-κB, так і активація Nrf2 сприяє зменшенню проявів системної запальної відповіді та оксидативного стресу в крові щурів за умов введення ЛПС.

#### 4.2. Вплив специфічних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в крові щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді

*Активність ізоформ NO-синтази в сироватці крові щурів* (таблиця 4.1). У тварин, яким вводили піролідиндитіокарбамат амонію (група 3) або диметилфумарат (група 4) на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді, спостерігалось достовірне зниження активності всіх ізоформ NOS в сироватці крові порівняно з тваринами без корекції (група 2).

Таблиця 4.1

#### Вплив специфічних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на активність ізоформ NO-синтази в сироватці крові щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (M±m)

Умови дослідження	Активність NO-синтази, мкмоль NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /Г·хв.		
	Загальна	Конститутивна	Індуцибельна
1	2	3	4
Контроль (n = 7)	0.70 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.57 ± 0.01

Продовження табл. 4.1

1	2	3	4
Моделювання ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (n = 7)	2.16 ± 0.09 *	0.38 ± 0.04 *	1.79 ± 0.05 *
Введення піролідиндитіокарбамату амонію на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (n = 7)	0.89 ± 0.02 *,**	0.07 ± 0.01 *,**	0.82 ± 0.02 *,**
Введення диметилфумарату на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (n = 7)	0.89 ± 0.03 *,**	0.08 ± 0.01 *,**	0.81 ± 0.03 *,**

Примітка:

1. \* P<0.05 порівняно зі значеннями контролю;
2. \*\* P<0.05 порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Так, загальна активність NOS у групах 3 і 4 на 58.8% (P < 0.001) була нижчою щодо значень у тварин 2-ї групи. При цьому показники залишалися підвищеними на 27.1% (P < 0.001) порівняно з контролем.

Конститутивна активність NOS в обох досліджуваних групах вірогідно знижувалася, що на 81.6% (група 3) та 78.9% (група 4) було меншим (при значенні P < 0.001 для обох варіаційних рядів), ніж у групі 2. Порівняно з інтактними тваринами, ці результати були також зниженими – на 46.2% і 38.5% відповідно (при значенні P < 0.01 для обох).

Індуцибельна форма ферменту, яка зазнала найбільшого зростання при індукції СЗВ, знижувалася на 54.2% і 54.7% відповідно (при значенні

$P < 0.001$  для обох варіаційних рядів). Порівняно з контролем, у цих групах активність iNOS була підвищеною на 43.9% (група 3) та 42.1% (група 4) (при значенні  $P < 0.001$  для обох груп).

Отже, введення як піролідиндитіокарбамату амонію, так і диметилфумарату на тлі ЛПС-індукованої СЗВ сприяє значному зниженню як індукбельної, так і загальної активності NO-синтази, при цьому не відновлюючи повністю баланс між її ізоформами до рівня, притаманного інтактним тваринам.

*Активність аргінази у сироватці крові* (рис. 4.5). У тварин, яким вводили піролідиндитіокарбамат амонію (група 3) або диметилфумарат (група 4) на тлі ЛПС-індукованої СЗВ, спостерігалось достовірно підвищення загальної аргіназної активності в сироватці крові порівняно з тваринами без корекції (група 2). Зокрема, рівень аргіназної активності у групі 3 становив  $0.62 \pm 0.03$  мкмоль/хв·г білка, що на 34.8% ( $P < 0.001$ ) було вищим за результат 2-ї групи. Проте це значення залишалось нижчим від показника контрольної групи на 16.2% ( $P < 0.05$ ).

У групі 4 цей показник загальної аргіназної активності дорівнював  $0.64 \pm 0.03$  мкмоль/хв·г білка, що на 39.1% ( $P < 0.001$ ) перевищувало значення групи 2 та істотно не відрізнялося від даних інтактних тварин.

Таким чином, диметилфумарат у досліджуваних умовах виявився ефективнішим у відновленні аргіназної активності до фізіологічного рівня порівняно з піролідиндитіокарбаматом амонію.

#### **Висновки до п. 4.2.**

1. Застосування піролідиндитіокарбамату амонію (інгібітору NF- $\kappa$ B) і диметилфумарату (активатора Nrf2) на тлі ЛПС-індукованої СЗВ сприяло достовірному зниженню активності у сироватці крові всіх ізоформ NO-

синтази. Зокрема, загальна активність ферменту в обох експериментальних групах була зменшена на 58.8% порівняно з тваринами без корекції. Водночас, значення залишалися підвищеними щодо інтактних тварин на 27.1%, що свідчить про лише часткову коригувальну дію сполук, що досліджувалися.

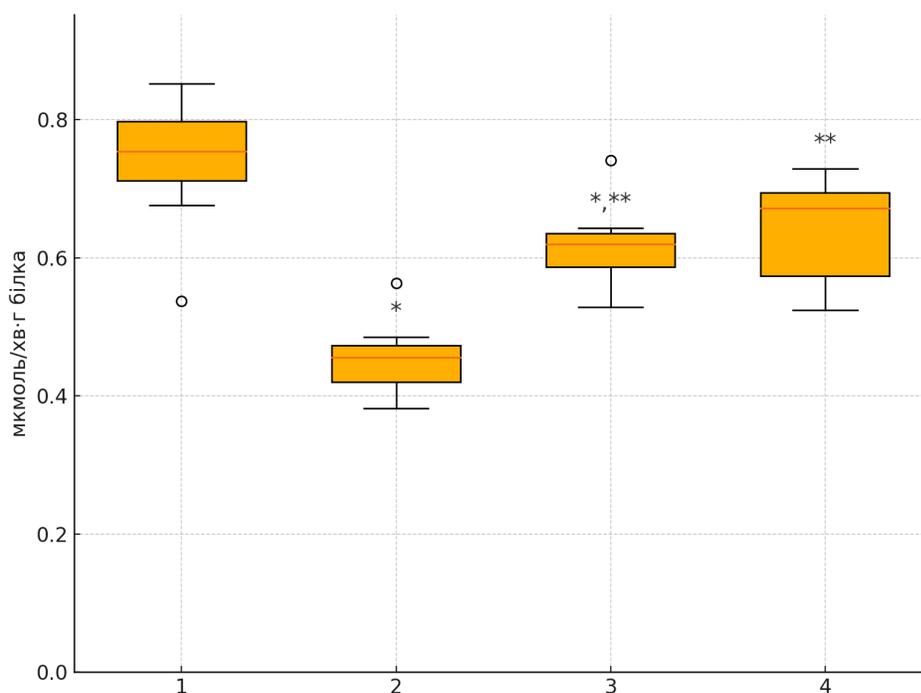


Рис. 4.5. Загальна аргіназна активність у сироватці крові контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання піролідіндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

2. Найбільше пригнічення було зафіксовано для конститутивної форми NO-синтази, активність якої у сироватці крові зменшувалась на

понад 78% відносно групи СЗВ. Порівняно з інтактними тваринами, цей показник був також знижений, що вказує на можливе супресивне переналаштування регуляції базального NO-синтезу за умов введення піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату.

3. Активність індукбельної NO-синтази у сироватці крові, яка найбільш зростала при моделюванні СЗВ, достовірно знижувалася під дією обох модуляторів транскрипційних факторів, але вона все ж таки залишалася підвищеною щодо контролю, що може свідчити про збереження залишкової прозапальної активності ферменту.

4. На відміну від NO-синтазної активності, загальна аргіназна активність у сироватці крові під впливом обох сполук підвищувалася порівняно з групою СЗВ: на 36.0% у групі піролідиндитіокарбамату амонію та на 40.0% у групі диметилфумарату. Проте лише у випадку диметилфумарату аргіназна активність не відрізнялася від показника інтактних тварин, що вказує на більш потужний відновлювальний потенціал цієї сполуки.

5. Отримані результати свідчать, що модуляція активності транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 здатна впливати на ключові шляхи метаболізму L-аргініну. При цьому диметилфумарат продемонстрував більш збалансований вплив – з ефективним пригніченням надмірного синтезу NO та одночасним відновленням аргіназної активності до контрольних значень, що вказує на перевагу його застосування як потенційного коректора порушень NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну за умов СЗВ.

### 4.3. Вплив специфічних модуляторів факторів транскрипції NF- $\kappa$ B і Nrf2 на джерела продукції супероксидного аніон-радикала в слъзових залозах щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді

Загальний фон генерування супероксидного аніон-радикала у гомогенаті слъзових залоз (рис. 4.6). Застосування піролідиндитіокарбамату амонію на тлі ЛПС-індукованої СЗВ значно знижувало загальну продукцію супероксидного аніон-радикала.

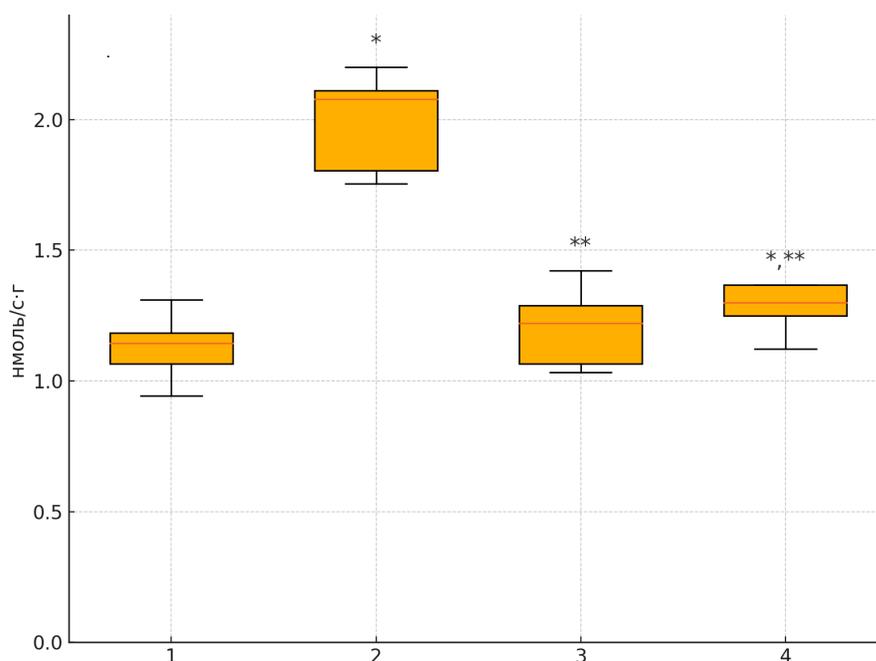


Рис. 4.6. Загальний фон генерування супероксидного аніон-радикала у гомогенаті слъзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання піролідиндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Значення цього показника зменшується до  $1.20 \pm 0.06$  нмоль/с·г, що на 39.4% ( $P < 0.001$ ) було меншим за результат 2-ї групи.

Введення диметилфумарату за умов експерименту також супроводжувалося зменшенням цього показника до  $1.29 \pm 0.03$  нмоль/с·г, що на 34.8% ( $P < 0.001$ ) поступалося значенню 2-ї групи, але все ж таки на 14.2% ( $P < 0.01$ ) перевищувало контроль.

*Продукція супероксидного аніон-радикала NADPH-залежними електронно-транспортними ланцюгами у гомогенаті слюзових залоз (рис. 4.7).*

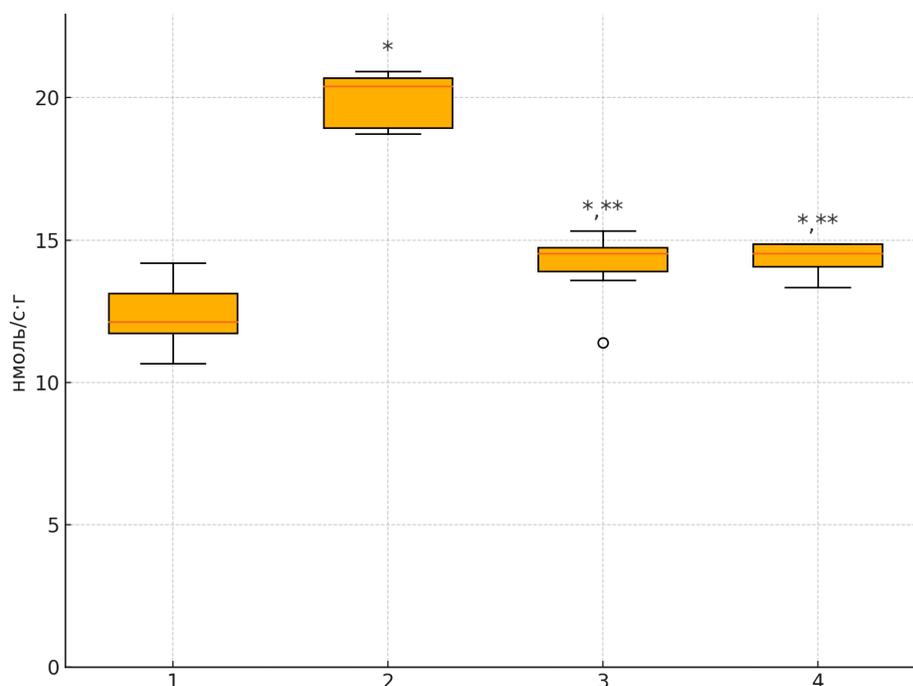


Рис. 4.7. Вироблення супероксидного аніон-радикала NADPH-залежними електронно-транспортними ланцюгами у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання піролідіндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Призначення піролідиндитіокарбамату амонію на тлі ЛПС-індукованої СЗВ значно знижувало вироблення супероксидного аніон-радикала NADPH-залежними електронно-транспортними ланцюгами (мікросомальними монооксигеназами та NOS) – до  $14.08 \pm 0.49$  нмоль/с·г, що на 31.0% ( $P < 0.001$ ) було меншим за результат 2-ї групи.

Застосування диметилфумарату за умов експерименту знижувало цей показник до  $14.37 \pm 0.23$  нмоль/с·г, що на 29.6% ( $P < 0.001$ ) поступалося значенню 2-ї групи, але все ж таки на 16.0% ( $P < 0.01$ ) перевищувало контроль.

*Продукція супероксидного аніон-радикала мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом у гомогенаті слюзових залоз (рис. 4.8).*

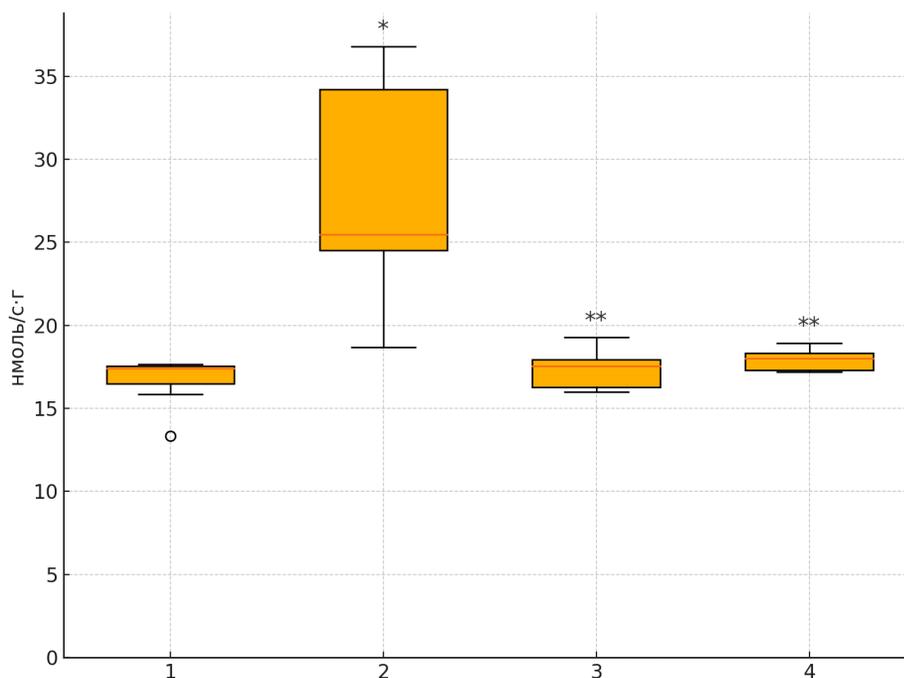


Рис. 4.8. Продукція супероксидного аніон-радикала NADH-залежним електронно-транспортним ланцюгом у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання

піролідиндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Застосування піролідиндитіокарбамату амонію на тлі ЛПС-індукованої СЗВ супроводжувалося суттєвим зменшенням генерування супероксидного аніон-радикала NADPH-залежним (мітохондріальним) електронно-транспортним ланцюгом – до  $17.32 \pm 0.45$  нмоль/с·г, що на 38.9% ( $P < 0.01$ ) було меншим за результат 2-ї групи.

Введення диметилфумарату за умов експерименту також супроводжувалося зниженням цього показника до  $17.92 \pm 0.26$  нмоль/с·г, що на 36.7% ( $P < 0.01$ ) поступалося значенню 2-ї групи та вірогідно не відрізнялося від результату інтактних тварин.

*Продукція супероксидного аніон-радикала NADPH-оксидазою лейкоцитів у гомогенаті слюзових залоз (рис. 4.9).* Призначення піролідиндитіокарбамату амонію на тлі ЛПС-індукованої СЗВ значно знижувало вироблення супероксидного аніон-радикала NADPH-оксидазою лейкоцитів – до  $2.06 \pm 0.04$  нмоль/с·г, що на 52.8% ( $P < 0.001$ ) було меншим за результат 2-ї групи.

Застосування диметилфумарату за умов експерименту знижувало цей показник до  $1.91 \pm 0.15$  нмоль/с·г, що на 56.2% ( $P < 0.001$ ) поступалося значенню 2-ї групи та вірогідно не відрізнялося від результату інтактних тварин.

### **Висновки до п. 4.3.**

1. Введення специфічних модуляторів транскрипційних чинників NF- $\kappa$ B (піролідиндитіокарбамату амонію) та Nrf2 (диметилфумарату) щурам із

ЛПС-індукованою СЗВ ефективно знижує у тканинах слюзових залоз загальний фон вироблення супероксидного аніон-радикала.

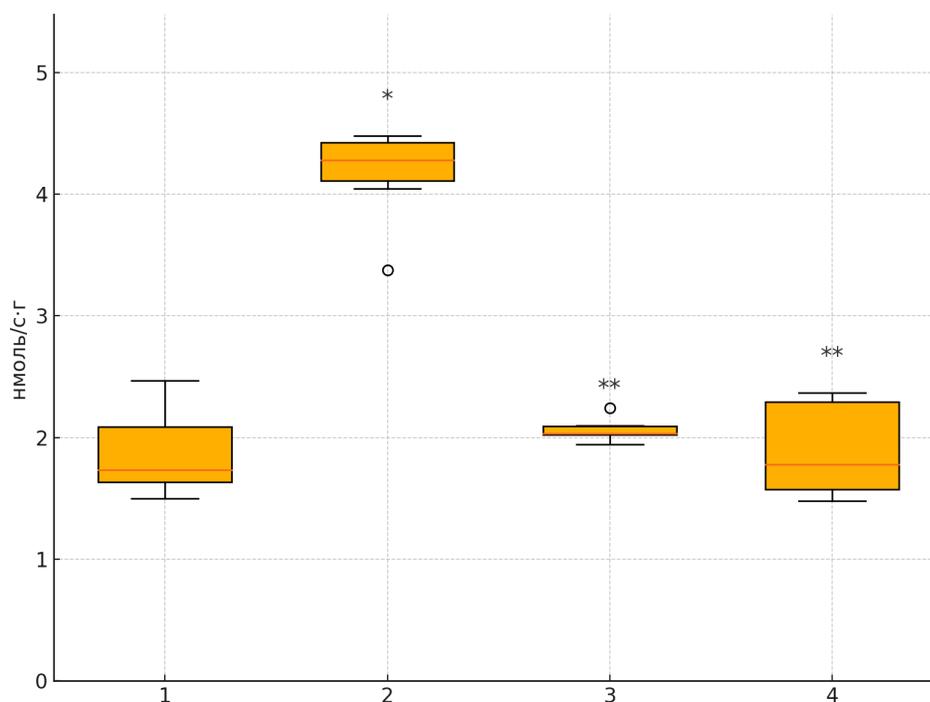


Рис. 4.9. Генерація супероксидного аніон-радикала NADPH-оксидазою лейкоцитів у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання піролідиндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

2. Механізм обмеження генерування супероксидного аніон-радикала у тканинах слюзових залоз пов'язаний з гальмівною дією піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату на такі його джерела, як-от мікросомальні монооксигенази та NOS, мітохондріальний електронно-транспортний ланцюг і NADPH-оксидаза лейкоцитів.

#### 4.4. Вплив специфічних модуляторів факторів транскрипції NF- $\kappa$ B і Nrf2 на показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в слюзових залозах щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді

*Активність ізоформ NO-синтази в гомогенаті слюзових залоз щурів.* Активність NOS є важливим показником функціонального стану слюзових залоз, особливо в умовах СЗВ, оскільки NO відіграє важливу роль у регуляції судинного тонуусу, імунної відповіді та окисно-відновного балансу. У цьому дослідженні було оцінено вплив модуляторів NF- $\kappa$ B і Nrf2 на загальну, конститутивну та індукційну активність NOS за умов експерименту (таблиця 4.2).

*Таблиця 4.2*

*Вплив модуляторів NF- $\kappa$ B і NRF2 на активність NO-синтази в гомогенаті слюзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (M $\pm$ m)*

Умови досліджу	Активність NO-синтази, мкмоль NO $_2^-$ /г $\cdot$ хв.		
	Загальна	Конститутивна	Індукційна
1	2	3	4
Контроль	7.03 $\pm$ 0.35	0.65 $\pm$ 0.04	6.39 $\pm$ 0.32
Моделювання ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	13.18 $\pm$ 0.53 *	0.28 $\pm$ 0.04 *	12.90 $\pm$ 0.49 *

Продовження табл. 4.2

1	2	3	4
Введення піролідіндитіокарбамату амонію на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	8.63±0.62 *,**	0.45±0.08 *	8.18±0.56 *,**
Введення диметилфумарату на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	10.32±0.34 *,**	0.46±0.07 *,**	9.86±0.29 *,**

Примітка:

1. \* P<0.05 порівняно зі значеннями контролю;
2. \*\* P<0.05 порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Введення піролідіндитіокарбамату амонію на тлі ЛПС-індукованої СЗВ сприяло зменшенню загальної активності NOS 34.5% (P<0.001) порівняно зі значенням 2-ї групи. При цьому іNOS залишалася підвищеною, хоча її активність була на 36.6% (P<0.001) нижчою, ніж у 2-й групі. Водночас конститутивна форма ферменту істотно не змінювала свою активність.

Активація Nrf2 за допомогою диметилфумарату також мала позитивний ефект на NOS, загальна активність якої знижувалася на 21.7% (P<0.001), а активність іNOS – на 23.6% (P<0.001) порівняно з результатами 2-ї групи. Активність сNOS на 64.3% (P<0.05) перевищувала відповідне значення 2-ї групи.

*Індекс спряження сNOS у гомогенаті слюзових залоз щурів (рис. 4.10).* Введення піролідіндитіокарбамату амонію та диметилфумарату

сприяло частковому відновленню індексу спряження cNOS, підвищуючи його до  $0.031 \pm 0.005$  і  $0.032 \pm 0.005$ , тобто на 121% і 128% відповідно (обидва за  $P < 0.001$ ) порівняно зі значенням 2-ї групи. Проте все ж таки ці результати на 41.5% і 39.6% відповідно (обидва за  $P < 0.05$ ) були меншими за значення інтактних тварин.

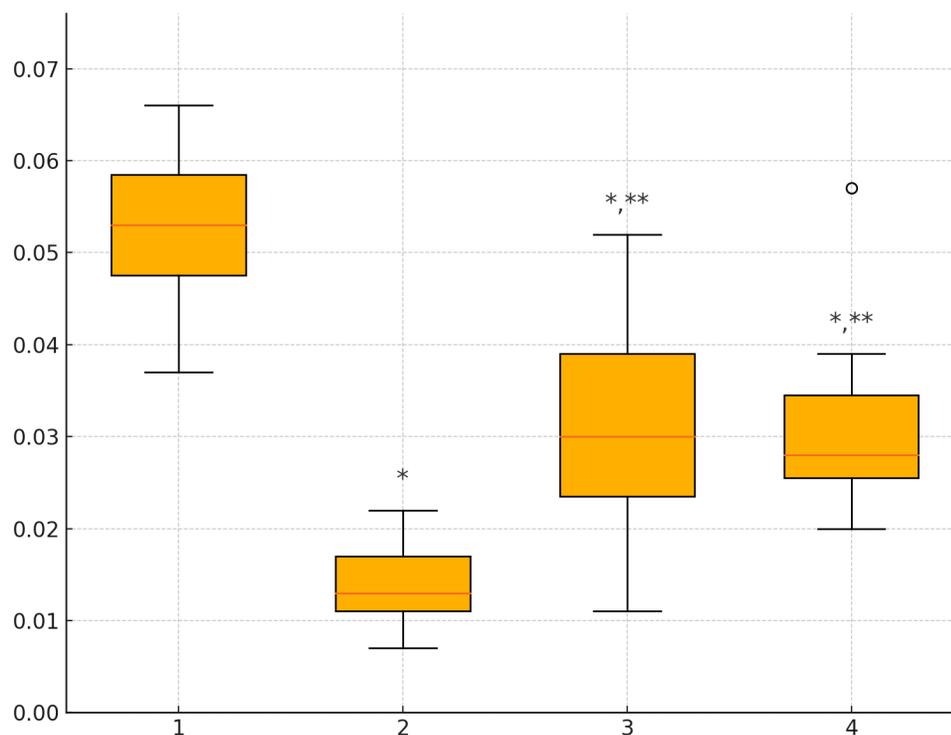


Рис. 4.10. Індекс спряження cNOS у гомогенаті сліззових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання піролідиндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Це свідчить про здатність зазначених модуляторів покращувати біосинтез NO шляхом зменшення роз'єднання cNOS.

Активність орнітиндекарбоксилази в гомогенаті слюзових залоз щурів (рис. 4.11). Застосування піролідіндитіокарбамату амонію на тлі ЛПС-індукованої СЗВ підвищувало загальну активність орнітиндекарбоксилази – до  $267.2 \pm 24.7$  нмоль/г·хв, що на 76.8% ( $P < 0.01$ ) перевищувало результат 2-ї групи.

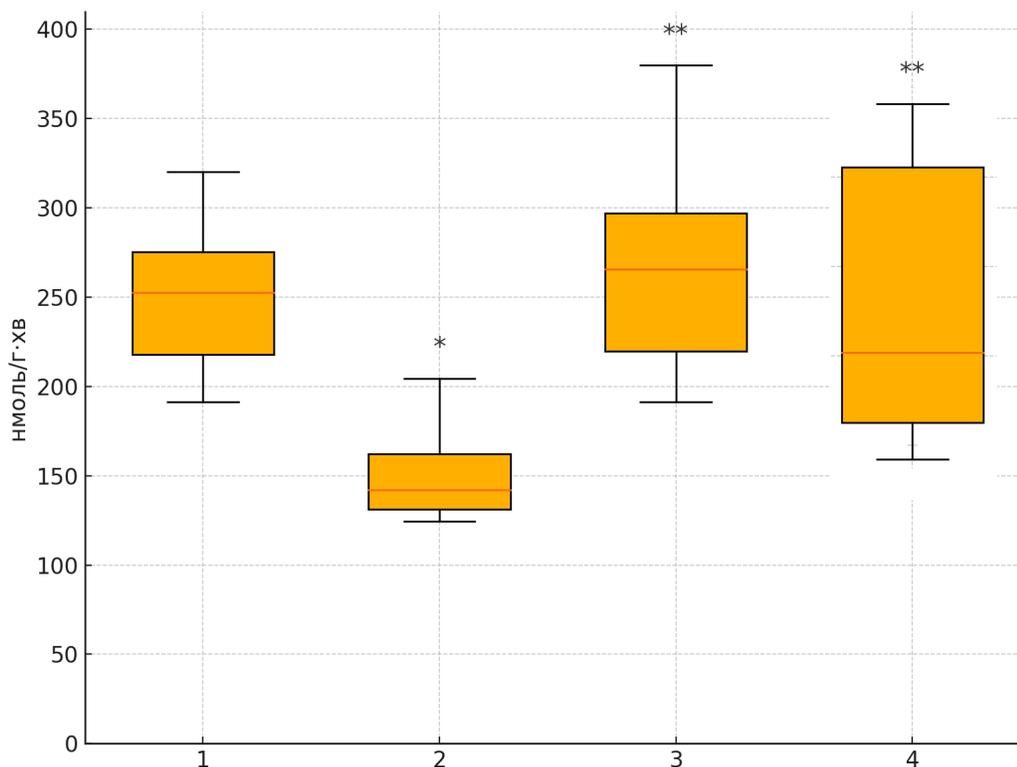


Рис. 4.11. Активність орнітиндекарбоксилази в гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання піролідіндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Введення диметилфумарату за умов експерименту також супроводжувалося зростанням цього показника до  $231.7 \pm 32.3$  нмоль/г·хв,

що на 53.3% ( $P < 0.05$ ) було більшим за значення 2-ї групи та істотно не відрізнялося від результату інтактних тварин.

#### **Висновки до п. 4.4.**

1. Введення інгібітора NF- $\kappa$ B – піролідиндитіокарбамату амонію на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді сприяє істотному зниженню загальної активності NO-синтази в гомогенаті слъзових залоз. При цьому значно зменшується активність індукцибельної ізоформи ферменту, що свідчить про гальмування патологічної надпродукції оксиду азоту. Конститутивна ізоформа ферменту не зазнає істотних змін.

2. Активація транскрипційного фактора Nrf2 за допомогою диметилфумарату має подібний ефект на загальну та індукцибельну активність NO-синтази в гомогенаті слъзових залоз. Водночас активність cNOS вірогідно зростає, що свідчить про позитивний вплив диметилфумарату на відновлення фізіологічного шляху синтезу оксиду азоту.

3. Введення піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату сприяє частковому відновленню у гомогенаті слъзових залоз індексу спряження cNOS, який відображає ефективність утворення NO без надмірного утворення супероксидного аніон-радикала, проте значення індексу залишаються нижчими за показники інтактних тварин, що свідчить про неповне відновлення функціональної спряженості ферменту.

4. Введення піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату зумовлює підвищення активності орнітиндекарбоксілази в гомогенаті слъзових залоз, що є ферментом аргіназного шляху метаболізму L-аргініну та відображає проліферативні й репаративні процеси в тканинах.

5. Отримані результати свідчать, що як інгібування шляху NF-κB, так і активація Nrf2, чинять коригувальний вплив на ключові ферменти метаболізму L-аргініну в слъзових залозах за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Обидва підходи сприяють пригніченню надлишкового утворення оксиду азоту за рахунок індукції NO-синтази.

6. Порівняльний аналіз ефективності впливу показав, що диметилфумарат, як активатор Nrf2, має дещо ширший відновлювальний потенціал порівняно з піролідіндитіокарбаматом амонію, оскільки не лише зменшує надмірний синтез оксиду азоту, але й сприяє відновленню активності конститутивної NO-синтази, що відображає глибшу корекцію метаболічних порушень у тканинах слъзових залоз.

#### **4.5. Вплив специфічних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на концентрацію активних форм нітрогену в слъзових залозах щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді**

*Вміст пероксинітритів у гомогенаті слъзових залоз щурів (рис. 4.12).* Застосування піролідіндитіокарбамату амонію та диметилфумарату значно знижувало вміст пероксинітритів лужних і лужноземельних металів – до  $1.36 \pm 0.04$  і  $1.33 \pm 0.05$  мкмоль/г відповідно, що на 62.0% і 62.8% (обидва за  $P < 0.001$ ) було меншим порівняно з відповідними значеннями 2-ї групи. Проте все ж таки ці результати на 18.3% ( $P < 0.02$ ) і 15.7% ( $P < 0.05$ ) відповідно перевищували значення інтактних тварин.

*Концентрація S-нітрозотіолів у гомогенаті слъзових залоз щурів (рис. 4.13).* Під впливом піролідіндитіокарбамату амонію та

диметилфумарату вміст низькомолекулярних S-нітрозотіолів становив  $0.79 \pm 0.02$  і  $0.85 \pm 0.04$  мкмоль/г, що на 16.8% ( $P < 0.001$ ) і 10.5% ( $P < 0.05$ ) було меншим за відповідні значення 2-ї групи та вірогідно не відрізнялося від показника інтактних тварин.

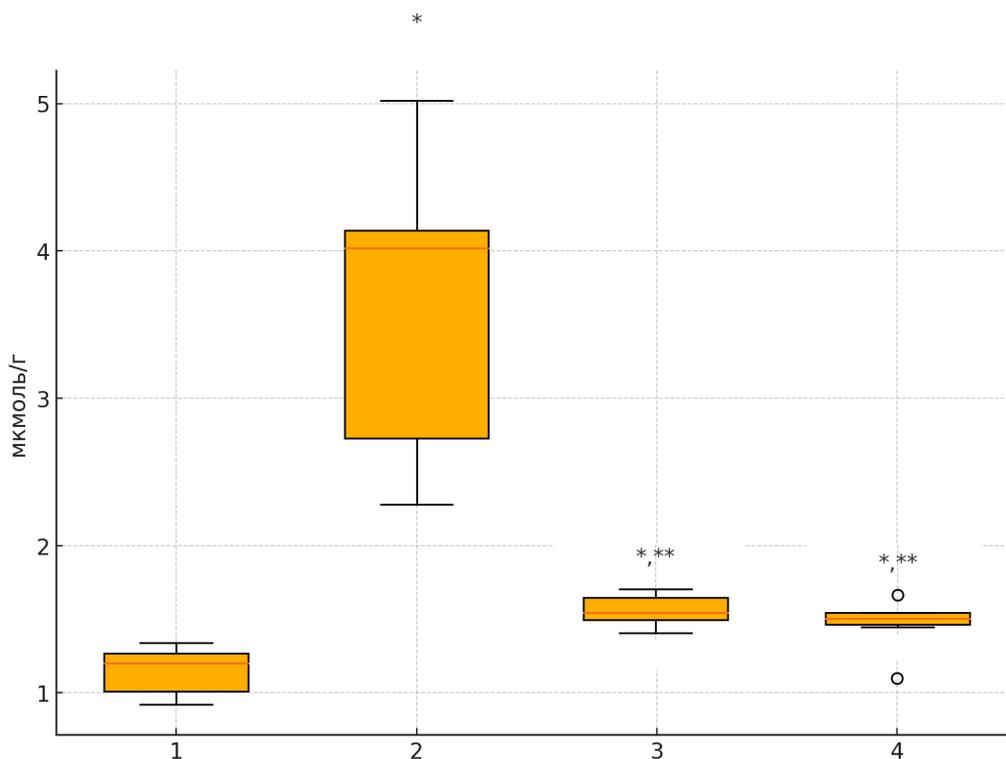


Рис. 4.12. Концентрація пероксинітритів лужних і лужноземельних металів у гомогенаті слъзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання піролідиндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

#### Висновки до п. 4.5

1. Введення піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату на тлі індукованого запалення вірогідно знижує концентрацію

пероксинітритів у гомогенаті слюзових залоз. Проте обидва значення перевищували показник інтактних тварин, що може свідчити про неповну корекцію нітрозативного стресу.

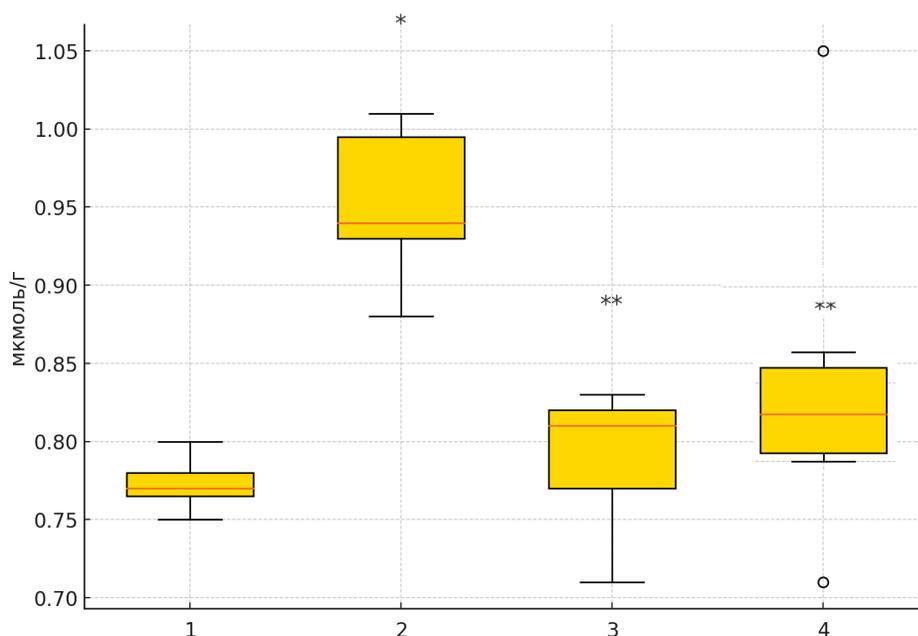


Рис. 4.13. Вміст S-нітрозотіолів у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання піролідиндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

2. Введення специфічних модуляторів транскрипційних факторів NF- $\kappa$ B і Nrf2 також сприяє зменшенню концентрації S-нітрозотіолів – стабільних резервних форм оксиду азоту.

3. Отримані дані свідчать, що піролідиндитіокарбамат амонію (інгібітор NF- $\kappa$ B) і диметилфумарат (активатор Nrf2) здатні знижувати прояви нітрозативного стресу в слюзових залозах за умов системної

запальної відповіді. Це реалізується шляхом зменшення утворення токсичних форм азоту, таких як пероксинітрит, а також нормалізації вмісту біологічно активних S-нітрозотіолів, що підтверджує потенціал цих сполук у корекції оксидативно-нітрозативного дисбалансу в умовах СЗВ.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях [27] і тезах [20, 21].

**РОЗДІЛ 5**  
**ВПЛИВ ПРИРОДНИХ МОДУЛЯТОРІВ ФАКТОРІВ ТРАНСКРИПЦІЇ**  
**NF-κB І NRF2 НА ПОКАЗНИКИ ЗАПАЛЕННЯ ТА**  
**ОКСИДАТИВНОГО МЕТАБОЛІЗМУ В КРОВІ ТА СЛЪОЗОВИХ**  
**ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВНУТРІШНЬООЧЕРЕВИННОГО**  
**ВВЕДЕННЯ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ *S. TYPHI***

**5.1. Вплив природних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники системної запальної відповіді в крові щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді**

*Концентрація церулоплазміну у сироватці крові* (рис. 5.1). У тварин, яким вводили кверцетин (група 5) або сульфорафан (група 6) на тлі ЛПС-індукованої СЗВ, зменшувалася концентрація церулоплазміну в сироватці крові порівняно з показниками групи запалення (група 2). Зокрема, вміст церулоплазміну в групі 5 становив  $305.4 \pm 8.6$  мг/л, що на 29.3% ( $P < 0.001$ ) нижче, ніж у тварин із моделлю СЗВ без корекції, тоді як у групі 6 він знизився до  $303.6 \pm 6.9$  мг/л, тобто на 29.7% ( $P < 0.001$ ) поступався результату 2-ї групи. Порівняно з інтактними тваринами (група 1), значення цього показника у групах 5 і 6 залишалися підвищеними на 17.9 і 17.2% відповідно (при значенні  $P < 0.01$  для обох варіаційних рядів).

Отримані результати свідчать про здатність природних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2, що досліджувалися, знижувати індуковане ліпополісахаридом підвищення вмісту церулоплазміну, однак повне відновлення до фізіологічних значень не відбувається.

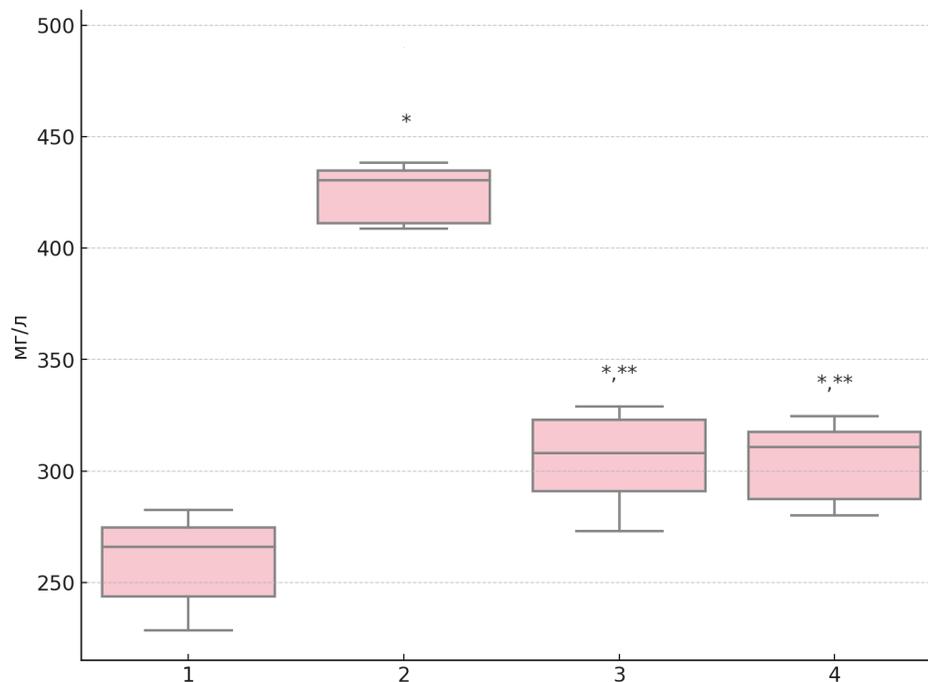


Рис. 5.1. Концентрація церулоплазміну у сироватці крові контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання кверцетину (3) та сульфорафану (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

*Концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактантів) у крові. У тварин, яким вводили кверцетин (група 5) або сульфорафан (група 6) на тлі ЛПС-індукованої СЗВ (рис. 5.2), спостерігалось зниження вмісту вторинних продуктів ПОЛ (ТБК-реактантів) у крові порівняно з показниками тварин без корекції (група 2). Концентрація ТБК-реактантів у групі 5 становила  $13.6 \pm 1.0$  мкмоль/л, що на 50.5% ( $P < 0.001$ ) нижче, ніж у групі 2, тоді як у групі 6 цей показник дорівнював  $15.4 \pm 0.7$  мкмоль/л, що відповідає зниженню на 44.0% ( $P < 0.001$ ).*

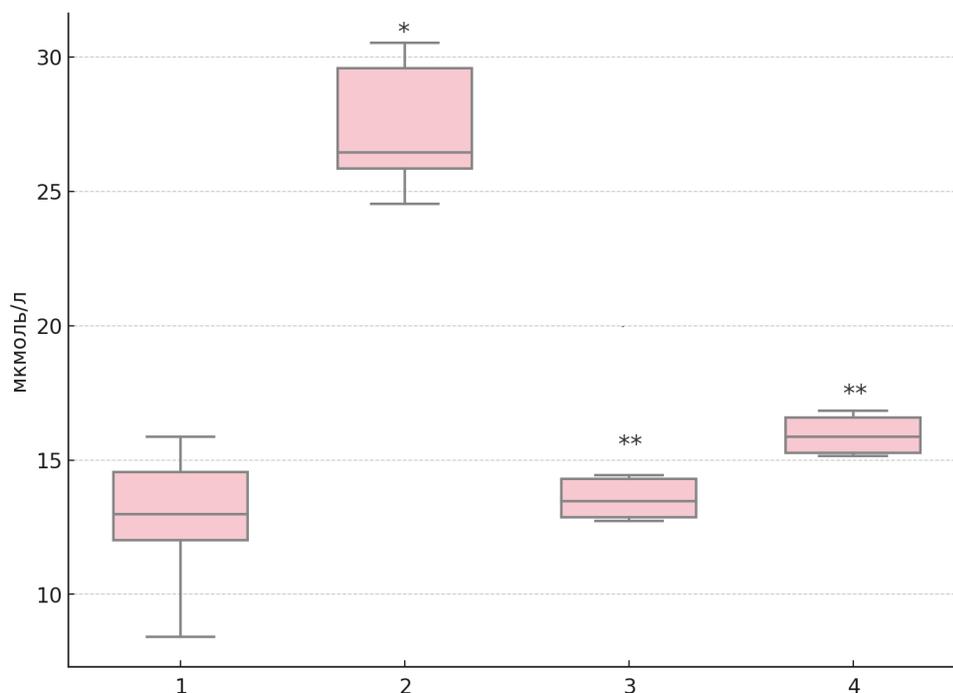


Рис. 5.2. Концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактантів) у крові (до її інкубації у прооксидантному буферному розчині) контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання кверцетину (3) та сульфорафану (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Одержані результати вірогідно не відрізнялися від значення інтактних тварин.

Таким чином, природні модулятори факторів транскрипції NF- $\kappa$ B і Nrf2, що досліджувалися, суттєво зменшують за умов експерименту інтенсивність ПОЛ у крові щурів, відновлюючи його до фізіологічних значень, що може свідчити про суттєву нейтралізацію прооксидантного ефекту, індукованого ЛПС.

У тварин, кров яких інкубували в прооксидантному буферному розчині після введення кверцетину (група 5) або сульфорафану (група 6), спостерігалось суттєве зниження рівня ТБК-реактантів (рис. 5.3) порівняно з показниками групи СЗВ без корекції (група 2). Так, концентрація ТБК-реактантів у групі 5 становила  $32.1 \pm 2.0$  мкмоль/л, що було на 47.5% ( $P < 0.001$ ) нижчим, ніж у групі 2. У групі 6 цей показник дорівнював  $34.3 \pm 1.7$  мкмоль/л, що на 44.0% ( $P < 0.001$ ) нижче, ніж у тварин із моделлю СЗВ без втручання.

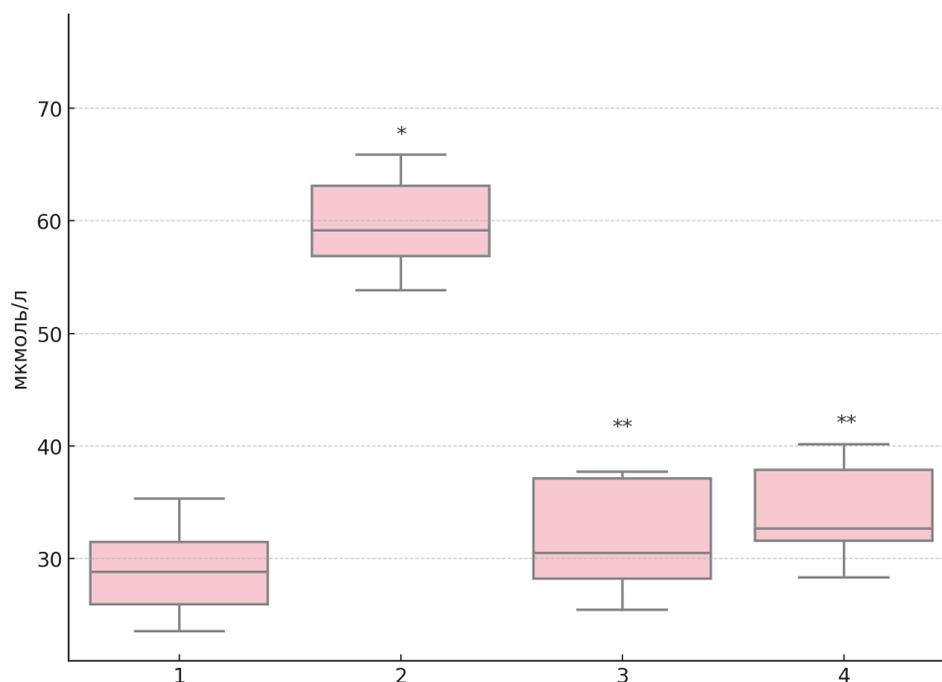


Рис. 5.3. Концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактантів) у крові (після її інкубації у прооксидантному буферному розчині) контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання кверцетину (3) та сульфорафану (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Введення кверцетину та сульфорафану не зумовлювало вірогідних змін концентрації ТБК-реактивів у крові після її інкубації в прооксидантному буферному розчині порівняно зі значенням інтактних тварин.

Отримані дані свідчать, що застосування за умов експерименту природних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2, що досліджувалися, суттєво підвищують антиоксидантний потенціал крові.

У тварин, яким вводили кверцетин (група 5) або сульфорафан (група 6), спостерігалось достовірне зниження приросту ТБК-реактивів порівняно з тваринами без корекції (рис. 5.4). Середні значення в групі 5 становило  $18.4 \pm 1.9$  мкмоль/л, а в групі 6 –  $18.9 \pm 1.8$  мкмоль/л.

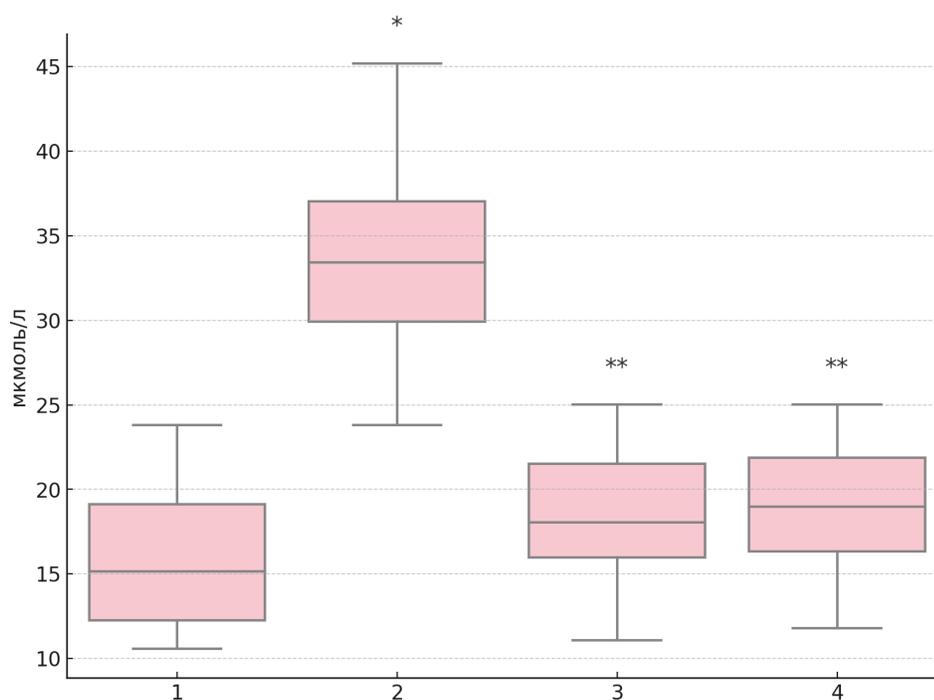


Рис. 5.5. Приріст концентрації ТБК-активних сполук за час 1,5-годинної інкубації крові у прооксидантному залізо-аскорбатному буферному розчині у контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення

на тлі її моделювання кверцетину (3) та сульфорафану (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Ці результати на 45.6 і 44.1% (при значенні  $P < 0.001$  для обох) поступалися відповідним значенням 2-ї групи та вірогідно не відрізнялися від даних інтактних тварин.

Таким чином, природні модулятори факторів транскрипції NF- $\kappa$ B і Nrf2, що досліджувалися, ефективно знижують чутливість крові до прооксидантного навантаження, значно підвищують антиоксидантний потенціал крові на тлі системної запальної відповіді.

### **Висновки до п. 5.1.**

1. Застосування природних модуляторів транскрипційних факторів NF- $\kappa$ B (кверцетину) і Nrf2 (сульфорафану) достовірно знижує концентрацію церулоплазміну в сироватці крові щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Незважаючи на зменшення рівня цього маркера гострої фази порівняно з тваринами без корекції, його значення залишається вищими за фізіологічні (у групі інтактних тварин), що свідчить про частковий, але не повний коригуючий вплив.

2. Концентрація ТБК-реактивів – вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів – у крові істотно знижується після введення кверцетину і сульфорафану. У досліджуваних групах значення цього показника не відрізняється від рівнів у контрольних тварин, що вказує на ефективне обмеження інтенсивності вільнорадикального окиснення ліпідів природними сполуками.

3. Після інкубації крові в прооксидантному залізо-аскорбатному середовищі вміст ТБК-реактивів у групах, яким вводили природні модулятори, достовірно зменшується порівняно з моделлю СЗВ без корекції. Це свідчить про значне посилення антиоксидантного захисту крові під впливом кверцетину та сульфорафану.

4. Приріст ТБК-реактивів за період інкубації крові, як інтегральний показник прооксидантного навантаження, був достовірно знижується під дією обох природних модуляторів. Показники в цих групах не відрізняються від контрольних значень, що демонструє ефективну протекторну дію обох сполук щодо пероксидного окиснення ліпідів.

5. Отримані результати свідчать, що кверцетин і сульфорафан як природні модулятори факторів транскрипції здатні зменшувати запальну відповідь і підвищувати антиоксидантний потенціал крові при ЛПС-індукованій СЗВ. Їх вплив реалізується як за рахунок зниження вмісту гострофазових білків, так і завдяки ефективній нейтралізації прооксидантного впливу ліпополісахариду.

## **5.2. Вплив природних модуляторів факторів транскрипції NF- $\kappa$ B і Nrf2 на показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в крові щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді**

*Активність ізоформ NO-синтази в сироватці крові щурів* (таблиця 5.1). У тварин, яким вводили кверцетин (група 5) або сульфорафан (група 6) на тлі ЛПС-індукованої СЗВ, спостерігалось достовірне зниження активності всіх ізоформ NOS в сироватці крові порівняно з тваринами без корекції 2-ї групи.

Так, загальна активність NOS у групах 5 і 6 на 55.1 і 51.9% відповідно (при значенні  $P < 0.001$  для обох варіаційних рядів) була нижчою щодо значень у тварин 2-ї групи. При цьому показники залишалися підвищеними на 38.6 і 48.6% відповідно ( $P < 0.001$  для обох) порівняно з контролем.

Таблиця 5.1

**Вплив природних модуляторів факторів транскрипції NF- $\kappa$ B і Nrf2 на активність ізоформ NO-синтази в сироватці крові щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (M+m)**

Умови досліджу	Активність NO-синтази, мкмоль $\text{NO}_2^-/\text{г}\cdot\text{хв.}$		
	Загальна	Конститутивна	Індуцибельна
Контроль (n = 7)	0.70 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.57 ± 0.01
Моделювання ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (n = 7)	2.16 ± 0.09 *	0.38 ± 0.04 *	1.79 ± 0.05 *
Введення кверцетину на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (n = 7)	0.97 ± 0.02 *,**	0.07 ± 0.01 *,**	0.90 ± 0.02 *,**
Введення сульфорафану на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (n = 7)	1.04 ± 0.04 *,**	0.08 ± 0.01 *,**	0.96 ± 0.04 *,**

Примітка:

1. \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю;
2. \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Активність cNOS в обох досліджуваних групах вірогідно знижувалася, що на 81.6% (група 5) та 78.9% (група 6) було меншим (при значенні  $P < 0.001$  для обох варіаційних рядів), ніж у групі 2. Порівняно з інтактними тваринами, ці результати були також зниженими – на 46.2% і 38.5% відповідно (при значенні  $P < 0.01$  для обох).

Активність iNOS знижувалася на 49.7 і 46.4% відповідно (при значенні  $P < 0.001$  для обох варіаційних рядів). Порівняно з контролем, у цих групах активність iNOS була підвищеною на 57.9% (група 5) та 68.4% (група 6) (при значенні  $P < 0.001$  для обох груп).

Отже, введення кверцетину та сульфорафану на тлі ЛПС-індукованої СЗВ сприяє значному зниженню як індукцйбельної, так і загальної активності NO-синтази, при цьому не відновлюючи повністю баланс між її ізоформами до рівня, притаманного інтактним тваринам.

*Активність аргінази у сироватці крові* (рис. 5.5). У тварин, яким вводили кверцетин (група 5) або сульфорафан (група 6) на тлі ЛПС-індукованої СЗВ, спостерігалось достовірне підвищення загальної аргіназної активності в сироватці крові порівняно з тваринами без корекції (група 2). Так, загальна аргіназна активність у групі 5 становила  $0.56 \pm 0.02$  мкмоль/хв·г білка, що на 21.7% ( $P < 0.01$ ) було вищим за результат 2-ї групи. Проте це значення залишалось нижчим від показника контрольної групи на 24.3% ( $P < 0.01$ ).

У групі 6 цей показник загальної аргіназної активності дорівнював  $0.57 \pm 0.03$  мкмоль/хв·г білка, що на 23.9% ( $P < 0.001$ ) перевищувало значення групи 2. Цей результат також залишався нижчим порівняно зі значенням інтактних тварин на 23.0% ( $P < 0.01$ ).

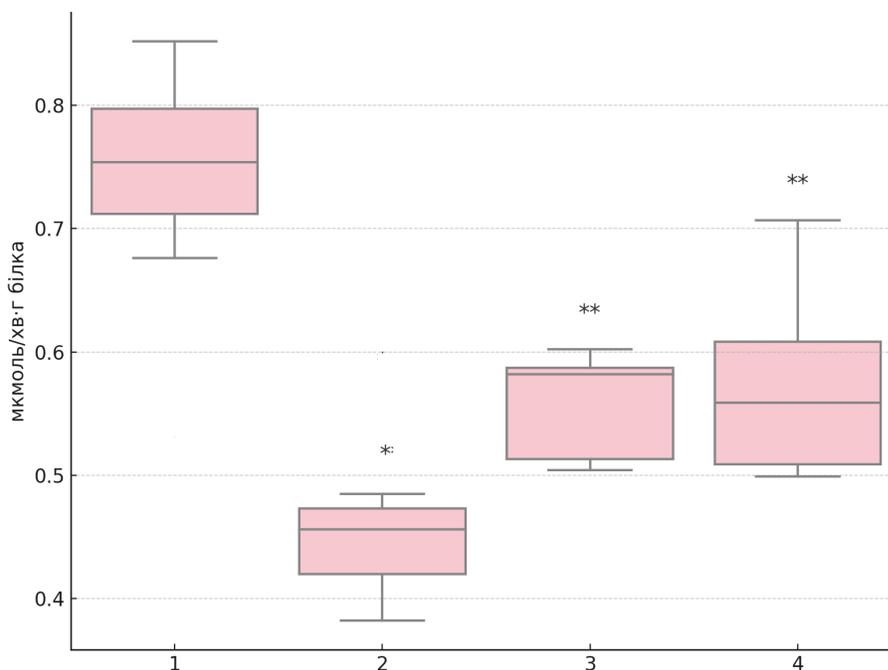


Рис. 5.5. Загальна аргіназна активність у сироватці крові контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання кверцетину (3) та сульфорафану (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Таким чином, кверцетин і сульфорафан у досліджуваних умовах виявилися ефективними засобами підтримки аргіназної активності крові за умов СЗВ.

### Висновки до п. 5.2.

1. Природні модулятори транскрипційних факторів NF- $\kappa$ B і Nrf2 – кверцетин і сульфорафан – за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді сприяють вираженому зниженню загальної активності NO-синтази у сироватці крові щурів. Незважаючи на суттєве зменшення

цього показника порівняно з тваринами без корекції, він залишається вищим, ніж у інтактних тварин.

2. Кверцетин і сульфорафан значно знижують активність індукбельної ізоформи NO-синтази (iNOS), яка є основним джерелом надмірного утворення оксиду азоту за умов СЗВ. Проте повного відновлення балансу між ізоформами NOS не досягається: активність конститутивної форми (cNOS) залишається зниженою порівняно з фізіологічними значеннями, що свідчить про часткову дисрегуляцію ендотеліальної функції.

3. Активність аргінази в сироватці крові після введення кверцетину або сульфорафану достовірно підвищується порівняно з тваринами без лікування, що вказує на сприятливий вплив природних модуляторів на аргіназний шлях метаболізму L-аргініну. Однак значення цього показника не досягають рівня контрольної групи.

4. Введення кверцетину та сульфорафану в умовах експериментальної системної запальної відповіді сприяє нормалізації метаболізму L-аргініну, перш за все через обмеження гіперактивності NO-синтазної системи (особливо iNOS) і часткову підтримку аргіназного шляху, що може розглядатися як потенційний механізм протизапальної та відновлювальної дії цих сполук.

**5.3. Вплив природних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на джерела продукції супероксидного аніон-радикала в слизових залозах щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді**

Загальний фон генерування супероксидного аніон-радикала у гомогенаті слюзових залоз (рис. 5.6). Застосування кверцетину на тлі ЛПС-індукованої СЗВ значно знижувало загальну продукцію супероксидного аніон-радикала – до  $1.1 \pm 0.03$  нмоль/с·г, що на 44.4% ( $P < 0.001$ ) було меншим за результат 2-ї групи та вірогідно не відрізнялося від значення інтактних тварин.

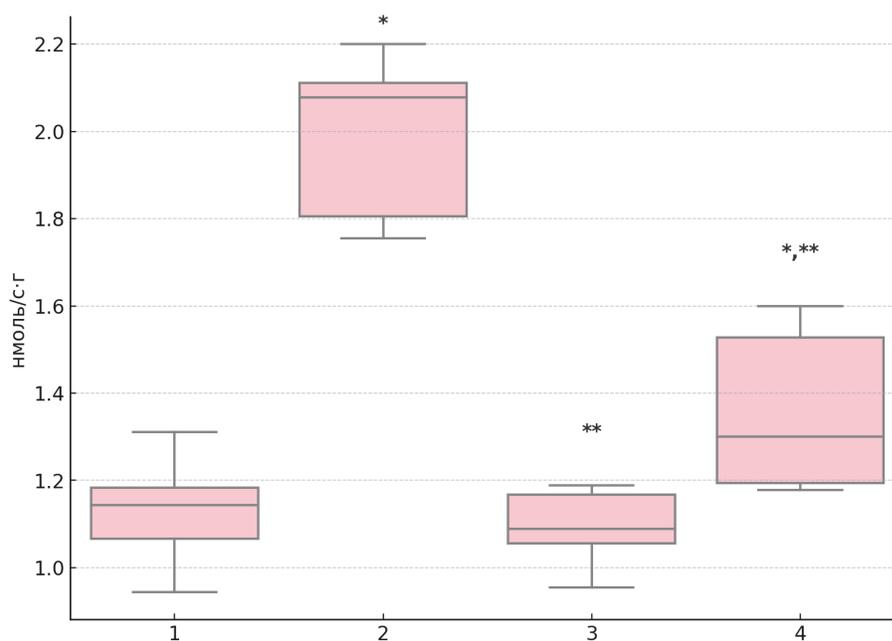


Рис. 5.6. Загальний фон генерування супероксидного аніон-радикала у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання кверцетину (3) та сульфорафану (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Введення сульфорафану за умов експерименту також супроводжувалося зменшенням цього показника до  $1.36 \pm 0.07$  нмоль/с·г,

що на 31.3% ( $P < 0.001$ ) поступалося значенню 2-ї групи, але все ж таки на 20.4% ( $P < 0.02$ ) перевищувало контроль.

*Продукція супероксидного аніон-радикала NADPH-залежними електронно-транспортними ланцюгами у гомогенаті слюзових залоз* (рис. 5.7). Призначення кверцетину на тлі ЛПС-індукованої СЗВ значно знижувало вироблення супероксидного аніон-радикала NADPH-залежними електронно-транспортними ланцюгами (мікосомальними монооксигеназами та NOS) – до  $12.62 \pm 0.79$  нмоль/с·г, що на 38.1% ( $P < 0.001$ ) було меншим за результат 2-ї групи та вірогідно не відрізнялося від значення інтактних тварин.

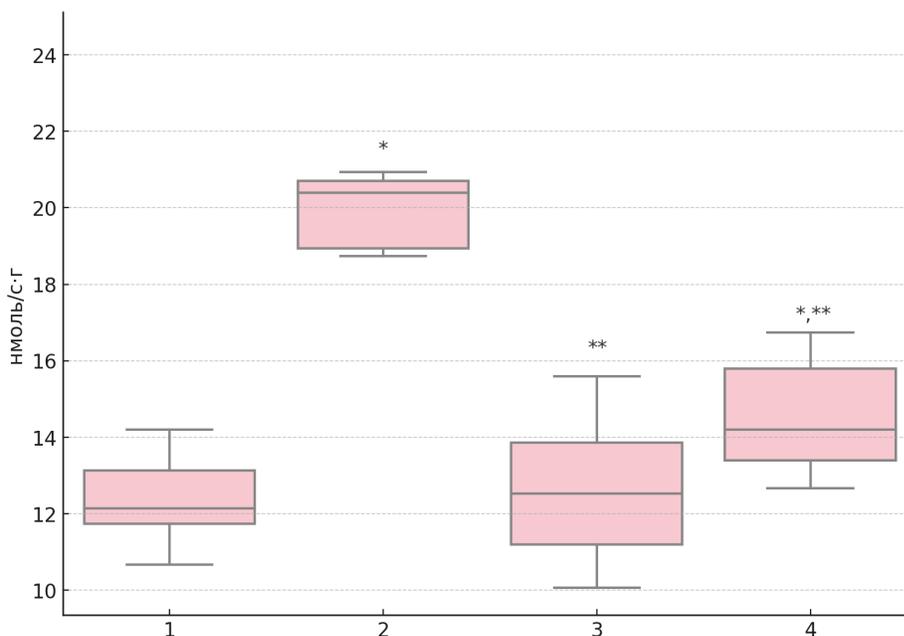


Рис. 5.7. Вироблення супероксидного аніон-радикала NADPH-залежними електронно-транспортними ланцюгами у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання кверцетину (3) та сульфорафану (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Застосування сульфорафану за умов експерименту знижувало цей показник до  $14.57 \pm 0.59$  нмоль/с·г, що на 28.6% ( $P < 0.001$ ) поступалося значенню 2-ї групи, але все ж таки на 17.6% ( $P < 0.02$ ) перевищувало контроль.

*Продукція супероксидного аніон-радикала мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом у гомогенаті слюзових залоз (рис. 5.8).*

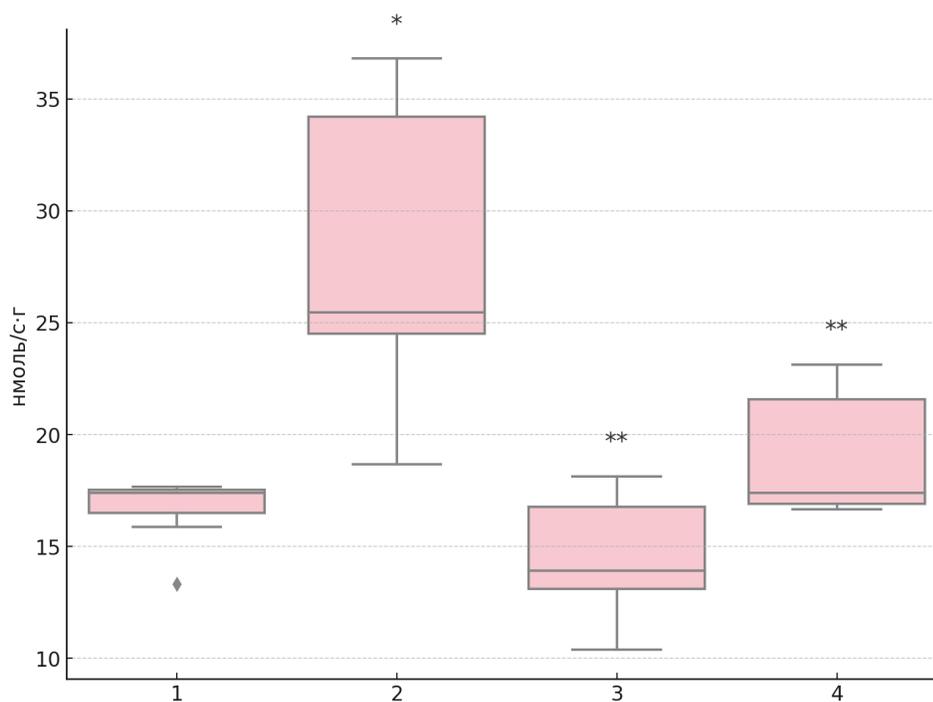


Рис. 5.8. Продукція супероксидного аніон-радикала NADH-залежним електронно-транспортним ланцюгом у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання кверцетину (3) та сульфорафану (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Застосування кверцетину на тлі ЛПС-індукованої СЗВ супроводжувалося суттєвим зменшенням генерування супероксидного

аніон-радикала NADPH-залежним (мітохондріальним) електронно-транспортним ланцюгом – до  $14.6 \pm 1.03$  нмоль/с·г, що на 48.5% ( $P < 0.001$ ) було меншим за результат 2-ї групи та вірогідно не відрізнялося від значення інтактних тварин.

Введення сульфорафану за умов експерименту також супроводжувалося зниженням цього показника до  $19.16 \pm 1.06$  нмоль/с·г, що на 32.4% ( $P < 0.01$ ) поступалося значенню 2-ї групи та вірогідно не відрізнялося від результату інтактних тварин.

*Продукція супероксидного аніон-радикала NADPH-оксидазою лейкоцитів у гомогенаті слюзових залоз (рис. 5.9).*

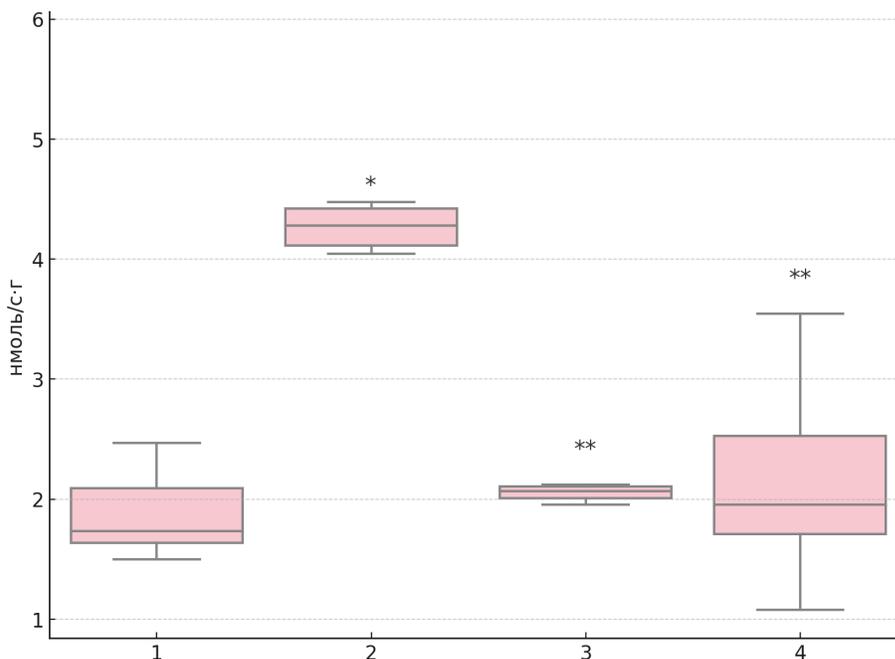


Рис. 5.9. Генерація супероксидного аніон-радикала NADPH-оксидазою лейкоцитів у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання кверцетину (3) та сульфорафану (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Призначення кверцетину на тлі ЛПС-індукованої СЗВ значно знижувало вироблення супероксидного аніон-радикала NADPH-оксидазою лейкоцитів – до  $2.05 \pm 0.03$  нмоль/с·г, що на 53.0% ( $P < 0.001$ ) було меншим за результат 2-ї групи та вірогідно не відрізнялося від значення інтактних тварин.

Застосування сульфорафану за умов експерименту знижувало цей показник до  $2.15 \pm 0.32$  нмоль/с·г, що на 50.7% ( $P < 0.001$ ) поступалося значенню 2-ї групи та вірогідно не відрізнялося від результату інтактних тварин.

### **Висновки до п. 5.3.**

1. Застосування кверцетину на тлі СЗВ достовірно знижує у гомогенаті слюзових залоз загальну продукцію супероксидного аніон-радикала, а також активність NADPH-залежних мітросомальних електронно-транспортних ланцюгів, мітохондріального електронно-транспортного ланцюга та NADPH-оксидази лейкоцитів. Показники продукції супероксидного аніону за таких умов не відрізняються від рівня інтактних тварин, що свідчить про значний антиоксидантний потенціал кверцетину.

2. Сульфорафан також чинить виражений антиоксидантний ефект, зменшуючи як загальний рівень утворення супероксидного аніон-радикала, так і активність його основних джерел. Спостерігається нормалізація генерування супероксидного аніон-радикала мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом і NADPH-оксидазою лейкоцитів до рівнів, близьких до контрольних значень.

3. Кверцетин і сульфорафан ефективно знижують надмірне утворення супероксидного аніон-радикала, обмежуючи як ферментативну генерацію в

системах мікросом, мітохондрій і лейкоцитів, так і загальний прооксидантний фон у тканинах слюзових залоз за умов системної запальної відповіді. Отримані результати підтверджують участь зазначених природних модуляторів у формуванні антиоксидантного захисту шляхом регуляції ключових джерел утворення активних форм кисню.

#### **5.4. Вплив природних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в слюзових залозах щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді**

*Активність ізоформ NO-синтази в гомогенаті слюзових залоз щурів.* Введення кверцетину на тлі ЛПС-індукованої СЗВ сприяло зменшенню загальної активності NOS 38.2% ( $P < 0.001$ ) порівняно зі значенням 2-ї групи (таблиця 5.2).

*Таблиця 5.2*

#### **Вплив природних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на активність NO-синтази в гомогенаті слюзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді ( $M \pm m$ )**

Умови досліджу	Активність NO-синтази, мкмоль $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв.}$		
	Загальна	Конститутивна	Індуцибельна
1	2	3	4
Контроль	$7.03 \pm 0.35$	$0.65 \pm 0.04$	$6.39 \pm 0.32$

Продовження табл. 5.2

1	2	3	4
Моделювання ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	13.18±0.53 *	0.28±0.04 *	12.90±0.49 *
Введення кверцетину на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	8.15±0.24 *,**	0.48±0.02 *,**	7.68±0.23 *,**
Введення сульфорафану на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді	8.74±0.32 *,**	0.53±0.06 **	8.21±0.30 *,**

Примітка:

1. \* P<0.05 порівняно зі значеннями контролю;
2. \*\* P<0.05 порівняно зі значеннями 2-ї групи.

При цьому iNOS залишалася підвищеною (на 15.9%, P<0.05, порівняно з контролем), хоча її активність була на 40.5% (P<0.001) нижчою, ніж у 2-й групі. Водночас активність cNOS на 71.4% (P<0.001) перевищувала результат групи 2, хоча і поступалася на 26.2% (P<0.01) значенню інтактних щурів.

Застосування сульфорафану за умов ЛПС-індукованої СЗВ призводило до зниження загальної активності NOS на 33.7% (P<0.001) порівняно з показниками 2-ї групи. Незважаючи на збереження підвищеної активності iNOS (на 28.5%, P<0.01, порівняно з контролем), її значення зменшувалося на 36.4% щодо результату 2-ї групи. Водночас відзначалося достовірне підвищення активності cNOS – на 89.3% (P<0.01).

*Індекс спряження cNOS у гомогенаті слюзових залоз щурів* (рис. 5.10). Введення кверцетину та сульфорафану сприяло частковому відновленню індексу спряження cNOS, підвищуючи його до  $0.039 \pm 0.004$  і  $0.036 \pm 0.004$ , тобто на 178% і 157% відповідно (обидва за  $P < 0.001$ ) порівняно зі значенням 2-ї групи. Проте все ж таки ці результати на 26.4% ( $P < 0.05$ ) і 32.1% відповідно ( $P < 0.02$ ) були меншими за значення інтактних тварин.

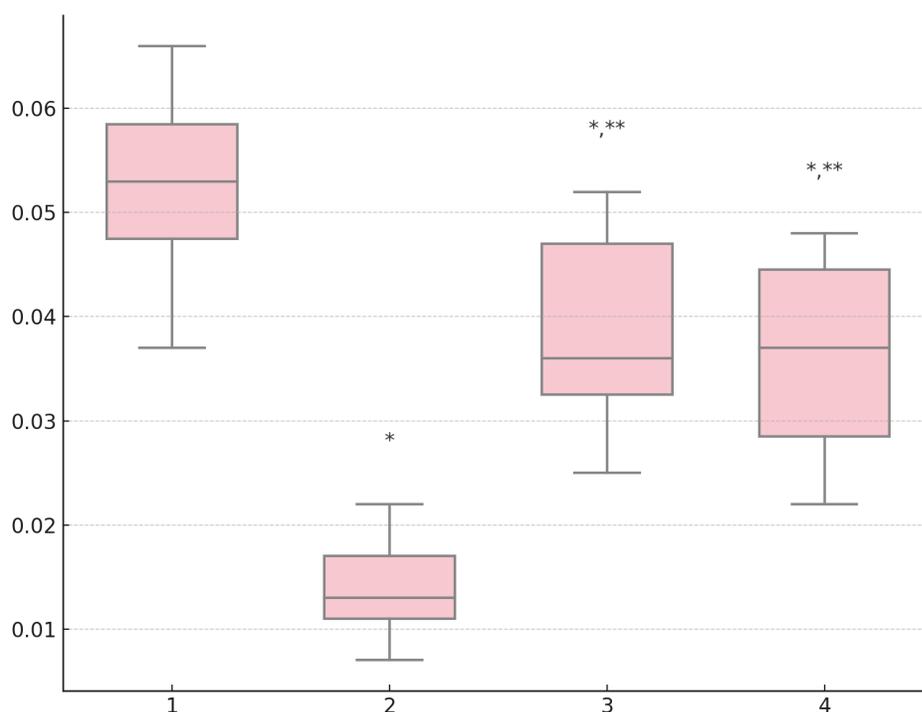


Рис. 5.10. Індекс спряження cNOS у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання кверцетину (3) та сульфорафану (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Одержані результати свідчать про здатність природних модуляторів факторів транскрипції NF- $\kappa$ B і Nrf2, що досліджувалися, покращувати покращувати спряженність cNOS.

*Активність орнітиндекарбоксилази в гомогенаті слъзових залоз щурів* (рис. 5.11). Застосування кверцетину на тлі ЛПС-індукованої СЗВ підвищувало загальну активність орнітиндекарбоксилази – до  $206.3 \pm 19.8$  нмоль/г·хв, що на 36.5% ( $P < 0.05$ ) перевищувало результат 2-ї групи.

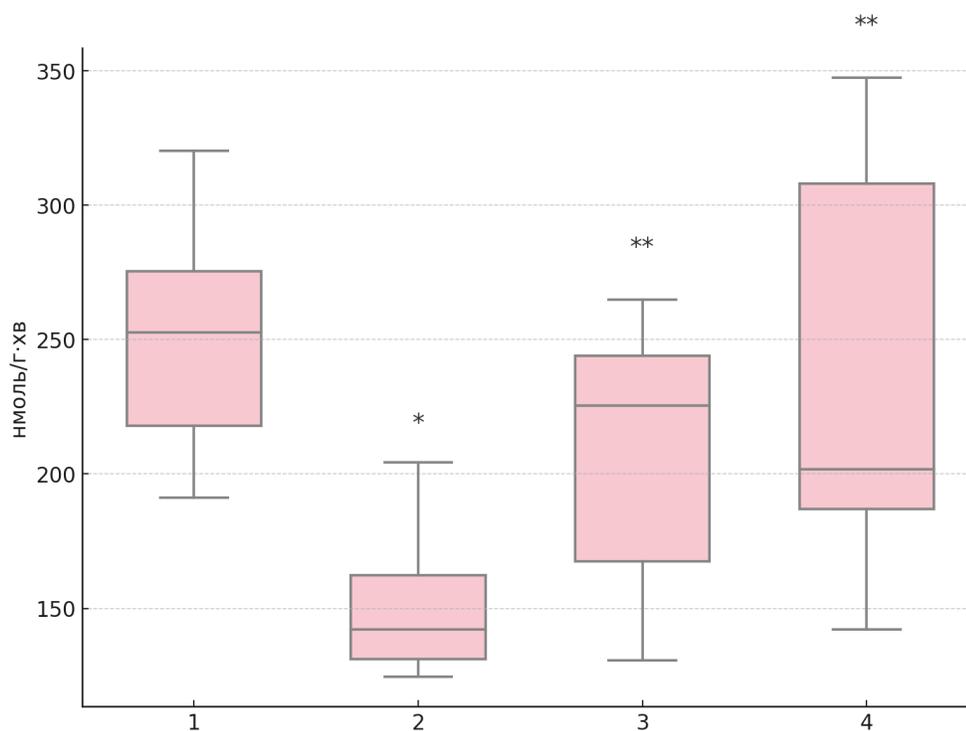


Рис. 5.11. Активність орнітиндекарбоксилази в гомогенаті слъзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання кверцетину (3) та сульфорафану (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Введення сульфорафану за умов експерименту також супроводжувалося зростанням цього показника до  $240.1 \pm 30.8$  нмоль/г·хв,

що на 58.9% ( $P < 0.02$ ) було більшим за значення 2-ї групи та істотно не відрізнялося від результату інтактних тварин.

#### **Висновки до п. 5.4.**

1. Введення природних модуляторів транскрипційних факторів NF- $\kappa$ B і Nrf2, таких як кверцетин і сульфорафан, знижує загальну активність NO-синтази переважно за рахунок зменшення індукбельної ізоформи ферменту. Незважаючи на те, що активність iNOS залишається підвищеною відносно інтактного рівня, вона достовірно зменшується порівняно з некоригованими запальними змінами. При цьому відновлюється активність cNOS, яка в умовах запалення пригнічується, а її рівень наближається до значень фізіологічної норми.

2. Обидві сполуки сприяють покращенню функціональної взаємодії між субодиницями cNOS, що проявляється підвищенням індексу спряження ферменту, хоча повне відновлення цього показника не досягається.

3. Застосування кверцетину та сульфорафану за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді істотно коригує порушення метаболізму L-аргініну в слъзових залозах. Введення цих сполук супроводжується підвищенням активності орнітиндекарбоксилази, що вказує на активацію проліферативного компонента L-аргінінового метаболізму та потенційно відображає сприятливі зміни в трофічному статусі тканини слъзової залози.

### 5.5. Вплив природних модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на концентрацію активних форм нітрогену в слюзових залозах щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді

*Вміст пероксинітритів у гомогенаті слюзових залоз щурів (рис. 5.12). Застосування кверцетину значно знижувало вміст пероксинітритів лужних і лужноземельних металів – до  $1.24 \pm 0.06$  мкмоль/г, що на 65.4% ( $P < 0.001$ ) було меншим порівняно зі значеннями 2-ї групи та вірогідно не відрізнялося від значення інтактних тварин.*

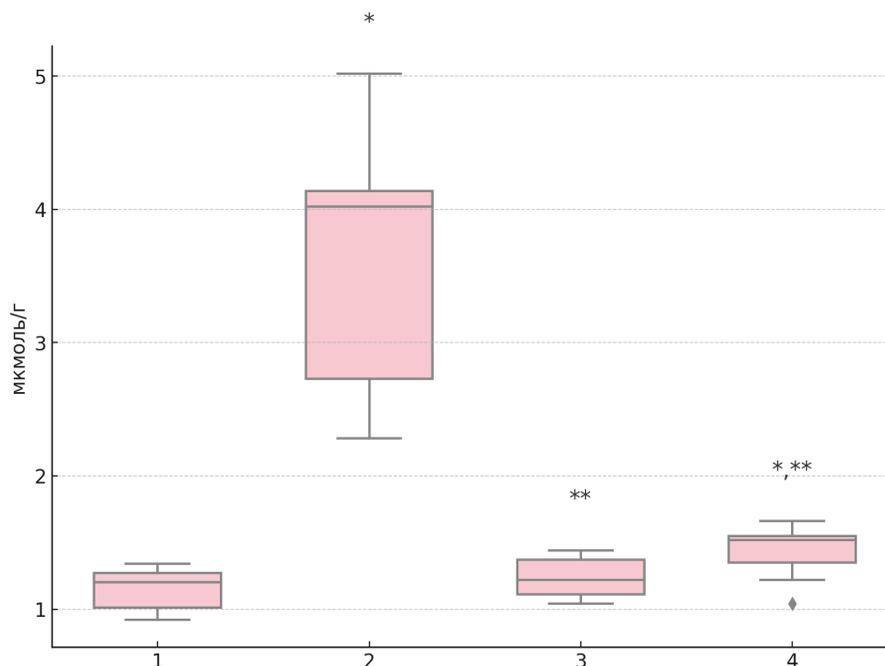


Рис. 5.12. Концентрація пероксинітритів лужних і лужноземельних металів у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання кверцетину (3) та сульфорафану (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Введення сульфорафану також зменшувало концентрацію пероксинітритів – до  $1.43 \pm 0.08$  мкмоль/г, що на 60.1% ( $P < 0.001$ ) поступалося щодо результату 2-ї групи. Проте все ж таки це значення на 24.3% ( $P < 0.02$ ) перевищувало показник інтактних тварин.

Концентрація S-нітрозотіолів у гомогенаті слюзових залоз щурів (рис. 5.13). Під впливом кверцетину та сульфорафану вміст низькомолекулярних S-нітрозотіолів становив  $0.79 \pm 0.04$  і  $0.82 \pm 0.05$  мкмоль/г, що на 16.8% ( $P < 0.01$ ) і 13.7% ( $P < 0.05$ ) було меншим за відповідні значення 2-ї групи та вірогідно не відрізнялося від показника інтактних тварин.

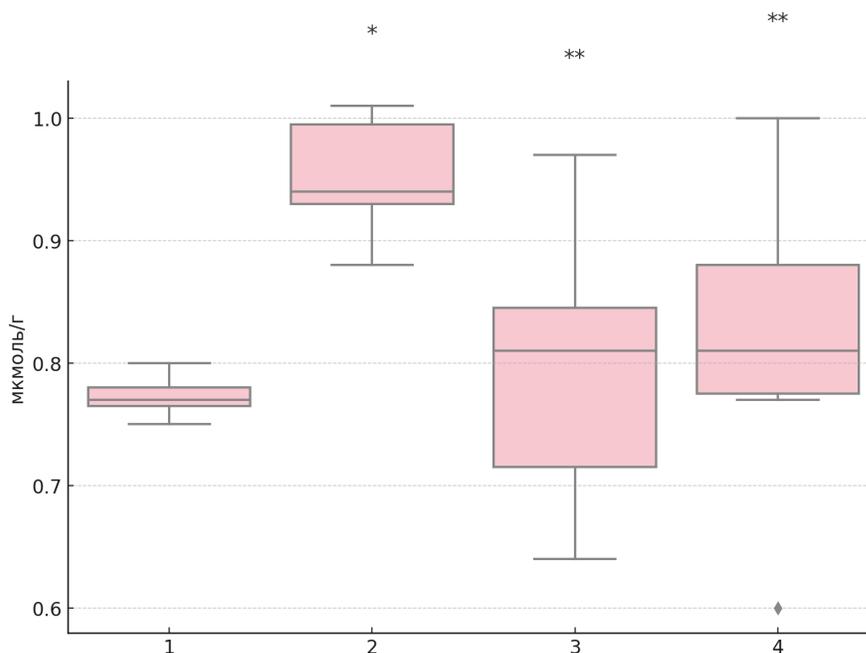


Рис. 5.13. Вміст S-нітрозотіолів у гомогенаті слюзових залоз контрольних тварин (1), після відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді (2) і введення на тлі її моделювання кверцетину (3) та сульфорафану (4). \*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями контролю; \*\*  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи.

### **Висновки до п. 5.5**

1. Застосування кверцетину достовірно зменшує вміст пероксинітритів у гомогенаті слюзових залоз, ефективно нормалізуючи його до значень, близьких до фізіологічних, що свідчить про виражену антинітрозативну активність цього природного модулятора транскрипції.

2. Введення сульфорафану також сприяє зниженню концентрації пероксинітритів у тканинах слюзових залоз, однак ефективність цього впливу дещо нижча порівняно з кверцетином, оскільки рівень зазначеного маркера залишається підвищеним відносно контрольних значень.

4. Обидві сполуки – кверцетин і сульфорафан – знижують накопичення S-нітрозотіолів, які є стабільними депо активних форм нітрогену, відновлюючи їх концентрацію до рівня, що вірогідно не відрізняється від показника інтактних тварин.

5. Отримані результати свідчать про здатність кверцетину та сульфорафану ефективно знижувати рівень активних форм нітрогену у слюзових залозах при системній запальній відповіді, що вказує на їх потенціал у зменшенні нітрозативного стресу в умовах запалення.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях [28, 29, 136] і тезах [30, 31].

## РОЗДІЛ 6

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Модель системної запальної відповіді (СЗВ), викликана введенням ліпополісахариду (ЛПС) *Salmonella typhi*, застосована в нашому експерименті, має високу біологічну релевантність й достатню відтворюваність, що надає можливість комплексно оцінити зміни біомаркерів запалення, оксидативного стресу та метаболічних порушень.

Враховуючи результати попередніх досліджень, серед яких і роботи на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету, достовірно встановлено, що застосування моделі ЛПС-індукованої СЗВ супроводжується типовими змінами ключових показників запалення. Зокрема, у сироватці крові щурів реєструвалося значне підвищення концентрацій прозапальних цитокінів, таких як TNF- $\alpha$  і IL-6, а також зростання рівнів білків гострої фази – наприклад, С-реактивний протеїн та церулоплазмін [5, 8, 6, 17, 36, 169]. Паралельно відзначалося зниження концентрації протизапального цитокіну IL-10, що вказує на зміщення імунного балансу у бік прозапальної активації [8, 6, 17]. В останніх оглядових дослідженнях підтверджено, що ЛПС-індуковані моделі (через активацію TLR4) викликають пропорційне підвищення TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , а також змін у профілі IL-10, що дає змогу розглянути ці моделі як адекватні для вивчення множинних біомаркерів запалення [124].

Також зростає кількість досліджень, що описують вплив ЛПС-індукованого запалення на ліпідний метаболізм та оксидативний статус залозистих органів (слинних залоз, сім'яників), що безпосередньо

корелює з нашим дослідженням впливу запалення на метаболічні порушення сльозових залоз [48, 278].

Крім того, характерною рисою такої моделі є активація процесів ПОЛ – маркерів оксидативного стресу – з підтвердженим зростанням показників, таких як малондиальдегід (MDA) чи 4-гідроксиальдегід у різних органах і тканинах [2, 4, 7, 138, 171, 172]. Водночас фіксуються зміни структури й метаболізму сполучнотканинних біополімерів (деполімеризація, фрагментація), що засвідчує інтеграцію системної відповіді на клітинному й тканинному рівнях [44, 173, 264, 262].

Таке поєднання реакцій – підвищення прозапальних медіаторів, зниження протизапальних, активація окисного стресу і порушення зовнішніх метаболічних ланок – забезпечує патофізіологічну адекватність моделі та її відповідність клінічним проявам СЗВ. Додатково підкреслюється, що моделлю ЛПС-індукованої СЗВ охоплюються не лише механізми класичного запалення, але й метаболічні аспекти (наприклад, ліпідний обмін, окисна деградація ліпідів), що робить її релевантною для дослідження метаболічних розладів сльозових залоз у контексті СЗВ.

За нашими даними, внутрішньоочеревинне введення ЛПС *S. typhi* викликає розвиток СЗВ, що супроводжується характерними біохімічними змінами, зокрема, активацією гострофазової відповіді. Одним із чутливих маркерів цього процесу є підвищення у сироватці крові вмісту церулоплазміну – білка, що виконує як транспортну, так і антиоксидантну функцію. У нашому дослідженні встановлено достовірне зростання вмісту церулоплазміну в крові щурів, що підтверджує активацію гострофазової відповіді у межах моделі СЗВ. Цей результат добре корелює з попередніми літературними даними, які відзначають церулоплазмін як маркер СЗВ та реактивності гепатоцитів [5, 8, 6, 36, 25].

Крім того, моделювання СЗВ виявилось ефективним у відтворенні стану прооксидантного дисбалансу. Дослідження процесів ПОЛ показало суттєве зростання ТБК-реактивів як у базальних умовах, так і після додаткового стимулювання прооксидантами. Зокрема, інкубація крові у залізо-аскорбатному буфері дозволила оцінити резерв антиоксидантної системи: у щурів із СЗВ приріст ТБК-реактивів після інкубації суттєво перевищував відповідні показники контрольної групи. Це свідчить про виснаження антиоксидантного захисту та посилену вразливість до вільнорадикального ушкодження.

Виявлені зміни вказують на те, що у тварин із ЛПС-індукованою СЗВ формується системний прооксидантно-запальний стан, що супроводжується одночасним послабленням ендogenous антиоксидантного захисту та посиленням процесів ПОЛ. Таке поєднання змін підтверджує релевантність моделі для вивчення патогенетичних механізмів, пов'язаних з оксидативним стресом, який відіграє провідну роль у розвитку уражень різних органів і тканин, включаючи слъзові залози [174].

Таким чином, вибір представленої моделі є обґрунтованим і дозволяє оцінити ключові ланки – прозапальну активацію, антизапальні механізми, окислювальний стрес та метаболічні зміни – у контексті формування порушень функціонально-метаболічного стану слъзових залоз за умов СЗВ.

Поглиблене дослідження метаболізму L-аргініну у щурів з ЛПС-індукованою СЗВ підтвердило високу чутливість даної моделі до метаболічних зрушень, притаманних хронічному низькоінтенсивному запаленню. Однією з найважливіших ланок, що реагує на індукцію СЗВ, є

NO-синтазний шлях метаболізму аргініну, який демонструє суттєву активацію під впливом ліпополісахариду *S. typhi*.

Встановлено, що загальна активність NOS у плазмі крові щурів зростає більш ніж утричі – на 208% відносно інтактних контрольних тварин. Аналіз активності ізоформ ферменту показав, що таке зростання обумовлене активацією як індукцйбельної форми NO-синтази iNOS, так і cNOS. Проте переважне підвищення iNOS свідчить про домінування прозапального механізму синтезу оксиду азоту, характерного для гострої фази СЗВ, що узгоджується з літературними даними про центральну роль iNOS у реалізації запального каскаду за участі цитокінів та Toll-подібних рецепторів [107, 134].

Нині відомо, що конститутивні ізоферменти NOS, зокрема ендотеліальна та нейрональна ізоформи, надходять у кров переважно з ендотеліальних клітин, тромбоцитів, нейронів і гладеньком'язових клітин [84]. Їх вивільнення відбувається внаслідок фізіологічного зсуву з клітин у плазму (під впливом зсувного напруження внаслідок тертя потоку крові об поверхню ендотелію судин, гормональних стимулів або внаслідок мікропошкоджень), мікровезикуляції та секреції екзосом, активації тромбоцитів або лізису клітин під час запалення чи стресу. Водночас iNOS насамперед експресується активованими імунними клітинами – такими як макрофаги, нейтрофіли, інші фагоцити, а також різноманітними клітинами тканин, які стимулюються запальними цитокінами або мікробними компонентами (гладеньком'язовими клітинами, кардіоміоцитами, гепатоцитами, нейрогліальними клітинами тощо) [205].

На тлі активації NO-синтазного шляху реєструється виражене пригнічення альтернативного, аргіназного шляху L-аргінінового обміну – активність аргінази вірогідно знижується порівняно з контролем. Цей

метаболічний зсув у напрямку синтезу NO свідчить про підвищення рівня нітрозативного стресу, який, поряд з оксидативним, становить основу системної деструкції в умовах СЗВ.

Таким чином, виявлені порушення з боку ферментативної регуляції аргінінового метаболізму підтверджують наявність тісної взаємодії між NO-синтазним та аргіназним шляхами за умов СЗВ. Домінування активації iNOS та одночасне пригнічення аргінази розглядаються як важливий механізм підтримки тривалого прозапального стану, з формуванням оксидативно-нітрозативного дисбалансу в системі кровообігу, що безпосередньо впливає на мікросудинний гомеостаз і функцію органів-мішеней, зокрема слъзових залоз.

Проведений нами аналіз джерел продукції супероксидного аніон-радикала у тканинах слъзових залоз за умов ЛПС-індукованої СЗВ свідчить про розвиток вираженого оксидативного стресу. Збільшення загального фону продукції супероксидного аніону на 75.2% порівняно з контролем вказує на активацію оксидативних механізмів як складової патогенезу СЗВ. Основний молекулярний механізм такого процесу вочевидь пов'язаний з активацією запальних сигнальних шляхів, зокрема NF-κB, який стимулює експресію генів, відповідальних за синтез прозапальних цитокінів та ферментів, що генерують активні форми кисню [136].

Подальше диференційоване дослідження джерел утворення цього радикала дозволило встановити, що важливу роль відіграє NADPH-залежна електронно-транспортна система, активність якої зростає на 64.6%. Це підтверджує значний внесок ферментативних систем, зокрема NADPH-оксидаз, у ініціацію прозапального окисного каскаду. Ці результати корелюють із даними, отриманими в експериментах на інших моделях, де

роль NADPH-оксидаз у розвитку системного запалення була чітко продемонстрована [239, 194].

Потужним джерелом супероксидного аніон-радикала за умов СЗВ є мітохондріальний електронно-транспортний ланцюг. У нашому дослідженні мітохондріальна генерація супероксидного аніону зростала на 70,3%, що свідчить про порушення електронного транспорту та потенційну дисфункцію мітохондрій у відповідь на запальний стимул [99]. Ці порушення, ймовірно, пов'язані з надмірним утворенням NO, який у поєднанні з супероксидом формує пероксинітрит, що додатково ушкоджує мітохондрії, закріплюючи патогенетичне коло оксидативного ураження [195].

Особливу увагу заслуговує виявлена активація лейкоцитарної NADPH-оксидази – активність цього ферменту в тканинах слизових залоз при ЛПС-індукованій СЗВ зростала більш ніж удвічі (+131%). Такий приріст свідчить про інтенсивне залучення фагоцитарних клітин до формування локального прооксидантного мікросередовища, що є ключовою ланкою механізмів запального ушкодження. Посилене утворення супероксидного аніон-радикала фагоцитами в умовах СЗВ, зумовлене активацією ферменту NADPH-оксидази, підтверджує значну роль лейкоцитарної інфільтрації у порушенні тканинного гомеостазу.

Цей ефект узгоджується з сучасними уявленнями про провідну роль інфільтрації й активації фагоцитів, зокрема нейтрофілів і макрофагів, у розвитку пошкодження тканин при СЗВ. Активація NADPH-оксидазозалежного утворення вільних радикалів через сигнальні шляхи, що включають TLR4, NF-κB і MAPK, спричиняє вибух продукції АФО, який запускає каскад оксидативного ушкодження [76, 128, 237]. Це також корелює з дослідженнями, в яких виявлено, що активовані фагоцити

виступають важливим джерелом супероксиду в інфікованих або запалених тканинах [59].

Узагальнюючи, можна стверджувати, що ЛПС-індуковане запалення супроводжується активацією всіх основних джерел утворення супероксидного аніон-радикала у тканинах слюзових залоз – як ферментативних (NADPH-оксидазозалежних), так і мітохондріальних. Це створює умови для глибокого оксидативного стресу, який є важливою складовою патогенезу дисфункції слюзових залоз при системній запальній відповіді.

Одним із важливих результатів проведеного дослідження стало достовірне підвищення загальної активності NO-синтази у гомогенаті слюзових залоз за умов ЛПС-індукованої СЗВ. Поглиблений аналіз структури цього підвищення вказує на переважну активацію iNOS, яка є типовим маркером прозапального статусу. Така активація iNOS зумовлена дією провідних прозапальних цитокінів, зокрема TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$ , а також активацією Toll-подібних рецепторів (TLR4), що сприймають ЛПС бактерій [107, 254]. Ці дані добре узгоджуються з результатами досліджень інших авторів, які демонструють, що саме iNOS є головним джерелом NO у фазу гострого запалення і відповідає за тривале та неконтрольоване вироблення оксиду азоту [134].

Одержані результати також виявили глибокі зміни в балансі метаболічних шляхів L-аргініну. Пригнічення активності eNOS, що супроводжувалося зниженням її індексу спряження, свідчить про дисфункцію фізіологічного, ендотелій-залежного шляху утворення NO, який у нормі забезпечує регуляцію судинного тону, ангиогенезу та нейротрансмісії. Зниження спряженого синтезу оксиду азоту означає, що ферментативний процес дедалі більше зсувається в бік утворення

супероксидного аніон-радикала, що є основою для формування пероксинітриту – надзвичайно токсичного нітрозативного агента [181, 195]. Такий механізм патогенетично обґрунтовує посилення оксидативно-нітрозативного стресу у тканинах слъзових залоз при СЗВ та його роль у деструкції ендотелію та паренхіми органів-мішеней.

Введення ЛПС *S. typhi* викликає активацію NO-синтазного шляху у слъзових залозах із одночасним пригніченням аргіназного напрямку L-аргінінового метаболізму. Активність орнітиндекарбоксилази – ферменту аргіназного шляху, що забезпечує синтез поліамінів з орнітину – була суттєво зниженою, що, ймовірно, свідчить про пригнічення регенераторних процесів у секреторному епітелії залоз. Це підтверджує гіпотезу про те, що за умов ЛПС-індукованої активації iNOS та інгібування орнітиндекарбоксилази не лише ініціюється СЗВ, але й порушується тканинний гомеостаз через гальмування біосинтезу білка, проліферації та репаративних процесів загалом [159, 176, 197].

Подібні порушення у метаболізмі L-аргініну в тканинах ока демонструвались і в роботах інших дослідників. Наприклад, встановлено, що у моделях сухого ока, асоційованого з СЗВ, зниження ферментів шляху аргінін/орнітин чи їх продуктів (наприклад, сечовини) асоціюється з порушенням гомеостазу слъзової плівки [218].

Таким чином, отримані нами результати свідчать про системний характер ЛПС-індукованої дестабілізації аргінінового метаболізму, з посиленням iNOS-залежного синтезу NO та пригніченням проліферативних процесів у залозистій тканині. Цей механізм, ймовірно, є одним із ключових у розвитку структурно-функціональних змін у слъзових залозах при СЗВ та формуванні вторинних проявів дисфункції.

Результати дослідження свідчать, що внутрішньоочеревинне введення ЛПС *S. typhi* призводить до суттєвого підвищення рівня АФН у тканинах слюзових залоз, що є прямим свідченням розвитку нітрозативного стресу. Найбільш виразним проявом цього процесу стало зростання концентрації пероксинітритів – високореактивних і цитотоксичних похідних оксиду азоту, що утворюються внаслідок взаємодії NO з супероксидним аніон-радикалом. Пероксинітрит, як добре відомо, викликає нітрування тирозинових залишків білків, окиснення ліпідів та порушення функції мітохондрій, що зрештою призводить до глибокого ушкодження клітинних структур [181, 195]. Підвищення рівня пероксинітритів у тканинах залоз може розглядатися як маркер не лише надмірного продукування NO, але й супутньої активації оксидативного каскаду, з яким цей радикал вступає у патогенетичну взаємодію.

Крім цього, нами встановлено значне підвищення концентрації низькомолекулярних S-нітрозотіолів (S-NO), які розглядаються як стабільні форми депонованого NO, здатні до повільного вивільнення та передачі пов'язаної з NO біологічної активності. У нормі ці молекули виконують важливу регуляторну функцію в клітинному сигналінгу, зокрема в судинній та імунній системах. Їх підвищення в умовах СЗВ може свідчити про активацію компенсаторних механізмів, спрямованих на обмеження вільного NO та зменшення його токсичних ефектів шляхом тимчасового зв'язування у формі S-NO [162]. Водночас, тривале накопичення S-нітрозотіолів може розглядатися як індикатор хронізації запалення та змін у сигнальних шляхах клітини, що потребує подальшого вивчення.

Сукупність виявлених змін у системі нітрогеновмісних радикалів вказує на глибоке порушення рівноваги між фізіологічними та патологічними ефектами оксиду азоту за умов ЛПС-індукованої СЗВ. Якщо

в нормі NO є критичним медіатором вазодилатації, нейротрансмісії та захисту тканин, то за умов надлишкового утворення й втрати контролю над його метаболізмом він стає джерелом вираженої цитотоксичності та руйнування структурної цілісності тканин. Подібні механізми описані в роботах дослідників, які вивчали нітрозативний стрес у тканинах слинних залоз [7, 137], печінки [86, 87, 162], тонкої кишки [33, 37], пародонта [263] серця [32, 34, 201], скелетних м'язів [38] та головного мозку [260] при різних станах, що асоціюються з СЗВ, і наші результати є підтвердженням того, що аналогічні процеси розгортаються і в екзокринних структурах, таких як слюзові залози.

Таким чином, отримані дані дозволяють охарактеризувати ЛПС-індуковану СЗВ як стан, що супроводжується глибоким дисбалансом у метаболізмі оксиду азоту, з формуванням ушкоджувального нітрозативного середовища, яке, поряд з оксидативним стресом, є важливим фактором деструкції тканин слюзових залоз.

Раніше було виявлено, що розвиток оксидативно-нітрозативного стресу істотно зменшує вміст AQP5, як це було показано на прикладі реакції великих слинних залоз на введення ЛПС [17]. Зміни концентрації AQP5 вважається надзвичайно інформативним маркером порушення функціонального стану секреторного епітелію слюзових залоз. AQP5 – це інтегральний мембранний білок, який виконує критичну роль у транспортуванні води через апікальну мембрану ацинарних клітин та безпосередньо регулює об'єм та склад слюзової рідини [77, 273]. Зниження експресії AQP5 у слюзових і слинних залозах описується при синдромі Шегрена, а також за умов ендотоксинемії [70, 89, 259].

Відомо, що експресія AQP5 є чутливою до прозапальних цитокінів, зокрема TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$ , які можуть інгібувати транскрипцію або сприяти

деградації білка через активацію каспаз та внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, таких як p38 MAPK або NF-κB [123, 259]. Таким чином, зниження рівня AQP5 є не лише маркером запалення, а й безпосередньою ланкою порушення секреторної функції залоз.

Таким чином, розвиток оксидативно-нітрозативного стресу, що супроводжується тривалим дефіцитом AQP5, сприяє не лише зниженню секреції води, але й погіршенню в'язкості та стабільності сльозової плівки, створюючи умови для розвитку синдрому «сухого ока» навіть при незначному ураженні залозистої тканини.

У проведеному нами дослідженні було встановлено, що фармакологічна корекція СЗВ шляхом інгібування транскрипційного фактора NF-κB за допомогою піролідидитіокарбамату амонію та активації антиоксидантного шляху Nrf2 диметилфумаратом чинить виражену системну протизапальну та антиоксидантну дію. Одним із підтверджень цього є достовірне зниження у сироватці крові вмісту церулоплазміну – білка гострої фази, вміст якого значно підвищувався при ЛПС-індукованій СЗВ. Однак, попри позитивну динаміку, рівень цього маркера не нормалізувався повністю, що свідчить про часткову, але неповну компенсацію загального прозапального фону. Це узгоджується з даними інших дослідників, які вказують, що активність NF-κB лише частково відповідальна за транскрипцію генів гострофазових білків, а повна нормалізація можлива лише за умов мультирівневого втручання [54].

Результати визначення концентрації ТБК-реактивних (малонового діальдегіду та споріднених продуктів) демонструють, що як піролідидитіокарбамат амонію, так і диметилфумарат достовірно знижують рівень продуктів ПОЛ у крові. Це свідчить про пригнічення оксидативного каскаду, індукованого ЛПС. Водночас повне відновлення

параметрів ПОЛ не досягається, що узгоджується з літературними даними про те, що оксидативні механізми при СЗВ запускаються не лише через NF-κB, але й через інші сигнальні осі – наприклад, JAK/STAT, p38 MAPK [166, 209].

Найбільш показовими є результати інкубаційного тесту з Fe<sup>2+</sup>/аскорбатом, що моделює підвищене прооксидантне навантаження. У цій системі обидва досліджувані препарати демонструють майже повну нормалізацію приросту ТБК-реактивів – цей ефект особливо важливий з огляду на функціональну оцінку антиоксидантного резерву крові. Відомо, що диметилфумарат активує транскрипційний фактор Nrf2, який контролює експресію численних антиоксидантних білків, включаючи глутатіон-S-трансферазу, супероксиддисмутазу та гемоксигеназу-1 [90, 234, 272]. Піролідиндитіокарбамат амонію, у свою чергу, не лише інгібує NF-κB, але й потенційно впливає на метаболізм металів та редокс-баланс, що може пояснювати його ефективність у прооксидантній моделі [132, 238, 258].

Отже, отримані результати свідчать, що обидві стратегії – як блокада NF-κB, так і активація Nrf2 – є ефективними у частковій нейтралізації за умов СЗВ запального та окисного пошкодження за показниками біохімічного дослідження крові.

У нашому дослідженні застосування піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату стимулює достовірне зниження загального фону продукції супероксидного аніон-радикала у тканинах слюзових залоз щурів з ЛПС-індукованою СЗВ. Таке зниження свідчить про успішне обмеження прооксидантного навантаження, яке зазвичай супроводжує СЗВ.

Пояснення цього ефекту включає універсальні шляхи генерації супероксиду, які підпадають під контроль NF-κB і Nrf2. Перш за все, інгібування NF-κB піролідиндитіокарбаматом амонію призводить до зменшення активації генів, що кодують NADPH-оксидазу (NOX) та інші ферменти генерації  $O_2^{\cdot-}$ , що підтверджується даними про зниження експресії *gp91phox* і *Nox1* при застосуванні цього інгібітора активації NF-κB [161]. Окрім того, піролідиндитіокарбамат амонію виступає як тіол-хелат і може модулювати метаболізм металів (наприклад  $Cu^{2+}/Zn^{2+}$ ), що зменшує можливість реакцій Фентона / Габера-Вейса і, таким чином, знижує утворення вільних радикалів [127].

Індуктор шляху Nrf2-ARE, диметилфумарат, посилює внутрішньоклітинні антиоксидантні механізми – зокрема, підвищення експресії відповідних ферментів та утворення глутатіону, що сприяє зменшенню надлишкової продукції  $O_2^{\cdot-}$ . Зокрема, дослідження показують, що диметилфумарат знижує продукцію АФО в тканинах [117]. Ця дія забезпечується як активацією сигнального шляху Nrf2-ARE, так і через незалежні від нього механізми (пригнічення фосфорилування Ser276 NF-κB, інгібування фосфорилування ERK і NF-κB, зв'язування з NF-κB p65 тощо) [117]. Нещодавно виявлено здатність диметилфумарату блокувати фосфорилування IKKβ та ERK1/2, а також деградацію IκB та кінази, пов'язаної з IL-1 рецептором 1, у відповідь на дію ЛПС у макрофагах [164].

У цілому, механізм обмеження генерації супероксиду в тканинах залоз реалізується:

- через пряме пригнічення джерел  $O_2^{\cdot-}$  (NOX, iNOS) шляхом дії NF-κB-інгібіторів;

- через стимулювання ендogenous антиоксидантного захисту (сигнального шляху Nrf2-ARE);

- через опосередковану і метаболічну дію (металохелатація, зниження реакцій Фентона / Габера-Вейса, стабілізація мітохондріального ланцюга).

Таким чином, отримані нами дані узгоджуються із даними літератури, що підтверджують провідну роль NF-κB- і Nrf2-сигналізації у контролі вироблення АФО.

У моделі ЛПС-індукованої СЗВ застосування піролідиндитіокарбамату амонію призводить до значного зниження загальної активності NOS в гомогенаті сльозових залоз. Зокрема, активність зменшувалась більш ніж на 50% порівняно з групою без фармакологічної корекції, що підтверджує роль NF-κB у контролі над експресією цього ферменту. Зокрема, індукцйбельна ізоформа NOS зазнала вираженого пригнічення, що вказує на зменшення патологічної надпродукції оксиду азоту. Цей ефект узгоджується з даними M.P. Sherman et al., які продемонстрували, що піролідиндитіокарбамат амонію інгібує індукцію iNOS у макрофагах під дією ЛПС + інтерферон-γ [215]. Водночас активність sNOS залишилась відносно стабільною, що вказує на селективність впливу піролідиндитіокарбамату амонію на прозапальний шлях.

Подібний ефект спостерігався за умов активації транскрипційного фактору Nrf2 за допомогою диметилфумарату. У гомогенаті сльозових залоз введення цієї сполуки також зменшувало загальну та індукцйбельну активність NOS. При цьому, на відміну від піролідиндитіокарбамату амонію, активність sNOS продемонструвала вірогідне зростання, що може свідчити про стимуляцію фізіологічного синтезу NO, а не лише пригнічення патологічного. Дані S.K. Yadav et al. підтверджують, що диметилфумарат через Nrf2-шлях зменшує оксидативний стрес й інгібує експресію iNOS [255].

Попередні дослідження демонструють, що транскрипційний фактор NF- $\kappa$ B, активований дією ЛПС, посилює експресію iNOS та сприяє розвитку оксидативно-нітрозативного стресу [144, 168]. Відповідно, пригнічення цього шляху за допомогою піролідиндитіокарбамату амонію обмежує експресію прозапальних ферментів, що генерують вільні радикали, знижуючи, зокрема, активність iNOS і NOX2.

Диметилфумарат, активуючи Nrf2, не лише індукує експресію антиоксидантних ферментів (наприклад, гемоксигенази-1), але й пригнічує продукцію АФО через послаблення мітохондріальної дисфункції та зниження активності NADPH-оксидази [243]. Крім того, активований Nrf2 здатен зменшувати експресію iNOS, що також знижує загальне навантаження оксидативного стресу в запалених тканинах [136].

Коли розглядати індекс спряження cNOS – показник співвідношення продукції NO до супутньої продукції супероксидного аніон-радикала ( $O_2^{\cdot-}$ ) – застосування піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату сприяло його частковому відновленню. Проте значення залишалися нижчими за інтактний контроль, що вказує на неповне повернення функціональної спряженості ферменту. Цей висновок корелює із спостереженнями, що селективне інгібування NF- $\kappa$ B не завжди відновлює фізіологічні шляхи синтезу NO до нормального рівня [255].

Крім того, введення піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату супроводжувалося підвищенням активності орнітиндекарбоксилази в гомогенаті слюзових залоз – ферменту аргіназного шляху обміну L-аргініну, що відповідає за синтез поліамінів і, отже, за проліферацію та репарацію тканин. Цей аспект дослідження розширює дані про взаємозв'язок між синтезом NO та аргіназною ланкою, відомий із літератури [197].

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що модуляція TFs NF- $\kappa$ B і Nrf2 дозволяє впливати на ключові ферменти метаболізму L-аргініну в тканинах слюзових залоз за умов СЗВ. При цьому активація Nrf2 через диметилфумарату демонструє більш збалансований ефект: пригнічення надмірного синтезу NO та активацію репаративного шляху аргініну. Це свідчить про певні переваги диметилфумарату як потенційного коректора метаболічних порушень у тканинах слюзових залоз за умов СЗВ.

За нашими даними, застосування піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату на тлі ЛПС-індукованої СЗВ призводило до достовірного зниження концентрації пероксинітритів у гомогенаті тканин слюзових залоз. Однак значення цих маркерів залишалися вищими за показники інтактних тварин, що свідчить про неповну корекцію нітрозативного стресу. Пероксинітрит – високореактивна та цитотоксична форма NO/супероксиду, що є ключовим фактором клітинного ушкодження при запаленні [181, 195]. Отже, зниження його концентрації під дією названих сполук вказує на ефективність втручання, хоча залишковий рівень підвищений, що натякає на необхідність подальшої корекції або багаторівневого підходу.

Друга важлива закономірність – введення специфічних модуляторів NF- $\kappa$ B і Nrf2 також сприяло зменшенню концентрації низькомолекулярних S-нітрозотіолів – стабільних АФН, які виконують роль донорів NO і беруть участь у редокс-сигналінгу [162]. Відомо, що накопичення S-нітрозотіолів в умовах запалення може відображати надлишкове утворення NO та порушення його регуляції [93]. Виходячи з цього, зниження рівня S-нітрозотіолів у досліджуваних групах можна інтерпретувати як показник зменшення нітрозативного навантаження.

Порівняно з роботами інших дослідників, які демонстрували ефекти інгібування NF-κB або активації Nrf2 на зменшення оксидативно-нітрозативного стресу в різних моделях (наприклад, пошкодження печінки, серця та слинних залоз) [32, 88, 137], наші результати розширюють знання, включаючи слюзові залози як мішень. Зокрема, хоча раніше повідомлялося, що активатор Nrf2 сприяє зменшенню пероксинітриту у тканинах [88], ми додатково показали, що паралельно з цим знижується і накопичення S-нітрозотіолів у залозистій тканині.

Отже, отримані дані підтверджують, що інгібування NF-κB та активація Nrf2 можуть бути ефективними підходами до корекції нітрозативного стресу в тканинах слюзових залоз за умов СЗВ.

Таким чином, результати проведеного дослідження свідчать про високу ефективність специфічних модуляторів TFs NF-κB і Nrf2 як засобів корекції гострофазової реакції та ПОЛ в крові щурів, оксидативно-нітрозативного стресу в їх слюзових залозах за умов ЛПС-індуковано] СЗВ. Проте, незважаючи на виражену біологічну активність, обидві сполуки характеризуються потенційними токсичними властивостями, що обмежує перспективи їх клінічного застосування. Зокрема, піролідиндитіокарбамат амонію визнаний генотоксичною, канцерогенною та тератогенною речовиною [61, 198], він також здатен індукувати ендоплазматичний стрес [68], негативно впливати на сперматогенез [198] і спричиняти порушення з боку нервової системи [68]. Крім того, ця сполука широко використовується як компонент агрохімікатів – у складі фунгіцидів, гербіцидів та інсектицидів [68, 198], що підкреслює необхідність обережного ставлення до її фармакологічного застосування. Щодо диметилфумарату, то в клінічній практиці повідомлялося про розвиток тяжких реакцій гіперчутливості при його використанні, а також

гастроінтестинальні порушення (нудота, блювання, діарея, абдомінальний біль). Особливе занепокоєння викликає здатність диметилфумарату знижувати імунну резистентність до тяжких нейроінфекцій, які можуть мати фатальні наслідки або призводити до стійкої інвалідизації [175, 191, 250].

Ці дані підкреслюють доцільність подальших пошуків ефективних і безпечних модуляторів сигнальних шляхів, пов'язаних із транскрипційними факторами NF-κB і Nrf2, що є ключовими регуляторами прозапальних та антиоксидантних відповідей відповідно. З огляду на обмеження, пов'язані з токсичністю піролідиндитіокарбамату амонію та побічною дією диметилфумарату, особливого значення набуває ідентифікація нових сполук із більш сприятливим профілем безпеки.

Серед таких речовин перспективними є поліфеноли (кверцетин, лютеолін, куркумін, ресвератрол), які здатні одночасно пригнічувати NF-κB-залежну експресію прозапальних генів і активувати Nrf2-залежну транскрипцію генів антиоксидантного захисту [9, 10, 136]. Крім них, суттєвий інтерес становить сульфорафан – ізотіоціанат, що міститься у броколі, як потужний природний індуктор Nrf2, здатний ефективно підвищувати експресію антиоксидантних, протизапальних і цитопротекторних генів, що відіграють ключову роль у механізмах клітинного захисту, включаючи окисно-відновний статус і детоксикацію [45, 57, 58, 113, 180, 207].

Таким чином, подальше вивчення природних модуляторів транскрипційної активності, зокрема біофлавоноїдів та сульфорафану, є перспективним напрямком у створенні нових протизапальних і цитопротекторних засобів з поліпшеним профілем безпеки для використання в умовах СЗВ.

Згідно із результатами нашого дослідження, застосування кверцетину та сульфорафану сприяло достовірному зниженню концентрації білка гострої фази церулоплазміну в сироватці крові щурів за умов ЛПС-індукованої СЗВ. Незважаючи на суттєве зменшення рівня цього маркера порівняно з групою без корекції, його показники залишалися вищими за значення інтактних тварин, що вказує на часткову, але не повну корекцію реакції гострої фази. Також відзначимо, що подібні дані були отримані в дослідженні Ye.O. Morhun et al., яке показало, що комбіноване застосування кверцетину з іншими агентами знижує рівень церулоплазміну в аналогічній моделі СЗВ [181].

Щодо продуктів ПОЛ (ТБК-реактивів), у групах щурів із введеним кверцетином і сульфорафаном їх концентрація в крові була суттєво знижена до рівня, що не відрізнявся від контролю. Це свідчить про ефективне обмеження інтенсивності вільнорадикального окиснення під впливом цих природних сполук. Цей висновок узгоджується із даними, викладеними у загальному огляді A. Ayala et al. щодо механізмів ліпідної перекисної деструкції та ролі антиоксидантів [49].

Додатково, після інкубації крові в прооксидантному залізо-аскорбатному середовищі, групи, яким вводили кверцетин та сульфорафан, демонстрували достовірне зниження ТБК-реактивів порівняно з моделлю СЗВ без корекції. Це свідчить про значне підсилення антиоксидантного захисту крові під дією природних модуляторів. Приріст ТБК-реактивів під час інкубації – інтегральний показник прооксидантного навантаження – у цих групах не відрізнявся від контрольних значень, що підтверджує їхню протекторну дію щодо ліпідного окиснення.

Отже, отримані результати вказують, що кверцетин і сульфорафан як природні модулятори TFs здатні ефективно зменшувати запальну відповідь

і підвищувати антиоксидантний потенціал крові при ЛПС-індукованій СЗВ. Їх вплив реалізується як за рахунок зниження вмісту гострофазового білка (цераулоплазміну), так і завдяки ефективній нейтралізації прооксидантного впливу ЛПС. Ці дані перекликаються з роботами, де біофлавоноїди та сульфорафан показали здатність впливати на NF-κB і Nrf2-залежні сигнальні шляхи [122, 227, 231, 253], і доповнюють літературні дані щодо потенційного застосування природних сполук у корекції СЗВ-опосередкованих метаболічних розладів.

У нашому дослідженні застосування кверцетину на тлі моделювання СЗВ у щурів виявилось ефективним у зниженні загальної продукції супероксидного аніон-радикала ( $O_2^{\cdot-}$ ) у гомогенаті тканин слъзових залоз, а також в активності його ключових генераторів: NADPH-залежних мітросомальних електронно-транспортних ланцюгів, мітохондріального дихального ланцюга і лейкоцитарної NADPH-оксидази. Показники продукції супероксиду за умов корекції кверцетином не відрізнялися від значень інтактної (контрольної) групи, що свідчить про значний антиоксидантний потенціал цієї сполуки. Цей ефект узгоджується із раніше опублікованими роботами, де зазначено, що кверцетин пригнічує експресію та ферментативну активність субодиниць Nox2 [276] та зменшує мітохондріальні джерела АФО [210].

Сучасні дослідження підтверджують, що антиоксидантна дія кверцетину та його похідних вважається одним із ключових механізмів, які визначають їхні фармакологічні властивості [245]. Ця дія значною мірою обумовлена їх здатністю гальмувати сигнальний шлях NF-κB та активувати транскрипційний фактор Nrf2. Наприклад, показано, що кверцетин, взаємодіючи з 26S-протеасомою, інгібує активацію NF-κB шляхом блокування убіквітин-залежного протеолізу ІκB [126]. Це призводить до

пригнічення активності генів, що кодують прозапальні цитокіни та прооксидантні білки. У хворих на стабільну ішемічну хворобу серця прийом кверцетину суттєво знижував рівень експресії гена ІкВ $\alpha$  [64]. Показано, що кверцетин значно пригнічує експресію мРНК субодиниць NF-кВ p50 і p65, а також ERK1/2 і JNK1/2 [217]. При цьому western-blot-аналіз продемонстрував, що цей флавоноїд інгібує фосфорилювання p50, p65, ERK1/2 та JNK1/2, що свідчить про те, що протизапальна дія кверцетину реалізується через пригнічення NF-кВ та MAPK-сигналіngu в клітинах RAW264.7

Здатність кверцетину до високоселективної взаємодії з ферментами LOX, COX і ксантинооксидазою дозволяє йому ефективно пригнічувати ці ферменти. Окрім блокування радикально-ланцюгових реакцій, викликаних різною хімічною природою вільних радикалів, цей флавоноїд також може діставати властивість утворювати металохелатні комплекси з іонами різної валентності [26, 147]. Було доведено, що кверцетин здатен знижувати рівні прозапальних цитокінів, таких як IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 і TNF- $\alpha$  [69, 72, 167].

Нещодавні публікації також підтверджують ключову роль кверцетину у взаємодії з Nrf2-залежними механізмами. Наприклад, дослідження показали, що кверцетин активує Nrf2/Keap1 шлях, що веде до підвищення експресії антиоксидантних ферментів [268, 271]. Таким чином, дані нашого дослідження укладаються в контекст сучасних концепцій щодо механізмів дії кверцетину.

Так само, введення сульфорафану продемонструвало виражений антиоксидантний ефект: відбувалося зниження як загального рівня утворення супероксиду, так і активності ключових його генераторів, насамперед мітохондріального електронно-транспортного ланцюга та NADPH-оксидази лейкоцитів. У наших дослідженнях спостерігалась

нормалізація продукції супероксиду майже до контрольних значень, що підтверджує високу ефективність сульфорафану як модулятора Nrf2-залежного антиоксидантного захисту. Це відповідає даним огляду С.А. Houghton et al., які показали, що сульфорафан інгібує Nox4 і знижує продукцію АФО [114]. Було висловлено припущення, що сульфорафан-залежна цитопротекція може бути опосередкована білірубінном, який безпосередньо пригнічує активність NADPH оксидази, тим самим зменшуючи утворення супероксидного аніон-радикала [109].

Таким чином, обидві природні сполуки – кверцетин і сульфорафан – ефективно пригнічують надмірне утворення супероксидного аніон-радикала в тканинах слюзових залоз за умов СЗВ, що дозволяє припустити, що їх дія здійснюється через регуляцію ключових генераторів вільнорадикальних форм кисню. Наші результати підтверджують концепцію, що модуляція NF-κB і Nrf2-сигналізації може бути результативною стратегією зменшення оксидативного навантаження в екзокринних залозах, і доповнюють літературні відомості про потенціал природних модуляторів у цьому контексті.

Нами показано, що застосування кверцетину та сульфорафану у щурів з ЛПС-індукованою СЗВ виявило таку закономірність: загальна активність NOS у гомогенаті слюзових залоз знижувалась переважно за рахунок зменшення активності iNOS. При цьому, хоча активність iNOS залишалася підвищеною щодо значення інтактних тварин, вона достовірно зменшувалась порівняно з некоригованою моделлю СЗВ. Одночасно на тлі введення цих сполук спостерігалось відновлення активності cNOS, яка за умов СЗВ зазнавала пригнічення.

Ця динаміка відповідає літературним даним, що показують: кверцетин здатен гальмувати експресію гена iNOS та зменшувати

продукцію NO у ЛПС-індукованих моделях [252], тоді як сульфорафан підвищує активність cNOS/eNOS і сприяє утворенню NO у фізіологічному контексті [275]. Таким чином, наші результати розширюють ці дані, демонструючи ефект природних модуляторів не тільки у зниженні iNOS-залежної патологічної продукції NO, але й у сприянні відновленню cNOS-залежного фізіологічного шляху.

Крім того, спостерігалось покращення функціональної взаємодії між субодиницями cNOS, що проявилось підвищенням індексу спряження ферменту – показника, який відображає ефективність утворення NO без супутньої генерації надмірного супероксидного аніон-радикала. Однак повне відновлення цього показника до рівня інтактних тварин не досягнуто, що вказує на залишкову дисфункцію ферменту навіть за умов фармакологічної корекції.

Нарешті, введення кверцетину та сульфорафану, згідно із одержаними нами результатами, супроводжувалось підвищенням активності орнітиндекарбоксилази, що свідчить про активацію репаративного компонента аргінінового метаболізму та потенційно про поліпшення трофічного статусу слюзової залози. У літературі містяться дані, що зміни в метаболізмі L-аргініну (зокрема баланс між NOS та аргіназою/орнітиндекарбоксилазою) мають ключове значення для відновлення тканин після запальних ушкоджень [149, 197, 233].

Отже, отримані результати підтверджують, що природні модулятори транскрипційних факторів NF- $\kappa$ B та Nrf2, а саме кверцетин і сульфорафан, можуть впливати на ключові ферменти метаболізму L-аргініну в умовах СЗВ. Зокрема, вони знижують надмірне утворення NO через iNOS, стимулюють cNOS-залежний фізіологічний синтез NO, і активують аргіназний/орнітиндекарбоксилазний шлях репаративного метаболізму, що

відкриває перспективу їх застосування в терапевтичній корекції запально-метаболических розладів в екзокринних залозах.

Нами показано, що кверцетин і сульфорафан продемонстрували виразну антинітрозативну активність у тканинах слюзових залоз щурів із ЛПС-індукованою СЗВ. Зокрема, введення кверцетину призводило до достовірного зменшення вмісту пероксинітритів у гомогенаті слюзових залоз, причому рівень цього маркера стабілізувався практично до фізіологічних значень, що свідчить про високий потенціал цього флавоноїду у пригніченні АФН. Водночас сульфорафан також сприяв вірогідному зниженню концентрації пероксинітритів у зазначених тканинах, однак кінцеві значення залишались вищими за контрольні, що може вказувати на дещо нижчу ефективність цього агенту порівняно з кверцетином.

Подальший аналіз показує, що обидві сполуки – кверцетин і сульфорафан – суттєво зменшують накопичення низькомолекулярних S-нітрозотіолів, здатних до повільного вивільнення NO. Після експериментальної терапії їх концентрація у досліджуваних групах відновлювалася до рівня, що вірогідно не відрізняється від значення інтактних тварин. Ця закономірність підтверджує, що кверцетин та сульфорафан не лише обмежують утворення пероксинітриту, але й впливають на резервуар метаболітів NO у тканинах.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що кверцетин і сульфорафан виявляють значний потенціал у зниженні рівня АФН у слюзових залозах за умов СЗВ. Вони реалізують свою дію як через пригнічення утворення пероксинітриту, так і через відновлення вмісту S-нітрозотіолів, що зменшує нітрозативне навантаження на тканинному рівні. Ці дані узгоджуються з попередніми роботами: так, було показано,

що кверцетин ефективно пригнічує продукування пероксинітриту в умовах окисно-нітрозативного стресу [279], а також що сульфорафан, активуючи шлях Nrf2, знижує рівень метаболітів NO й їхніх токсичних похідних у тканинах [94, 89]. Таким чином, наше дослідження додає новий вимір до розуміння дії природних модулюючих сполук у корекції нітрозативного стресу в специфічному органі – слъзовій залозі.

У ході дослідження було доведено, що модуляція активності транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 як синтетичними (піролідиндитіокарбамат амонію, диметилфумарат), так і природними (кверцетин, сульфорафан) сполуками здатна ефективно коригувати ключові порушення, що виникають у системі крові та слъзових залоз за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Спостерігалось достовірне зниження маркерів запалення та оксидативного й нітрозативного стресу, нормалізація метаболізму L-аргініну, що відображає покращення метаболічного стану слъзових залоз.

*Схематично* вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 на патогенез метаболічних розладів слъзових залоз за умов відтворення ЛПС-індукованої СЗВ згідно з результатами нашого дослідження та даними літератури наведено на рис. 6.1.

Таким чином, підбиваючи підсумки дослідження можна констатувати, що модуляція активності транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 як синтетичними (піролідиндитіокарбамат амонію, диметилфумарат), так і природними (кверцетин, сульфорафан) сполуками здатна ефективно коригувати ключові порушення, що виникають у системі крові та слъзових залоз за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Спостерігалось достовірне зниження маркерів запалення та

оксидативно-нітрозативного стресу, нормалізація метаболізму L-аргініну, що відображає покращення метаболічного стану слюзових залоз.

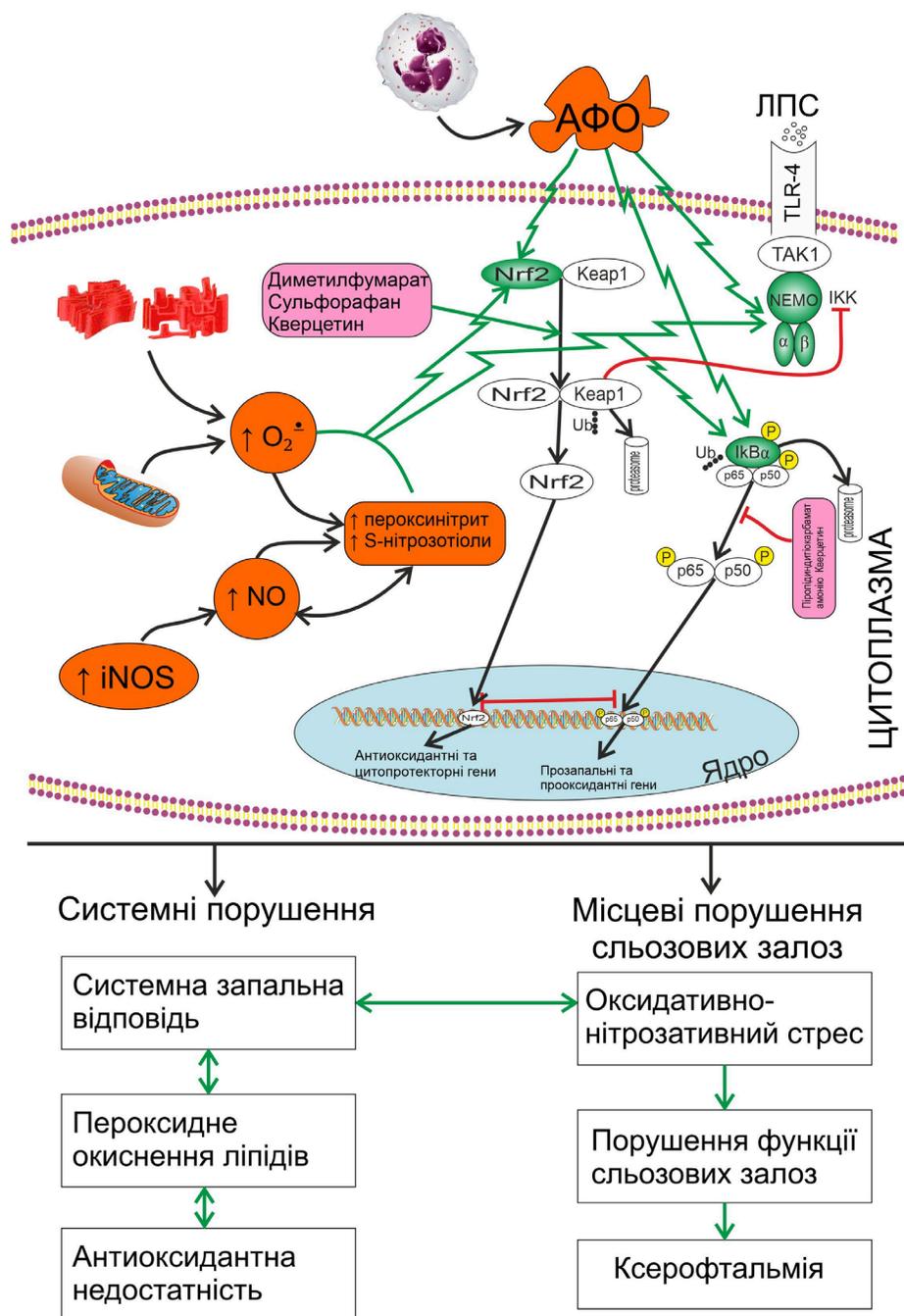


Рис. 6.1. Концептуальна схема участі транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 у патогенезі метаболічних розладів слюзових залоз за умов відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

Результати підтвердили концепцію доцільності використання модуляторів NF- $\kappa$ B і Nrf2 як патогенетично обґрунтованих засобів для корекції системної запальної відповіді. При цьому природні сполуки – кверцетин і сульфорафан – продемонстрували не лише ефективність, співставну з синтетичними аналогами, а й більш сприятливий профіль безпеки, що визначає перспективність їх подальшого вивчення як потенційних протизапальних та антиоксидантних засобів з перспективою клінічного застосування.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведене теоретичне узагальнення і розв'язання наукового завдання, що полягає у з'ясуванні закономірностей впливу специфічних і природних модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції (інгібіторів NF-κB та індукторів сигнального шляху Nrf2 – антиоксидант респонсивний елемент) у патогенезі метаболічних розладів слюзових залоз щурів за умов відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

1. Внутрішньоочеревинне введення ліпополісахариду *Salmonella typhi* щурам викликає розвиток системної запальної відповіді, що підтверджується підвищенням вмісту церулоплазміну в сироватці крові на 66.8% ( $P < 0.001$ ) та зростанням концентрації вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-реактивів) на 113% ( $P < 0.001$ ). Після інкубації в прооксидантному середовищі вміст ТБК-реактивів та їх приріст збільшилися на 111% ( $P < 0.001$ ), що свідчить про виражене зниження антиоксидантного потенціалу крові та зростання прооксидантного навантаження. У сироватці крові також відзначається зростання загальної активності NO-синтази на 208% ( $P < 0.001$ ), головним чином за рахунок індукцибельної ізоформи (збільшення на 214%,  $P < 0.001$ ), тоді як аргіназна активність знижувалася на 37.8% ( $P < 0.01$ ), що свідчить про домінування прозапального шляху метаболізму L-аргініну.

2. У тканинах слюзових залоз щурів на тлі ЛПС-індукованої СЗВ спостерігалось підвищення загального фонового генерування супероксидного аніон-радикала на 75.2% ( $P < 0.001$ ), зокрема за рахунок зростання його продукції NADPH-залежними мікросомальними

монооксигеназами (на 64.6%,  $P < 0.001$ ), мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом (на 70.3%,  $P < 0.001$ ) та NADPH-оксидазою лейкоцитів (на 131% ( $P < 0.001$ )). Загальна NO-синтазна активність у гомогенаті слюзових залоз зростала на 87.5% ( $P < 0.001$ ), причому активність індукцибельної ізоформи збільшувалась на 101% ( $P < 0.001$ ), тоді як активність конститутивного ізоферменту знижувалась на 56.9% ( $P < 0.001$ ), а її індекс його спряження – на 73.6% ( $P < 0.001$ ). Також встановлено зниження активності орнітиндекарбоксилази на 39,6% ( $P < 0.05$ ), зростання концентрації пероксинітритів на 211% ( $P < 0.001$ ) та S-нітрозотіолів на 23.4% ( $P < 0.001$ ).

3. Введення специфічних модуляторів редоксчутливих факторів транскрипції – інгібітора активації NF- $\kappa$ B піролідиндитіокарбамату амонію та індуктора сигнального шляху Nrf2 – антиоксидант респонсивний елемент диметилфумарату – на тлі ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді суттєво обмежує показники останньої: достовірно знижує вміст церулоплазміну в сироватці крові тварин на 30.9 і 32.4% ( $P < 0.001$ ) відповідно, інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів (при зростанні антиоксидантного потенціалу) у крові тварин, загальну активність NO-синтази в сироватці крові щурів на 58.8% ( $P < 0.001$ ), насамперед за рахунок пригнічення індукцибельної ізоформи ферменту. Водночас у сироватці крові підвищувалася аргіназна активність – на 34.8% ( $P < 0.001$ ) під дією піролідиндитіокарбамату амонію та на 39.1% ( $P < 0.001$ ) під дією диметилфумарату.

4. Піролідиндитіокарбамат амонію та диметилфумарат ефективно коригують індуквані системною запальною відповіддю порушення у слюзових залозах, достовірно знижуючи загальний фон продукції супероксидного аніон-радикала (на 39.4 і 34.8% відповідно,  $P < 0.001$ ),

активність індукцибельної NO-синтази (на 36.6 і 23.6%,  $P < 0.001$ ), а також вміст пероксинітритів (на 62.0 і 62.8%,  $P < 0.001$ ) та низькомолекулярних S-нітрозотіолів (на 16.8%,  $P < 0.001$ , і 10.5%,  $P < 0.05$ ). Обидві сполуки підвищують спряженість конститутивної ізоформи NO-синтази, сприяють відновленню активності орнітиндекарбоксилази у тканинах слюзових залоз.

5. Введення природних модуляторів факторів транскрипції NF- $\kappa$ B і Nrf2 кверцетину і сульфорафану щурам із ліпополісахарид-індукованою системною запальною відповіддю вірогідно знижує вміст церулоплазміну в сироватці крові тварин на 29.3 і 29.7% ( $P < 0.001$ ) відповідно, інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів (при зростанні антиоксидантного потенціалу) у крові тварин, сприяє відновленню активності ферментів метаболізму L-аргініну у слюзових залозах. Обидві сполуки знижували загальну активність NO-синтази переважно за рахунок інгібування індукцибельної ізоформи: активність iNOS у тканинах зменшувалась на 49.7% ( $P < 0.001$ ) при введенні кверцетину та на 46.4% ( $P < 0.001$ ) при введенні сульфорафану.

6. Кверцетин і сульфорафан сприяють зменшенню оксидативно-нітрозативного стресу у слюзових залозах щурів із СЗВ. Так, загальний фон продукції супероксидного аніон-радикала зменшувався на 44.4 і 31.3% відповідно ( $P < 0.001$ ), активність індукцибельної NO-синтази (на 40.5% і 33.7%,  $P < 0.001$ ), а також вміст пероксинітритів (на 65.4 і 60.1%,  $P < 0.001$ ) та S-нітрозотіолів (на 16.8%,  $P < 0.01$ , і 13.7%,  $P < 0.05$ ). Окрім того, обидві сполуки забезпечували зростання активності орнітиндекарбоксилази у тканинах слюзових залоз: на 36.5% ( $P < 0.05$ ) під дією кверцетину та на 58.9% ( $P < 0.02$ ) під дією сульфорафану, що свідчить про активацію проліферативного напрямку метаболізму L-аргініну й поліпшення трофіки

тканин. Обидві сполуки підвищують спряженість конститутивної ізоформи NO-синтази у тканинах слюзових залоз.

7. Диметилфумарат і сульфорафан, як індуктори Nrf2, не лише пригнічують у слюзових залозах щурів із СЗВ індукцибельну NO-синтазу, але й активують у них конститутивну ізоформу цього ферменту, що свідчить про ширший відновлювальний потенціал цих сполук.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Акімов ОЄ, Костенко ВО. Оксидативно-нітрозативний стрес і методи його дослідження. Львів: Магнолія; 2022. 152 с.
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;16(2):115-121.
3. Гутнік ОМ, Костенко ВО. Вплив глутамату натрію на продукцію активних форм кисню 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.
4. Гутнік ОМ, Назаренко СМ, Костенко ВО. Вплив кверцетину на показники оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах нирок щурів за умов гострого десинхронозу та ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Фізіол. журн. 2024;70(4):33-41.
5. 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.
6. Єлінська АМ, Костенко ВО. Поєднана дія кверцетину та модуляторів редоксчутливих чинників на показники системної запальної відповіді, вуглеводного та ліпідного метаболізму в крові щурів за умов внутрішньоочеревинного та внутрішньоясенного введення

ліпополісахариду *Salmonella typhi*. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2020;20(1):13-18.

7. Єлінська АМ, Швайковська ОО, Костенко ВО. Вплив епігалокатехін-3-галату на продукцію активних форм кисню і азоту в тканинах пародонта та слинних залоз щурів за умов системної запальної відповіді. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2018;(1):32-38.

8. Єлінська АМ. Роль редоксчутливих факторів транскрипції у розвитку дизрегуляторної патології пародонта та шляхи її експериментальної терапії [дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 «Патологічна фізіологія»]. Полтава, Українська медична стоматологічна академія МОЗ України; 2020. 372 с.

9. Залесский ВН, Великая НВ, Омельчук СТ. Детоксикационное питание: молекулярные основы редокс-зависимой регуляции функционального состояния мезенхимальных и раковых стволовых клеток ингредиентами пищи: монография. Винница: Нова книга; 2021. 544 с.

10. Залесский ВН, Великая НВ, Омельчук СТ. Противовоспалительное питание в профилактике и лечении хронических неинфекционных (в том числе опухолевых) заболеваний человека. Молекулярные защитные механизмы биоактивных компонентов пищи: монография. Винница: Нова книга; 2014. 736 с.

11. Кайдашев ИП. Изменение образа жизни, нарушение энергетического метаболизма и системное воспаление как факторы развития болезней цивилизации. Укр. мед. часопис. 2013;(5):103-108.

12. Кайдашев ИП. Роль NFκB в функционировании отдельных тканей, развитии и синтропии заболеваний основных систем организма. Журн. НАМН України. 2012;18(2):186-198.

13. Кайдашев ИП. Цитокиновый сигнальный модуль при воспалительном ответе. Клини. иммунол. Аллергол. Инфектол. 2012;(3):26-32.
14. Кайдашев П. Активация NF-κB при метаболическому синдрому. Фізіол. журн. 2012;58(1):93-101.
15. Кайдашев П, редактор. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. Полтава; 2003. 320 с.
16. Клименко МО. Низькоступеневе дифузне хронічне запалення. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2022;(3):7-19.
17. Козаєва РС, Клименко МО, Костенко ВО. Ліпополісахарид-індукована системна запальна відповідь обтяжує розвиток окисно-нітрозативного стресу в слинних залозах щурів при їх алкогольному ураженні. Фізіол. журн. 2021;67(6):60-67.
18. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Гутнік ОМ, Романцева Т.О., Моргун Є.О. Технологія експериментального моделювання системної запальної відповіді. Реєстраційна картка технології (РКТ): державний реєстраційний № 0625U000025.
19. 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.
20. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко ММ, Гутнік ОМ, Назаренко СМ, Нестуля КІ, Таран ОВ, Романцева ТО, Моргун ЄО. Модуляція редокс-чутливих транскрипційних факторів поліфенолами як засіб патогенетичної

терапії системної запальної відповіді. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.). Тернопіль; 2022. С. 33.

21. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко РМ, Адамович ІМ, Моргун ЄО, Романцева ТО. Редокс-чутливі фактори транскрипції як перспективні мішені експериментальної терапії патології, асоційованої з системною запальною відповіддю. Патологічна фізіологія охорони здоров'я України: тези доп. IX Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю, присвяченого 100-річчю Української патологічної фізіології (Івано-Франківськ, 19-21 вересня 2024 р.). Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет; 2024. С. 122-124.

22. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко РМ, Адамович ІМ, Моргун ЄО, Романцева ТО. Системна запальна відповідь: інноваційні підходи до патогенетичної терапії. Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» (Полтава, 30-31 жовтня 2024 р.): збірка тез та статей. Полтава; 2024. С.93-94.

23. Костенко ВО, Рябушко РМ, Адамович ІМ, Гутнік ОМ, Моргун ЄО, Романцева ТО. Фенотипи системної запальної відповіді: спільні риси, унікальні особливості, експериментальне моделювання. XXIII читання В.В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (16-17 травня 2024 р.). Одеса: УкрНДІ медицини транспорту; 2024. С. 62-63.

24. Костенко ВО, Цебржинський ОІ. Продукція супероксидного аніон-радикала та оксиду азоту у тканині нирок після хірургічного втручання. Фізіол. журн. 2000; 46(5):56-62.

25. Куценко ЛА, Кайдашев ИП. Место церулоплазмина среди белков острой фазы как маркера системного воспаления. Лаб. діагн. 2011;(3):59-68.

26. Максютин НП, Мойбенко АА, Мохорт НА и др. Биофлавоноиды как органопротекторы (кверцетин, корвитин, квертин). К.: Наукова думка; 2012. 274 с.

27. Романцева ТО, Костенко ВО. Вплив модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах слюзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2025;25(1):134-139.

28. Романцева ТО, Костенко ВО. Вплив сульфорафану на показники оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах слюзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Фізіол. журн. 2025; 71(6):21-29.

29. Романцева ТО, Костенко ВО. Кверцетин як коректор оксидативних порушень у тканинах слюзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024; 24(4):223-228.

30. Романцева ТО. Сульфорафан – потенційний засіб корекції NF-κB-опосередкованих механізмів оксидативно-нітрозативного ушкодження слюзових залоз за умов системної запальної відповіді. Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини: матеріали наук.-практ. інтернет-конференції з міжнародною участю (м. Полтава, 23-24 жовтня 2025 р.). Полтава: ПДМУ; 2025. С.317-318.

31. Романцева Т.О. Сульфорафан як модулятор нітрооксидативного стресу у сльозових залозах при системному запаленні. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: матеріали VII науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (Харків, 15 травня 2025 року). Харків: Вид-во НФаУ; 2025. С. 252.

32. Рябушко РМ, Костенко ВО. Вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 на продукцію активних форм кисню та азоту в серці щурів після хірургічної травми на тлі тривалого стресу. Фізіол. журн. 2025;71(2):51-57.

33. Рябушко РМ, Костенко ВО. Метаболізм оксиду азоту в тканинах тонкої кишки щурів за умов хірургічної травми, відтвореної на тлі експериментальної моделі посттравматичного стресового розладу. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024;24(1):124-128.

34. Рябушко РМ, Рябушко ММ, Костенко ВО. Вплив водорозчинної форми кверцетину на метаболізм оксиду азоту в серці щурів після хірургічної травми на тлі експериментального посттравматичного стресового розладу. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2024;18(4): 273-279.

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

36. Таран ОВ, Соловйова НВ, Костенко ВО. Вплив лапаротомії та ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді на метаболічні розлади в організмі щурів. Фізіол. журн. 2022; 68(3):35-43.

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

38. Френкель ЮД, Черно ВС, Костенко ВО. Вплив куркуміну на систему оксиду азоту в скелетних м'язах щурів за умов експериментального метаболічного синдрому за умов цілодобового освітлення. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2022;22(3-4):173-176.

39. Френкель ЮД, Черно ВС, Костенко ВО. Дія мелатоніну та кверцетину на запалення та метаболізм за умов цілодобового освітлення та висококалорійної вуглеводно-ліпідної дієти. Фізіол. журн. 2024;70(1):43-51.

40. Abengózar-Vela A, Schaumburg CS, Stern ME, et al. Topical Quercetin and Resveratrol Protect the Ocular Surface in Experimental Dry Eye Disease. *Ocul Immunol Inflamm.* 2019;27(6):1023-1032.

41. Abu-Amer Y. NF- $\kappa$ B signaling and bone resorption. *Osteoporos Int.* 2013;24(9):2377-2386.

42. Akimov OY, Kostenko VO. Role of NF- $\kappa$ 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.

43. 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.

44. Akimov OYe, Mykytenko AO, Kostenko VO, Yeroshenko GA. Role of NF- $\kappa$ B in connective tissue degradation in rat heart during experimental metabolic syndrome. *World of Medicine and Biology*. 2024;4:154-157.

45. Alves I, Araújo EMQ, Dalgaard LT, Singh S, Børsheim E, Carvalho E. Protective Effects of Sulforaphane Preventing Inflammation and Oxidative Stress to Enhance Metabolic Health: A Narrative Review. *Nutrients*. 2025;17(3):428.

46. Alves M, Cunha DA, Calegari VC, et al. Nuclear factor-kappaB and advanced glycation end-products expression in lacrimal glands of aging rats [published correction appears in *J Endocrinol*. 2017 Jun;233(3):X3]. *J Endocrinol*. 2005;187(1):159-166.

47. Ambili R, Janam P. A critique on nuclear factor-kappa B and signal transducer and activator of transcription 3: The key transcription factors in periodontal pathogenesis. *J Indian Soc Periodontol*. 2017;21(5):350-356.

48. Asselin C, Blais M. Transcriptional Regulation of Acute Phase Protein Genes. In: Veas F, editor. *Acute Phase Proteins – Regulation and Functions of Acute Phase Proteins* [Internet]. London: IntechOpen; 2011. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/21445> doi: 10.5772/20381

49. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:360438.

50. Baker RG, Hayden MS, Ghosh S. NF- $\kappa$ B, inflammation, and metabolic disease. *Cell Metab*. 2011;13(1):11-22.

51. Bardallo RG, Panisello-Roselló A, Sanchez-Nuno S, et al. Nrf2 and oxidative stress in liver ischemia/reperfusion injury. *FEBS J*. 2022;289(18):5463-5479.

52. Baudouin C. A new approach for better comprehension of diseases of the ocular surface. *J Fr Ophtalmol*. 2007; 30: 239-246.

53. Bertorello R, Cordone MP, Contini P, et al. Increased levels of interleukin-10 in saliva of Sjögren's syndrome patients. Correlation with disease activity. *Clin Exp Med*. 2004;4(3):148-151.

54. Bode JG, Albrecht U, Häussinger D, Heinrich PC, Schaper F. Hepatic acute phase proteins--regulation by IL-6- and IL-1-type cytokines involving STAT3 and its crosstalk with NF- $\kappa$ B-dependent signaling. *Eur J Cell Biol*. 2012 Jun-Jul;91(6-7):496-505.

55. Bonomini F, Favero G, Rezzani R. NF- $\kappa$ B – A Key Factor in Atherogenesis and Atheroprogession. In: Bozic-Mijovski M., editor. *Thrombosis, Atherosclerosis and Atherothrombosis – New Insights and Experimental Protocols*. London: IntechOpen; 2015. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/49609> doi: 10.5772/61894

56. Bosmann M, Ward PA. The inflammatory response in sepsis. *Trends Immunol*. 2013;34(3):129-136.

57. Bousquet J, Anto JM, Czarlewski W, et al. Cabbage and fermented vegetables: From death rate heterogeneity in countries to candidates for mitigation strategies of severe COVID-19. *Allergy*. 2021 Mar;76(3):735-750.

58. Bousquet J, Cristol JP, Czarlewski W, et al. Nrf2-interacting nutrients and COVID-19: time for research to develop adaptation strategies. *Clin Transl Allergy*. 2020 Dec 3;10(1):58.

59. Bylund J, Brown KL, Movitz C, et al. Intracellular generation of superoxide by the phagocyte NADPH oxidase: how, where, and what for? *Free Radic Biol Med*. 2010 Dec 15;49(12):1834-1845.

60. Cha B, Lim JW, Kim H. Jak1/Stat3 is an upstream signaling of NF- $\kappa$ B activation in Helicobacter pylori-induced IL-8 production in gastric epithelial AGS cells. *Yonsei Med J.* 2015;56(3):862-866.

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

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

63. Chakraborty RK, Burns B. Systemic Inflammatory Response Syndrome. [Updated 2023 Feb 15]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547669/>

64. Chekalina N, Burmak Y, Petrov Y, et al. Quercetin reduces the transcriptional activity of NF- $\kappa$ B in stable coronary artery disease. *Indian Heart J.* 2018;70(5):593-597.

65. Chen X, Rao J, Zheng Z, et al. Integrated Tear Proteome and Metabolome Reveal Panels of Inflammatory-Related Molecules via Key Regulatory Pathways in Dry Eye Syndrome. *J Proteome Res.* 2019;18(5):2321-2330.

66. Chen Y, Liu S, Leng SX. Chronic Low-grade Inflammatory Phenotype (CLIP) and Senescent Immune Dysregulation. *Clin Ther.* 2019;41(3):400-409.

67. Chen Y, Zhang X, Yang L, et al. Decreased PPAR- $\gamma$  expression in the conjunctiva and increased expression of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in the conjunctiva and tear fluid of dry eye mice. *Mol Med Rep.* 2014;9(5):2015-2023.

68. Chen YW, Chen KL, Chen CH et al. Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC)/Cu complex induces lung epithelial cell apoptosis through mitochondria and ER-stress pathways. *Toxicol Lett.* 2010 Dec 15;199(3):333-340.
69. Cheng SC, Huang WC, Pang S, et al. Quercetin inhibits the production of IL-1 $\beta$ -induced inflammatory cytokines and chemokines in ARPE-19 cells via the MAPK and NF- $\kappa$ B signaling pathways. *Int J Mol Sci.* 2019;20(12):2957.
70. Chivasso C, D'Agostino C, Parisi D, et al. Involvement of aquaporin 5 in Sjögren's syndrome. *Autoimmun Rev.* 2023 Mar;22(3):103268.
71. Chovatiya R, Medzhitov R. Stress, inflammation, and defense of homeostasis. *Mol Cell.* 2014;54(2):281-288.
72. Chuang CC, Martinez K, Xie G, et al. Quercetin is equally or more effective than resveratrol in attenuating tumor necrosis factor- $\alpha$ -mediated inflammation and insulin resistance in primary human adipocytes. *Am J Clin Nutr.* 2010;92(6):1511-1521.
73. Connell S, Kawashima M, Nakamura S, et al. Lactoferrin Ameliorates Dry Eye Disease Potentially through Enhancement of Short-Chain Fatty Acid Production by Gut Microbiota in Mice. *Int J Mol Sci.* 2021;22(22):12384.
74. Conrady CD, Joos ZP, Patel BC. Review: The Lacrimal Gland and Its Role in Dry Eye. *J Ophthalmol.* 2016;2016:7542929.
75. Contreras-Ruiz L, Ghosh-Mitra A, Shatos MA, et al. Modulation of conjunctival goblet cell function by inflammatory cytokines. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:636812.
76. Crosas-Molist E, Fabregat I. Role of NADPH oxidases in the redox biology of liver fibrosis. *Redox Biol.* 2015 Dec;6:106-111.
77. D'Agostino C, Parisi D, Chivasso C, et al. Aquaporin-5 Dynamic Regulation. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 18;24(3):1889.

78. de Campos TDP, da Cruz Rodrigues KC, Pereira RM, et al. The protective roles of clusterin in ocular diseases caused by obesity and diabetes mellitus type 2. *Mol Biol Rep.* 2021;48(5):4637-4645.

79. de Souza RG, Yu Z, Hernandez H, et al. Modulation of Oxidative Stress and Inflammation in the Aged Lacrimal Gland. *Am J Pathol.* 2021 Feb;191(2):294-308.

80. Dong ZH, Wang DC, Liu TT, et al. The roles of MAPKs in rabbit nucleus pulposus cell apoptosis induced by high osmolality. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2014;18(19):2835-2845.

81. D'Souza S, Tong L. Practical issues concerning tear protein assays in dry eye. *Eye Vis (Lond).* 2014 Nov 13;1:6.

82. Edwards MR, Bartlett NW, Clarke D, et al. Targeting the NF-kappaB pathway in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Ther.* 2009;121(1):1-13.

83. Fernandez CA, Galor A, Arheart KL, et al. Dry eye syndrome, posttraumatic stress disorder, and depression in an older male veteran population. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(5):3666-3672.

84. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J.* 2012 Apr;33(7):829-37, 837a-837d.

85. Fosco MJ, Ceretti V, Agranatti D. Systemic Inflammatory Response Syndrome Predicts Mortality in Acute Coronary Syndrome without Congestive Heart Failure. *West J Emerg Med.* 2010;11(4):373-378.

86. Frenkel Y, Chernov V, Kostenko H, et al. Dietary Supplementation with Resveratrol Attenuates Serum Melatonin Level, Pro-Inflammatory Response and Metabolic Disorder in Rats Fed High-Fructose High-Lipid Diet under Round-the-Clock Lighting. *Pathophysiology.* 2023 Feb; 30(1):37-47.

87. Frenkel Y, Chernov V, Kostenko H, Kostenko V. Resveratrol attenuates the development of nitro-oxidative stress in the liver of rats under a round-the-clock lighting and high-carbohydrate-lipid diet. *Romanian Journal of Diabetes, Nutrition and Metabolic Diseases*. 2023;30(1):48-54.

88. Frenkel YuD, Chernov VS, Kostenko VO. Nrf2 induction alleviates metabolic disorder and systemic inflammatory response in rats under a round-the-clock lighting and high-carbohydrate-lipid diet. *Romanian Journal of Diabetes, Nutrition and Metabolic Diseases*. 2022;29(2):194-201.

89. Fu L, Zhao Z, Zhao S, et al. The involvement of aquaporin 5 in the inflammatory response of primary Sjogren's syndrome dry eye: potential therapeutic targets exploration. *Front Med (Lausanne)*. 2024;11:1439888.

90. Furfaro AL, Traverso N, Domenicotti C, Piras S, Moretta L, Marinari UM, Pronzato MA, Nitti M. The Nrf2/HO-1 Axis in Cancer Cell Growth and Chemoresistance. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:1958174.

91. Galor A, Feuer W, Lee DJ, et al. Depression, post-traumatic stress disorder, and dry eye syndrome: a study utilizing the national United States Veterans Affairs administrative database. *Am J Ophthalmol*. 2012;154(2):340-346.e2.

92. Galor A, Feuer W, Lee DJ, et al. Ocular surface parameters in older male veterans. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(2):1426-1433.

93. Ganzarolli de Oliveira M. S-Nitrosothiols as Platforms for Topical Nitric Oxide Delivery. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2016;119 Suppl 3:49-56.

94. Gaona-Gaona L, Molina-Jijón E, Tapia E, et al. Protective effect of sulforaphane pretreatment against cisplatin-induced liver and mitochondrial oxidant damage in rats. *Toxicology*. 2011;286(1-3):20-27.

95. García-Marqués JV, Talens-Estarells C, García-Lázaro S, et al. Systemic, environmental and lifestyle risk factors for dry eye disease in a

mediterranean caucasian population. *Cont Lens Anterior Eye*. 2022;45(5):101539.

96. Garriz A, Morokuma J, Bowman M, et al. Effects of proinflammatory cytokines on lacrimal gland myoepithelial cells contraction. *Front Ophthalmol (Lausanne)*. 2022;2:873486.

97. Gaston B, Reilly J, Drazen JM, et al. Endogenous nitrogen oxides and bronchodilator S-nitrosothiols in human airways. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993 Dec 1;90(23):10957-61.

98. George B, Suchithra TV, Bhatia N. Burn injury induces elevated inflammatory traffic: the role of NF- $\kappa$ B. *Inflamm Res*. 2021;70(1):51-65.

99. Geto Z, Molla MD, Challa F, et al. Mitochondrial Dynamic Dysfunction as a Main Triggering Factor for Inflammation Associated Chronic Non-Communicable Diseases. *J Inflamm Res*. 2020 Feb 14;13:97-107.

100. Ghazala RA, El Medney A, Meleis A, et al. Role of anti-inflammatory interventions in high-fat-diet-induced obesity. *Biomed Chromatogr*. 2020;34(3):e4743.

101. Ghosh S. *Handbook of transcription factor NF-kappaB*. LLC Boca Raton: CRC Press by Taylor & Francis Group; 2007. 223 p.

102. Gottlieb M, Bridwell R, Ravera J, Long B. Multisystem inflammatory syndrome in children with COVID-19. *Am J Emerg Med*. 2021;49:148-152.

103. Grivennikov SI, Karin M. Dangerous liaisons: STAT3 and NF-kappaB collaboration and crosstalk in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2010;21(1):11-19.

104. Gudowska-Sawczuk M, Mroczko B. The Role of Nuclear Factor Kappa B (NF- $\kappa$ B) in Development and Treatment of COVID-19: Review. *Int J Mol Sci*. 2022;23(9):5283.

105. Gupta S, Guleria RS. Involvement of Nuclear Factor- $\kappa$ B in Inflammation and Neuronal Plasticity Associated with Post-Traumatic Stress Disorder. *Cells*. 2022;11(13):2034.

106. Gusev EY, Zotova NV. Cellular Stress and General Pathological Processes. *Curr Pharm Des*. 2019;25(3):251-297.

107. Hassan MI, Ali FE, Shalkami A-GS. Role of TLR-4/IL-6/TNF- $\alpha$ , COX-II and eNOS/iNOS pathways in the impact of carvedilol against hepatic ischemia reperfusion injury. *Hum Exp Toxicol*. 2021;40(8):1362-1373.

108. Hawley D, Tang X, Zyrianova T, et al. Myoepithelial cell-driven acini contraction in response to oxytocin receptor stimulation is impaired in lacrimal glands of Sjögren's syndrome animal models. *Sci Rep*. 2018;8(1):9919.

109. He M., Siow R.C., Sugden D., et al. Induction of HO-1 and redox signaling in endothelial cells by advanced glycation end products: A role for Nrf2 in vascular protection in diabetes. *Nutr Metab Card Dis*. 2011;21(4):277–285.

110. Henrich CF, Ramulu PY, Akpek EK. Association of dry eye and inflammatory systemic diseases in a tertiary care-based sample. *Cornea*. 2014 Aug;33(8):819-825.

111. Herder C, Hermanns N. Subclinical inflammation and depressive symptoms in patients with type 1 and type 2 diabetes. *Semin Immunopathol*. 2019;41(4):477-489.

112. Hotamisligil GS. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature*. 2017;542(7640):177-185.

113. Houghton CA, Fassett RG, Coombes JS. Sulforaphane and Other Nutrigenomic Nrf2 Activators: Can the Clinician's Expectation Be Matched by the Reality?. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:7857186.

114. Houghton CA. Sulforaphane: Its "Coming of Age" as a Clinically Relevant Nutraceutical in the Prevention and Treatment of Chronic Disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:2716870.

115. Huang WC, Chou RH, Chang CC, et al. Systemic Inflammatory Response Syndrome is an Independent Predictor of One-Year Mortality in Patients with Acute Myocardial Infarction. *Acta Cardiol Sin*. 2017;33(5):477-485.

116. Itoh H, Ueda M, Suzuki M, Kohmura-Kobayashi Y. Developmental Origins of Metaflammation; A Bridge to the Future Between the DOHaD Theory and Evolutionary Biology. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:839436.

117. Izumi Y, Koyama Y. Nrf2-Independent Anti-Inflammatory Effects of Dimethyl Fumarate: Challenges and Prospects in Developing Electrophilic Nrf2 Activators for Neurodegenerative Diseases. *Antioxidants*. 2024; 13(12):1527.

118. Jabs DA, Gérard HC, Wei Y, et al. Inflammatory mediators in autoimmune lacrimal gland disease in MRL/Mpj mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45(7):2293-2298.

119. Jackson SP, Darbousset R, Schoenwaelder SM. Thromboinflammation: challenges of therapeutically targeting coagulation and other host defense mechanisms. *Blood*. 2019;133(9):906-918.

120. Jacobson JR, Birukov KG. Activation of NFkB and coagulation in lung injury by hyperoxia and excessive mechanical ventilation: one more reason "low and slow" is the way to go?. *Transl Res*. 2009;154(5):219-221.

121. Jeong E, Lee JY. Intrinsic and extrinsic regulation of innate immune receptors. *Yonsei Med J*. 2011 May;52(3):379-92.

122. Jomova K, Alomar SY, Valko R, et al. Flavonoids and their role in oxidative stress, inflammation, and human diseases. *Chem Biol Interact*. 2025;413:111489.

123. Jung SY, Park DC, Kim SS, Yeo SG. Expression, Distribution and Role of Aquaporins in Various Rhinologic Conditions. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(16):5853.

124. Juskewitch JE, Knudsen BE, Platt JL, et al. LPS-induced murine systemic inflammation is driven by parenchymal cell activation and exclusively predicted by early MCP-1 plasma levels. *Am J Pathol.* 2012 Jan;180(1):32-40.

125. Kalra S, Malik R, Singh G, et al. Pathogenesis and management of traumatic brain injury (TBI): role of neuroinflammation and anti-inflammatory drugs. *Inflammopharmacology.* 2022;30(4):1153-1166.

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

127. Kang MS, Choi EK, Choi DH, et al. Antibacterial activity of pyrrolidine dithiocarbamate. *FEMS Microbiol Lett.* 2008;280(2):250-254.

128. Kannan G, Paul BM, Thangaraj P. Stimulation, regulation, and inflammaging interventions of natural compounds on nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) pathway: a comprehensive review. *Inflammopharmacology.* 2025 Jan;33(1):145-162.

129. Kansanen E, Kuosmanen SM, Leinonen H, Levonen AL. The Keap1-Nrf2 pathway: Mechanisms of activation and dysregulation in cancer. *Redox Biol.* 2013;1(1):45-49.

130. Kaukonen KM, Bailey M, Pilcher D, et al. Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis. *N Engl J Med.* 2015;372(17):1629-1638.

131. Kawashima M, Uchino M, Yokoi N, et al. Decreased tear volume in patients with metabolic syndrome: the Osaka study. *Br J Ophthalmol.* 2014;98(3):418-420.

132. Kim I, Kim CH, Kim HS, et al. Pyrrolidine dithiocarbamate and zinc inhibit proteasome-dependent proteolysis. *Exp Cell Res.* 2004;298:229–238.

133. Kim J, Kim YS, Park SH. Metformin as a Treatment Strategy for Sjögren's Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2021 Jul 5;22(13):7231.

134. Kim ME, Lee JS. Advances in the Regulation of Inflammatory Mediators in Nitric Oxide Synthase: Implications for Disease Modulation and Therapeutic Approaches. *International Journal of Molecular Sciences.* 2025; 26(3):1204.

135. Klymenko M. Progress and prospects in research on low-grade diffuse chronic inflammation. *Ukr J Med Biol Sport.* 2025;10(1):16–29.

136. Kostenko V, Akimov O, Gutnik O, Kostenko H, Kostenko V, Romantseva T, Morhun Y, Nazarenko S, Taran O. Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response. *Heliyon.* 2023 Apr;9(5):e15551.

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

138. Kozaeva R, Klymenko MO, Kostenko VO. Resveratrol inhibits reactive oxygen and nitrogen species formation in rats' salivary glands and their functions under alcohol exposure and lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response. *PharmacologyOnLine.* 2021;3:106-115.

139. Kramer AH, Kadye R, Houseman PS, Prinsloo E. Mitochondrial STAT3 and reactive oxygen species: A fulcrum of adipogenesis?. *JAKSTAT*. 2015;4(2):e1084084.
140. Kublin CL, Hodges RR, Zoukhri D. Proinflammatory cytokine inhibition of lacrimal gland secretion. *Adv Exp Med Biol*. 2002;506(Pt B):783-787.
141. Kuryłowicz A, Koźniewski K. Anti-Inflammatory Strategies Targeting Metaflammation in Type 2 Diabetes. *Molecules*. 2020 May 9;25(9):2224.
142. Kwok S-K, Cho M-L, Her Y-M, et al. TLR2 ligation induces the production of IL-23/IL-17 via IL-6, STAT3 and NF- $\kappa$ B pathway in patients with primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Res Ther*. 2012;14:R64.
143. Lam H, Bleiden L, de Paiva CS, et al. Tear cytokine profiles in dysfunctional tear syndrome. *Am J Ophthalmol*. 2009;147(2):198-e1.
144. Lawrence T. The nuclear factor NF- $\kappa$ B pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009;1(6):a001651.
145. Lee H, Kim EK, Kang SW, et al. Effects of ozone exposure on the ocular surface. *Free Radic Biol Med*. 2013;63:78-89.
146. Lee JK, Edderkaoui M, Truong P, et al. NADPH oxidase promotes pancreatic cancer cell survival via inhibiting JAK2 dephosphorylation by tyrosine phosphatases. *Gastroenterology*. 2007;133(5):1637-1648.
147. Lesjak M, Beara I, Simin N, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *J Functional Foods*. 2018;40:68-75.
148. Li J, Tan G, Ding X, et al. A mouse dry eye model induced by topical administration of the air pollutant particulate matter 10. *Biomed Pharmacother*. 2017;96:524-534.

149. Li Z, Wang L, Ren Y, et al. Arginase: shedding light on the mechanisms and opportunities in cardiovascular diseases. *Cell Death Discov.* 2022;8(1):413.
150. Liao X, Wong ACC, Wong JOY, et al. Investigating the Impact of COVID-19 Infection on Dry Eye Parameters. *Diagnostics.* 2023; 13(9):1524.
151. Lilienbaum A, Israël A. From calcium to NF-kappa B signaling pathways in neurons. *Mol Cell Biol.* 2003;23:2680-2698.
152. Ling J, Chan CL, Ho CY, et al. The Extracts of Dendrobium Alleviate Dry Eye Disease in Rat Model by Regulating Aquaporin Expression and MAPKs/NF-κB Signalling. *Int J Mol Sci.* 2022;23(19):11195.
153. Lingappan K. NF-κB in Oxidative Stress. *Curr Opin Toxicol.* 2018;7:81-86.
154. Liu SF, Malik AB. NF-kappa B activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006;290(4):L622-L645.
155. Lou H, Li ZJ. Research progress of NF-κB in the field of ophthalmology. *Int Eye Sci.* 2017;17:266-269.
156. Lu X, Li J, Ye S, Wang R, et al. Acupuncture for dry eye disease after recovery from COVID-19: A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2022 Oct 28;101(43):e31234.
157. Luo L, Li DQ, Pflugfelder SC. Hyperosmolarity-induced apoptosis in human corneal epithelial cells is mediated by cytochrome c and MAPK pathways. *Cornea.* 2007;26(4):452-460.
158. Ma Q. Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2013;53:401-426.

159. Mahalingam SS, Pandiyan P. Polyamines: Key Players in Immunometabolism and Immune Regulation. *J Cell Immunol.* 2024;6(5):196-208.
160. Malesza IJ, Malesza M, Walkowiak J, et al. High-Fat, Western-Style Diet, Systemic Inflammation, and Gut Microbiota: A Narrative Review. *Cells.* 2021;10(11):3164.
161. Mariappan N, Elks CM, Sriramula S, et al. NF-kappaB-induced oxidative stress contributes to mitochondrial and cardiac dysfunction in type II diabetes. *Cardiovasc Res.* 2010;85(3):473-483.
162. Massa CM, Liu Z, Taylor S, et al. Biological Mechanisms of S-Nitrosothiol Formation and Degradation: How Is Specificity of S-Nitrosylation Achieved? *Antioxidants.* 2021; 10(7):1111.
163. Matsytska YeK, Akimov OYe, Mykytenko AO. Influence of corvitin and metformin on biochemical changes in lacrimal glands of rats during water avoidance stress modeling. *J Ophthalmol.* 2022; (3): 39-44.
164. McGuire VA, Ruiz-Zorrilla Diez T, Emmerich CH, et al. Dimethyl fumarate blocks pro-inflammatory cytokine production via inhibition of TLR induced M1 and K63 ubiquitin chain formation. *Sci Rep.* 2016;6:31159.
165. Medzhitov R, Horng T. Transcriptional control of the inflammatory response. *Nat Rev Immunol.* 2009 Oct;9(10):692-703.
166. Michalak KP, Michalak AZ. Understanding chronic inflammation: couplings between cytokines, ROS, NO, Cai<sup>2+</sup>, HIF-1 $\alpha$ , Nrf2 and autophagy. *Front Immunol.* 2025;16:1558263.
167. Min YD, Choi CH, Bark H, et al. Quercetin inhibits expression of inflammatory cytokines through attenuation of NF-kappaB and p38 MAPK in HMC-1 human mast cell line. *Inflamm Res.* 2007;56(5):210-215.

168. Morgan MJ, Liu ZG. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- $\kappa$ B signaling. *Cell Res.* 2011;21(1):103-115. doi:10.1038/cr.2010.178

169. Morhun YeO, Kostenko VO, Mishchenko AV, Solovyova NV. Bortezomib and quercetin as effective modulators of lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response and metabolic disorders. *Modern medical technology.* 2025;17(2):132-139.

170. Mussi N, Haque W, Robertson DM. The Association Between Risk Factors for Metabolic Syndrome and Meibomian Gland Disease in a Dry Eye Cohort. *Clin Ophthalmol.* 2021;15:3821-3832.

171. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. Influence of lipopolysaccharide on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. *Fiziol. Zh.* 2022;68(2):29-35.

172. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. Influence of systemic inflammatory response syndrome on the development of oxidative stress during simulation of chronic alcohol intoxication in rats. *Biotechnologia acta.* 2022;15(2):62-63.

173. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Extracellular matrix of rat liver under the conditions of combining systemic inflammatory response syndrome and chronic alcohol intoxication. *World of Medicine and Biology.* 2022;1:214-217.

174. Mykytenko AO, Matsytska YK, Akimov OY. Influence of lipopolysaccharide and the general adaptation syndrome on the development of oxidative-nitrosative stress in the lacrimal glands of rats. *Fiziol Zh.* 2023;69(2):71-77.

175. Naismith RT, Wundes A, Ziemssen T, et al. Diroximel Fumarate Demonstrates an Improved Gastrointestinal Tolerability Profile Compared with

Dimethyl Fumarate in Patients with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis: Results from the Randomized, Double-Blind, Phase III EVOLVE-MS-2 Study. *CNS Drugs*. 2020;34(2):185-196.

176. Nakamura A, Matsumoto M. Role of polyamines in intestinal mucosal barrier function. *Semin Immunopathol*. 2025;47(1):9.

177. Nakamura H, Kawakami A, Ida H, et al. EGF activates PI3K-Akt and NF-kappaB via distinct pathways in salivary epithelial cells in Sjögren's syndrome. *Rheumatol Int*. 2007 Dec;28(2):127-136.

178. Nejatbakhsh Samimi L, Farhadi E, Tahmasebi MN, et al. NF- $\kappa$ B signaling in rheumatoid arthritis with focus on fibroblast-like synoviocytes. *Auto Immun Highlights*. 2020;11(1):11.

179. Okulicz M, Hertig I. Acute sulforaphane action exhibits hormonal and metabolic activities in the rat: in vivo and in vitro studies. *Czech J Anim Sci*. 2016;61(1):22-31.

180. Otoo RA, Allen AR. Sulforaphane's Multifaceted Potential: From Neuroprotection to Anticancer Action. *Molecules*. 2023;28(19):6902.

181. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev*. 2007 Jan;87(1):315-424.

182. Panigrahy D, Gilligan MM, Serhan CN, Kashfi K. Resolution of inflammation: An organizing principle in biology and medicine. *Pharmacol Ther*. 2021;227:107879.

183. Páramo JA. Inflammatory response in relation to COVID-19 and other prothrombotic phenotypes. *Reumatol Clin (Engl Ed)*. 2022;18(1):1-4.

184. Park HS, Jung HY, Park EY, et al. Cutting edge: direct interaction of TLR4 with NAD(P)H oxidase 4 isozyme is essential for lipopolysaccharide-induced production of reactive oxygen species and activation of NF-kappa B. *J Immunol*. 2004;173(6):3589-3593.

185. Park JW, Yu SN, Chang SH, et al. Multisystem Inflammatory Syndrome in an Adult after COVID-19 Vaccination: a Case Report and Literature Review. *J Korean Med Sci.* 2021;36(45):e312.

186. Patel S, Santani D. Role of NF-kappa B in the pathogenesis of diabetes and its associated complications. *Pharmacol Rep.* 2009;61(4):595-603.

187. Pérez-Gómez HR, Morfín-Otero R, González-Díaz E, et al. The Multifaceted Manifestations of Multisystem Inflammatory Syndrome during the SARS-CoV-2 Pandemic. *Pathogens.* 2022;11(5):556.

188. Peruzzolo TL, Pinto JV, Roza TH, et al. Inflammatory and oxidative stress markers in post-traumatic stress disorder: a systematic review and meta-analysis. *Mol Psychiatry.* 2022;27(8):3150-3163.

189. Pflugfelder SC, de Paiva CS. The pathophysiology of dry eye disease: what we know and future directions for research. *Ophthalmology* 2017; 124: S4-S13.

190. Pflugfelder SC, Stern ME. Biological functions of tear film. *Exp Eye Res.* 2020 Aug;197:108115.

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

192. Polanská V, Serý O, Fojtík Z, Hlinomazová Z. Výskyt syndromu suchého oka a rohovkových komplikací u pacientů s revmatoidní artritidou a jeho souvislost s polymorfismem -174 genu pro interleukin 6. *Cesk Slov Oftalmol.* 2008;64(2):77-80.

193. Qian L, Wei W. Identified risk factors for dry eye syndrome: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2022;17(8):e0271267.

194. Qin L, Vetreno RP, Crews FT. NADPH oxidase and endoplasmic reticulum stress is associated with neuronal degeneration in orbitofrontal cortex of individuals with alcohol use disorder. *Addict Biol.* 2023;28(1):e13262.

195. Radi R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018 Jun 5;115(23):5839-5848.

196. Rahman I. Regulation of nuclear factor-kappa B, activator protein-1, and glutathione levels by tumour necrosis factor-alpha and dexamethasone in alveolar epithelial cells. *Biochem Pharmacol.* 2000;60(8):1041-1049.

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

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

199. Reddy NM, Potteti HR, Vegiraju S, et al. PI3K-AKT Signaling via Nrf2 Protects against Hyperoxia-Induced Acute Lung Injury, but Promotes Inflammation Post-Injury Independent of Nrf2 in Mice. *PLoS One.* 2015;10(6):e0129676.

200. Rhee MK, Mah FS. Inflammation in dry eye disease: how do we break the cycle? *Ophthalmology.* 2017; 124: S14-S19.

201. Riabushko RM, Boyarska ZO, Kostenko VO. Laparotomy enhances the production of reactive nitrogen species in the heart of rats exposed to a single prolonged stress. *Проблеми екології та медицини.* 2023;27(5-6):26-30.

202. Rodriguez-Garcia A, Babayan-Sosa A, Ramirez-Miranda A, et al. A Practical Approach to Severity Classification and Treatment of Dry Eye Disease:

A Proposal from the Mexican Dry Eye Disease Expert Panel. *Clin Ophthalmol.* 2022;16:1331-1355.

203. Rohm TV, Meier DT, Olefsky JM, Donath MY. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity.* 2022;55(1):31-55.

204. Ryan KA, Smith MF Jr, Sanders MK, Ernst PB. Reactive oxygen and nitrogen species differentially regulate Toll-like receptor 4-mediated activation of NF-kappa B and interleukin-8 expression. *Infect Immun.* 2004;72(4):2123-2130.

205. Ryszkiewicz P, Schlicker E, Malinowska B. Is Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) Promising as a New Target Against Pulmonary Hypertension? *Antioxidants.* 2025; 14(4):377.

206. Saha S, Buttari B, Panieri E, et al. An Overview of Nrf2 Signaling Pathway and Its Role in Inflammation. *Molecules.* 2020;25(22):5474.

207. Saito A, Ishikawa S, Yang K, et al. Sulforaphane as a potential therapeutic agent: a comprehensive analysis of clinical trials and mechanistic insights. *J Nutr Sci.* 2025;14:e65.

208. Salvatore T, Pafundi PC, Galiero R, et al. Metformin: A Potential Therapeutic Tool for Rheumatologists. *Pharmaceuticals (Basel).* 2020;13(9):234.

209. Sarapultsev A, Gusev E, Komelkova M, et al. JAK-STAT signaling in inflammation and stress-related diseases: implications for therapeutic interventions. *Mol Biomed.* 2023 Nov 8;4(1):40.

210. Satrialdi, Pratiwi C, Khaeranny RN, Mudhakhir D. The development of mitochondria-targeted quercetin for rescuing Sertoli cells from oxidative stress. *Res Pharm Sci.* 2025;20(1):109-120.

211. Schargus M, Ivanova S, Kakkassery V, et al. Correlation of Tear Film Osmolarity and 2 Different MMP-9 Tests With Common Dry Eye Tests in a Cohort of Non-Dry Eye Patients. *Cornea.* 2015;34(7):739-744.

212. Seo MJ, Kim JM, Lee MJ, et al. The therapeutic effect of DA-6034 on ocular inflammation via suppression of MMP-9 and inflammatory cytokines and activation of the MAPK signaling pathway in an experimental dry eye model. *Curr Eye Res.* 2010;35(2):165-175.
213. Serefoglu Cabuk K, Cakir İ, Kirgiz A, et al. Dry eye disease in patients with metabolic syndrome. *Saudi Med J.* 2016;37(12):1334-1338.
214. Sharma S, Tyagi T, Antoniak S. Platelet in thrombo-inflammation: Unraveling new therapeutic targets. *Front Immunol.* 2022;13:1039843.
215. Sherman MP, Aeberhard EE, Wong VZ, et al. Pyrrolidine dithiocarbamate inhibits induction of nitric oxide synthase activity in rat alveolar macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993;191(3):1301-1308.
216. Shmagel KV, Saidakova EV, Shmagel NG, et al. Systemic inflammation and liver damage in HIV/hepatitis C virus coinfection. *HIV Med.* 2016;17(8):581-589.
217. Si TL, Liu Q, Ren YF, et al. Enhanced anti-inflammatory effects of DHA and quercetin in lipopolysaccharide-induced RAW264.7 macrophages by inhibiting NF- $\kappa$ B and MAPK activation. *Mol Med Rep.* 2016 Jul;14(1):499-508.
218. Singh S, Hammer CM, Paulsen F. Urea and ocular surface: Synthesis, secretion and its role in tear film homeostasis. *Ocul Surf.* 2023 Jan;27:41-47.
219. Singh V, Gupta D, Arora R. NF- $\kappa$ B as a key player in regulation of cellular radiation responses and identification of radiation countermeasures. *Discoveries (Craiova).* 2015;3(1):e35.
220. Sisto M, Lisi S, Lofrumento DD, et al. Salivary gland expression level of I $\kappa$ B $\alpha$  regulatory protein in Sjögren's syndrome. *J Mol Histol.* 2013 Aug; 44(4):447-454.

221. Sisto M, Lorusso L, Lisi S. TLR2 signals via NF- $\kappa$ B to drive IL-15 production in salivary gland epithelial cells derived from patients with primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Med*. 2016;17(3):1-10.

222. Sivandzade F, Prasad S, Bhalerao A, Cucullo L. NRF2 and NF- $\kappa$ B interplay in cerebrovascular and neurodegenerative disorders: Molecular mechanisms and possible therapeutic approaches. *Redox Biol*. 2019;21:101059.

223. Skaug B, Jiang X, Chen ZJ. The role of ubiquitin in NF-kappaB regulatory pathways. *Annu Rev Biochem*. 2009;78:769-796.

224. Smale ST, Natoli G. Transcriptional control of inflammatory responses. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6(11):a016261. doi:10.1101/cshperspect.a016261

225. Souza V, Escobar Mdel C, Bucio L, et al. NADPH oxidase and ERK1/2 are involved in cadmium induced-STAT3 activation in HepG2 cells. *Toxicol Lett*. 2009;187(3):180-186.

226. Stark K, Massberg S. Interplay between inflammation and thrombosis in cardiovascular pathology. *Nat Rev Cardiol*. 2021;18(9):666-682.

227. Subedi L, Lee JH, Yumnam S, Ji E, Kim SY. Anti-Inflammatory Effect of Sulforaphane on LPS-Activated Microglia Potentially through JNK/AP-1/NF- $\kappa$ B Inhibition and Nrf2/HO-1 Activation. *Cells*. 2019;8(2):194.

228. Sui A, Chen X, Demetriades AM, et al. Inhibiting NF- $\kappa$ B Signaling Activation Reduces Retinal Neovascularization by Promoting a Polarization Shift in Macrophages. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2020 Jun 3;61(6):4.

229. Sun XF, Zhang H. NF $\kappa$ B and NF $\kappa$ BI polymorphisms in relation to susceptibility of tumour and other diseases. *Histol Histopathol*. 2007;22(12):1387-1398.

230. Sun Y, Qu Y, Zhu J. The Relationship Between Inflammation and Post-traumatic Stress Disorder. *Front Psychiatry*. 2021 Aug 11;12:707543.

231. Surh YJ, Na HK. NF-kappaB and Nrf2 as prime molecular targets for chemoprevention and cytoprotection with anti-inflammatory and antioxidant phytochemicals. *Genes Nutr.* 2008;2(4):313-317.

232. Susanto AJ, Purwanto B, Mudigdo A, Wasita B. Lacrimal Gland Histopathology and Secretory Function in Sjögren's Syndrome Mice Model Treated with *Moringa oleifera* Lam. Leaf Extract. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem.* 2023;21(3):166-172.

233. Szondi DC, Wong JK, Vardy LA, Cruickshank SM. Arginase Signalling as a Key Player in Chronic Wound Pathophysiology and Healing. *Front Mol Biosci.* 2021;8:773866.

234. Sanchez-Martvn P, Sou YS, Kageyama S et al. NBR1-mediated p62-liquid droplets enhance the Keap1-Nrf2 system. *EMBO Rep.* 2020 Mar 4;21(3):e48902.

235. Tanase DM, Gosav EM, Anton MI, et al. Oxidative Stress and NRF2/KEAP1/ARE Pathway in Diabetic Kidney Disease (DKD): New Perspectives. *Biomolecules.* 2022;12(9):1227.

236. Tavakoli A, Flanagan JL. The Case for a More Holistic Approach to Dry Eye Disease: Is It Time to Move beyond Antibiotics? *Antibiotics (Basel).* 2019;8(3):88.

237. Taylor JP, Tse HM. The role of NADPH oxidases in infectious and inflammatory diseases. *Redox Biol.* 2021;48:102159.

238. Tella T, Pohl CH, Ayangbenro A. A review of the therapeutic properties of dithiocarbamates. *F1000Res.* 2022;11:243.

239. Ting KKY, Jongstra-Bilen J, Cybulsky MI. The multi-faceted role of NADPH in regulating inflammation in activated myeloid cells. *Front Immunol.* 2023;14:1328484.

240. Tjomsland V, Bojmar L, Sandström P, et al. IL-1 $\alpha$  expression in pancreatic ductal adenocarcinoma affects the tumor cell migration and is regulated by the p38MAPK signaling pathway. *PLoS One*. 2013;8(8):e70874.

241. Tornatore L, Thotakura AK, Bennett J, et al. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation. *Trends Cell Biol*. 2012;22(11):557-566.

242. Vagionas D, Papadakis DD, Politou M, et al. Thromboinflammation in Sepsis and Heparin: A Review of Literature and Pathophysiology. *In Vivo*. 2022;36(6):2542-2557.

243. Vanani AR, Kalantari H, Mahdavinia M, et al. Dimethyl fumarate reduces oxidative stress, inflammation and fat deposition by modulation of Nrf2, SREBP-1c and NF- $\kappa$ B signaling in HFD fed mice. *Life Sci*. 2021;283:119852.

244. Vehof J, Snieder H, Jansonius N, Hammond CJ. Prevalence and risk factors of dry eye in 79,866 participants of the population-based Lifelines cohort study in the Netherlands. *Ocul Surf*. 2021;19:83-93.

245. Velika BC, Hubková B, Birková A. Quercetin as an effective antioxidant against superoxide radical. *Funct Food Sci*. 2023 Mar;3(3):15.

246. Vieira E, Mirizio GG, Barin GR, et al. Clock Genes, Inflammation and the Immune System-Implications for Diabetes, Obesity and Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 2020;21(24):9743.

247. Vulesevic B, Sirois MG, Allen BG, et al. Subclinical Inflammation in Heart Failure: A Neutrophil Perspective. *Can J Cardiol*. 2018;34(6):717-725.

248. Waggiallah HA. Thrombosis formation after COVID-19 vaccination Immunological Aspects: Review article. *Saudi J Biol Sci*. 2022;29(2):1073-1078.

249. Wei L, Xiong H, Li W, et al. Upregulation of IL-6 expression in human salivary gland cell line by IL-17 via activation of p38 MAPK, ERK, PI3K/Akt, and NF- $\kappa$ B pathways. *J Oral Pathol Med*. 2018 Oct;47(9):847-855.

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

251. Xie M, Wang H, Gao T, et al. The protective effect of luteolin on the depression-related dry eye disorder through Sirt1/NF- $\kappa$ B/NLRP3 pathway. *Aging (Albany NY)*. 2023;15(1):261-275.

252. Xu J, Li Y, Yang X, et al. Quercetin inhibited LPS-induced cytokine storm by interacting with the AKT1-FoxO1 and Keap1-Nrf2 signaling pathway in macrophages. *Sci Rep*. 2024;14:71569.

253. Xu W, Lu H, Yuan Y, et al. The Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Flavonoids from Propolis via Nrf2 and NF- $\kappa$ B Pathways. *Foods*. 2022;11(16):2439.

254. Xue Q, Yan Y, Zhang R, Xiong H. Regulation of iNOS on Immune Cells and Its Role in Diseases. *Int J Mol Sci*. 2018;19(12):3805.

255. Yadav SK, Ito N, Soin D, et al. Dimethyl Fumarate Suppresses Demyelination and Axonal Loss through Reduction in Pro-Inflammatory Macrophage-Induced Reactive Astrocytes and Complement C3 Deposition. *J Clin Med*. 2021;10(4):857.

256. Yamaguchi T. Inflammatory Response in Dry Eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59(14):DES192-DES199.

257. Yang CC, Chien JY, Chou YY, et al. The Effects of Lycium chinense, Cuscuta chinensis, Senna tora, Ophiopogon japonicus, and Dendrobium nobile Decoction on a Dry Eye Mouse Model. *Medicina (Kaunas)*. 2022;58(8):1134.

258. Yang H, Sun R, Ma N, et al. Inhibition of nuclear factor- $\kappa$ B signal by pyrrolidine dithiocarbamate alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Oncotarget*. 2017;8(29):47296-47304.

259. Yao C, Purwanti N, Karabasil MR, et al. Potential down-regulation of salivary gland AQP5 by LPS via cross-coupling of NF- $\kappa$ B and p-c-Jun/c-Fos. *Am J Pathol*. 2010 Aug;177(2):724-734.

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

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

262. Yelins'ka AM, Kostenko VO. Synergistic effect of quercetin and epigallocatechin-3-gallate as a agents for correction of connective tissue disruption in rats' periodontium under systemic and local administration of lipopolisaccharide of *Salmonella typhi*. *Probl Ekol Med*. 2019; 23(5-6):42-44.

263. Yelins'ka AM, Liashenko LI, Kostenko VO. Quercetin potentiates antiradical properties of epigallocatechin-3-gallate in periodontium of rats under systemic and local administration of lipopolisaccharide of *Salmonella typhi*. *Wiad Lek*. 2019;72(8):1499-1503.

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

265. Yoon KC, Jeong IY, Park YG, Yang SY. Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in tears of patients with dry eye syndrome. *Cornea*. 2007;26(4):431-437.

266. Yoon S, Woo SU, Kang JH, et al. STAT3 transcriptional factor activated by reactive oxygen species induces IL6 in starvation-induced autophagy of cancer cells. *Autophagy*. 2010;6(8):1125-1138.

267. You IC, Bian F, Volpe EA, et al. Age-Related Conjunctival Disease in the C57BL/6.NOD-Aec1Aec2 Mouse Model of Sjögren Syndrome Develops Independent of Lacrimal Dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(4):2224-2233.

268. Yousefi Zardak M, Keshavarz F, Mahyaei A, et al. Quercetin as a therapeutic agent activates the Nrf2/Keap1 pathway to alleviate lung ischemia-reperfusion injury. *Sci Rep*. 2024;14(1):23074.

269. Yue Y, Stone S, Lin W. Role of nuclear factor  $\kappa$ B in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neural Regen Res*. 2018;13(9):1507-1515.

270. Zaidi D, Wine E. Regulation of Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells (NF- $\kappa$ B) in Inflammatory Bowel Diseases. *Front Pediatr*. 2018;6:317.

271. Zamanian MY, Soltani A, Khodarahmi Z, et al. Targeting Nrf2 signaling pathway by quercetin in the prevention and treatment of neurological disorders: An overview and update on new developments. *Fundam Clin Pharmacol*. 2023;37(6):1050-1064.

272. Zhan X, Li J, Zhou T. Targeting Nrf2-Mediated Oxidative Stress Response Signaling Pathways as New Therapeutic Strategy for Pituitary Adenomas. *Front Pharmacol*. 2021 Mar 24;12:565748.

273. Zhang K, Di G, Bai Y, et al. Aquaporin 5 in the eye: Expression, function, and roles in ocular diseases. *Exp Eye Res.* 2023 Aug;233:109557.

274. Zhang X, Zhao L, Deng S, et al. Dry eye syndrome in patients with diabetes mellitus: prevalence, etiology, and clinical characteristics. *J Ophthalmol.* 2016;2016: 8201053.

275. Zhang Y, Khoi PN, Cai B, et al. Sulforaphane Regulates eNOS Activation and NO Production via Src-Mediated PI3K/Akt Signaling in Human Endothelial EA.hy926 Cells. *Molecules.* 2022;27(17):5422.

276. Zhang YM, Zhang ZY, Wang RX. Protective Mechanisms of Quercetin Against Myocardial Ischemia Reperfusion Injury. *Front Physiol.* 2020;11:956.

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

278. Zheng X, Li Y, Shang X, Liu R. Is Lipopolysaccharide-Induced Lipid Metabolism Disorder in Testis of Rats a Consequence of Plasma Lipid Changes? *J Inflamm Res.* 2024 Feb 7;17:765-776.

279. Žižková P, Blaškovič D, Májeková M, et al. Novel quercetin derivatives in treatment of peroxynitrite-oxidized SERCA1. *Mol Cell Biochem.* 2014;386(1-2):1-14.

280. Zotova NV, Chereshev VA, Gusev EY. Systemic Inflammation: Methodological Approaches to Identification of the Common Pathological Process. *PLoS One.* 2016;11(5):e0155138.

281. Zoukhri D. Effect of inflammation on lacrimal gland function. *Exp Eye Res.* 2006;82(5):885-898.

282. Zoukhri D, Hodges RR, Byon D, Kublin CL. Role of proinflammatory cytokines in the impaired lacrimation associated with autoimmune xerophthalmia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43(5):1429-1436.

## ДОДАТКИ

## Додаток А

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

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

1. Романцева ТО, Костенко ВО. Кверцетин як коректор оксидативних порушень у тканинах слюзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024; 24(4):223-228. doi: 10.31718/2077-1096.24.4.223 *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Костенко В.О. здійснював загальне керівництво дослідженням).*

2. Романцева ТО, Костенко ВО. Вплив модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах слюзових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2025;25(1):134-139. doi: 10.31718/2077-1096.25.1.134 *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Костенко В.О. здійснював загальне керівництво дослідженням).*

3. Романцева ТО, Костенко ВО. Вплив сульфорафану на показники оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах слюзових залоз щурів за

умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Фізіол. журн. 2025; 71(6): 21-29. doi: 10.15407/fz71.06.02 (*Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті. Костенко В.О. здійснював загальне керівництво дослідженням*).

2) які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

4. 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. (Безпосередньо дисертанткою проаналізовано результати щодо закономірностей функціонально-метаболических розладів слюзових залоз за умов розвитку ЛПС-індукованої СЗВ).

5. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко ММ, Гутнік ОМ, Назаренко СМ, Нестуля КІ, Таран ОВ, Романцева ТО, Моргун ЄО. Модуляція редокс-чутливих транскрипційних факторів поліфенолами як засіб патогенетичної терапії системної запальної відповіді. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.). Тернопіль; 2022. С. 33. (Безпосередньо здобувачкою представлено результати щодо впливу кверцетину на метаболічні розлади слюзових залоз за умов розвитку ЛПС-індукованої СЗВ).

6. Костенко ВО, Рябушко РМ, Адамович ІМ, Гутнік ОМ, Моргун ЄО, Романцева ТО. Фенотипи системної запальної відповіді: спільні риси, унікальні особливості, експериментальне моделювання. XXIII читання В.В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (16-17 травня 2024 р.). Одеса: УкрНДІ медицини транспорту; 2024. С. 62-63. (Безпосередньо дисертанткою проаналізовано результати щодо закономірностей розвитку метаболічних розладів слізозових залоз за умов розвитку ЛПС-індукованої СЗВ).

7. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко РМ, Адамович ІМ, Моргун ЄО, Романцева ТО. Редокс-чутливі фактори транскрипції як перспективні мішені експериментальної терапії патології, асоційованої з системною запальною відповіддю. Патологічна фізіологія охорони здоров'я України: тези доп. ІХ Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю, присвяченого 100-річчю Української патологічної фізіології (Івано-Франківськ, 19-21 вересня 2024 р.). Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет; 2024. С. 122-124. (Безпосередньо здобувачкою представлено результати щодо впливу модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції на запальні та нітрозильні порушення слізозових залоз за умов ЛПС-індукованої СЗВ).

8. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Рябушко РМ, Адамович ІМ, Моргун ЄО, Романцева ТО. Системна запальна відповідь: інноваційні підходи до патогенетичної терапії. Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» (Полтава, 30-31 жовтня 2024 р.): збірка тез та статей. Полтава; 2024. С.93-94. (Безпосередньо здобувачкою представлено результати щодо закономірностей дії модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції як засобів патогенетичної терапії функціонально-

метаболических расстройств слюнных желез за условий развития ЛПС-индуцированной СЗВ).

9. Романцева Т.О. Сульфорафан как модулятор нитрооксидативного стресса у слюнных железах при системном воспалении. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: матеріали VII науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (Харків, 15 травня 2025 року). Харків: Вид-во НФаУ; 2025. С. 252.

10. Романцева Т.О. Сульфорафан – потенційний засіб корекції NF-κB-опосередкованих механізмів оксидативно-нітрозативного ушкодження слюнных желез за умов системної запальної відповіді. Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини: матеріали наук.-практ. інтернет-конференції з міжнародною участю (м. Полтава, 23-24 жовтня 2025 р.). Полтава: ПДМУ; 2025. С.317-318.

*3) які додатково відображають наукові результати дисертації:*

11. Kostenko V, Akimov O, Gutnik O, Kostenko H, Kostenko V, Romantseva T, Morhun Y, Nazarenko S, Taran O. Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response. *Heliyon*. 2023 Apr 16;9(5):e15551. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e15551. **(Scopus, Q1)** (Безпосередньо дисертанткою проаналізовано результати щодо перспектив застосування модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції як засобів патогенетичної терапії пошкодження екзокринних залоз за умов формування низькоінтенсивного фенотипу СЗВ).

12. Костенко ВО, Акімов ОЄ, Гутнік ОМ, Романцева Т.О., Моргун Є.О. Технологія експериментального моделювання системної запальної відповіді. Реєстраційна картка технології (РКТ): державний реєстраційний № 0625U000025. (Дисертанткою експериментально апробовано зазначену модель СЗВ у щурів, обґрунтовано доцільність її використання для вивчення патогенезу системних та органних проявів цієї патології, а також для оцінки ефективності засобів її корекції; розроблена модель слугувала експериментальною платформою для виконання наукового дослідження здобувачки).

## ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Пленум Українського наукового товариства патофізіологів (м. Тернопіль, 15-17 вересня 2022 р., публікація матеріалів).
2. XIII Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (м. Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р., публікація матеріалів).
3. XXIII читання ім. В.В. Підвисоцького (м. Одеса, 16-17 травня 2024 р., публікація матеріалів).
4. IX національний конгрес патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія охороні здоров'я України», присвячений 100-річчю Української патологічної фізіології (м. Івано-Франківськ, 19-21 вересня 2024 р., усна доповідь)
5. Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» (м. Полтава, 30-31 жовтня 2024 р., публікація матеріалів).
6. VII науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (м. Харків, 15 травня 2025 р., публікація матеріалів).
7. Науково-практична інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» (м. Полтава, 23-24 жовтня 2025 р., публікація матеріалів).

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

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

 Юрій КОТЛЯР

« 18 »  2023 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Пропозиція для впровадження:** Роль редокс-чутливих транскрипційних факторів у патогенезі високо- та низькоінтенсивних фенотипів системної запальної відповіді.

**2. Установа-розробник:** Полтавський державний медичний університет, кафедра патофізіології, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36000. Аспіранти Гутнік Олександр Михайлович, Романцева Тамара Олександрівна, Моргун Євген Олександрович.

**3. Джерело інформації:**

Kostenko V, Akimov O, Gutnik O, Kostenko H, Kostenko V, Romantseva T, Morhun Y, Nazarenko S, Taran O. Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response. Heliyon. 2023 Apr 16;9(5):e15551. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e15551.

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

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

**6. Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри - лекційному курсі та практичних заняттях з курсу патофізіології (за темою «Запалення»).

**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 закладу вищої освіти з  
науково-педагогічної роботи  
Тернопільського національного  
медичного університету імені І.Я.  
Горбачевського МОЗ України,  
доктор медичних наук, професор



Аркадій ШУЛЬГАЙ  
2024 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. *Пропозиція для впровадження:* Роль редокс-чутливих транскрипційних факторів у патогенезі високо- та низькоінтенсивних фенотипів системної запальної відповіді.

2. *Установа-розробник:* Полтавський державний медичний університет, кафедра патофізіології, доц. Олег Акімов, асп. Олександр Гутнік, асп. Тамара Романцева, асп. Євген Моргун.

3. *Джерело інформації:* Kostenko V, Akimov O, Gutnik O, Kostenko H, Kostenko V, Romantseva T, Morhun Y, Nazarenko S, Taran O. Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response. Heliyon. 2023 Apr;9(5):e15551. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e15551.

4. *Базова установа, яка проводить впровадження:* Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського. Кафедра патологічної фізіології.

5. *Термін впровадження:* 2023-2024 н.р.

6. *Форма впровадження:* навчальний процес, у курсі лекцій та практичних занять за темою «Запалення».

7. *Зауваження і пропозиції:* Не вносилися.

8. *Обговорено* на засіданні кафедри «13» червня 2024 р., протокол № 6.

Відповідальна за впровадження:  
завідувач кафедри патологічної фізіології  
Тернопільського національного медичного  
університету імені І. Я. Горбачевського  
МОЗ України,  
д.мед.н., професорка

Ольга ДЕНЕФІЛЬ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Одеського національного медичного  
університету,

Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ

« 10 » 06 2025 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Назва впровадження:** Механізми метаболічних розладів в організмі щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

**2. Установа-розробник, автор:** Полтавський державний медичний університет МОЗ України, кафедра патофізіології, аспірантка Романцева Тамара Олександрівна.

**3. Джерела інформації:**

1. Романцева ТО, Костенко ВО. Кверцетин як коректор оксидативних порушень у тканинах слизових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2024; 24(4):223-228.

2. Романцева ТО, Костенко ВО. Вплив модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції NF- $\kappa$ B і Nrf2 на показники оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах слизових залоз щурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2025;25(1):134-139.

**4. Де впроваджено:** На кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України при проведенні лекційного курсу та практичних занять за темою «Запалення».

**5. Терміни впровадження:** січень-травень 2025 р.

**6. Результати впровадження:** Використання результатів наукових досліджень Романцевої Тамари Олександрівни в навчальному дозволяє розширити знання студентів про механізми системної запальної відповіді.

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

**8. Обговорено** на засіданні кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету 12 травня 2025 р., протокол № 11.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету МОЗ України,  
Заслужений діяч науки і техніки України  
д.мед.н., професор

Руслан ВАСТЬЯНОВ

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.о. першого проректора з науково-педагогічної роботи Полтавського державного медичного університету, професор

13 січня 2026 р.

Іван СТАРЧЕНКО



**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

- 1. Назва пропозиції:** роль індукторів транскрипційного фактора Nrf2 у механізмах розвитку оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах слизових залоз шурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.
- 2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Полтавський державний медичний університет, м. Полтава, вул. Шевченка, 23. Аспірантка кафедри патофізіології Романцева Т.О.
- 3. Джерело інформації:** Романцева Т.О., Костенко В.О. Вплив сульфорафану на показники оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах слизових залоз шурів за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Фізіол. журн. 2025; 71(6): 21-29. doi: 10.15407/fz71.06.02
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патофізіології Полтавського державного медичного університету.
- 5. Термін впровадження:** вересень-листопад 2025 р.
- 6. Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та практичних заняттях з патофізіології за темою «Запалення».
- 7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися.
- 8. Обговорено та затверджено** на засіданні кафедри патофізіології, протокол № 8 від 9 грудня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач кафедри патофізіології  
Полтавського державного  
медичного університету,  
доктор медичних наук, професор

Віталій КОСТЕНКО