



0108199708957692

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису*

**ТИХОНОВИЧ КСЕНІЯ ВОЛОДИМИРІВНА**

УДК: 616.316-06:616.833:577.1]-092.9

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ НЕЙРОПАТІЇ**  
**НА СЛИННІ ЗАЛОЗИ ТВАРИН**

Галузь знань: 09 – Біологія

Спеціальність: 091 – Біологія

**Подається на здобуття наукового ступеня *доктора філософії***

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

---

К.В.Тихонович

**Науковий керівник:**  
**НЕПОРАДА Каріне**  
**Степанівна**  
доктор медичних наук, професор

Полтава – 2024



## АНОТАЦІЯ

*Тихонович К.В.* Біохімічні механізми впливу нейропатії на слинні залози тварин. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 – Біологія. – Полтавський державний медичний університет МОЗ України, Полтава, 2024.

У дисертації розглянуто та вирішено наукове завдання, що полягає у з'ясуванні впливу паклітаксел-, стрептозоцин-, етанол-індукованої нейропатії на розвиток патологічних змін у великих слинних залозах тварин та обґрунтування експериментальної корекції шляхом застосування комплексу кокарбоксілази, нікотинаміду, ціанокобаламіну та АТФ.

Досліди проведені на 113 білих нелінійних статевозрілих щурах обох статей масою 180-220 г згідно біоетичних принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), Директив Ради Європи 2010/63/EU (2010), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006, ст. 26), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001-2019), що засвідчено комітетом з біоетики ПДМУ (протокол № 181 від 26.03.2020, № 225 від 21.03.2024).

Моделювання хіміотоксичної нейропатії у щурів відтворювали інтраперитонеальною ін'єкцією паклітакселу (виробник Актавіс Італія; 100мг/16,7мл, серія 5GN5122) у дозі 2 мг/кг в дні 0, 2, 4 і 6. Для моделювання діабетичної нейропатії вводили інтраперитонеально стрептозоцин (Streptozocin, «Sigma», США) у дозі 65 мг/кг. Для підтвердження цукрового діабету вимірювали вміст глюкози в крові натще, а також проводили визначення толерантності до глюкози шляхом цукрового навантаження. Відтворення алкогольної нейропатії тваринам здійснювали протягом 72 днів



шляхом ендogaстрального введення етанолу зростаючої концентрації 1-24 дні – 11,8%; 25-48 – 23,6%; 49-72 дні – 37%.

Розвиток нейропатії підтверджували за допомогою тензоалгометричного методу Randall-Selitto реєструючи за допомогою аналгезиметра поріг больової чутливості, який визначали надавланням на задню лапку тварини використовуючи металеву циліндричну насадку площею 0,5 см<sup>2</sup>. Показником больового порога був тиск, зафіксований у момент вираженої больової реакції тварини (висмикування лапи або писк). Тиск сприймався тензочутливим елементом, перетворювався на електричний сигнал, потім оброблявся і відображався у графічному і цифровому вигляді на моніторі комп'ютера. Середнє значення порогу больової чутливості, визначене перед початком моделювання нейропатії, брали за 100%.

Для обґрунтування експериментальної терапії тваринам протягом 9 днів внутрішньом'язово вводили препарат Кокарніт (World Medicine), що містить 20 мг нікотинаміду, 50 мг кокарбоксилази, 500 мкг ціанкобаламіну, 10 мг динатрію аденозинтрифосфату тригідрату із розрахунку 1мг/кг, розчинений у 0,5% лідокаїну гідрохлориду. Тварин з експерименту виводили шляхом кровопускання під тіопенталовим наркозом (тіопентал натрію «ARTERIUM», Україна), який вводили внутрішньоочеревинно з розрахунку 50 мг/кг.

Вперше встановлено, що за умов введення паклітакселу, стрептозоцину та тривалої алкоголізації щурів пригнічується амілолітична активність підщелепних та під'язикових слинних залоз у 1,63 раза ( $P < 0,05$ ), у 1,92 раза ( $P < 0,05$ ), у 1,7 раза ( $P < 0,05$ ) відповідно порівняно з інтактними тваринами, що свідчить про зменшення білоксинтетичної функції та/або конформацію ензима за рахунок активації оксидативного стресу під впливом високореакційноздатних вільних радикалів, активних форм кисню, що викликає окисну модифікацію протеїнів.



Баланс про- та антиоксидантної системи великих слинних залоз тварин за умов розвитку паклітаксел-індукованої нейропатії має декомпенсаторний характер, про що свідчить зростання ТБК-активних продуктів у 2,26 рази ( $P < 0,05$ ), ОМБ – у 1,35 рази ( $P < 0,05$ ) на тлі вірогідного зменшення активності каталази.

За умов діабетичної нейропатії баланс про- та антиоксидантної системи великих слинних залоз тварин має компенсаторний характер, про що свідчить відсутність статистично значущих змін вмісту ОМБ на тлі вірогідного зростання каталази.

Максимальний розвиток карбонільно-оксидативного стресу у підщелепних та під'язикових слинних залозах тварин спостерігали за умов алкогольної нейропатії у порівнянні із стрептозоцин- та паклітаксел-індукованою нейропатіями. У великих слинних залозах за умов тривалої алкоголізації тварин відмічено зростання ТБК-активних продуктів у 1,4 рази ( $P < 0,05$ ), ОМБ – у 3,5 рази ( $P < 0,05$ ) порівняно з контролем.

Введення стрептозоцину та паклітакселу у великих слинних залозах тварин викликало зміни протеїназно-інгібіторного потенціалу за компенсаторним типом (антитриптична активність зростала у 2,75 рази ( $P < 0,05$ ) та у 1,71 рази ( $P < 0,05$ ) відповідно порівняно з цими показниками у інтактних тварин на тлі статистично недостовірних змін загальної протеолітичної активності).

Стрептозоцин-індукована діабетична нейропатія призводить до змін паренхіматозних компонентів у часточках піднижньощелепних слинних залоз щурів, що проявлялось дистрофічними і деструктивними змінами епітеліоцитів кінцевих відділів і проток та перфузії крові у судинах гемомікроциркуляторного русла.

Комплекс кокарбоксілази, нікотинаміду, ціанокобаламіну та АТФ запобігає порушенню нервової провідності за умов введення паклітакселу, стрептозоцину та етанолу, про що свідчить вірогідне зменшення порогу



больової чутливості на 28,75% ( $P < 0,05$ ), 109,2% ( $P < 0,05$ ), 54,7% ( $P < 0,05$ ) відповідно.

Введення комплексу кокарбоксілази, нікотинаміду, ціанокобаламіну та АТФ за умов стрептозоцин-, паклітаксел-індукованої нейропатії запобігає розвитку оксидативного стресу, про що свідчить вірогідне зменшення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів: дієнових кон'югатів у 1,54 і 1,95 рази ( $P < 0,05$ ), ТБК-активних продуктів – у 1,8 і 2,23 рази ( $P < 0,05$ ) та основ Шиффа – у 2 і 2,83 рази ( $P < 0,05$ ) відповідно у сироватці крові на тлі нормалізації антиоксидантного захисту.

Метаболічна корекція експериментальної паклітаксел-, стрептозоцин- та етанол-індукованої нейропатії шляхом використання комплексу нейротропних вітамінів тіамінопірофосфату, нікотинаміду, ціанокобаламіну і АТФ протягом 9 днів відновлювала білоксинтетичну функцію великих слинних залоз щурів, пригнічувала оксидативний стрес та нормалізувала протеїназно-інгібіторний баланс.

Вищевказане підтверджує практичне значення результатів цього дослідження, а саме попередження розвитку патологічних змін у слинних залозах за умов ускладнення цукрового діабету, хіміотерапії онкологічних хворих та алкогольної хвороби.

**Ключові слова:** слинні залози, нейропатія, стрептозоцин, паклітаксел, етанол, оксидативний стрес, активні форми кисню, перекисне окиснення ліпідів, токсичність, вітаміни, тіамін, ціанокобаламін, хіміотерапія, антиоксидантний захист, щури.



## SUMMARY

*Tykhonovych K.V.* Biochemical mechanisms of neuropathy impact on salivary glands in animals. Qualification research work (manuscript).

Dissertation for the Doctor of Philosophy Degree, the Field of knowledge 09 “Biology”, Specialty 091 “Biology”. – Poltava State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Poltava, 2024.

This dissertation investigates the impact of paclitaxel-, streptozotocin-, and ethanol-induced neuropathy on the development of pathological changes in the major salivary glands of animals as well as explores the potential therapeutic benefits of cocarboxylase, nicotinamide, cobalamin, and ATP in the experimental correction of the condition.

Experiments were conducted on 113 sexually mature rats (both male and female) weighing 180-220 grams. These experiments adhered to the ethical guidelines outlined in the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Research and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986), Council Directives 2010/63/EU (2010), the Law of Ukraine “On Protection of Animals from Cruelty” (No. 3447-IV of 21.02.2006, Art. 26), and the General Ethical Principles for Animal Experiments (Kyiv, 2001-2019), and were approved by the Bioethics Committee of Poltava State Medical University (Protocol No. 181 of 03/26/2020 and No. 225 of 03/21/2024).

Chemotoxic neuropathy in rats was induced by intraperitoneal injection of paclitaxel (Actavis Italy; 100mg/16.7ml, series 5GN5122) in a dose of 2 mg/kg on days 0, 2, 4, and 6. Diabetic neuropathy was modeled by administering streptozotocin (Sigma, USA) intraperitoneally in a dose of 65 mg/kg. Diabetes mellitus was confirmed by measuring fasting blood glucose and performing a glucose tolerance test. Alcoholic neuropathy was induced over 72 days via endogastric administration of ethanol with increasing concentrations: 11.8% for days 1-24, 23.6% for days 25-48, and 37% for days 49-72.

The development of neuropathy was verified using the Randall-Selitto tensoalgometric method, which records the pain sensitivity threshold with an



analgesimeter. Pressure was applied to the hind leg of the animal with a metal cylindrical nozzle (0.5 cm<sup>2</sup>), and the pain threshold was determined based on the animal's pronounced pain response (paw withdrawal or squeaking). The pressure was detected by a strain gauge, converted into an electrical signal, processed, and displayed both graphically and digitally on a computer monitor. The baseline pain sensitivity threshold, determined prior to neuropathy modeling, was set at 100%.

To support the experimental therapy, animals were administered intramuscular injections of Cocarnit (World Medicine) for 9 days. The formulation contained 20 mg of nicotinamide, 50 mg of cocarboxylase, 500 µg of cyanocobalamin, and 10 mg of adenosine triphosphate disodium trihydrate in a dose of 1 mg/kg, dissolved in 0.5% lidocaine hydrochloride. Animals were euthanized via exsanguination under thiopental anesthesia (sodium thiopental, ARTERIUM, Ukraine), which was administered intraperitoneally in a dose of 50 mg/kg.

This study demonstrates that administration of paclitaxel, streptozotocin, and prolonged alcohol exposure in rats suppressed the amylolytic activity of the submandibular and sublingual salivary glands in 1.63 times ( $P < 0.05$ ), 1.92 times ( $P < 0.05$ ), and 1.7 times ( $P < 0.05$ ), respectively, compared to intact animals. This suggests a reduction in protein synthesis function and/or altered enzyme conformation due to oxidative stress under the impact of highly reactive free radicals, reactive oxygen species, which leads to oxidative protein modification.

The pro-oxidant and antioxidant system of the major salivary glands in animals with paclitaxel-induced neuropathy showed a decompensated imbalance, as indicated by a 2.26-fold increase in TBA- reactive substances ( $P < 0.05$ ) and a 1.35-fold rise in OMP ( $P < 0.05$ ), alongside a significant decrease in catalase activity.

In conditions of diabetic neuropathy, the balance of pro- and antioxidant system in the major salivary glands of animals remains compensated, as indicated by the absence of statistically significant changes in OMP levels, alongside a notable increase in catalase activity.



The most pronounced carbonyl-oxidative stress in the submandibular and sublingual salivary glands was observed in cases of alcoholic neuropathy, compared to streptozotocin- and paclitaxel-induced neuropathy. In the major salivary glands of animals subjected to prolonged alcohol exposure, there was a 1.4-fold increase in TBA- reactive substances ( $P<0.05$ ) and a 3.5-fold rise in OMP levels ( $P<0.05$ ) compared to the control group.

The administration of streptozotocin and paclitaxel in animals led to compensatory changes in the proteinase-inhibitory potential of the major salivary glands, as evidenced by a 2.75-fold ( $P<0.05$ ) and 1.71-fold ( $P<0.05$ ) increase in antitryptic activity, respectively, with no statistically significant changes in total proteolytic activity compared to intact animals.

Streptozotocin-induced diabetic neuropathy results in alterations to the parenchymal components within the lobules of the submandibular salivary glands of rats. These changes manifest as dystrophic and destructive alterations in the epithelial cells of the acinar and ductal structures, as well as impaired blood perfusion in the hemomicrocirculatory vessels.

The combination of thiamine pyrophosphate, nicotinamide, cobalamin, and ATP prevents nerve conduction disorders induced by paclitaxel, streptozotocin, and ethanol, as evidenced by a significant reduction in pain sensitivity thresholds by 28.75% ( $P<0.05$ ), 109.2% ( $P<0.05$ ), and 54.7% ( $P<0.05$ ), respectively.

The administration of this complex in streptozotocin- and paclitaxel-induced neuropathy mitigates oxidative stress that is demonstrated by a significant decrease in content of lipid peroxidation products: diene conjugates in 1.54 and 1.95 times ( $P<0.05$ ), TBA- reactive substances in 1.8 and 2.23 times ( $P<0.05$ ), and Schiff bases in 2 and 2.83 times ( $P<0.05$ ) in the blood serum, alongside the normalization of antioxidant defense mechanisms.

Metabolic correction of experimental paclitaxel-, streptozotocin-, and ethanol-induced neuropathy using neurotropic vitamins — thiamine, nicotinamide, cyanocobalamin, and ATP — administered over 9 days restored the





protein-synthetic function of the major salivary glands in rats, suppressed oxidative stress, and normalized the proteinase-inhibitor balance.

These findings underscore the practical significance of this study in preventing pathological changes in the salivary glands associated with complications from diabetes mellitus, chemotherapy for cancerous diseases, and alcoholism.

**Key words:** salivary glands, neuropathy, streptozocin, paclitaxel, ethanol, oxidative stress, reactive oxygen species, lipid peroxidation, toxicity, vitamins, thiamine, cyanocobalamin, chemotherapy, antioxidant defense, rats.



## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

- 1) Тихонович КВ, Криворучко ТД, Береговий СМ, Непорада КС. Вплив стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії на слинні залози щурів. Вісн. проблем біології та медицини. 2021;4(162):194-8. **(фахове)**  
*(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: Т.Д. Криворучко – біохімічні методи дослідження; проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків; С. М. Береговий – дизайн дослідження).*
- 2) Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС, Береговий СМ. Корекція Кокарнітом патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної нейропатії. Med Clin Chem. 16 черв. 2022;(1):39-45. **(фахове)**  
*(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: Т.Д. Криворучко – біохімічні методи дослідження; проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків; С. М. Береговий – дизайн дослідження)*
- 3) Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС, Береговий СМ. Корекція нейротоксичності та патологічних змін у слинних залозах тварин за умов алкогольної нейропатії. Вісн. мед. і біол. дослідж. 14 груд. 2022;(4):63-7. <https://doi.org/10.11603/bmbr.2706-6290.2022.4.13222>  
**(фахове)**  
*(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження, статистична обробка даних, літературний*



*пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: Т.Д. Криворучко – біохімічні методи дослідження; проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків; С. М. Береговий – дизайн дослідження)*

- 4) Tykhonovych KV, Noporada KS, Yeroshenko GA. Pathomorphological changes in salivary glands of rats under the condition of diabetic neuropathy and correction. World Med Biol. 2023;19(83):229. **(Web of Science)**

*(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, літературний пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження; проф. Г.А. Єрошенко – гістологічні дослідження, редакція тексту статті і висновків).*

- 5) Kotvytska AA, Tykhonovych KV, Kryvoruchko TD, Noporada KS, Beregovyi SM. Paclitaxel-induced neuropathy induces changes in oral cavity organs of rats. Regul. Mech. Biosyst. 2023Feb.7;14(1):102-5. <https://medicine.dp.ua/index.php/med/article/view/862> **(Scopus)**

*(Здобувачем проведено біохімічні методи дослідження слинних залоз, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: А.А. Котвицька – експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження м'яких тканин пародонта, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті, Т.Д. Криворучко – біохімічні методи дослідження; С. М. Береговий – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків).*

- 6) Tykhonovych K, Kryvoruchko T, Nikitina N, Berehovyi S, Noporada K. Correction of pathological changes in salivary glands of animals with paclitaxel-induced neuropathy. Exp Oncol. 2024 May 31;46(1):38-44. doi: 10.15407/exp-oncology.2024.01.038. PMID: 38852054. **(Scopus)**

*(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: Т.Д. Криворучко –*



*біохімічні методи дослідження; Н. Нікітіна – дизайн дослідження, С. М. Береговий – дизайн дослідження, проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків;)*

- 7) Tykhonovych KV, KotvytskaAA, Beregovyi SM, NoporadaKS. Development of pathological changes in the oral cavity organs of animals under conditions of polyneuropathies of different genesis. Med. and Ecol. probl.2023Dec.29;27(5-6):31-4. <https://ecomед-journal.org/index.php/journal/article/view/287> (фахове)

*(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження крові та слинних залоз, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті; Співавтори: А.А. Котвицька – біохімічні методи дослідження крові та м'яких тканин пародонта, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті; С. М. Береговий – дизайн дослідження; проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків).*

### **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації**

- 1) Котвицька АА, Тихонович КВ, Криворучко ТД, Берегова ТВ, Непорада КС, Береговий СМ. Вплив токсичної нейропатії на протеїназно-інгібіторний потенціал в органах порожнини рота щурів: тези доповідей VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України», м. Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, Україна, 13 – 15 травня 2020 р. – Т.1. – С. 120 – 121.
- 2) Котвицька АА, Тихонович КВ, Криворучко ТД, Берегова ТВ, Непорада КС, Береговий СМ. Експериментальна корекція змін протеїназно-інгібіторного потенціалу органів порожнини рота щурів за умов токсичної нейропатії: тези доповідей II Науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної



патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», м. Харків: Вид-во НФаУ, Україна, 15 травня 2020 р.– С.113 – 114.

3) Котвицька АА, Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС. Зміни активності про- та антиоксидантної системи в органах порожнини рота щурів за умов токсичної нейропатії: матеріали XII Науково-практичної конференції присвяченої засновникам кафедри патофізіології ТДМІ проф. Бергеру Е.Н. і проф. Марковій О.О., II Галицькі читання «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», м. Тернопіль, Україна, 29 – 30 жовтня 2020 р. – С. 58 – 59.

4) Котвицька АА, Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС, Береговий СМ. Вплив хронічної дії етанолу на органи порожнини рота щурів: матеріали Науково-практичної конференції з міжнародною участю присвяченої 140-річчю з дня народження академіка О. О. Богомольця «42 наукові читання імені О. О. Богомольця», м. Київ, Україна, 24 травня 2021 р. — С. 65 – 66.

5) Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС. Вплив діабетичної нейропатії та корекції на слинні залози тварин: матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)», м. Полтава, Україна, 8 жовтня 2021 р. – С. 172 – 173

6) Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС. Процеси вільнорадикального окиснення у слинних залозах тварин за умов діабетичної нейропатії: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини», м. Полтава, Україна, 21-22 жовтня 2021 р. – С. 155–156.

7) Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС. Вплив алкогольної нейропатії та Кокарніту на слинні залози щурів: матеріали Всеукраїнської



науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука – 2022», м. Полтава, Україна, 2 грудня 2022 р. – С. 41–43.

8) Тихонович КВ. Механізм розвитку патологічних змін у слинних залозах тварин за умов алкогольної полінейропатії та корекції Кокарнітом. К Тихонович: доповідь на Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених з міжнародною участю пам'яті професора О. В. Катрушова «Досягнення експериментальної та клінічної медицини», м. Полтава, Україна, 19 травня 2023 р.

9) Котвицька АА, Тихонович КВ, Непорада КС. Діабетична нейропатія викликає розвиток патологічних змін в органах порожнини рота щурів: матеріали науково-практичної конференції для лікарів Харківського регіону у рамках реалізації науково-освітнього проекту «Український ендокринологічний практикум» «Інноваційні підходи в лікуванні та профілактиці ендокринних захворювань», м. Харків, Україна, 4 липня 2024 р. – С. 58–60.

10) Котвицька АА, Тихонович КВ, Непорада КС, Береговий СМ. Зміни показників плазми крові при стрептозоцин-індукованій периферичній полінейропатії та корекції: бюлетень XXIII читань ім. В.В. Підвисоцького, м. Одеса, 16–17 травня 2024р. – С. 64–67.

### **Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації**

1. Kotvytska AA, Tykhonovych KV, Kryvoruchko TD, Berehovi SM, Noporada KS. The state of periodontal tissues in rats against the background of their long-term alcoholization. *Fiziolohichnyi*. 2022 Mar;68(2):23-8. <http://fz.kiev.ua/index.php?abs=1896> (Scopus)

*(Здобувачем проведено статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: А.А. Котвицька –*



*експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження, літературний пошук, підготовка тексту статті; Т.Д. Криворучко – біохімічні методи дослідження; С. М. Береговий – дизайн дослідження; проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків).*

2. Непорада КС, Котвицька АА, Тихонович КВ, Довгополий ОО. Технологія способу корекції токсичної нейропатії у тварин: Реєстраційна картка технології № 0623U000033; власник Полтавський державний медичний університет. – № Держреєстрації НДДКР: 0120U100502. – Дата реєстрації: 06.02.2023.
3. Непорада КС, Котвицька АА, Тихонович КВ. Технологія корекції пародонтального синдрому у щурів за умов діабетичної нейропатії: Реєстраційна картка технології № 0623U000098; власник Полтавський державний медичний університет. – № Держреєстрації НДДКР: 0120U100502. – Дата реєстрації: 04.05.2023.
4. Непорада КС, Котвицька АА, Тихонович КВ. Технологія корекції патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної нейропатії: Реєстраційна картка технології № 0623U000099; власник Полтавський державний медичний університет. – № Держреєстрації НДДКР: 0120U100502. – Дата реєстрації: 04.05.2023.



## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	19
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	30
1.1. Сучасні уявлення про механізми розвитку нейропатій різного генезу та їхній вплив на організм, зокрема, слинні залози.....	30
1.2. Сучасні принципи патогенетичної терапії нейропатії.....	49
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	54
2.1. Експериментальні моделі нейропатій та розподіл тварин на групи.....	54
2.1.1. Моделювання діабетичної нейропатії.....	55
2.1.2. Моделювання паклітаксел-індукованої нейропатії.....	56
2.1.3. Моделювання алкогольної нейропатії.....	56
2.1.4. Тензоалгометричний метод <i>Randall-Selitto</i> .....	56
2.1.5. Експериментальна корекція препаратом <i>Кокарніт</i> .....	56
2.2. Біохімічні методи дослідження сироватки крові щурів.....	57
2.2.1. Визначення рівня загальних, білок-зв'язаних та небілкових сульфгідрильних груп.....	57
2.2.2. Визначення активності глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9] ..	58
2.2.3. Визначення активності глутатіонтрансферази [КФ 2.5.1.18]	58
2.2.4. Визначення активності глутатіонредуктази [КФ 1.8.1.7] .....	58
2.2.5. Визначення вмісту відновленого та окисненого глутатіону....	58
2.2.6. Визначення активності супероксиддисмутази [КФ 1.15.1.1] ...	59
2.2.7. Визначення активності каталази [КФ 1.11.1.6] .....	59
2.2.8. Визначення вмісту дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів та шиффових основ.....	59
2.2.9. Визначення вмісту продуктів окисної модифікації білків.....	60
2.3. Біохімічні методи дослідження слинних залоз щурів.....	61
2.3.1. Визначення активності $\alpha$ -амілази [КФ 3.4.1.1] .....	61





2.3.2. <i>Визначення активності каталази [КФ 1.11.1.6]</i> .....	61	
2.3.3. <i>Визначення загальної протеолітичної активності тканин слинних залоз</i> .....	62	
2.3.4. <i>Визначення загальної антитриптичної активності тканин слинних залоз</i> .....	62	
2.3.5. <i>Визначення вмісту окисно-модифікованих білків</i> .....	62	
2.3.6. <i>Визначення вмісту ТБК-реактантів</i> .....	62	
2.3.7. <i>Визначення вмісту середніх молекул</i> .....	63	
2.4. <i>Гістологічні методи дослідження</i> .....	63	
2.5. <i>Математико-статистичні методи дослідження</i> .....	64	
<b>РОЗДІЛ III. ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН У СЛИННИХ ЗАЛОЗАХ ТА СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ НЕЙРОПАТІЇ</b> .....		65
3.1. <i>Баланс про- та антиоксидантної системи у сироватці крові тварин за умов стрептозоцин-індукованої нейропатії</i> .....	68	
3.2. <i>Баланс про- та антиоксидантної системи у сироватці крові тварин за умов паклітаксел-індукованої нейропатії</i> .....	76	
3.3. <i>Білоксинтетична функція слинних залоз тварин за умов нейропатій різного генезу</i> .....	81	
3.4. <i>Баланс про- та антиоксидантної системи у слинних залозах тварин за умов нейропатій різного генезу</i> .....	82	
3.5. <i>Протеїназно-інгібіторний потенціал слинних залоз щурів за умов нейропатій різного генезу</i> .....	87	
3.6. <i>Патоморфологічні зміни у слинних залозах тварин за умов діабетичної нейропатії</i> .....	88	
<b>РОЗДІЛ VI. ВПЛИВ КОМПЛЕКСУ КОКАРБОКСИЛАЗИ, НІКОТИНАМІДУ, ЦІАНОКОБАЛАМІНУ ТА АТФ НА ПАТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У СЛИННИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ТА СИРОВАТЦІ КРОВІ ЗА УМОВ НЕЙРОПАТІЇ</b> .....		94



4.1. Аналіз біохімічних показників у сироватці крові та слинних залозах тварин за умов введення комплексу вітамінів та АТФ на тлі стрептозоцин-індукованої нейропатії.....	94
4.2. Вплив комплексу вітамінів та АТФ на біохімічні показники у сироватці крові та слинних залозах тварин за умов паклітаксел-індукованої нейропатії.....	106
4.3. Вплив комплексу тіамініпірофосфату, нікотинамід, ціанокобаламіну та АТФ на слинні залози тварин за умов етанол-індукованої нейропатії.....	117
4.4. Патоморфологічні зміни у слинних залозах тварин за умов введення комплексу вітамінів та АТФ на тлі стрептозоцин-індукованої нейропатії.....	120
<b>РОЗДІЛ V. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ</b>	
<b>ДОСЛІДЖЕННЯ.....</b>	<b>126</b>
<b>ВИСНОВКИ.....</b>	<b>159</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....</b>	<b>161</b>
<b>ДОДАТКИ.....</b>	<b>200</b>



## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ADH	алкогольдегідрогеназа
AGE	кінцеві продукти глікації
ALDH	альдегіддегідрогеназа
BDNF	нейротрофічний фактор мозку
GSH	відновлений глутатіон
GSSG	окиснений глутатіон
IL	інтерлейкін
MMP	матрикс-металлопротеїнази
NAD, НАД	нікотинамідаденіндинуклеотид
NADP, НАДФ	нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат
NF-κB	транскрипційний ядерний фактор κB
NGF	фактор росту нервів
PARP	полі (АДФ-рибози) полімерази
PKC	протеїнкінази С
RAGE	AGE-специфічні рецептори
ROS	активні форми кисню
TNF-α	фактор некрозу пухлини-альфа
UDP-GlcNAc	уридиндифосфату N-ацетилглюкозамін
VEGF	фактор росту ендотелію судин
АТФ	аденозинтрифосфат
ВЖК	вищі жирні кислоти
ГАМК	γ-аміномасляна кислота
ДПН	діабетична периферична нейропатія
ЕПР	ендоплазматичний ретикулум
МДА	малоновий діальдегід
МСМ	молекули середньої маси
ОМБ	окисно-модифіковані білки



0108199708957692

ПБЧ	поріг больової чутливості
ПНП	паклітаксел-індукована периферична нейропатія
ПНІХ	периферична нейропатія індукована хіміотерапією
ПНС	периферична нервова система
ПОЛ	перекисне окиснення ліпідів
СОД	супероксиддисмутаза
ТБК	2-тіобарбітурова кислота
ТПФ	тіамінпірофосфат
ЦД	цукровий діабет
ЦНС	центральна нервова система



## ВСТУП

### **Актуальність теми.**

Полінейропатія розглядається як захворювання всього організму з реалізацією патологічного процесу на рівні периферичної нервової системи у вигляді множинного ураження периферичних нервів. Причини полінейропатії дуже різноманітні і варіативні, найбільш поширеними ідентифікованими причинами периферичної нейропатії є цукровий діабет, ушкодження нерва, зловживання алкоголю, вплив нейротоксинів, спадкові захворювання та нераціональне харчування [1]. Діабетична периферична нейропатія є найпоширенішою формою нейропатії у всьому світі [2], та, разом з етил-індукованою, відповідає за 75% усіх полінейропатій. Протягом останніх років в усьому світі значно зростає захворюваність на цукровий діабет (ЦД). За останніми даними 10-го видання IDF Diabetes Atlas, у 2021 р. число дорослих, хворих на ЦД, сягнуло 537 мільйонів; прогнозують, зростання до 643 мільйонів у 2030 році, та до 783 мільйонів у 2045 році [3,4]. Діабетична нейропатія є найпоширенішим ускладненням цукрового діабету з високими показниками захворюваності та смертності й відноситься до нейродегенеративних розладів периферичної нервової системи. Патогенез діабетичної нейропатії є багатофакторним, включаючи збільшення продукування вільних радикалів в мітохондріях завдяки індукованому гіперглікемією окисному стресі. Механізми, що впливають на активність нейронів, функцію мітохондрій, проникність мембрани та функцію ендотелію, включають утворення прогресивних кінцевих продуктів глікації, активацію сигналізації поліол-альдоз-редуктази, активацію полі(АДФ-рибоза)-полімерази та зміну функції  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФази. Отже, у патофізіології діабетичної нейропатії виділяють три основні механізми: окислювальний стрес, глюкотоксичність з утворенням прогресуючих кінцевих продуктів глікозилювання та ендотеліальна дисфункція, що виникає на тлі мікроангіопатії [5,6].



Через збільшення поширеності злжкисних новоутворень та використання нових хіміотерапевтичних препаратів, нейропатії, індуковані хіміотерапією, набули клінічного значення; їх поширеність становить 30–40%, з великими варіаціями залежно від препарату та режиму лікування, що використовується [7]. Серед ефективних хіміопрепаратів, що використовуються для лікування онкологічних захворювань є таксани, зокрема, паклітаксел, який здатен до взаємодії з  $\beta$ -тубуліном мікротрубочок цитоскелету клітин, пригнічуючи динамічну полімеризацію та деполімеризацію, що призводить до їх стабілізації, зупинки клітинного циклу та загибелі. Стабілізація мікротрубочок є основним механізмом дії таксанів і відповідає за їх протипухлинну активність [8]. Хоча було запропоновано, що цей механізм викликає нейротоксичність через порушення аксонального транспорту, все більше доказів свідчить про низку додаткових механізмів, включаючи порушення метаболізму нейронів, клітин глії, мітохондріальну дисфункцію, окислювальний стрес і нейрозапалення, що лежать в основі розвитку паклітаксел-індукованої нейропатії [9].

Етанол – психоактивна речовина, яка широко вживається і, на жаль, часто зловживається, тому крім гострих наслідків, таких як інтоксикація, він може викликати різні хронічні ускладнення, зокрема, розвиток алкогольної нейропатії. За даними ВООЗ, зловживання алкоголем спричиняє три мільйони смертей на рік у всьому світі та призводить до інвалідності ще більшої кількості людей [10,11]. Приблизно через 30 хвилин після вживання алкоголю концентрація етанолу в слині та слинних залозах є більш високою, ніж у крові [12]. Алкогольдегідрогеназа ізоформи ADH4 слинних залоз окислює етанол до ацетальдегіду - канцерогену 2 категорії, який альдегіддегідрогеназою ізоформи ALDH3, що експресується слизовою оболонкою порожнини рота та слинними залозами [13], для якої цей субстрат не є ефективним, повинен окислюватися в оцтову кислоту, таким чином, ротова порожнина, зокрема, великі слинні залози піддаються



тривалому впливу токсичного метаболіту. Ivos A. et al. [12] обґрунтували, що тривалий вплив етанолу викликає ушкодження слизової оболонки порожнини рота, малих слинних залоз, зниження імунної функції, розвиток периферичної нейропатії, сіалоаденоз, гіпосалівацію та передракові ураження і рак.

Великі слинні залози вважаються головними екзокринними залозами ротової порожнини й фізіологічно сприяють підтримці гомеостазу порожнини рота. Незважаючи на те, що вивченню механізмів розвитку діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії присвячено багато досліджень, а їх вплив на розвиток патологічних змін у слинних залозах не досліджений, актуальним та своєчасним є з'ясування патогенезу його розвитку та можливість обґрунтування адекватної патогенетичної корекції. Тому, актуальним є комплексне вивчення больової чутливості, біохімічних параметрів розвитку діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії у тварин в динаміці розвитку патологічних змін у великих слинних залозах.

Однією з умов успішного лікування та профілактики нейропатій різного генезу надають перевагу засобам патогенетичної спрямованості, що полягає в призначенні антиоксидантів і комплексних метаболічних препаратів. На наш погляд, перспективним для корекції патологічних змін у великих слинних залозах тварин за умов введення стрептозоцину, паклітакселу та етанолу є використання комплексу нейротропних вітамінів та макроергу. У зв'язку з наведеним, актуальним є дослідження механізмів розвитку патологічних змін у великих слинних залозах щурів за умов діабетичної, хіміотоксичної, алкогольної нейропатії та патогенетичної корекції цих наслідків за допомогою використання комплексу вітамінів та АТФ.

**Мета дослідження:** на підставі аналізу біохімічних механізмів розвитку патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної, хіміотоксичної, алкогольної нейропатії обґрунтувати ефективність комплексу нейротропних вітамінів та АТФ для їх корекції.



У відповідності з метою роботи були поставлені наступні **завдання дослідження:**

1. Дослідити стан про- та антиоксидантної системи у великих слинних залозах щурів за умов введення стрептозоцину, паклітакселу та етанолу.
2. Проаналізувати протеїназно-інгібіторний потенціал, активність амілази у слинних залозах тварин за умов введення стрептозоцину, паклітакселу та етанолу.
3. Оцінити розвиток оксидативного стресу у сироватці крові тварин за умов паклітаксел- та стрептозоцин-індукованої нейропатії.
4. Обґрунтувати ефективність комплексу вітамінів кокарбоксілази, нікотинаміду, ціанокобаламіну та АТФ для корекції патологічних змін у слинних залозах щурів за умов введення стрептозоцину, паклітакселу та етанолу.
5. Провести патоморфологічні дослідження слинних залоз щурів за умов діабетичної нейропатії та корекції.

**Об'єкт дослідження:** механізми розвитку патологічних змін у великих слинних залозах щурів за умов введення стрептозоцину, паклітакселу та етанолу.

**Предмет дослідження:** зміни біохімічних показників у сироватці крові, слинних залозах, порогу больової чутливості за умов введення комплексу вітамінів кокарбоксілази, нікотинаміду, ціанокобаламіну та АТФ на тлі діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії.

**Методи дослідження:** біохімічні, фізіологічні, фармакологічні, біофізичні, гістологічні, методи математичної статистики.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Кваліфікаційна дисертаційна робота була виконана на базі кафедри біологічної та біоорганічної хімії Полтавського державного медичного університету «Особливості розвитку патологічних змін в органах системи





травлення за різних умов та розробка методів їх корекції» (№ д/р 0120U100502, 2019-2023 рр.) та кафедри біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Дисертант є виконавцем фрагменту НДР.

### **Наукова новизна одержаних результатів.**

В результаті виконаних фундаментальних досліджень встановлено нові закономірності і запропоновано біохімічні механізми розвитку патологічних змін у великих слинних залозах тварин за умов введення стрептозоцину, паклітакселу та етанолу - і на цій основі обґрунтовано використання комплексу вітамінів тіамінопірофосфату, нікотинаміду, ціанокобаліміну та АТФ.

Вперше доведено, що за умов діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії пригнічується амілолітична активність великих слинних залоз тварин, що свідчить про зменшення білоксинтетичної функції. Баланс про- та антиоксидантної системи великих слинних залоз тварин за умов розвитку паклітаксел-індукованої нейропатії має декомпенсаторний характер, про що свідчить зростання прооксидантів на тлі вірогідного зменшення активності каталази. За умов діабетичної нейропатії баланс про- та антиоксидантної системи великих слинних залоз тварин має компенсаторний характер, про що свідчить відсутність статистично значущих змін вмісту окисно-модифікованих білків (ОМБ) на тлі вірогідного зростання каталази. За умов моделювання алкогольної нейропатії тваринам у великих слинних залозах виникає дисбаланс про- та антиоксидантної системи: зростання прооксидантів на тлі незміненого антирадикального захисту. Максимальний розвиток карбонільно-оксидативного стресу у великих слинних залозах тварин спостерігали за умов алкогольної нейропатії у порівнянні з діабетичною та хіміотоксичною нейропатіями.



Паклітаксел-, стрептозоцин- та етанол-індуковані нейропатії викликають зміни протеїназно-інгібіторного балансу у великих слинних залозах щурів за компенсаторним типом.

Вперше обґрунтована можливість використання комплексу вітамінів тіамініпрофосфату, нікотинаміду, ціанокобаламіну та макроергу для попередження розвитку патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії. Використання комплексу вітамінів і АТФ нормалізувало нервову провідність, про що свідчить зменшення порогу больової чутливості за умов введення паклітакселу, стрептозоцину, етанолу.

Доведений розвиток оксидативного стресу у сироватці крові при нейропатії, викликаній паклітакселом, стрептозоцином, про що свідчить збільшення вмісту продуктів окислення ліпідів та білків на тлі порушення антирадикального захисту. Введення комплексу вітамінів та АТФ за умов діабетичної та хіміотоксичної нейропатії пригнічувало активацію вільно-радикальних процесів у сироватці крові та сприяло нормалізації антиоксидатного захисту.

Вперше доведена ефективність використання комплексу вітамінів тіамініпрофосфату, нікотинаміду, ціанокобаламіну та АТФ для попередження розвитку патологічних змін у великих слинних залозах за умов моделювання діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії.

### **Практичне значення одержаних результатів.**

Теоретичне та експериментальне обґрунтування участі комплексу тіамініпрофосфату, нікотинаміду, ціанокобаламіну і АТФ у регулюванні метаболізму проводилося з метою пошуку, цілеспрямованої розробки та практичного використання комплексу вітамінних препаратів для корекції порушень в слинних залозах за умов наслідків діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії. Результати фундаментальних досліджень вивчення патогенезу розвитку патологічних змін у великих слинних залозах тварин за умов введення паклітакселу, стрептозоцину, етанолу забезпечать



підґрунтя для впровадження комплексу вітамінів кокарбоксілази, нікотинамїду, ціанокобаламіну та АТФ як лікарських засобів у супровідній терапії ускладнень цукрового діабету, хіміотерапії онкологічних захворювань та алкогольної хвороби людини.

Одержані результати доповнюють патогенез діабетичної, токсичної та алкогольної нейропатії і їх вплив на великі слинні залози тварин.

Наукові положення кваліфікаційної роботи впроваджені у технологіях: «Технологія способу корекції токсичної нейропатії у тварин», «Технологія корекції патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної нейропатії», «Технологія корекції пародонтального синдрому за умов діабетичної нейропатії». Основні положення та висновки дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес і науково-дослідну роботу фундаментальних кафедр вищих навчальних закладів України, зокрема: у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького, у Тернопільському національному медичному університеті імені І.Я. Горбачевського, у Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця, у Дніпровському державному медичному університеті, у Вінницькому національному медичному університеті імені М.І. Пирогова, у Харківському національному медичному університеті.

**Особистий внесок здобувача.** Планування наукового дослідження, аналіз та обговорення отриманих результатів, формулювання висновків здійснено за участю наукового керівника д.мед.н., проф. Непоради К.С. Аналіз сучасної літератури, проведення експериментів та біохімічних досліджень, статистична обробка та написання дисертації виконані здобувачем самостійно. Біохімічні дослідження показників у сироватці крові тварин за умов діабетичної та хіміотоксичної нейропатії виконані сумісно з Котвицькою А.А. Морфологічні дослідження виконані д.мед.н., професором Єрошенко Г.А. В обговоренні результатів дослідження брали участь співавтори наукових публікацій. Автор висловлює вдячність, особливо



д.біол.н., проф. Береговій Т.В., всім колегам за надану допомогу та їх участь відмічена у спільних публікаціях.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на:

- VIII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю (м. Одеса, 13–15 травня 2020 р.);
- II Науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (15 травня 2020 р.);
- XII Науково-практичній конференції присвяченій засновникам кафедри патофізіології ТДМІ проф. Бергеру Е.Н. і проф. Марковій О.О. II Галицькі читання «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (м. Тернопіль, 29–30 жовтня 2020 р.);
- Науково-практичній конференції з міжнародною участю «42 наукові читання імені О. О. Богомольця» присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О. О. Богомольця (м. Київ, 24 травня 2021 року);
- Всеукраїнській міждисциплінарній науково-практичній конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» (м. Полтава, 8 жовтня 2021 р.);
- Міжнародній науково-практичній конференції «Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини» (м. Полтава, 21–22 жовтня 2021 р.);
- Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука – 2022» (м. Полтава, 2 грудня 2022 р.);



- Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених з міжнародною участю «Досягнення експериментальної та клінічної медицини» м. (Полтава, 19 травня 2023р.);
- науково-практичній конференції «XXIII читання ім. В. В. Підвисоцького» (м. Одеса, 16–17 травня 2024р.);
- науково-практичній конференції з міжнародною участю «Інноваційні підходи в лікуванні та профілактиці ендокринних захворювань» (м. Харків, 4 липня 2024р.);
- IX Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологічна фізіологія – охороні здоров'я України» присвяченого 100-річчю Української патологічної фізіології (м. Івано-Франківськ, 19-20 вересня, 2024р.);
- засіданнях Полтавського відділення Українського біохімічного товариства (м. Полтава, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024 рр.).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 21 наукову роботу, у тому числі 8 статей (4 статті у фаховому виданні, рекомендованих МОН України, 4 статті в журналах, що входять до наукометричної бази Scopus, Web of Science,) 10 публікацій у матеріалах з'їздів та конференцій, 3 технології.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, методів досліджень, розділів з викладенням отриманих результатів, аналізу та обговорення результатів дослідження, висновків, списку літератури, що містить 316 джерел, додатків. Матеріали дисертаційної роботи викладені на 199 сторінках друкованого тексту, ілюстрована 12 таблицями та 63 рисунками.



## РОЗДІЛ I

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### **1.1. Сучасні уявлення про механізми розвитку нейропатій різного генезу та їхній вплив на організм, зокрема, слинні залози**

Полінейропатії є генералізованими розладами периферичної нервової системи. Враховуючи той факт, що ці захворювання можуть мати безліч етіологій і супутніх розладів, практично всі медичні спеціальності мають контакт з хворими на полінейропатію [14]. Поширеність периферичної нейропатії в загальній популяції коливається від 1% до 7%, з вищими показниками серед осіб старше 50 років [15]. Полінейропатія сьогодні розглядається як захворювання всього організму з реалізацією патологічного процесу на рівні периферичної нервової системи у вигляді множинного ураження периферичних нервів.

Патофізіологія периферичної нейропатії є результатом пошкодження нервових волокон малого або великого діаметру (сенсорних, моторних та вегетативних). Може виникнути пошкодження тіла клітини, аксона, мієлінової оболонки або їх комбінації [16,17]. Великі нервові волокна забезпечують рухові, сенсорні, вібраційні та пропріорецептивні функції; маленькі нервові волокна опосередковують біль, температуру та вегетативні функції [18]. А $\beta$  мієлінізовані волокна беруть участь у сприйнятті дотику та вібрації; А $\delta$  тонкомієлінізовані волокна – у сприйнятті холоду, тепла та болю; С-волокна – немієлінізовані волокна, що опосередковують сприйняття тепла та теплового болю [19].

Полінейропатія має негативний вплив на якість життя людини, зокрема, може призвести до інвалідизації [20]. На ранніх етапах периферична нейропатія характеризується сенсорними змінами, які включають оніміння, втрату чутливості, біль або відчуття печіння в



кінцівках «панчохи та рукавички» та часто є прогресуючими. Наступні стадії розвитку периферичної нейропатії можуть включати проксимальне оніміння, дистальну слабкість або атрофію [16]. До інших загальних симптомів відносять відчуття проколу або ураження електричним струмом, гіперестезію, гіпералгію та аллодію [1,15,18,21]. Нейропатичний біль виникає у третини пацієнтів з периферичною нейропатією, які відмічають вегетативні симптоми, такі як ортостатична непереносимість, запаморочення, еректильна дисфункція, зміни функції кишечника та сечового міхура, гастропарез, знічні й вазомоторні симптоми, що призводять до сухості очей, рота, шкіри або печіння та почервоніння [18].

Причини полінейропатії дуже різноманітні і варіативні. Найбільш поширеними ідентифікованими причинами периферичної нейропатії є цукровий діабет (ЦД), здавлення або пошкодження нерва, вживання алкоголю, вплив токсинів, спадкові захворювання та нераціональне харчування [1]. Діабетична периферична нейропатія (ДПН) є найпоширенішою формою нейропатії у всьому світі [2], іншою причиною найрозповсюдженіших нейропатій є етилотоксичний генез; ці дві причини відповідають за 75% усіх полінейропатій [22]. Цукровий діабет є найпоширенішою причиною полінейропатії в Європі та Північній Америці [14,23]. До більш рідкісних причин належать запальні або спадкові полінейропатії [22]. Полінейропатія може також виникати з генетичних причин, різноманітних імунологічних процесів [14,23]. Вони є типовими наслідками амілоїдозу, парапротеїнемії, колагенозу, васкуліту, гіпотиреозу, гепато- або нефропатій. Вірусні тригери полінейропатії включають ВІЛ та *Varicella Zoster Virus* [22,24]. Полінейропатії розвиваються внаслідок нестачі вітамінів або передозування. Особливе значення мають гіповітаміноз В<sub>12</sub> і фолієвої кислоти. Дефіцит вітаміну В<sub>12</sub> мають приблизно 2,2-8% пацієнтів із дистальною симетричною полінейропатією [14,18]. Вітамін В<sub>6</sub> незвичайний тим, що він пов'язаний з периферичною нейропатією при дефіциті або надлишку. Нейропатія, спричинена дефіцитом тіаміну, має



багато проявів, включаючи сенсомоторну полінейропатію, залежну від довжини, полінейропатію черепних нервів і переважно моторну полінейропатію, усі вони можуть передувати когнітивним і системним симптомам [25].

Протягом останніх років в усьому світі значно зросла захворюваність на цукровий діабет. За останніми даними 10-го видання IDF Diabetes Atlas, у 2021 р. число дорослих, хворих на ЦД, сягнуло 537 мільйонів. Прогнозують, що це число зросте до 643 мільйонів у 2030 році, та до 783 мільйонів у 2045 році, хоча за більш ранніми прогнозами очікувалось, що поширеність ЦД зросте до 520 млн хворих у 2030 р. та 642 млн – у 2040 р. [3,4]. За оцінками IDF Diabetes Atlas, у 2021 році в Україні було близько 2,325 млн осіб, хворих на ЦД 2 типу, що становить 7,1%. Протягом 2021 року ЦД 1 типу було діагностовано приблизно 6,7 тис. дітей і підлітків [3,26].

Найпоширенішим ускладненням ЦД є діабетична периферична нейропатія, на яку припадає 75% діабетичних нейропатій [27]. ДПН відноситься до нейродегенеративних розладів периферичної нервової системи, що характеризується високими показниками захворюваності та смертності, зменшенням якості життя, порушенням працездатності у великій кількості хворих та розвивається у 50% пацієнтів, що хворіють на цукровий діабет обох типів [27-32].

Згідно Toronto Consensus Panel on Diabetic Neuropathy ДПН визначається як симетрична сенсомоторна полінейропатія, що залежить від довжини, та пов'язана з метаболічними й мікросудинними змінами в результаті хронічного впливу гіперглікемії та коваріантною серцево-судинних ризиків [27]. В основі формування ДПН лежать прогресуюча демієлінізація периферичних нервів, ендоневральна мікроангіопатія і, як наслідок, втрата нервових волокон. При цьому найбільш часто в процес залучаються слабо- і немієлінізовані волокна, що визначає особливі закономірності в розвитку клінічних проявів [33].





ЦД викликає широкий спектр гострих, хронічних, вогнищевих та дифузних синдромів нейропатії. Невропатичний біль вражає до 20-30% хворих на ДПН і включає ряд сенсорних симптомів, таких як втрата больового відчуття або "новокаїноподібна" нечутливість, відчуття "шпильки та голки", "ураження електричним струмом", поколювання, печіння, аллодинія або гіпералгезія [27,29].

ДПН є унікальним нейродегенеративним розладом периферичної нервової системи (ПНС), який переважно вражає сенсорні та вегетативні аксони і пізніше, меншою мірою, моторні аксони. Сенсорні нейрони ПНС та їхні рецептори знаходяться поза гематоенцефалічним бар'єром і є більш вразливими до вторинних пошкоджень у зв'язку з ЦД, ніж рухові нейрони, які знаходяться в межах бар'єру [34]. Експериментальні дані підтверджують, що весь нейрон, від перикаріону до терміналу, є мішенню цукрового діабету. Зміни в аксонах, особливо в дистальних терміналах, пов'язані зі змінами в нейронних перикаріях. Наприклад, при хронічному ЦД 1 типу у щурів спостерігається прогресуюча втрата синтезу та експорту полімерів нейрофіламентів, які є важливими структурними каркасами аксона [31]. Доклінічні дослідження на діабетичних гризунах також пов'язують стрес ендоплазматичного ретикулуму з опосередкованим діабетом пошкодженням периферичних нервів, що може вплинути на їхню функцію [35].

Клітини Шванна є мішенями хронічної гіперглікемії, а більш важкі випадки діабетичної нейропатії у пацієнтів включають ознаки демієлінізації [36]. Враховуючи тісний взаємозв'язок між аксонами та клітинами Шванна, пошкодження шванівських клітин може призвести до певних змін в аксоні [31]. В результаті в периферичних нервах відбувається витончення і склероз епіневрію, демієлінізація, набряк і дистрофія нервових волокон з наявністю гліальної клітинної реакції.

На основі останніх даних численних клінічних досліджень у Німеччині [37], Данії [38], Нідерландах [39], США [40,41,42,43], Індії [44] та



Китаї [45,46], метаболічний синдром, що охоплює гіперглікемію, ожиріння та дисліпідемію, став ключовим фактором ризику нейропатії [47].

Гіперглікемія викликає активацію окисного стресу, поліолового шляху та неферментативного глікування [48]. У поліоловому шляху альдозоредуктаза перетворює надлишок глюкози на сорбіт, а сорбіт – на фруктозу. Надмірний потік через цей шлях призводить до окислювального стресу, дисфункції активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФази, зниження концентрації міоїнозиту й таурину, накопичення внутрішньоклітинного  $\text{Na}^+$ , набряку аксонів, дисфункції аксон-глії та зниження швидкості нервової провідності [49,50].

Крім того, гліколітичний проміжний фруктозо-6-фосфат шунтується в гексозаміновий шлях, збільшуючи виробництво уридиндифосфату N-ацетилглюкозаміну. Лім та ін. показали, що глюкозамін різко знижує поглинання клітинами глюкози, активність глюкокінази та внутрішньоклітинний рівень АТФ в індукованих рухових нейрональних клітинах. У результаті активність протеїнкінази, що активується АМФ, і стрес ендоплазматичного ретикулуму збільшуються, що призводить до зниження життєздатності клітин [51]. Комплексний аналіз виявив помітне накопичення глюкозаміну в сідничних нервах, незалежно від наявності гена альдозоредуктази. Аналіз *in vitro* показав, що стимуляція глюкозаміном спричиняє загибель клітин шванівської клітинної лінії та пригнічення росту нейритів у первинно культивованих нейрональних клітинах гангліїв спинного корінця. Було показано, що глюкозамін надмірно активує глюкокіназу, яка є ферментом, що обмежує швидкість метаболізму глюкозаміну, що призводить до виснаження АТФ. Короткострокове та тривале введення глюкозаміну мишам без діабету призводило до сенсорно-домінантної нейропатії, подібної до ДПН. Це свідчить про те, що глюкозамін сприяє виникненню та прогресуванню експериментальної ДПН. Водночас ці результати можуть означати, що шлях біосинтезу гексозаміну також може частково сприяти розвитку та виникненню ДПН [52,53].



Дефіцит міоїнозиту також може викликати утворення діацилгліцеролу, який активує шлях протеїнкінази С (PKC) [52]. Активація PKC, у свою чергу, посилює резистентність до інсуліну, порушує сигналінг фактора росту та призводить до вазоконстрикції нервових кровоносних судин [47].

Гіперглікемія, викликана діабетом, призводить до утворення активних форм кисню та азоту, які ініціюють одноланцюгові розриви ДНК і активують полі(АДФ-рибоза)-полімерази (PARP), що індукує втрату щільності внутрішньоєпідермальних нервових волокон, ендотеліальну дисфункцію, уповільнення нервової провідності, зниження нервового кровотоку та дефіцит енергії у нейронах [50,54]. Активація PARP також пов'язана з дефіцитом нервової провідності в сенсорних і рухових нервах, дисфункцією нервово-судинної системи, експресією генів, зміною регуляції транскрипції та процесами енергетичної недостатності у тварин з діабетом [50].

Надлишок глюкози є причиною глікації численних структурних і функціональних білків з утворенням та накопиченням кінцевих продуктів глікації (AGE), що призводить до зміни або втрати функції білка та активації AGE-специфічних рецепторів (RAGE). Модифікація нейрофіламенту та тубуліну за допомогою AGE може порушувати аксональний транспорт й призводити до атрофії та дегенерації нервових волокон, що разом з порушенням регенерації аксонів через модифікацію білка базальної мембрани ламініну сприяє розвитку нервових уражень [31,55]. Секідо та ін. повідомили [56], що AGE відповідають за індукцію апоптозу в клітинах Шванна, зниження потенціалу мітохондріальної мембрани, життєздатності та реплікації клітин, посилення NF- $\kappa$ B і підвищення продукції запальних цитокінів, включаючи TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$  у діабетичних щурів [50]. Кілька досліджень показали, що AGE разом з метилгліоксалем викликають пошкодження судин. Підвищені рівні AGE-RAGE і знижені рівні гліоксалази-1 (який відповідає за детоксикацію метилгліоксалу) були зареєстровані у пацієнтів з діабетом 1 типу [57]. Присутність AGE-RAGE



була підтверджена в ендотеліальних і шванівських клітинах. Високі рівні AGE викликають діабетичну нейропатію через підвищення субодиниці p65 NF-κB, що викликає запалення та пошкодження мієлінізованих відростків нейрона [58].

Моделі ожиріння та цукрового діабету, спричинених дієтою, на гризунах, яких годували дієтою з високим вмістом жиру, розвивали периферичну невропатію, переважно дрібноволокнисту [59]. Крім того, надлишкові рівні жирних кислот погіршують нейрональну мітохондріальну передачу та біоенергетичну функцію [60]. Дослідження Yang D. та ін. [61] показало, що гіперглікемія та гіперліпідемія можуть спричинити синергетичну шкоду під час патогенезу ДПН, оскільки комбінація глюкози та пальмітинової кислоти викликала найсильніший апоптоз у шванівських клітинах, а також активувала пов'язані зі стресом ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР) апоптотичні сигнальні шляхи. Nihei W. та ін. [62] повідомили, що вплив гіперглікемії викликає синергетичний ефект на індукований окисленими ліпопротеїнами низької щільності апоптоз через шлях TLR4 у клітинах Шванна через гіперактивацію TLR4, що призводить до дисфункції нейронів при діабетичній нейропатії. На моделях гризунів з ДПН повідомлялося про диференціальну експресію генів, залучених у передачу сигналів ліпопротеїдів і адипоцитокінів [63]. Також вищі рівні дезоксисфінголіпідів, пов'язані з діабетичною нейропатією, були виявлені у пацієнтів із ЦД 2 типу, підкреслюючи складний зв'язок між метаболізмом ліпідів і діабетичною нейропатією [64].

Крім того, при цукровому діабеті надлишок глюкози та ліпідів не тільки порушує нормальні шляхи їхнього катаболізму, але також створює надлишок донорів електронів, які мітохондрії не в змозі обробити. Результатом є біоенергетичний збій [65]. Rodica Pop-Busui та співавтори у систематичному огляді [47] показали новий погляд на патофізіологію діабетичної нейропатії, зосередженого на ідеї про те, що порушення біоенергетики цілого нерва є вирішальним фактором, що призводить до



захворювання. При діабеті, окисне фосфорилування порушується, що знижує виробництво АТФ, порушує транспорт мітохондрій, підвищує рівень активних форм кисню (ROS), що згодом призводить до мітохондріальної недостатності, стресу ендоплазматичного ретикулуму, апоптозу нейронів, аксональної недостатності, метаболічного й окисного пошкодження клітин Шванна та нейронів [31,66].

Мікроциркуляторна дисфункція тісно пов'язана з дисфункцією периферичних нервів та вважається можливим додатковим патологічним механізмом діабетичної нейропатії. Повідомлялося про слабку вазодилатацію епіневріальних артеріол у щурів з цукровим діабетом, і ця зміна з'являється перед зниженням швидкості нервової провідності. Є дані, що діабет знижує медіатори утворення кровоносних судин, включаючи фактори росту інсуліну, фактор росту нервів, фактор росту ендотелію судин та ангіопоетини. Це підтверджується доклінічними дослідженнями, в яких введення фактор росту ендотелію судин щурам з цукровим діабетом збільшувало швидкість нервової провідності і щільність *vasa nervosa* [31]. Неферментативна глікація колагену та ламініну змінює електричний заряд базальної мембрани, збільшуючи проникність кровоносних судин і викликаючи потовщення базальної мембрани. AGE пригнічують оксид азоту, медіатор вазодилатації, впливають на рівень експресії NO-синтази, таким чином, зменшують нервовий кровотік та індукують гіпоксію в периферичному нерві [67]. Ендоневральна гіпоксія, метаболічні зміни та порушення вироблення вазоактивних агентів, зокрема, оксиду азоту призводять до розвитку ішемії нерва, результатом чого є дегенеративні зміни в периферичних нервах.

За оцінками ВООЗ, у 2019 році рак був першою чи другою основною причиною смерті у 112 із 183 країн та займав третє чи четверте місце ще в 23 країнах світу. У 2020 році у світі зафіксовано 19,3 мільйонів нових випадків злоякісних новоутворень і майже 10,0 мільйонів смертей. GLOBOCAN прогнозує, що у 2040 році кількість випадків онкологічних



захворювань у світі сягне 28,4 мільйонів [68,69]. За уточненими даними НКРУ [70], в 2021 р. в Україні було зареєстровано близько 120 тисяч нових випадків захворювання на злоякісні новоутворення та 53 тисячі смертей. На обліку в медичних установах України наприкінці 2021 року перебувало понад 1 млн. осіб з онкологічними захворюваннями. За даними офіційних джерел показники захворюваності, інвалідності та смертності від онкопатологій в Україні займають третє місце у структурі основних епідеміологічних даних після хвороб системи кровообігу та гострої респіраторної хвороби COVID-19, спричиненої коронавірусом SARS-CoV-2. Щорічна смертність від онкологічних патологій становить майже 90 тисяч хворих, 35% з яких люди працездатного віку [71].

Хіміотерапія є одним з провідних методів лікування злоякісних пухлин. Разом з тим побічні ефекти хіміотерапії часто призводять до необхідності корекції доз хіміопрепаратів, відтермінування чергових циклів, а іноді і до повного припинення лікування. Нейротоксичність є одним зі специфічних системних ускладнень хіміотерапії, які впливають як на якість життя онкологічних хворих, так і на можливість проведення життєво важливого протипухлинного лікування [72]. Нейротоксичність залежить від обсягу індивідуальної дози, сукупної загальної дози, тривалості хіміотерапії та препарату, що використовується. Певні хіміотерапевтичні препарати частіше викликають нейропатію. До них відносяться: препарати платини, наприклад оксаліплатин; таксани, такі як доцетаксел, паклітаксел; алкалоїди барвінку, такі як вінкристин; препарати для лікування мієломи, наприклад бортезоміб [73].

Незважаючи на те, що нейротоксичність може впливати на будь-яку частину нервової системи, периферична сенсорна нейропатія є найбільш поширеною й становить 68% через 1 місяць, 60% через 3 місяці та 30% через 6 місяців після хіміотерапії [74].

Паклітаксел - хіміотерапевтичний засіб, що застосовують для лікування раку молочної залози, легенів, яєчників та ін. [75].



Протипухлинний механізм дії паклітакселу полягає у запобіганні дезагрегації мікротрубочок, що призводить до зупинки поділу ракових клітин та їх загибелі. Паклітаксел підвищує стабільність мікротрубочок. У фізіологічних умовах димери тубуліну, пов'язані з гуанозинтрифосфатом (ГТФ), вбудовуються у зростаючий кінець мікротрубочок. Передбачається, що ця структура утворює стабілізуючу кришку ГТФ-зв'язаного тубуліну. Зміна конформації в димерах тубуліну відбувається внаслідок гідролізу ГТФ у гуанозиндифосфат (ГДФ), що дестабілізує решітку мікротрубочок. Через втрату кришки ГТФ-тубуліну мікротрубочки деполімеризуються. Цьому процесу деполімеризації мікротрубочок запобігає зв'язування паклітакселу з  $\beta$ -тубуліном [76]. Крім того, паклітаксел змінює функцію мітохондрій, що супроводжується порушенням функціонування дихального ланцюга та збільшенням виробництва реактивних форм кисню. Також препарат викликає активацію імунних клітин, ефект, який, ймовірно, сприяє деградації пухлинних клітин [77].

Незважаючи на високу ефективність блокування прогресування пухлини, паклітаксел також спричиняє периферичну нейропатію як побічний ефект у 45-70% хворих [78,79]. За даними Seretny M. та ін. [74] паклітаксел-індукована периферична нейропатія (ПНП) вражає від 44% до 98% пацієнтів і може сприяти інвалідизуючому стану больовому синдрому в результаті хіміотерапії раку. Тоді як симптоми зазвичай розвиваються протягом декількох тижнів після початку лікування, паклітаксел може також викликати гостру нейропатію – пік приблизно через 3 дні після інфузії - що характеризується болем, онімінням та поколюванням, і які можуть бути прогнозом для розвитку хронічної нейропатії [80].

В основі периферичної нейропатії індукованої хіміотерапією (ПНІХ) лежить пошкодження периферичних моторних, сенсорних і автономних нейронів, що клінічно проявляється різними сенсорними (парестезії, оніміння, біль), руховими (м'язова слабкість, парези), вегетативними (порушення моторики шлунково-кишкового тракту, аритмії) порушеннями,



а також розвитком нейропатичного болю. Симптоми нейропатії, спричиненої таксаном, постійні, з переважно сенсорною нейропатією, хоча і рухові ефекти та вегетативна дисфункція можуть виникати при підвищенні дози. ПНП проявляється як нейрональне «відмирання», спричинене дегенерацією валлерівських дистальних сегментів нерва, найбільш сприйнятливим відповідно до їх віддаленості від тіла нервової клітини, що пояснює «залежний від довжини» характер нейропатії [81].

Розвиток ПНП, швидше за все, багатофакторний і включає ефекти на нейрональну та / або мітохондріальну ДНК та експресію генів, змінений ретроградний й антероградний аксональний транспорт, нейроімунні механізми, дисфункцію мітохондрій [77,82]. Це сприяє втраті периферичних волокон, демієлінізації і дегенерації аксонів [80]. Таксани, а саме паклітаксел і доцетаксел, є алкалоїдами дитерпена, які зв'язують і сприяють полімеризації тубуліну, що призводить до порушення конструкції мікротрубочок, зменшує периферійне надходження поживних речовин, що в свою чергу призводить до дисфункції нервів [81,83].

Численні клінічні дослідження довели, що хіміотерапія викликає окислювальний стрес у пацієнтів [84]. Експериментальні дослідження показали, що лікування нервових стовбурових клітин гангліїв спинного корінця щурів таксанами збільшувало виробництво ROS і окислювальний стрес, знижуючи при цьому метаболічну активність мітохондрій, мембранний потенціал і біодоступність антиоксидантів [85-87]. У своїй роботі Duggett et al. [89,90] обґрунтували розвиток мітохондріальної дисфункції та посилення утворення активних форм кисню та азоту, спричинене паклітакселем, що, на їхню думку, є важливими факторами нейротоксичності.

Окрім того таксани можуть безпосередньо впливати на конкретні іонні канали, які опосередковують реакції на позаклітинні сигнали. Наприклад, паклітаксел сенсibiliзує потенційний рецептор транзиторного рецептора ванілоїду 4 (TRPV4), що призводить до посиленої ноцицепції. Наявність





підвищеного рівня активних форм кисню (маркерів клітинного окисного стресу) та NGF у С-волокнах сприяє збільшенню експресії терморецепторів TRPV1 [81]. Zhang H. та Dougherty PM. [90] у дослідженні на щурах виявили зниження експресії кількох каналів  $K^+$  ( $K_{ir}$  1.1 and  $K_{ir}$  3.4) та активацію каналів  $Na^+$  ( $Na_v1.7$ ) й циклічних нуклеотидів (HCN1) у нейронах гангліїв спинного корінця гризунів після лікування оксаліплатином і паклітакселом. Також повідомлялося про внесок  $Ca^{2+}$ -сигналу у розвитку ПППН, який спричиняє швидку мітохондріальну деполяризацію та вивільнення  $Ca^{2+}$  як у нейрональних, так і позанейрональних клітинах, можливо, через активацію мітохондріальної проникної пори. Нижчі концентрації паклітакселу викликають коливання  $Ca^{2+}$  нижче нейронального кальцієвого датчика 1 (NCS-1), білка, який регулює фосфорилування G-білка-рецептора залежно від кальцію [77].

Нещодавні дослідження також свідчать про роль матрикс-металлопротеїнази 13 (MMP-13) у опосередкуванні розвитку нейропатії [87].

Активация мікроглії та астроцитів таксанами також призводить до активації імунних клітин та до вивільнення і збільшення концентрації прозапальних цитокінів, що призводить до сенсibiliзації ноціцепторів і підвищеної збудливості периферичних нейронів. Ці процеси призводять до розвитку нейрозапалення [91]. Так, у нейронах дорсальних корінцевих гангліїв щурів, що отримували паклітаксел, було продемонстровано підвищення регуляції TLR4, яке викликало збільшення експресії білка хемоаттрактанта моноцитів-1 (MCP-1) та, як наслідок, сприяло інфільтрації макрофагів у DRG, що збігалось з розвитком механічної гіперчутливості. У самців мишей, які отримували паклітаксел, активация TLR9 у макрофагах призводить до вивільнення прозапальних цитокінів і хемокінів, які можуть активувати волокна A, викликаючи механічну алодинію [92].

Зловживання алкоголем та залежність від нього є одними з найбільших проблем охорони здоров'я у світі [93]. Щороку через алкоголізм



в Україні помирає понад 40 тисяч людей. Станом на 01.01.2019 р. в Україні під наглядом у диспансерній групі перебувало понад 460 тисяч осіб із розладами психіки та поведінки через вживання алкоголю.

Тривале вживання алкоголю призводить до численних дисфункцій центральної та периферичної нервової системи, порушуючи функцію нейронів і глії, що включає загибель нейронів, міграцію й диференціацію гліальних клітин [94,95]. Периферична нейропатія, пов'язана з алкоголем, проявляється як прогресуюча, насамперед аксональна, сенсомоторна нейропатія, що залежить від тривалості прийому, та спостерігається приблизно у 44% хронічних алкоголиків, становлячи 10% полінейропатій [96]. Симптоми алкогольної полінейропатії подібні до симптомів інших видів нейропатій та можуть включати аномальні больові відчуття, поколювання та оніміння кінцівок, втрату відчуття тепла та холоду, втрату контролю дрібної моторики, м'язову слабкість, судоми. Зазвичай вони мають повільний, прогресуючий початок від місяців до років [96].

В даний час патогенез периферичної нейропатії серед хронічних алкоголиків залишається суперечливим. Деякі з обговорюваних у літературі факторів, які можуть спричинити нейропатію у цих пацієнтів, це пряма токсичність алкоголю, дефіцит харчування, цироз печінки, домішки алкогольних напоїв та порушення рівня глюкози в крові [96].

Основним ушкоджуючим фактором шкідливого впливу гострого та хронічного вживання алкоголю є ацетальдегід [97]. Ацетальдегід генерує кінцеві продукти глікації та підвищує окислювальний стрес, що може сприяти виникненню нейропатії. Зокрема, доклінічні дослідження та клінічні дані свідчать про причетність ацетальдегіду до генезу пошкодження нейронів, пов'язаного із споживанням етанолу [98]. Експериментальні дослідження на тваринах та *in vitro* показали підвищену експресію іNOS й виробництво NO у поєднанні з мітохондріальною дисфункцією та підвищеним утворенням ROS, зменшення вмісту глутатіону, а також



зниження активності глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та каталази, спричинені етанолом [99, 100].

Етанол безпосередньо знижує нейротрофічний фактор мозку (BDNF), що призводить до погіршення внутрішньоклітинних комунікацій, відповідальних за ріст та диференціацію клітин, тим самим прискорюючи загибель нейронів [98].

На рівні нейротрансмісії алкоголь впливає практично на кожний основний нейромедіатор. Етанол підсилює ГАМК-ергічну активність, що викликає атаксичний й анкіолітичний ефекти, а також зумовлює седативні властивості алкоголю. Посилене вивільнення норадреналіну обумовлює активізуючий ефект вживання алкоголю. Також етанол має знеболуючий ефект та знижує стрес, що опосередковується ендогенним вивільненням опіоїдів. Нейродепресивний ефект етанолу виникає внаслідок блокади рецептора NMDA, що протидіє збуджуючій дії глутамату, а відмова від етанолу призводить до ексайтотоксичності через стимуляцію NMDA-рецепторів [101].

Вплив алкоголю на нервову систему опосередковуються також через дефіцит поживних речовин, спричинений тривалим вживанням алкоголю. Julian T. та ін. [96] стверджують, що дисфункція печінки та дефіцит мікронутрієнтів, зокрема тіаміну, можуть виступати додатковими факторами ризику або самостійно викликати нейропатію, яка накладається на нейропатію, спричинену нейротоксичною дією етанолу.

Хронічне або надмірне споживання етанолу може спричинити окисне, глікаційне та запальне ураження печінки. Yan SL та ін. [99] в експериментальному дослідженні на тваринах показали, що етанол пригнічував експресію печінкової мРНК, фактора 2, пов'язаного з ядерним фактором E2, посилив активність альдозоредуктази, а також збільшував вивільнення прозапальних цитокінів, таких як фактор некрозу пухлини-альфа, трансформуючий фактор росту- $\beta$ 1, інтерлейкін -1 $\beta$  та інтерлейкін – 6. Ушкодження печінки призводить до порушення детоксикації



нейротоксичних метаболітів, що спричиняє порушення мозкового кровообігу та підсилює оксидативний стрес.

Слинні залози вважаються головними екзокринними залозами ротової порожнини й фізіологічно сприяють підтримці гомеостазу ротової порожнини. Слинні залози, секретом яких є слина, мають основні функції: синтетичну, ендокринну, фільтраційну та бар'єрну, приймаючи участь у формуванні місцевого імунітету. Продуктом синтетичної діяльності секреторних клітин є біополімери (глікозаміноглікани та білки) змішаної слини. Фільтраційна функція та йонний транспорт слинних залоз пов'язані з осмотичним трансмуральним перенесенням великих об'ємів рідини з навколишнього інтерстицію в просвіти кінцевих відділів [102]. Ендокринна функція слинних залоз полягає у виділенні біологічно активних та гормоноподібних речовин, таких як паротин, фактор росту нервів та фактор росту епідермісу, еритропоетин, гістамін, ренін та ін. [103].

Функціонування слинних залоз нерозривно пов'язане з діяльністю інших органів та систем організму, таких як нирки й надниркові залози, щитоподібна й підшлункова залози, статеві органи, травна та серцево-судинна система. За дослідженнями вітчизняних науковців, зниження функціональної активності слинних залоз може призводити до порушення гігієни внаслідок погіршення очищення органів ротової порожнини; спричинює зниження резистентності емалі; негативно впливає на гомеостаз в порожнині рота; знижує місцевий імунітет [102]. Також встановлено, що дисфункція слинних залоз супроводжується визначними змінами зі сторони системи крові, як в периферичному відділі, так і в центральних відділах еритропоезу [103].

Мета-аналіз показав вищу поширеність розладів слизової оболонки порожнини рота у хворих на ЦД у порівнянні з пацієнтами, що не мають його [104]. Клінічні дослідження показали зменшення вмісту загального й іонізованого кальцію у ротовій рідині хворих на ЦД 1 типу, що призвело, відповідно, до зниження кальцій-фосфорного коефіцієнту вдвічі [105].



Також було виявлено зміни показника рН ротової рідини у хворих на ЦД 1 типу, що певним чином підвищує ризик розвитку карієсу зубів у таких пацієнтів [106].

В літературі містяться дані про деструктивні зміни паренхіматозних та стромальних елементів слинних залоз тварин, а також судин мікроциркуляторного русла, зумовлені експериментальним ЦД. Було показано, що стабільна гіперглікемія спричинює дисфункцію слинних залоз [107,108]. Xiang RL та ін. [109] продемонстрували, що діабет призводить до характерної гіпосалівації підщелепної залози у мишей, що супроводжується посиленням мітохондріальної дисфункції та опосередкованої PINK1/Parkin мітофагії. Збільшене виробництво АФК може бути відповідальним за модуляцію мітофагії у підщелепній залозі на тлі індукованого ЦД.

Сіалоз є частим проявом патології слинних залоз при ЦД. Збільшення об'єму слинних залоз пов'язують з жировою інфільтрацією паренхіми. Дегенеративні зміни виникають як в ацинарних клітинах, так і в клітинах вивідних проток. Розвиток діабетичного сіалозу обумовлений змінами у нервово-вегетативній регуляції слинних залоз, демілієнізацією нервових волокон та наступною атрофією міоепітеліальних клітин. Внаслідок порушення механізму секреції слини, що спричиняє екзоцитоз, виникає гіпосалівація та ксеростомія [110]. Згідно з даними літератури етіологія гіпосалівації при ЦД може бути пов'язана з порушенням парасимпатичної вазодилатації внаслідок діабетичної автономної нейропатії, гіперглікемією, пошкодженням паренхіми залози, зміною мікроциркуляції слинних залоз та зневодненням [111,112].

Наукові дослідження свідчать про потенційний зв'язок між діабетичною нейропатією та певними оральними ускладненнями, такими як глосодинія, ксеростомія, дисгевзія, пародонтит, втрата зубів, а також біль, викликаний ураженням трійчастого нерва та дисфункцією скронево-нижньощелепного суглоба [29,113-115]. Згідно з даними літератури, найчастішим проявом як дистальної симетричної полінейропатії, так і



вегетативної нейропатії відзначалася ксеростомія. Ксеростомія й гіпосалівація пов'язані з нейропатією спостерігалися відповідно у 27,2 % та 22,9 % випадків. Нейропатія великих й/або дрібних волокон може сприяти розвитку глосодинії [29,116-118].

Fouani M. та співавтори [119] надали докази дисрегуляції специфічних білків слини, пов'язаних із прогресуванням діабету, паралельно зі змінами морфології слинних залоз, клітинної архітектури, секреції та складу слини в цілому.

У дослідженні Chen S.Y. та ін. [120] було виявлено значно нижчу швидкість салівації та зменшену активність саліваційної альфа-амілази у щурів із ЦД 2 типу, що може бути пов'язана з гістопатологічними ураженнями та зниженням регуляції секреторних шляхів у слинних залозах. Так, патогістологічне спостереження показало, що у діабетичних щурів спостерігається запальна клітинна інфільтрація з підвищеною експресією IL-6 і TNF- $\alpha$ ; окислювальний стрес, включаючи зниження супероксиддисмутази активності та підвищений вміст малонового діальдегіду, а також знижена експресія  $\beta$ 1-адренергічного рецептора, холінергічного рецептора, аквапорину-5 і протеїнкінази А в слинних залозах, зокрема в привушній залозі, ураження якої було більш серйозним порівняно з ураженням піднижньощелепної залози.

Результати експерименту Sato T. та ін. [111] вказують на те, що цукровий діабет 2 типу порушує парасимпатичну вазодилатацію та секрецію слини в привушній залозі, і припускають, що порушення холінергічного вазодилаторного шляху можуть сприяти механізмам, що лежать в основі порушення парасимпатичної нервової вазодилатації залоз.

Результати експериментального дослідження на тваринах щодо окисного пошкодження слинних залоз при цукровому діабеті, викликаному стрептозотоцином, представлені М. Кнаś та співавторами [104,121] продемонстрували, що нестимульований слинний потік у щурів із ЦД був



зменшений на 2-му тижні, тоді як стимульований потік зменшувався протягом усього експерименту проти контролю.

Інше дослідження показало подібні результати щодо ролі окислювального стресу у патогенезі дисфункції слинних залоз за умов інсулінорезистентності у щурів, яких годували дієтою з високим вмістом жиру. Кореляції між параметрами оксидативного стресу у плазмі та слинних залозах інсулінорезистентних щурів не було виявлено, проте окисно-відновний баланс в обох великих слинних залозах зміщений у бік окисного статусу, при чому привушні залози щурів із резистентністю до інсуліну зазнають більшої інтенсивності оксидативного стресу. Крім того, було показано значне зниження (45%) стимульованої швидкості слиновиділення та загальної концентрації білка в привушних (35%) і піднижньощелепних (10%) залозах інсулінорезистентних щурів порівняно з контрольними тваринами [122].

Використовуючи Вестерн-блот аналіз DeVito-Moraes AG та ін. [123] оцінювали гострий вплив інсуліну на статус фосфорилування інсулінового рецептора та його субстрати IRS-1 та IRS-2 у привушних залозах дорослих самців щурів Wistar та підтвердили його вплив на активацію внутрішньоклітинного сигналіngu IR/IRS/PI3K/Akt і MAPK, який подібний до класичних метаболічних мішеней гормону.

Хіміотерапія раку пригнічує клітинні процеси як злоякісних, так і здорових тканин, в першу чергу шляхом втручання з поділом клітин, але також і в клітинах без циклу. Системне застосування таких препаратів часто викликає важкі гострі побічні ефекти, такі як пригнічення кісткового мозку та травного тракту, мукозит або побічні ефекти, що виникають пізніше, наприклад нейротоксичність та кардіоміопатію. У тканинах порожнини рота цитотоксичні наслідки і пригнічений імунітет стан може спричиняти кровотечі та мукозит ротової порожнини, гіпофункцію слинних залоз, інфекції порожнини рота. Оральні ускладнення у хворих на рак можуть



також включати ксеростомію, дисгевзію, зміни нюху, густу слизову, зміну зубів [124,125].

Повідомлялося, що терапія на основі таксанів викликає більш серйозну дисгевзію як при всіх видах раку, так і при раку молочної залози, з поширеністю 75–93% у першому та 81,5% у другому. Клінічні дослідження виявило під час хіміотерапії з доцетакселом або паклітакселом вищу частоту дисгевзії в групі доцетакселу (73%) порівняно з групою паклітакселу (27%) [126-128].

Результати досліджень на тваринах свідчать про те, що хіміотерапевтичні препарати (5-фторурацил) викликають окислювальний стрес та запалення, які в основному спостерігаються у підщелепній залозі. Це сприяє перидуктального набряку та загибелі клітин, що у свою чергу призводить до змін швидкості секреції та складу слини [129]. Barbosa S. та співавтори [130] показали, що 5- фторурацил спричиняє оральний мукозит і гіпосалівацію, що призводить до вираженої запальної відповіді. Піднижньощелепні залози показали виражену дегенерацію системи проток і ацинусів. Оцінка апоптозу була підтверджена імуногістохімічними даними, спостерігалось високостатистично значуще підвищення паттерну експресії Вах і Caspase-3 зі значним зниженням рівня ядерного антигену проліферуючих клітин (PCNA) порівняно з контрольною групою [131].

Наслідком надмірного вживання алкоголю є порушення окиснювального балансу у ротовій порожнині, що проявляється зниженням антиоксидантної здатності та збільшенням окисного пошкодження макромолекул [132].

Надмірне вживання алкоголю суттєво підвищує ризик розвитку та злякисного переродження новоутворень ротової порожнини. Численні епідеміологічні асоційовані дослідження та дослідження на тваринах встановили роль етанолу в карциномах порожнини рота та потенційно злякисних ураженнях. Незважаючи на цей чіткий причинно-наслідковий зв'язок, молекулярні механізми, що лежать в основі цього канцерогенного





ефекту етанолу, досі не повністю розкриті. Метаболіти етанолу, будучи ацетальдегідом і активними формами кисню, безсумнівно, пошкоджують клітини слизової оболонки шляхом утворення ДНК і білкових аддуктів і поперечних зшивок ДНК. Крім того, відомо, що етанол змінює моделі метилування ДНК і гістонів, що може вплинути на виживання клітин у разі ураження ключових генів-супресорів пухлин або онкогенів. Однак більшість цих доказів було отримано в результаті досліджень печінки та мозку. Поглибленого дослідження епігенетичного ефекту етанолу в тканинах порожнини рота наразі немає, що може бути пропозицією для подальших досліджень. Пов'язані з етанолом мутаційні ознаки підтвердили роль ацетальдегіду в раку стравоходу та печінки. Тим не менш, були виявлені й інші сигнатури, пов'язані з етанолом, механізми яких наразі не повністю вивчені [133].

## **1.2. Сучасні принципи патогенетичної терапії нейропатії**

Профілактика діабетичних нейропатій фокусується на контролі глюкози та модифікації способу життя. Покращений контроль рівня глюкози у людей з ЦД 1 типу різко знижує частоту ДПН, на відміну від хворих на ЦД 2 типу (відносне зниження ризику на 78% та 5–9% відповідно). Ця невідповідність підкреслює відмінності між ЦД 1 і 2 типу і наголошує на тому, що ДПН розвивається у великій кількості хворих на ЦД 2 типу, незважаючи на адекватний контроль рівня глюкози. Незважаючи на останні досягнення в з'ясуванні патогенезу діабетичної нейропатії, залишається брак варіантів лікування, які ефективно націлені на попередження розвитку нейропатії або її усунення після встановлення [47]. В даний час засоби, що застосовуються для зменшення симптомів болю при ДПН, включають протисудомні засоби, трициклічні антидепресанти та опіюїдні або опіюїдоподібні анальгетики. На жаль, немає жодних доказів того, що будь-який із цих агентів модифікує основну патофізіологію периферичної



нейропатії. Лікування, яке конкретно націлене на патогенетичні механізми ДПН існують, у тому числі багато, які виявилися ефективними на тваринних моделях ДПН, але неефективні у рандомізованих людей. До них відносяться інгібітори альдозоредуктази, інші антиоксиданти, рекомбінантний фактори росту нервів та ацетилкарнітин [134].

Сучасна патогенетична терапія спрямована на основні патофізіологічні процеси для запобігання пошкодження нервових волокон та уповільнення прогресування ДПН та полягає у призначенні антиоксидантів та метаболічних препаратів. Сьогодні є популярною терапія із застосуванням вітамінів групи В та їхніх похідних, що впливає безпосередньо на пошкоджені тканини [135]. Літературні дані свідчать про те, що нейротропні вітаміни групи В (тіамін, піридоксин та кобаламін) сприяють регенерації нервів шляхом активації енергетичних процесів, біосинтезу нейромедіаторів та безпосередньої участі у ремієлінізації та підтримці мієлінових оболонок нервових волокон [136].

В дослідженнях на тваринах встановлено, що комплекс вітамінів групи В покращує тактильну аллодинію [137], поліпшує відновлення рухового нерва у щурів [138], що свідчить про потенційну можливість їхнього використання для лікування діабетичної нейропатії. Лікування с комбінацією вітамінів В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub> і В<sub>12</sub> хворих з легкою та помірною периферичною нейропатією різної етіології показало значне покращення загальної оцінки симптомів (біль, парестезії та оніміння) [139].

Тіаміндіфосфат є коферментом транскетолази та піруватдегідрогеназного й  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназного комплексів, які відіграють основну роль у внутрішньоклітинному метаболізмі глюкози та циклі трикарбонових кислот. Тіамін і бенфотіамін знижують експресію та активність мРНК альдозоредуктази – ключового ферменту поліолового шляху, що перетворює глюкозу у сорбітол й, відповідно, зменшує вміст сорбітолу та внутрішньоклітинної глюкози; разом з тим підвищуючи експресію та активність транскетолази [140]. Додавання тіаміну та



бенфотіаміну за умов експериментального ЦД запобігало накопиченню аддуктів глікації, окислення і нітрування білків у тканинах та збільшенню їх екскреції із сечею [141]. Ряд досліджень підтвердили, що введення тіаміну/бенфотіаміну значно покращило швидкість нервової провідності у пацієнтів з діабетичною нейропатією [142]. У клінічних дослідженнях було показано значне зниження рівня високочутливого С-реактивного білка у сироватці і рівні малонового діальдегіду у плазмі крові, а також експресію гена TNF- $\alpha$  у мононуклеарних клітинах периферичної крові пацієнтів із гестаційним ЦД [143].

Нікотинамід володіє антиоксидантною дією [144]. Нікотинамід пригнічує активність полі-(АДФ-рибозо)-полімерази, тим самим запобігаючи виснаженню NAD та АТФ в клітинах [145]. Експериментальні дані свідчать про те, що введення нікотинаміду щурам із стрептозоцин-індукованим ЦД запобігало більшості очікуваних порушень, переважно зберігаючи параметри парасимпатичних й барорефлексних функцій [146] та було ефективним у боротьбі з нейроваскулярною дисфункцією, дефіцитом нервової провідності та аномальними сенсорними реакціями на ранній стадії ДПН [147].

Потенційні антиоксидантні властивості В12 включають: пряме поглинання активних форм кисню, зокрема супероксиду; непряму стимуляцію поглинання ROS шляхом збереження глутатіону; модуляцію продукції цитокінів і факторів росту для забезпечення захисту від окисного стресу, викликаного імунною відповіддю; зниження індукованого гомоцистеїном окисного стресу; а також зниження окислювального стресу, спричиненого прогресуючими кінцевими продуктами глікації [148]. Крім того, *in vitro* було показано [149], що кобаламін запобігав апоптотичній та некротичній загибелі клітин.

Систематичний огляд досліджень [150] щодо застосування кобаламіну у лікуванні больової діабетичної нейропатії виявив сприятливий вплив на такі симптоми, як біль та парестезії. У кожному з досліджень терапія значно



покращила симптоми соматосенсорного або нейропатичного болю порівняно з плацебо. Крім того, загальне клінічне полегшення симптомів нейропатії було більш вираженим, ніж дані електрофізіологічного дослідження, що було показано у клінічних випробуваннях [151] чистого метилкобаламіну та комбінації вітаміну В<sub>12</sub> з іншими вітамінами групи В.

Сучасна клінічна практика зниження периферичної нейропатії індукованої хіміотерапією полягає в зменшенні або припиненні нейротоксичності [152]. Однак при зменшенні дози ефективність паклітакселу може послаблюватися. Жодна відома терапія не була ефективною для запобігання або лікування ПНІХ. До того ж усі відомі варіанти лікування не є універсальними. Хоча комбінація терапії може бути більш ефективною, ніж окремі препарати, у профілактиці ПНІХ [153,154].

Встановлено, що вітаміни групи В відіграють важливу роль у профілактиці периферичної нейропатії індукованої хіміотерапією, не впливаючи на ефективність хіміотерапевтичних препаратів, за винятком високих доз вітаміну В<sub>6</sub> [154]. Відомо, що одним з наслідків дефіциту вітамінів групи В, особливо В<sub>12</sub>, є нейропатії, які зазвичай супроводжуються парестезією, онімінням і атаксією. Було доведено, що рівень вітаміну В<sub>12</sub> у деяких хворих на рак швидко знижується, особливо під час хіміотерапії, і клінічні прояви помітні вже через кілька місяців [155]. Дослідження на тваринах Namity M. та ін. (2017) показали, що нікотинамід був як захисним, так і лікувальним варіантом для тактильної гіперчутливості (сенсорна нейропатія) і втечі- поведінка уникнення (моторна), які були результатом введення паклітакселу [156].

Одним з препаратів високої метаболічної активності є Кокарніт (World Medicine), який активізує процеси аеробного окислення глюкози, нормалізує ліпідний обмін, регулюючи процеси окислення жирних кислот та знижуючи рівень холестерину, сповільнює процеси перекисного окислення ліпідів й утворення вільних радикалів [157,158]. Даний препарат має широкий спектр дії та використовується для лікування різних патологічних станів нервової



системи [157]. Під дією компонентів препарату покращуються енергозабезпечення та трофіка нервової тканини, підвищуються резерви антиоксидантної та ендогенної антиноцицептивної системи. Кокарніт сприяє відновленню нервових волокон та покращенню нервової провідності, що дозволяє припустити участь Кокарніту у механізмах нейропластичності.

За даними Романової та ін. [159]. Кокарніт зменшує виразність клінічних проявів діабетичної полінейропатії, сприяє покращенню гемодинамічних, метаболічних показників, поліпшує сенсорно-моторну провідність в нервових волокнах.

В ряді інших досліджень були отримані результати, що свідчили про ефективність терапії із застосуванням даного препарату в лікуванні пацієнтів з ДН [157,160], алкогольної полінейропатії [161], хронічними захворюваннями опорно-рухового апарату [162], серцево-судинними хворобами [163,164].

Аналіз даних, викладених у розділі «Огляд літератури», вказує на те, що порушення у слинних залозах за умов нейропатії тісно пов'язані із інтенсифікацією вільнорадикальних процесів і пригніченням систем антиоксидантного захисту, дисбалансом NO-ергічної системи, а також протеїназно-інгібіторного потенціалу. Однак, детальні патобіохімічні механізми цих змін є не до кінця з'ясованими. Відтак, актуальним питанням залишається вивчення механізмів розвитку патологічних змін у слинних залозах тварин за умов нейропатії та пошук ефективних засобів корекції цих змін шляхом використання комплексу нейротропних вітамінів.



## РОЗДІЛ II

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Експериментальні моделі нейропатій та розподіл тварин на групи

Експериментальні дослідження проводили на базі наукової лабораторії кафедри біологічної та біоорганічної хімії ПДМУ та науково-дослідної лабораторії навчально-наукового центру «Інституту біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Під час проведення експериментів дотримувались нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 року, Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 р.), загальних етичних принципів експериментів на тваринах, які ухвалені Першим національним конгресом України з біоетики, основних правил належної лабораторної практики GLP (1981), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» зі змінами [165]. Проведені дослідження відповідають етичним та морально-правовим вимогам згідно з наказом МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р., що засвідчено комітетом з біоетики ПДМУ (протокол № 181 від 26.03.2020, № 225 від 21.03.2024).

Експеримент було проведено на 113 білих нелінійних щурах обох статей масою тіла 180-220 г. Упродовж усього експерименту тварини перебували у віварії відповідно до правил зоогієни та підтриманні 12/12 годинного добового циклу “світло-темрява” з постійними аерацією, температурою повітря 26 °С й вологістю (43±2)%. Щури отримували *ad libitum* змішану зерново-овочеву дієту та воду.

Рандомізовано тварини було поділено на 8 груп:

1 група – інтактні щури (контрольна група) n=15;



2 група – інтактні щури, яким вводили Кокарніт протягом 9 днів (контроль на препарат) n=8;

3 група – щури, яким моделювали діабетичну нейропатію n=12;

4 група – щури з експериментальною діабетичною нейропатією, яким вводили динатрію аденозинтрифосфату тригідрат, кокарбоксілазу, ціанокобаламін та нікотинамід протягом 9 днів n=18;

5 група – щури з експериментальною паклітаксел-індукованою нейропатією n=26;

6 група – щури з паклітаксел-індукованою нейропатією, яким вводили динатрію аденозинтрифосфату тригідрат, кокарбоксілазу, ціанокобаламін та нікотинамід протягом 9 днів n=22;

7 група – щури з алкогольною нейропатією n=6;

8 група – щури з алкогольною нейропатією, яким вводили динатрію аденозинтрифосфату тригідрат, кокарбоксілазу, ціанокобаламін та нікотинамід протягом 9 днів n=6.

*2.1.1. Моделювання діабетичної нейропатії.* Щурам 3 та 4 групи моделювали діабетичну нейропатію шляхом внутрішньоочеревинного введення одноразової ін'єкції стрептозоцину (Streptozocin, "Sigma", США) у дозі 65 мг/кг [166]. Моніторинг рівня глюкози проводили на 14, 28 день експерименту. Концентрацію глюкози в крові вимірювали за допомогою глюкометра Free Style Optium XEMV036-P0270 і тест-смужки Free Style Optium Н. Кров відбирали із хвостової вени за допомогою внутрішньовенного катетера. Хвіст попередньо вимивали, витирали насухо, першу краплю крові витирали, а другу краплю наносили на тест-смужку. На 30-й день дослідження проводили глюкозотолерантний тест для підтвердження наявності діабету у щурів. Тварин поміщали у спеціальні патрони, при цьому хвіст залишався ззовні. Базальний рівень глюкози визначали натще, після чого щурам інтрагастрально вводили розчин глюкози в дозі 3 г/кг. Через (30, 60, 90 і 120) хв. після введення глюкози



вимірювали її концентрацію у крові. За результатами тесту будували гіперглікемічну криву.

2.1.2. *Моделювання паклітаксел-індукованої нейропатії.* Тваринам 5 та 6 груп моделювали паклітаксел-індуковану нейропатію шляхом інтраперітонеального введення паклітакселу (Actavis Ltd; серія 5GN5122) 2 мг/кг упродовж 4 днів (0, 2, 4 і 6) [167].

2.1.3. *Моделювання алкогольної нейропатії.* Розвиток алкогольної нейропатії у щурів 7 та 8 груп здійснювали шляхом ендogaстрального введення розчину етанолу різної концентрації (1-24 дні – 11,8%; 25-48 – 23,6%; 49-72 дні – 37%) за допомогою зонду протягом 72 днів [168,169].

2.1.4. *Тензоалгометричний метод Randall-Selitto.* Для підтвердження розвитку нейропатії застосовували тензоалгометричний метод Randall-Selitto [170,171]. За допомогою аналгезиметра реєстрували поріг больової чутливості (ПБЧ), який визначали надавлюванням на задню лапку. Для визначення ПБЧ задньої лапки у щурів тримісячного віку використовували металеву циліндричну насадку площею 0,5 см<sup>2</sup>. Показником больового порога був тиск, зафіксований у момент вираженої больової реакції тварини (писк або відсмикування лапи). Тиск сприймався тензочутливим елементом, перетворювався на електричний сигнал, потім оброблявся і відображався у графічному і цифровому вигляді на моніторі комп'ютера.

Середнє значення порога больової чутливості, визначене перед початком моделювання нейропатії, брали за 100%.

ПБЧ у щурів 3 та 4 групи визначали перед моделюванням цукрового діабету, на 14-й та 30-й дні після введення стрептозоцину. Визначення ПБЧ у щурів 5 та 6 групи здійснювали до введення паклітакселу, на 16-й та 25-й день після першої ін'єкції паклітакселу. ПБЧ у щурів 7 та 8 групи вимірювали перед початком моделювання патології та після 24, 48, 72 днів вживання алкоголю.

2.1.5. *Експериментальна корекція препаратом Кокарніт.* З метою корекції виявлених змін тваринам 4, 6 та 8 груп після підтвердження





розвитку нейропатії, а також щурам 2 групи (контроль на препарат) протягом 9 діб внутрішньом'язово вводили препарат Кокарніт (World Medicine) у дозі 1 мг/кг [172], що містить 50 мг кокарбоксілази, 20 мг нікотинамід, 500 мкг ціанокобаламіну, 10 мг динатрію аденозинтрифосфату тригідрату [173]. Після введення вітамінного комплексу протягом 9 днів у тварин цих груп вимірювали ПБЧ.

З експерименту тварин виводили шляхом кровопускання під тіопенталовим наркозом. Тіопентал натрію («ARTERIUM», Україна) вводили внутрішньоочеревинно з розрахунку 50 мг/кг. Об'єктами дослідження були піднижньощелепні та під'язикові слинні залози та сироватка крові щурів.

## **2.2. Біохімічні методи дослідження сироватки крові щурів**

В сироватці крові щурів, яким вводили стрептозоцин та паклітаксел, а також здійснювали експериментальну корекцію шляхом введення препарату, що містив кокарбоксілазу, нікотинамід, ціанокобаламін та АТФ, на тлі моделювання стрептозоцин- та паклітакселіндукованої нейропатії визначали рівень загальних, білок-зв'язаних та небілкових сульфгідрильних груп; вміст відновленого та окисненого глутатіону; активність глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази та глутатіонредуктази. Проводили визначення вмісту продуктів окисної модифікації білків; активності супероксиддисмутази (СОД) та каталази; вимірювали вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів: дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів та шиффових основ.

*2.2.1. Визначення рівня загальних, білок-зв'язаних та небілкових сульфгідрильних груп.* Рівень загальних, білок-зв'язаних та небілкових сульфгідрильних груп у сироватці крові щурів визначали за методом Елмана [174], що ґрунтується на здатності 5,5'-дитіо-біс-2-нітробензойної кислоти (ДТНБК) взаємодіяти із вільними та білок-зв'язаними сульфгідрильними



групами з утворенням тіонітрофенільного аніону (ТНФА), вміст якого пропорційний вмісту SH-груп у пробі.

*2.2.2. Визначення активності глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9].*

Метод визначення активності глутатіонпероксидази [175] поєднує використання гідроген пероксиду ( $H_2O_2$ ) та відновленої форми глутатіону (GSH) в якості субстратів із визначенням зменшення кількості глутатіону в реакції з 5,5'-дітіобіс (2-нітробензойною) кислотою. Реакційне середовище містить трис-НСІ буфер (0,04 М, рН 7,4), 4,4 мМ ЕДТА, 10 мМ азиду натрію  $NaN_3$ , 1 мМ GSH, 390 мкМ  $H_2O_2$ . Інкубацію проводили протягом 45 секунд при 37 °С. Ферментативну активність виражали у мкмоль GSH/хв×мл.

*2.2.3. Визначення активності глутатіонтрансферази [КФ 2.5.1.18].*

Глутатіонтрансферазну активність у сироватці крові щурів визначали за накопиченням оптично активного кон'югату GSH із 1-хлор-2,4-динітробензолом. Для цього готували суміш, що містила 0,1М фосфатний буфер, рН = 6,5; 10 мМ відновлений глутатіон (GSH); 0,1 М 1-хлор-2,4-динітробензол; інкубували протягом 5 хв. Ферментативну активність вимірювали при довжині хвилі 346 нм та виражали у нмоль/хв×мл [176].

*2.2.4. Визначення активності глутатіонредуктази [КФ 1.8.1.7].*

Активність глутатіонредуктази у сироватці крові тварин визначали за зменшенням оптичної густини проб у результаті окиснення NADPH при 37°С за довжини хвилі 340 нм та виражали в нмоль NADPH на 1 мг білка за хв [176]. До складу реакційної суміші входили 0,05 М фосфатний буфер, рН = 8,0; 1 мМ ЕДТА; 7,5 мМ GSSG; 1,2 мМ NADPH +  $H^+$ ; інкубація тривала 8 хв.

*2.2.5. Визначення вмісту відновленого та окисненого глутатіону.*

Вміст відновленого та окисненого глутатіону визначали застосовуючи метод із використанням ортофталевого альдегіду при різних значеннях рН середовища [177]. о -Фталевий альдегід утворює флуоресцентний комплекс як з відновленим, так і з окисленим глутатіоном. Вміст GSH та GSSG виражали в нмоль на 1 мг білка.



### 2.2.6. Визначення активності супероксиддисмутази [КФ 1.15.1.1].

Супероксиддисмутазну активність визначали за Чеварі і співавторами.[178] Основою методу є здатність супероксиддисмутази конкурувати з нітросинім тетразолієм (НСТ) за супероксидні аніони, які утворюються в результаті взаємодії відновленої форми нікотинамідаденіндинуклеотида (НАДН) та феназинметасульфату (ФМС) в аеробних умовах. Внаслідок реакції відбувається відновлення НСТ й утворюється гідразинтетразолій. Відсоток відновлення НСТ зменшується у присутності СОД. Активність СОД виражали у ум. од.  $\times$  хв<sup>-1</sup>  $\times$  мг білка<sup>-1</sup>.

2.2.7. Визначення активності каталази [КФ 1.11.1.6]. Активність каталази у сироватці крові тварин визначали за Королук М. А. та співавт., 1988 [179]. Висновок про активність каталази робили за кількістю перекису водню, що розпався в присутності проби, в якій міститься каталаза. Реакцію запускали шляхом додавання 0,1 мл 5% гомогенату до 2 мл 0,03% розчину перекису водню. До контрольної проби замість гомогенату вносили 0,1 мл дистильованої води. Для припинення реакції вносили 1 мл 4% розчину молібдату амонію. Фотометрування здійснювали при довжині хвилі 405 нм. Активність каталази виражали в мккат/г $\times$ хв.

2.2.8. Визначення вмісту дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів та шиффових основ. Вміст дієнових кон'югатів визначали в гептан-ізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом, а шиффових основ – флуориметричним методом [180]. Метод визначення вмісту дієнових кон'югатів ґрунтується на їхній здатності поглинати світло в УФ відрізьку спектра. Максимум світлопоглинання спостерігається при довжині хвилі 232 нм. Концентрація дієнових кон'югатів у дослідній пробі пропорційна оптичній густині розчину. Екстракцію проводили шляхом додавання до плазми крові суміші гептану та ізопропанолу (1:1). Для розділення фаз додавали дистильовану воду, швидко струшували проби. Після відстоювання відбирали в пробірки з 96% етанолом верхню гептанову фазу. Оптичну густину гептанової фази визначали при  $\lambda=232$  нм. За контроль



брали гептанові екстракти дистильованої води. Верхню гептанову фазу відбирали для визначення вмісту шиффових основ на флуориметрі RF-510, Shimadzu (Японія) за умов  $\lambda_{збуд}=360$  нм і  $\lambda_{еміс}=420$  нм. Вміст дієнових кон'югатів виражали у нмоль на мг білку, а шиффових основ – у ум. од. на мг білку. Вміст малонового диальдегіду оцінювали за методикою І.Д. Стальної та Т.Г. Гарішвілі [181]. 2-тіобарбітурова кислота при нагріванні з альдегідами утворює триметиновий комплекс, що має максимум світлопоглинання при 532 нм. Для визначення вмісту ТБК-активних продуктів до плазми крові додавали 17% розчин трихлороцтової кислоти, центрифугували протягом 10 хв при 3000 об/хв. До надосадової рідини додавали 0,8% тіобарбітурову кислоту, після чого кип'ятили на водяній бані протягом 10 хв. Фотометрування здійснювали при довжині хвилі 532 нм. Вміст ТБК-реактивних продуктів виражали у нмоль на мг білка.

#### *2.2.9. Визначення вмісту продуктів окисної модифікації білків.*

Концентрацію продуктів пероксидного окиснення білків визначали за методом Дубиніної [182], що ґрунтується на спектрофотометричному визначенні альдегідних та кетонних похідних 2,4-динітрофенілгідразину (2,4-ДНФГ), які можуть утворюватись внаслідок взаємодії альдегідних та кето-груп амінокислотних залишків білків з 2,4-ДНФГ. Для аліфатичних альдегід-динітрофенілгідразинів нейтрального характеру спектр поглинання знаходиться у діапазоні 230-558 нм, основного характеру – 258-270 і 428-530 нм. Для аліфатичних кетон-динітрофенілгідразинів нейтрального характеру спектр поглинання – 363-367 нм, основного характеру – 524-535 нм. Продукти окисної модифікації білків нейтрального характеру визначали при  $\lambda = 356$  нм (альдегідо-похідні) та  $\lambda = 370$  нм (кетон-похідні). Продукти окисної модифікації основного характеру визначали при  $\lambda = 430$  нм (альдегідо-похідні) та  $\lambda = 530$  нм (кетон-похідні). Вміст продуктів пероксидного окиснення білків виражали в ум.од. у мг білка.



## 2.3. Біохімічні методи дослідження слинних залоз щурів

В тканинах піднижньощелепних та під'язикових слинних залоз тварин за умов експериментальної нейропатії шляхом моделювання стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії, паклітаксел-індукованої нейропатії, алкогольної нейропатії та введення комплексу вітамінів групи В та АТФ визначали активність  $\alpha$ -амілази, каталази, загальну протеолітичну активність, загальну антитриптичну активність, вміст окисно-модифікованих білків, ТБК-реактантів та молекул середньої маси.

Для біохімічних досліджень використовували 5 % гомогенат. Після видалення слинні залози поміщали у чашку Петрі та подрібнювали. Робили наважку. Тканину гомогенізували у 10 мМ трис(2-аміно-2-гідроксиметилпропан-1,3-діол)-НСІ буфері, із рН 7,4 (1г тканини на 19 мл середовища) протягом (30-40) сек. Надосадову рідину використовували для біохімічних досліджень. Усі маніпуляції проводились при температурі від 0° до +4° С (на льодяній бані).

Для вимірювання оптичної активності розчинів використовували спектрофотометр РV1251С «СОЛАР».

*2.3.1. Визначення активності  $\alpha$ -амілази [КФ 3.4.1.1].* Активність  $\alpha$ -амілази у тканинах піднижньощелепних та під'язикових слинних залоз визначали за методикою Каравея [183]. Для визначення активності  $\alpha$ -амілази використовували набір реактивів ТОВ НВП «Філісист-Діагностика» (Україна, м. Дніпропетровськ). Крохмаль гідролізується  $\alpha$ -амілазою до похідних, що не дають кольорової реакції з йодом. Зміна забарвлення йод-крохмального комплексу пропорційна активності ферменту в досліджуваній пробі.

*2.3.2. Визначення активності каталази [КФ 1.11.1.6].* Активність каталази в слинних залозах тварин визначали за Корольок М. А. та співавт., 1988 [179]. Висновок про активність каталази робили за кількістю перекису водню, що розпався в присутності проби, в якій міститься каталаза.



Реакцію запускали шляхом додавання 0,1 мл 5% гомогенату до 2 мл 0,03% розчину перекису водню. До контрольної проби замість гомогенату вносили 0,1 мл дистильованої води. Для припинення реакції вносили 1 мл 4% розчину молібдату амонію. Фотометрування здійснювали при довжині хвилі 405 нм. Активність каталази виражали в мккат/г×хв.

*2.3.3. Визначення загальної протеолітичної активності тканин слинних залоз.* Протеолітичну активність визначали за приростом вільного аміноазоту, який утворювався під час гідролітичного розщеплення білків [184]. У нінгідриновій реакції аміноазот дає синє забарвлення, інтенсивність якого прямопропорційна вмісту вільних амінокислот. За стандарт брали гліцин. Активність протеїназ виражали в мкг/г×хв.

*2.3.4. Визначення загальної антитриптичної активності тканин слинних залоз.* Фермент трипсин, при взаємодії з казеїном, руйнує його, утворюючи продукти реакції, оптична густина яких в розчині пропорційна трипсину, що прореагував. Метод визначення антитриптичної активності [185] базується на вимірюванні різниці між активністю досліджуваної проби, що містить певну кількість трипсину, та активністю проби, в якій наявні інгібітори ферменту. Загальну антитриптичну активність виражали в г/кг.

*2.3.5. Визначення вмісту окисно-модифікованих білків.* Вміст окисномодифікованих білків (ОМБ) визначали за методом Дубініної Е.Е. [182], який базується на спектрофотометричному визначенні карбонільних груп, що утворюються при взаємодії активних форм кисню із залишками амінокислот з використанням 2,4-динітрофенілгідразину на довжині хвилі 405 нм. Вміст окисно-модифікованих білків виражали в умовних одиницях, що дорівнюють показникам екстинції.

*2.3.6. Визначення вмісту ТБК-реактивів.* Вміст малонового діальдегіду в піднижньощелепних та під'язикових слинних залозах визначали за методикою І.Д. Стальної та Т.Г. Гарішвілі [181]. 2-



тіобарбітурова кислота при нагріванні з альдегідами утворює триметиновий комплекс, що має максимум світлопоглинання при  $\lambda = 532$  нм. Інтенсивність забарвлення розчину при цьому буде пропорційна концентрації ТБК-активних продуктів. Вміст ТБК-реактивних продуктів виражали в мкмоль/г.

*2.3.7. Визначення вмісту середніх молекул.* Вміст молекул середньої маси у гомогенаті піднижньощелепних та під'язикових слинних залоз тварин визначали за стандартною методикою, що базується на вимірюванні оптичної густини гомогенату звільненого від грубодисперсних білків при довжині хвилі 254 нм [186]. Для визначення рівня молекул середньої маси гомогенат обробляли 10% розчином ТХО у співвідношенні 1:0,5. Центрифугувати 30 хв при 3000 об/хв. До 0,5 мл надосадової рідини додавали 4,5 мл дистильованої води та вимірювали поглинання при  $\lambda = 254$  нм. За контроль брали суміш, що містила 0,5 мл ТХО та 4,5 мл дистильованої води. Рівень середніх молекул виражали в ум.од., кількість яких дорівнює показникам екстинкції.

## **2.4. Гістологічні методи дослідження**

Для морфологічного дослідження слинних залоз щурів за умов експериментальної стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії та введення препарату, що містив комплекс вітамінів та АТФ, використовували метод світлової мікроскопії.

Після евтаназії тварин фрагменти піднижньощелепних слинних залоз фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну протягом трьох діб. Потім шматочки піднижньощелепних слинних залоз, фіксовані у формаліні, ущільнювали у парафін за загальноприйнятою методикою [187]. Зрізи товщиною (5-10) мкм отримували за допомогою ротаційного мікротому HistoLine і монтували їх на предметні скельця за трафаретною методикою. Після забарвлення гематоксилином та еозином зрізи заключали у полістерол



і вивчали за допомогою цифрового мікроскопу Levenhuk D740T з цифровою мікрофотонасадкою з адаптованими для даних досліджень програмами.

## 2.5. Математико-статистичні методи дослідження

Для аналізу отриманих результатів були використані методи варіаційної статистики. Відповідність нормальному закону розподілу емпіричних даних оцінювали шляхом розрахунку критерію Шапіро-Вілکا. Якщо дані відповідали нормальному розподілу, для оцінки міжгрупових відмінностей проводили дисперсійний аналіз параметричним методом (Anova). Для подальшого попарного порівняння середньоарифметичних величин застосовували параметричний t-критерій Стьюдента для незалежних вибірок. Достовірними даними вважали такі, що відповідають  $p < 0.05$ . Якщо ряди даних не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали за допомогою непараметричних методів – Крускала-Уолліса та теста Мана-Уїтні. Для порівняння зв'язаних вибірок використовували критерій Фрідмана [188].

Статистична обробка проводилась із використанням пакету програм Microsoft Office Excel і розширення Real Statistics й містила у собі визначення середніх значень параметрів (M) та середньої похибки ( $\pm m$ ).





## РОЗДІЛ III

**ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН У СЛИННИХ ЗАЛОЗАХ ТА СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ НЕЙРОПАТІЇ**

Літературні дані свідчать про виникнення нейропатичного болю у третини пацієнтів з периферичною нейропатією, які відмічають вегетативні симптоми [18]. З метою підтвердження розвитку нейропатії ми вимірювали поріг больової чутливості (ПБЧ), застосовуючи тензоалгометричний метод Randall-Selitto. За 100% приймали середнє значення ПБЧ, визначене перед початком моделювання патології. За нашими даними в інтактних щурів початковий ПБЧ складав  $100,1 \pm 3,4$  %. В усі дні вимірювання ПБЧ незначно коливався в межах базового рівня, що свідчить про нормальне функціонування нервово-м'язового комплексу у тварин (рис. 3.1).

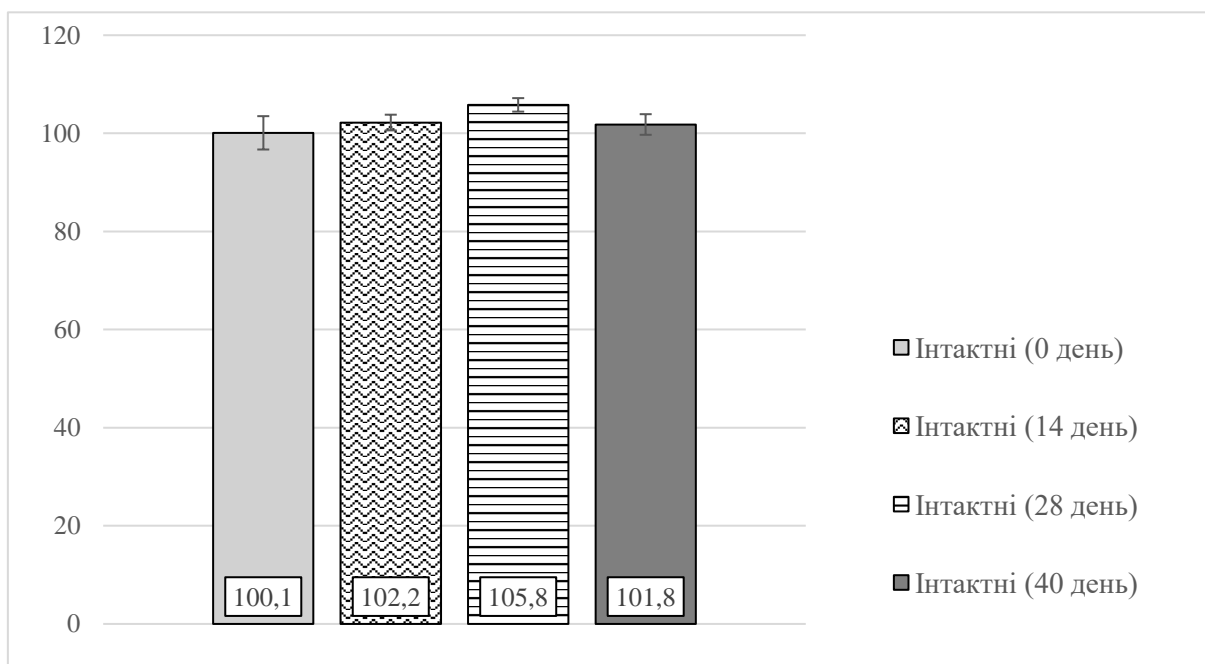


Рисунок 3.1. Поріг больової чутливості (%) за тензоалгометричним методом Randall-Selitto, у інтактних щурів (Група 1).

У щурів, яким вводили стрептозоцин, ПБЧ значно зростав у всі дні вимірювання порівняно з початковим значенням: на 14 день після введення стрептозоцину ПБЧ зростав на 22,4% ( $p < 0,05$ ), на 28 день – на 100,9% ( $p < 0,001$ ), а на 40 день – на 114,7% ( $p < 0,001$ ). Це підтверджує не лише



наявність периферичної діабетичної полінейропатії у тварин, а й прогресування захворювання (рис. 3.2).

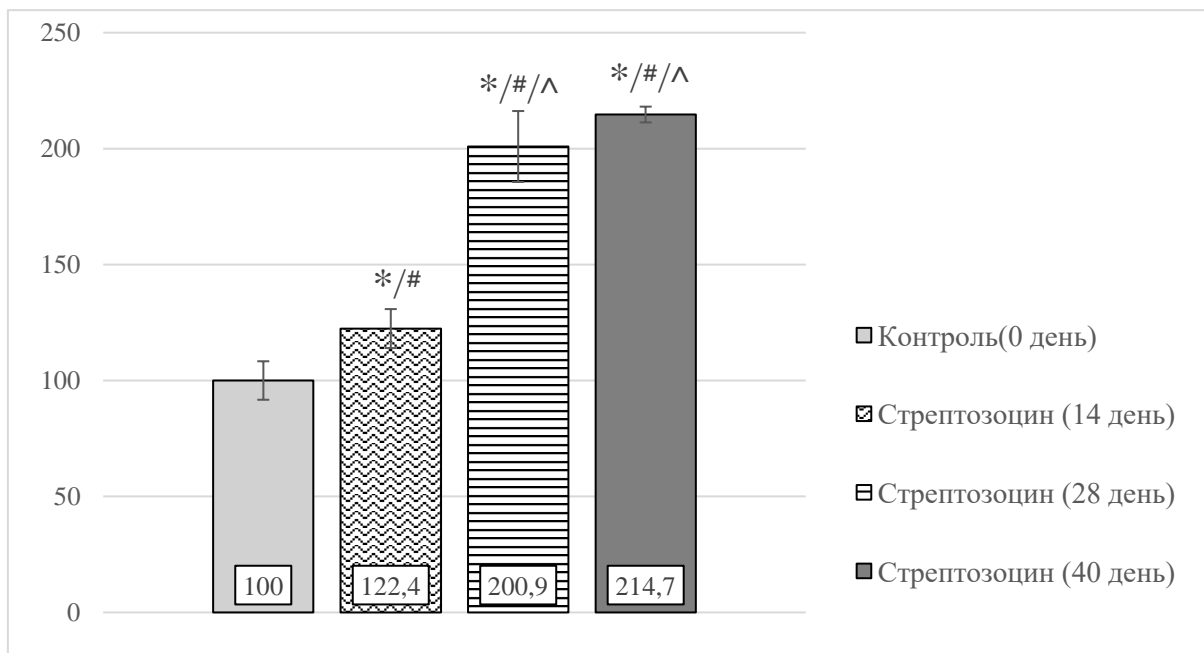


Рисунок 3.2. Поріг больової чутливості (%) за тензоалгометричним методом Randall-Selitto, у щурів за умов введення стрептозоцину (Група 3).

Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з 0 днем (до введення стрептозоцину), ^ -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з 14 днем.

Нами було встановлено, що введення низьких доз паклітакселу щурам протягом 4 днів (0, 2, 4 та 6), викликає механічну гіперчутливість з поступовим початком. Досягнення піку механічної гіперчутливості викликаній паклітакселом займає кілька тижнів, після чого вона залишається підвищеною протягом декількох місяців, зменшуючись з часом, та зникає приблизно через 6 місяців після першої ін'єкції паклітакселу. За допомогою тензоалгометричного тесту Randall-Selitto ми встановили, що у щурів інтактної та дослідної групи на початку моделювання паклітаксел-індукованої нейропатії ПБЧ становив 100%. Вимірювання ПБЧ на 16 та 25 день експерименту показали його незначне

коливання в межах базового рівня. У щурів, яким моделювали паклітаксел-індуковану нейропатію, відмічалось значне зростання ПБЧ у всі дні вимірювання порівняно з початковим значенням. Так, на 16 день після першої ін'єкції паклітакселу ПБЧ зростав у 1,4 рази, а на 25 день – в 1,6 рази. Також спостерігалось зростання ПБЧ у 1,15 рази на 25 день у порівнянні із 16 днем, що свідчило про розвиток нейропатії (рис. 3.3).

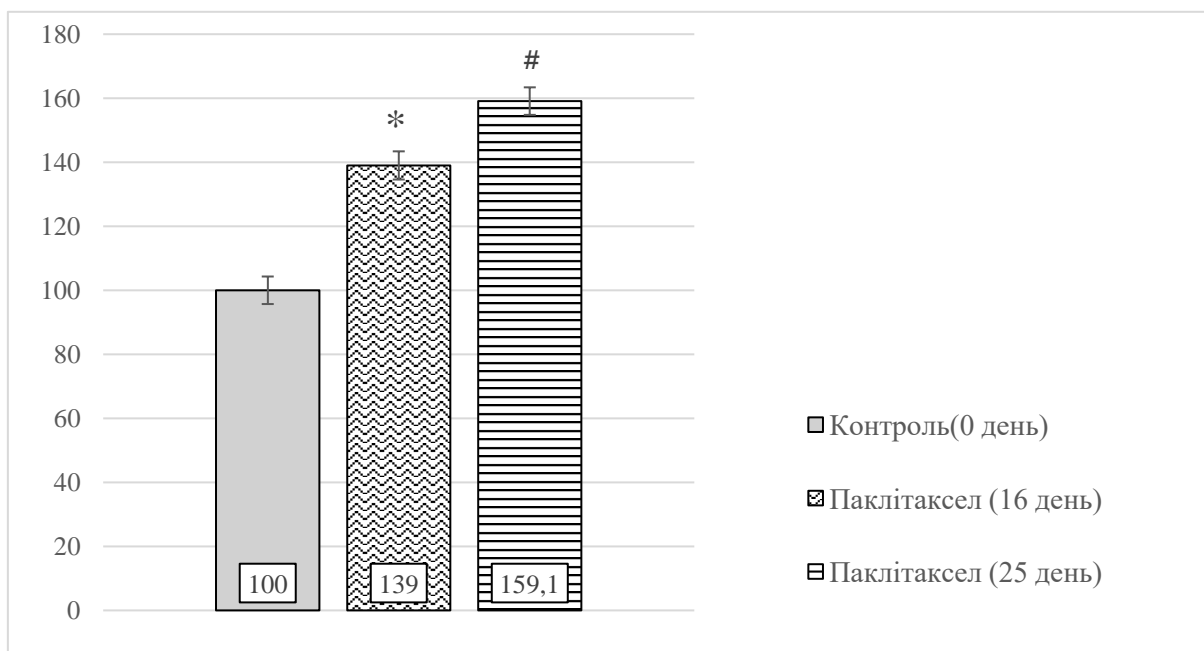


Рисунок 3.3. Поріг больової чутливості (%) за тензоалгометричним методом Randall-Selitto, у щурів за умов введення паклітакселу (Група 5).

\* -  $p < 0,01$  у порівнянні з 0 днем (до введення паклітакселу), # -  $p < 0,05$  у порівнянні з 16 днем після першої ін'єкції паклітакселу.

За результатами наших досліджень, ПБЧ у щурів інтактної групи упродовж експерименту не зазнавав статистично достовірних змін. У щурів, яким моделювали алкогольну нейропатію шляхом введення розчину етанолу зростаючої концентрації протягом 72 днів, ПБЧ перед проведенням експерименту складав  $100 \pm 10,8\%$ . На 24 день ПБЧ вірогідно не змінювався; на 48 день – зростав на 45,4% ( $P < 0,05$ ) та на 72 день – на 62,9% ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з базовим рівнем та ПБЧ у інтактних тварин (рис. 3.4).

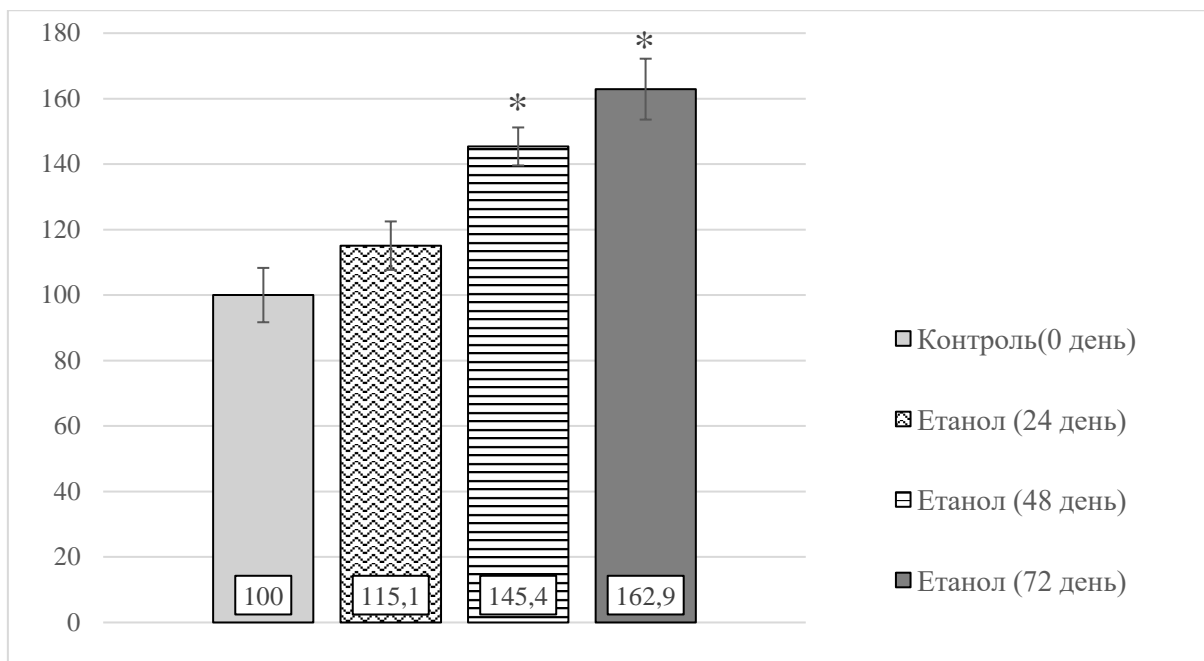


Рисунок 3.4. Поріг больової чутливості (%) за тензоалгометричним методом Randall-Selitto, у щурів за умов введення етанолу (Група 7).

Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з 0 днем (до початку введення етанолу).

Отже, зростання порогу больової чутливості, який вимірювали анальгезиметром застосовуючи метод Randall-Selitto за умов введення стрептозоцину, паклітакселу та розчину етанолу зростаючої концентрації підтверджують розвиток периферичної нейропатії.

### 3.1. Баланс про- та антиоксидантної системи у сироватці крові тварин за умов стрептозоцин-індукованої нейропатії

Для оцінювання інтенсивності вільнорадикальних процесів за умов моделювання стрептозоцин-індукованої нейропатії у щурів ми визначали вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та окисної модифікації білків у сироватці крові тварин [189].

Первинними продуктами ПОЛ є дієнові кон'югати. Вони утворюються при окисненні залишків полієнових ВЖК, що входять до складу фосфоліпідів біомембран. Дієнові кон'югати є нестійкими і перетворюються

на ненасичені альдегіди (вторинні продукти), одним з яких є малоновий діальдегід. Шиффові основи (кінцеві продукти) утворюються внаслідок взаємодії карбонільних груп альдегідів чи кетонів з вільними аміногрупами. Продукти перекисного окислення ліпідів використовуються як непрямі біомаркери окисного стресу.

За умов розвитку стрептозоцин-індукованої нейропатії у сироватці крові щурів спостерігається накопичення продуктів перекисного окислення ліпідів. Згідно наших даних, вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові інтактних щурів дорівнює  $36,55 \pm 3,19$  нмоль $\times$ мг білка $^{-1}$ . У тварин із діабетичною нейропатією вміст первинних продуктів ПОЛ збільшується на 54,17% порівняно з контролем (рис. 3.5).

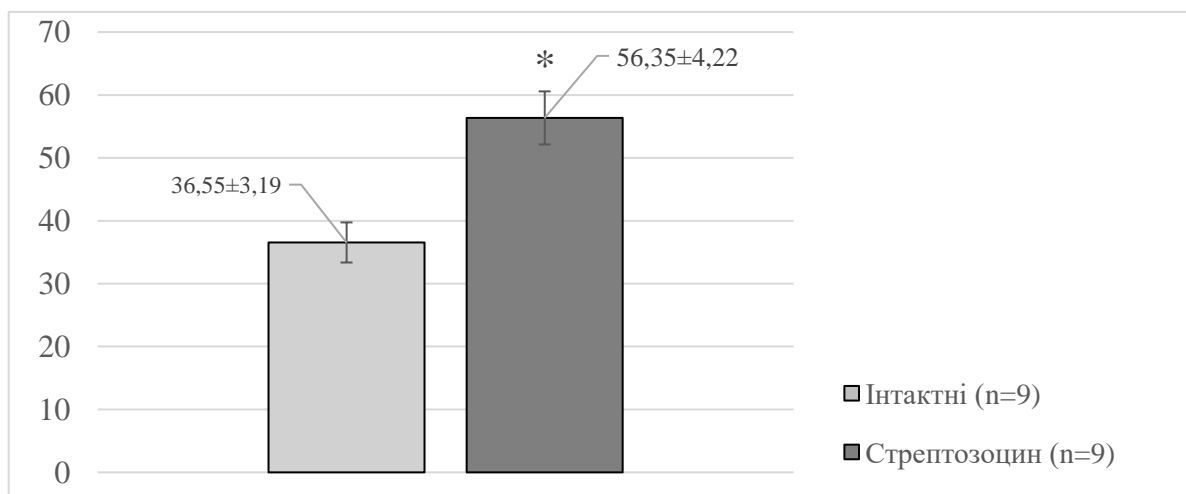


Рисунок 3.5. Вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові щурів (нмоль $\times$ мг білка $^{-1}$ ), ( $M \pm m$ ). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

Ми встановили, що у сироватці крові інтактних тварин вміст ТБК-активних продуктів становить  $16,25 \pm 1,68$  нмоль  $\times$  мг білка $^{-1}$  (рис. 3.6), вміст шиффових основ –  $4,23 \pm 0,41$  ум. од.  $\times$  мг білка $^{-1}$  (рис. 3.7). У щурів, яким вводили стрептозоцин, вміст ТБК-реактантів вірогідно збільшився на 81%, а вміст шиффових основ – на 99% у порівнянні з цими показниками у тварин інтактної групи.

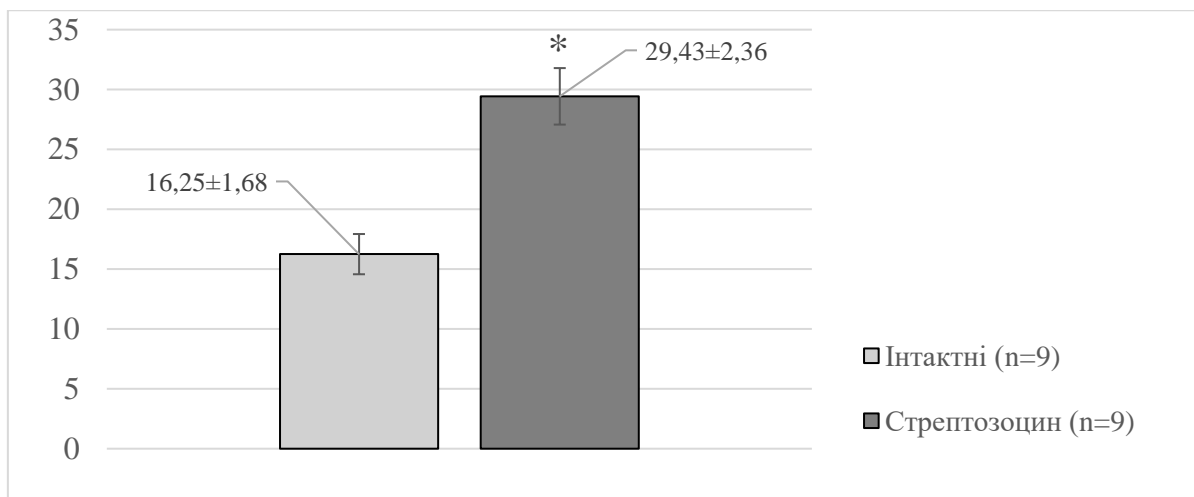


Рисунок 3.6. Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові щурів (нмоль  $\times$  мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

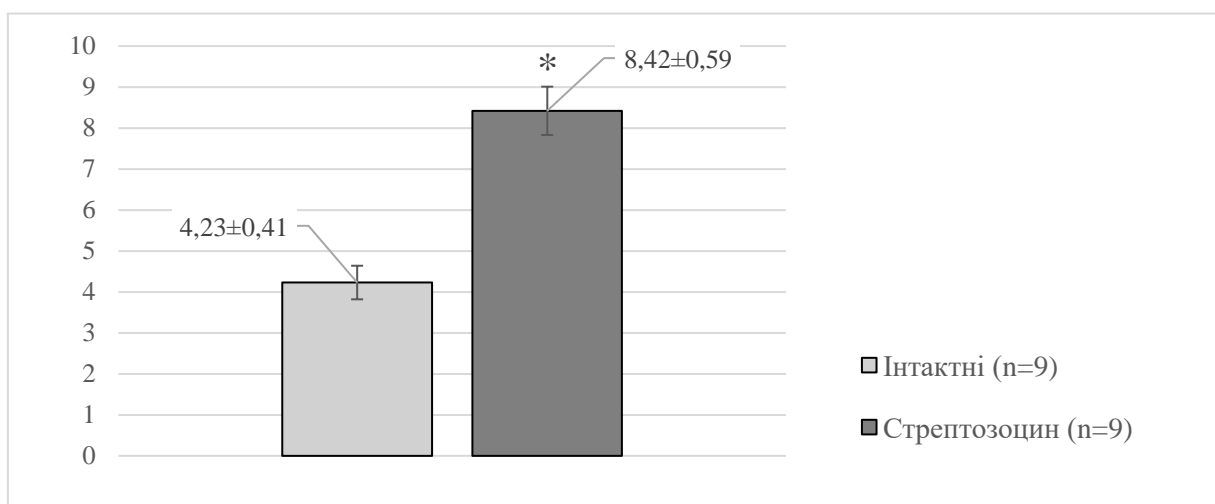


Рисунок 3.7. Вміст шиффових основ у сироватці крові щурів (ум. од.  $\times$  мг білка<sup>-1</sup>) (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

Враховуючи той факт, що білкові молекули є дуже сприйнятливими до окисного пошкодження, підвищення вмісту продуктів окисної модифікації протеїнів є раннім маркером ушкодження тканин активними формами кисню. В ході наших досліджень було встановлено, що у щурів з індукованою діабетичною нейропатією у сироватці крові вірогідно зростає вміст продуктів окисної модифікації протеїнів: нейтральних альдопохідних



– на 57,55%, нейтральних кетопохідних – на 44%, лужних альдопихідних – на 76,84% та лужних кетопихідних – на 128,2% щодо цих показників у контролі (рис. 3.8).

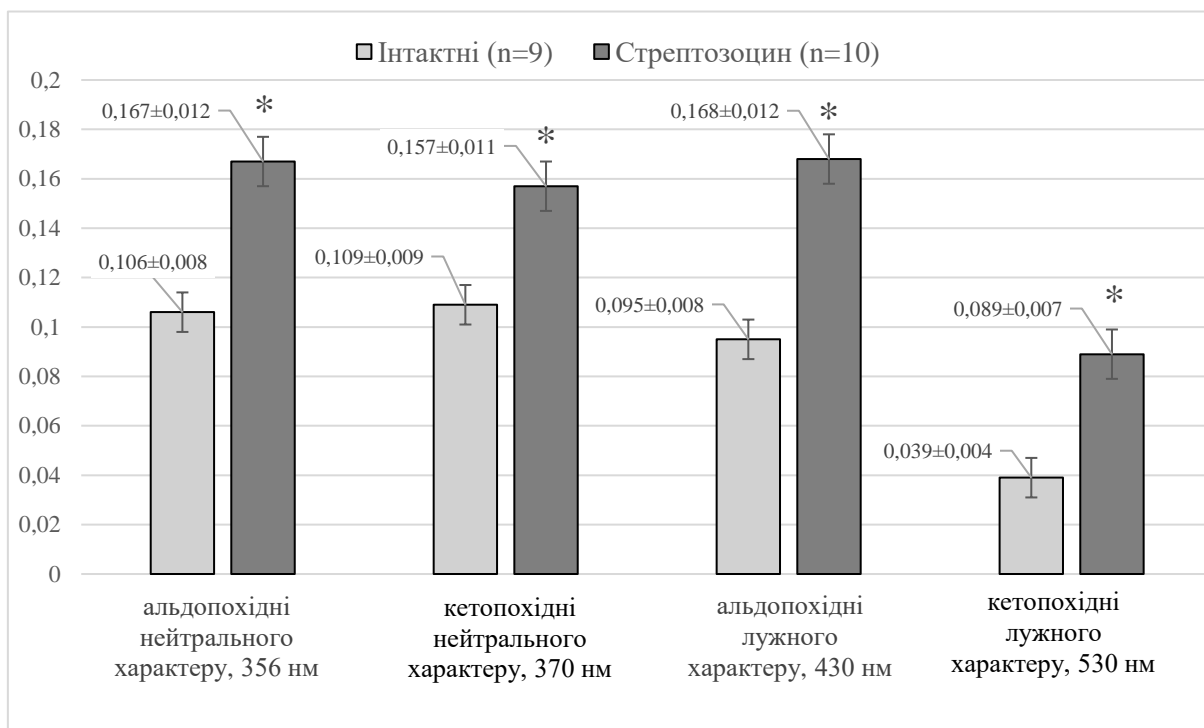


Рисунок 3.8. Вміст продуктів ОМБ у сироватці крові щурів (ум. од. × мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* - p<0,05 – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

Іншим важливим показником модифікації білків є окислення сульфгідрильних груп амінокислотних залишків, що може відбуватися як прямим, так і ферментативним шляхом за участю глутатіонпероксидази та гідроперекисів ліпідів. За нашими даними, вміст сульфгідрильних груп у сироватці крові щурів інтактної групи становив: небілкових – 0,222 ± 0,019 мкмоль × мг білка<sup>-1</sup> (рис. 3.9), білкових – 4,369 ± 0,391 мкмоль × мг білка<sup>-1</sup> та 4,709 ± 0,343 мкмоль × мг білка<sup>-1</sup> – рівень загальних SH-груп (рис. 3.10).

Розвиток діабетичної нейропатії у щурів супроводжувався зниженням вмісту SH-груп у сироватці крові: білкових та небілкових – у 1,3 раза та загальних – у 1,5 раза у порівнянні з цими показниками у інтактних тварин (рис. 3.9 - 3.10).

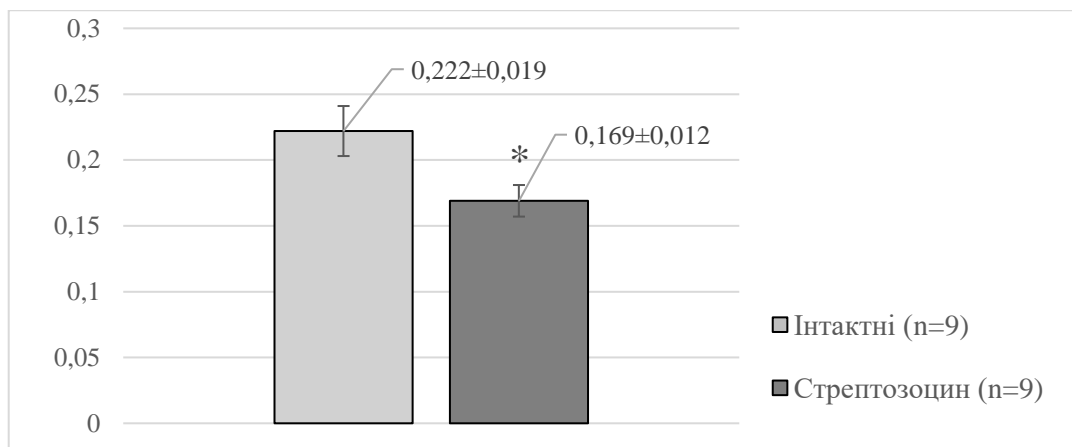


Рисунок 3.9. Вміст небілкових SH-груп у сироватці крові щурів (мкмоль  $\times$  мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* - p<0,05 – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

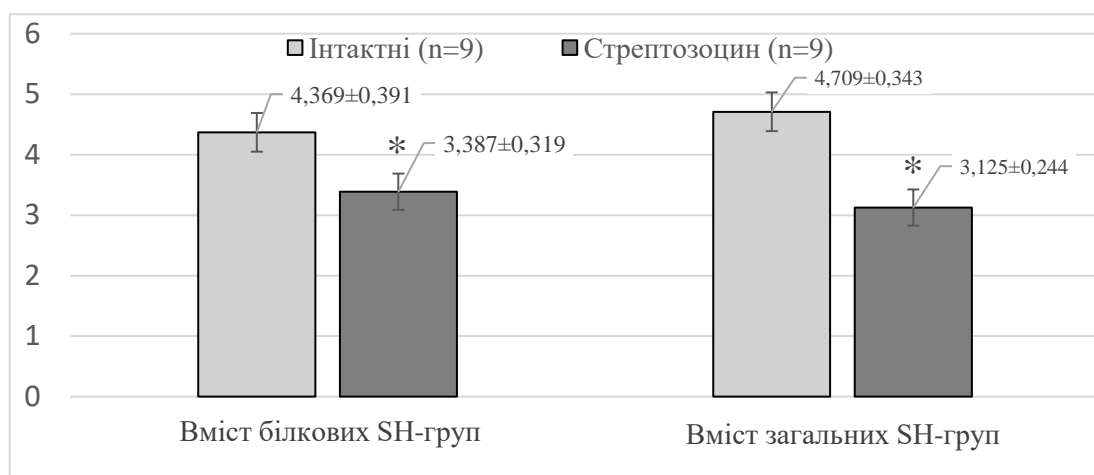


Рисунок 3.10. Вміст білкових та загальних SH-груп у сироватці крові щурів (мкмоль  $\times$  мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* - p<0,05 – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

Антиоксидантна система клітин жорстко контролює кількість вільних радикалів для підтримки природного балансу, відомого як «окисно-відновний гомеостаз». Клітинна система антиоксидантів складається з ферментативних компонентів, таких як супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, глутатіонпероксидаза та системи глутатіону, який є неферментативним антиоксидантом. Для оцінки стану антиоксидантної системи ми визначали активність СОД та каталази. Супероксиддисмутазна активність у сироватці крові інтактних щурів становила  $0,058 \pm 0,004$  ум. од.



$\times \text{хв}^{-1} \times \text{мг білка}^{-1}$  (рис. 3.11); активність каталази складала  $2,29 \pm 0,21$  нмоль
   
 $\times \text{хв}^{-1} \times \text{мг білка}^{-1}$  (рис. 3.12).

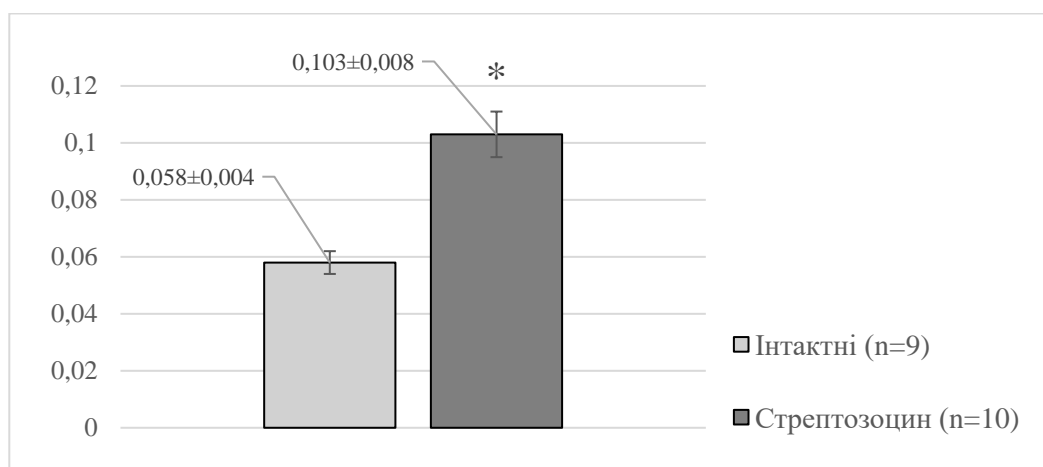


Рисунок 3.11. Активність СОД у сироватці крові щурів, (ум.од.  $\times \text{хв}^{-1} \times \text{мг білка}^{-1}$ ), ( $M \pm m$ ). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

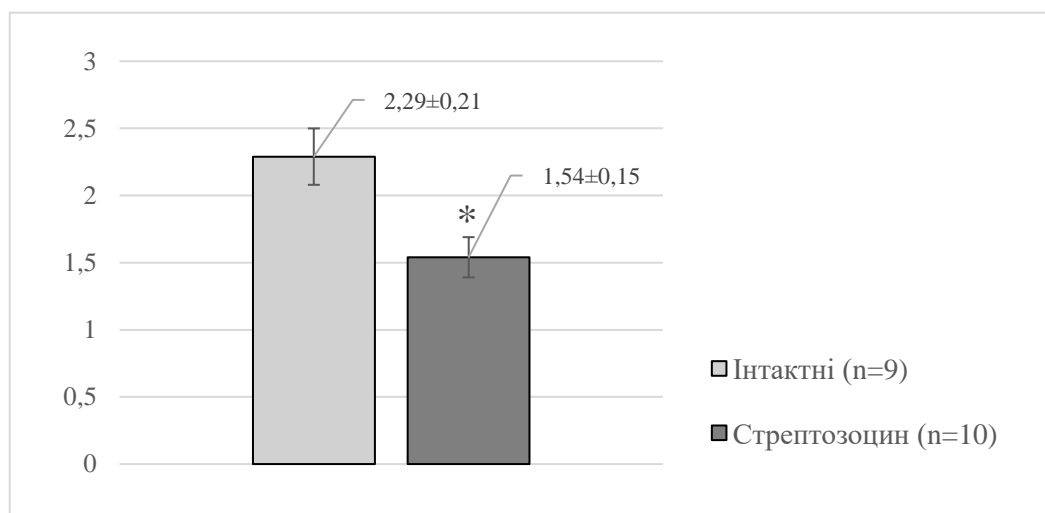


Рисунок 3.12. Активність каталази у сироватці крові щурів, (нмоль  $\times \text{хв}^{-1} \times \text{мг білка}^{-1}$ ), ( $M \pm m$ ). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

У тварин, яким індукували нейропатію шляхом введення стрептозоцину, активність СОД у сироватці крові збільшувалася у 1,78 раза, а каталазна активність знижувалася в 1,5 раза щодо контролю, що свідчить про накопичення супероксид-аніон-радикала (рис. 3.11 - 3.12).

Визначення концентрації глутатіону є важливим для оцінки окисно-антиоксидантного балансу, оскільки він є одним з основних компонентів антиоксидантної системи, який швидко мобілізується при підвищенні вмісту пероксидів та відновлює їх у реакції, що супроводжується утворенням окисненого глутатіону (GSSG). Наше дослідження глутатіонзалежної ланки антиоксидантної системи включало визначення вмісту окисненого та відновленого глутатіону та активності глутатіонзалежних ферментів: глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази й глутатіонредуктази.

Згідно наших даних, розвиток діабетичної нейропатії не впливав на рівень відновленого глутатіону у сироватці крові у щурів. За умов моделювання стрептозоцин-індукованої нейропатії рівень окисненого глутатіону у сироватці крові тварин зменшувався в 1,2 раза порівняно з контролем (рис. 3.13).

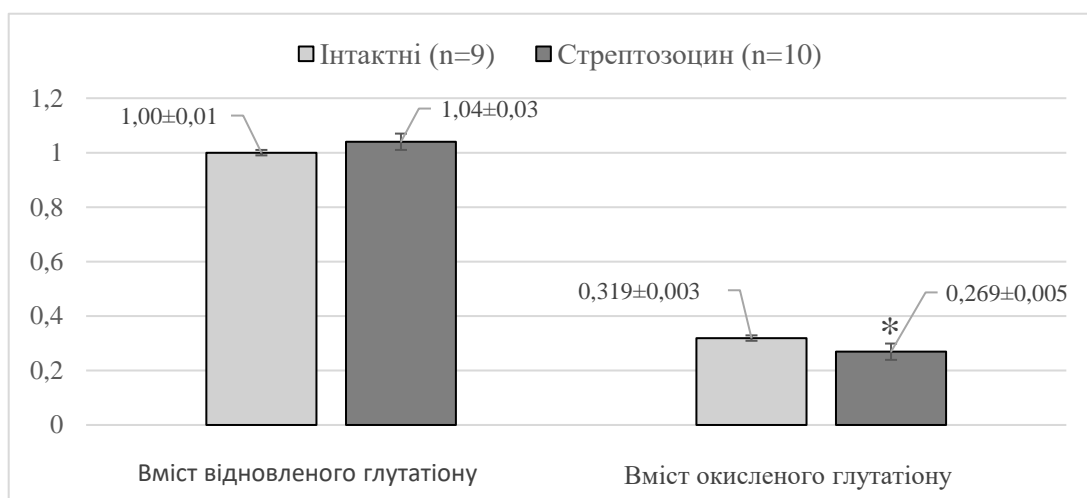


Рисунок 3.13. Вміст відновленого та окисненого глутатіону у сироватці крові щурів, (нмоль/мг білка), ( $M \pm m$ ). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

Розвиток діабетичної нейропатії у щурів супроводжувався вірогідним зниженням активності ферментів глутатіонової системи: глутатіонредуктази – у 1,7 раза (рис. 3.14), глутатіонтрансферази – в 1,12 раза (рис. 3.15), глутатіонпероксидази – у 1,5 раза порівняно з цими показниками в контролі (рис. 3.16).

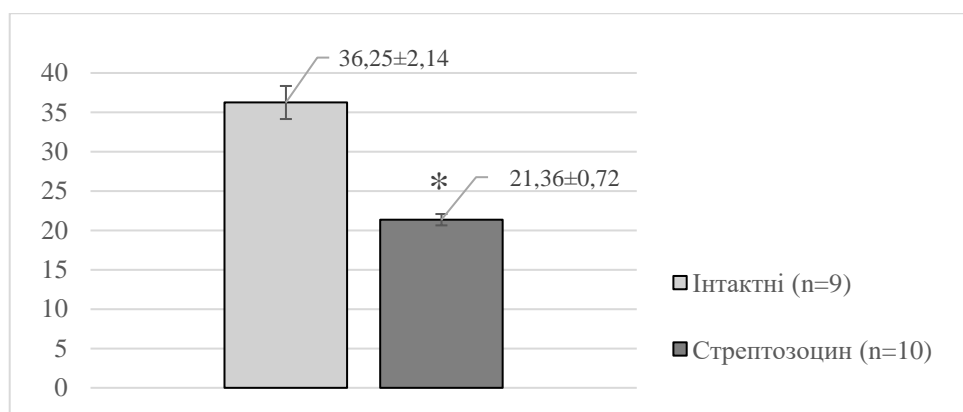


Рисунок 3.14. Активність глутатіонредуктази у сироватці крові щурів, (НАДФН/хв×мг білка), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

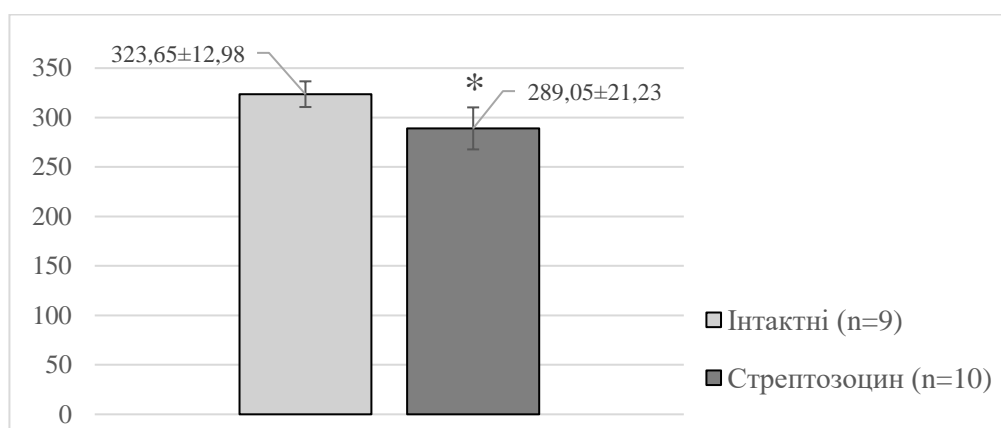


Рисунок 3.15. Активність глутатіонтрансферази у сироватці крові щурів, (нмоль/хв×мл), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

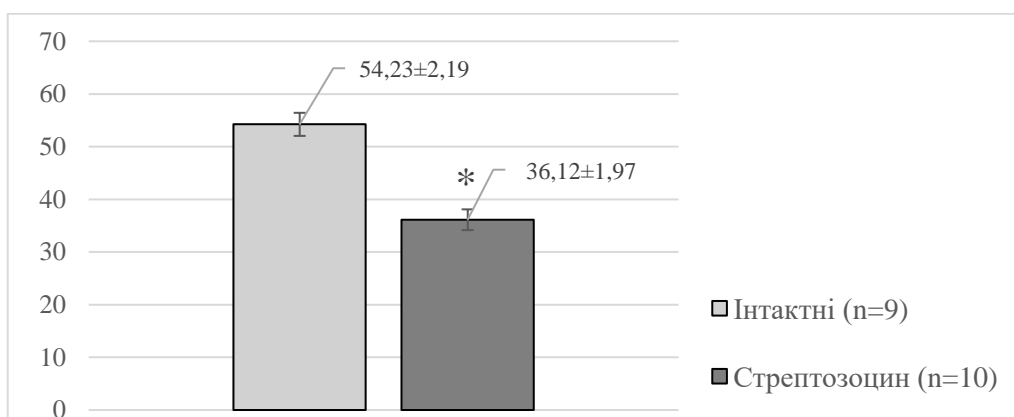


Рисунок 3.16. Активність глутатіонпероксидази у сироватці крові щурів, (GSH/хв×мл), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.



### 3.2. Баланс про- та антиоксидантної системи у сироватці крові тварин за умов паклітаксел-індукованої нейропатії

Досліджуючи вміст продуктів перекисного окислення ліпідів у сироватці крові щурів з паклітаксел-індукованою нейропатією ми встановили збільшення вмісту дієнових кон'югатів у 1,95 раза (рис. 3.17), ТБК-активних продуктів – у 2,23 раза (рис. 3.18) та шиффових основ – у 2,83 раза (рис. 3.19), порівняно з цими показниками у тварин інтактної групи [189].

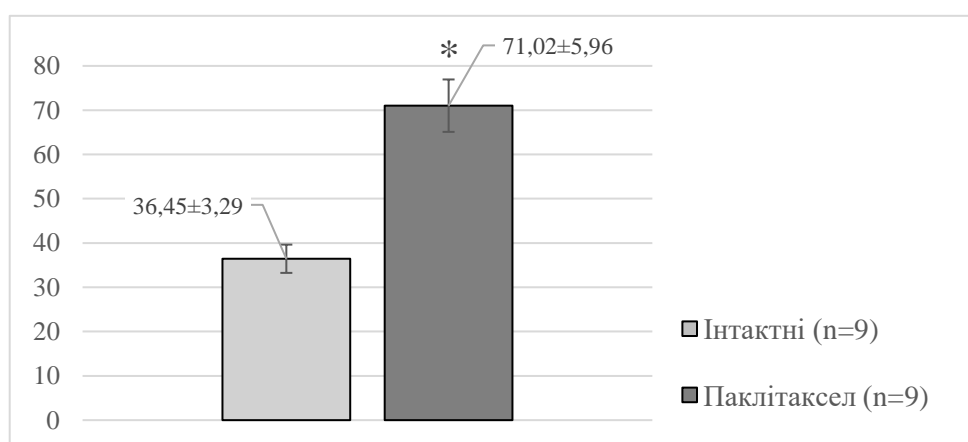


Рисунок 3.17. Вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові щурів (нмоль×мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* - p<0,05 – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

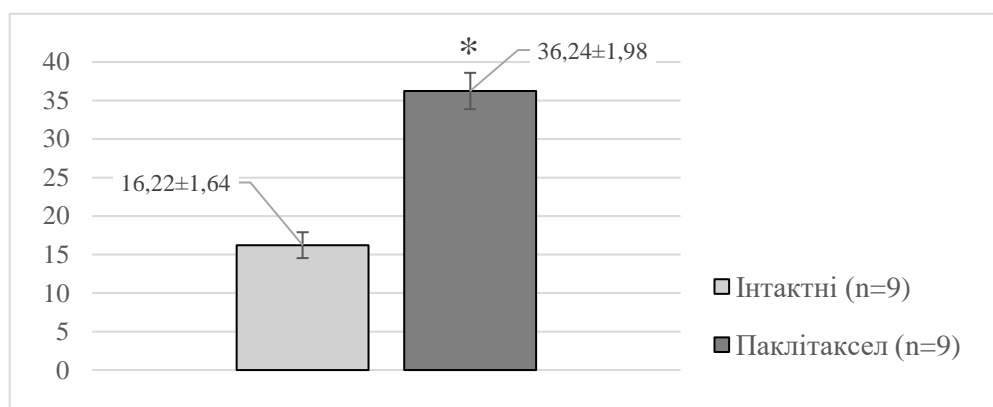


Рисунок 3.18. Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові щурів (нмоль × мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* - p<0,05 – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

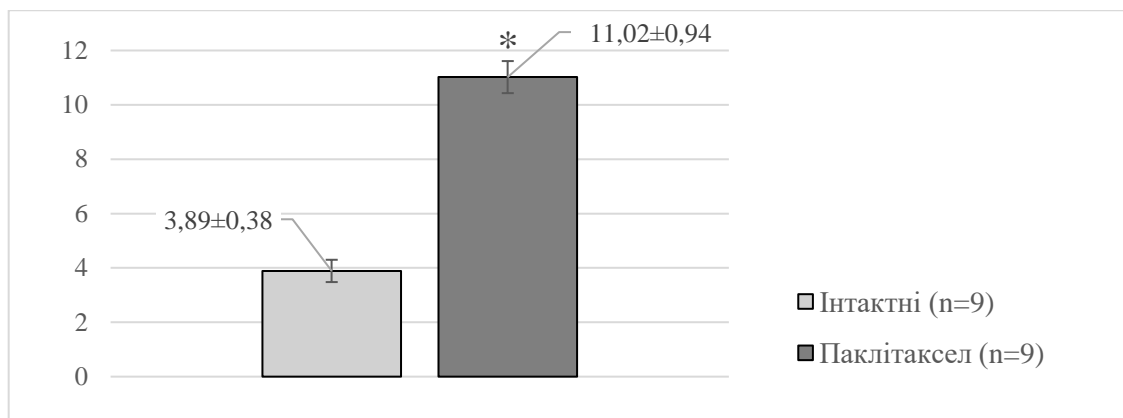


Рисунок 3.19. Вміст шиффових основ у сироватці крові щурів (ум. од.  $\times$  мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

Було показано, що при введенні щурам паклітакселу у сироватці крові зростає вміст нейтральних продуктів ОМБ: з піками поглинання на 356 нм та 370 нм збільшувався у 1,62 та 1,77 раза відповідно щодо контролю (рис. 3.20).

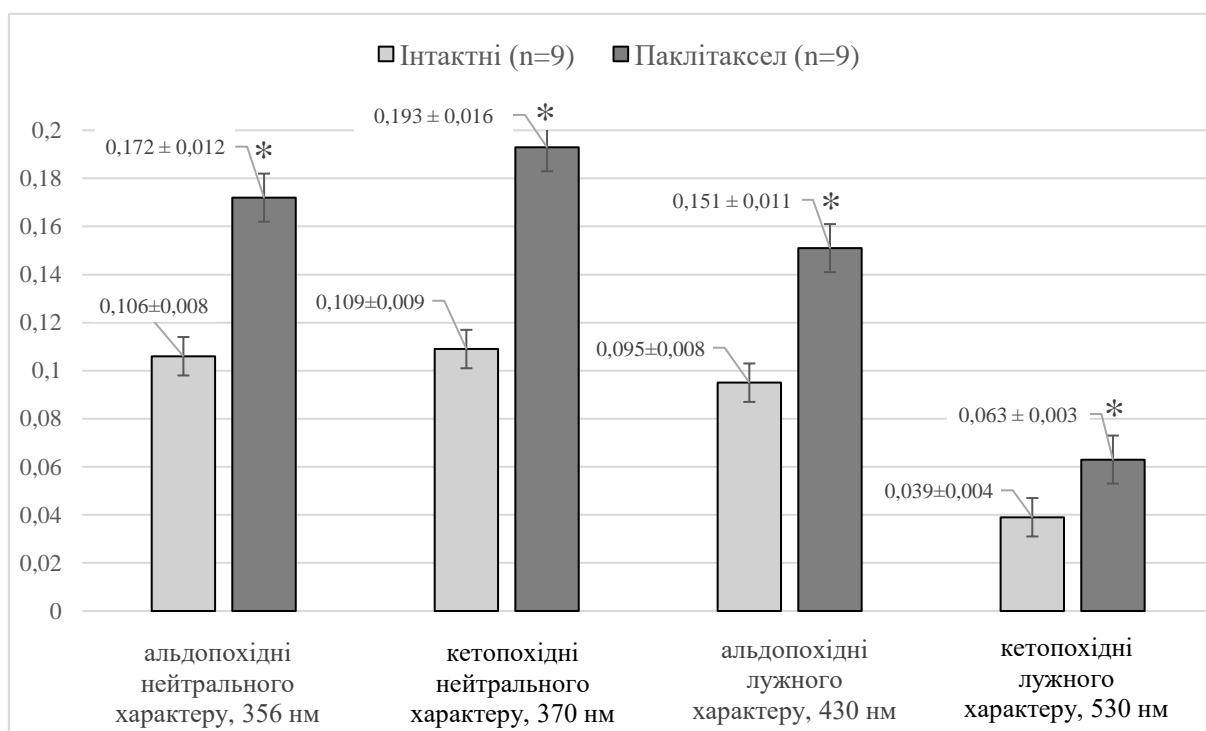


Рисунок 3.20. Вміст продуктів ОМБ у сироватці крові щурів (ум. од.  $\times$  мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

Вміст продуктів лужного характеру за умов паклітаксел-індукованої нейропатії у сироватці крові щурів зростав у 1,6 раза порівняно з контролем, як альдо-похідних, так і кето-похідних (рис. 3.20).

Показано, що у щурів, яким моделювали нейропатію введенням паклітакселу, вміст сульфгідрильних груп у сироватці крові знижувався: небілкових SH-груп – у 1,4 раза (рис. 3.21), білкових SH-груп – у 1,35 раза та загальних SH-груп – в 1,38 раза щодо контролю (рис. 3.22).

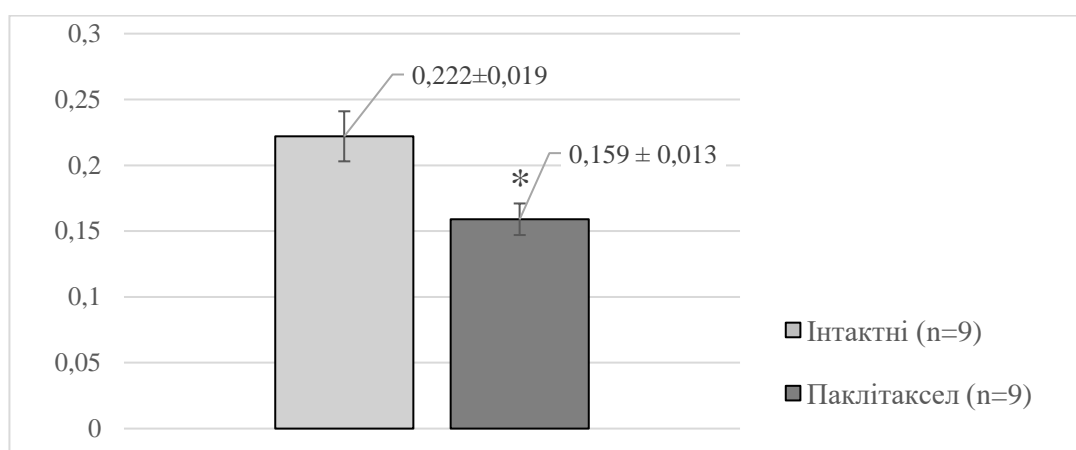


Рисунок 3.21. Вміст небілкових SH-груп у сироватці крові щурів (мкмоль × мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* - p<0,05 – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

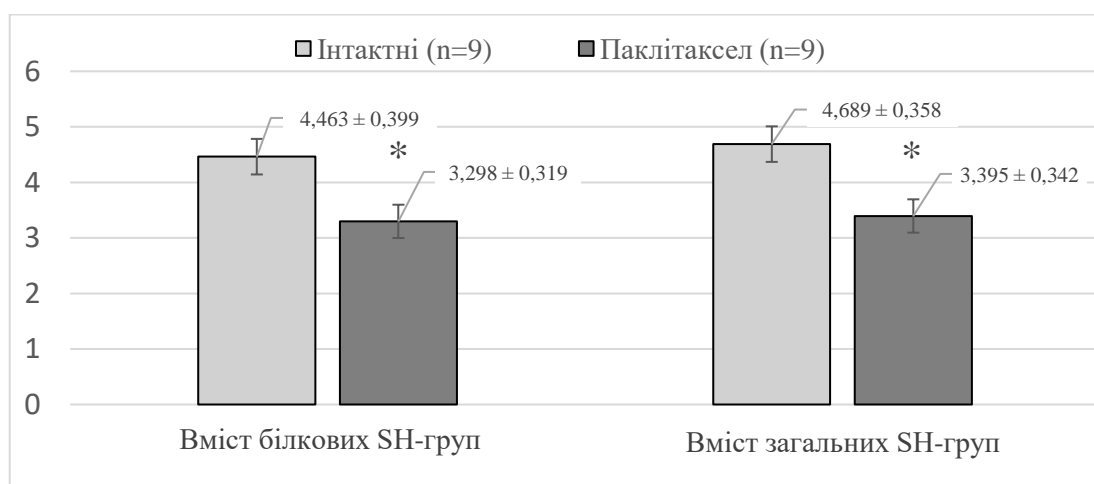


Рисунок 3.22. Вміст білкових та загальних SH-груп у сироватці крові щурів (мкмоль × мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* - p<0,05 – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.



Вимірюючи активність антиоксидантних ферментів у сироватці крові щурів з паклітаксел-індукованою нейропатією, ми встановили зниження супероксиддисмутази у 3,6 раза (рис. 3.23), а каталази – у 1,6 раза порівняно з цими показниками у контрольних тварин (рис. 3.24).

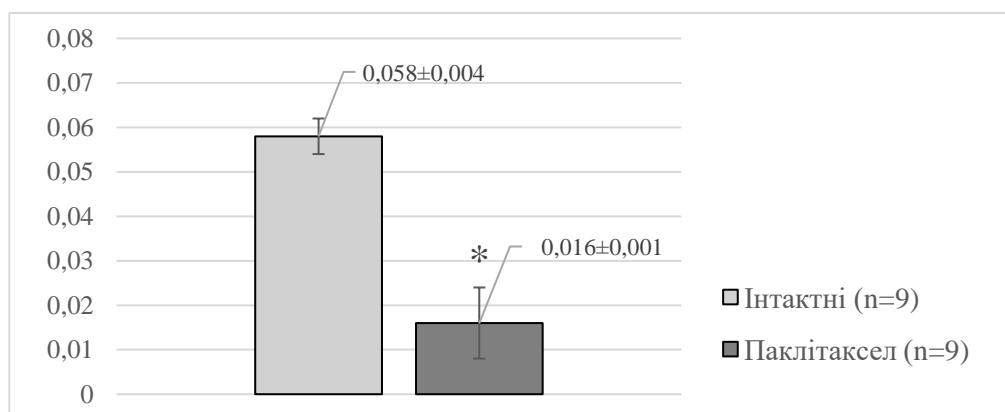


Рисунок 3.23. Активність СОД у сироватці крові щурів, (ум.од. × хв<sup>-1</sup> × мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* - p<0,05 – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

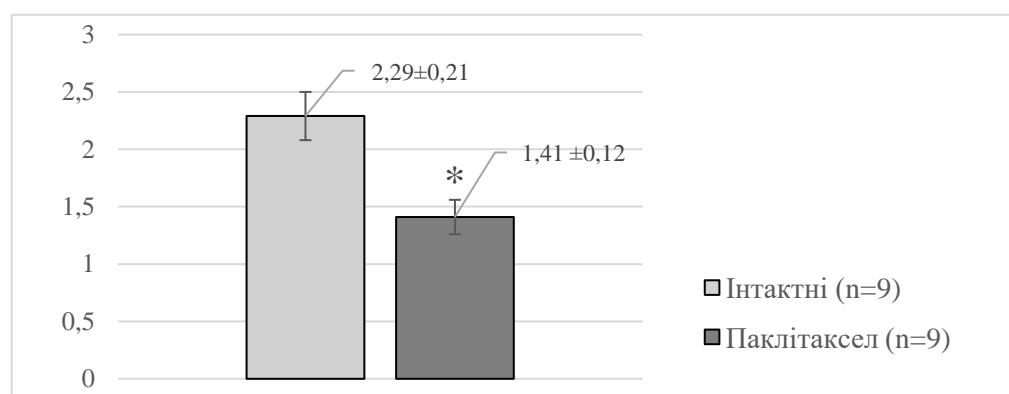


Рисунок 3.24. Активність каталази у сироватці крові щурів, (нмоль × хв<sup>-1</sup> × мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* - p<0,05 – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

Активність глутатіонредуктази в сироватці крові щурів, яким моделювали паклітаксел-індуковану нейропатію, була в 1,34 раза нижчою, ніж у контролі (рис. 3.25). Статистично достовірних змін інших показників глутатіонової системи у сироватці крові за цих умов виявлено не було (рис. 3.26 - 3.28).

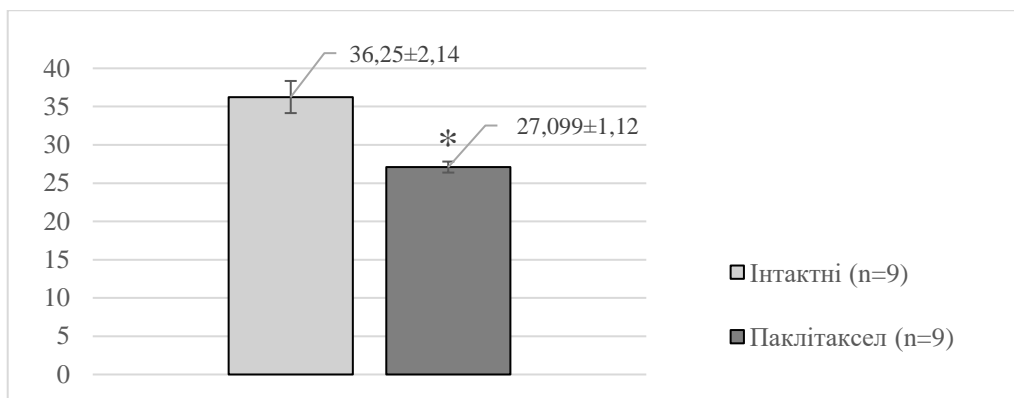


Рисунок 3.25. Активність глутатіонредуктази у сироватці крові щурів, (НАДФН/хв×мг білка), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

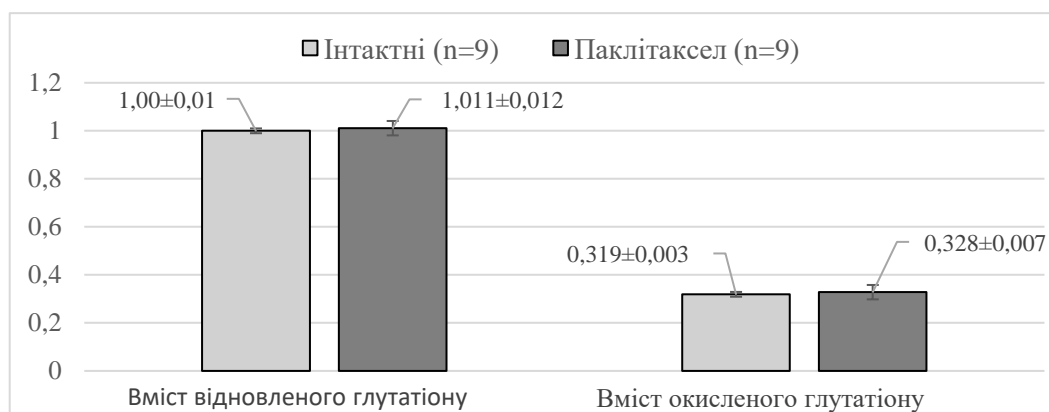


Рисунок 3.26. Вміст відновленого та окисленого глутатіону у сироватці крові щурів, (нмоль/мг білка), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

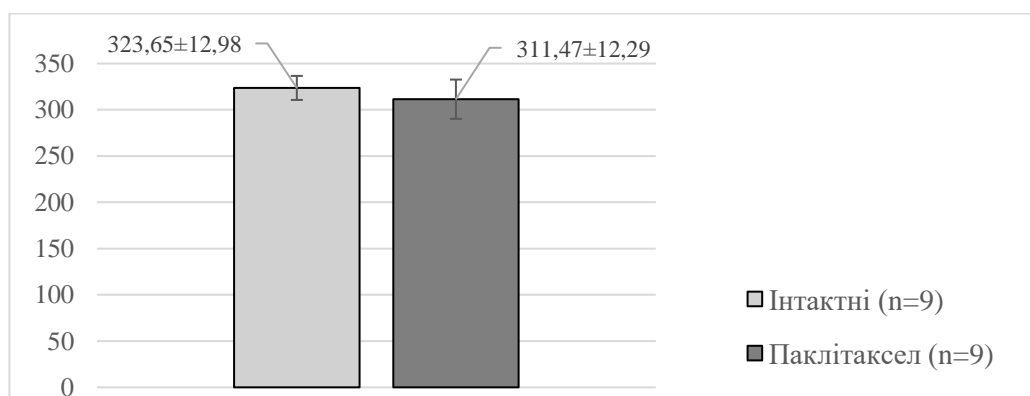


Рисунок 3.27. Активність глутатіонтрансферази у сироватці крові щурів, (нмоль/хв×мл), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.



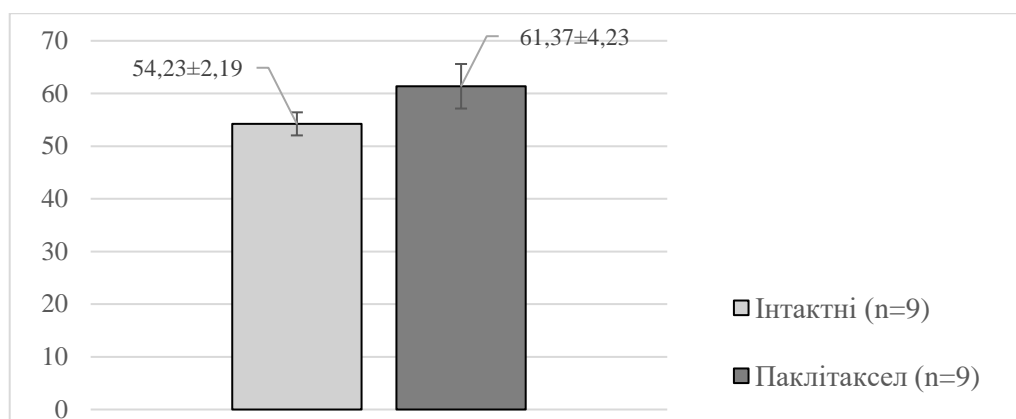


Рисунок 3.28. Активність глутатіонпероксидази у сироватці крові щурів, (GSH/xv×мл), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

### 3.3. Білоксинтетична функція слинних залоз тварин за умов нейропатій різного генезу

Відомо, що найбільшої кількості серед ензимів, що продукують великі слинні залози, є амілаза, яка відноситься до ферментів травлення вуглеводів, що гідролізують альфа-1,4-глікозидний зв'язок.

Нами було встановлено, що за умов експериментальної діабетичної нейропатії активність  $\alpha$ -амілази в піднижньощелепних та під'язикових слинних залозах щурів вірогідно зменшувалась майже вдвічі у порівнянні з інтактними тваринами (табл. 3.1) [190]. За умов моделювання паклітаксел-індукованої нейропатії амілалітична активність у слинних залозах тварин вірогідно зменшилась в 1,6 раза у порівнянні з групою інтактних щурів (табл. 3.1) [191]. Тривале введення зростаючої концентрації етилового спирту призвело до вірогідного зменшення активності саліваторної  $\alpha$ -амілази в 1,7 раза у порівнянні з інтактними тваринами (табл. 3.1) [192]. Отже, за умов розвитку стрептозоцин-, паклітаксел-індукованої та алкогольної нейропатій білоксинтетична функція слинних залоз пригнічується.



**Амілолітична активність слинних залоз тварин за умов  
нейропатій різного генезу, (M±m)**

№	Біохімічні показники	Група 1. Інтактні	Група 3. Стрептозоцин	Група 5. Паклітаксел	Група 7. Етанол	Статистичний показник
1.	Активність α-амілази, мг/с×л	38,8±4,67 (n = 10)	20,18±2,66 (n = 11)	23,75±1,61 (n = 25)	22,83±1,78 (n = 5)	P <sub>1-3</sub> <0,05 P <sub>1-5</sub> <0,05 P <sub>1-7</sub> <0,05

Примітка:  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами.

На нашу думку, зменшення амілолітичної активності слинних залоз тварин за умов моделювання нейропатій різного генезу пов'язано з пригніченням білоксинтетичної функції та за рахунок конформаційних змін ферменту, які виникають під впливом високо реакційноздатних продуктів ПОЛ.

#### **3.4. Баланс про- та антиоксидантної системи у слинних залозах тварин за умов нейропатій різного генезу**

Відомо, що продукти вільнорадикального окиснення ліпідів є біомаркерами ушкодження клітин, оскільки за їх вмістом можна оцінити інтенсивність перебігу вільнорадикальних процесів та ступінь розвитку оксидативного стресу.

Первинні продукти перекисного окиснення ліпідів (гідропероксиди ліпідів, дієнові кон'югати) є нестійкими сполуками, які досить швидко метаболізують з утворенням вторинних більш стабільних продуктів ліпопероксидації, вміст яких визначають для оцінки прооксидантної системи. Серед них одним із найбільш чутливих маркерів перекисного



окиснення ліпідів та оксидативного стресу є малоновий діальдегід – вторинний продукт окиснення полієнових вищих жирних кислот цитоплазматичної мембрани клітин, який утворюється в результаті їх окисної деградації активними формами кисню. Однак, реакцію з тіобарбітуровою кислотою дає не лише малоновий діальдегід, а й інші речовини, які утворюються в процесах ліпопероксидації, тому ми визначали саме вміст ТБК-активних продуктів.

Пероксиди жирних кислот нестабільні, в результаті розриву вуглець-вуглецевого зв'язку вони утворюють високореактивні, токсичні альдегіди, які не тільки володіють мембранодеструктивним впливом, на відміну від вільних радикалів, але є більш стабільними та легко дифундують на великі відстані і сприяють ковалентній модифікації біомолекул. На теперішній час цитотоксична дія надлишку карбонільних сполук є експериментально підтвердженою [193].

Протеїни є теж чутливими мішенями для впливу активних форм кисню та азоту, що призводить до зміни їх просторової організації, агрегації та фрагментації. Інтегральним показником розвитку карбонільного стресу є вміст окисномодифікованих білків (ОМБ). Вільні радикали (наприклад,  $\text{HO}^\bullet$ ,  $\text{CO}_3^\bullet$ ,  $\text{NO}_2^\bullet$ ,  $\text{ROO}^\bullet$ ,  $\text{RO}^\bullet$ ,  $\text{R}^\bullet$  та багато інших), двоелектронні окислювачі (наприклад, пероксиди,  $\text{O}_2$ ,  $\text{O}_3$ ,  $\text{ONOOH}$ ,  $\text{HOCl}$  та споріднені види), і метал-оксокомплекси можуть модифікувати білки. Реакції вторинних продуктів, таких як альдегіди, хінони та ін., є додатковим джерелом модифікацій. Разом вони створюють широкий спектр посттрансляційних модифікацій, які змінюють амінокислотний склад і структуру білків, заряд, гідрофобність/гідрофільність, згортання та функції [194]. Ступінь пошкодження білка залежить від амінокислотного складу, нативної природи, тобто доступністю залишків амінокислот до активних форм кисню, вплив яких може бути різним, наприклад, гідроксил-радикал викликає агрегацію протеїнів, а супероксид-аніон-радикал викликає здебільшого фрагментацію протеїнів. Вважається, що ОМБ є одним з ранніх і найбільш надійних



біомаркерів ушкодження клітин за вільнорадикальної патології. Посилення вільнорадикальних процесів супроводжується порушенням структури та функцій біомембран, зокрема мембран лізосом, що призводить до вивільнення лізосомальних ферментів. Надмірна активація протеолітичних ферментів супроводжується збільшенням вмісту середніх молекул, що є інтегративним показником ендогенної інтоксикації та патологічного білкового обміну.

Стан показників карбонільно-окислювального стресу у слинних залозах щурів оцінювали за вмістом ТБК-реактивних, вмістом ОМБ, які є показниками проокислювальних змін та активністю каталази, як ключового антиоксидантного фермента.

Нами встановлено, що за умов відтворення стрептозоцин-індукованої нейропатії карбонільно-окислювальний стрес у великих слинних залозах щурів не розвивається, що підтверджує відсутність достовірних змін вмісту окислювано-модифікованих протеїнів порівняно з інтактними тваринами (табл. 3.2). Аналізуючи вміст молекул середньої маси за умов розвитку діабетичної нейропатії ми встановили його вірогідне зростання на 8,8% порівняно із групою інтактних тварин (табл. 3.2). Вміст ТБК-активних продуктів у піднижньощелепних та під'язикових залозах щурів за цих умов вірогідно збільшився на 105% у порівнянні з цим показником у інтактних тварин (табл. 3.2), що свідчить про активацію перекисного окиснення ліпідів. Достовірне збільшення активності каталази на 13,5% (табл. 3.2) свідчить про підвищення антирадикального захисту слинних залоз тварин за умов стрептозоцин-індукованої нейропатії. Отже, за умов діабетичної нейропатії про- та антиоксидантна системи слинних залоз тварин має компенсаторний характер, про що свідчить відсутність статистично значущих змін вмісту ОМБ на тлі вірогідного зростання каталази [190].

Аналізуючи розвиток карбонільно-окислювального стресу у піднижньощелепних та під'язикових слинних залозах тварин за умов паклітаксел-індукованої нейропатії, ми встановили достовірне зростання



вмісту окисно-модифікованих білків на 35%, молекул середньої маси – на 41% та на 126% – вмісту ТБК-реактантів порівняно з цими показниками у інтактних тварин (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Показники оксидативного стресу в слинних залозах тварин за умов нейропатій різного генезу, (M±m)**

№	Біохімічні показники	Група 1. Інтактні	Група 3. Стрептозоцин	Група 5. Паклітаксел	Група 7. Етанол	Статистичний показник
1.	Вміст ТБК-реактантів, мкмоль/г	4,25±0,72 (n = 15)	8,72±1,16 (n = 11)	9,62±1,14 (n = 18)	5,87±0,47 (n = 5)	P <sub>1-3</sub> <0,01 P <sub>1-5</sub> <0,001 P <sub>1-7</sub> <0,05
2.	Вміст молекул середньої маси, у.о.	0,294±0,003 (n = 8)	0,32± 0,009 (n = 11)	0,414±0,019 (n = 25)	0,390±0,021 (n = 5)	P <sub>1-3</sub> <0,05 P <sub>1-5</sub> <0,001 P <sub>1-7</sub> <0,05 P <sub>3-5</sub> <0,01
3.	Уміст ОМБ, у.о.	0,34±0,02 (n = 10)	0,37± 0,03 (n = 11)	0,46±0,03 (n = 26)	1,20±0,14 (n = 5)	P <sub>1-3</sub> >0,05 P <sub>1-5</sub> <0,05 P <sub>1-7</sub> <0,05 P <sub>3-5</sub> <0,05 P <sub>3-7</sub> <0,01 P <sub>5-7</sub> <0,01
4.	Активність каталази, мккат/г×хв	0,74±0,034 (n = 10)	0,88± 0,05 (n = 11)	0,35±0,047 (n = 18)	0,68±0,06 (n = 6)	P <sub>1-3</sub> <0,05 P <sub>1-5</sub> <0,0001 P <sub>1-7</sub> >0,05 P <sub>3-5</sub> <0,0001 P <sub>3-7</sub> <0,05 P <sub>5-7</sub> <0,01

Активність каталази у слинних залозах тварин за цих умов вірогідно зменшувалась удвічі порівняно з інтактними (табл. 3.2). Таким чином, прота антиоксидантна системи слинних залоз тварин за умов розвитку токсичної нейропатії має декомпенсаторний характер, про що свідчить зростання прооксидантів на тлі вірогідного зменшення каталази [191].



За умов розвитку алкогольної нейропатії ми встановили у слинних залозах тварин вірогідне зростання вмісту окисно-модифікованих білків у 3,5 раза (на 253%), ТБК-активних продуктів у 1,4 раза (на 38%), вмісту молекул середньої маси у 1,3 раза (на 32,6%) на тлі статистично не зміненої активності каталази порівняно з цими показниками у інтактних щурів (табл. 3.2). Отже, за умов довготривалого введення етилового спирту тваринам у великих слинних залозах виникає дисбаланс про- та антиоксидантної системи: зростання прооксидантів на тлі незміненого антирадикального захисту [192].

Вміст ОМБ у тканинах слинних залоз був найвищим у тварин, яким моделювали алкогольну нейропатію (табл. 3.2) і вірогідно перевищував цей показник у 3,24 та 2,6 раза у щурів зі стрептозоцин- та паклітаксел-індукованою нейропатією відповідно. Вміст ОМБ у щурів, яким вводили паклітаксел, був у 1,24 раза вищим, ніж за умов введення стрептозоцину. Таким чином, алкогольна нейропатія викликає розвиток карбонільно-оксидативного стресу у великих слинних залозах більш інтенсивно у порівнянні з цим за умов паклітаксел-індукованої та діабетичної нейропатії.

Вірогідна різниця вмісту молекул середньої маси у слинних залозах була встановлена між групами щурів з паклітаксел-індукованою та стрептозоцин-індукованою нейропатією. За умов відтворення паклітаксел-індукованої нейропатії цей показник був вищим у 1,3 раза порівняно з тваринами, яким моделювали діабетичну нейропатію.

Найвищою активність каталази у слинних залозах тварин була за умов розвитку діабетичної нейропатії (табл. 3.2), вірогідно у 2,5 раза вищою у порівнянні з щурами, яким робили ін'єкції паклітакселу, та у 1,3 раза вищою порівняно з щурами із алкогольною нейропатією. За умов тривалої алкоголізації тварин активність каталази була вірогідно у 1,9 раза вище у порівнянні з групою тварин, яким моделювали паклітаксел-індуковану нейропатію.



Таким чином, за умов відтворення експериментальної діабетичної нейропатії у тканинах піднижньощелепних та під'язикових слинних залоз щурів активуються процеси перекисного окиснення ліпідів на тлі зростання антирадикального захисту, що свідчить про компенсаторний баланс про- та антиоксидантної системи. Відтворення паклітаксел-індукованої нейропатії супроводжується розвитком карбонільно-оксидативного стресу у слинних залозах щурів. За умов тривалої алкоголізації тварин у слинних залозах спостерігається розвиток дисбалансу про- та антиоксидантної системи.

### **3.5. Протеїназно-інгібіторний потенціал слинних залоз щурів за умов нейропатій різного генезу**

Протеїназно-інгібіторний баланс великих слинних залоз тварин аналізували на підставі визначення загальної протеолітичної активності та антитриптичної активності. Відомо, що слинні залози продукують велику кількість інгібіторів протеолітичних ферментів.

Аналізуючи загальну антитриптичну активність в слинних залозах щурів, встановлено її вірогідне зростання у 2,75 раза за умов стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії та у 1,71 раза за умов паклітаксел-індукованої нейропатії порівняно з цими показниками у інтактних тварин (табл. 3.3) [190,191]. Вірогідних змін загальної антитриптичної активності у тканинах слинних залоз щурів за умов розвитку алкогольної нейропатії не було виявлено (табл. 3.3) [192].

Загальна антитриптична активність в слинних залозах щурів за умов діабетичної нейропатії була вірогідно вищою у 1,6 та у 2,5 раза порівняно з тваринами, яким моделювали паклітаксел-індуковану та алкогольну нейропатію відповідно (табл. 3.3).



**Загальна протеолітична та антитриптична активність слинних залоз тварин за умов нейропатії різного генезу, ( $M \pm m$ )**

№	Біохімічні показники	Група 1. Інтактні	Група 3. Стрептозоцин	Група 5. Паклітаксел	Група 7. Етанол	Статистичний показник
1.	Загальна протеолітична активність, мкг/г×хв	3,33±0,06 (n = 9)	3,24±0,1 (n = 11)	2,79±0,19 (n = 25)	3,11±0,42 (n = 5)	$P_{1-3} > 0,05$ $P_{1-5} > 0,05$ $P_{1-7} > 0,05$
2.	Загальна антитриптична активність, г/кг	32,64±1,74 (n = 9)	89,77±7,01 (n = 11)	55,94±6,53 (n = 20)	36,25±5,38 (n = 5)	$P_{1-3} < 0,0001$ $P_{1-5} < 0,05$ $P_{1-7} > 0,05$ $P_{3-5} < 0,01$ $P_{3-7} < 0,01$

Статистично достовірних змін загальної протеолітичної активності в слинних залозах тварин усіх досліджуваних груп за умов нейропатій різного генезу не виявлено (табл. 3.3).

Отже, за введення паклітакселу та стрептозоцину у слинних залозах тварин спостерігаються зміни протеїназно-інгібіторного балансу за компенсаторним типом. Алкоголізація тварин не викликає змін протеїназно-інгібіторного балансу слинних залоз тварин.

### 3.6. Патоморфологічні зміни у слинних залозах тварин за умов нейропатій

За загальними принципами структурної організації піднижньощелепна залоза щурів відповідає такій у людини і має часточкову будову. Паренхіма складалась з численних кінцевих відділів, які виробляли серомукозний секрет, і системи вивідних проток.

Строма була утворена пухкою сполучною тканиною. Гемомікроциркуляторне русло часточок було представлене артеріолами, капілярами і венулами. У складі епітелію проток визначались





інтраепітеліальні лімфоцити, у пухкій перипротоковій сполучній тканині – лімфоцити, макрофаги, плазмоцити і мастоцити, периацінарно – плазмоцити (рис. 3.29).

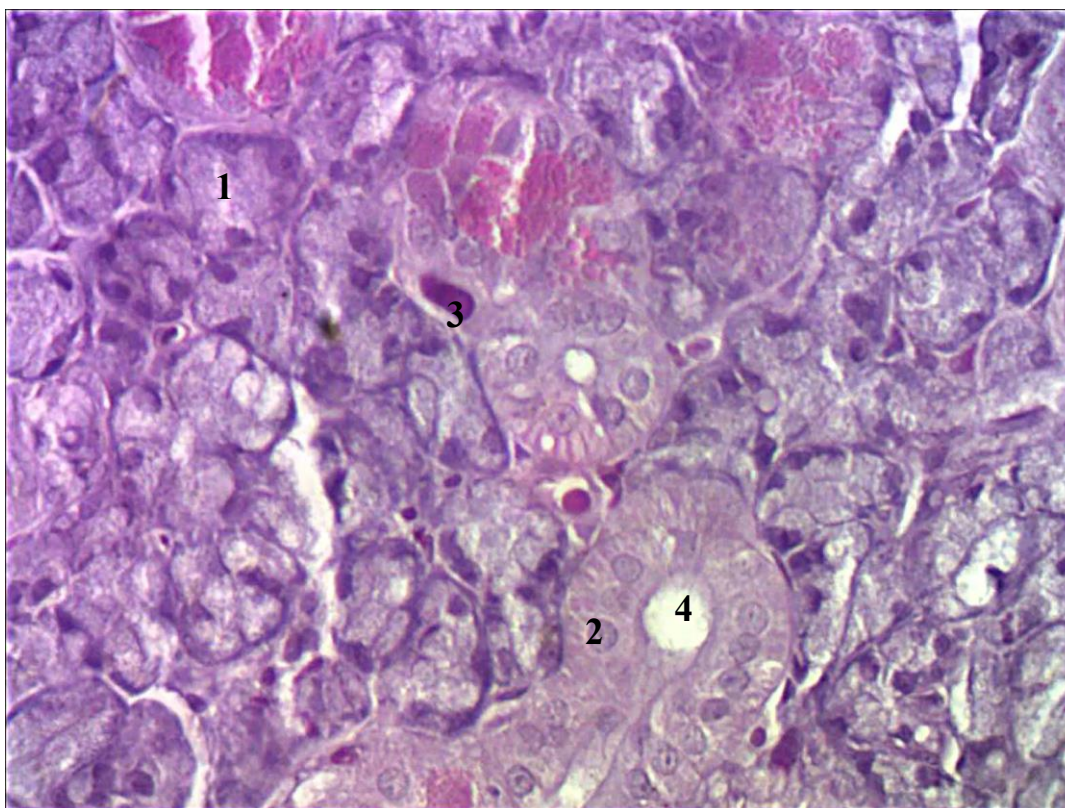


Рисунок 3.29. Піднижньощелепна слинна залоза щура контрольної групи. Парафіновий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення: Ок. 10, Об. 40.

- 1 – кінцевий відділ;
- 2 – епітеліоцит посмугової протоки;
- 3 – капіляр;
- 4 – просвіт посмугової протоки.

За умов стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії у тканинах слинних залоз щурів відмічався периацінарний набряк, десквамація епітеліоцитів, ущільнення цитоплазми окремих клітин (рис. 3.30) [195].

У протоковій системі виявлялись дистрофічні та деструктивні зміни. Спостерігався набряк перипротокової сполучної тканини та збільшення у



0108199708957692

ній кількості клітин лейкоцитарного ряду, поява інтраепітеліальних лейкоцитів (рис. 3.31).

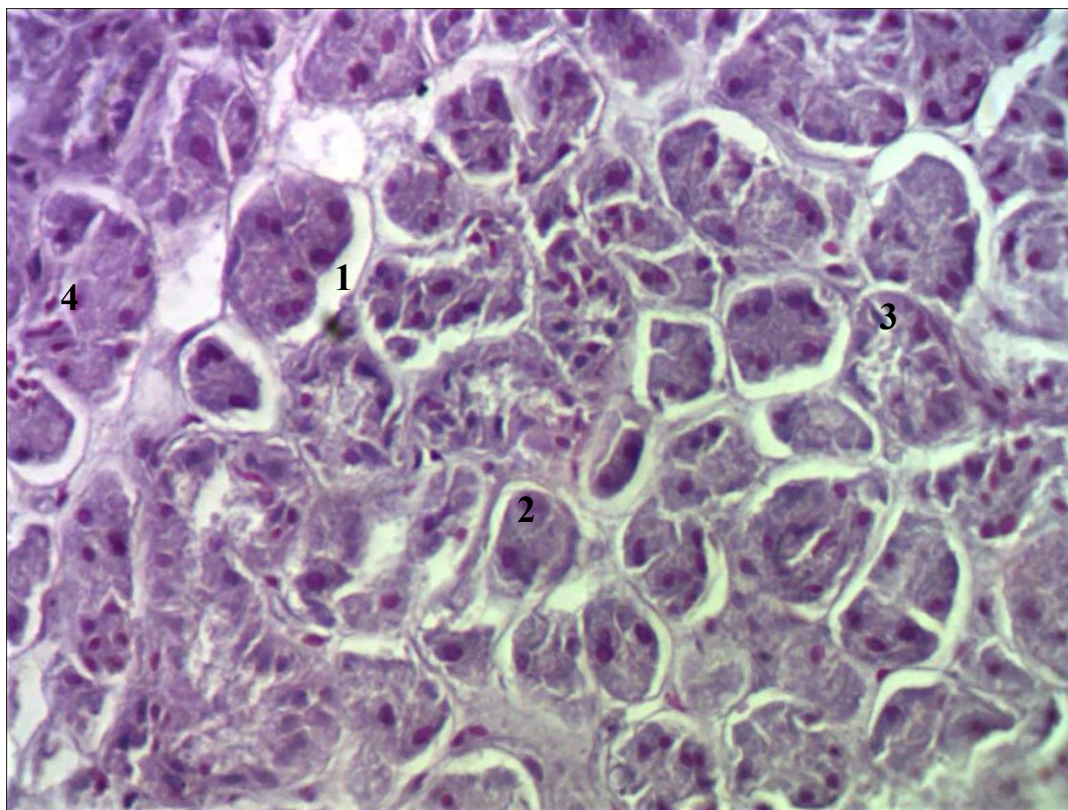


Рисунок 3.30. Периацинарний набряк та дистрофічні зміни епітеліоцитів у піднижньощелепній слинній залозі щура за умов стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії. Парафіновий зріз. Забарвлення: гематоксилин-еозин. Збільшення: Ок. 10, Об. 40.

- 1 – периацінарний набряк;
- 2 – ядро екзокриноцита кінцевого відділу;
- 3 – десквамація епітелію посмугової протоки;
- 4 – просвіт кінцевого відділу.

Перфузія крові в артеріолах була збережена. В просвітах формені елементи не визначалися. Просвіти венул мали неправильну форму за рахунок здавлення набряковою рідиною. В просвітах капілярів еритроцити не виявлялися (рис. 3.31).



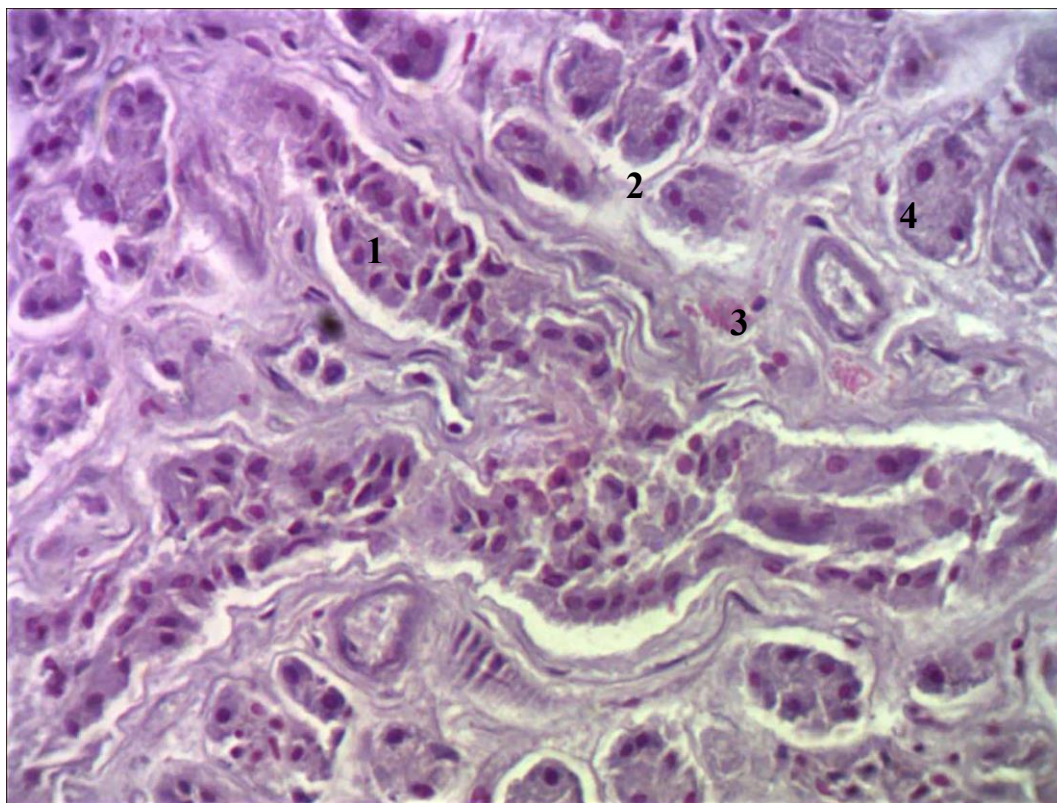


Рисунок 3.31. Десквамація епітеліоцитів та запусіння капілярів у піднижньощелепній слинній залозі щура за умов стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії. Парафіновий зріз. Забарвлення: гематоксилин-еозин. Збільшення: Ок. 10, Об. 40.

- 1 – десквамація епітелію;
- 2 – периацинарний набряк;
- 3 – капіляр;
- 4 –кінцевий відділ.

### **Висновки розділу:**

1. За умов введення паклітакселу, стрептозоцину та тривалої алкоголізації щурів пригнічується амілолітична активність великих слинних залоз у порівнянні з інтактними тваринами, що свідчить про зменшення білоксинтетичної функції та/або конформацію ензима за рахунок активації оксидативного стресу, що викликає окисну модифікацію протеїнів.



2. Баланс про- та антиоксидантної системи слинних залоз тварин за умов розвитку паклітаксел-індукованої нейропатії має декомпенсаторний характер, про що свідчить зростання прооксидантів на тлі вірогідного зменшення активності каталази.

3. За умов діабетичної нейропатії баланс про- та антиоксидантної системи великих слинних залоз тварин має компенсаторний характер, про що свідчить відсутність статистично значущих змін вмісту ОМБ на тлі вірогідного зростання каталази.

4. За умов моделювання алкогольної нейропатії тваринам у великих слинних залозах виникає дисбаланс про- та антиоксидантної системи: зростання прооксидантів на тлі незміненого антирадикального захисту.

5. Максимальний розвиток карбонільно-оксидативного стресу у слинних залозах тварин спостерігали за умов алкогольної нейропатії у порівнянні із стрептозоцин- та паклітаксел-індукованою нейропатіями.

6. Стрептозоцин-індукована діабетична нейропатія призводить до змін паренхіматозних компонентів у часточках піднижньощелепних слинних залоз щурів, що проявлялось дистрофічними і деструктивними змінами епітеліоцитів кінцевих відділів і проток та перфузії крові у судинах гемомікроциркуляторного русла.

**Матеріали даного розділу викладені в наступних публікаціях:**

1. Kotvytska AA, Tykhonovych KV, Kryvoruchko TD, Neporada KS, Beregovyi SM. Paclitaxel-induced neuropathy induces changes in oral cavity organs of rats. Regul. Mech. Biosyst. 2023Feb.7;14(1):102-5. <https://medicine.dp.ua/index.php/med/article/view/862>
2. Тихонович КВ, Криворучко ТД, Береговий СМ, Непорада КС. Вплив стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії на слинні залози щурів. Вісн. проблем біології та медицини. 2021;4(162):194-8.



3. Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС, Береговий СМ. Корекція нейротоксичності та патологічних змін у слинних залозах тварин за умов алкогольної нейропатії. Вісн. мед. і біол. дослідж. 14 груд. 2022;(4):63-7. <https://doi.org/10.11603/bmbr.2706-6290.2022.4.13222>
4. Tykhonovych KV, Naporada KS, Yeroshenko GA. Pathomorphological changes in salivary glands of rats under the condition of diabetic neuropathy and correction. World Med Biol. 2023;19(83):229. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-1-83-229-232>
5. Tykhonovych KV, KotvytskaAA, Beregovyi SM, NaporadaKS. DEVELOPMENT OF PATHOLOGICAL CHANGES IN THE ORAL CAVITY ORGANS OF ANIMALS UNDER CONDITIONS OF POLYNEUROPATHIES OF DIFFERENT GENESIS. Med. and Ecol. probl.2023Dec.29;27(5-6):31-4. <https://doi.org/10.31718/mep.2023.27.5-6.05>



## РОЗДІЛ IV

**ВПЛИВ КОМПЛЕКСУ КОКАРБОКСИЛАЗИ, НІКОТИНАМІДУ,  
ЦІАНОКОБАЛАМІНУ ТА АТФ НА ПАТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У  
СЛИННИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ТА СИРОВАТЦІ КРОВІ ЗА УМОВ  
НЕЙРОПАТІЇ****4.1. Аналіз біохімічних показників у сироватці крові та слинних залозах тварин за умов введення комплексу вітамінів та АТФ на тлі стрептозоцин-індукованої нейропатії**

Згідно літературних даних, вітаміни групи В (тіамін, кобаламін, піридоксин) можуть створювати необхідні умови для успішної регенерації нервів за рахунок активації енергетичних процесів, антиоксидантній дії, та безпосередньої участі у ремієлінізації та підтримці мієлінових оболонки нервових волокон, а також значною мірою сприяють виживанню нервових клітин, запобігаючи апоптотичній та некротичній загибелі клітин [136,144,149,196,197].

Як додатковий варіант патогенетично обґрунтованої фармакотерапії діабетичної нейропатії застосовують вітаміни групи В. Позитивний вплив вітамінів заснований на їхній дії безпосередньо на механізми, що визначають контроль болю, оскільки вони мають антиноцицептивний та антигіпералгічний ефект. Експериментальні дослідження [137,138] продемонстрували, що комплекс вітамінів В1, В6 і В12 при лікуванні периферійної діабетичної нейропатії є ефективнішим, ніж окремі вітаміни групи В, що також підтверджують клінічні випробування [139, 151].

Ми встановили, що введення стрептозоцину щурам призводило до розвитку периферійної діабетичної нейропатії, проявом якої було зростання порогу больової чутливості. Після 9-денного введення комплексу, що містив динатрію аденозинтрифосфату тригідрат, кокарбоксилазу, ціанокобаламін та нікотинамід, ПБЧ був на  $109,2 \pm 3,4\%$  ( $p < 0,001$ ) нижчим, ніж у щурів з

експериментальною діабетичною нейропатією без корекції на 40-й день дослідження та не відрізнявся від рівня ПБЧ у інтактних щурів (рис.4.1).

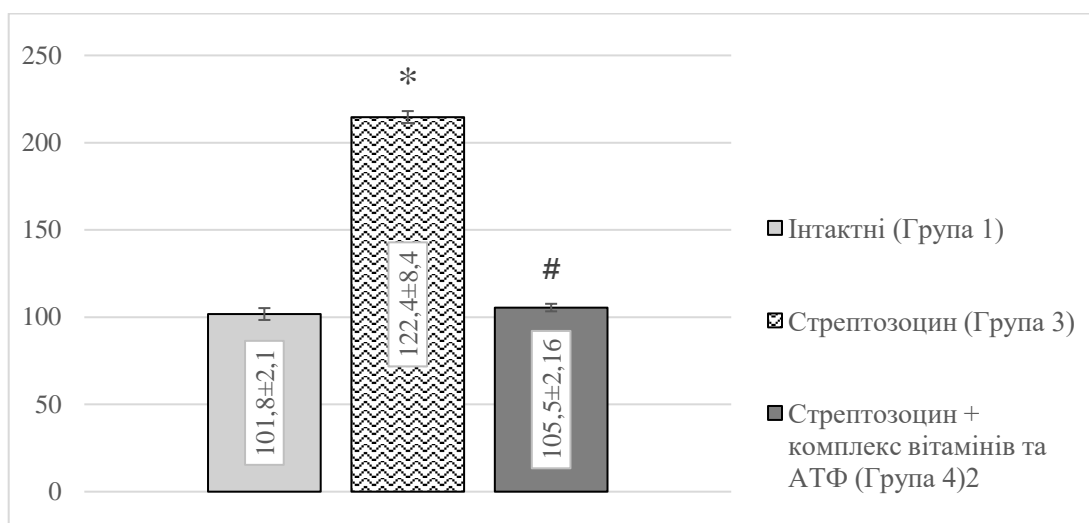


Рисунок 4.1. Поріг больової чутливості (%) за тензоалгометричним методом Randall-Selitto, у щурів у 40-й день дослідження.

Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,01$  – у порівнянні зі щурами із стрептозоцин-індукованою нейропатією у відповідний день дослідження.

Отже, згідно наших даних, введення вітамінів групи В та АТФ протягом 9 днів відновлює больову чутливість у щурів із діабетичною нейропатією до рівня, який був визначений перед моделюванням цукрового діабету.

Розвиток стрептозоцин-індукованої нейропатії у щурів супроводжувався накопиченням продуктів перекисного окислення ліпідів у сироватці крові. Так, у тварин, яким моделювали діабетичну нейропатію у сироватці крові встановлено зростання вмісту дієнових кон'югатів, ТБК-реактантів та Шифових основ порівняно з інтактними тваринами. 9-денне введення мультивітамінного комплексу призводило до зниження рівня первинних продуктів у 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) (рис.4.2), вторинних – у 1,2 раза ( $p < 0,05$ ) (рис.4.3) та кінцевих продуктів ПОЛ – у 1,55 раза ( $p < 0,05$ ) (рис.4.4)



порівняно з цими показниками у тварин, яким вводили стрептозоцин без корекції.

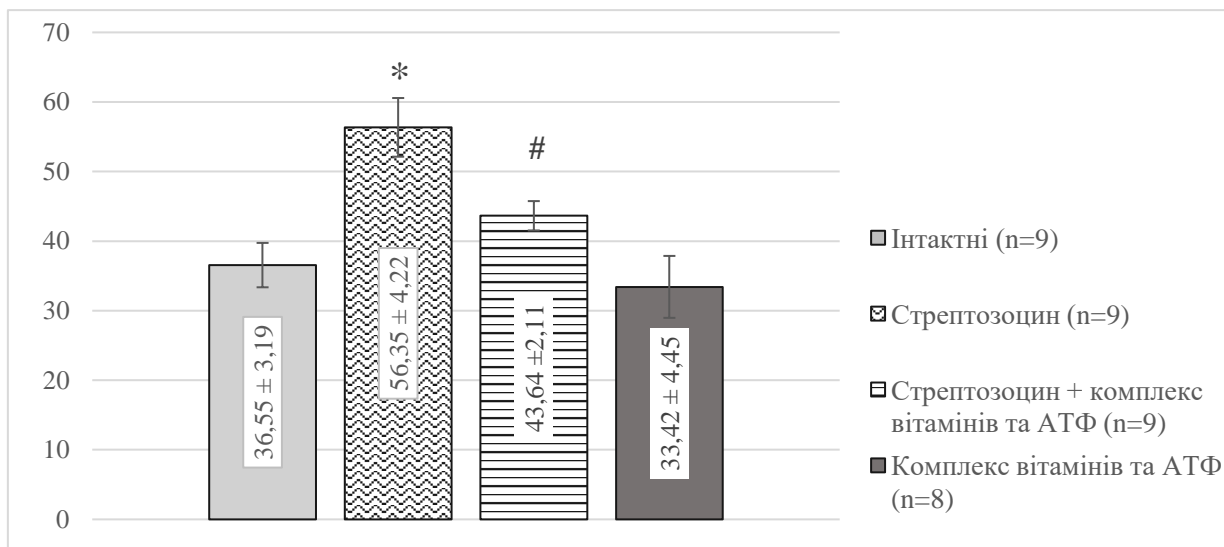


Рисунок 4.2. Вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові щурів (нмоль×мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із стрептозоцин-індукованою нейропатією.

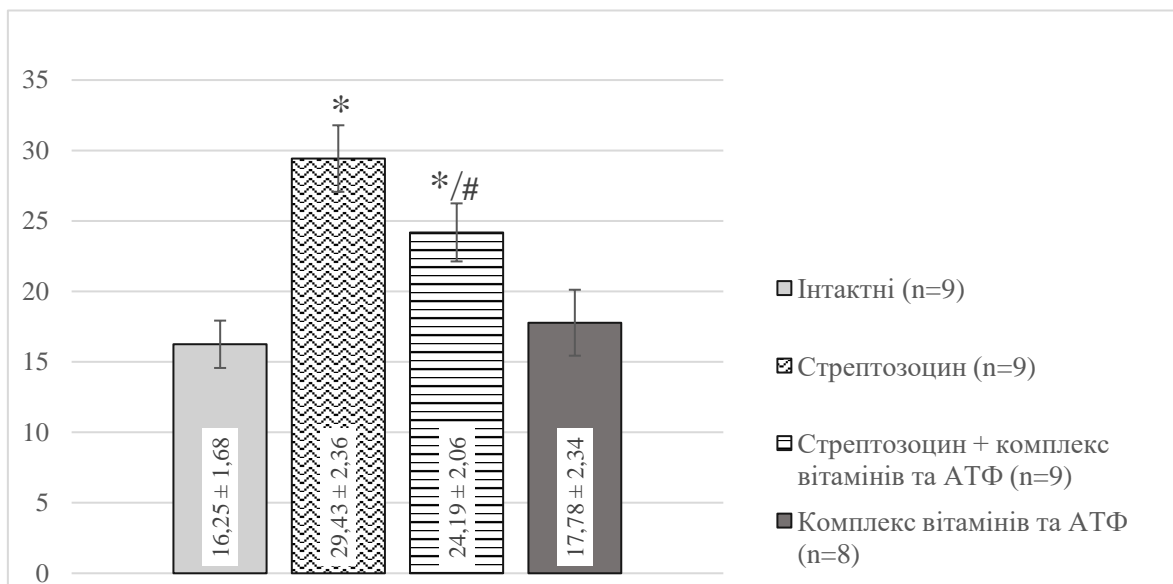


Рисунок 4.3. Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові щурів (нмоль × мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із стрептозоцин-індукованою нейропатією.



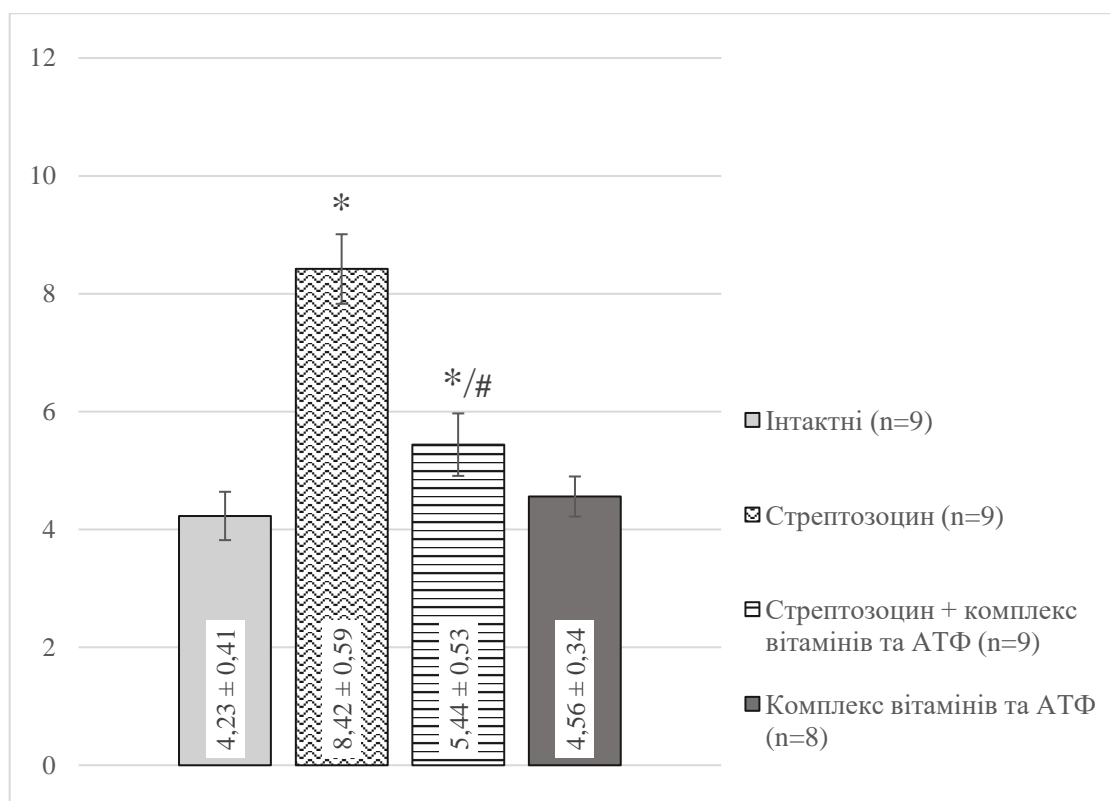


Рисунок 4.4. Вміст шиффових основ у сироватці крові щурів (ум. од.  $\times$  мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із стрептозоцин-індукованою нейропатією.

В ході експерименту було встановлено зростання вмісту продуктів окисної модифікації протеїнів як нейтрального так і лужного характеру у сироватці крові щурів внаслідок введення стрептозоцину. Метаболічна корекція комплексом вітамінів та АТФ на тлі моделювання діабетичної нейропатії запобігала розвитку карбонільно-окисного стресу, про що свідчило вірогідне зниження вмісту продуктів ОМБ: у 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) нейтральних альдопохідних, у 1,24 раза ( $p < 0,05$ ) нейтральних кетопохідних, у 1,27 раза ( $p < 0,05$ ) лужних альдопохідних та у 1,75 раза ( $p < 0,05$ ) лужних кетопохідних щодо цих показників у тварин із діабетичною нейропатією, яким не здійснювали корекцію (рис. 4.5).

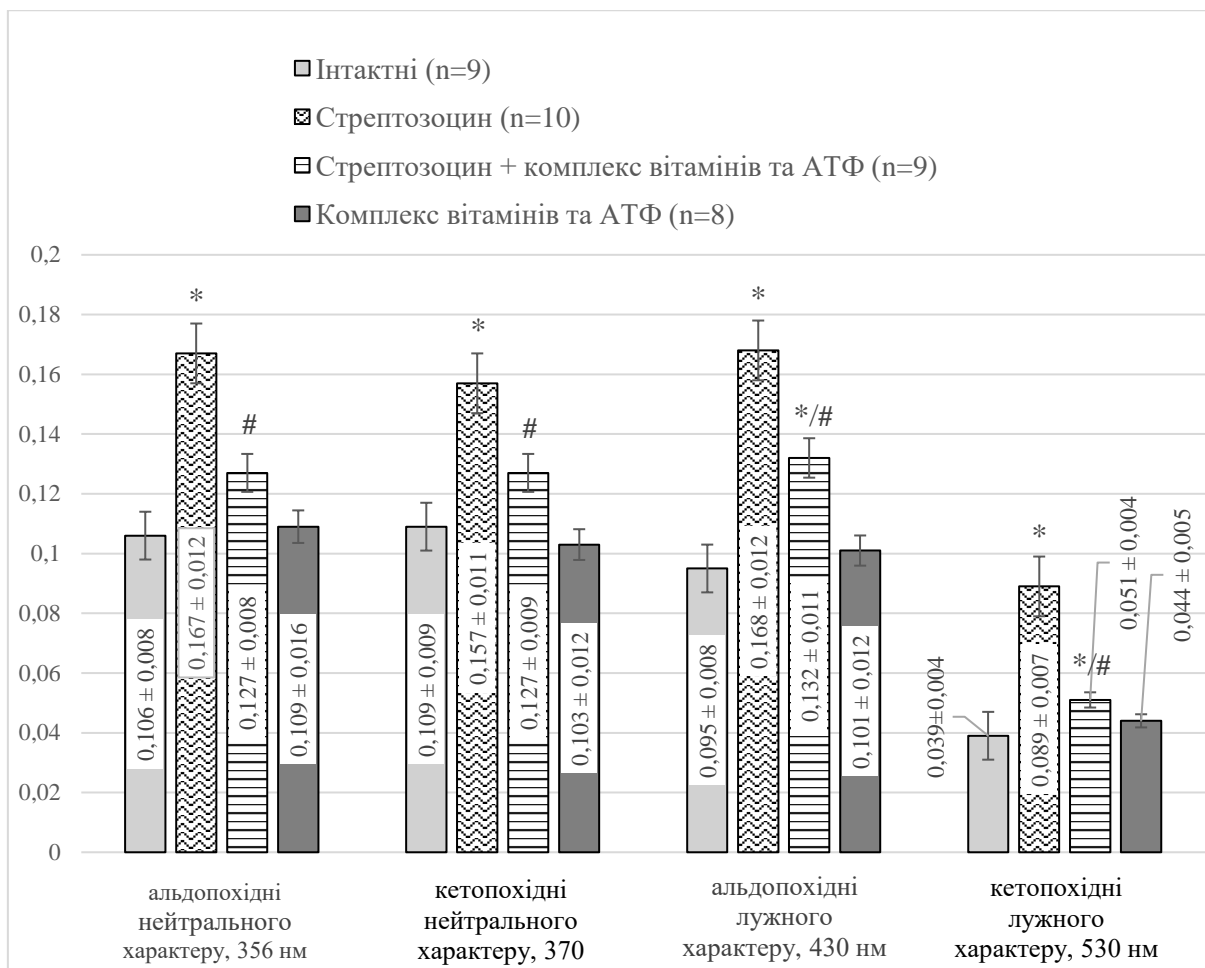


Рисунок 4.5. Вміст продуктів ОМБ у сироватці крові щурів (ум. од. × мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із стрептозоцин-індукованою нейропатією.

Показано, що при діабетичній нейропатії у щурів вміст сульфгідрильних груп у сироватці крові вірогідно знижується відносно контролю. Введення тіамініпрофосфату, нікотинамід, ціанокобаламіну та АТФ призводило до підвищення цих показників порівняно з тваринами, яким робили ін'єкції стрептозоцину без корекції. Так, вміст білкових SH-груп зростав на 21,8% ( $p < 0,05$ ) та загальних – на 34,4% ( $p < 0,05$ ) (рис. 4.6). За даних експериментальних умов вміст небілкових тіолових груп залишається на рівні групи діабетичних щурів (рис. 4.7).

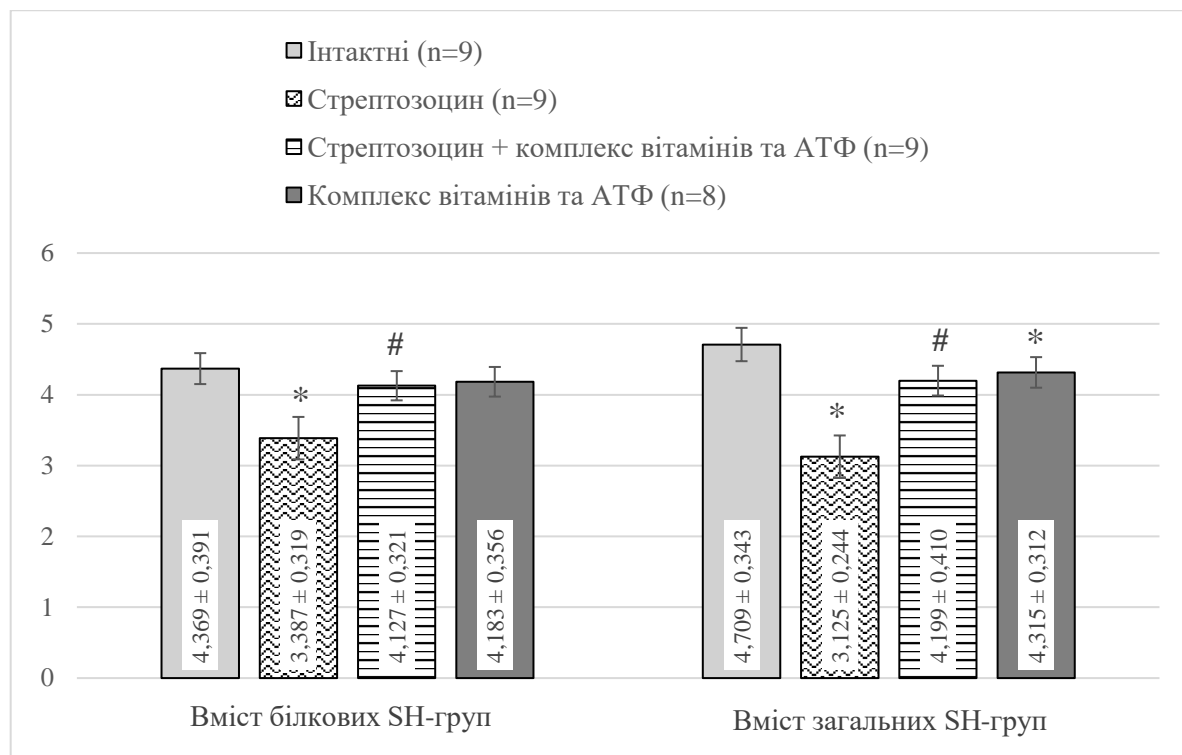


Рисунок 4.6. Вміст білкових та загальних SH-груп у сироватці крові щурів ( $\mu\text{кмоль} \times \text{мг білка}^{-1}$ ), ( $M \pm m$ ). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із стрептозоцин-індукованою нейропатією.

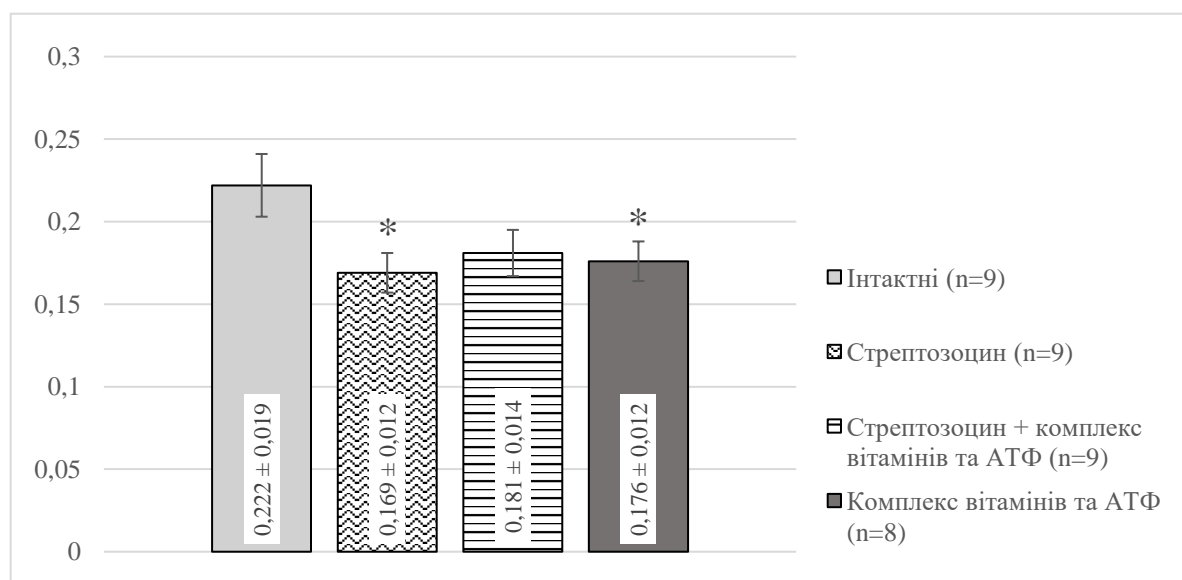


Рисунок 4.7. Вміст небілкових SH-груп у сироватці крові щурів ( $\mu\text{кмоль} \times \text{мг білка}^{-1}$ ), ( $M \pm m$ ). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із стрептозоцин-індукованою нейропатією.

Згідно наших даних, за умов стрептозоцин-індукованої нейропатії в сироватці крові щурів супероксиддисмутазна активність збільшується, а каталазна активність знижується відносно контролю. Метаболічна корекція протягом 9 днів призводила до зниження активності СОД в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ) порівняно з діабетичними щурами (рис. 4.8).

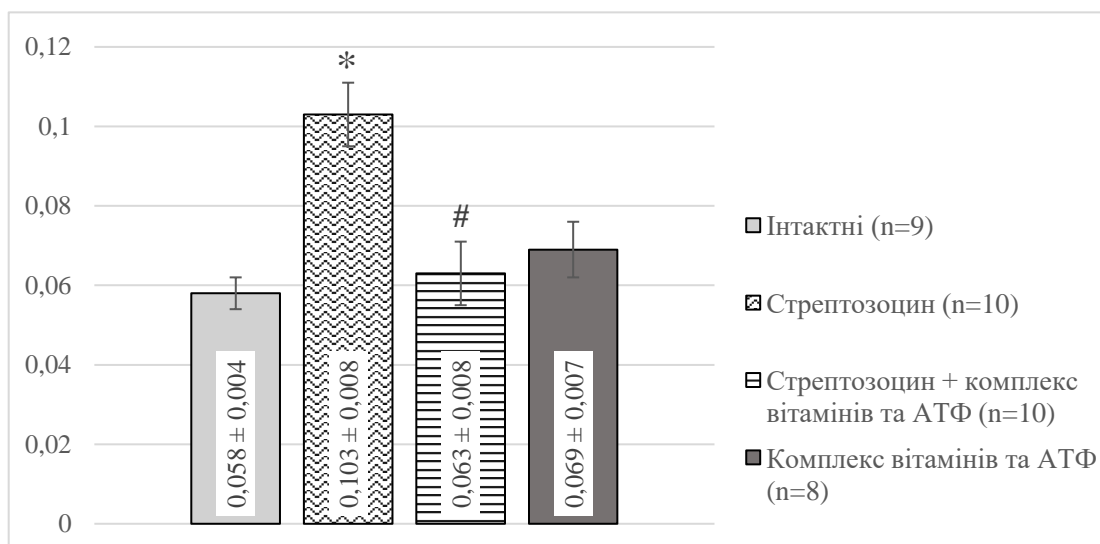


Рисунок 4.8. Активність СОД у сироватці крові щурів, (ум.од.  $\times$   $\text{хв}^{-1} \times$   $\text{мг білка}^{-1}$ ), (M ± m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із стрептозоцин-індукованою нейропатією.

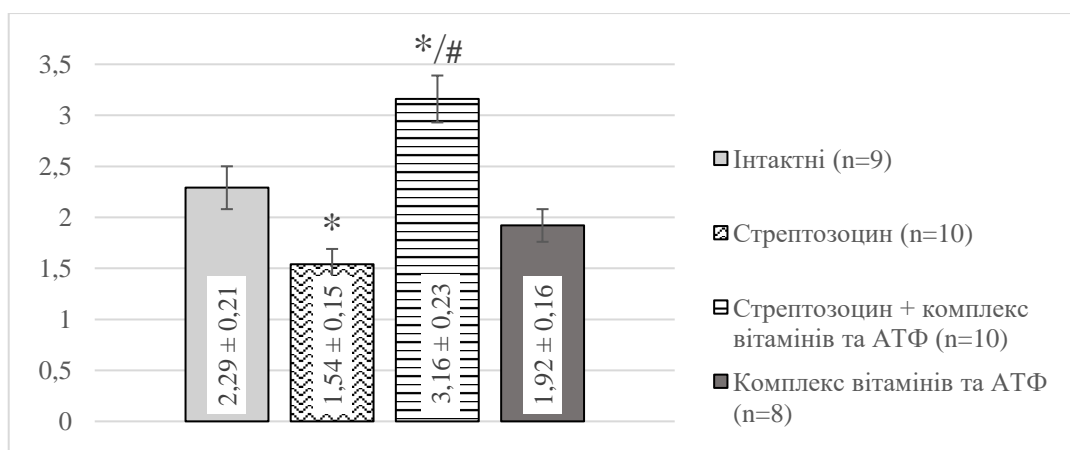


Рисунок 4.9. Активність каталази у сироватці крові щурів, ( $\text{нмоль} \times \text{хв}^{-1} \times \text{мг білка}^{-1}$ ), (M ± m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із стрептозоцин-індукованою нейропатією.



Активність каталази за цих умов зростала вдвічі у порівнянні з щурами з експериментальною діабетичною нейропатією без корекції та була в 1,4 раза ( $p<0,05$ ) вищою, ніж у інтактних щурів (рис. 4.9).

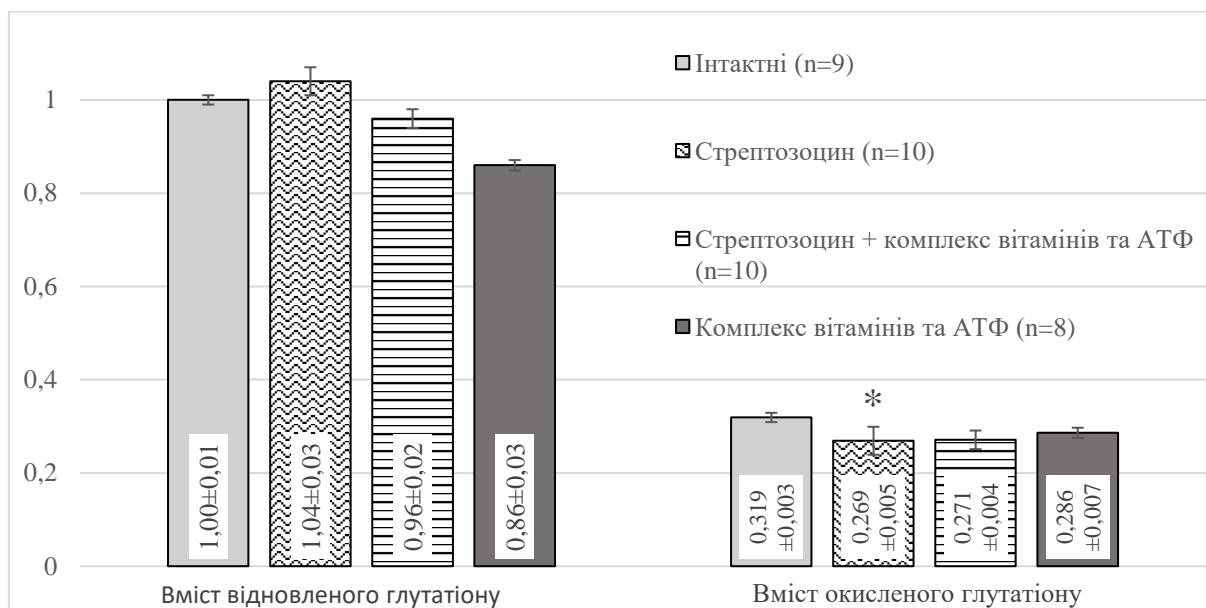


Рисунок 4.10, ( $M\pm m$ ). Вміст відновленого та окисленого глутатіону у сироватці крові щурів, (нмоль/мг білка). Примітка: \* -  $p<0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p<0,05$  – у порівнянні зі щурами із стрептозоцин-індукованою нейропатією.

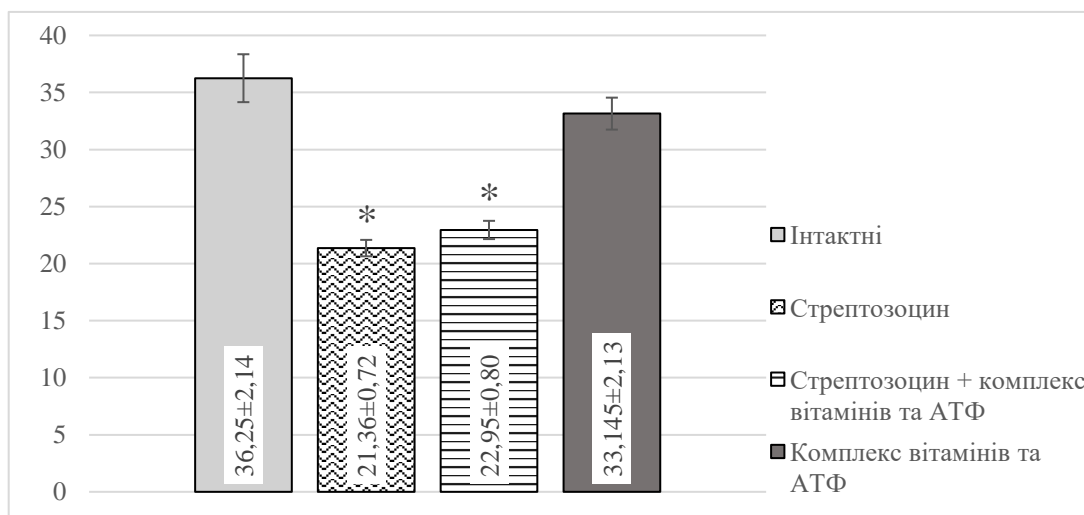


Рисунок 4.11. Активність глутатіонредуктази у сироватці крові щурів, (НАДФН/хв×мг білка), ( $M\pm m$ ). Примітка: \* -  $p<0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p<0,05$  – у порівнянні зі щурами із стрептозоцин-індукованою нейропатією.

Ми встановили вірогідне зниження вмісту окисленого глутатіону та активності ферментів глутатіонової системи у сироватці крові щурів, яким вводили стрептозоцин (рис. 4.10 - 4.13).

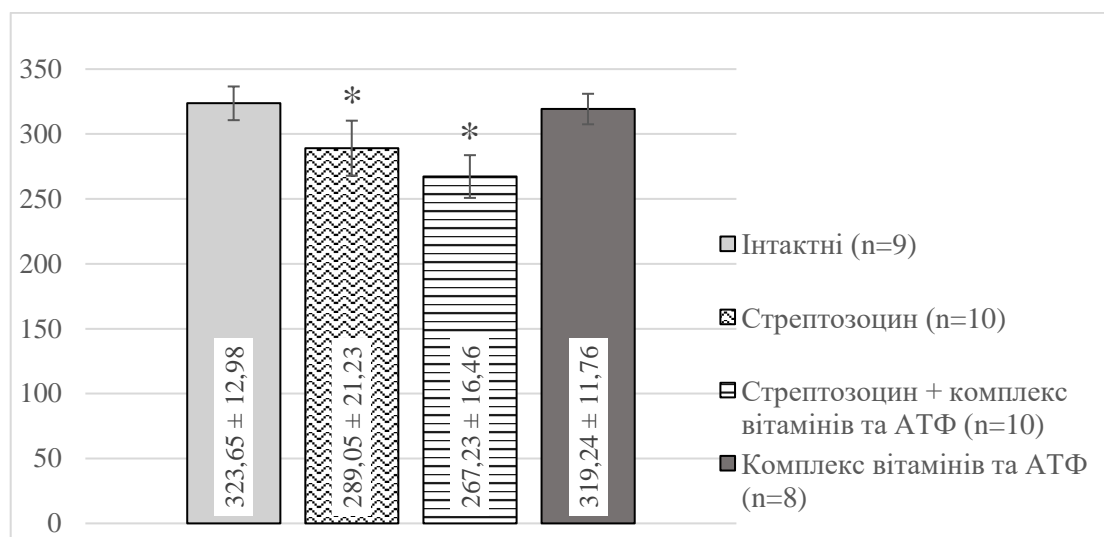


Рисунок 4.12. Активність глутатіонтрансферази у сироватці крові щурів, (нмоль/хв×мл), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із стрептозоцин-індукованою нейропатією.

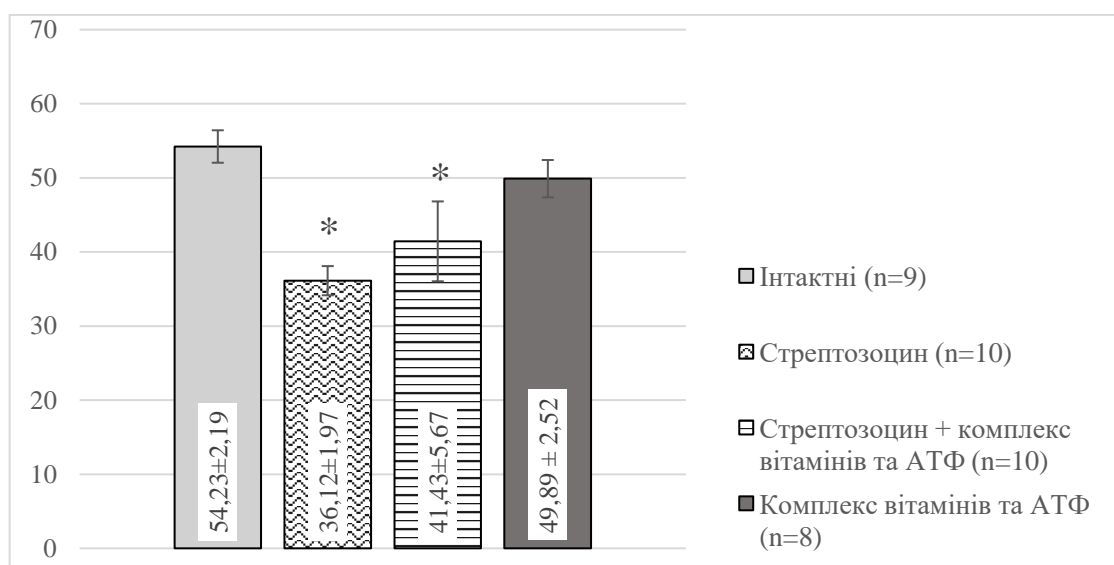


Рисунок 4.13. Активність глутатіонпероксидази у сироватці крові щурів, (GSH/хв×мл), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із стрептозоцин-індукованою нейропатією.



Статистично достовірних змін цих показників за умов введення вітамінів групи В та АТФ на тлі моделювання діабетичної нейропатії не виявлено (рис. 4.10 - 4.13).

Нами було встановлено вірогідне зменшення амілолітичної активності у слинних залозах щурів за умов експериментальної стрептозоцин-індукованої нейропатії у порівнянні з інтактними тваринами. Введення комплексу, що містив кокарбоксілазу, нікотинамід, ціанокобаламін та АТФ протягом 9 днів призводило до вірогідного зростання активності  $\alpha$ -амілази на 37,5% в гомогенаті піднижньощелепних та під'язикових слинних залоз щурів порівняно з тваринами, яким моделювали діабетичну нейропатію без корекції (табл. 4.1) [198].

Таблиця 4.1

**Амілолітична активність слинних залоз тварин за умов стрептозоцин-індукованої нейропатії, (M $\pm$ m)**

Біохімічні показники	Група 1. Інтактні	Група 2. Інтактні + комплекс вітамінів та АТФ	Група 3. Стрептозоцин	Група 4. Стрептозоцин + комплекс вітамінів та АТФ	Статистичний показник
Активність $\alpha$ -амілази, мг/с $\times$ л	38,8 $\pm$ 4,67 (n = 10)	39,76 $\pm$ 2,93 (n = 7)	20,18 $\pm$ 2,66 (n = 11)	27,75 $\pm$ 1,47 (n = 14)	P <sub>1-3</sub> < 0,05 P <sub>1-4</sub> > 0,05 P <sub>3-4</sub> < 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-4</sub> < 0,001

Аналізуючи протеїназно-інгібіторний баланс у слинних залозах тварин за умов відтворення експериментальної діабетичної нейропатії, ми встановили його зміни за компенсаторним типом, на що вказує вірогідне зростання загальної антитриптичної активності за відсутності статистично достовірних змін загальної протеолітичної активності порівняно з цими показниками у інтактних тварин. Внаслідок введення мультивітамінного комплексу загальна антитриптична активність слинних залоз щурів за умов



діабетичної нейропатії була у 1,76 раза ( $p < 0,001$ ) нижчою порівняно з групою тварин, яким моделювали нейропатію без корекції, але у 1,56 раза ( $p < 0,05$ ) вищою порівняно з інтактними тваринами (табл. 4.2) [198].

Таблиця 4.2

**Загальна протеолітична та антитриптична активність слинних залоз тварин за умов стрептозоцин-індукованої нейропатії та корекції за допомогою комплексу вітамінів та АТФ, ( $M \pm m$ )**

Біохімічні показники	Група 1. Інтактні	Група 2. Інтактні + комплекс вітамінів та АТФ	Група 3. Стрептозо- цин	Група 4. Стрептозо- цин + комплекс вітамінів та АТФ	Статистич- ний показник
Загальна протеолітична активність, мкг/г×хв	3,33±0,06 (n = 9)	3,37± 0,13 (n = 8)	3,24±0,1 (n = 11)	3,40± 0,11 (n = 14)	$P_{1-3} > 0,05$ $P_{1-4} > 0,05$ $P_{3-4} > 0,05$ $P_{1-2} > 0,05$ $P_{2-4} > 0,05$
Загальна антитриптична активність, г/кг	32,64±1,74 (n = 9)	32,81 ± 1,96 (n = 8)	89,77±7,01 (n = 11)	51,07± 4,91 (n = 14)	$P_{1-3} < 0,0001$ $P_{1-4} < 0,05$ $P_{3-4} < 0,001$ $P_{1-2} > 0,05$ $P_{2-4} > 0,05$

Аналізуючи стан про- та антиоксидантної системи у піднижньощелепних та під'язикових слинних залозах тварин за умов стрептозоцин-індукованої нейропатії, ми встановили вірогідне збільшення вмісту молекул середньої маси та ТБК-активних продуктів, а також зростання активності каталази у порівнянні з цими показниками в інтактних щурів. Введення вітамінів та АТФ на тлі індукованої діабетичної нейропатії призводило до пригнічення перекисного окиснення ліпідів, про що свідчить вірогідне зменшення вмісту ТБК-реактивних у 1,47 раза у гомогенаті слинних залоз щурів порівняно з групою тварин, яким моделювали нейропатію без





корекції. Показано, що експериментальна корекція не впливає на рівень МСМ та активність каталази у слинних залозах тварин за умов розвитку діабетичної нейропатії (табл. 4.3) [198].

Таблиця 4.3

**Показники оксидативного стресу в слинних залозах тварин за умов стрептозоцин-індукованої нейропатії та корекції за допомогою комплексу вітамінів та АТФ, (M±m)**

Біохімічні показники	Група 1. Інтактні	Група 2. Інтактні + комплекс вітамінів та АТФ	Група 3. Стрептозоцин	Група 4. Стрептозоцин + комплекс вітамінів та АТФ	Статистичний показник
Вміст ТБК-реактивних, мкмоль/г	4,25±0,72 (n = 15)	4,27±0,36 (n = 8)	8,72±1,16 (n = 11)	5,94±0,69 (n = 18)	P <sub>1-3</sub> < 0,01 P <sub>1-4</sub> > 0,05 P <sub>3-4</sub> < 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-4</sub> > 0,05
Вміст молекул середньої маси, у.о.	0,29±0,003 (n = 8)	0,295±0,006 (n = 8)	0,32± 0,009 (n = 11)	0,31 ± 0,005 (n = 18)	P <sub>1-3</sub> < 0,05 P <sub>1-4</sub> < 0,05 P <sub>3-4</sub> > 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-4</sub> > 0,05
Уміст ОМБ, у.о.	0,34±0,02 (n = 10)	0,24 ± 0,03 (n = 8)	0,37± 0,03 (n = 11)	0,30 ± 0,02 (n = 18)	P <sub>1-3</sub> > 0,05 P <sub>1-4</sub> > 0,05 P <sub>3-4</sub> > 0,05 P <sub>1-2</sub> < 0,05 P <sub>2-4</sub> > 0,05
Активність каталази, мккат/г×хв	0,74±0,034 (n = 10)	0,73±0,014 (n = 8)	0,84± 0,06 (n = 11)	0,77 ± 0,06 (n = 18)	P <sub>1-3</sub> < 0,05 P <sub>1-4</sub> > 0,05 P <sub>3-4</sub> > 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-4</sub> > 0,05

Отже, застосування комплексу, що містить динатрію аденозинтрифосфату тригідрат, кокарбоксилазу, ціанокобаламін та нікотинамід, має великі перспективи для доклінічних досліджень на підставі

експериментальної ефективності запобігання розвитку патологічних змін в слинних залозах за умов стрептозоцин-індукованої нейропатії, про що свідчить нормалізація протеолітичних та вільнорадикальних процесів, білоксинтетичної функції.

#### 4.2. Вплив комплексу вітамінів та АТФ на біохімічні показники у сироватці крові та слинних залозах тварин за умов паклітаксел-індукованої нейропатії

За нашими даними, введення паклітакселу викликає токсичну нейропатію у щурів, яка проявляється механічною гіперчутливістю, що підтверджується збільшенням ПБЧ (рис. 4.14).

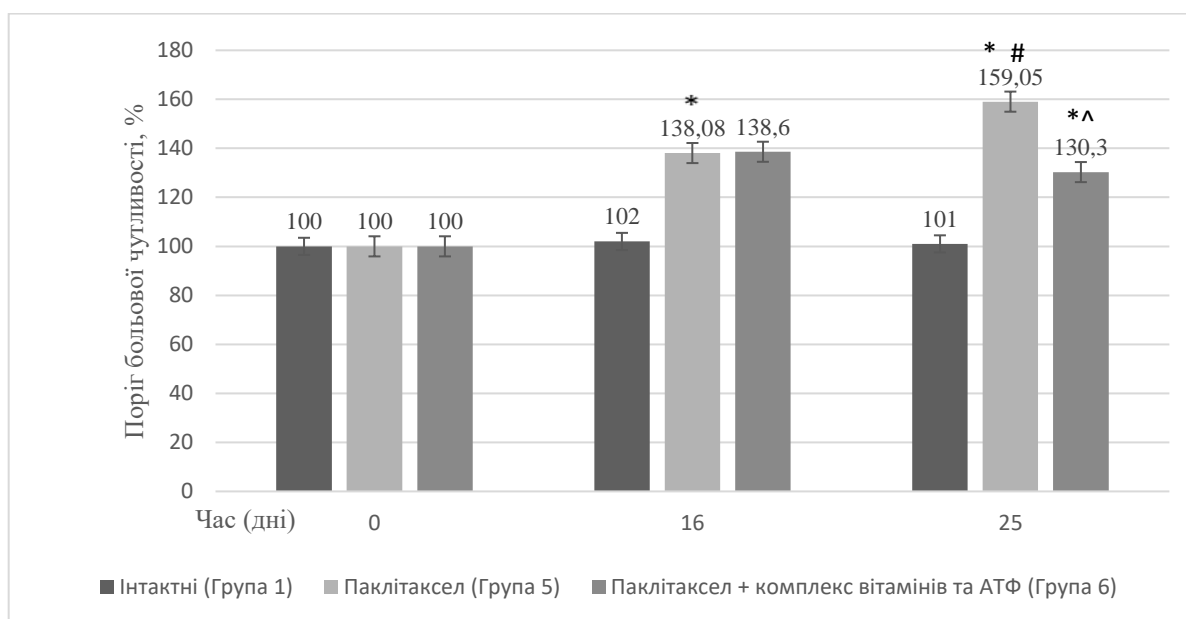


Рисунок 4.14. Поріг больової чутливості (%) за тензоалгометричним методом Randall-Selitto, у щурів з паклітаксел-індукованою нейропатією та корекцією комплексом вітамінів і АТФ. Примітка: \* -  $p < 0,01$  у порівнянні з інтактними, # -  $p < 0,05$  у порівнянні з 16 днем після першої ін'єкції паклітакселу, ^ -  $p < 0,05$  у порівнянні з тваринами, яким моделювали нейропатію без корекції на 25 день експерименту.

Літературні джерела свідчать про важливу роль вітамінів групи В як у профілактиці, так й у лікуванні периферійної нейропатії індукованої



хіміотерапією [154,156]. У щурів, яким вводили комплекс вітамінів групи В та АТФ протягом 9 днів після відтворення паклітаксел-індукованої нейропатії на 16 день, ПБЧ статистично достовірно не відрізнявся від рівня ПБЧ у щурів, яким моделювали нейропатію без корекції та був вірогідно меншим у 1,29 раза на 25 день експерименту (рис. 4.14).

За результатами проведених досліджень, у сироватці крові щурів, яким викликали експериментальну нейропатію шляхом введення паклітакселу, відмічалось зростання вмісту продуктів ПОЛ. У тварин, яким робили ін'єкції вітамінів та АТФ за умов розвитку паклітаксел-індукованої нейропатії, вміст дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів та шифрових основ зменшується у 1,7, 1,8 та 1,8 раза, відповідно, порівняно з цими показниками у групи щурів, яким корекцію не здійснювали (рис. 4.15-4.17).

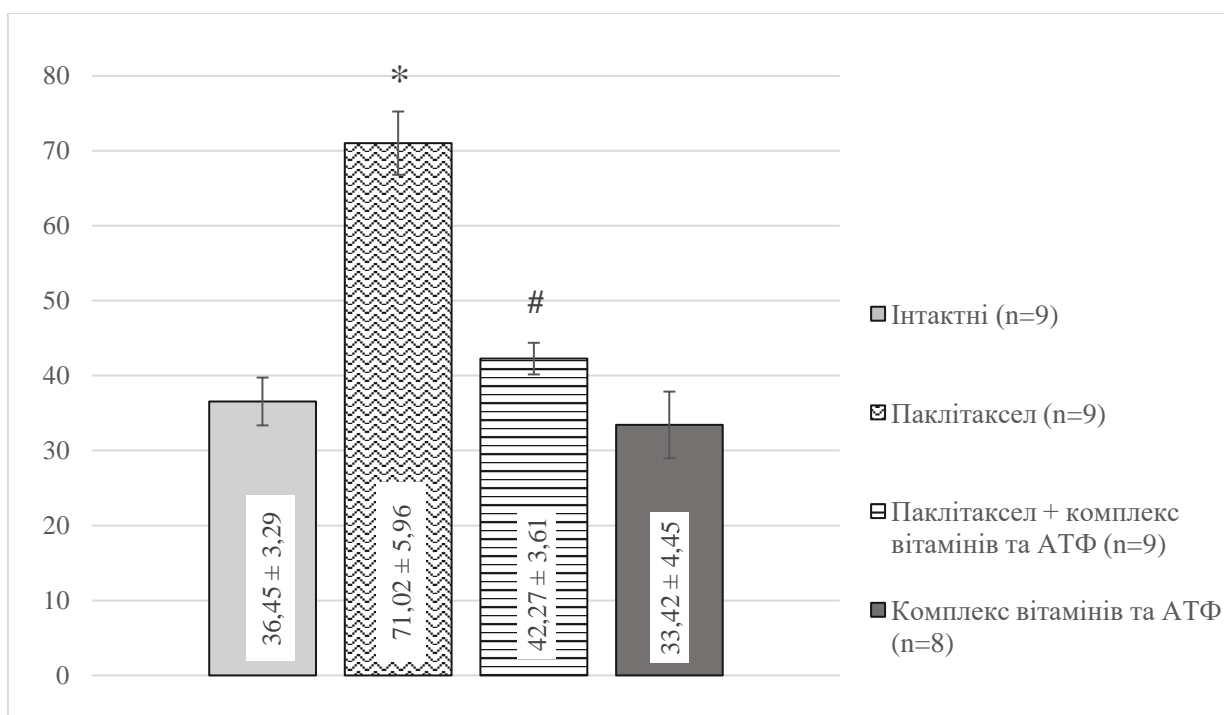


Рисунок 4.15. Вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові щурів (нмоль×мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із паклітаксел-індукованою нейропатією.

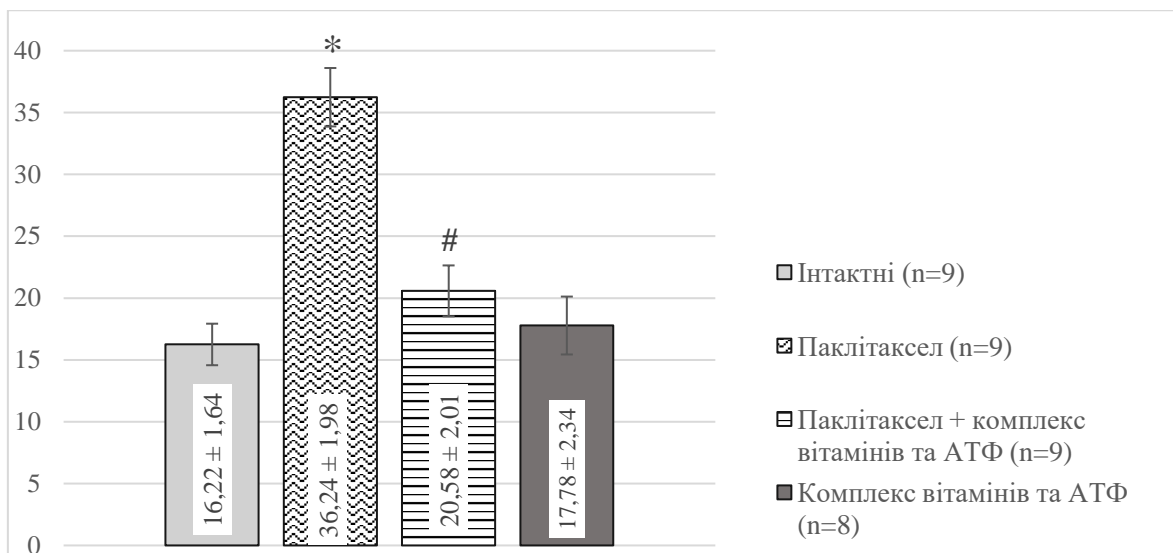


Рисунок 4.16. Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові щурів (нмоль  $\times$  мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із паклітаксел-індукованою нейропатією.

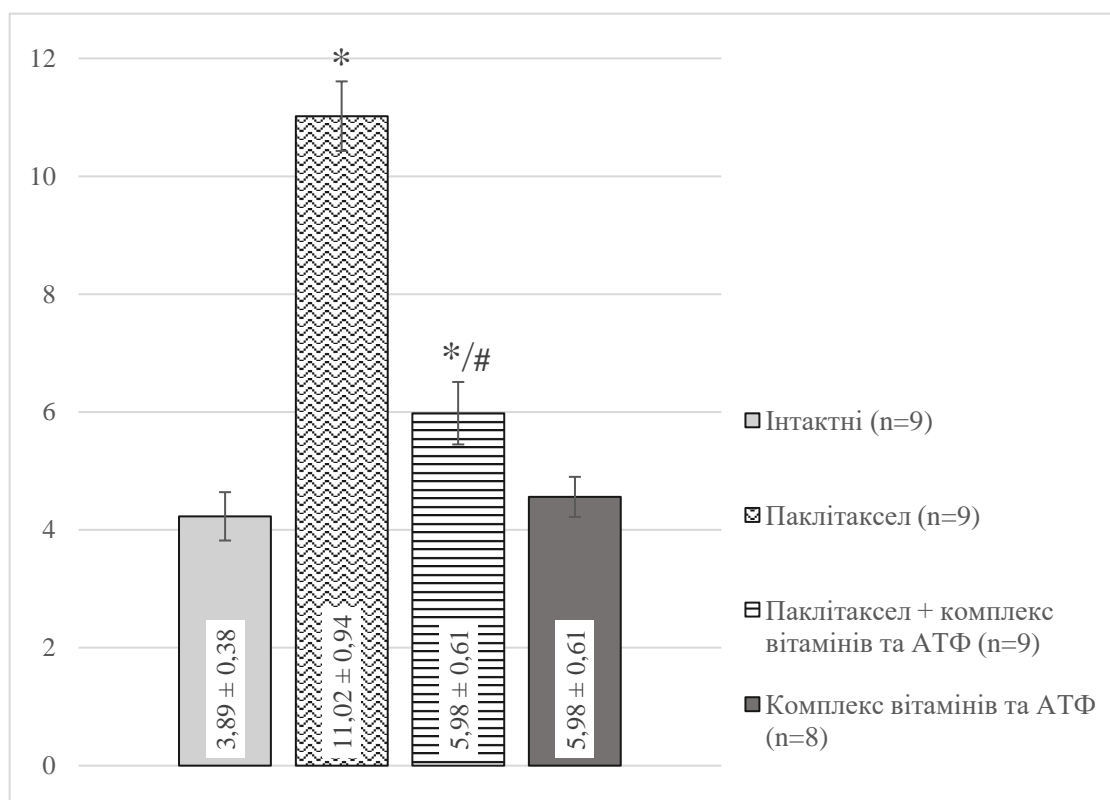


Рисунок 4.17. Вміст шиффових основ у сироватці крові щурів (ум. од.  $\times$  мг білка<sup>-1</sup>), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із паклітаксел-індукованою нейропатією.



Нами встановлено зростання вмісту продуктів ОМБ як нейтрального так і лужного характеру у сироватці крові щурів із паклітаксел-індукованою нейропатією. дев'ятиденне введення кокарбоксилази, нікотинаміду, ціанокобаламіну та аденозинтрифосфату знижувало ці показники: зокрема, рівень нейтральних альдегідних продуктів (макс. абсорбції при 356 нм) – в 1,5 раза, нейтральних кетонних продуктів ( $E_{\max} = 370$  нм) – в 1,6 раза та лужних альдегідних продуктів із максимумом поглинання при 356 нм відповідно у 1,37 раза (рис. 4.18).

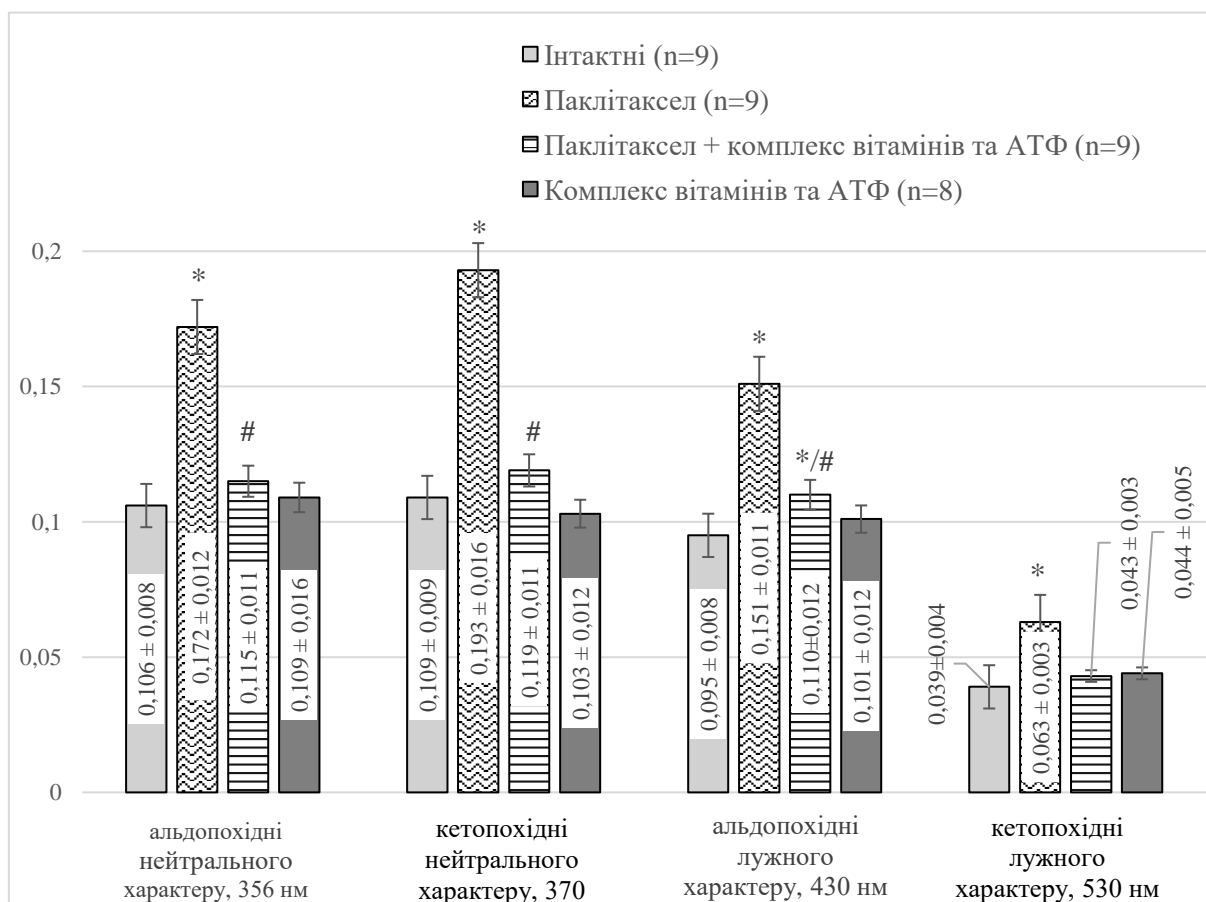


Рисунок 4.18. Вміст продуктів ОМБ у сироватці крові щурів (ум. од. × мг білка<sup>-1</sup>), ( $M \pm m$ ). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із паклітаксел-індукованою нейропатією.

Внаслідок введення щурам паклітакселу вміст тіолових груп у сироватці крові зменшувався щодо контролю.

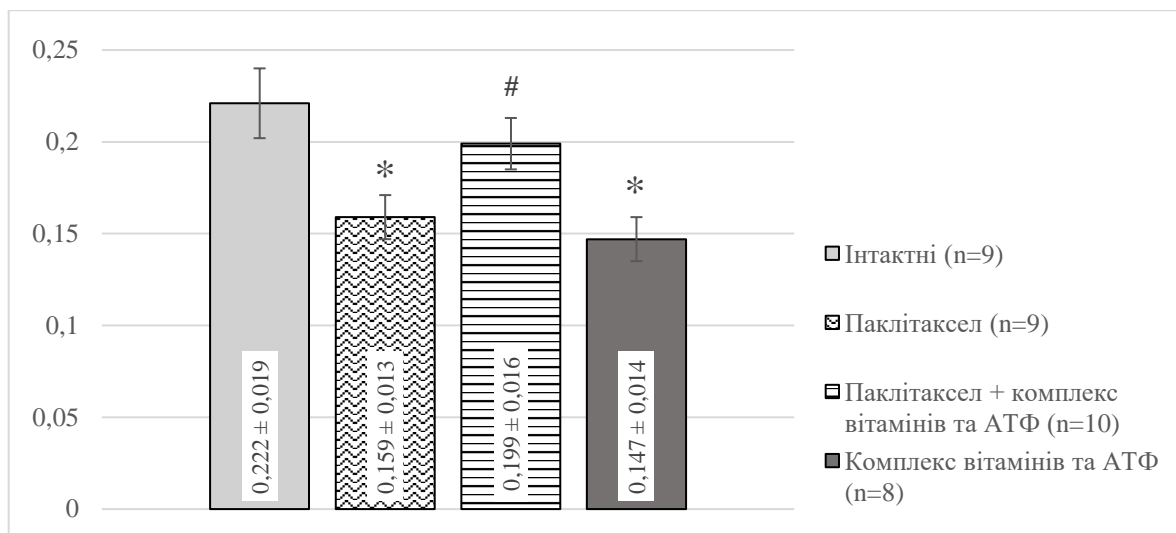


Рисунок 4.19. Вміст небілкових SH-груп у сироватці крові щурів ( $\text{мкмоль} \times \text{мг білка}^{-1}$ ), ( $M \pm m$ ). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із паклітаксел-індукованою нейропатією.

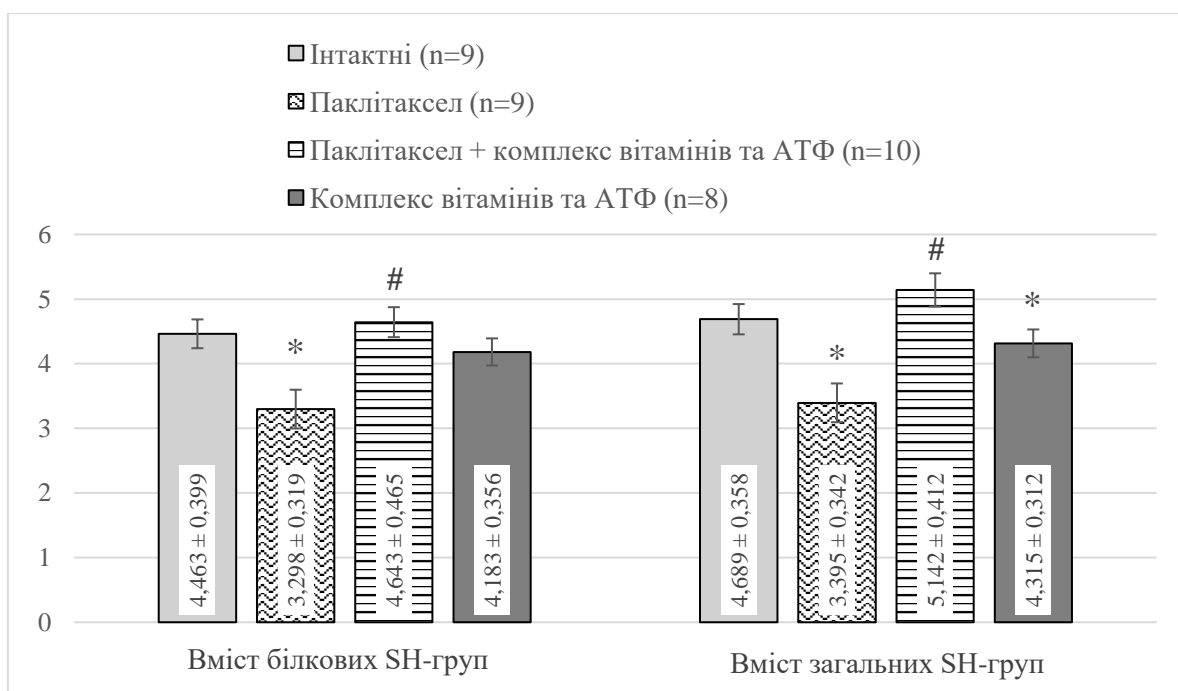


Рисунок 4.20. Вміст білкових та загальних SH-груп у сироватці крові щурів ( $\text{мкмоль} \times \text{мг білка}^{-1}$ ), ( $M \pm m$ ). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із паклітаксел-індукованою нейропатією.



У групи тварин з експериментальною моделлю паклітаксел-індукованої нейропатії, яким профілактично вводили препарат, що містив кокарбоксілазу, нікотинамід, ціанокобаламін та АТФ, рівень небілкових, білкових та загальних сульфгідрильних груп був вищим у 1,25 (рис. 4.19), 1,4 та 1,5 раза відповідно (рис. 4.20), ніж ці показники у тварин, яким робили ін'єкції паклітакселу без корекції.

В ході проведених експериментальних досліджень нами встановлено зниження активності СОД та каталази у сироватці крові щурів з паклітаксел-індукованою нейропатією. Введення полівітамінного препарату протягом 9 днів призводило до відновлення активності антиоксидантних ферментів. Зокрема, активність СОД була вищою утричі (рис. 4.21), а каталази – у 1,54 раза відносно досліджуваних показників у щурів із нейропатією викликану паклітакселом без корекції, і статистично достовірно не відрізнялися від таких у інтактних тварин (рис. 4.22).

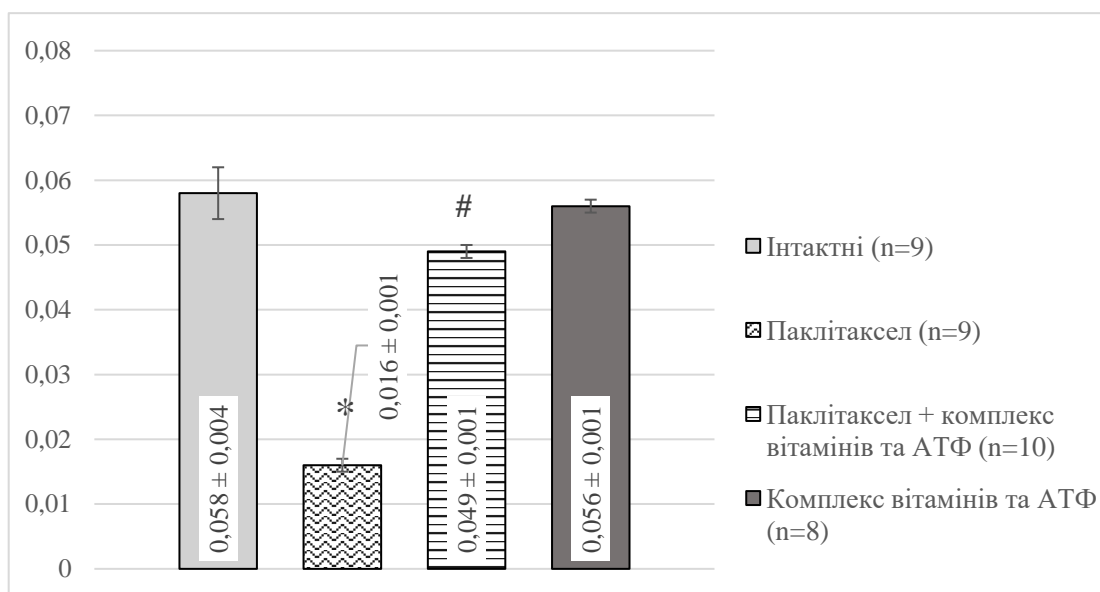


Рисунок 4.21. Активність СОД у сироватці крові щурів, (ум.од.  $\times$  хв<sup>-1</sup>  $\times$  мг білка<sup>-1</sup>), (М±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із паклітаксел-індукованою нейропатією.

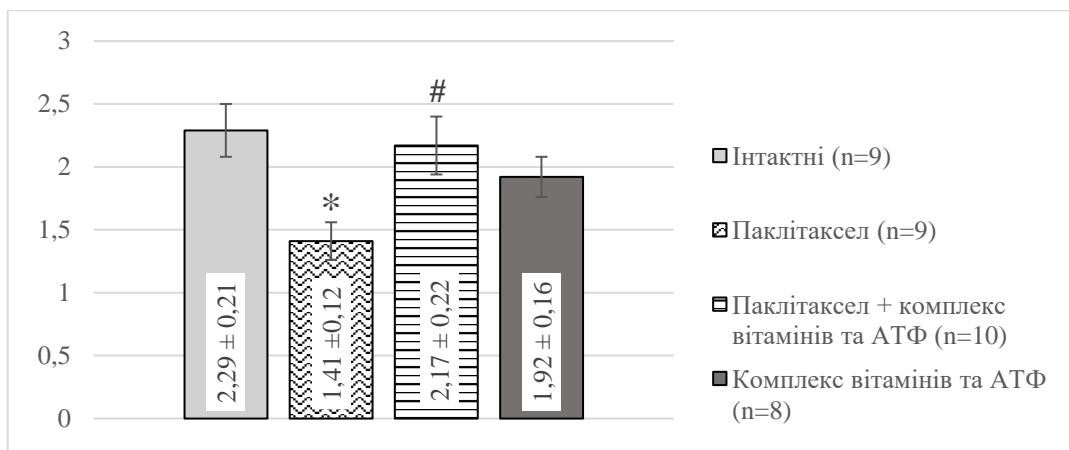


Рисунок 4.22. Активність каталази у сироватці крові щурів, ( $\text{нмоль} \times \text{хв}^{-1} \times \text{мг білка}^{-1}$ ), ( $M \pm m$ ). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із паклітаксел-індукованою нейропатією.

Внаслідок розвитку нейропатії індукованої паклітакселом глутатіонредуктазна активність у сироватці крові щурів була нижчою, ніж у інтактних тварин. Показано, що введення паклітакселу не впливає на рівень інших показників глутатіонової системи у сироватці крові тварин за цих умов. (рис. 4.23 – 4.26)

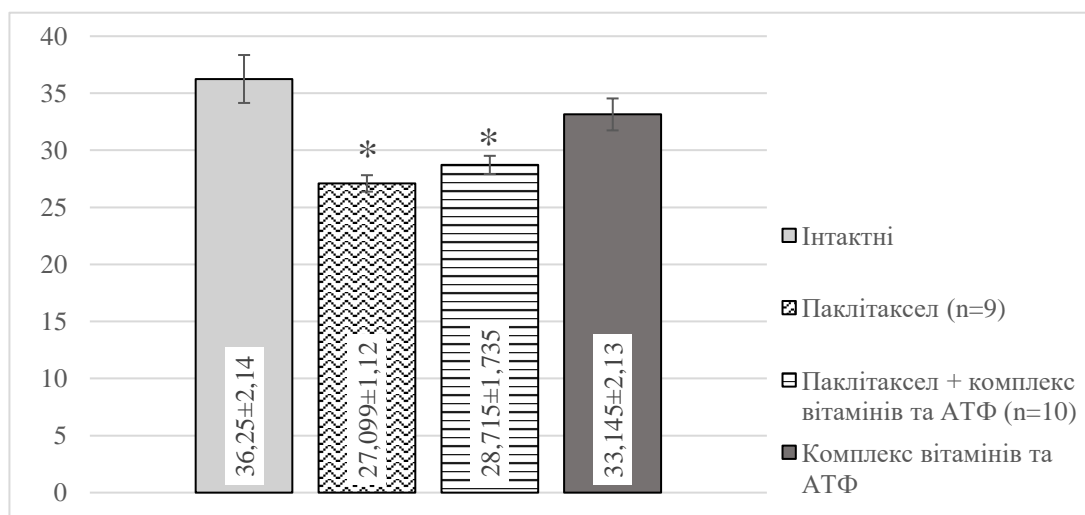


Рисунок 4.23. Активність глутатіонредуктази у сироватці крові щурів, ( $\text{НАДФН} / \text{хв} \times \text{мг білка}$ ), ( $M \pm m$ ). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із паклітаксел-індукованою нейропатією.



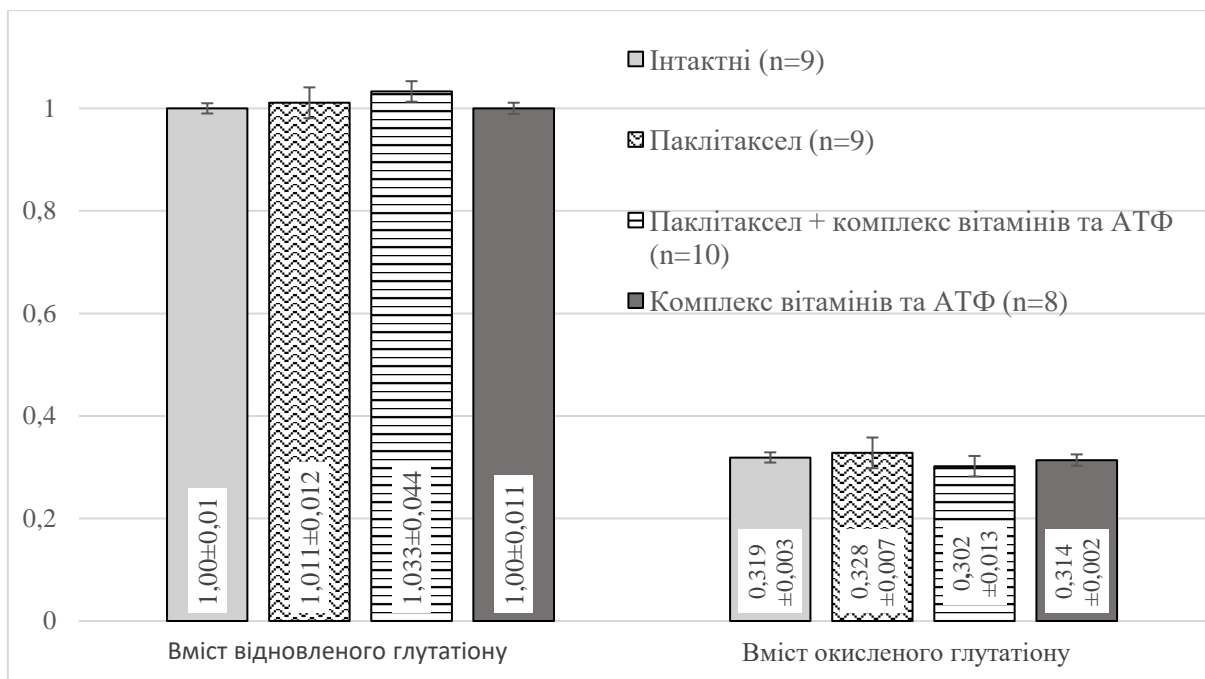


Рисунок 4.24. Вміст відновленого та окисленого глутатіону у сироватці крові щурів, (нмоль/мг білка), ( $M \pm m$ ). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із паклітаксел-індукованою нейропатією.

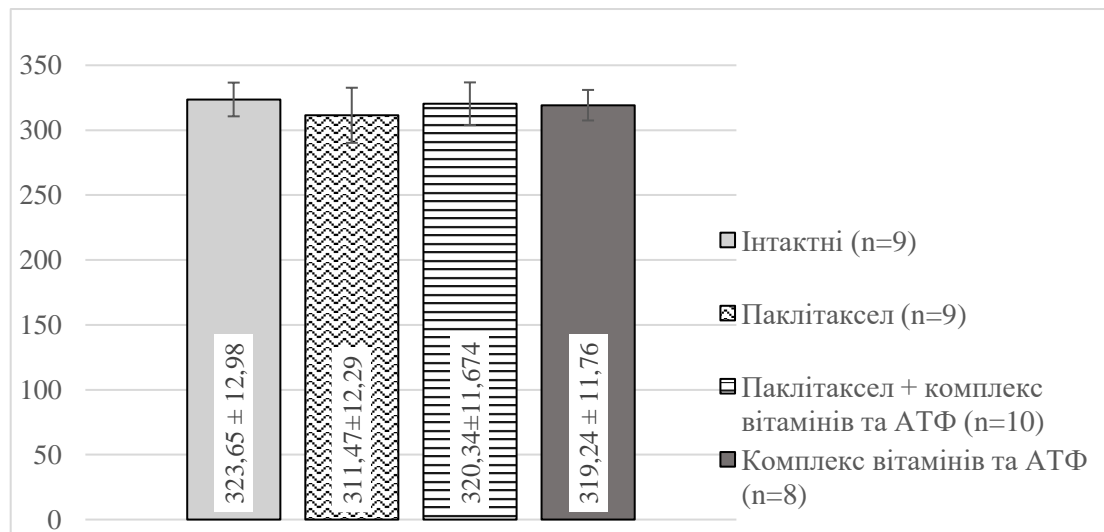


Рисунок 4.25. Активність глутатіонтрансферази у сироватці крові щурів, (нмоль/хв×мл), ( $M \pm m$ ). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із паклітаксел-індукованою нейропатією.

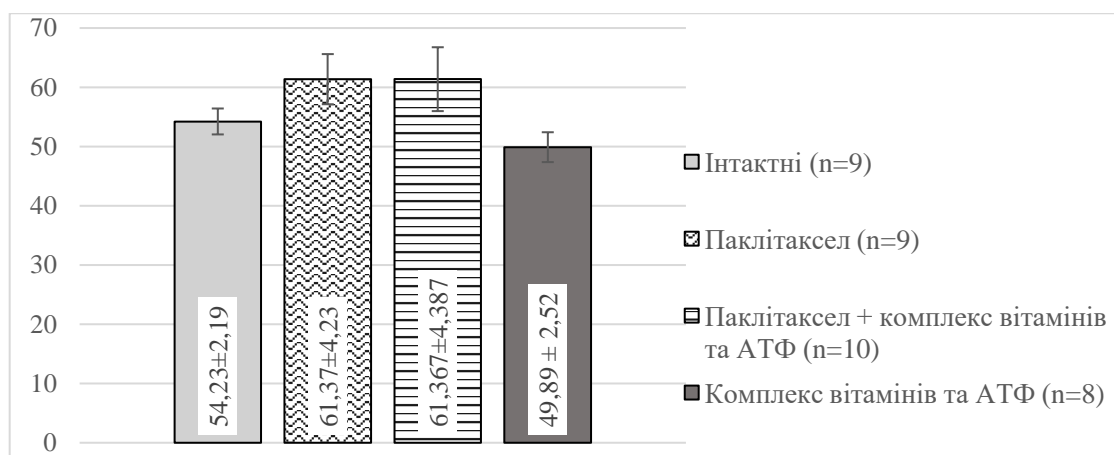


Рисунок 4.26. Активність глутатіонпероксидази у сироватці крові щурів, (GSH/xv×мл), (M±m). Примітка: \* -  $p < 0,05$  – достовірні відмінності у порівнянні з інтактними тваринами, # –  $p < 0,05$  – у порівнянні зі щурами із паклітаксел-індукованою нейропатією.

Ми встановили зниження білоксинтетичної активності слинних залоз щурів за умов паклітаксел-індукованої нейропатії, про що свідчило вірогідне зменшення активності  $\alpha$ -амілази. У слинних залозах щурів, яким вводили полівітамінний комплекс та АТФ, активність  $\alpha$ -амілази вірогідно зростала у 1,51 раза, порівняно з цим показником у тварин з нейропатією без корекції (табл. 4.4) [199].

Таблиця 4.4

**Амілолітична активність слинних залоз тварин за умов паклітаксел-індукованої нейропатії та корекції за допомогою комплексу вітамінів та АТФ, (M±m)**

Біохімічні показники	Група 1. Інтактні	Група 2. Інтактні + комплекс вітамінів та АТФ	Група 5. Паклітаксел	Група 6. Паклітаксел + комплекс вітамінів та АТФ	Статистичний показник
Активність $\alpha$ -амілази, мг/с×л	38,8±4,67 (n = 10)	39,76±2,93 (n = 7)	23,75±1,61 (n = 25)	35,91±3,71 (n = 22)	$P_{1-5} < 0,05$ $P_{1-6} > 0,05$ $P_{5-6} < 0,05$ $P_{1-2} > 0,05$ $P_{2-6} > 0,05$



Згідно наших даних, відтворення експериментальної паклітаксел-індукованої нейропатії викликає у слинних залозах щурів зміни протеїназно-інгібіторного балансу за компенсаторним типом, що підтверджується вірогідним збільшенням загальної антитриптичної активності. Внаслідок введення препарату, що містив кокарбоксилазу, нікотинамід, ціанокобаламін та АТФ на тлі індукованої паклітакселом токсичної нейропатії активність інгібіторів протеїназ вірогідно знижувалась у 1,68 раза порівняно з групою тварин, яким моделювали нейропатію без корекції (табл. 4.5) [199].

Таблиця 4.5

**Загальна протеолітична та антитриптична активність слинних залоз тварин за умов паклітаксел-індукованої нейропатії та корекції за допомогою комплексу вітамінів та АТФ, (M±m)**

№	Біохімічні показники	Група 1. Інтактні	Група 2. Інтактні + комплекс вітамінів та АТФ	Група 5. Паклітаксел	Група 6. Паклітаксел + комплекс вітамінів та АТФ	Статистичний показник
1.	Загальна протеолітична активність, мкг/г×хв	3,33±0,06 (n = 9)	3,37±0,13 (n = 8)	2,79±0,19 (n = 25)	3,26±0,07 (n = 22)	P <sub>1-5</sub> > 0,05 P <sub>1-6</sub> > 0,05 P <sub>5-6</sub> > 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-6</sub> > 0,05
2.	Загальна антитриптична активність, г/кг	32,64±1,74 (n = 9)	32,81±1,96 (n = 8)	55,94±6,53 (n = 20)	33,24±2,38 (n = 22)	P <sub>1-5</sub> < 0,05 P <sub>1-6</sub> > 0,05 P <sub>5-6</sub> < 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-6</sub> > 0,05

Аналіз загальної протеолітичної активності піднижньощелепних та під'язикових слинних залоз тварин показав відсутність статистично достовірних змін в усіх досліджуваних групах (табл. 4.5).

Отримані нами результати свідчать про розвиток карбонільно-оксидативного стресу у слинних залозах тварин за умов відтворення паклітаксел-індукованої нейропатії, що підтверджується достовірним



збільшенням вмісту ОМБ, молекул середньої маси та ТБК-реактивів; при цьому активність каталази у слинних залозах щурів вірогідно знижується порівняно з цими показниками у інтактних тварин. Терапія вітамінами та АТФ, проведена щурам з експериментальною токсичною нейропатією, вірогідно знижувала вміст молекул середньої маси у 1,24 раза та вміст окисно-модифікованих протеїнів у 1,31 раза, порівняно з цими показниками у тварин, яким моделювали нейропатію без корекції (табл. 4.6).

Таблиця 4.6.

**Показники оксидативного стресу у слинних залозах щурів за умов паклітаксел-індукованої нейропатії та корекції за допомогою комплексу вітамінів та АТФ, (M±m)**

№	Біохімічні показники	Група 1. Інтактні	Група 2. Інтактні + комплекс вітамінів та АТФ	Група 5. Паклітаксел	Група 6. Паклітаксел + комплекс вітамінів та АТФ	Статистичний показник
1.	Вміст ТБК-реактивів, мкмоль/г	4,25±0,72 (n = 15)	4,27±0,36 (n = 8)	9,62±1,14 (n = 18)	6,69±0,54 (n = 22)	P <sub>1-5</sub> < 0,001 P <sub>1-6</sub> < 0,001 P <sub>5-6</sub> < 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-6</sub> < 0,01
2.	Вміст молекул середньої маси, у.о.	0,294±0,003 (n = 8)	0,295±0,006 (n = 8)	0,414±0,019 (n = 25)	0,335±0,014 (n = 22)	P <sub>1-5</sub> < 0,001 P <sub>1-6</sub> > 0,05 P <sub>5-6</sub> < 0,001 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-6</sub> > 0,05
3.	Уміст ОМБ, у.о.	0,34±0,02 (n = 10)	0,24±0,03 (n = 8)	0,46±0,03 (n = 26)	0,35±0,03 (n = 20)	P <sub>1-5</sub> < 0,05 P <sub>1-6</sub> > 0,05 P <sub>5-6</sub> < 0,05 P <sub>1-2</sub> < 0,05 P <sub>2-6</sub> > 0,05
4.	Активність каталази, мккат/г×хв	0,74±0,034 (n = 10)	0,73±0,014 (n = 8)	0,35±0,047 (n = 18)	0,47±0,035 (n = 20)	P <sub>1-5</sub> < 0,0001 P <sub>1-6</sub> < 0,05 P <sub>5-6</sub> < 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-6</sub> < 0,05



Вміст ТБК-активних продуктів у слинних залозах щурів, яким здійснювали корекцію паклітаксел-індукованої нейропатії, вірогідно зменшувався 1,44 раза, у порівнянні із тваринами з токсичною нейропатією без корекції, але був вищим у 1,57 раза, порівняно з цим показником у інтактної групи. Активність каталази у гомогенаті слинних залоз щурів за умов корекції комплексом вітамінів та АТФ на тлі токсичної нейропатії була достовірно у 1,34 раза вищою, порівняно з тваринами, яким викликали нейропатію без корекції, проте у 1,57 раза нижчою, ніж у інтактних щурів (табл. 4.6).

Таким чином, метаболічна корекція експериментальної паклітаксел-індукованої нейропатії шляхом введення комплексу, що містив динатрію аденозинтрифосфату тригідрат, кокарбоксилазу, нікотинамід та ціанокобаламін протягом 9 днів відновлювала білоксинтетичну функцію слинних залоз щурів, пригнічувала оксидативний стрес, нормалізувала вільнорадикальні процеси та відновлювала протеїназно-інгібіторний баланс.

#### **4.3. Вплив тіамініпрофосфату, нікотинаміду, ціанокобаламіну та АТФ на слинні залози тварин за умов етанол-індукованої нейропатії**

Julian T. та ін. [96] стверджують, що дефіцит тіаміну може виступати як додатковим фактором ризику, так і безпосередньо викликати нейропатію, яка накладається на нейропатію, спричинену нейротоксичною дією етанолу.

В ході досліджень було встановлено збільшення ПБЧ у тварин, яким упродовж 72 днів вводили етанол різної концентрації. У щурів, яким вводили комплекс вітамінів групи В та АТФ упродовж 9 днів після моделювання алкогольної нейропатії, ПБЧ був меншим на 54,7% ( $p < 0,001$ ) порівняно з тваринами, яким моделювали алкогольну нейропатію без корекції, та не відрізнявся від рівня ПБЧ у інтактної групи. Отже, комплекс вітамінів та АТФ відновлював ПБЧ до рівня інтактних тварин за тестом Randall-Selitto у тварин яким моделювали алкогольну нейропатію.



Показано пригнічення білоксинтетичної функції слинних залоз за умов розвитку алкогольної нейропатії у щурів. У тварин, яким робили ін'єкції вітамінів та АТФ впродовж 9 днів на тлі моделювання алкогольної нейропатії, амілолітична активність вірогідно збільшувалась у 1,4 раза порівняно з щурами, яким вводили етиловий спирт без корекції (табл.4.7). [192]

Таблиця 4.7.

**Амілолітична активність слинних залоз тварин за умов  
алкогольної нейропатії та корекції за допомогою комплексу вітамінів  
та АТФ, (M±m)**

№	Біохімічні показники	Група 1. Інтактні	Група 7. Алкогольна нейропатія	Група 8. Алкогольна нейропатія + комплекс вітамінів та АТФ	Група 2. Інтактні + комплекс вітамінів та АТФ	Статистичний показник
1.	Активність $\alpha$ -амілази, мг/с×л	38,8±4,67 (n = 10)	22,83±1,78 (n = 5)	31,97±3,26 (n = 5)	39,76±2,93 (n = 7)	P <sub>1-7</sub> < 0,05 P <sub>1-8</sub> > 0,05 P <sub>7-8</sub> < 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-8</sub> > 0,05

Отримані нами дані свідчать про відсутність змін протеїназно-інгібіторного балансу слинних залоз за умов алкоголізації щурів (табл.4.8).

Загальновідомо, що провідним механізмом нейротоксичного впливу етанолу є розвиток дисбалансу про- та антиоксидантної систем. Нами встановлено вірогідне збільшення вмісту ТБК-реактивних, окисно модифікованих білків та молекул середньої маси на тлі статистично не зміненої активності каталази у слинних залозах щурів за умов розвитку алкогольної нейропатії порівняно з цими показниками у інтактних тварин. Введення АТФ та вітамінів групи В за умов моделювання алкогольної нейропатії призводило до вірогідного зниження вмісту ТБК-реактивних у 1,34 раза, окисно модифікованих білків – 1,32 раза та молекул середньої



маси у 2,1 раза порівняно з тваринами, яким викликали алкоголізацію без корекції (табл.4.9) [192].

Таблиця 4.8.

**Загальна протеолітична та антитриптична активність слинних залоз тварин за умов алкогольної нейропатії та корекції за допомогою комплексу вітамінів та АТФ, (M±m)**

№	Біохімічні показники	Група 1. Інтактні	Група 7. Алкогольна нейропатія	Група 8. Алкогольна нейропатія + комплекс вітамінів та АТФ	Група 2. Інтактні + комплекс вітамінів та АТФ	Статистичний показник
1.	Загальна протеолітична активність, мкг/г×хв	3,33±0,06 (n = 9)	3,11±0,42 (n = 5)	2,97±0,21 (n = 5)	3,37±0,13 (n = 8)	P <sub>1-7</sub> > 0,05 P <sub>1-8</sub> > 0,05 P <sub>7-8</sub> > 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-8</sub> > 0,05
2.	Загальна антитриптична активність, г/кг	32,64±1,74 (n = 9)	36,25±5,38 (n = 5)	35,42±4,75 (n = 6)	32,81±1,96 (n = 8)	P <sub>1-7</sub> > 0,05 P <sub>1-8</sub> > 0,05 P <sub>7-8</sub> > 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-8</sub> > 0,05

Таблиця 4.9.

**Показники оксидативного стресу у слинних залозах щурів за умов алкогольної нейропатії та корекції за допомогою комплексу вітамінів та АТФ, (M±m)**

1	2	3	4	5	6	7
№	Біохімічні показники	Група 1. Інтактні	Група 7. Алкогольна нейропатія	Група 8. Алкогольна нейропатія + комплекс вітамінів та АТФ	Група 2. Інтактні + комплекс вітамінів та АТФ	Статистичний показник
1.	Вміст ТБК-реактивних, мкмоль/г	4,25±0,72 (n = 15)	5,87±0,47 (n = 5)	4,38±0,30 (n = 5)	4,27±0,36 (n = 8)	P <sub>1-7</sub> < 0,05 P <sub>1-8</sub> > 0,05 P <sub>7-8</sub> < 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-8</sub> > 0,05



## Продовження таблиці 4.9.

1	2	3	4	5	6	7
я1	Вміст ТБК-реактантів, мкмоль/г	4,25±0,72 (n = 15)	5,87±0,47 (n = 5)	4,38±0,30 (n = 5)	4,27±0,36 (n = 8)	P <sub>1-7</sub> < 0,05 P <sub>1-8</sub> > 0,05 P <sub>7-8</sub> < 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-8</sub> > 0,05
2.	Вміст молекул середньої маси, у.о.	0,294±0,003 (n = 8)	0,390±0,021 (n = 5)	0,296±0,005 (n = 5)	0,295±0,006 (n = 8)	P <sub>1-7</sub> < 0,05 P <sub>1-8</sub> > 0,05 P <sub>7-8</sub> < 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-8</sub> > 0,05
3.	Уміст ОМБ, у.о.	0,34±0,02 (n = 10)	1,20±0,14 (n = 5)	0,57±0,11 (n = 6)	0,24±0,03 (n = 8)	P <sub>1-7</sub> < 0,05 P <sub>1-8</sub> > 0,05 P <sub>7-8</sub> < 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-8</sub> > 0,05
4.	Активність каталази, мккат/г×хв	0,74±0,034 (n = 10)	0,68±0,06 (n = 6)	0,72±0,096 (n = 5)	0,73±0,014 (n = 8)	P <sub>1-7</sub> > 0,05 P <sub>1-8</sub> > 0,05 P <sub>7-8</sub> > 0,05 P <sub>1-2</sub> > 0,05 P <sub>2-8</sub> > 0,05

Отже, метаболічна корекція комплексом, що містить кокарбоксілазу, нікотинамід, ціанкобаламін та аденозинтрифосфат, за умов тривалої алкоголізації тварин запобігає нейротоксичності, пригнічує розвиток карбонільно-оксидативного стресу та відновлює білоксинтетичну функцію слинних залоз щурів.

#### 4.4. Патоморфологічні зміни у слинних залозах тварин за умов введення комплексу вітамінів та АТФ на тлі стрептозоцин-індукованої нейропатії.

Введення вітамінів групи В суттєво не впливало на структурну організацію піднижньощелепних слинних залоз щурів. Епітеліоцити



кінцевих відділів щільно прилягали до базальної мембрани. Секреторні гранули рівномірно заповнювали цитоплазму.

Ядра протокових епітеліоцитів розміщувались у центрі клітин, мали округлу форму і чітко візуалізувались ядерця. У посмугованих протоках базальна посмугованість була збереженою. Судини гемомікроциркуляторного русла мали нормальне кровонаповнення (рис. 4.27).

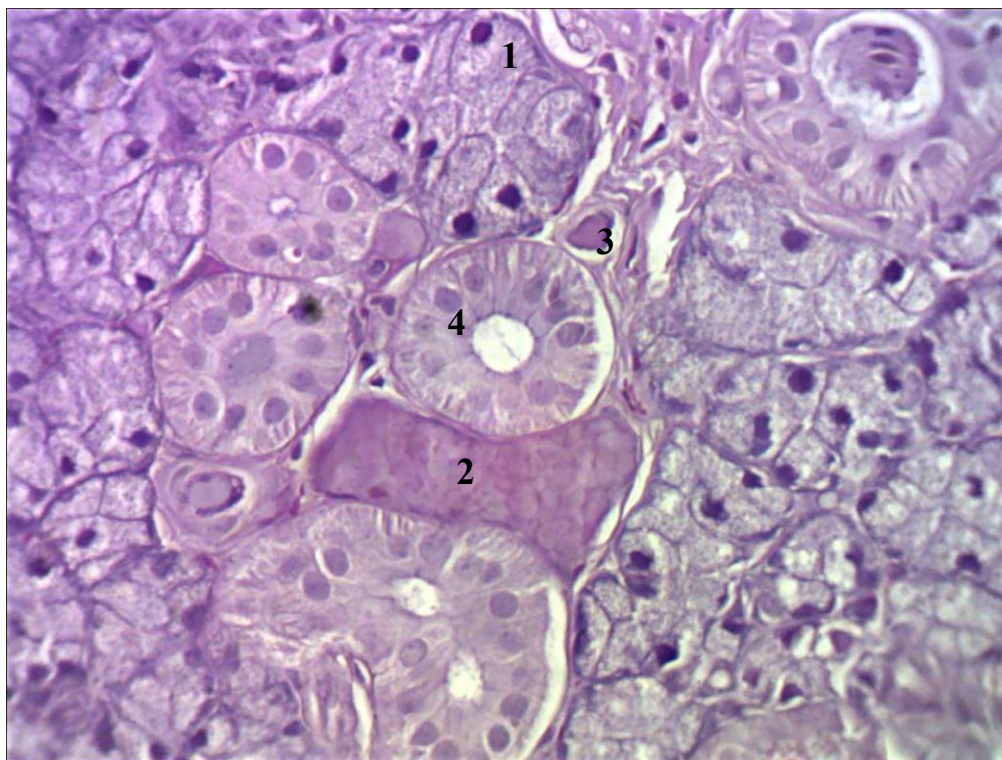


Рис. 4.27. Піднижньощелепна слинна залоза щура після введення комплексу вітамінів та АТФ. Парафіновий зріз. Забарвлення: гематоксилин-еозин. Збільшення: Ок. 10, Об. 40.

- 1 – екзокриноцит кінцевого відділу;
- 2 – вена;
- 3 – капіляр;
- 4 – посмугована протока.

Внаслідок введення комплексного препарату, до складу якого входить кокарбоксілаза, нікотинамід, ціанкобаламін та АТФ, щурам із стрептозоцин-індукованою нейропатією явища периацінарного набряку були помітно



меншими, ніж у слинних залозах тварин з діабетичною нейропатією без корекції. Епітеліоцити кінцевих відділів були збережені. Їхня структура не була порушеною (рис. 4.28).

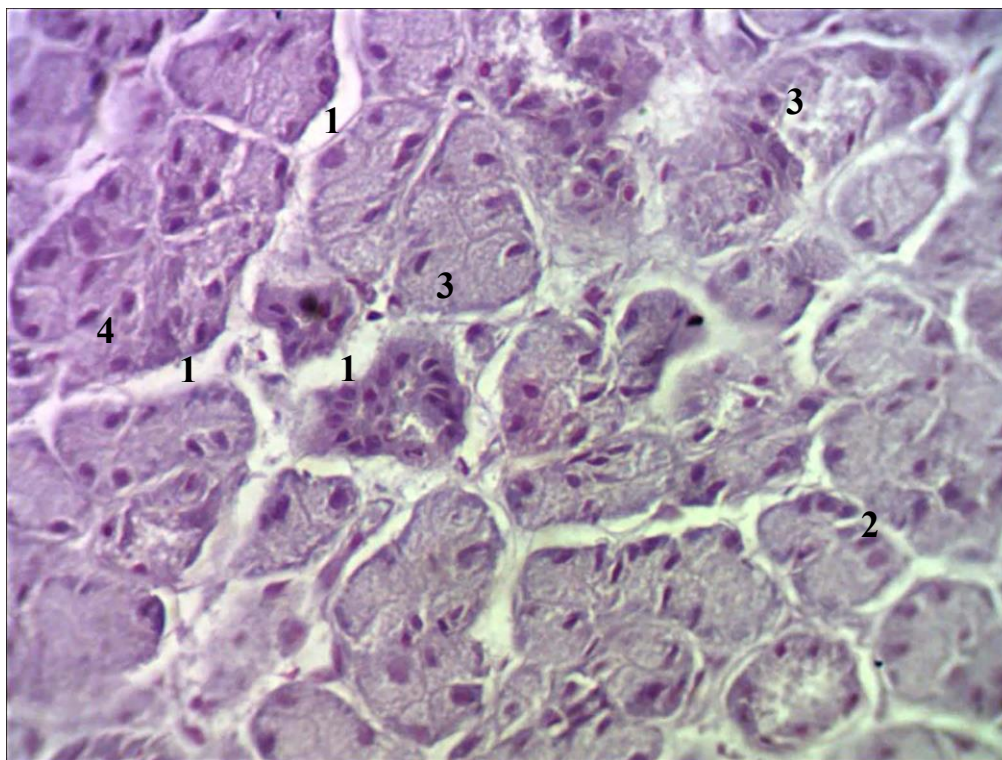


Рис. 4.28. Незначний периацинарний набряк у піднижньощелепній слинній залозі щура за умов корекції стрептозоцин-індукованої нейропатії комплексом вітамінів та АТФ. Парафіновий зріз. Забарвлення: гематоксилин-еозин. Збільшення: Ок. 10, Об. 40.

- 1 – локальний периацинарний набряк;
- 2 – помірний периацинарний набряк;
- 3 – екзокриноцит кінцевого відділу;
- 4 – ексцентричне розташування ядра.

У протоках піднижньощелепних слинних залоз щурів, яким проводили експериментальну корекцію мультивітамінним комплексом на тлі індукованої діабетичної нейропатії, локально, переважно у гранулярних, спостерігалися дистрофічні зміни епітеліоцитів, а також їхня деструкція та десквамація у просвіті (рис. 4.29). Перфузія крові у судинах





гемомікроциркуляторного русла як у перипротокових, так і периацінарних, не відрізнялася від такої у щурів інтактної групи [195].

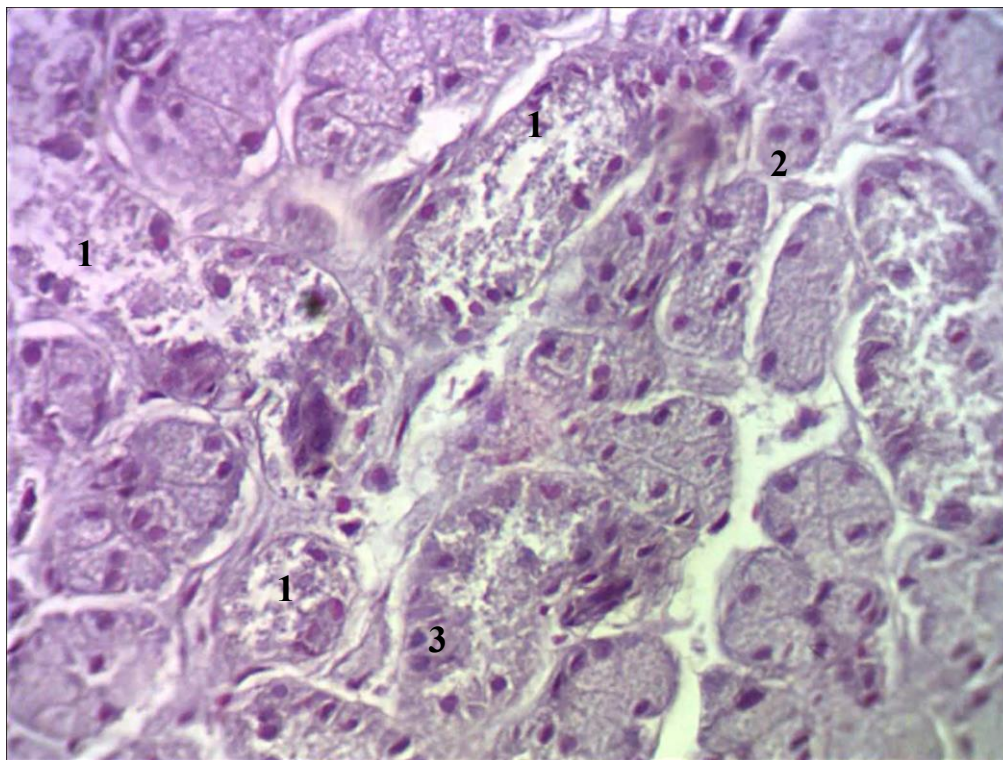


Рис. 4.29. Локальна деструкція та десквамація епітеліоцитів гранулярних проток у піднижньощелепній слинній залозі щура за умов корекції стрептозоцин-індукованої нейропатії комплексом вітамінів та АТФ. Парафіновий зріз. Забарвлення: гематоксилин-еозин. Збільшення: Ок. 10, Об. 40.

- 1 – десквамація епітеліоцитів;
- 2 – кінцевий відділ;
- 3 – посмугована протока.

#### **Висновки розділу:**

1. За умов введення комплексу кокарбоксілази, нікотинаміду, ціанокобаламіну і АТФ на тлі моделювання паклітаксел-, стрептозоцин- та етанол-індукованої нейропатії нормалізується білоксинтетична функція слинних залоз, про що свідчить зростання активності амілази.



2. Дев'ятиденне введення комплексу нейротропних вітамінів і АТФ за умов моделювання діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії нормалізувався баланс про- та антиоксидантної системи слинних залоз тварин про що свідчить зменшення прооксидантів на тлі вірогідного зростання антирадикального захисту.

3. Ефективність комплексу нейротропних вітамінів і АТФ підтверджена патоморфологічними дослідженнями, про що свідчить зменшення периацинарного набряку, збереження епітеліоцитів кінцевих відділів у піднижньощелепних слинних залозах тварин з діабетичною нейропатією за умов введення кокарбоксілази, нікотинаміду, ціанокобаламіну і АТФ.

4. Метаболічна корекція експериментальної паклітаксел-, стрептозоцин- та етанол-індукованої нейропатії шляхом введення комплексу кокарбоксілази, нікотинаміду, ціанокобаламіну і АТФ протягом 9 днів відновлювала білоксинтетичну функцію великих слинних залоз щурів, пригнічувала оксидативний стрес та нормалізувала протеїназно-інгібіторний баланс.

**Матеріали даного розділу викладені в наступних публікаціях:**

1. Tykhonovych K, Kryvoruchko T, Nikitina N, Berehovi S, Neporada K. Correction of pathological changes in salivary glands of animals with paclitaxel-induced neuropathy. *Exp Oncol*. 2024 May 31;46(1):38-44. doi: 10.15407/exp-oncology.2024.01.038. PMID: 38852054.
2. Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС, Береговий СМ. Корекція Кокарнітом патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної нейропатії. *Med Clin Chem*. 16 черв. 2022;(1):39-45.
3. Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС, Береговий СМ. Корекція нейротоксичності та патологічних змін у слинних залозах



0108199708957692

тварин за умов алкогольної нейропатії. Вісн. мед. і біол. дослідж.  
14 груд. 2022;(4):63-7.

4. Tykhonovych KV, Neporada KS, Yeroshenko GA. Pathomorphological changes in salivary glands of rats under the condition of diabetic neuropathy and correction. World Med Biol. 2023;19(83):229.



## РОЗДІЛ V

## АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Периферична нейропатія є поширеним станом, який можна зустріти в багатьох клінічних ситуаціях. Симптоми варіюються від легких до таких, що призводять до втрати життєдіяльності, залежно від типів уражених нервових волокон та тяжкості пошкодження. Найрозповсюдженішою формою нейропатії у світі є діабетична периферична нейропатія [14,23,27,200].

Згідно численних клінічних досліджень, ключовим фактором ризику діабетичної нейропатії є метаболічний синдром, що охоплює гіперглікемію, ожиріння та дисліпідемію [6,47]. Стійка гіперглікемія під час ЦД викликає активацію/гальмування різних метаболічних шляхів, які відіграють важливу роль у гомеостазі нейронів та інших клітин. Порушення цих шляхів призводить до апоптозу та мітохондріальних дисфункцій, викликаючи нейропатію. Основними механізмами патофізіології діабетичної нейропатії є окиснювальний стрес, глюкотоксичність з утворенням прогресуючих кінцевих продуктів глікації та спричинена мікроангіопатією ендотеліальна дисфункція [5].

Гіперглікемія може активувати кілька побічних шляхів утилізації глюкози, таких як поліоловий шлях, шлях протеїнкінази С (PKC), утворення кінцевих продуктів глікації, шлях біосинтезу гексозаміну, що призводить до збільшення АФК та запалення, відповідно, в основному через пошкодження мітохондрій, що сприяє тривалій дисфункції нервової системи [52,134,201].

Основними ферментами поліолового шляху є альдозоредуктаза та сорбітолдегідрогеназа [202]. NADPH-залежна альдозоредуктаза перетворює глюкозу у сорбіт, який перетворюється на фруктозу за допомогою NAD<sup>+</sup>-залежної сорбітолдегідрогенази. За нормальної концентрації глюкози альдозоредуктаза виявляє меншу спорідненість до глюкози [202]. У



результаті низький відсоток глюкози метаболізується цим шляхом. Однак, коли внутрішньоклітинна концентрація глюкози зростає в стані гіперглікемії, більше глюкози перетворюється на сорбіт та фруктозу. Відновний еквівалент переходить від NADPH до NADH, що призводить до зниження рівня NADPH, підвищення NADH та відновного стресу [203]. Цей стрес разом із мітохондріальною дисфункцією порушує функції клітин Швана, викликає порушення мієлінізації, аномальну нейротрофічну підтримку аксона і, як результат, втрату функції аксона [204]. Через підвищення концентрації сорбіту та фруктози спостерігаються такі явища, як зменшення витоку міоїнозиту, пригнічення синтезу АТФ і, як наслідок, зниження активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФази. Крім того, також досліджується дисфункція аксонів-глії та зниження швидкості нервової провідності через структурну дегенерацію нервів. Це також викликає зниження регуляції шляху відновлення глутатіону, що спричиняє накопичення вільних радикалів і пероксидів, таким чином посилюючи пошкодження нервів і спричиняючи NO-опосередковану вазодилатацію [205]. В той час, як поліоловий шлях виробляє надлишок NADH; з іншого боку, відбувається активація полі(АДФ-рибоза)-полімерази, що може потенційно виснажити  $\text{NAD}^+$  та призвести до великого тиску на мітохондріальний комплекс I, який відповідає за окислення NADH і виробництво  $\text{NAD}^+$ , і, як наслідок, спричинити збільшення виробництва АФК [203]. За нормальних умов PARP бере участь у відновленні ДНК та індукції апоптозу. Умови гіперглікемії призводять до утворення активних форм кисню та азоту, які ініціюють одноланцюгові розриви ДНК і регулюють швидку активацію PARP. Передбачає виснаження внутрішньоклітинного  $\text{NAD}^+$  із одночасним інгібуванням гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази шляхом АДФ-рибозилування внаслідок надмірної активації PARP сприяє подальшому утворенню супероксиду й пероксинітриду [50, 54].

Глюкозамін є попередником уридиндифосфату N-ацетилглюкозаміну (UDP-GlcNAc), основного продукту шляху біосинтезу гексозаміну, і часто



використовується для імітації його активації. Шлях біосинтезу гексозаміну походить від гліколізу та починається з реакції, яка перетворює фруктозо-6-фосфат на глюкозамін-6-фосфат, що каталізується глутамін-фруктозо-6-фосфат амінотрансферазою. Підвищене виробництво UDP-GlcNAc призводить до зміни експресії генів й функції білка та зрештою спричиняє дисфункцію судин, запалення та окислювальний стрес [54]. На додаток до активації шляху біосинтезу гексозаміну, потік глюкозаміну конкурентно пригнічує поглинання глюкози, знижуючи експресію глюкокінази в  $\beta$ -клітинах підшлункової залози або гепатоцитах, що призводить до індукції стресу ЕПР або апоптотичної загибелі клітин незалежно від шляху біосинтезу гексозаміну [52].

Численні дослідження підтвердили участь протеїнкінази C (PKC) у розвитку діабетичної нейропатії [206]. Протеїнкіназа C складається з сімейства серин/треонін протеїнкіназ, які відповідають за багато клітинних процесів і впливають на каскад сигнальної трансдукції, пов'язаний з апоптозом, диференціюванням і проліферацією. У рамках шляху PKC гліцеральдегід-3-фосфат перетворюється на дигідроксиацетон, який потім перетворюється на гліцерин-3-фосфат і, зрештою, на диацилгліцерол (ДАГ). ДАГ та кінцеві продукти глікації (AGE) активують PKC, яка в подальшому посилює низку сигнальних каскадів шляхом фосфорилування білка. PKC бере участь в активації фактора росту ендотелію судин (VEGF), активатора плазміногену inhibitor-1 (PAI-1), трансформуючого фактора росту бета-1 (TGF- $\beta$ ) і ядерного фактора  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) що призводить до мікросудинних ускладнень. PKC також регулює  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазу, спричиняючи нормалізацію швидкості провідності сідничного нерва та нервового кровотоку [207].

Гіперглікемія є причиною глікації численних структурних і функціональних білків з утворенням та накопиченням кінцевих продуктів глікації. Що стосується діабетичної нейропатії, загальноприйнятим механізмом є те, що позаклітинні AGE взаємодіють зі специфічним





рецептором AGE, відомим як RAGE на поверхні клітини [208], спричиняючи надмірне виробництво ROS, тим самим активуючи NF-κB через активацію p21ras і сигнального шляху мітоген-активованої білкової (MAP) кінази, що модулює транскрипцію гена для ендотеліну-1, тканинного фактора, тромбомодуліну; спричиняє вивільнення прозапальних цитокінів, таких як інтерлейкін-1α, інтерлейкін-6 і фактор некрозу пухлини-α; посилює експресію молекул адгезії та призводить до посиленого виробництва ROS та запалення [58,67,201].

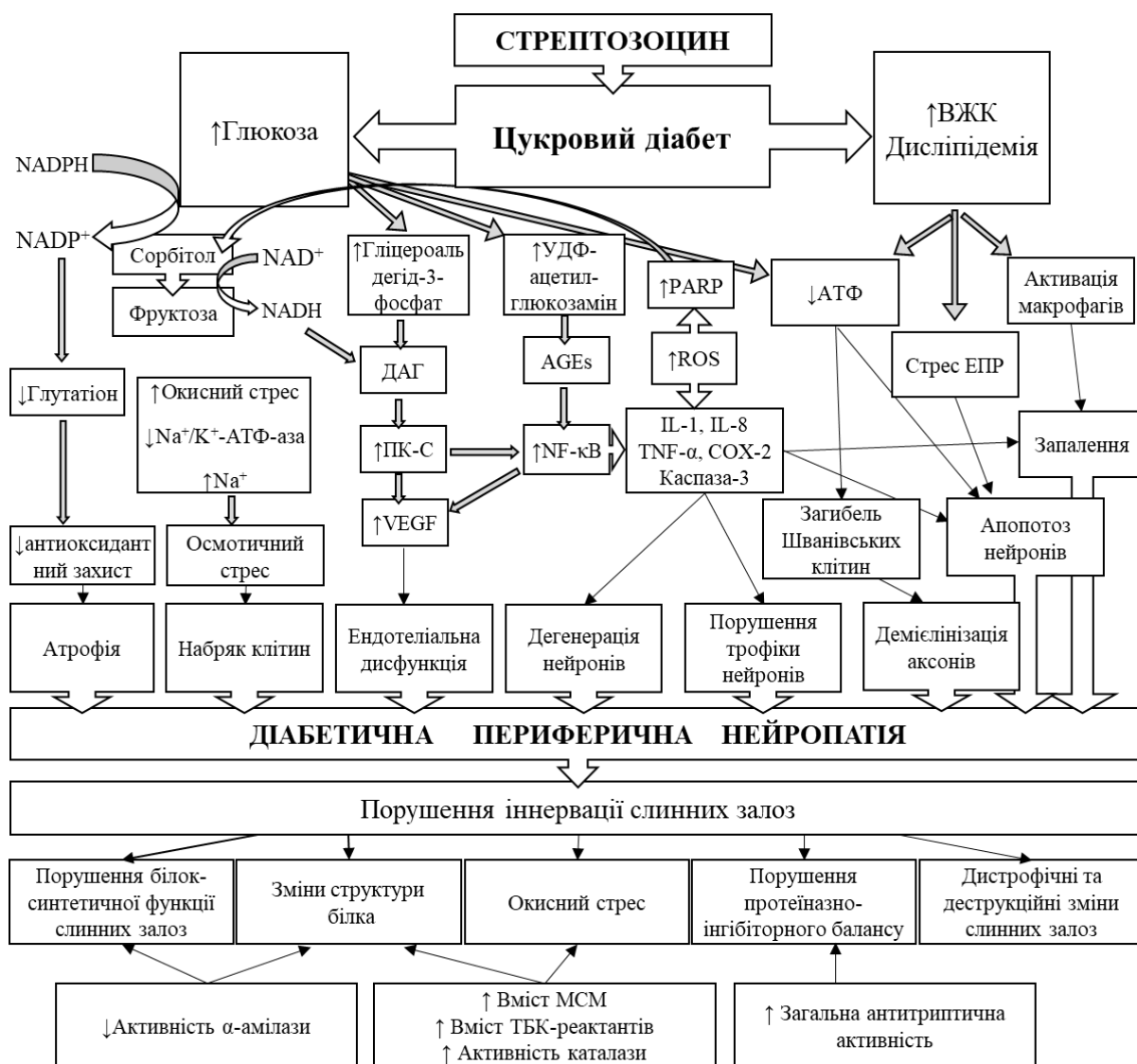


Рис. 5.1. Концептуальна схема патогенезу діабетичної нейропатії за власними та літературними даними.



Надлишкові рівні вільних жирних кислот, внаслідок ліполізу, можуть пошкодити периферичну нервову систему, зокрема клітини Шванна, через утворення ROS та системне й місцеве запалення через активацію макрофагів з подальшим виробництвом цитокінів і хемокінів [31]. Крім того, надмірна кількість жирних кислот погіршує нейрональну мітохондріальну передачу та біоенергетичну функцію [60], викликає стрес ендоплазматичного ретикулуму та окислювальний стрес, що зрештою призводить до загибелі клітини [54,61]. Інші ліпіди також негативно впливають на периферичну нервову систему при діабетичній нейропатії. Окислення холестеролу до окистеролів у нейронах опосередковує пошкодження тканини, тоді як ліпопротеїни плазми, особливо ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ), окислюються ROS і зв'язуються з окисленим рецептором ЛПНЩ 1, Toll-подібним рецептором 4 та RAGE. Зв'язування окислених ЛПНЩ з цими рецепторами активує серію сигнальних каскадів, включаючи активацію каспази 3 і деградацію ядерної ДНК, що опосередковує додаткове запалення та накопичення ROS із тривалим і прогресуючим пошкодженням нерва [31].

У щурів з експериментальним цукровим діабетом, який моделювали шляхом одноразового введення високої дози стрептозоцину, відмічався розвиток та прогресування периферичної діабетичної нейропатії, що підтверджувалося зростанням порогу больової чутливості на 14, 28 та 40 день дослідження у порівнянні з 0 днем.

Важливим дослідженням патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної нейропатії є визначення активності  $\alpha$ -амілази. Саліваторна  $\alpha$ -амілаза становить значну частину білка, що продукують слинні залози, і є основним травним ферментом слини. Завдяки простоті збору, неінвазивності та нижчої вартості, білки слини останнім часом використовуються як потенційні біомаркери для діагностики та прогнозу хронічних захворювань. Аналіз сучасної наукової літератури щодо визначення активності  $\alpha$ -амілази в слині у пацієнтів з ЦД показав суперечливі результати: значне зростання активності слинної  $\alpha$ -амілази у



пацієнтів із ЦД порівняно з контролем натщесерце було доведено науковцями [209-212] та зниження активності амілази в слині у пацієнтів з ЦД отримали автори [213-215].

За нашими даними, розвиток стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії зумовлює пригнічення білоксинтетичної активності піднижньощелепних слинних залоз тварин, наслідком чого є зменшення активності амілази. Наші дослідження співпадають з результатами інших науковців, які довели зниження експресії білків, що синтезують слинні залози, та пригнічення секреторної здатності слинних залоз як у пацієнтів із цукровим діабетом [104,119], так і у доклінічних дослідженнях на тваринах [122,216]; а також [217,218], які стверджують наявність причинно-наслідкового зв'язку між інсуліновою недостатністю та низькою активністю амілази в сироватці крові у пацієнтів з ожирінням й цукровим діабетом.

Ще однією можливою причиною зменшення активності амілази у гомогенаті слинних залоз тварин за умов стрептозоцин-індукованої нейропатії, на нашу думку, є зменшення каталітичної активності фермента. Це може бути спричинено конформаційними змінами білкової молекули, які виникають під впливом високо реакційних сполук: вільних радикалів, активних форм кисню та азоту, продуктів ПОЛ.

За умов нормального метаболізму в організмі утворюється ряд активних форм кисню, що можуть бути як радикальними, так і нерадикальними й мати різний ступінь реактивності. І хоча вони виконують певні функції, зокрема контролюють клітинний метаболізм шляхом модифікації активності ферментів й факторів транскрипції, а також регуляції експресії генів і епігенетичних модифікацій [219], їх присутність повинна бути збалансована системою антиоксидантного захисту. Дисбаланс між антиоксидантною й прооксидантною системами супроводжується розвитком окислювального стресу, що негативно впливає на структуру клітинних мембран, призводить до посилення процесів окислювальної модифікації й деструкції біомолекул (білків, ліпідів, нуклеїнових кислот)



[220,221]. Посилене виробництво активних форм кисню може викликати аутофагію, апоптоз і некроз клітин [222].

Численні дослідження показали, що окислювальний стрес є основною подією в розвитку діабетичних ускладнень та інсулінорезистентності, індукуючи патофізіологічні механізми та ініціюючи низку шкідливих шляхів [223-225]. Його розвиток обумовлений стійкою гіперглікемією, що за рахунок активації побічних шляхів утилізації глюкози призводить до надмірної продукції ROS, які є відповідальними за виникнення та прогресування ускладнень ЦД. Kakkar M та ін. [226] продемонстрували надзвичайне підвищення ТБК-реактивних як біомаркера перекисного окислення ліпідів у гомогенаті сідничного нерва діабетичних щурів Wister, в той час як активність антиоксидантних ферментів, СОД і каталази, в сідничному гомогенаті діабетичних щурів була суттєво знижена.

Для оцінювання інтенсивності вільнорадикальних процесів у тканинах слинних залоз щурів за умов розвитку стрептозоцин-індукованої нейропатії ми визначали вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та окисної модифікації білків у гомогенаті піднижньощелепних та під'язикових слинних залоз. Нами було встановлено, що за умов моделювання діабетичної нейропатії карбонільно-окисний стрес у слинних залозах щурів не розвивається, про що свідчить відсутність статистично достовірних змін вмісту ОМБ порівняно з контролем.

Поліненасичені вищі жирні кислоти, зокрема лінолева та арахідонова, є важливими мішенями перекисного окислення ліпідів. Малоновий діальдегід і 4-гідрокси-2-ноненал є найбільш дослідженими кінцевими продуктами окислення ліпідів. Малоновий діальдегід є одним із кількох кінцевих продуктів низької молекулярної маси, що утворюються шляхом розпаду певних первинних і вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів. Це специфічний маркер перекисного окислення жирних кислот омега-3 і омега-6 [227]. 4-гідрокси-2-ноненал є  $\alpha$ -,  $\beta$ -ненасиченим альдегідом, який утворюється в результаті окислення переважно



арахідонової та лінолевої кислот, які є найпоширенішими вищими жирними кислотами у біомембранах клітин. За низьких концентрацій (менше 1 мкМ) він відіграє роль у передачі сигналів, тоді як у високих концентраціях (від 1 до 10 мкМ) він є токсичним [228]. Малоновий діальдегід виявляє високу спорідненість до утворення аддуктів із залишками амінокислот лізину за допомогою реакції Шиффа. У результаті утворюються як адукти МДА-лізин, так і поперечні зв'язки лізин-МДА-лізин [229]. Утворення аддуктів МДА-білка в основному пов'язане з прозапальними реакціями [230]. Відзначено, що адукти МДА-білка призводять до активації лімфоцитів Th17, стимулюють секрецію прозапальних цитокінів, таких як інтерлейкіни ІЛ-6, ІЛ-8 та ІЛ-25 [231] і може викликати аутоімунні реакції.

Встановлене нами зростання концентрації ТБК-активних продуктів у 2 рази у тканинах слинних залоз щурів за умов експериментальної діабетичної нейропатії свідчило про активацію перекисного окиснення ліпідів. Продукти ліпідної пероксидації, зокрема малоновий діальдегід та його похідні, викликають модифікацію білків та зміну ліпідного бішару мембрани. Радикали ліпідів також можуть спричиняти фрагментацію білкових молекул.

Було показано підвищення вмісту молекул середньої маси на 8,8% у слинних залозах тварин, яким викликали діабетичну нейропатію у порівнянні з інтактними щурами. Молекули середньої маси є важливим біохімічним маркером ендогенної інтоксикації та патологічного білкового обміну [232-234]. До МСМ належать сполуки із відносною молекулярною масою від 500 до 5000 дальтон [235]. До них відносять пептиди, гліко- та нуклеопептиди, ендорфіни, деякі гормони пептидної природи, аміноцукри, поліаміни, олігосахариди, багатоатомні спирти, похідні уронових кислот, нуклеотиди, атерогенні окислені ліпопротеїни, деякі вітаміни та інші. Значна кількість середніх молекул утворюється в результаті порушення обміну білків та деструкції біомолекул. Зростання рівня середніх молекул має токсичну дію на організм, оскільки багато з них володіють певною



біологічною активністю та можуть спричинювати роз'єднання процесів клітинного дихання та окисного фосфорилування, інгібувати біосинтез білка, посилювати гемоліз еритроцитів, пригнічувати активність лейкоцитів, порушувати проникність мембран капілярів, сповільнювати в них швидкість кровотоку [235,236]. Таким чином, зростання концентрації молекул середньої маси у слинних залозах тварин із діабетичною нейропатією вказує на наявність синдрому «ендогенної» метаболічної інтоксикації.

Каталаза є одним з провідних ферментів антиоксидантного захисту, який доповнює СОД у відновленні  $H_2O_2$  до води та молекулярного кисню. Його ефективність вражає висока, оскільки він може зменшити кількість мільйонів молекул  $H_2O_2$  за одну секунду [237]. Відсутність цього ферменту або наявність його мутації на пряму корелює з кількома нейродегенеративними розладами [238]. Повідомлялося, що лікування каталазою зменшує дефіцит пам'яті при хворобі Альцгеймера [239], послаблює нейротоксичність і нейрозапалення [240] і забезпечує значний нейропротекторний ефект при хворобі Паркінсона [241]. Активність каталази у піднижньощелепних слинних залозах тварин із стрептозоцин-індукованою нейропатією достовірно зростала на 13,5% порівняно з інтактними тваринами. Можна припустити, що підвищення активності даного ферменту є захисною реакцією у відповідь на активацію вільнорадикальних процесів. Це свідчить про підвищення антирадикального захисту слинних залоз тварин за умов ДН, що і запобігало розвитку карбонільно-окисного стресу. Отже, за умов моделювання стрептозоцин-індукованої нейропатії у щурів у тканинах піднижньощелепних та під'язикових слинних залоз відбувається активація процесів перекисного окиснення ліпідів на тлі зростання антирадикального захисту, що свідчить про компенсаторний баланс про- та антиоксидантної системи.

За даними Кнаś М. та ін. [121], великі слинні залози підлягають посиленому оксидативному стресу у щурів із стрептозоцин-індукованим ЦД



незалежно від тривалості експерименту; в той же час більш вразливими були привушні слинні залози, що підтверджувалося більшим ступенем та різноманітністю окисного пошкодження за умов експериментального ЦД. Доклінічні дослідження de Souza D. та ін. [242] на щурах показали, що цукровий діабет у тварин, який моделювали введенням стрептозоцину, спричинив підвищення концентрації малонового діальдегіду у піднижньощелепній та привушній слинних залозах, зниження супероксиддисмутазної активності у підщелепній та збільшення каталазної активності у привушній слинній залозі, що збігається з результатами нашого дослідження. Отже, існують деякі особливості про- та антиоксидантного балансу у великих слинних залозах щурів.

Для оцінки системного впливу на організм діабетичної нейропатії, ми оцінювали стан про- та антиоксидантних систем у плазмі крові тварин, яким моделювали експериментальну стрептозоцин-індуковану діабетичну нейропатію.

Експериментальне дослідження показало, що розвиток нейропатії у щурів, викликаній введенням стрептозоцину, супроводжувався накопиченням продуктів ліпідної пероксидації у сироватці крові. У тварин із діабетичною нейропатією вміст дієнових кон'югатів збільшується на 54,17% порівняно з контролем. Вміст дієнових кон'югатів є біохімічним показником кількості первинних продуктів ПОЛ, що утворилися внаслідок дії ROS та вільних радикалів L<sup>•</sup>, LO<sup>•</sup> та LOO<sup>•</sup>. Оцінюючи накопичення дієнових кон'югатів можна передбачити первинні ефекти окисного стресу; вміст основ Шиффа відображає ефективність нейтралізації продуктів вільнорадикального окислення в ліпідах [243]. ТБК-активні продукти (малоновий діальдегід та його похідні), що спричиняють модифікацію білків та зміни ліпідного бішару мембрани. Згідно наших даних, у щурів, яким викликали діабетичну нейропатію, вміст ТБК-активних продуктів вірогідно збільшився на 81%, а вміст шиффових основ – на 99% у порівнянні з цими показниками у контрольних тварин.



Одним із ранніх маркерів ушкодження тканин активними формами кисню є зростання концентрації продуктів окисної модифікації протеїнів. Ми виявили, що у тварин, яким вводили стрептозоцин, у сироватці крові вірогідно зростає вміст продуктів окисної модифікації білків як нейтрального, так і лужного характеру. Окиснення білкових молекул та накопичення таких модифікованих білків порушує нормальне функціонування організму на клітинному рівні, оскільки ці процеси призводять до втрати структурної або ферментативної активності білка, незворотного ушкодження мембранних структур, порушення їх проникності та загибелі клітин шляхом апоптозу або некрозу.

Сульфгідрильні групи відіграють значну роль у тканинному диханні, окисному фосфорилуванні, регулюють проникність мембран, входять до складу активних центрів тіоферментів, чим зумовлюють їх каталітичну активність, беруть участь у підтриманні просторової структури білків. Вміст HS-груп є важливим показником окисної модифікації білків. Наше дослідження показало, що відтворення діабетичної нейропатії у щурів супроводжувалося зменшенням вмісту SH-груп у сироватці крові: як білкових, так і небілкових. Зниження рівня тіольних груп може бути спричинене посиленням утворення вільних радикалів та інтенсифікацією процесів ПОЛ, а також послаблення антиоксидантних резервів організму.

В ході експерименту нами було встановлено зниження рівня окисленого глутатіону у сироватці крові тварин із діабетичною нейропатією, а також вірогідне зменшення активності ферментів глутатіонової системи - глутатіонредуктази, глутатіонтрансферази та глутатіонпероксидази.

Два ендогенних антиоксидантних ензиму, СОД і каталаза, вважаються ранніми засобами захисту від вільних радикалів та ROS або активних форм азоту. СОД захищає біологічні тканини від надзвичайно чутливих супероксидних аніонів, перетворюючи їх на гідроген пероксид. Каталаза має вирішальне значення для утилізації цитотоксичного шкідливого перекису водню [226]. За умов розвитку діабетичної нейропатії спостерігали





зростання активності СОД в сироватці крові тварин, в той же час активність каталази знижувалася порівняно з контролем, що свідчить про накопичення супероксиду-аніон радикала. Оскільки СОД інактивує супероксиданіон-радикал через його дисмутацію у гідроген пероксид, який в свою чергу розкладається у каталазній реакції, підвищення активності СОД на тлі зниження каталазної активності вказує на накопичення пероксиду водню в сироватці крові за умов моделювання діабетичної нейропатії.

Серед потенційних біологічних маркерів, отриманих зі слини, протеази є багатообіцяючими кандидатами, оскільки вони беруть участь у кількох фундаментальних фізіологічних процесах, і їх активність жорстко контролюється за допомогою численних механізмів. Протеоліз регулює життєво важливі механізми, такі як ембріологічний розвиток, імунна відповідь, згортання крові тощо. Крім того, деякі дослідження пов'язують зростання протеолітичних ферментів з аутоімунними захворюваннями. Наприклад, металопротеїназа-9 збільшується в сироватці крові пацієнтів із системним червоним вовчаком, а дипептидилпептидаза-4/CD26 – у сироватці крові хворих на цукровий діабет 1 типу, ревматоїдний артрит, системний червоний вовчак і запальні захворювання кишечника [244,245]. Протеолітичні ферменти відіграють важливу роль у дегенерації тканин, тому такі органи, як слинні залози, розробили захисний механізм, що включає продукцію інгібіторів протеолізу, які пригнічують активність протеаз, тим самим запобігаючи загибелі клітин. Одним із таких інгібіторів протеаз є альфа-1 антитрипсин. Альфа-1 антипротеїназа антитрипсин належить до сімейства серпінових білків, які функціонують як інгібітори серинових протеаз і захищають секреторні клітини від протеолітичних ферментів, особливо від еластаз, що продукуються лімфоцитами [246]. У нашому дослідженні ми не виявили достовірних змін загальної протеолітичної активності у слинних залозах тварин за умов розвитку стрептозоцин-індукованої нейропатії. В той же час загальна антитриптична активність вірогідно зростала, що, на нашу думку, й запобігало активації



протеолітичних процесів. Це узгоджується із даними літератури, де стверджується, що альфа-1 антипротеїназа антитрипсин також має різноманітні цитопротекторні та протизапальні ефекти, що свідчить про те, що альфа-1 антипротеїназа антитрипсин викликає «реакцію на виживання» [247-249]. Отже, протеїназно-інгібіторний баланс піднижньощелепних слинних залоз щурів із діабетичною нейропатією змінюється за компенсаторним типом, що підтверджується збільшенням загальної антитриптичної активності на тлі відсутності достовірних змін активності протеаз.

Аналізуючи поріг больової чутливості у тварин за умов моделювання паклітаксел-індукованої нейропатії нами встановлено розвиток механічної гіперчутливості з поступовим початком та досягненням піку впродовж кількох тижнів у щурів внаслідок введення низьких доз паклітакселу протягом 4 днів (0, 2, 4 та 6). Підвищена гіперчутливість у щурів, викликана паклітакселом, спостерігається впродовж декількох місяців, зменшуючись з часом, та зникає приблизно через 6 місяців після першої ін'єкції паклітакселу.

Нейротоксичність паклітакселу експериментально доведена науковцями, які повідомляють про пряме пошкодження периферичних нервів, втрату нейрональних волокон і демієлінізацію, спричинену інгібуванням деполімеризації тубуліну і, як наслідок, порушується аксональний транспорт основних клітинних компонентів, що викликає дегенерацію дистальних нервових сегментів і ремоделювання аксональної мембрани [8]. Дослідження Duggett N.A. та ін. [88] свідчать про те, що більшість нейротоксичних ушкоджень, спричинених паклітакселом, спрямовані на ганглії спинного корінця та периферичні чутливі нерви, до яких відноситься трійчастий. Дослідження Staff N.P. та співавторів [87] показали, що паклітаксел індукує змінену сигналізацію кальцію, вивільнення нейропептидів та фактору росту, пошкодження мітохондрій та утворення активних форм кисню, а також може активувати іонні канали, які



опосередковують реакцію на позаклітинні сигнали; ці різноманітні зміни можуть бути вторинними щодо індукованого паклітакселом впливу на мікротрубочки цитоскелету. Було показано, що на цих моделях лікування паклітакселом впливає на різні типи клітин периферичної та центральної нервової системи, включаючи нейрони гангліїв спинного корінця, клітини Шванна, сателітні гліальні клітини, мікроглію, епідерміс і спинальні астроцити.

Таким чином, згідно літературних даних, таксани викликають ушкодження нервів трьома основними механізмами: зміна динаміки мікротрубочок, мітохондріальна дисфункція та окислювальний стрес у периферичних нервах. Пошкодження нерва супроводжується периферичним і центральним запаленням та змінами в активності іонних каналів (TRP, Ca<sub>v</sub>, Na<sub>v</sub>, K<sub>v</sub> і K<sub>ATP</sub>), що призводить до периферичної нейропатії [250]. Змінена динаміка мікротрубочок може призвести до порушення нейронального транспорту білків, органел, поживних речовин, нейромедіаторів і мРНК через аксони [251,252]. Порушення мітохондріального транспорту призводить до недостатнього постачання АТФ, необхідного для аксонального транспорту, а також зумовлює руйнування йонного градієнта в аксолемі, що має вирішальне значення для електрохімічних імпульсів. Таким чином, стабілізація мікротрубочок призводить до втрати аксонального транспорту, що сприяє дегенерації аксонів або аксонопатії [76,252]. Пошкодження мітохондрій, спричинене паклітакселом, додатково зумовлює утворення активних форм кисню, що призводить до внутрішньоаксонального окисного стресу, як вказують численні дослідження [253-256]. ROS, у свою чергу, викликають пошкодження мітохондрій, викликаючи фрагментацію ДНК і втрату потенціалу мітохондріальної мембрани [257]. Зростання ROS посилює експресію матрикс-металопротеїнази 13 (MMP-13), що сприяє деградації матриці та дегенерації аксонів в епідермісі [258]. Крім того, викликані паклітакселом зміни у відкритті пор проникності також змінюють потік кальцію, що



призводить до дефіциту дихального ланцюга мітохондрій і, як наслідок, до дефіциту АТФ [76].

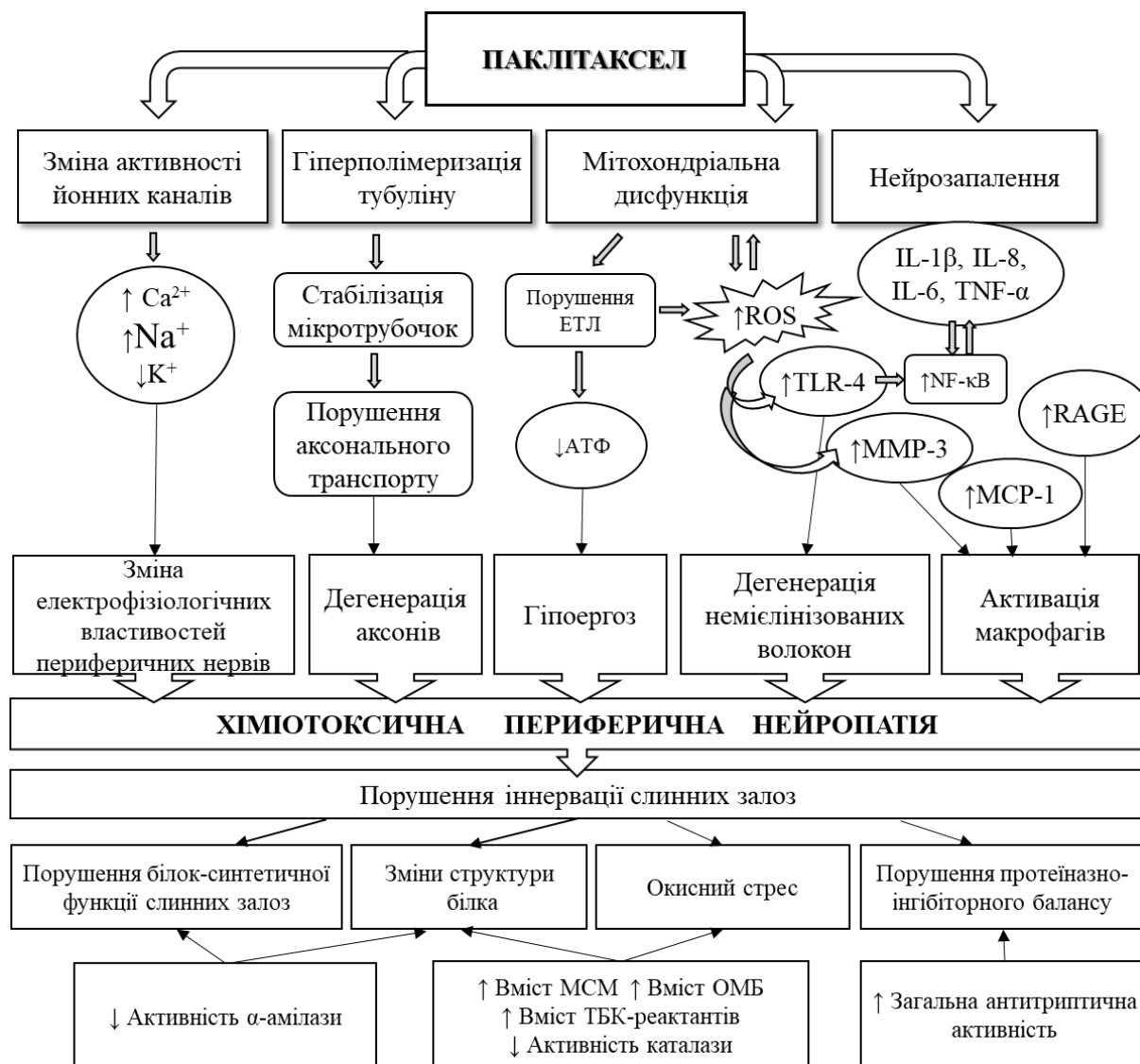


Рис. 5.2. Концептуальна схема патогенезу хімотоксичної нейропатії за власними та літературними даними.

Крім того, все більше доказів свідчить про те, що ненеурональні клітини, включаючи мікроглію та астроцити ЦНС, також беруть участь у ініціації та зникненні болю. Активація спінальних астроцитів викликає секрецію прозапальних цитокінів, тобто фактора некрозу пухлини  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), інтерлейкіну-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, IL-8 [259] та хемокінів CXCL1, CXCL12 і CX3CL1, та інфільтрації нерезидентних макрофагів у DRG, що призводить до невропатичного болю [260]. Також паклітаксел індукує запальну реакцію



шляхом активації шляху Toll-подібного рецептора 4 (TLR4) і збільшення експресії MCP-1 [261]. Лікування паклітакселом індукує дисрегуляцію мікроглії в дорсальному розі спинного мозку та підвищує експресію канабіноїдного рецептора 2 типу (CB2), а також хемокінів, CCL2 та інтерлейкінів (IL-6, IL-4 та IL-10) [262-263]. Також було виявлено механічний зв'язок між комплементом, ключовим компонентом вродженої імунної системи, та периферичною нейропатією, спричиненою паклітакселом через активацію компонента комплементу 3 (C3) [264].

За нашими даними, протеїназно-інгібіторний потенціал у великих слинних залозах щурів за умов паклітаксел-індукованої нейропатії змінюється за компенсаторним типом, що підтверджується збільшенням загальної антитриптичної активності на тлі відсутності достовірних змін активності протеаз. Цікаво, що експресія епідермальної MMP-13, відіграє роль у розвитку нейропатії щурів і мишей, яким вводили паклітаксел. Cirrincione та ін. [258] стверджують, що MMP-13 є основним індуктором дегенерації аксонів. Раніше було показано, що MMP-13 опосередковує дегенерацію аксонів у *Danio rerio*, оскільки вона посилюється під час лікування паклітакселом, а її фармакологічне інгібування запобігає дегенерації аксонів; однак вакуолізація аксональних мітохондрій все ще відбувається у *Danio rerio*, оброблених інгібіторами. Фармакологічне інгібування MMP-13 шляхом внутрішньоочеревинної ін'єкції або місцевого введення на подушечку лапи щурів також запобігало індукованій паклітакселом нейропатії (механічна гіперчутливість і гіперчутливість до холоду), що свідчить про те, що механізми, залежні від MMP-13, збережені. У сукупності дані вказують на безліч механізмів, що призводять до індукованого паклітакселом пошкодження аксона, включаючи запалення, дефекти агрегації мікротрубочок і транспорту, а також мітохондріальні зміни. Нові молекулярні гравці, спочатку ідентифіковані у *Danio rerio* та підтвержені у ссавців, такі як MMP-13, можуть слугувати новими



мішенями при лікуванні периферичної нейропатії, спричиненої паклітакселом [265].

Численні клінічні дослідження довели, що хіміотерапія викликає окислювальний стрес у пацієнтів [84]. Експериментальні дослідження показали, що лікування нервових стовбурових клітин гангліїв спинного корінця щурів таксанами збільшувало виробництво ROS і окислювальний стрес, знижуючи при цьому метаболічну активність мітохондрій, мембранний потенціал і біодоступність антиоксидантів [85,86]. У своїй роботі Duggett та ін. [88,89] обґрунтували розвиток мітохондріальної дисфункції та посилення утворення активних форм кисню та азоту, спричинене паклітакселом, що, на їхню думку, є важливими факторами нейротоксичності. Вірогідними механізмами розвитку нейродегенерації, опосередкованої окислювальним стресом, вважають гіпоергоз, виснаження антиоксидантного захисту, стабілізацію мікротрубочок цитоскелету, активацію йонних каналів, демієлінізацію, нейрозапалення та апоптоз нейронів [76,87,266].

Аналізуючи стан прооксидантної системи у слинних залозах тварин за умов моделювання паклітаксел-індукованої токсичної нейропатії, нами було встановлено достовірне збільшення вмісту окисно-модифікованих протеїнів, молекул середньої маси та вмісту ТБК-активних продуктів порівняно з цими показниками у інтактних тварин на 35%, 41% та 126% відповідно.

Дані літератури свідчать про тісний зв'язок між вмістом МСМ та посиленням вільнорадикальних процесів в організмі, які спричинюють утворення продуктів перекисного окиснення ліпідів та білків. МСМ здатні порушувати фізико-хімічні властивості клітинних мембран, що робить їх більш вразливими до дії різноманітних пошкоджуючих чинників, зокрема, процесів вільно-радикального окиснення ліпідів [267]. Порушення в клітинах, тканинах або органах, викликані розвитком патологічного процесу, призводять до значних змін кількісних та якісних характеристик



MCM. Зміна концентрації MCM може бути інтегральним показником порушення обміну речовин, і перш за все відображати патологічні зміни білкового метаболізму [268]. Активні форми кисню спричинюють окисну модифікацію протеїнів за умов перебігу як нормальних, так і патологічних процесів. Вважається, що негативний ефект вільнорадикального окиснення білків у клітинах пов'язаний із тим, що окиснені протеїни слугують джерелом вільних радикалів, які виснажують клітинні антиоксидантні системи, а їхні продукти можуть спричинити окиснювальне ураження молекул ДНК. Враховуючи вищенаведене, перекисне окиснення білків є найбільш раннім маркером окиснювального стресу [269,270]. Інтенсифікація окисної модифікації білків є наслідком порушення рівноваги між процесами, що регулюють синтез та окиснення білків, а також зменшенням активності протеаз, які селективно розщеплюють окиснені білкові молекули. Серед причин посилення окисної модифікації протеїнів виділяють активацію ПОЛ, оскільки продукти пероксидації ліпідів, зокрема малоновий діальдегід, реагують із лізиновими залишками білків і, таким чином, спричиняють їх деградацію з утворенням різноманітних цитотоксичних сполук. Іншою причиною інтенсифікації окисної модифікації білків може бути порушення антиоксидантного захисту [271]. Одним із потужних антиоксидантних ферментів, який знешкоджує токсичний для організму гідроген пероксид, є каталаза. З'ясування активності ферментативної ланки системи антиоксидантного захисту, було одним із завдань нашого дослідження. Активність каталази, згідно результатів нашої роботи, у підщелепних та під'язикових слинних залозах щурів за умов розвитку паклітаксел-індукованої нейропатії знижується вдвічі. Це може бути пояснене тим, що металоензимами (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, цитохром P-450) піддаються окислювальній модифікації. Будь-яка система, що утворює гідроген пероксид і відновлює  $Fe^{3+}$  до  $Fe^{2+}$  або  $Cu^{2+}$  до  $Cu^{+}$ , може спричинити вибірккову модифікацію білків [271].



Отже, відтворення паклітаксел-індукованої нейропатії супроводжується розвитком карбонільно-оксидативного стресу у великих слинних залозах щурів. Збільшення продуктів перекисного окиснення ліпідів та окисної модифікації білків у слинних залозах щурів із спричиненою паклітакселом нейропатією свідчить про недостатній антиоксидантний захист. Таким чином, зростання прооксидантів на тлі вірогідного зменшення каталази вказує на декомпенсаторний характер про- та антиоксидантної системи слинних залоз тварин за умов розвитку паклітаксел-індукованої нейропатії.

Внаслідок введення паклітакселу у тварин розвивалася хіміотоксична нейропатія, яка супроводжувалася системними змінами, про що свідчить порушення балансу про- та антиоксидантної систем у сироватці крові щурів. Так, нами було встановлено збільшення вмісту дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів та шиффових основ, що свідчить про інтенсифікацію процесів перекисного окиснення ліпідів. В свою чергу, продукти ліпідної пероксидації могли зумовлювати окисну модифікацію білків. Це підтверджувалося експериментальними даними, які показали зростання концентрації нейтральних та лужних продуктів з піками поглинання на 356 нм та 370 нм, а також зниженням вмісту сульфгідрильних груп.

Антиоксидантний захист за умов моделювання паклітаксел-індуковані нейропатії, за нашими даними, пригнічується, на що вказує зниження активності СОД і каталази, а також глутатіонредуктази у сироватці крові тварин.

Отримані нами результати підтверджуються чисельними дослідженнями, в яких доведено, що паклітаксел викликає пошкодження мітохондрій, що призводить до утворення активних форм кисню та розвитку внутрішньоаксонального окисного стресу. Наприклад, було виявлено, що після лікування паклітакселом перекисне окислення ліпідів посилюється та підвищився рівень глутатіону, тоді як експресія антиоксидантного ферменту,





супероксиддисмутази, була знижена в нейронах сідничного нерва та дорсальному корінцевому ганглії [253].

Нами встановлено, що активність амілази у слинних залозах щурів за умов відтворення паклітаксел-індукованої токсичної нейропатії вірогідно зменшилась в 1,6 раза у порівнянні з контрольними тваринами. Це можна пояснити пригніченням білок-синтетичної активності слинних залоз, а також руйнуванням або порушенням структури амілази продуктами ліпідної пероксидації і, як наслідок, втратою ферментативної активності.

Етанол спричиняє пряме метаболічне та токсичне пошкодження нейронів та гліальних клітин. Патологія білої речовини варіюється від дисмієлінізації до демієлінізації та дегенерації мієліну, і це відбувається при всіх формах алкогольної патології ЦНС [101]. Механізм алкогольно-опосередкованих неврологічних дисфункцій влючає як прямі, так і непрямі механізми [98]. Патофізіологія алкогольної полінейропатії поєднує в собі токсичну дію етанолу з дефіцитом поживних речовин, а також ушкодження печінки, що призводить до порушення детоксикації нейротоксичних метаболітів і спричиняє порушення мозкового кровообігу та підсилює оксидативний стрес [272]. Нейрозапалення, оксидативний стрес і порушення нейротрансмітерної системи можуть відігравати певну роль у порушенні нервової системи через зловживання алкоголем [273]. Метаболізм етанолу влючає два основних етапи. Спочатку алкогольдегідрогеназа перетворює етанол на ацетальдегід, а потім альдегіддегідрогеназа окислює ацетальдегід в ацетат. Під час метаболізму етанолу утворюється відновлений нікотинамідаденіндинуклеотид і в результаті споживання кисню збільшується утворення ROS. Виробництво ROS на основі зловживання алкоголю влючає інші джерела, такі як NADH-залежна цитохромредуктаза, альдегідоксидаза, ксантинооксидаза та нейтрофільний нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат [274]. Окислювальний стрес виникає, коли метаболізм алкоголю до ацетальдегіду, а потім до ацетату генерує активні форми кисню і оксид азоту (NO),



пошкоджує мітохондрії та саму ДНК. Запальна реакція запускається мітохондріями через порушення окисного фосфорилування [275,276]. Ця запальна відповідь призводить до активації прозапальних цитокінів, мікроглії та астроцитів, що призводить до пригнічення нейрогенезу та гіперфосфорилування як тау, так і А $\beta$ , двох канонічних компонентів нейродегенерації [277]. Як правило, це клітинне пошкодження також ініціює апоптотичні та некротичні процеси в нейронах [278] і втрату транскрипції CREB, яка є важливою для запрограмованого виживання нейронів. У той же час ацетальдегід утворює адукти, які можуть спричинити пошкодження білої речовини та аксонів [279]. Типові патологічні характеристики алкогольної гепатотоксичності внаслідок надмірного та хронічного споживання етанолу включають окисне, глікаційне та запальне пошкодження [280,281]. Етанол і його основний метаболіт, ацетальдегід, сприяють активності печінкового цитохрому P4502E1 (CYP2E1) і порушують пов'язану з ядерним фактором E2 фактор 2 (Nrf2) антиоксидантну систему [282]. Ці події згодом призводять до надлишкового виробництва активних форм кисню та оксиду азоту (NO), а також до виснаження глутатіону (GSH) у печінці, що зрештою збільшує окислювальний стрес печінки [283]. Крім того, ацетальдегід може реагувати з N-етиламіногрупами з утворенням кінцевих продуктів глікації [284]. У той же час етанол активує шляхи NF- $\kappa$ B і мітоген-активованої протеїнкінази (MAPK), які призводять до вивільнення медіаторів запалення та цитокінів, таких як мієлопероксидаза (MPO), TNF- $\alpha$ , трансформуючий фактор росту (TGF)-  $\beta$ 1, інтерлейкін (IL)-1 $\beta$  та IL-6 у печінці. Ці медіатори та цитокіни підсилюють запальний стрес у печінці [99]. Етанол підсилює ГАМК-ергічну активність [101], напряду знижує нейротрофічний фактор мозку (BDNF), що погіршує внутрішньоклітинні комунікації, відповідальні за ріст та диференціацію клітин, і таким чином прискорює загибель нейронів [98].

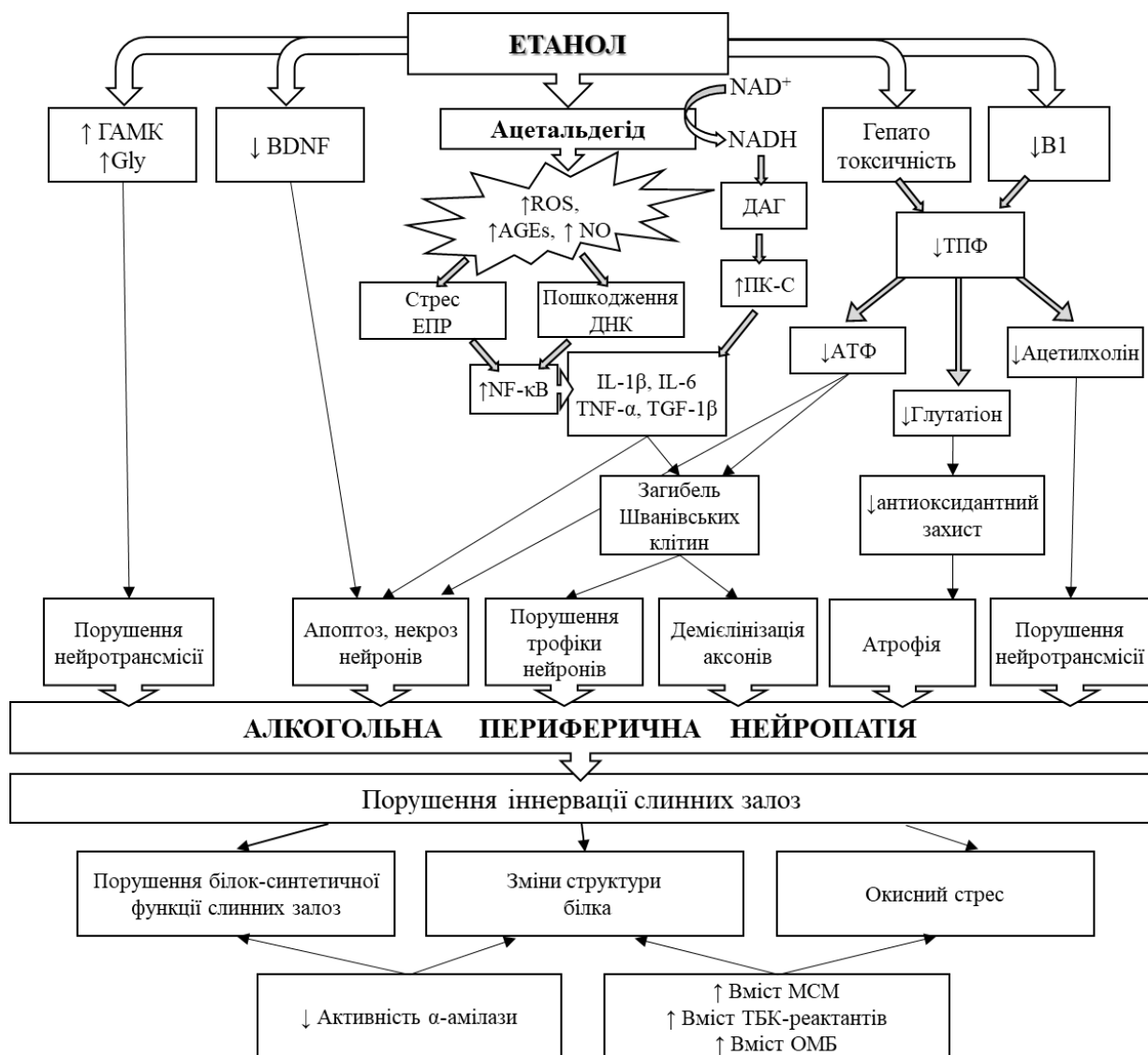


Рис.5.3. Концептуальна схема патогенезу алкогольної нейропатії за власними та літературними даними.

За допомогою тензоалгометричного тесту Randall-Selitto ми підтвердили розвиток алкогольної нейропатії у щурів, яким упродовж 72 днів вводили розчин етанолу зростаючої концентрації, про що свідчить зростання порогу больової чутливості.

За умов розвитку алкогольної нейропатії амілорітична активність у слинних залозах вірогідно зменшилась у порівнянні з контрольними тваринами, що може бути наслідком порушення білоксинтетичної функції та конформаційних змін ферменту в результаті окисної модифікації білкових молекул.



Нами було виявлено, що тривала алкоголізація тварин не викликає змін протеїназно-інгібіторного балансу слинних залоз, адже як загальна протеолітична, так і антитриптична активність великих слинних залоз за умов алкогольної нейропатії вірогідно не змінюється у порівнянні з цими показниками у контролі.

Загальновідомо, що провідним механізмом нейротоксичності, спричиненої алкоголем, є розвиток дисбалансу про- та антиоксидантної систем. Основними шляхами розвитку оксидативного стресу внаслідок інтоксикації етанолом є опосередковане ацетальдегідом збільшення кількості ROS та активних форм азоту шляхом індукції синтази оксиду азоту, NADPH-оксидази та ксантиоксидази на посттранскрипційному рівні [285]; активація  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулін-залежної протеїнкінази II в результаті підвищення концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  активними формами кисню шляхом лабілізації мітохондрій [286]; посилена генерація активних форм кисню CYP2E1, який здатний продукувати етокси-радикал, гідроксиетил-радикал, ацетил-радикал, синглетний радикал, супероксид-радикал, перекис водню, гідроксил-радикал, алкоксил-радикал і пероксил-радикал [287]. Окисно-відновний дисбаланс підтримується виснаженням NADPH, що необхідний для регенерації глутатіону, важливого антиоксиданту та косубстрату для антиоксидантних ферментів глутатіонової системи.

Експериментально виявлено зростання у великих слинних залозах вмісту ТБК-активних продуктів, окисно-модифікованих білків та МСМ за відсутності статистично достовірних змін активності каталази у щурів, яким тривалий час вводили етанол, порівняно з цими показниками у інтактних тварин.

Результати нашого дослідження співпадають з Ferreira R.O. та ін. [288], які довели, що зловживання етанолу вагітними щурами спричиняє зниження загального вмісту білку, активності амілази, антиоксидантного захисту та підвищення перекисного окислення ліпідів у слинні 40-денного потомства щурів.



Таким чином, за умов введення паклітакселу, стрептозоцину та тривалої алкоголізації щурів пригнічується амілолітична активність великих слинних залоз у порівнянні з інтактними тваринами, що свідчить про зменшення білоксинтетичної функції та/або конформацію ензима за рахунок активації оксидативного стресу, що викликає окисну модифікацію протеїнів. Баланс про- та антиоксидантної системи великих слинних залоз тварин за умов розвитку паклітаксел-індукованої нейропатії має декомпенсаторний характер, на що вказує зростання прооксидантів на тлі вірогідного зменшення активності каталази. За умов діабетичної нейропатії баланс про- та антиоксидантної системи великих слинних залоз тварин має компенсаторний характер, про що свідчить відсутність статистично значущих змін вмісту ОМБ на тлі вірогідного зростання каталази. За умов моделювання алкогольної нейропатії тваринам у великих слинних залозах виникає дисбаланс про- та антиоксидантної системи: зростання прооксидантів на тлі незміненого антирадикального захисту. Максимальний розвиток карбонільно-оксидативного стресу у слинних залозах тварин спостерігали за умов алкогольної нейропатії у порівнянні із стрептозоцин- та паклітаксел-індукованою нейропатіями. Стрептозоцин-індукована діабетична нейропатія призводить до змін паренхіматозних компонентів у часточках піднижньощелепних слинних залоз щурів, що проявлялось дистрофічними і деструктивними змінами епітеліоцитів кінцевих відділів і проток та перфузії крові у судинах гемомікроциркуляторного русла. Виявлені зміни у слинних залозах є стереотипними для відповіді на дію патогенних чинників і узгоджуються з результатами інших дослідників. Аналогічні деструктивні і дистрофічні зміни були виявлені у піднижньощелепних слинних залозах щурів при хронічній інтоксикації етанолом [289,290].

Для лікування нейропатії широко використовуються метаболічні препарати, що мають антиоксидантні, антигіпоксичні та мембраностабілізуючі властивості. Сучасна патогенетична терапія



спрямована на основні патофізіологічні процеси з метою запобігання пошкодження нервових волокон та уповільнення прогресування нейропатії. Досить популярною є терапія із використанням вітамінів групи В та їхніх похідних, що впливає безпосередньо на пошкоджені тканини [291]. Це обумовлено тим, що, по-перше, нейротропні комплекси позитивно впливають на метаболізм нервової тканини, а по-друге, є дані про здатність вітамінів групи В знижувати вираженість больового синдрому.

Важливість вітамінів групи В у контексті функції нервів підкреслюється численними неврологічними захворюваннями, такими як енцефалопатія Верніке, депресія, авітаміноз, судоми, підгостра комбінована дегенерація спинного мозку або периферична нейропатія, які пов'язані з дефіцитом одного або кількох із цих нейротропних вітамінів групи В [292-296]. Заслуговує уваги той факт, що вітаміни групи В можуть покращити певні неврологічні стани, навіть якщо не можна довести відсутність певного дефіциту [292]. Кілька звітів показують, що конкретні добавки з комбінацією вітамінів В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub> і В<sub>12</sub> взаємодіють синергічно, покращуючи перебіг нейропатії, моторний контроль, ноцицептивний і нейропатичний біль [136,139,297].

У нашій роботі ми визначали ефективність використання комплексного препарату, що містив кокарбоксилазу, ціанокобаламін, нікотинамід та динатрію аденозинтрифосфату тригідрат при корекції нейропатії різного генезу у щурів.

Тіамін пірофосфат діє як кофермент для ензимів у трьох основних шляхах метаболізму глюкози; тобто для транскетолази у пентозофосфатному шляху, для піруватдегідрогеназного комплексу та для альфа-кетоглутаратдегідрогенази у циклі Кребса [298,299]. Субстрати пентозофосфатного шляху використовуються для синтезу нуклеїнових кислот, полісахаридів, коферментів, стероїдів, жирних кислот, амінокислот, нейромедіаторів і глутатіону. Завдяки своїй роботі транскетолаза дає можливість для шунтування пентозофосфатного шляху із гліколізом



[298,300]. Крім того, піруватдегідрогеназа каталізує утворення ацетилкоензиму А, попередника для синтезу нейромедіатора ацетилхоліну. Альфа-кетоглутаратдегідрогеназа циклу Кребса допомагає підтримувати рівні інших нейромедіаторів (глутамату, ГАМК і аспартату), а також підтримує протеосинтез та енергозабезпечення клітин [297].

Нікотинамід - водорозчинний вітамін, що є попередником коферментів нікотинамідаденіндинуклеотиду (NAD) та нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (NADP). Широкий спектр функцій NAD і NADP можна розділити на три окремі категорії. По-перше, NAD і NADP є кофакторами оксидоредуктаз. Окисно-відновна пара  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  бере участь в основному в окислювальних і катаболічних реакціях, тоді як  $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$  найчастіше пов'язана з відновними і анаболічними реакціями. Приклади окислювальних, катаболічних реакцій, що сприяють окисленому  $\text{NAD}^+$ , включають утворення пірувату в гліколізі, утворення ацетилкоензиму А та повний його катаболізм у циклі Кребса. Вони генерують NADH, який забезпечує виробництво енергії через мітохондріальний дихальний ланцюг. Крім того, мітохондріальне  $\beta$ -окислення жирних кислот також потребує  $\text{NAD}^+$ . Відновлена форма NADPH також є критичною для багатьох анаболічних біохімічних процесів, наприклад, синтезу холестеролу та жирних кислот. Це важливий кофактор у відновних реакціях, опосередкованих цитохромом P450, захисті тіоредоксину від окислювального стресу та в реакціях імунного окисного захисту [301]. Також NADPH є коферментом глутатіонредуктази, ГМГ-КоА-редуктази, яка є ключовим ферментом у синтезі холестеролу. Різноманітні синтетичні реакції, що відбуваються з холестеролу, також вимагають NADPH: синтез жовчних кислот і стероїдних гормонів. По-друге, NAD є субстратом для ферментів, які переносять АДФ-рибозну частину молекули NAD у реакціях АДФ-рибозилування. Відносно нещодавно відкрито третій тип функції NAD, де він служить лігандом для групи пуринових рецепторів. Вивільнення NAD як сигнальної молекули спостерігалось в клітинах



гладких м'язів судин, сечового міхура, шлунково-кишкового тракту, мозку та нейросекреторних клітинах [302]. Рецептори, чутливі до NAD, були виявлені в моноцитах, ендотелії судин та клітинах товстої кишки [303-305].

Редокс-пари  $NAD^+/NADH$  і  $NADP^+/NADPH$  також відіграють вирішальну роль у розпаді етанолу та інших спиртів. Через кілька метаболічних реакцій етанол перетворюється на ацетальдегід, а потім на ацетат. Перетворення в ацетальдегід може каталізуватися або системою цитохрому P450 2E1 (зі споживанням  $O_2$  і NADPH і виробництвом супероксиданіону), або ферментом алкогольдегідрогеназою (ADH), що виробляє NADH з  $NAD^+$  [306]. Наступне окислення ацетальдегіду до ацетату каталізується альдегіддегідрогеназою (ALDH) і також потребує NAD. Хоча метаболізм за допомогою ADH є провідним шляхом, підвищене або хронічне споживання алкоголю індукує метаболізм етанолу за шляхом P450, що підвищує ризик гепатотоксичності та знижує рівні  $NAD^+$ . Якщо це зниження  $NAD^+$  і підвищення концентрації NADH є значними, ферментативна рівновага NAD-залежних ферментів зміщується. Такий зсув у співвідношенні  $NAD^+/NADH$  може призвести до накопичення лактату та пригнічення гліюконеогенезу, гіпоглікемії та пригнічення вироблення енергії в циклі Кребса в тканинах, які детоксикують етанол [305,307].

Як і інші вітаміни (аскорбінова кислота, кальцитріол і ретиноєва кислота) [308], нікотинамід впливає на нейрогенез шляхом прискорення диференціації ембріональних стовбурових клітин або нейронних клітин-попередників у постмітотичні нейрони [309]. Вітамінні добавки *in vitro* сприяють прогресуванню недиференційованих стовбурових клітин до нейронних попередників, які далі дозрівають у ефективні ГАМК-ергічні нейрони [308]. Окрім продиференціюючої дії, нікотинамід також сприяє виживанню нейронів, особливо під час станів окислювального стресу, і цей ефект досягається за допомогою кількох механізмів, включаючи: запобігання вивільненню цитохрому c і активності, подібній до каспаз 3 і 9, інгібування опосередкованої каспазою-3 деградації транскрипційного





фактора forkhead (FOXO3a) та підтримання залежного від протеїнкінази В фосфорилування FOXO3a. Нарешті, зміни метаболізму NAD є ключовими ознаками валлерівської дегенерації, процесу, що відбувається в ущемлених нервових волокнах і призводить до дегенерації аксона дистально від пошкодження, що є ранньою подією вікових нейродегенеративних розладів, а також спричинених хіміотерапією периферичних нейропатій. Шляхом індукування внутрішньоаксонального збільшення  $Ca^{2+}$  через шлях, що вимагає дії білка загибелі проаксона SARM1, накопичення нікотинамідного мононуклеотиду дійсно відповідає за втрату цілісності аксона [310]. Продегенеративна дія мононуклеотиду нікотинаміду також була задокументована під час індукованої вінкристином дегенерації аксонів гангліїв дорсального корінця [311]. Відповідно, підвищена активність мононуклеотид-аденилілтрансферази нікотинамід/нікотинової кислоти (NMNAT) 1–3 захищає аксони від дегенерації, обмежуючи рівні мононуклеотидів нікотинаміду або активуючи SIRT1 [308].

Кобаламін відіграє важливу роль як кофермент у багатьох біохімічних процесах, які підтримують або відновлюють здоров'я нервової системи. Так, вітамін B<sub>12</sub> бере участь у синтезі ДНК олігодендроцитів, що продукують мієлін [312]. Вважається, що демієлінізація нейронів в основному спричинена тим, що універсальний донор метильного радикалу S-аденозилметіонін менш доступний. Синтез S-аденозилметіоніну критично залежить від кофактору вітаміну B<sub>12</sub> метилкобаламіну і виконує різні важливі функції в нервовій системі, включаючи синтез мієліну, а також нейромедіаторів. Демієлінізація зазвичай впливає як на периферичні, так і на центральні нерви, але особливо на довгі ділянки білої речовини в задніх і бічних стовпах спинного мозку, які містять сенсорні волокна для вібрації та визначення положення. Однак рухові волокна також можуть демієлінізуватися [297]. На додаток до цієї головної ролі, кобаламін залучений у метаболізм гомоцистеїну, процеси трансметилування, синтез жирних кислот і нуклеїнових кислот, виробництво енергії, а також процеси



дозрівання клітин і навіть підтримує збереження неушкодженої слизової оболонки шлунково-кишкового тракту [279,294,313]. Оскільки рівень кобаламіну також впливає на кількість відновленого глутатіону з антиоксидантними функціями в еритроцитах і печінці, менша доступність відновленого глутатіону при дефіциті кобаламіну може піддавати клітини підвищеному окислювальному стресу [314]. Окрім впливу на мієлінізацію, є накопичені докази відновлення нервів. Повідомлялося про покращену регенерацію нервових закінчень і аксонів [315] і збільшення щільності нервових волокон. Терапевтичний ефект вітаміну В<sub>12</sub> передбачає активізацію багатьох нейротропних факторів [316], а саме фактора росту нервів (NGF) і нейротрофічного фактора, отриманого з мозку, або, можливо, посилення метаболізму білка, які, як вважають, сприяють виживанню нервів і регенерації [136].

Нами було встановлено, що метаболічна корекція комплексом вітамінів групи В та АТФ запобігає нейротоксичності. Результати дослідження показали, що введення вітамінів групи В та АТФ протягом 9 днів на тлі моделювання стрептозоцин-індукованої нейропатії відновлює больову чутливість у щурів із діабетичною нейропатією до рівня, який був визначений перед моделюванням цукрового діабету. У тварин, яким моделювали алкогольну нейропатію, 9-денне введення вітамінів та АТФ відновлювало ПБЧ до рівня інтактних тварин за тестом Randall-Selitto. У щурів, яким здійснювали метаболічну корекцію після відтворення паклітаксел-індукованої нейропатії на 16 день, ПБЧ статистично достовірно не відрізнявся від рівня ПБЧ у щурів, яким моделювали нейропатію без корекції та зменшувався у 1,29 рази на 25 день експерименту. Таким чином, тіамін, нікотинамід, кобаламін та АТФ нормалізували нервову провідність у тварин за умов введення паклітакселу, етанолу та стрептозоцину, про що свідчить вірогідне зменшення порогу больової чутливості.

Численні наукові дані свідчать про те, що нейротропні вітаміни групи В (як окремо, так і у комбінації) сприяють регенерації нервів, покращують



тактильну аллодинію, поліпшують швидкість нервової провідності, мають сприятливий вплив на такі симптоми, як біль і парестезії [137,138,142,150, 151,154]. Мієлінова оболонка оточує аксони багатьох нервів і служить електричною ізоляцією, тим самим сприяючи високій швидкості провідності. Завдяки важливому внеску в процеси мієлінізації та ремієлінізації кобаламін значно підтримує регенерацію нервів після травми [279, 294].

Оцінюючи вплив 9-денного введення препарату, що містив кокарбоксілазу, ціанокобаламін, нікотинамід та АТФ, на стан про- та антиоксидантів у сироватці крові щурів за умов моделювання стрептозоцин- та паклітаксел-індукованої нейропатії, ми встановили нормалізацію балансу про- та антиоксидантної систем. Так, введення комплексу вітамінів та АТФ на тлі розвитку діабетичної та хіміотоксичної нейропатії пригнічувало ПОЛ, про що свідчило зниження вмісту дієнових кон'югатів, ТБК-реактантів та шиффових основ у сироватці крові щурів порівняно з тваринами, яким вводили стрептозоцин та паклітаксел без корекції. Вміст продуктів ОМБ як нейтрального так і лужного характеру у сироватці крові щурів за цих умов вірогідно знижувався порівняно з цими показниками у тварин із діабетичною та паклітаксел-індукованою нейропатією, яким корекція не проводилася. Таким чином, 9-денна терапія вітамінами групи В та АТФ на тлі моделювання ДПН та ППН запобігала розвитку карбонільно-окисного стресу.

Також спостерігався позитивний ефект на відновлення рівня сульфгідрильних груп у сироватці крові щурів внаслідок введення полівітамінного комплексу щурам з паклітаксел- та стрептозоцин-індукованою нейропатією. Так, у тварин, яким проводили корекцію діабетичної нейропатії, зростав рівень загальних та білкових тіольних груп, а у щурів з модельованою токсичною нейропатією, яким робили ін'єкції вітамінів, збільшувався рівень небілкових, білкових та загальних SH-груп порівняно з тваринами, яким вводили стрептозоцин та паклітаксел без



корекції, відповідно. Це є свідченням того, що профілактичне введення вітамінів групи В та АТФ попереджає модифікацію білків.

За умов діабет-індукованої нейропатії в сироватці крові супероксиддисмутазна активність збільшується, а каталазна активність знижується порівняно з контролем. Введення паклітакселу знижує активність обох ферментів, порівняно в цими показниками у інтактних щурів. Введення кокарбоксілази, ціанокобаламіну, нікотинаміду та АТФ протягом 9 днів нормалізувало активність антиоксидантних ферментів. Встановлене нами відновлення системи антиоксидантного захисту у крові щурів з індукованою хіміотоксичною та діабетичною нейропатією пов'язані з антиоксидантними властивостями використаного комплексу вітамінів та АТФ.

Ми оцінили вплив 9-денного профілактичного введення комплексного препарату, що містить кокарбоксілазу, ціанокобаламін, нікотинамід та АТФ на стан слинних залоз тварин за умов моделювання експериментальної нейропатії, викликаній стрептозоцином, паклітакселом та тривалою алкоголізацією тварин.

Було доведено, що застосування комплексу нейротропних вітамінів та АТФ на тлі розвитку нейропатії різного генезу достовірно збільшувало активність амілази у слинних залозах тварин порівняно з щурами, яким корекція не здійснювалася. Це може бути пояснено антиоксидантною дією вітамінів, що пригнічувало оксидативний стрес, запобігало окисному пошкодженню білкових молекул, і як наслідок, підвищенням каталітичної активності ферменту. Окрім того, збільшення активності амілази у гомогенаті слинних залоз щурів із нейропатією, яким робили ін'єкції вітамінів та АТФ, може бути результатом відновлення білоксинтетичної функції слинних залоз.

За нашими даними, введення стрептозоцину та паклітакселу, викликає нейропатію у щурів, що супроводжується змінами протеїназно-інгібіторного балансу у слинних залозах тварин за компенсаторним типом.



Введення мультивітамінного комплексу нормалізувало загальну антитриптичну активність за умов розвитку нейропатії порівняно з групою тварин, яким корекцію не здійснювали.

Нами доведено, що експериментальна терапія комплексом тіамініпрофосфату, нікотинамідом, кобаламіну та АТФ, призводила до пригнічення перекисного окиснення ліпідів у слинних залозах щурів за умов експериментальної нейропатії різного генезу, про що свідчить вірогідне зменшення вмісту ТБК-реактивних, молекул середньої маси у порівнянні з щурами, яким моделювали нейропатію без корекції.

Введення комплексу, що містив кокарбоксілазу, нікотинамід, ціанокобаламін та АТФ на тлі моделювання паклітаксел-індукованої та алкогольної нейропатії запобігало розвитку карбонільно-окисного стресу у слинних залозах щурів, про що свідчить достовірне зменшення вмісту окисно-модифікованих білків порівняно з тваринами, яким не здійснювали корекцію.

Оцінивши вплив комплексного препарату на активність каталази у слинних залозах щурів на тлі моделювання нейропатії різного генезу, ми встановили ефективність його використання за умов розвитку паклітаксел-індукованої нейропатії. Так, внаслідок введення вітамінів та АТФ каталазна активність підвищувалась порівняно з тваринами, яким викликали хіміотоксичну нейропатію без корекції.

Отже, за умов введення комплексу кокарбоксілази, нікотинамідом, ціанокобаламіну і АТФ на тлі моделювання паклітаксел-, стрептозоцин- та етанол-індукованої нейропатії відновлювалася білоксинтетична функція слинних залоз, про що свідчить зростання активності амілази. 9-денне введення нейротропних вітамінів і АТФ за умов моделювання діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії нормалізувало баланс про- та антиоксидантної системи слинних залоз тварин, на що вказує зменшення прооксидантів на тлі вірогідного зростання антирадикального захисту. Ефективність нейротропних вітамінів і АТФ підтверджена



патоморфологічними дослідженнями, про що свідчить зменшення периацинарного набряку, збереження епітеліоцитів кінцевих відділів у піднижньощелепних слинних залозах тварин з діабетичною нейропатією за умов введення кокарбоксилази, нікотинаміду, ціанокобаламіну і АТФ.

Таким чином, метаболічна корекція експериментальної паклітаксел-, стрептозоцин- та етанол-індукованої нейропатії шляхом введення комплексу кокарбоксилази, нікотинаміду, ціанокобаламіну і АТФ протягом 9 днів відновлювала білосинтетичну функцію великих слинних залоз щурів, пригнічувала оксидативний стрес та нормалізувала протеїназно-інгібіторний баланс.



## ВИСНОВКИ

У дисертації наведене теоретичне узагальнення і розв'язання наукового завдання, що полягає у з'ясуванні впливу паклітаксел-, стрептозоцин-, етанол-індукованої нейропатії на розвиток патологічних змін у великих слинних залозах тварин та обґрунтування експериментальної корекції шляхом застосування комплексу кокарбоксілази, нікотинамід, ціанокобаламіну та АТФ.

1. За умов введення паклітакселу, стрептозоцину та тривалої алкоголізації щурів пригнічується амілолітична активність великих слинних залоз у 1,63 рази ( $P < 0,05$ ), у 1,92 рази ( $P < 0,05$ ), у 1,7 рази ( $P < 0,05$ ) відповідно порівняно з інтактними тваринами, що свідчить про зменшення білоксинтетичної функції та/або конформацію ензима за рахунок активації оксидативного стресу, що викликає окисну модифікацію протеїнів.
2. Баланс про- та антиоксидантної системи великих слинних залоз тварин за умов розвитку паклітаксел-індукованої нейропатії має декомпенсаторний характер, про що свідчить зростання ТБК-активних продуктів у 2,26 рази ( $P < 0,05$ ), ОМБ – у 1,35 рази ( $P < 0,05$ ) на тлі вірогідного зменшення активності каталази.
3. Максимальний розвиток карбонільно-оксидативного стресу у великих слинних залозах тварин спостерігали за умов алкогольної нейропатії у порівнянні із стрептозоцин- та паклітаксел-індукованою нейропатіями. У великих слинних залозах за умов тривалої алкоголізації тварин зростання ТБК-активних продуктів у 1,4 рази ( $P < 0,05$ ), ОМБ – у 3,5 рази ( $P < 0,05$ ) порівняно з контролем.
4. Введення стрептозоцину та паклітакселу у великих слинних залозах тварин викликало зміни протеїназно-інгібіторного потенціалу за компенсаторним типом (антитриптична активність зростала у 2,75



- раза ( $P < 0,05$ ) та у 1,71 раза ( $P < 0,05$ ) відповідно порівняно з цими показниками у інтактних тварин на тлі статистично недостовірних змін загальної протеолітичної активності).
5. Стрептозоцин-індукована діабетична нейропатія призводить до змін паренхіматозних компонентів у часточках піднижньощелепних слинних залоз щурів, що проявлялось дистрофічними і деструктивними змінами епітеліоцитів кінцевих відділів і проток та перфузії крові у судинах гемомікроциркуляторного русла.
  6. Комплекс кокарбоксілази, нікотинаміду, кобаламіну та АТФ нормалізує поріг больової чутливості та запобігає порушенню нервової провідності за умов введення паклітакселу, стрептозоцину та етанолу, про що свідчить вірогідне зменшення на 28,75% ( $P < 0,05$ ), 109,2% ( $P < 0,05$ ), 54,7% ( $P < 0,05$ ) відповідно.
  7. Введення комплексу тіамініпрофосфату, нікотинаміду, ціанокобаламіну та АТФ на тлі стрептозоцин-, паклітаксел-індукованої нейропатії зменшує розвиток окисдатовного стресу про що свідчить вірогідне зменшення дієнових кон'югатів у 1,54 і 1,95 раза ( $P < 0,05$ ), ТБК-активних продуктів – у 1,8 і 2,23 раза ( $P < 0,05$ ) та шиффових основ – у 2 і 2,83 раза ( $P < 0,05$ ) відповідно у сироватці крові на тлі нормалізації антирадикального захисту.
  8. Метаболічна корекція експериментальної паклітаксел-, стрептозоцин- та етанол-індукованої нейропатії шляхом введення комплексу кокарбоксілази, нікотинаміду, ціанокобаламіну і АТФ протягом 9 днів відновлювала білоксинтетичну функцію великих слинних залоз щурів, пригнічувала окисдатовний стрес та нормалізувала протеїназно-інгібіторний баланс.





## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Castelli G, Desai KM, Cantone RE. Peripheral Neuropathy: Evaluation and Differential Diagnosis. *Am Fam Physician*. 2020 Dec;102(12):732-9.
2. Iqbal Z, Azmi S, Yadav R, Ferdousi M, Kumar M, Cuthbertson DJ, et al. Diabetic Peripheral Neuropathy: Epidemiology, Diagnosis, and Pharmacotherapy. *Clin Ther*. 2018 Jun;40(6):828-49. DOI: [10.1016/j.clinthera.2018.04.001](https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2018.04.001)
3. IDF Diabetes Atlas [Інтернет]. IDF Diabetes Atlas; 2021 [цитовано 23 серп. 2024]
4. Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, Linnenkamp U, Guariguata L, Cho NH, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes Res Clin Pract*. 2017 Jun;128:40-50. DOI: [10.1016/j.diabres.2017.03.024](https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.03.024)
5. Quiroz-Aldave J, Durand-Vásquez M, Gamarra-Osorio E, Suarez-Rojas J, Jantine Roseboom P, Alcalá-Mendoza R. Diabetic neuropathy: Past, present, and future. *Caspian J Intern Med*. 2023 Spring;14(2):153-69. doi: [10.22088/cjim.14.2.153](https://doi.org/10.22088/cjim.14.2.153).
6. Chang MC, Yang S. Diabetic peripheral neuropathy essentials: a narrative review. *Ann Palliat Med*. 2023 Mar;12(2):390-398. doi: [10.21037/apm-22-693](https://doi.org/10.21037/apm-22-693).
7. Cavaletti G., Marmiroli P. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity. *Nat. Rev. Neurol*. 2010; 6(12): 657-66. doi: [10.1038/nrneurol.2010.160](https://doi.org/10.1038/nrneurol.2010.160)
8. Gornstein E, Schwarz TL. The paradox of paclitaxel neurotoxicity: Mechanisms and unanswered questions. *Neuropharmacology*. 2014 Jan;76 Pt A:175-83. DOI: [10.1016/j.neuropharm.2013.08.016](https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.08.016).
9. Chua KC, El-Haj N, Priotti J, Kroetz DL. Mechanistic insights into the pathogenesis of microtubule-targeting agent-induced peripheral neuropathy from pharmacogenetic and functional studies. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2022 Jan;130 Suppl 1(Suppl 1):60-74. doi: [10.1111/bcpt.13654](https://doi.org/10.1111/bcpt.13654)



10. Birková A, Hubková B, Čižmárová B, Bolerázská B. Current View on the Mechanisms of Alcohol-Mediated Toxicity. *Int J Mol Sci.* 2021 Sep 7;22(18):9686. doi: 10.3390/ijms22189686
11. FDI World Dental Federation. Alcohol as a Risk for Oral Health. *Int Dent J.* 2024 Feb;74(1):165-166. doi: 10.1016/j.identj.2023.10.008
12. Ivoš A, Matošić A, Gradiški IP, Orlović I. The Effects of Alcohol on Oral Health, a Review. *Arch Psychiatry Res.* 2019 Jun;55(1):61-70. <https://doi.org/10.20471/may.2019.55.01.05>
13. Alam MF, Laskar AA, Maryam L, Younus H. Activation of Human Salivary Aldehyde Dehydrogenase by Sulforaphane: Mechanism and Significance. *PLoS One.* 2016 Dec 20;11(12):e0168463. doi: 10.1371/journal.pone.0168463
14. Sommer C, Geber C, Young P, Forst R, Birklein F, Schoser B. Polyneuropathies. *Dtsch Arztebl Int.* 2018 Feb;115(6):83-90. doi: 10.3238/arztebl.2018.083
15. Callaghan BC, Price RS, Feldman EL. Distal Symmetric Polyneuropathy: A Review. *JAMA.* 2015 Nov;314(20):2172-81. doi: 10.1001/jama.2015.13611
16. Mayans L, Mayans D. Causes of peripheral neuropathy: Diabetes and beyond. *J Fam Pract.* 2015 Dec;64(12):774-83.
17. Arnold ML. Steering Peripheral Neuropathy Workup. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2018 Nov;29(4):761-76. doi: 10.1016/j.pmr.2018.06.010
18. Doughty CT, Seyedsadjadi R. Approach to Peripheral Neuropathy for the Primary Care Clinician. *Am J Med.* 2018 Sep;131(9):1010-6. doi: 10.1016/j.amjmed.2017.12.042
19. Abaira VE, Ginty DD. The sensory neurons of touch. *Neuron.* 2013 Aug;79(4):618-39. doi: 10.1016/j.neuron.2013.07.051
20. Hanewinkel R, van Oijen M, Ikram MA, van Doorn PA. The epidemiology and risk factors of chronic polyneuropathy. *Eur J Epidemiol.* 2016 Jan;31(1):5-20. doi: 10.1007/s10654-015-0094-6
21. Vinik AI. CLINICAL PRACTICE. Diabetic Sensory and Motor Neuropathy. *N Engl J Med.* 2016 Apr;374(15):1455-64. doi: 10.1056/NEJMcp1503948



0108199708957692

22. Berlit P, Hadisurya J. Kribbeln und Schmerzen — wie können Sie helfen? [Polyneuropathy - causes and treatment]. *MMW Fortschr Med.* 2017 Jun;159(12):62-68. German. doi: 10.1007/s15006-017-9051-5
23. Head KA. Peripheral neuropathy: pathogenic mechanisms and alternative therapies. *Altern Med Rev.* 2006 Dec;11(4):294-329
24. Löscher WN, Iglseider B. Polyneuropathie im Alter [Polyneuropathy in older individuals]. *Internist (Berl).* 2020 Mar;61(3):254-260. German. doi: 10.1007/s00108-020-00748-6
25. Staff NP, Windebank AJ. Peripheral neuropathy due to vitamin deficiency, toxins, and medications. *Continuum (Minneap Minn).* 2014 Oct;20(5 Peripheral Nervous System Disorders):1293-306. doi: 10.1212/01.CON.0000455880.06675.5a
26. Alessi J, Yankiv M. War in Ukraine and barriers to diabetes care. *Lancet.* 2022 Apr;399(10334):1465-1466. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00480-9
27. Juster-Switlyk K, Smith AG. Updates in diabetic peripheral neuropathy. *F1000Res.* 2016 Apr 25;5:F1000 Faculty Rev-738. DOI: 10.12688/f1000research.7898.1
28. Sempere-Bigorra M, Julián-Rochina I, Cauli O. Differences and Similarities in Neuropathy in Type 1 and 2 Diabetes: A Systematic Review. *J Pers Med.* 2021 Mar;11(3):230. DOI: 10.3390/jpm11030230.
29. Borgnakke WS, Anderson PF, Shannon C, Jivanescu A. Is there a relationship between oral health and diabetic neuropathy? *Curr Diab Rep.* 2015 Nov;15(11):93. doi: 10.1007/s11892-015-0673-7
30. England JD, Asbury AK. Peripheral neuropathy. *Lancet.* 2004 Jun;363(9427):2151-61. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)16508-2
31. Feldman EL, Callaghan BC, Pop-Busui R, Zochodne DW, Wright DE, Bennett DL. Diabetic neuropathy. *Nat Rev Dis Primers.* 2019 Jun;5(1):42. doi: 10.1038/s41572-019-0097-9



32. Hicks CW, Selvin E. Epidemiology of Peripheral Neuropathy and Lower Extremity Disease in Diabetes. *Curr Diab Rep.* 2019 Aug;19(10):86. doi: 10.1007/s11892-019-1212-8
33. Ratan Y, Rajput A, Pareek A, Pareek A, Kaur R, Sonia S, et al. Recent Advances in Biomolecular Patho-Mechanistic Pathways behind the Development and Progression of Diabetic Neuropathy. *Biomedicines.* 2024 Jun;12(7):1390. doi: 10.3390/biomedicines12071390
34. Muramatsu K. Diabetes Mellitus-Related Dysfunction of the Motor System. *Int J Mol Sci.* 2020 Oct 11;21(20):7485. doi: 10.3390/ijms21207485
35. Lupachyk S, Watcho P, Stavniichuk R, Shevalye H, Obrosova IG. Endoplasmic reticulum stress plays a key role in the pathogenesis of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes.* 2013 Mar;62(3):944-52. doi: 10.2337/db12-0716
36. Dunnigan SK, Ebadi H, Breiner A, Katzberg HD, Lovblom LE, Perkins BA, et al. Conduction slowing in diabetic sensorimotor polyneuropathy. *Diabetes Care.* 2013 Nov;36(11):3684-90. doi: 10.2337/dc13-0746
37. Ziegler D, Rathmann W, Dickhaus T, Meisinger C, Mielck A; KORA Study Group. Prevalence of polyneuropathy in pre-diabetes and diabetes is associated with abdominal obesity and macroangiopathy: the MONICA/KORA Augsburg Surveys S2 and S3. *Diabetes Care.* 2008 Mar;31(3):464-9. doi: 10.2337/dc07-1796
38. Andersen ST, Witte DR, Dalsgaard EM, Andersen H, Nawroth P, Fleming T, et al. Risk Factors for Incident Diabetic Polyneuropathy in a Cohort With Screen-Detected Type 2 Diabetes Followed for 13 Years: ADDITION-Denmark. *Diabetes Care.* 2018 May;41(5):1068-1075. doi: 10.2337/dc17-2062
39. Hanewinkel R, Ikram MA, Franco OH, Hofman A, Drenthen J, van Doorn PA. High body mass and kidney dysfunction relate to worse nerve function, even in adults without neuropathy. *J Peripher Nerv Syst.* 2017 Jun;22(2):112-120. doi: 10.1111/jns.12211
40. Dabelea D, Stafford JM, Mayer-Davis EJ, D'Agostino R Jr, Dolan L, Imperatore G, et al. SEARCH for Diabetes in Youth Research Group.



- Association of Type 1 Diabetes vs Type 2 Diabetes Diagnosed During Childhood and Adolescence With Complications During Teenage Years and Young Adulthood. *JAMA*. 2017 Feb 28;317(8):825-835. doi: 10.1001/jama.2017.0686
41. Callaghan BC, Xia R, Banerjee M, de Rekeneire N, Harris TB, Newman AB, et al. Health ABC Study. Metabolic Syndrome Components Are Associated With Symptomatic Polyneuropathy Independent of Glycemic Status. *Diabetes Care*. 2016 May;39(5):801-7. doi: 10.2337/dc16-0081
42. Callaghan BC, Xia R, Reynolds E, Banerjee M, Rothberg AE, Burant CF, et al. Association Between Metabolic Syndrome Components and Polyneuropathy in an Obese Population. *JAMA Neurol*. 2016 Dec;73(12):1468-1476. doi: 10.1001/jamaneurol.2016.3745
43. Jaiswal M, Fufaa GD, Martin CL, Pop-Busui R, Nelson RG, Feldman EL. Burden of Diabetic Peripheral Neuropathy in Pima Indians With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2016 Apr;39(4):e63-4. doi: 10.2337/dc16-0082
44. Reynolds EL, Callaghan BC, Banerjee M, Feldman EL, Viswanathan V. The metabolic drivers of neuropathy in India. *J Diabetes Complications*. 2020 Oct;34(10):107653. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2020.107653
45. Callaghan BC, Gao L, Li Y, Zhou X, Reynolds E, Banerjee M, et al. Diabetes and obesity are the main metabolic drivers of peripheral neuropathy. *Ann Clin Transl Neurol*. 2018 Feb;5(4):397-405. doi: 10.1002/acn3.531
46. Lu B, Hu J, Wen J, Zhang Z, Zhou L, Li Y, et al. Determination of peripheral neuropathy prevalence and associated factors in Chinese subjects with diabetes and pre-diabetes - ShangHai Diabetic neuropathy Epidemiology and Molecular Genetics Study (SH-DREAMS). *PLoS One*. 2013 Apr;8(4):e61053. doi: 10.1371/journal.pone.0061053
47. Pop-Busui R, Ang L, Boulton AJM, Feldman EL, Marcus RL, Mizokami-Stout K, et al. *Diagnosis and Treatment of Painful Diabetic Peripheral Neuropathy*. Arlington (VA): American Diabetes Association; 2022 Feb.



48. Chandra P, Sachan N, Saraswat N, Vyawahare N. A Detailed Review of Molecular Pathways and Mechanisms Responsible for the Development and Aggravation of Neuropathy and Nephropathy in Diabetes. *Curr Mol Pharmacol.* 2024;17(1):e280323215026. doi: 10.2174/1874467217666230328084215
49. Zenker J, Ziegler D, Chrast R. Novel pathogenic pathways in diabetic neuropathy. *Trends Neurosci.* 2013 Aug;36(8):439-49. doi: 10.1016/j.tins.2013.04.008
50. Dewanjee S, Das S, Das AK, Bhattacharjee N, Dihingia A, Dua TK, et al. Molecular mechanism of diabetic neuropathy and its pharmacotherapeutic targets. *Eur J Pharmacol.* 2018 Aug;833:472-523. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.06.034
51. Lim JG, Lee JJ, Park SH, Park JH, Kim SJ, Cho HC, et al. Glucagon-like peptide-1 protects NSC-34 motor neurons against glucosamine through Epac-mediated glucose uptake enhancement. *Neurosci Lett.* 2010 Jul;479(1):13-7. doi: 10.1016/j.neulet.2010.05.017
52. Mizukami H, Osonoi S. Pathogenesis and Molecular Treatment Strategies of Diabetic Neuropathy Collateral Glucose-Utilizing Pathways in Diabetic Polyneuropathy. *Int J Mol Sci.* 2020 Dec;22(1):94. doi: 10.3390/ijms22010094
53. Mizukami H, Osonoi S, Takaku S, Yamagishi SI, Ogasawara S, Sango K, et al. Role of glucosamine in development of diabetic neuropathy independent of the aldose reductase pathway. *Brain Commun.* 2020 Oct;2(2):fcaa168. doi: 10.1093/braincomms/fcaa168
54. Sloan G, Selvarajah D, Tesfaye S. Pathogenesis, diagnosis and clinical management of diabetic sensorimotor peripheral neuropathy. *Nat Rev Endocrinol.* 2021 Jul;17(7):400-420. doi: 10.1038/s41574-021-00496-z
55. Fujita Y, Murakami T, Nakamura A. Recent Advances in Biomarkers and Regenerative Medicine for Diabetic Neuropathy. *Int J Mol Sci.* 2021 Feb;22(5):2301. doi: 10.3390/ijms22052301



56. Sekido H, Suzuki T, Jomori T, Takeuchi M, Yabe-Nishimura C, Yagihashi S. Reduced cell replication and induction of apoptosis by advanced glycation end products in rat Schwann cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004 Jul;320(1):241-8. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.05.159
57. Alahmar AT, Petropoulos IN, Ferdousi M, Jones W, Fadavi H, Azmi S, et al. Expression of skin Glyoxalase-I, advanced glycation end products (AGEs) and receptor (RAGE) in patients with long-term type 1 diabetes and diabetic neuropathy. *Brunei International Medical Journal (BIMJ)*. 2017 Dec;13(6).
58. Xu S, Li J, Zhai M, Yao X, Liu H, Deng T, et al. 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> protects Schwann cells against advanced glycation end products-induced apoptosis through PKA-NF-κB pathway. *Life Sci*. 2019 May;225:107-116. doi: 10.1016/j.lfs.2019.03.068
59. Yorek MS, Obrosova A, Shevalye H, Holmes A, Harper MM, Kardon RH, et al. Effect of diet-induced obesity or type 1 or type 2 diabetes on corneal nerves and peripheral neuropathy in C57Bl/6J mice. *J Peripher Nerv Syst*. 2015 Mar;20(1):24-31. doi: 10.1111/jns.12111
60. Rumora AE, Lentz SI, Hinder LM, Jackson SW, Valesano A, Levinson GE, et al. Dyslipidemia impairs mitochondrial trafficking and function in sensory neurons. *FASEB J*. 2018 Jan;32(1):195-207. doi: 10.1096/fj.201700206R
61. Yang D, Xie J, Liang XC, Cui YZ, Wu QL. The synergistic effect of palmitic acid and glucose on inducing endoplasmic reticulum stress-associated apoptosis in rat Schwann cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2022 Jan;26(1):148-157. doi: 10.26355/eurrev\_202201\_27761
62. Nihei W, Kato A, Himeno T, Kondo M, Nakamura J, Kamiya H, et al. Hyperglycaemia Aggravates Oxidised Low-Density Lipoprotein-Induced Schwann Cell Death via Hyperactivation of Toll-like Receptor 4. *Neurol Int*. 2024 Mar;16(2):370-379. doi: 10.3390/neurolint16020027
63. Hur J, Dauch JR, Hinder LM, Hayes JM, Backus C, Pennathur S, et al. The Metabolic Syndrome and Microvascular Complications in a Murine Model of Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2015 Sep;64(9):3294-304. doi: 10.2337/db15-0133



64. Semler A, Hammad S, Lopes-Virella MF, Klein RL, Huang Y. Deoxysphingolipids Upregulate MMP-1, Downregulate TIMP-1, and Induce Cytotoxicity in Human Schwann Cells. *Neuromolecular Med.* 2022 Sep;24(3):352-362. doi: 10.1007/s12017-021-08698-4
65. Callaghan BC, Gallagher G, Fridman V, Feldman EL. Diabetic neuropathy: what does the future hold? *Diabetologia.* 2020 May;63(5):891-897. doi: 10.1007/s00125-020-05085-9
66. Rumora AE, Savelieff MG, Sakowski SA, Feldman EL. Disorders of mitochondrial dynamics in peripheral neuropathy: Clues from hereditary neuropathy and diabetes. *Int Rev Neurobiol.* 2019;145:127-176. doi: 10.1016/bs.irm.2019.05.002
67. Singh VP, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Advanced glycation end products and diabetic complications. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2014 Feb;18(1):1-14. doi: 10.4196/kjpp.2014.18.1.1
68. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021 May;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660
69. Zub V, Kotuza A. Організація надання медичної допомоги онкологічним хворим (за даними анкетування лікарів-онкологів). АПСМ [інтернет]. 28, Листопад 2022 [цит. за 02, Серпень 2023];(10). доступний у: <https://periodicals.karazin.ua/apmm/article/view/21070>
70. Бюлетень Національний Канцер-реєстру / National Cancer Registry of Ukraine [Інтернет]. CANCER IN UKRAINE 2021-2022 - Incidence, mortality, prevalence and other relevant statistics - Bulletin of the National Cancer Registry of Ukraine Vol.24; [цитовано 25 серп. 2024]. Доступно на: [http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL\\_24/index\\_e.htm](http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_24/index_e.htm)
71. Пульний Ю, Панфілова Г. ДОСЛІДЖЕННЯ ОНКОПРОФІЛЮ НАСЕЛЕННЯ УКРАЇНИ ЗА ДАНИМИ НАЦІОНАЛЬНОГО КАНЦЕР-РЕЄСТРУ. ГРААЛЬ НАУКИ [Інтернет]. 27 лют. 2021 [цитовано 25 серп.





2024];(1). Доступно на: <https://doi.org/10.36074/grail-of-science.19.02.2021.101>

72. Cavaletti G. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity (CIPN): what we need and what we know. *J Peripher Nerv Syst.* 2014 Jun;19(2):66-76. doi: 10.1111/jns5.12073
73. Brown TJ, Sedhom R, Gupta A. Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *JAMA Oncol.* 2019 May;5(5):750. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.6771
74. Seretny M, Currie GL, Sena ES, Ramnarine S, Grant R, MacLeod MR, et al. Incidence, prevalence, and predictors of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: A systematic review and meta-analysis. *Pain.* 2014 Dec;155(12):2461-2470. doi: 10.1016/j.pain.2014.09.020
75. Eldridge S, Guo L, Hamre J 3rd. A Comparative Review of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy in In Vivo and In Vitro Models. *Toxicol Pathol.* 2020 Jan;48(1):190-201. doi: 10.1177/0192623319861937
76. Klein I, Lehmann HC. Pathomechanisms of Paclitaxel-Induced Peripheral Neuropathy. *Toxics.* 2021 Sep;9(10):229. doi: 10.3390/toxics9100229
77. Starobova H, Vetter I. Pathophysiology of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Front Mol Neurosci.* 2017 May;10:174. doi: 10.3389/fnmol.2017.00174
78. Ventzel L, Jensen AB, Jensen AR, Jensen TS, Finnerup NB. Chemotherapy-induced pain and neuropathy: a prospective study in patients treated with adjuvant oxaliplatin or docetaxel. *Pain.* 2016 Mar;157(3):560-568. doi: 10.1097/j.pain.0000000000000404
79. Song SJ, Min J, Suh SY, Jung SH, Hahn HJ, Im SA, et al. Incidence of taxane-induced peripheral neuropathy receiving treatment and prescription patterns in patients with breast cancer. *Support Care Cancer.* 2017 Jul;25(7):2241-2248. doi: 10.1007/s00520-017-3631-x
80. Fernandes R, Mazzarello S, Hutton B, Shorr R, Majeed H, Ibrahim MF, et al. Taxane acute pain syndrome (TAPS) in patients receiving taxane-based



0108199708957692

- chemotherapy for breast cancer-a systematic review. *Support Care Cancer*. 2016 Aug;24(8):3633-50. doi: 10.1007/s00520-016-3256-5
81. Farquhar-Smith P, Brown MR. Persistent pain in cancer survivors: pathogenesis and treatment options. *Pain*. 2016;24:1-8.
82. Li L, Li J, Zuo Y, Dang D, Frost JA, Yang Q. Activation of KCNQ Channels Prevents Paclitaxel-Induced Peripheral Neuropathy and Associated Neuropathic Pain. *J Pain*. 2019 May;20(5):528-539. doi: 10.1016/j.jpain.2018.11.001
83. Cashman CR, Höke A. Mechanisms of distal axonal degeneration in peripheral neuropathies. *Neurosci Lett*. 2015 Jun;596:33-50. doi: 10.1016/j.neulet.2015.01.048
84. Gordon-Williams R, Farquhar-Smith P. Recent advances in understanding chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *F1000Res*. 2020 Mar;9:F1000 Faculty Rev-177. doi: 10.12688/f1000research.21625.1
85. McCormick B, Lowes DA, Colvin L, Torsney C, Galley HF. Mito VitE, a mitochondria-targeted antioxidant, limits paclitaxel-induced oxidative stress and mitochondrial damage in vitro, and paclitaxel-induced mechanical hypersensitivity in a rat pain model. *Br J Anaesth*. 2016 Nov;117(5):659-666. doi: 10.1093/bja/aew309
86. Shim HS, Bae C, Wang J, Lee KH, Hankerd KM, Kim HK, et al. Peripheral and central oxidative stress in chemotherapy-induced neuropathic pain. *Mol Pain*. 2019 Jan-Dec;15:1744806919840098. doi: 10.1177/1744806919840098
87. Staff NP, Fehrenbacher JC, Caillaud M, Damaj MI, Segal RA, Rieger S. Pathogenesis of paclitaxel-induced peripheral neuropathy: A current review of in vitro and in vivo findings using rodent and human model systems. *Exp Neurol*. 2020 Feb; 324:113121. doi: 10.1016/j.expneurol.2019.113121.
88. Duggett NA, Griffiths LA, McKenna OE, de Santis V, Yongsanguanchai N, Mokori EB, et al. Oxidative stress in the development, maintenance and



- resolution of paclitaxel-induced painful neuropathy. *Neuroscience*. 2016 Oct;333:13-26. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.06.050.
89. Duggett NA, Griffiths LA, Flatters SJL. Paclitaxel-induced painful neuropathy is associated with changes in mitochondrial bioenergetics, glycolysis, and an energy deficit in dorsal root ganglia neurons. *Pain*. 2017;158(8):1499-1508. doi:10.1097/j.pain.0000000000000939
90. Zhang H, Dougherty PM. Enhanced excitability of primary sensory neurons and altered gene expression of neuronal ion channels in dorsal root ganglion in paclitaxel-induced peripheral neuropathy. *Anesthesiology*. 2014 Jun;120(6):1463-75. doi: 10.1097/ALN.0000000000000176
91. Peng L, Bu Z, Ye X, Zhou Y, Zhao Q. Incidence and risk of peripheral neuropathy with nab-paclitaxel in patients with cancer: a meta-analysis. *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2017 Sep;26(5). doi: 10.1111/ecc.12407
92. Fumagalli G, Monza L, Cavaletti G, Rigolio R, Meregalli C. Neuroinflammatory Process Involved in Different Preclinical Models of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Front Immunol*. 2021 Feb;11:626687. doi: 10.3389/fimmu.2020.626687
93. WHO. Global Status Report on Alcohol Health 2018. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2018.
94. Fouarge E, Maquet P. Conséquences neurologiques centrales et périphériques de l'alcoolisme [Neurological consequences of alcoholism]. *Rev Med Liege*. 2019 May;74(5-6):310-313.
95. de la Monte SM, Kril JJ. Human alcohol-related neuropathology. *Acta Neuropathol*. 2014 Jan;127(1):71-90. doi: 10.1007/s00401-013-1233-3.
96. Julian T, Glasgow N, Syeed R, Zis P. Alcohol-related peripheral neuropathy: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol*. 2019 Dec;266(12):2907-2919. doi: 10.1007/s00415-018-9123-1
97. Eriksson CJ. The role of acetaldehyde in the actions of alcohol (update 2000). *Alcohol Clin Exp Res*. 2001 May;25(5 Suppl ISBRA):15S-32S. doi: 10.1097/00000374-200105051-00005



98. De Logu F, Li Puma S, Landini L, Portelli F, Innocenti A, de Araujo DSM, et al. Schwann cells expressing nociceptive channel TRPA1 orchestrate ethanol-evoked neuropathic pain in mice. *J Clin Invest*. 2019 Dec;129(12):5424-5441. doi: 10.1172/JCI128022
99. Yan SL, Huang CS, Mong MC, Yin MC. Oridonin Attenuates the Effects of Chronic Alcohol Consumption Inducing Oxidative, Glycative and Inflammatory Injury in the Mouse Liver. *In Vivo*. 2021 Jul-Aug;35(4):2141-2149. doi: 10.21873/invivo.12484
100. Hoyt LR, Randall MJ, Ather JL, DePuccio DP, Landry CC, Qian X, et al. Mitochondrial ROS induced by chronic ethanol exposure promote hyperactivation of the NLRP3 inflammasome. *Redox Biol*. 2017 Aug;12:883-896. doi: 10.1016/j.redox.2017.04.020
101. Hammoud N, Jimenez-Shahed J. Chronic Neurologic Effects of Alcohol. *Clin Liver Dis*. 2019 Feb;23(1):141-155. doi: 10.1016/j.cld.2018.09.010
102. Єрошенко ГА, Шевченко КВ, Крамаренко ДР, Білаш СМ, Проніна ОМ, Ячмінь АІ. Структурно-функціональні особливості слинних залоз змішаної секреції. *Вісник проблем біології і медицини*. 2019;1(149):30-4
103. Єрошенко ГА, Шевченко КВ, Крамаренко РД, Кудінов МВ, Проніна ОМ. Сучасні уявлення про структурно-функціональну організацію слинних залоз. *Вісник проблем біології і медицини*. 2018; 3 (145): 50-8
104. Velasco-Ortega E, Delgado-Ruiz RA, López-López J. Dentistry and Diabetes: The Influence of Diabetes in Oral Diseases and Dental Treatments. *J Diabetes Res*. 2016;2016:6073190. DOI:10.1155/2016/6073190.
105. Удод АА, Кулиш АС, Деев ВА, Роздобудько НИ, Осипенко КП. Исследование минеральных компонентов ротовой жидкости у больных сахарным диабетом 1-го типа. *Вестник стоматологии*. 2019;32(2):19-22.
106. Удод АА, Кулиш АС. Аналіз біофізичних властивостей ротової рідини у хворих на цукровий діабет 1 типу. *Український стоматологічний альманах*. 2017; 4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/analiz-biofizichnih-vlastivostey-rotovoyi-ridini-u-hvorih-na-tsukroviiy-diabet-1-tipu>



107. Блищак НБ, Борис РЯ, Галюк УМ. Морфологічна перебудова піднижньощелепної залози щурів через 2 та 4 тижні перебігу експериментального цукрового діабету. Клін. анатомія та опер. хірургія. 2018;17(3):29-37.
108. Котик ТЛ. Характеристика перебудови вивідних проток піднижньощелепної залози за умови розвитку експериментального цукрового діабету з використанням аналізу головних компонент. Гал. лік. вісн. 2015;22(3 (1)):108-12.
109. Xiang RL, Huang Y, Zhang Y, Cong X, Zhang ZJ, Wu LL, et al. Type 2 diabetes-induced hyposalivation of the submandibular gland through PINK1/Parkin-mediated mitophagy. *J Cell Physiol.* 2020 Jan;235(1):232-244. doi: 10.1002/jcp.28962
110. Galagdina AA. Порухення функціонального та морфологічного стану слинних залоз при цукровому діабеті та їх роль в ушкодженні слизової оболонки ротової порожнини. Здобутки клін. і експерим. медицини [Інтернет]. 13 листоп. 2015 [цитовано 28 серп. 2024];23(2-3). Доступно на: <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2015.v23.i2-3.5215>
111. Sato T, Mito K, Ishii H. Relationship between impaired parasympathetic vasodilation and hyposalivation in parotid glands associated with type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2020 May;318(5):R940-R949. DOI: 10.1152/ajpregu.00016.2019.
112. López-Pintor RM, Casañas E, González-Serrano J, Serrano J, Ramírez L, de Arriba L, et al. Xerostomia, Hyposalivation, and Salivary Flow in Diabetes Patients. *J Diabetes Res.* 2016;2016:4372852. doi: 10.1155/2016/4372852
113. Inamochi Y, Fueki K, Matsuyama Y, Yoshida-Kohno E, Fujiwara T, Wakabayashi N. Does oral dryness influence pressure pain sensitivity in the oral mucosa of removable denture wearers? *Clin Oral Investig.* 2020 Aug;24(8):2603-2609. doi: 10.1007/s00784-019-03118-1
114. Steigmann L, Miller R, Trapani VR, Giannobile WV, Braffett BH, Pop-Busui R, et al; Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of



- Diabetes Interventions and Complications Research Group. Type 1 diabetes and oral health: Findings from the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) study. *J Diabetes Complications*. 2022 Apr;36(4):108120. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2021.108120
115. Kang JH, Kho HS. Is a neuropathic mechanism involved in the perception of oral dryness? *Arch Oral Biol*. 2021 Oct;130:105213. doi: 10.1016/j.archoralbio.2021.105213
116. Mortazavi H, Baharvand M, Movahhedian A, Mohammadi M, Khodadoustan A. Xerostomia due to systemic disease: a review of 20 conditions and mechanisms. *Ann Med Health Sci Res*. 2014 Jul;4(4):503-10. doi: 10.4103/2141-9248.139284
117. Jääskeläinen SK. Is burning mouth syndrome a neuropathic pain condition? *Pain*. 2018 Mar;159(3):610-613. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001090
118. Jääskeläinen SK, Woda A. Burning mouth syndrome. *Cephalalgia*. 2017 Jun;37(7):627-647. doi: 10.1177/0333102417694883
119. Fouani M, Basset CA, Jurjus AR, Leone LG, Tomasello G, Leone A. Salivary gland proteins alterations in the diabetic milieu. *J Mol Histol*. 2021 Oct;52(5):893-904. DOI: 10.1007/s10735-021-09999-5.
120. Chen SY, Wang Y, Zhang CL, Yang ZM. Decreased basal and stimulated salivary parameters by histopathological lesions and secretory dysfunction of parotid and submandibular glands in rats with type 2 diabetes. *Exp Ther Med*. 2020 Apr;19(4):2707-2719. DOI: 10.3892/etm.2020.8505.
121. Knaś M, Maciejczyk M, Daniszewska I, Klimiuk A, Matczuk J, Kołodziej U et al. A Oxidative Damage to the Salivary Glands of Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes-Temporal Study: Oxidative Stress and Diabetic Salivary Glands. *J Diabetes Res*. 2016;2016:4583742
122. Kołodziej U, Maciejczyk M, Miąsko A, Matczuk J, Knaś M, Żukowski P, et al. Oxidative Modification in the Salivary Glands of High Fat-Diet Induced Insulin Resistant Rats. *Front Physiol*. 2017 Jan 26;8:20. DOI: 10.3389/fphys.2017.00020.



123. DeVito-Moraes AG, Marques VDD, Caperuto LC, Ibuki FK, Nogueira FN, Francci CE, et al. Initial Steps of Insulin Action in Parotid Glands of Male Wistar Rats. *Cell Biochem Biophys*. 2021 Aug. DOI: 10.1007/s12013-021-01025-5.
124. Jensen SB, Mouridsen HT, Reibel J, Brünner N, Nauntofte B. Adjuvant chemotherapy in breast cancer patients induces temporary salivary gland hypofunction. *Oral Oncol*. 2008 Feb;44(2):162-73. doi: 10.1016/j.oraloncology.2007.01.015.
125. Frowen J, Hughes R, Skeat J. The prevalence of patient-reported dysphagia and oral complications in cancer patients. *Support Care Cancer*. 2020 Mar;28(3):1141-1150. doi: 10.1007/s00520-019-04921-y
126. Kaizu M, Komatsu H, Yamauchi H, Yamauchi T, Sumitani M, Doorenbos AZ. Characteristics of taste alterations in people receiving taxane-based chemotherapy and their association with appetite, weight, and quality of life. *Support Care Cancer*. 2021 Sep;29(9):5103-5114. doi: 10.1007/s00520-021-06066-3
127. Pedersini R, Zamparini M, Bosio S, di Mauro P, Turla A, Monteverdi S, et al. Taste alterations during neo/adjuvant chemotherapy and subsequent follow-up in breast cancer patients: a prospective single-center clinical study. *Support Care Cancer*. 2022 Aug;30(8):6955-6961. doi: 10.1007/s00520-022-07091-6
128. Speck RM, DeMichele A, Farrar JT, Hennessy S, Mao JJ, Stineman MG, et al. Taste alteration in breast cancer patients treated with taxane chemotherapy: experience, effect, and coping strategies. *Support Care Cancer*. 2013 Feb;21(2):549-55. doi: 10.1007/s00520-012-1551-3
129. Bomfin LE, Braga CM, Oliveira TA, Martins CS, Foschetti DA, Santos AAQA, et al. 5-Fluorouracil induces inflammation and oxidative stress in the major salivary glands affecting salivary flow and saliva composition. *Biochem Pharmacol*. 2017 Dec 1;145:34-45. doi: 10.1016/j.bcp.2017.08.024
130. Barbosa SCM, Pereira VBM, Wong DVT, Santana APM, Lucetti LT, Carvalho LL, et al. Amifostine reduces inflammation and protects against 5-



- fluorouracil-induced oral mucositis and hyposalivation. *Braz J Med Biol Res.* 2019 Feb 25;52(3):e8251. doi: 10.1590/1414-431X20188251
131. Elmansy M, Hegazy E. Evaluation of the Apoptotic changes induced by 5-Fluorouracil on the Lingual Mucosa and Salivary glands of male albino rats (Histological, Histomorphometric and Immunohistochemical Study). *Egypt Dent J [Интернет].* 1 жовт. 2020 [цитовано 28 серп. 2024];66(4):2353-63. Доступно на: <https://doi.org/10.21608/edj.2020.41503.1240>
132. Zięba S, Maciejczyk M, Zalewska A. Ethanol- and Cigarette Smoke-Related Alternations in Oral Redox Homeostasis. *Front Physiol.* 2022 Jan 28;12:793028. doi: 10.3389/fphys.2021.793028
133. Hoes L, Dok R, Verstrepen KJ, Nuyts S. Ethanol-Induced Cell Damage Can Result in the Development of Oral Tumors. *Cancers (Basel).* 2021 Jul 30;13(15):3846. doi: 10.3390/cancers13153846
134. Albers JW, Pop-Busui R. Diabetic neuropathy: mechanisms, emerging treatments, and subtypes. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2014;14:473. doi:10.1007/s11910-014-0473-5.
135. Nikitina NS, Stepanova LI, Dvorschenko KO, Ostapchenko LI, Berehoviі SM. Influence Of Cocarnit On The Pro- / Antioxidant Balance In Sciatic Nerve Tissue In The Rats With Diabetic Polyneuropathy. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* 2018 Nov–Dec;9(6):1522
136. Baltrusch S. The Role of Neurotropic B Vitamins in Nerve Regeneration. *Biomed Res Int.* 2021 Jul 13;2021:9968228. doi: 10.1155/2021/9968228
137. Jolivalт CG, Mizisin LM, Nelson A, Cunha JM, Ramos KM, Bonke D, et al. B vitamins alleviate indices of neuropathic pain in diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 2009 Jun;612(1-3):41-7. doi: 10.1016/j.ejphar.2009.04.028
138. Nedeljkovic P, Zmijanac D, Draskovic-Pavlovic B, Vasiljevсka M, Dragana V, Bozic B, et al. Vitamin B complex treatment improves motor nerve regeneration and recovery of muscle function in a rodent model of peripheral nerve injury. *Arch Biol Sci.* 2017;69(2):361-8.





139. Hakim M, Kurniani N, Pinzon RT, Tugasworo D, Basuki M, Haddani H, et al. Management of peripheral neuropathy symptoms with a fixed dose combination of high-dose vitamin B1, B6 and B12: A 12-week prospective non-interventional study in Indonesia. *Asian J Med Sci*. 2018 Jan;9(1):32-40.
140. Luong KV, Nguyen LT. The impact of thiamine treatment in the diabetes mellitus. *J Clin Med Res*. 2012 Jun;4(3):153-60. doi: 10.4021/jocmr890w
141. Karachalias N, Babaei-Jadidi R, Rabbani N, Thornalley PJ. Increased protein damage in renal glomeruli, retina, nerve, plasma and urine and its prevention by thiamine and benfotiamine therapy in a rat model of diabetes. *Diabetologia*. 2010 Jul;53(7):1506-16. doi: 10.1007/s00125-010-1722-z
142. Beltramo E, Mazzeo A, Porta M. Thiamine and diabetes: back to the future? *Acta Diabetol*. 2021 Nov;58(11):1433-1439. doi: 10.1007/s00592-021-01752-4
143. Amirani E, Aghadavod E, Shafabakhsh R, Asemi Z, Tabassi Z, Panahandeh I, et al. Anti-inflammatory and antioxidative effects of thiamin supplements in patients with gestational diabetes mellitus. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2022 Jun;35(11):2085-2090. doi: 10.1080/14767058.2020.1779212
144. Li W, Yu W, Haiying WU. [Nicotinamide regulates blood glucose level and affects mitochondrial superoxide level in gestational diabetic rats]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2017 Mar 25;46(2):179-185. Chinese
145. Negi G, Kumar A, Kaundal RK, Gulati A, Sharma SS. Functional and biochemical evidence indicating beneficial effect of Melatonin and Nicotinamide alone and in combination in experimental diabetic neuropathy. *Neuropharmacology*. 2010 Mar;58(3):585-92. doi: 10.1016/j.neuropharm.2009.11.018
146. Cruz PL, Moraes-Silva IC, Ribeiro AA, Machi JF, de Melo MDT, Dos Santos F, et al. Nicotinamide attenuates streptozotocin-induced diabetes complications and increases survival rate in rats: role of autonomic nervous system. *BMC Endocr Disord*. 2021 Jun;21(1):133. doi: 10.1186/s12902-021-00795-6



147. Stevens MJ, Li F, Drel VR, Abatan OI, Kim H, Burnett D, Larkin D, et al. Nicotinamide reverses neurological and neurovascular deficits in streptozotocin diabetic rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007 Jan;320(1):458-64. doi: 10.1124/jpet.106.109702
148. van de Lagemaat EE, de Groot LCPGM, van den Heuvel EGHM. Vitamin B<sub>12</sub> in Relation to Oxidative Stress: A Systematic Review. *Nutrients*. 2019 Feb 25;11(2):482. doi: 10.3390/nu11020482
149. Birch CS, Brasch NE, McCaddon A, Williams JH. A novel role for vitamin B(12): Cobalamins are intracellular antioxidants in vitro. *Free Radic. Biol. Med*. 2009; 47(2): 184–188.
150. Sun Y, Lai MS, Lu CJ. Effectiveness of vitamin B12 on diabetic neuropathy: systematic review of clinical controlled trials. *Acta Neurol Taiwan*. 2005 Jun;14(2):48-54
151. Chopra K, Tiwari V. Alcoholic neuropathy: possible mechanisms and future treatment possibilities. *Br J Clin Pharmacol*. 2012 Mar;73(3):348-62. doi: 10.1111/j.1365-2125.2011.04111.x.
152. Kanzawa-Lee GA. Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: Nursing Implications. *J Infus Nurs*. 2020 May/Jun;43(3):155-166. doi: 10.1097/NAN.0000000000000368
153. Hershman DL, Lacchetti C, Dworkin RH, Lavoie Smith EM, Bleeker J, Cavaletti G, et al; American Society of Clinical Oncology. Prevention and management of chemotherapy-induced peripheral neuropathy in survivors of adult cancers: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *J Clin Oncol*. 2014 Jun 20;32(18):1941-67. doi: 10.1200/JCO.2013.54.0914
154. Schloss J, Colosimo M. B Vitamin Complex and Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Curr Oncol Rep*. 2017 Oct 5;19(12):76. doi: 10.1007/s11912-017-0636-z



155. Szklener K, Szklener S, Michalski A, Żak K, Kuryło W, Rejdak K, et al. Dietary Supplements in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: A New Hope? *Nutrients*. 2022 Jan 31;14(3):625. doi: 10.3390/nu14030625
156. Hamity MV, White SR, Walder RY, Schmidt MS, Brenner C, Hammond DL. Nicotinamide riboside, a form of vitamin B3 and NAD<sup>+</sup> precursor, relieves the nociceptive and aversive dimensions of paclitaxel-induced peripheral neuropathy in female rats. *Pain*. 2017.
157. Popov SV, Melekhovets OK, Demikhova NV, Vynnychenko LB. Препарат високої метаболічної активності кокарніт у лікуванні діабетичної автономної нейропатії серця. *Likarska Sprava* [Інтернет]. 26 черв. 2012 [цитовано 22 серп. 2024];(3-4):75-81. Доступно на: [https://doi.org/10.31640/lis-2012-\(3-4\)-13](https://doi.org/10.31640/lis-2012-(3-4)-13)
158. Корж НА, Филиппенко ВА, Леонтьева ФС, Туляков ВА, Бондаренко СЕ. Применение препарата Кокарнит у пациентов после эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов. *Травма*. 2012;13(4):26-30. Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Travma\\_2012\\_13\\_4\\_6](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Travma_2012_13_4_6)
159. Romanova IP, Kazakov A, Oleynikova SP, Chernyavskaya I, Dorosh O. СУЧАСНИЙ ПІДХІД ДО ЛІКУВАННЯ ДІАБЕТИЧНОЇ ПОЛІНЕЙРОПАТІЇ. *РЕР* [інтернет]. 10, Жовтень 2012 [цит. за 22, Серпень 2024];41(3):56-9. доступний у: <https://www.jppep.endocrinology.org.ua/index.php/1/article/view/597>
160. Павлович ЛБ, Білоус П, Васильєва НВ, Яремчук ОБ. Кокарніт в комплексній терапії діабетичної полінейропатії. *Південноукр. мед. наук. журн. Берез.* 2013;(1):118-20.
161. Сосін ІК, Чуєв ЮФ, Сушинська ОО, Гончарова ОЮ, Кліменко ОВ, Осипов ОА, та ін. Доказова фармація: Досвід застосування препарату Кокарніт в комплексному лікуванні алкогольної полінейропатії. Матеріали 9-ї Міжнародної науково-практичної конференції «Фармацевтичне і медичне право України (фарм. і мед. законодавство.



- судова фармація, доказова фармація)». Український вісник психоневрології. 2012;20(2):89 – 90.
162. Kuriata O, Sirenko O, Lysunets T, Lehkobyt A, Vorotylyshcheva A. The effectiveness of combination therapy with the use of meloxicam (Loxidol) and Cocarnit in the treatment of patients with chronic diseases of the musculoskeletal system during the exacerbation period. TRAUMA [Internet]. 2022 Jan. 21 [cited 2024 Aug. 22];18(6):75-80. Available from: <https://trauma.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/581>
163. Ханюков О, Єгудіна Є, Григоренко О, Осипчук І. Клінічний досвід використання Кокарніту в комплексному лікуванні пацієнтів з ішемічною хворобою серця і хронічною серцевою недостатністю. Здоров'я України 21 століття № 2 (447)'2019. 3 січ. 2019;447(2):18.
164. Kuryata OV, Lysunec TK, Noda OY. Эффективность Кокарнита в комплексной терапии больных системными заболеваниями соединительной ткани с поражением миокарда и проявлениями сердечной недостаточности. Likarska Sprava [Интернет]. 25 груд. 2015 [цитовано 13 верес. 2024];(7-8):141-8. Доступно на: [https://doi.org/10.31640/ls-2015-\(7-8\)-25](https://doi.org/10.31640/ls-2015-(7-8)-25)
165. Верховна Рада України. Закон України про захист тварин від жорстокого поводження № 3447–IV 21 Лют 2006 [Internet]. Київ; 2006. [цитовано 2024 Квіт 12]. Доступно: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>
166. Islam MS, Choi H. Nongenetic model of type 2 diabetes: a comparative study. Pharmacology. 2007;79(4):243-49. doi: 10.1159/000101989.
167. Cavaletti G, Cavalletti E, Montaguti P, Oggioni N, De Negri O, Tredici G. Effect on the peripheral nervous system of the short-term intravenous administration of paclitaxel in the rat. Neurotoxicology. 1997;18(1):137-45



168. Nguyen VA, Le T, Tong M, Mellion M, Gilchrist J, de la Monte SM. Experimental alcohol-related peripheral neuropathy: role of insulin/IGF resistance. *Nutrients*. 2012;4(8):1042-57. doi: 10.3390/nu4081042.
169. Dina OA, Barletta J, Chen X, Mutero A, Martin A, Messing RO, et al. Key role for the epsilon isoform of protein kinase C in painful alcoholic neuropathy in the rat. *J Neurosci*. 2000 Nov;20(22):8614-9. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-22-08614.2000
170. Randal LO, Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch Int Pharmacodyn Ther*. 1957 Sep 1;111(4):409-19
171. Santos-Nogueira E, Redondo Castro E, Mancuso R, Navarro X. Randall-Selitto test: a new approach for the detection of neuropathic pain after spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 2012 Mar;29(5):898-904. doi: 10.1089/neu.2010.1700
172. Definition of optimum scheme of cocarnit injection for rats with polyneuropathy following diabetes induced by tenzoalometric method [Electronic resource] / N. Nikitina [et al.] // *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Problems of Physiological Functions Regulation*. – 2017. – Vol. 23, no. 2. – P. 37–42. – Mode of access: [https://doi.org/10.17721/2616\\_6410.2017.23.37-42](https://doi.org/10.17721/2616_6410.2017.23.37-42)
173. World medicine [Интернет]. КОКАPHИТ - World medicine <https://worldmedicine.ua/product/cocarnit/>.
174. Ou S, Kwok KC, Wang Y, Bao H. An improved method to determine SH and –S–S– group content in soymilk protein. *Food Chem.*, 2004;88(2):317-20. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.001>.
175. Разыграев АВ. Метод определения глутатионпероксидазной активности с использованием пероксида водовода и 5,5'-дитиобис (2-нитробензойной) кислоты. *Клинико-лабораторный консилиум*. 2004; 4:19–22.



176. Власова СН. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей. Лаб дело. 1990;(8):19-22.
177. Mokrasch LC, Teschke EJ. Glutathione content of cultured cells and rodent brain regions: a specific fluorometric assay. *Anal Biochem.* 1984;140(2):506-9. doi: 10.1016/0003-2697(84)90201-x.
178. Чевари С, Чаба И, Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах. Лаб дело. 1985;(11):678-81.
179. Королюк МА, Иванова ЛИ, Майорова ИГ, Токарев ВЕ. Метод определения активности каталазы. Лабораторное дело. 1988;1:16-8.
180. Кайдашев П, редактор. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. Полтава: Полімет; 2003. 99-100 с.
181. Кайдашев П, редактор. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. Полтава: Полімет; 2003. 117-120 с.
182. Дубинина ЕЕ, Бурмистров СО. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека. Метод ее определения. Вопросы мед химии. 1995;(1):24-26.
183. Caraway WT. A stable starch substrate for the determination of amylase in serum and other body fluids. *Am J Clin Pathol.* 1959 Jul;32(1):97-9. DOI: 10.1093/ajcp/32.1\_ts.97.
184. Уголев АМ, Иезуитова НН, Масевич ЦГ, Надирова ТЯ, Тимофеева НМ. Исследование пищеварительного аппарата у человека. Ленинград: Наука; 1969; 216 с.
185. Кайдашев П, редактор. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. Кайдашев П, редактор. Полтава: Полімет; 2003. 142-145 с.
186. Кайдашев П, редактор. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. Полтава: Полімет; 2003. 158-159 с.



187. Pronina OM, Koptev MM, Bilash SM et al. Response of hemomicrocirculatory bed of internal organs on various external factors exposure based on the morphological research data, *Svit medytsyny ta biologiyi*. 2018; 1(63): 153-57. <http://dx.doi.org/10.26.724/2079-8334-2018-1-63-153-157>
188. Антомонов МЮ. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. Киев: Мединформ, 2018. 579 с
189. Tykhonovych KV, KotvytskaAA, Beregovyi SM, NeporadaKS. DEVELOPMENT OF PATHOLOGICAL CHANGES IN THE ORAL CAVITY ORGANS OF ANIMALS UNDER CONDITIONS OF POLYNEUROPATHIES OF DIFFERENT GENESIS. *Med. and Ecol. probl.*2023Dec.29;27(5-6):31-4. <https://doi.org/10.31718/mep.2023.27.5-6.05>
190. Тихонович КВ, Криворучко ТД, Береговий СМ, Непорада КС. Вплив стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії на слинні залози щурів. *Вісн. проблем біології та медицини*. 2021;4(162):194-8.
191. Kotvytska AA, Tykhonovych KV, Kryvoruchko TD, Neporada KS, Beregovyi SM. Paclitaxel-induced neuropathy induces changes in oral cavity organs of rats . *Regul. Mech. Biosyst.* 2023Feb.7;14(1):102-5. Available from: <https://medicine.dp.ua/index.php/med/article/view/862>
192. Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС, Береговий СМ. Корекція нейротоксичності та патологічних змін у слинних залозах тварин за умов алкогольної нейропатії. *Вісн. мед. і біол. дослідж.* 14 груд. 2022;(4):63-7. Доступно на: <https://doi.org/10.11603/bmbr.2706-6290.2022.4.13222>
193. Maessen DE, Stehouwer CD, Schalkwijk CG. The role of methylglyoxal and the glyoxalase system in diabetes and other age-related diseases. *Clin Sci (Lond)*. 2015 Jun;128(12):839-61. doi: 10.1042/CS20140683.
194. Hawkins CL, Davies MJ. Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications. *J Biol Chem*. 2019 Dec;294(51):19683-19708. doi: 10.1074/jbc.REV119.006217



195. Tykhonovych KV, Neporada KS, Yeroshenko GA. PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES IN SALIVARY GLANDS OF RATS UNDER THE CONDITION OF DIABETIC NEUROPATHY AND CORRECTION. World Med Biol [Інтернет]. 2023 [цитовано 10 верес. 2024];19(83):229. Доступно на: <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-1-83-229-232>
196. Wu F, Xu K, Liu L, Zhang K, Xia L, Zhang M, et al. Vitamin B<sub>12</sub> Enhances Nerve Repair and Improves Functional Recovery After Traumatic Brain Injury by Inhibiting ER Stress-Induced Neuron Injury. Front Pharmacol. 2019 Apr;10:406. doi: 10.3389/fphar.2019.00406. Erratum in: Front Pharmacol. 2021 Apr 12;12:598335. doi: 10.3389/fphar.2021.598335
197. Gan L, Qian M, Shi K, Chen G, Gu Y, Du W, et al. Restorative effect and mechanism of mecobalamin on sciatic nerve crush injury in mice. Neural Regen Res. 2014 Nov;9(22):1979-84. doi: 10.4103/1673-5374.145379
198. Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС, Береговий СМ. КОРЕКЦІЯ КОКАРНІТОМ ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН У СЛИННИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕЙРОПАТІЇ. Med Clin Chem [Інтернет]. 16 черв. 2022;(1):39-45. Доступно на: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681x.2022.i1.13035>
199. Tykhonovych K, Kryvoruchko T, Nikitina N, Berehovyi S, Neporada K. CORRECTION OF PATHOLOGICAL CHANGES IN SALIVARY GLANDS OF ANIMALS WITH PACLITAXEL-INDUCED NEUROPATHY. Exp Oncol. 2024 May 31;46(1):38-44. doi: 10.15407/exp-oncology.2024.01.038
200. Iqbal Z, Azmi S, Yadav R, Ferdousi M, Kumar M, Cuthbertson DJ, et al. Diabetic Peripheral Neuropathy: Epidemiology, Diagnosis, and Pharmacotherapy. Clin Ther. 2018 Jun;40(6):828-849. doi: 10.1016/j.clinthera.2018.04.001
201. Jin HY, Park TS. Role of inflammatory biomarkers in diabetic peripheral neuropathy. J Diabetes Investig. 2018 Sep;9(5):1016-1018. doi: 10.1111/jdi.12794





202. Bhattacharjee N, Dua TK, Khanra R, Joardar S, Nandy A, Saha A, et al. Protocatechuic Acid, a Phenolic from *Sansevieria roxburghiana* Leaves, Suppresses Diabetic Cardiomyopathy via Stimulating Glucose Metabolism, Ameliorating Oxidative Stress, and Inhibiting Inflammation. *Front Pharmacol.* 2017 May 8;8:251. doi: 10.3389/fphar.2017.00251
203. Luo X, Wu J, Jing S, Yan LJ. Hyperglycemic Stress and Carbon Stress in Diabetic Glucotoxicity. *Aging Dis.* 2016 Jan;7(1):90-110. doi: 10.14336/AD.2015.0702
204. Chowdhury SK, Smith DR, Fernyhough P. The role of aberrant mitochondrial bioenergetics in diabetic neuropathy. *Neurobiol Dis.* 2013 Mar;51:56-65. doi: 10.1016/j.nbd.2012.03.016
205. Arora K, Tomar PC, Mohan V. Diabetic neuropathy: an insight on the transition from synthetic drugs to herbal therapies. *J Diabetes Metab Disord.* 2021 Jun 25;20(2):1773-1784. doi: 10.1007/s40200-021-00830-2
206. Mousa SA, Shaqura M, Winkler J, Khalefa BI, Al-Madol MA, Shakibaei M, et al. Protein kinase C-mediated mu-opioid receptor phosphorylation and desensitization in rats, and its prevention during early diabetes. *Pain.* 2016 Apr;157(4):910-921. doi: 10.1097/j.pain.0000000000000459
207. Qureshi Z, Ali MN, Khalid M. An Insight into Potential Pharmacotherapeutic Agents for Painful Diabetic Neuropathy. *J Diabetes Res.* 2022 Jan 27;2022:9989272. doi: 10.1155/2022/9989272
208. Ramasamy R, Yan SF, Schmidt AM. Arguing for the motion: yes, RAGE is a receptor for advanced glycation endproducts. *Mol Nutr Food Res.* 2007 Sep;51(9):1111-5. doi: 10.1002/mnfr.200700008
209. Abd-Elraheem SE, El Saeed AM, Mansour HH. Salivary changes in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab Syndr.* 2017 Dec;11(2):637-641.
210. Malathi L, Masthan KM, Balachander N, Babu NA, Rajesh E. Estimation of salivary amylase in diabetic patients and saliva as a diagnostic tool in early diabetic patients. *J Clin Diagn Res.* 2013 Nov;7(11):2634-6.



211. Ladgotra A, Verma P, Raj SS. Estimation of Salivary and Serum Biomarkers in Diabetic and Non Diabetic Patients - A Comparative Study. *J Clin Diagn Res.* 2016 Jun;10(6):ZC56-61.
212. Pérez-Ros P, Navarro-Flores E, Julián-Rochina I, Martínez-Arnau FM, Cauli O. Changes in Salivary Amylase and Glucose in Diabetes: A Scoping Review. *Diagnostics (Basel).* 2021 Mar 6;11(3):453. DOI: 10.3390/diagnostics11030453.
213. Panchbhai AS, Degwekar SS, Bhowte RR. Estimation of salivary glucose, salivary amylase, salivary total protein and salivary flow rate in diabetics in India. *J Oral Sci.* 2010 Sep;52(3):359-68.
214. Johnson P, Ganesh M, Subhashini AS. Evaluation of Salivary Profile among Adult Type 2 Diabetes Mellitus Patients in South India. *J Clin Diagn Res.* 2013 Aug;7(8):1592-5.
215. Indira M, Chandrashekar P, Kattappagari KK, Chandra LP, Chitturi RT, Bv RR. Evaluation of salivary glucose, amylase, and total protein in Type 2 diabetes mellitus patients. *Indian J Dent Res.* 2015 May-Jun;26(3):271-5.
216. Mednieks MI, Szczepanski A, Clark B, Hand AR. Protein expression in salivary glands of rats with streptozotocin diabetes. *Int J Exp Pathol.* 2009 Aug;90(4):412-22. doi: 10.1111/j.1365-2613.2009.00662.x
217. Nakajima K, Nemoto T, Muneyuki T, Kakei M, Fuchigami H, Munakata H. Low serum amylase in association with metabolic syndrome and diabetes: A community-based study. *Cardiovasc Diabetol.* 2011 Apr;10:34. doi: 10.1186/1475-2840-10-34
218. Aldossari NM, El Gabry EE, Gawish GEH. Association between salivary amylase enzyme activity and obesity in Saudi Arabia. *Medicine (Baltimore).* 2019 Jun;98(23):e15878. doi: 10.1097/MD.00000000000015878
219. Lennicke C, Cochemé HM. Redox metabolism: ROS as specific molecular regulators of cell signaling and function. *Mol Cell.* 2021 Sep;81(18):3691-3707. doi: 10.1016/j.molcel.2021.08.018



220. Hajam YA, Rani R, Ganie SY, Sheikh TA, Javaid D, Qadri SS, et al. Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives. *Cells*. 2022 Feb 5;11(3):552. doi: 10.3390/cells11030552
221. Demirci-Çekiç S, Özkan G, Avan AN, Uzunboy S, Çapanoğlu E, Apak R. Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *J Pharm Biomed Anal*. 2022 Feb 5;209:114477. doi: 10.1016/j.jpba.2021.114477
222. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cell Physiol Biochem*. 2017;44(2):532-553. doi: 10.1159/000485089
223. Yaribeygi H, Butler AE, Barreto GE, Sahebkar A. Antioxidative potential of antidiabetic agents: A possible protective mechanism against vascular complications in diabetic patients. *J Cell Physiol*. 2019 Mar;234(3):2436-2446. doi: 10.1002/jcp.27278
224. Yaribeygi H, Mohammadi MT, Sahebkar A. Crocin potentiates antioxidant defense system and improves oxidative damage in liver tissue in diabetic rats. *Biomed Pharmacother*. 2018 Feb;98:333-337. doi: 10.1016/j.biopha.2017.12.077
225. Yaribeygi H, Mohammadi MT, Sahebkar A. PPAR- $\alpha$  Agonist Improves Hyperglycemia-Induced Oxidative Stress in Pancreatic Cells by Potentiating Antioxidant Defense System. *Drug Res (Stuttg)*. 2018 Jun;68(6):355-360. doi: 10.1055/s-0043-121143
226. Kakkar M, Behl T, Cruz CV, Makeen HA, Albratty M, Alhazmi HA, et al. *Tridax procumbens* Ameliorates Streptozotocin-Induced Diabetic Neuropathy in Rats via Modulating Angiogenic, Inflammatory, and Oxidative Pathways. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2022 Aug;2022:1795405. doi: 10.1155/2022/1795405
227. Signorini C, De Felice C, Durand T, Oger C, Galano JM, Leoncini S, et al. Isoprostanes and 4-hydroxy-2-nonenal: markers or mediators of disease? Focus on Rett syndrome as a model of autism spectrum disorder. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:343824. doi: 10.1155/2013/343824



228. Vona R, Gambardella L, Cittadini C, Straface E, Pietraforte D. Biomarkers of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome and Associated Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 May 5;2019:8267234. doi: 10.1155/2019/8267234
229. Jové M, Mota-Martorell N, Pradas I, Martín-Gari M, Ayala V, Pamplona R. The Advanced Lipoxidation End-Product Malondialdehyde-Lysine in Aging and Longevity. *Antioxidants (Basel)*. 2020 Nov;9(11):1132. doi: 10.3390/antiox9111132
230. Gęgotek A, Skrzydlewska E. Biological effect of protein modifications by lipid peroxidation products. *Chem Phys Lipids*. 2019 Jul;221:46-52. doi: 10.1016/j.chemphyslip.2019.03.011
231. Raghavan S, Subramaniyam G, Shanmugam N. Proinflammatory effects of malondialdehyde in lymphocytes. *J Leukoc Biol*. 2012 Nov;92(5):1055-67. doi: 10.1189/jlb.1211617
232. Бондаренко ВВ, Нетюхайло ЛГ, Аветіков ДС. Молекули середньої маси в тканинах слинних залоз при експериментальній опіковій хворобі. *Таврический медико-биологический вестник*. 2012; 15(3), ч. 1 (59): 49–50.
233. Крамар СБ, Небесна ЗМ, Стравська МЯ, Сорока ЮВ, Стравський ТЯ. Динаміка змін біологічних маркерів ендотоксемії в умовах експериментальної термічної травми та її корекції. *Вісник проблем біології і медицини*. 2019; 4 (2): 116-120.
234. Синяченко ОВ, Єрмолаєва МВ, Алієва ТЮ, Лівенцова КВ, Верзілов СМ, Синяченко ТЮ. Клініко-патогенетичне значення молекул середньої маси різних фракцій у легневих експіратах хворих на ревматоїдний артрит. *Туберкульоз леген. хвороби ВІЛ інфекція*. 2021;1(44):60-6.
235. Steckl AJ, Ray P. Stress Biomarkers in Biological Fluids and Their Point-of-Use Detection. *ACS Sens*. 2018 Oct;3(10):2025-2044. doi: 10.1021/acssensors.8b00726



236. Wasinger VC, Yau Y, Duo X, Zeng M, Campbell B, Shin S, et al. Low Mass Blood Peptides Discriminative of Inflammatory Bowel Disease (IBD) Severity: A Quantitative Proteomic Perspective. *Mol Cell Proteomics*. 2016 Jan;15(1):256-65. doi: 10.1074/mcp.M115.055095
237. Teleanu DM, Niculescu AG, Lungu II, Radu CI, Vladâcenco O, Roza E, et al. An Overview of Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 2022 May 25;23(11):5938. doi: 10.3390/ijms23115938
238. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex J Med [Интернет]*. 1 груд. 2018 [цитовано 30 серп. 2024];54(4):287-93. Доступно на: <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
239. MacKenzie JL, Ivanova N, Nell HJ, Giordano CR, Terlecky SR, Agca C, et al. Microglial Inflammation and Cognitive Dysfunction in Comorbid Rat Models of Striatal Ischemic Stroke and Alzheimer's Disease: Effects of Antioxidant Catalase-SKL on Behavioral and Cellular Pathology. *Neuroscience*. 2022 Apr 1;487:47-65. doi: 10.1016/j.neuroscience.2022.01.026
240. Kojima R, Bojar D, Rizzi G, Hamri GC, El-Baba MD, Saxena P, Ausländer S, Tan KR, Fussenegger M. Designer exosomes produced by implanted cells intracerebrally deliver therapeutic cargo for Parkinson's disease treatment. *Nat Commun*. 2018 Apr 3;9(1):1305. doi: 10.1038/s41467-018-03733-8
241. Haney MJ, Klyachko NL, Zhao Y, Gupta R, Plotnikova EG, He Z, et al. Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy. *J Control Release*. 2015 Jun 10;207:18-30. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.03.033
242. de Souza DN, de Souza EMN, da Silva Pedrosa M, Nogueira FN, Simões A, Nicolau J. Effect of Tungstate Administration on the Lipid Peroxidation and Antioxidant Parameters in Salivary Glands of STZ-Induced Diabetic Rats. *Biol Trace Elem Res*. 2021 Apr;199(4):1525-1533. DOI: 10.1007/s12011-020-02273-x.



243. Afanas'ev I. Signaling and damaging functions of free radicals in aging free radical theory, hormesis, and TOR. *Aging and Disease* 2010; 1(2): 75-88.
244. Zhao Y. CD26 in autoimmune diseases: The other side of "moonlight protein". *Int Immunopharmacol.* 2019 Oct;75:105757. doi: 10.1016/j.intimp.2019.105757
245. Garreto L, Charneau S, Mandacaru SC, Nóbrega OT, Motta FN, de Araújo CN, et al. Mapping Salivary Proteases in Sjögren's Syndrome Patients Reveals Overexpression of Dipeptidyl Peptidase-4/CD26. *Front Immunol.* 2021 Jun;12:686480. doi: 10.3389/fimmu.2021.686480
246. Singh BB, Ohm J, Quenum Zanbede FO, Chauhan P, Kroese FGM, Vissink A, et al. Decrease in alpha-1 antiproteinase antitrypsin is observed in primary Sjogren's syndrome condition. *Autoimmunity.* 2020 Aug;53(5):270-282. doi: 10.1080/08916934.2020.1768376
247. Hunt JM, Tuder R. Alpha 1 anti-trypsin: one protein, many functions. *Curr Mol Med.* 2012 Aug;12(7):827-35. doi: 10.2174/156652412801318755
248. Janciauskiene SM, Nita IM, Stevens T. Alpha1-antitrypsin, old dog, new tricks. Alpha1-antitrypsin exerts in vitro anti-inflammatory activity in human monocytes by elevating cAMP. *J Biol Chem.* 2007 Mar 23;282(12):8573-82. doi: 10.1074/jbc.M607976200
249. Perez P, Adriaansen J, Goldsmith CM, Zheng C, Baum BJ. Transgenic  $\alpha$ -1-antitrypsin secreted into the bloodstream from salivary glands is biologically active. *Oral Dis.* 2011 Jul;17(5):476-83. doi: 10.1111/j.1601-0825.2010.01775.x
250. da Costa R, Passos GF, Quintão NLM, Fernandes ES, Maia JRLCB, Campos MM, et al. Taxane-induced neurotoxicity: Pathophysiology and therapeutic perspectives. *Br J Pharmacol.* 2020 Jul;177(14):3127-3146. doi: 10.1111/bph.15086
251. Benbow SJ, Wozniak KM, Kulesh B, Savage A, Slusher BS, Littlefield BA, et al. Microtubule-Targeting Agents Eribulin and Paclitaxel Differentially Affect Neuronal Cell Bodies in Chemotherapy-Induced Peripheral



- Neuropathy. *Neurotox Res.* 2017 Jul;32(1):151-162. doi: 10.1007/s12640-017-9729-6
252. Fukuda Y, Li Y, Segal RA. A Mechanistic Understanding of Axon Degeneration in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Front Neurosci.* 2017 Aug 31;11:481. doi: 10.3389/fnins.2017.00481
253. Miao H, Xu J, Xu D, Ma X, Zhao X, Liu L. Nociceptive behavior induced by chemotherapeutic paclitaxel and beneficial role of antioxidative pathways. *Physiol Res.* 2019 Jun 30;68(3):491-500. doi: 10.33549/physiolres.933939
254. Singh J, Saha L, Singh N, Kumari P, Bhatia A, Chakrabarti A. Study of nuclear factor-2 erythroid related factor-2 activator, berberine, in paclitaxel induced peripheral neuropathy pain model in rats. *J Pharm Pharmacol.* 2019 May;71(5):797-805. doi: 10.1111/jphp.13047
255. Sun H, Guo X, Wang Z, Wang P, Zhang Z, Dong J, et al. Alpha-lipoic Acid Prevents Oxidative Stress and Peripheral Neuropathy in Nab-Paclitaxel-Treated Rats through the Nrf2 Signalling Pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2019 Feb 10;2019:3142732. doi: 10.1155/2019/3142732
256. Zhao X, Liu L, Wang Y, Wang G, Zhao Y, Zhang Y. Electroacupuncture enhances antioxidative signal pathway and attenuates neuropathic pain induced by chemotherapeutic paclitaxel. *Physiol Res.* 2019 Jun;68(3):501-510. doi: 10.33549/physiolres.934084
257. Yang Y, Karakhanova S, Hartwig W, D'Haese JG, Philippov PP, Werner J, et al. Mitochondria and Mitochondrial ROS in Cancer: Novel Targets for Anticancer Therapy. *J Cell Physiol.* 2016 Dec;231(12):2570-81. doi: 10.1002/jcp.25349
258. Cirrincione AM, Pellegrini AD, Dominy JR, Benjamin ME, Utkina-Sosunova I, Lotti F, et al.. Paclitaxel-induced peripheral neuropathy is caused by epidermal ROS and mitochondrial damage through conserved MMP-13 activation. *Sci Rep.* 2020 Mar 4;10(1):3970. doi: 10.1038/s41598-020-60990-8



259. Ba X, Wang J, Zhou S, Luo X, Peng Y, Yang S, et al. Cinobufacini protects against paclitaxel-induced peripheral neuropathic pain and suppresses TRPV1 up-regulation and spinal astrocyte activation in rats. *Biomed Pharmacother.* 2018 Dec;108:76-84. doi: 10.1016/j.biopha.2018.09.018
260. Zhang H, Li Y, de Carvalho-Barbosa M, Kavelaars A, Heijnen CJ, Albrecht PJ, et al.. Dorsal Root Ganglion Infiltration by Macrophages Contributes to Paclitaxel Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *J Pain.* 2016 Jul;17(7):775-86. doi: 10.1016/j.jpain.2016.02.011
261. Li Y, Zhang H, Zhang H, Kosturakis AK, Jawad AB, Dougherty PM. Toll-like receptor 4 signaling contributes to Paclitaxel-induced peripheral neuropathy. *J Pain.* 2014 Jul;15(7):712-25. doi: 10.1016/j.jpain.2014.04.001
262. Ha JW, You MJ, Park HS, Kim JW, Kwon MS. Differential effect of LPS and paclitaxel on microglial functional phenotypes and circulating cytokines: the possible role of CX3CR1 and IL-4/10 in blocking persistent inflammation. *Arch Pharm Res.* 2019 Apr;42(4):359-368. doi: 10.1007/s12272-019-01137-w
263. Wu J, Hocevar M, Bie B, Foss JF, Naguib M. Cannabinoid Type 2 Receptor System Modulates Paclitaxel-Induced Microglial Dysregulation and Central Sensitization in Rats. *J Pain.* 2019 May;20(5):501-514. doi: 10.1016/j.jpain.2018.10.007
264. Xu J, Zhang L, Xie M, Li Y, Huang P, Saunders TL, et al. Role of Complement in a Rat Model of Paclitaxel-Induced Peripheral Neuropathy. *J Immunol.* 2018 Jun 15;200(12):4094-4101. doi: 10.4049/jimmunol.1701716.
265. Lisse TS, Elias LJ, Pellegrini AD, Martin PB, Spaulding EL, Lopes O, et al. Paclitaxel-induced epithelial damage and ectopic MMP-13 expression promotes neurotoxicity in zebrafish. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016 Apr 12;113(15):E2189-98. doi: 10.1073/pnas.1525096113
266. Areti A, Yerra VG, Naidu V, Kumar A. Oxidative stress and nerve damage: role in chemotherapy induced peripheral neuropathy. *Redox Biol.* 2014 Jan 18;2:289-95. doi: 10.1016/j.redox.2014.01.006.





267. Lototska O, Bandrivska Y. Endogenous intoxication syndrome in rats consuming drinking water with different phosphate contents. 47 [Інтернет]. 28 листоп. 2023 [цитовано 30 серп. 2024];(47):4-11. Доступно на: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2023-47-01>
268. Dmytryk V, Krenytska D, Luhovska T, Yakovlev P. Quantitative and qualitative characteristics of polypeptide pool in patients with bladder cancer. ScienceRise [Інтернет]. 27 листоп. 2018 [цитовано 13 верес. 2024];(5(14)):41-6. Доступно на: <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2018.148330>
269. Tiulienieva OA, Davydenko IS, Hoian AV, Tiulienieva VO. Histochemical Evaluation of the Processes of Protein Oxidative Modification in the Extravillous Cytotrophoblast of the Utero-Placental Bed during Iron-Deficiency Anemia in Pregnancy. Ukraïns'kij žurnal medicini bìologïi ta sportu [Інтернет]. 26 лют. 2021 [цитовано 31 серп. 2024];6(1):46-51. Доступно на: <https://doi.org/10.26693/jmbs06.01.046>
270. Ilika VV, Davydenko IS. Chemiluminescent Studying of Nitro-Peroxides in Placental Structures in Chorionamnionitis and Basal Deciduitis in Pregnant Women with Iron Deficiency Anemia. Ukraïns'kij žurnal medicini bìologïi ta sportu [Інтернет]. 7 черв. 2018 [цитовано 31 серп. 2024];3(5):36-40. Доступно на: <https://doi.org/10.26693/jmbs03.05.036>
271. Леоненко НС. Стан перекисного окислення ліпідів та окислювальної модифікації білків в організмі щурів при дії метсульфурон-метилу в малих дозах. Сучасні пробл токсиколог. 2005;4:53-7.
272. Trivedi S, Pandit A, Ganguly G, Das SK. Epidemiology of Peripheral Neuropathy: An Indian Perspective. Ann Indian Acad Neurol. 2017 Jul-Sep;20(3):173-184. doi: 10.4103/aian.AIAN\_470\_16
273. Fernandes LM, de Andrade EF, Monteiro MC, Cartágenes SC, Lima RR, Prediger RD, Maia CS. Addictive substances and neurological disease. Watson RR, Zibadi S, editor(s). Chapter 20, Ethanol: neurotoxicity and brain



- disorders. Academic Press; 2017. 414 p. doi.org/10.1016/B978-0-12-805373-7.00020-7.
274. Sadasivam N, Kim YJ, Radhakrishnan K, Kim DK. Oxidative Stress, Genomic Integrity, and Liver Diseases. *Molecules*. 2022 May 15;27(10):3159. doi: 10.3390/molecules27103159
275. Cenini G, Lloret A, Cascella R. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From a Mitochondrial Point of View. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 May 9;2019:2105607. doi: 10.1155/2019/2105607
276. Picca A, Calvani R, Coelho-Junior HJ, Landi F, Bernabei R, Marzetti E. Mitochondrial Dysfunction, Oxidative Stress, and Neuroinflammation: Intertwined Roads to Neurodegeneration. *Antioxidants (Basel)*. 2020 Jul 22;9(8):647. doi: 10.3390/antiox9080647
277. López-Armada MJ, Riveiro-Naveira RR, Vaamonde-García C, Valcárcel-Ares MN. Mitochondrial dysfunction and the inflammatory response. *Mitochondrion*. 2013 Mar;13(2):106-18. doi: 10.1016/j.mito.2013.01.003
278. Singh A, Kukreti R, Saso L, Kukreti S. Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases. *Molecules*. 2019 Apr 22;24(8):1583. doi: 10.3390/molecules24081583
279. Araujo I, Henriksen A, Gamsby J, Gulick D. Impact of Alcohol Abuse on Susceptibility to Rare Neurodegenerative Diseases. *Front Mol Biosci*. 2021 Jun 9;8:643273. doi: 10.3389/fmolb.2021.643273
280. Gao B, Bataller R. Alcoholic liver disease: pathogenesis and new therapeutic targets. *Gastroenterology*. 2011 Nov;141(5):1572-85. doi: 10.1053/j.gastro.2011.09.002
281. Yin MC, Wang ZH, Liu WH, Mong MC. Aqueous Extract of *Gynura Bicolor* Attenuated Hepatic Steatosis, Glycative, Oxidative, and Inflammatory Injury Induced by Chronic Ethanol Consumption in Mice. *J Food Sci*. 2017 Nov;82(11):2746-2751. doi: 10.1111/1750-3841.13930
282. Bardag-Gorce F, Oliva J, Lin A, Li J, French BA, French SW. Proteasome inhibitor up regulates liver antioxidative enzymes in rat model of alcoholic liver



- disease. *Exp Mol Pathol.* 2011 Feb;90(1):123-30. doi: 10.1016/j.yexmp.2010.10.013
283. Kaur G, Jabbar Z, Athar M, Alam MS. Punica granatum (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol.* 2006 Jul;44(7):984-93. doi: 10.1016/j.fct.2005.12.001
284. Hayashi N, George J, Takeuchi M, Fukumura A, Toshikuni N, Arisawa T, et al. Acetaldehyde-derived advanced glycation end-products promote alcoholic liver disease. *PLoS One.* 2013 Jul 26;8(7):e70034. doi: 10.1371/journal.pone.0070034
285. Haorah J, Ramirez SH, Floreani N, Gorantla S, Morsey B, Persidsky Y. Mechanism of alcohol-induced oxidative stress and neuronal injury. *Free Radic Biol Med.* 2008 Dec 1;45(11):1542-50. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.08.030
286. Yan T, Zhao Y. Acetaldehyde induces phosphorylation of dynamin-related protein 1 and mitochondrial dysfunction via elevating intracellular ROS and Ca<sup>2+</sup> levels. *Redox Biol.* 2020 Jan;28:101381. doi: 10.1016/j.redox.2019.101381
287. Teschke R. Alcoholic Liver Disease: Alcohol Metabolism, Cascade of Molecular Mechanisms, Cellular Targets, and Clinical Aspects. *Biomedicines.* 2018 Nov 12;6(4):106. doi: 10.3390/biomedicines6040106
288. Ferreira RO, Aragão WAB, Bittencourt LO, Fernandes LPM, Balbinot KM, Alves-Junior SM, et al. Ethanol binge drinking during pregnancy and its effects on salivary glands of offspring rats: oxidative stress, morphometric changes and salivary function impairments. *Biomed Pharmacother.* 2021 Jan;133:110979. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110979
289. Shevchenko KV, Yeroshenko GA, Yakushko OS, Kazakova KS, Kramarenko DR. Morphometric description of the exchange segment of microvasculature of rats' salivary glands in normal conditions and chronic ethanol intoxication. *Wiadomości Lekarskie.* 2019; 72(3): 323-26.



290. Yeroshenko GA, Shevchenko KV, Yakushko OS. Morphometric characteristics of rat salivary glands hemomicrovasculature capacity component under normal conditions and in ethanol chronic intoxication. *World of medicine and biology*. 2018;3(65):149-152.
291. Nikitina N, Berehoviyy S, Stepanova L, Savchuk O, Kuryk O, Ostapchenko L, Beregova T. Influence of the complex drug Cocarnit on the sciatic nerve in the development of diabetic polyneuropathy in rats. *Curr Issues Pharm Med Sci*. 2020 Sep;33(3):113-20. Доступно на: <https://doi.org/10.2478/cipms-2020-0021>
292. Kennedy DO. B Vitamins and the Brain: Mechanisms, Dose and Efficacy--A Review. *Nutrients*. 2016 Jan 27;8(2):68. doi: 10.3390/nu8020068
293. Sechi G, Sechi E, Fois C, Kumar N. Advances in clinical determinants and neurological manifestations of B vitamin deficiency in adults. *Nutr Rev*. 2016 May;74(5):281-300. doi: 10.1093/nutrit/nuv107. Epub 2016 Mar
294. Geller M, Oliveira L, Nigri R, Mezitis S, Ribeiro M, Fonseca A, et al B Vitamins for Neuropathy and Neuropathic Pain. *Vitam Miner*. 2017;6(2). 10.4172/2376-1318.1000161.
295. Mikkelsen K, Stojanovska L, Prakash M, Apostolopoulos V. The effects of vitamin B on the immune/cytokine network and their involvement in depression. *Maturitas*. 2017 Feb;96:58-71. doi: 10.1016/j.maturitas.2016.11.012
296. Smith AD, Refsum H, Bottiglieri T, Fenech M, Hooshmand B, McCaddon A, et al. Homocysteine and Dementia: An International Consensus Statement. *J Alzheimers Dis*. 2018;62(2):561-570. doi: 10.3233/JAD-171042
297. Calderón-Ospina CA, Nava-Mesa MO. B Vitamins in the nervous system: Current knowledge of the biochemical modes of action and synergies of thiamine, pyridoxine, and cobalamin. *CNS Neurosci Ther*. 2020 Jan;26(1):5-13. doi: 10.1111/cns.13207
298. Sriram K, Manzanares W, Joseph K. Thiamine in nutrition therapy. *Nutr Clin Pract*. 2012 Feb;27(1):41-50. doi: 10.1177/0884533611426149



299. Beltramo E, Berrone E, Tarallo S, Porta M. Effects of thiamine and benfotiamine on intracellular glucose metabolism and relevance in the prevention of diabetic complications. *Acta Diabetol.* 2008 Sep;45(3):131-41. doi: 10.1007/s00592-008-0042-y
300. Kochetov GA, Solovjeva ON. Structure and functioning mechanism of transketolase. *Biochim Biophys Acta.* 2014 Sep;1844(9):1608-18. doi: 10.1016/j.bbapap.2014.06.003.
301. Pollak N, Dölle C, Ziegler M. The power to reduce: pyridine nucleotides--small molecules with a multitude of functions. *Biochem J.* 2007 Mar 1;402(2):205-18. doi: 10.1042/BJ20061638
302. Gruenbacher G, Gander H, Rahm A, Dobler G, Drasche A, et al. The Human G Protein-Coupled ATP Receptor P2Y<sub>11</sub> Is Associated With IL-10 Driven Macrophage Differentiation. *Front Immunol.* 2019 Aug 9;10:1870. doi: 10.3389/fimmu.2019.01870
303. Durnin L, Kurahashi M, Sanders KM, Mutafova-Yambolieva VN. Extracellular metabolism of the enteric inhibitory neurotransmitter  $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide ( $\beta$ -NAD) in the murine colon. *J Physiol.* 2020 Oct;598(20):4509-4521. doi: 10.1113/JP280051
304. Hiller SD, Heldmann S, Richter K, Jurastow I, Küllmar M, Hecker A, et al.  $\beta$ -Nicotinamide Adenine Dinucleotide ( $\beta$ -NAD) Inhibits ATP-Dependent IL-1 $\beta$  Release from Human Monocytic Cells. *Int J Mol Sci.* 2018 Apr 10;19(4):1126. doi: 10.3390/ijms19041126
305. Hrubša M, Siatka T, Nejmanová I, Vopršalová M, Kujovská Krčmová L, et al. On Behalf Of The Oeonom. Biological Properties of Vitamins of the B-Complex, Part 1: Vitamins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, and B<sub>5</sub>. *Nutrients.* 2022 Jan 22;14(3):484. doi: 10.3390/nu14030484
306. Edenberg HJ. The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants. *Alcohol Res Health.* 2007;30(1):5-13



307. Kirkland JB. [Advances in Food and Nutrition Research](#). Eskin NA, editor. V.83, Chapter Three - Niacin: Academic Press; 2018. 83–149.
308. Gasperi V, Sibilano M, Savini I, Catani MV. Niacin in the Central Nervous System: An Update of Biological Aspects and Clinical Applications. *Int J Mol Sci*. 2019 Feb 23;20(4):974. doi: 10.3390/ijms20040974
309. Griffin SM, Pickard MR, Orme RP, Hawkins CP, Williams AC, Fricker RA. Nicotinamide alone accelerates the conversion of mouse embryonic stem cells into mature neuronal populations. *PLoS One*. 2017 Aug 17;12(8):e0183358. doi: 10.1371/journal.pone.0183358.
310. Loreto A, Di Stefano M, Gering M, Conforti L. Wallerian Degeneration Is Executed by an NMN-SARM1-Dependent Late Ca(2+) Influx but Only Modestly Influenced by Mitochondria. *Cell Rep*. 2015 Dec 22;13(11):2539-2552. doi: 10.1016/j.celrep.2015.11.032
311. Liu HW, Smith CB, Schmidt MS, Cambronne XA, Cohen MS, Migaud ME, et al. Pharmacological bypass of NAD<sup>+</sup> salvage pathway protects neurons from chemotherapy-induced degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 Oct 16;115(42):10654-10659. doi: 10.1073/pnas.1809392115
312. Kumar N. Neurologic aspects of cobalamin (B12) deficiency. *Handb Clin Neurol*. 2014;120:915-26. doi: 10.1016/B978-0-7020-4087-0.00060-7
313. Divate PG, Patanwala R. Neurological manifestations of B(12) deficiency with emphasis on its aetiology. *J Assoc Physicians India*. 2014 May;62(5):400-5.
314. Wendołowicz A, Stefańska E, Ostrowska L. Influence of selected dietary components on the functioning of the human nervous system. *Rocz Panstw Zakl Hig*. 2018;69(1):15-21
315. Horasanli B, Hasturk AE, Arikan M, Togral G, Helvacioğlu F, Dagdeviren A, et al. Comparative evaluation of the electrophysiological, functional and ultrastructural effects of alpha lipoic acid and cyanocobalamin administration in a rat model of sciatic nerve injury. *J Back Musculoskelet Rehabil*. 2017 Sep 22;30(5):967-974. doi: 10.3233/BMR-150386



0108199708957692

316. Sun H, Yang T, Li Q, Zhu Z, Wang L, Bai G, et al. Dexamethasone and vitamin B(12) synergistically promote peripheral nerve regeneration in rats by upregulating the expression of brain-derived neurotrophic factor. *Arch Med Sci.* 2012 Nov 9;8(5):924-30. doi: 10.5114/aoms.2012.31623.



## ДОДАТКИ

## ДОДАТОК А

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації**

1. Тихонович КВ, Криворучко ТД, Береговий СМ, Непорада КС. Вплив стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії на слинні залози щурів. Вісн. проблем біології та медицини. 2021;4(162):194-8. **(фахове)**  
*(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: Т.Д. Криворучко – біохімічні методи дослідження; проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків; С. М. Береговий – дизайн дослідження).*
2. Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС, Береговий СМ. Корекція Кокарнітом патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної нейропатії. Med Clin Chem. 16 черв. 2022;(1):39-45. **(фахове)**  
*(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: Т.Д. Криворучко – біохімічні методи дослідження; проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків; С. М. Береговий – дизайн дослідження)*
3. Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС, Береговий СМ. Корекція нейротоксичності та патологічних змін у слинних залозах тварин за умов алкогольної нейропатії. Вісн. мед. і біол. дослідж. 14 груд. 2022;(4):63-7. <https://doi.org/10.11603/bmbr.2706-6290.2022.4.13222> **(фахове)**





*(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: Т.Д. Криворучко – біохімічні методи дослідження; проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків; С. М. Береговий – дизайн дослідження)*

4. Tykhonovych KV, Naporada KS, Yeroshenko GA. Pathomorphological changes in salivary glands of rats under the condition of diabetic neuropathy and correction. World Med Biol. 2023;19(83):229. **(Web of Science)**

*(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, літературний пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження; проф. Г.А. Єрошенко – гістологічні дослідження, редакція тексту статті і висновків).*

5. Kotvytska AA, Tykhonovych KV, Kryvoruchko TD, Naporada KS, Beregovyi SM. Paclitaxel-induced neuropathy induces changes in oral cavity organs of rats. Regul. Mech. Biosyst. 2023Feb.7;14(1):102-5. <https://medicine.dp.ua/index.php/med/article/view/862> **(Scopus)**

*(Здобувачем проведено біохімічні методи дослідження слинних залоз, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: А.А. Котвицька – експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження м'яких тканин пародонта, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті, Т.Д. Криворучко – біохімічні методи дослідження; С. М. Береговий – дизайн дослідження; проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків).*

6. Tykhonovych K, Kryvoruchko T, Nikitina N, Berehovyi S, Naporada K. Correction of pathological changes in salivary glands of animals with paclitaxel-induced neuropathy. Exp Oncol. 2024 May 31;46(1):38-44. doi: 10.15407/exp-oncology.2024.01.038. PMID: 38852054. **(Scopus)**



*(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: Т.Д. Криворучко – біохімічні методи дослідження; Н. Нікітіна – дизайн дослідження, С. М. Береговий – дизайн дослідження, проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків;)*

7. Tykhonovych KV, KotvytskaAA, Beregovyi SM, NaporadaKS. Development of pathological changes in the oral cavity organs of animals under conditions of polyneuropathies of different genesis. Med. and Ecol. probl.2023Dec.29;27(5-6):31-4. <https://ecomед-journal.org/index.php/journal/article/view/287> (фахове)

*(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження крові та слинних залоз, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті; Співавтори: А.А. Котвицька – біохімічні методи дослідження крові та м'яких тканин пародонта, статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті; С. М. Береговий – дизайн дослідження; проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків).*

### **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації**

- 1) Котвицька АА, Тихонович КВ, Криворучко ТД, Берегова ТВ, Непорада КС, Береговий СМ. Вплив токсичної нейропатії на протеїназно-інгібіторний потенціал в органах порожнини рота щурів: тези доповідей VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України», м. Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, Україна, 13 – 15 травня 2020 р. – Т.1. – С. 120 – 121.
- 2) Котвицька АА, Тихонович КВ, Криворучко ТД, Берегова ТВ, Непорада КС, Береговий СМ. Експериментальна корекція змін протеїназно-



інгібіторного потенціалу органів порожнини рота щурів за умов токсичної нейропатії: тези доповідей II Науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», м. Харків: Вид-во НФаУ, Україна, 15 травня 2020 р.– С.113 – 114.

3) Котвицька АА, Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС. Зміни активності про- та антиоксидантної системи в органах порожнини рота щурів за умов токсичної нейропатії: матеріали XII Науково-практичної конференції присвяченої засновникам кафедри патофізіології ТДМІ проф. Бергеру Е.Н. і проф. Марковій О.О., II Галицькі читання «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», м. Тернопіль, Україна, 29 – 30 жовтня 2020 р. – С. 58 – 59.

4) Котвицька АА, Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС, Береговий СМ. Вплив хронічної дії етанолу на органи порожнини рота щурів: матеріали Науково-практичної конференції з міжнародною участю присвяченої 140-річчю з дня народження академіка О. О. Богомольця «42 наукові читання імені О. О. Богомольця», м. Київ, Україна, 24 травня 2021 р. — С. 65 – 66.

5) Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС. Вплив діабетичної нейропатії та корекції на слинні залози тварин: матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)», м. Полтава, Україна, 8 жовтня 2021 р. – С. 172 – 173

6) Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС. Процеси вільнорадикального окиснення у слинних залозах тварин за умов діабетичної нейропатії: матеріали Міжнародної науково-практичної



конференції «Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини», м. Полтава, Україна, 21-22 жовтня 2021 р. – С. 155–156.

7) Тихонович КВ, Криворучко ТД, Непорада КС. Вплив алкогольної нейропатії та Кокарніту на слинні залози щурів: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука – 2022», м. Полтава, Україна, 2 грудня 2022 р. – С. 41–43.

8) Тихонович КВ. Механізм розвитку патологічних змін у слинних залозах тварин за умов алкогольної полінейропатії та корекції Кокарнітом. К Тихонович: доповідь на Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених з міжнародною участю пам'яті професора О. В. Катрушова «Досягнення експериментальної та клінічної медицини», м. Полтава, Україна, 19 травня 2023 р.

9) Котвицька АА, Тихонович КВ, Непорада КС. Діабетична нейропатія викликає розвиток патологічних змін в органах порожнини рота щурів: матеріали науково-практичної конференції для лікарів Харківського регіону у рамках реалізації науково-освітнього проекту «Український ендокринологічний практикум» «Інноваційні підходи в лікуванні та профілактиці ендокринних захворювань», м. Харків, Україна, 4 липня 2024 р. – С. 58–60.

10) Котвицька АА, Тихонович КВ, Непорада КС, Береговий СМ. Зміни показників плазми крові при стрептозоцин-індукованій периферичній полінейропатії та корекції: бюлетень XXIII читань ім. В.В. Підвисоцького, м. Одеса, 16–17 травня 2024р. – С. 64–67.

**Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації**

1. Kotvytska AA, Tykhonovych KV, Kryvoruchko TD, Berehovyi SM, Naporada KS. The state of periodontal tissues in rats against the background of



their long-term alcoholization. *Fiziolohichniy*. 2022 Mar;68(2):23-8.

<http://fz.kiev.ua/index.php?abs=1896> (Scopus)

*(Здобувачем проведено статистична обробка даних, літературний пошук, підготовка тексту статті. Співавтори: А.А. Котвицька – експериментальні дослідження, біохімічні методи дослідження, літературний пошук, підготовка тексту статті; Т.Д. Криворучко – біохімічні методи дослідження; С. М. Береговий – дизайн дослідження; проф. К. С. Непорада – дизайн дослідження, редакція тексту статті і висновків).*

2. Непорада КС, Котвицька АА, Тихонович КВ, Довгополий ОО. Технологія способу корекції токсичної нейропатії у тварин: Реєстраційна картка технології № 0623U000033; власник Полтавський державний медичний університет. – № Держреєстрації НДДКР: 0120U100502. – Дата реєстрації: 06.02.2023.

3. Непорада КС, Котвицька АА, Тихонович КВ. Технологія корекції пародонтального синдрому у щурів за умов діабетичної нейропатії: Реєстраційна картка технології № 0623U000098; власник Полтавський державний медичний університет. – № Держреєстрації НДДКР: 0120U100502. – Дата реєстрації: 04.05.2023.

4. Непорада КС, Котвицька АА, Тихонович КВ. Технологія корекції патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної нейропатії: Реєстраційна картка технології № 0623U000099; власник Полтавський державний медичний університет. – № Держреєстрації НДДКР: 0120U100502. – Дата реєстрації: 04.05.2023.



## АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Основні результати дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на:

- VIII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю (м. Одеса, 13–15 травня 2020 р.);
- II Науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (15 травня 2020 р.);
- XII Науково-практичній конференції присвяченій засновникам кафедри патофізіології ТДМІ проф. Бергеру Е.Н. і проф. Марковій О.О. II Галицькі читання «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (м. Тернопіль, 29–30 жовтня 2020 р.);
- Науково-практичній конференції з міжнародною участю «42 наукові читання імені О. О. Богомольця» присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О. О. Богомольця (м. Київ, 24 травня 2021 року);
- Всеукраїнській міждисциплінарній науково-практичній конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» (м. Полтава, 8 жовтня 2021 р.);
- Міжнародній науково-практичній конференції «Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини» (м. Полтава, 21–22 жовтня 2021 р.);
- Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука – 2022» (м. Полтава, 2 грудня 2022 р.);
- Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених з міжнародною участю «Досягнення експериментальної та клінічної медицини» м. (Полтава, 19 травня 2023р.);



0108199708957692

- науково-практичній конференції «XXIII читання ім. В. В. Підвисоцького» (м. Одеса, 16–17 травня 2024р.);
- науково-практичній конференції з міжнародною участю «Інноваційні підходи в лікуванні та профілактиці ендокринних захворювань» (м. Харків, 4 липня 2024р.);
- IX Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологічна фізіологія – охороні здоров'я України» присвяченого 100-річчю Української патологічної фізіології (м. Івано-Франківськ, 19-20 вересня, 2024р.);
- засіданнях Полтавського відділення Українського біохімічного товариства (м. Полтава, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024 рр.).



0108199708957692

ДОДАТОК В

## АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

«Затверджую»  
В.О.Периц проrektора  
Івано-Франківського національного  
медичного університету  
професор Грицик А. Р.  
2023 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** розвиток та корекція патологічних змін у слинних залозах шурів за умов діабетичної нейропатії
- 2. Установа, автор:** Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, викладач Тихонович Ксенія Володимирівна
- 3. Джерело інформації:**
  1. К. В. Тихонович Вплив стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії на слинні залози шурів. Т. Д. Криворучко, С. М. Береговий, К. С. Непорада. – Вісник проблем біології і медицини. 2021. Вип. 4 (162) – С. 194-198
  2. К. В. Тихонович Корекція Кокарнітом патологічних змін у слинних залозах шурів за умов діабетичної нейропатії. Т. Д. Криворучко, К. С. Непорада, С. М. Береговий. – Медична та клінічна хімія. 2022. Т. 24 № 1. – С. 39-45
- 4. Де впроваджено:** на кафедрі біологічної та медичної хімії імені академіка Г. О. Бабенка Івано-Франківського національного медичного університету
- 5. Форма впровадження:** включено в лекційний курс та практичні заняття з біологічної хімії.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань здобувачів освіти щодо розвитку та корекції біохімічних змін у слинних залозах шурів на тлі стрептозоцин-індукованої нейропатії.
- 7. Терміни впровадження:** 2023 р.

Протокол № \_\_\_\_\_ від \_\_\_\_\_ 2023р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри  
біологічної та медичної хімії  
імені академіка Г. О. Бабенка  
Івано-Франківського національного  
медичного університету,  
к.б.н., доцент



Тарас МАКСИМЧУК





0108199708957692

«Затверджую»

Проректор з наукової роботи  
Харківського національного  
медичного університету  
професор Валерія М. ЯСОВДОВ  
2023 р.



## АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: розвиток та корекція патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної нейропатії
2. Ким і коли запропоновано: Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, викладач Тихонович Ксенія Володимирівна
3. Джерело інформації: 1. К. В. Тихонович Вплив стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії на слинні залози щурів. Т. Д. Криворучко, С. М. Береговий, К. С. Непорада. – Вісник проблем біології і медицини. 2021. Вип. 4 (162) – С. 194-198 2. К. В. Тихонович Корекція Кокарнітом патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної нейропатії. Т. Д. Криворучко, К. С. Непорада, С. М. Береговий. – Медична та клінічна хімія. 2022. Т. 24 № 1. – С. 39-45  
3. Tykhonovych K.V. Pathomorphological changes in salivary glands of rats under the condition of diabetic neuropathy and correction / K.V. Tykhonovych, K.S. Neporada, G.A. Yeroshenko // Світ медицини та біології. 2023. - №1 (83). – С. 229-232. DOI: [10.26724/2079-8334-2023-1-83-229-232](https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-1-83-229-232)
4. Де і коли впроваджено: на кафедрі біологічної хімії Харківського національного медичного університету, 2023р.
5. Результати застосування методу за період з січня 2023р. по грудень 2023р. включено в наукові дослідження кафедри.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації: поглиблення знань здобувачів вищої освіти 3 рівня навчання щодо розвитку та корекції морфологічних та біохімічних змін у слинних залозах щурів на тлі стрептозоцин-індукованої нейропатії.
7. Зауваження, пропозиції: відсутні

Відповідальний за впровадження: Завідувачка кафедри біологічної хімії Харківського національного медичного університету д.мед.н., професор Оксана НАКОНЕЧНА

13.12.2023р

(дата)

(підпис)

**«Затверджую»**

Перший проректор з науково-педагогічної роботи та післядипломної освіти  
Національного медичного університету імені О. О. Богомольця  
член-кореспондент НАМН України,  
доктор медичних наук  
професор НАУМІНКО О.М.



2023 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** біохімічні механізми розвитку патологічних змін у слинних залозах щурів за умов токсичної нейропатії
- 2. Установа, автор:** Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, викладач Тихонович Ксенія Володимирівна
- 3. Джерело інформації:** 1. Вплив токсичної нейропатії на протеїназно-інгібіторний потенціал в органах порожнини рота щурів. А. Котвицька, К. Тихонович, Т. Криворучко, Т. Берегова, К. Непорада, С. Береговий – //Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доповідей VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (13- 15 травня 2020 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту. – Т.1. – С. 120 – 121.  
2. Kotvytska, A. A., Tykhonovych, K. V., Kryvoruchko, T. D., Naporada, K. S., Beregovyi, S. M. Paclitaxel-induced neuropathy induces changes in oral cavity organs of rats / *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(1), 2023,102-105. <https://doi.org/10.15421/022315>
- 4. Де впроваджено:** на кафедрі хімії ліків та лікарської токсикології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця
- 5. Форма впровадження:** включено в лекційний курс та практичні заняття з біологічної хімії.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо наслідків хіміотерапії паклітакселом на підставі вивчення біохімічних механізмів розвитку патологічних змін у слинних залозах щурів.
- 7. Терміни впровадження:** 2023 р.

Протокол № 19 від 09.11. 2023р.

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач кафедри  
хімії ліків та лікарської токсикології  
Національного медичного університету  
Імені О. О. Богомольця  
д.мед.н., професор

Ірина НІЖЕНКОВСЬКА



«Затверджую»  
Перший проректор  
Дніпровського державного  
медичного університету  
професор Ігор ШІОНЬКА  
\_\_\_\_\_ 2023 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** біохімічні механізми розвитку та корекції патологічних змін у слинних залозах щурів за умов алкогольної нейропатії
- 2. Установа, автор:** Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, викладач Тихонович Ксенія Володимирівна
- 3. Джерело інформації:** 1. Вплив алкогольної нейропатії та Кокарніту на слинні залози щурів, К.В. Тихонович, Т.Д. Криворучко, К.С. Непорада - // «Медична наука – 2022»: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених (2 грудня 2022 р.). – Полтава. – С. 41–43.  
2. Тихонович, К. В., Криворучко, Т. Д., Непорада, К. С., Береговий, С. М. (2022). Корекція нейротоксичності та патологічних змін у слинних залозах тварин за умов алкогольної нейропатії. *Вісник медичних і біологічних досліджень*, (4), 63–67. <https://doi.org/10.11603/bmbr.2706-6290.2022.4.13222>
- 4. Де впроваджено:** на кафедрі біохімії та медичної хімії Дніпровського державного медичного університету
- 5. Форма впровадження:** включено в лекційний курс та практичні заняття з біологічної хімії.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо розвитку та корекції патологічних змін у тканинах слинних залоз щурів за умов тривалої алкоголізації.
- 7. Терміни впровадження:** 2023 р.

Протокол № 5 від 27.11 2023р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри  
біохімії та медичної хімії  
Дніпровського державного  
медичного університету,  
д.біол.н., професор

Ганна МАСЛАК





0108199708957692

«Затверджую»  
Проректор з наукової роботи  
Вінницького національного  
медичного університету  
ім. М.І. Пирогова  
професор Олег ПЛАСЕНКО  
30.11.2023 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** біохімічні механізми розвитку та корекція патологічних змін у слинних залозах щурів за умов токсичної нейропатії

**2. Установа, автор:** Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, викладач Тихонович Ксенія Володимирівна

**3. Джерело інформації:**

1. Експериментальна корекція змін протеїназно-інгібіторного потенціалу органів порожнини рота щурів за умов токсичної нейропатії. А. Котвицька, К. Тихонович, Т. Криворучко, Т. Берегова, К. Непорада, С. Береговий // Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: тези доповідей II Науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (15 травня 2020 р.). – Х. : Вид-во НФаУ. – С.113 – 114.

2. Kotvytska, A. A., Tykhonovych, K. V., Kryvoruchko, T. D., Noporada, K. S., & Beregovyi, S. M. (2023). Paclitaxel-induced neuropathy induces changes in oral cavity organs of rats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(1), 102-105. <https://doi.org/10.15421/022315>

**4. Де впроваджено:** на кафедрі біохімії ім. професора О. О. Пентюка Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова

**5. Форма впровадження:** включено в лекційний курс та практичні заняття з біологічної хімії.

**6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань здобувачів вищої освіти 3 рівня навчання щодо токсичного впливу хіміотерапії на підставі вивчення біохімічних механізмів розвитку та корекції патологічних змін у слинних залозах щурів.

**7. Терміни впровадження:** 2023 -2024 н.р.  
Протокол № 7 від 27.11.2023.

Відповідальний за впровадження:  
В.о. завідувача кафедри  
біохімії ім. професора О. О. Пентюка  
Вінницького національного медичного університету  
ім. М.І. Пирогова  
д.мед.н., професор



Наталія ЗАІЧКО



0108199708957692

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи  
Львівського національного медичного університету  
ім. Данила Галицького



проф. Гжегоцький М. Р.

2020 р.

Акт впровадження

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** вплив токсичної нейропатії на розвиток патологічних змін у органах порожнини рота та експериментальна корекція цих змін за допомогою Кокарніту.
2. **Заклад, де проведена розробка, ПІБ авторів:** Українська медична стоматологічна академія, здобувачі наукового ступеня – Котвицька Аліна Анатоліївна, Тихонович Ксенія Володимирівна.
3. **Джерело інформації:** 1. Вплив токсичної нейропатії на протеїназно-інгібіторний потенціал в органах порожнини рота щурів. А. Котвицька, К. Тихонович, Т. Криворучко, Т. Берегова та ін. – //Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доповідей VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (13- 15 травня 2020 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту. – Т.1. – С. 120 – 121
2. Експериментальна корекція змін протеїназно-інгібіторного потенціалу органів порожнини рота щурів за умов токсичної нейропатії. А. Котвицька, К. Тихонович, Т. Криворучко, Т. Берегова та ін. – //Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації : тези доповідей II Науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (15 травня 2020 р.). – Х. : Вид-во НФаУ. – С.113-114
4. **Впроваджено:** на кафедрі біологічної хімії Львівського національного медичного університету, м. Львів.
5. **Включено:** в лекційний курс і практичні заняття з біологічної хімії.  
**Результати впровадження:** до тематичного плану лекцій та практичних занять з теми «Дослідження біохімічного складу тканин зуба: органічні та мінеральні компоненти. Амелогенез», впроваджено дані щодо впливу токсичної нейропатії на зміни протеїназно-інгібіторного потенціалу в органах порожнини рота щурів.
6. **Термін впровадження:** 2020 рік.
7. **Базова установа, яка здійснює впровадження:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького
8. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри біологічної хімії  
Львівського національного медичного університету,  
доктор медичних наук, професор

О.Я. Скляров



0108199708957692

ДОДАТОК Г

## ТЕХНОЛОГІЇ

### Реєстраційна картка технології (РКТ)

5436. Державний реєстраційний номер: 0623U000033

5517. № Держреєстрації НДДКР: 0120U100502

5256. Особливі позначки: 5

9000. Походження технології: С

9159. Договір: Немає



### Відомості про заявника технології

2459. Код ЄДРПОУ (або реєстраційний номер облікової картки платника податків для фізичних осіб): 2536405127

2151. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1 - українською мовою

Непорада Каріне Степанівна

2 - англійською мовою

Neporada Karine

2358. Скорочене найменування юридичної особи:

2655. Місцезнаходження: вул. Лідова, 13, кв. 47, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36000, Україна

2934. Телефон / Факс: 380956015918

2394. Адреса електронної пошти/веб-сайт: neporadaks@gmail.com

1333. Форма власності, сфера управління:

2459. Код ЄДРПОУ (або реєстраційний номер облікової картки платника податків для фізичних осіб): 3084310148

2151. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1 - українською мовою

Котвицька Аліна Анатоліївна

2 - англійською мовою

Kotvytska Alina

2358. Скорочене найменування юридичної особи:

2655. Місцезнаходження: вул. Героїв АТО, 63, кв. 148, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36000, Україна

2934. Телефон / Факс: 380971617835

2394. Адреса електронної пошти/веб-сайт: alina.kotvytska@gmail.com

1333. Форма власності, сфера управління:



2459. Код ЄДРПОУ (або реєстраційний номер облікової картки платника податків для фізичних осіб): 2970111107

2151. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1 - українською мовою

Тихонович Ксенія Володимирівна

2 - англійською мовою

Tykhonovych Kseniia

2358. Скорочене найменування юридичної особи:

2655. Місцезнаходження: вул. Баленка, 9, кв. 6, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36000, Україна

2934. Телефон / Факс: 380954729161

2394. Адреса електронної пошти/веб-сайт: tikhonovich.kseniia@gmail.com

1333. Форма власності, сфера управління:

2459. Код ЄДРПОУ (або реєстраційний номер облікової картки платника податків для фізичних осіб): 3647602973

2151. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1 - українською мовою

Довгополий Олександр Олександрович

2 - англійською мовою

Dovhopolyi Oleksandr

2358. Скорочене найменування юридичної особи:

2655. Місцезнаходження: вул. Пушкіна, 52Б, кв. 16, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36011, Україна

2934. Телефон / Факс: 380952065524

2394. Адреса електронної пошти/веб-сайт: sanya-don@ukr.net

1333. Форма власності, сфера управління:

### Відомості про власника технології

2458. Код ЄДРПОУ (або реєстраційний номер облікової картки платника податків для фізичних осіб): 43937407

2152. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1 - українською мовою

Полтавський державний медичний університет

3 - англійською мовою

Poltava State Medical University

2360. Скорочене найменування юридичної особи: ПДМУ

2656. Місцезнаходження: вул. Шевченко, буд. 23, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36011, Україна

2935. Телефон / Факс: 380532602051; 380532227821

2395. Адреса електронної пошти/веб-сайт: mail@umsa.edu.ua; https://www.pdmu.edu.ua

1332. Форма власності, сфера управління: Міністерство охорони здоров'я України

### Джерела, напрями та обсяги фінансування

7700. КПКВК: не застосовується

7201. Напрямок фінансування: 2.2 - прикладні дослідження і розробки





0108199708957692

Код джерела фінансування	Обсяг фінансування, тис. грн.
7704	5,00

## Терміни виконання роботи

7553. Початок виконання НДДКР: 01.2019

7362. Закінчення виконання НДДКР: 12.2023

## Відомості про технологію

### 9027. Назва технології

1 - українською мовою

Технологія способу корекції токсичної нейропатії у тварин.

3 - англійською мовою

Technology of the method of correction of toxic neuropathy in animals.

### 9125. Опис технології

#### 1. Мета, для досягнення якої розроблено чи придбано технологію

Мета технології полягає у створенні експериментального способу корекції токсичної нейропатії у лабораторних тварин для зменшення патологічних проявів у хворих під час хіміотерапії.

#### 2. Основна суть технології

Суть технології полягає в експериментальній корекції токсичної нейропатії у білих щурів шляхом введення внутрішньом'язово розчину кокарніту протягом 9 днів. Суть – базується на здійсненні запобігання нейротоксичності під час хіміотерапії за допомогою використання кокарніту, який містить 50 мг кокарбоксилази, 20 мг нікотинаміду, 500 мкг ціанкобаламіну, 10 мг динатрію аденозинтрифосфату тригідрату, що забезпечує превенцію розвитку патологічних змін за умов моделювання токсичної нейропатії шляхом інтраперітонеального введення паклітакселу 2 мг/кг.

#### 3. Анотований зміст

В рамках технології запропоновано спосіб експериментальної корекції паклітаксел-індукованої нейропатії у білих щурів, шляхом внутрішньом'язового введення розчину кокарніту, який запобігає розвитку нейротоксичності, про що свідчить зменшення порогу больової чутливості у порівнянні з тваринами, яким моделювали токсичну нейропатію без корекції.

#### 4. Проблеми, які технологія дає змогу вирішувати

Даний спосіб експериментальної корекції токсичної нейропатії, дає змогу дослідити патогенетичні ланки розвитку нейротоксичності у тварин та розробити заходи профілактики і корекції.

#### 5. Ознаки новизни технології

Вперше було запропоновано експериментальну корекцію нейротоксичності кокарнітом за умов токсичної нейропатії у лабораторних тварин.

#### 6. Складові технології

Паклітаксел 2 мг/кг, кокарніт (World Medicine) 1 мг/кг, шприц для ін'єкцій.

#### Опис технології англійською мовою

Toxic neuropathy was modeled by intraperitoneal administration of paclitaxel 2 mg/kg for 4 days (0, 2, 4 and 6). Rats with toxic neuropathy were injected intramuscularly for 9 days with cocarnit (1 mg/kg), which contains 50 mg of cocarboxylase, 20 mg of nicotinamide, 500 µg of cyanocobalamin, and 10 mg of disodium adenosine triphosphate trihydrate.

#### 9127. Технічні характеристики

Моделювали токсичну нейропатію шляхом інтраперітонеального введення паклітакселу 2 мг/кг упродовж 4 днів (0, 2, 4 і 6). Шурам з токсичною нейропатією протягом 9 днів внутрішньом'язово вводили кокарніт (1 мг/кг), який містить 50 мг кокарбоксилази, 20 мг нікотинаміду, 500 мкг ціанкобаламіну, 10 мг динатрію аденозинтрифосфату тригідрату.

#### 9128. Техніко-економічний чи соціальний ефект





0108199708957692

Використання даної технології дозволяє підвищити ефективність хіміотерапії, знизити негативні побічні ефекти, зокрема, розвиток нейротоксичності та нейропатичного болю. Середня ціна паклітакселу від 3778 грн. за 260 мг; середня ціна Кокарніту 270 грн. за 3 ампули.

**5490. Об'єкти інтелектуальної власності**

Немає

**9156. Основні переваги порівняно з існуючими технологіями**

Використати запропоновану технологію експериментальної корекції кокарнітом токсичної нейропатії у тварин дозволяє максимально спростити та пришвидшити спосіб корекції нейротоксичності.

**9155. Галузь застосування**

Біологія, Медицина

**9158. Інформація щодо потенційних ринків збуту технології**

Україна

**9160. Інформація щодо потенційних ринків збуту продукції, виробленої з використанням технології**

Україна

**9157. Ступінь відпрацювання технології**

– якщо технологічну документацію розроблено за результатами лабораторних випробувань дослідного зразка - 9157/Л

– 9157/TRL4 - перевірено прототип в лабораторії, технологію перевірено в лабораторії

**5535. Умови поширення в Україні**

53 - за договірною ціною

**5211. Умови передачі зарубіжним країнам**

63 - за договірною ціною

**6012. Орієнтовна вартість технології та витрат на впровадження: 5 тис. грн.**

**6013. Особливі умови впровадження технології**

Немає



0108199708957692

## **Підсумкові відомості**

**5634. Індекс УДК:** 611.08;612.08;591.4.08, 615.9;615.099, 616.8, 616.8-00:615.099:612.08

**5616. Коди тематичних рубрик НТІ:** 34.41.05, 34.47.01, 76.29.51

**6111. Керівник юридичної особи:** Ждан Вячеслав Миколайович

**6210. Науковий ступінь, вчене звання керівника юридичної особи:** (д. мед. н., професор)

### **6120. Керівник НДДКР**

1 - українською мовою

Непорада Каріне Степанівна

2 - англійською мовою

Neporada Karine

**6228. Науковий ступінь, вчене звання керівника НДДКР:** (д.мед.н., професор)

**6140. Керівник структурного підрозділу МОН України:** Чайка Дар'я Юріївна

**Тел.:** +38 (044) 287-82-55

**Email.:** чайка@mon.gov.ua

**6142. Реєстратор:** Іванов Олексій Васильович



0108199708957692

## Реєстраційна картка технології (РКТ)

5436. Державний реєстраційний номер: 0623U000098

5517. № Держреєстрації НДДКР: 0120U100502

5256. Особливі позначки: 5

9000. Походження технології: С

9159. Договір: Немає



## Відомості про заявника технології

2459. Код ЄДРПОУ (або реєстраційний номер облікової картки платника податків для фізичних осіб): 2536405127

2151. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1 - українською мовою

Непорада Каріне Степанівна

2 - англійською мовою

Neporada Karine

2358. Скорочене найменування юридичної особи:

2655. Місцезнаходження: вул. Лідова, 13, кв. 47, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36000, Україна

2934. Телефон / Факс: 380956015918

2394. Адреса електронної пошти/веб-сайт: neporadaks@gmail.com

1333. Форма власності, сфера управління:

2459. Код ЄДРПОУ (або реєстраційний номер облікової картки платника податків для фізичних осіб): 3084310148

2151. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1 - українською мовою

Котвицька Аліна Анатоліївна

2 - англійською мовою

Kotvytska Alina

2358. Скорочене найменування юридичної особи:

2655. Місцезнаходження: вул. Героїв АТО, 63, кв. 148, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36000, Україна

2934. Телефон / Факс: 380971617835

2394. Адреса електронної пошти/веб-сайт: alina.kotvytska@gmail.com

1333. Форма власності, сфера управління:



2459. Код ЄДРПОУ (або реєстраційний номер облікової картки платника податків для фізичних осіб): 2970111107

2151. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1 - українською мовою

Тихонович Ксенія Володимирівна

2 - англійською мовою

Tykhonovych Kseniia

2358. Скорочене найменування юридичної особи:

2655. Місцезнаходження: вул. Баленка, 9, кв. 6, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36000, Україна

2934. Телефон / Факс: 380954729161

2394. Адреса електронної пошти/веб-сайт: tikhonovich.kseniia@gmail.com

1333. Форма власності, сфера управління:

### Відомості про власника технології

2458. Код ЄДРПОУ (або реєстраційний номер облікової картки платника податків для фізичних осіб): 43937407

2152. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1 - українською мовою

Полтавський державний медичний університет

3 - англійською мовою

Poltava State Medical University

2360. Скорочене найменування юридичної особи: ПДМУ

2656. Місцезнаходження: вул. Шевченко, буд. 23, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36011, Україна

2935. Телефон / Факс: 380532602051; 380532227821

2395. Адреса електронної пошти/веб-сайт: mail@umsa.edu.ua; https://www.pdmu.edu.ua

1332. Форма власності, сфера управління: Міністерство охорони здоров'я України

### Джерела, напрями та обсяги фінансування

7700. КПКВК: не застосовується

7201. Напрямок фінансування: 2.2 - прикладні дослідження і розробки

Код джерела фінансування	Обсяг фінансування, тис. грн.
7704	5,00

### Терміни виконання роботи

7553. Початок виконання НДДКР: 01.2019

7362. Закінчення виконання НДДКР: 12.2023

### Відомості про технологію

9027. Назва технології

1 - українською мовою

Технологія корекції пародонтального синдрому у щурів за умов діабетичної нейропатії

3 - англійською мовою



Technology of correction of periodontal syndrome in rats under the conditions of diabetic neuropathy

#### 9125. Опис технології

##### 1. Мета, для досягнення якої розроблено чи придбано технологію

Мета – полягає у створенні експериментального способу корекції пародонтального синдрому у щурів за умов діабетичної нейропатії для зменшення розвитку патологічних змін у тканинах пародонта та поліпшені впливу наслідків цукрового діабету на органи порожнини рота.

##### 2. Основна суть технології

Технологія базується на здійсненні запобігання розвитку пародонтального синдрому у тварин на тлі діабетичної нейропатії за допомогою внутрішньом'язового введення розчину кокарніту протягом 9 днів, який містить 50 мг кокарбоксилази, 20 мг нікотинаміду, 500 мкг ціанкобаламіну, 10 мг динатрію аденозинтрифосфату тригідрату, що забезпечує інгібування вільно-радикального окислення, активації протеолітичних процесів та підвищеному розпаду біополімерів сполучної тканини пародонта.

##### 3. Анотований зміст

Запропоновано спосіб експериментальної корекції стрептозоцин-індукованої нейропатії у білих щурів, шляхом внутрішньом'язового введення розчину кокарніту, який запобігає розвитку пародонтального синдрому, про що свідчить зменшення катаболізму фукопротеїдів та протеогліканів сполучної тканини, пригнічення оксидативного стресу, нормалізація протеїназно-інгібіторного потенціалу у порівнянні з тваринами, яким моделювали діабетичну нейропатію без корекції. Практична цінність технології полягає в фундаментальному дослідженні яке дозволить покращити стан органів порожнини рота у хворих на цукровий діабет, шляхом використання кокарніту для попередження розвитку відділеного хронічного наслідку діабетичної нейропатії.

##### 4. Проблеми, які технологія дає змогу вирішувати

Даний спосіб експериментальної корекції стрептозоцин-індукованої нейропатії дає змогу дослідити патогенетичні ланки розвитку пародонтального синдрому.

##### 5. Ознаки новизни технології

Вперше було запропоновано експериментальну корекцію пародонтального синдрому кокарнітом за умов діабетичної нейропатії у лабораторних тварин.

##### 6. Складові технології

Стрептозоцин 65 мг/кг, кокарніт (World Medicine) 1 мг/кг, шприц для ін'єкцій.

##### Опис технології англійською мовою

A method of experimental correction of streptozocin-induced neuropathy in white rats by intramuscular injection of a cocarnite solution is proposed, which prevents the development of periodontal syndrome, as evidenced by a decrease in the catabolism of fucoproteins and proteoglycans of connective tissue, inhibition of oxidative stress, normalization of proteinase-inhibitory potential compared to animals. The practical value of the technology lies in the fundamental research that will improve the condition of the oral cavity in patients with diabetes, by using cocarnite to prevent the development of isolated chronic consequences of diabetic neuropathy.

#### 9127. Технічні характеристики

Моделювали діабетичну нейропатію шляхом одноразового внутрішньом'язового введення стрептозоцину 65 мг/кг. Щурам з підтвердженою діабетичною нейропатією протягом 9 діб внутрішньом'язово вводили кокарніт (1 мг/кг), який містить 50 мг кокарбоксилази, 20 мг нікотинаміду, 500 мкг ціанкобаламіну, 10 мг динатрію аденозинтрифосфату тригідрату.

#### 9128. Техніко-економічний чи соціальний ефект

Використання даної технології дозволяє підвищити ефективність дослідження патогенезу пародонтального синдрому, знизити негативні побічні ефекти стрептозоцин-індукованої нейропатії, зокрема, на розвиток патологічних змін у тканинах пародонта тварин. Середня ціна стрептозоцину від 7500 грн. за 100 мг; середня ціна кокарніту 270 грн. за 3 ампули.

#### 5490. Об'єкти інтелектуальної власності

Немає

**9156. Основні переваги порівняно з існуючими технологіями**

Використати запропоновану технологію експериментальної корекції кокарнітом діабетичної нейропатії у тварин дозволяє з'ясувати патогенез ушкодження тканин пародонта та прискорити його використання у клінічній практиці. Здатність кокарніту коригувати патогенетичні механізми формування пародонтального синдрому за умов діабетичної нейропатії в експерименті дозволяє рекомендувати його для подальшого дослідження як потенційного фармакологічного засобу для стоматологічної практики. Впровадження в клінічну практику застосування кокарніту у пацієнтів з діабетичною нейропатією, що мають в анамнезі цукровий діабет, дозволить удосконалити тактику їх медикаментозного лікування, що матиме значний економічний та соціальний ефект, так як дозволить зменшити розвиток патологічних змін в органах порожнини рота.

**9155. Галузь застосування**

Біологія, Медицина

**9158. Інформація щодо потенційних ринків збуту технології**

Україна

**9160. Інформація щодо потенційних ринків збуту продукції, виробленої з використанням технології**

Україна

**9157. Ступінь відпрацювання технології**

– якщо технологічну документацію розроблено за результатами попередніх випробувань дослідного зразка - 9157/O

– 9157/TRL5 - перевірено прототип в робочому середовищі користувача, технологію перевірено у відповідному робочому середовищі (на виробництві)

**5535. Умови поширення в Україні**

53 - за договірною ціною

**5211. Умови передачі зарубіжним країнам**

63 - за договірною ціною

**6012. Орієнтовна вартість технології та витрат на впровадження:** 5 тис. грн.

**6013. Особливі умови впровадження технології**

Немає



0108199708957692

## **Підсумкові відомості**

**5634. Індекс УДК:** 616.31; 617.52-089, 616.314.17:616.8:612.08:599.232.4

**5616. Коди тематичних рубрик НТІ:** 76.29.55

**6111. Керівник юридичної особи:** Ждан Вячеслав Миколайович

**6210. Науковий ступінь, вчене звання керівника юридичної особи:** (д. мед. н., професор)

**6120. Керівник НДДКР**

1 - українською мовою

Непорада Каріне Степанівна

2 - англійською мовою

Neporada Karine

**6228. Науковий ступінь, вчене звання керівника НДДКР:** (д.мед.н., професор)

**6140. Керівник структурного підрозділу МОН України:** Чайка Дар'я Юріївна

**Тел.:** +38 (044) 287-82-55

**Email:** chayka@mon.gov.ua

**6142. Реєстратор:** Іванов Олексій Васильович





0108199708957692

## Реєстраційна картка технології (РКТ)

5436. Державний реєстраційний номер: 0623U000099

5517. № Держреєстрації НДДКР: 0120U100502

5256. Особливі позначки: 5

9000. Походження технології: С

9159. Договір: Немає



## Відомості про заявника технології

2459. Код ЄДРПОУ (або реєстраційний номер облікової картки платника податків для фізичних осіб): 2536405127

2151. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1 - українською мовою

Непорада Каріне Степанівна

2 - англійською мовою

Neporada Karine

2358. Скорочене найменування юридичної особи:

2655. Місцезнаходження: вул. Лідова, 13, кв. 47, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36000, Україна

2934. Телефон / Факс: 380956015918

2394. Адреса електронної пошти/веб-сайт: neporadaks@gmail.com

1333. Форма власності, сфера управління:

2459. Код ЄДРПОУ (або реєстраційний номер облікової картки платника податків для фізичних осіб): 3084310148

2151. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1 - українською мовою

Котвицька Аліна Анатоліївна

2 - англійською мовою

Kotvytska Alina

2358. Скорочене найменування юридичної особи:

2655. Місцезнаходження: вул. Героїв АТО, 63, кв. 148, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36000, Україна

2934. Телефон / Факс: 380971617835

2394. Адреса електронної пошти/веб-сайт: alina.kotvytska@gmail.com

1333. Форма власності, сфера управління:





2459. Код ЄДРПОУ (або реєстраційний номер облікової картки платника податків для фізичних осіб): 2970111107

2151. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1 - українською мовою

Тихонович Ксенія Володимирівна

2 - англійською мовою

Tykhonovych Kseniia

2358. Скорочене найменування юридичної особи:

2655. Місцезнаходження: вул. Баленка, 9, кв. 6, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36000, Україна

2934. Телефон / Факс: 380954729161

2394. Адреса електронної пошти/веб-сайт: tikhonovich.kseniia@gmail.com

1333. Форма власності, сфера управління:

### Відомості про власника технології

2458. Код ЄДРПОУ (або реєстраційний номер облікової картки платника податків для фізичних осіб): 43937407

2152. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1 - українською мовою

Полтавський державний медичний університет

3 - англійською мовою

Poltava State Medical University

2360. Скорочене найменування юридичної особи: ПДМУ

2656. Місцезнаходження: вул. Шевченко, буд. 23, м. Полтава, Полтавський р-н., Полтавська обл., 36011, Україна

2935. Телефон / Факс: 380532602051; 380532227821

2395. Адреса електронної пошти/веб-сайт: mail@umsa.edu.ua; https://www.pdmu.edu.ua

1332. Форма власності, сфера управління: Міністерство охорони здоров'я України

### Джерела, напрями та обсяги фінансування

7700. КПКВК: не застосовується

7201. Напрямок фінансування: 2.2 - прикладні дослідження і розробки

Код джерела фінансування	Обсяг фінансування, тис. грн.
7704	5,00

### Терміни виконання роботи

7553. Початок виконання НДДКР: 01.2019

7362. Закінчення виконання НДДКР: 12.2023

### Відомості про технологію

9027. Назва технології

1 - українською мовою

Технологія корекції патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної нейропатії

3 - англійською мовою



0108199708957692

Technology of correction of pathological changes in the salivary glands of rats under the conditions of diabetic neuropathy

#### 9125. Опис технології

##### 1. Мета, для досягнення якої розроблено чи придбано технологію

Мета – полягає у створенні експериментального способу корекції патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної нейропатії для зменшення ускладнень в органах порожнини рота при цукровому діабеті.

##### 2. Основна суть технології

Технологія базується на здійсненні запобігання розвитку патологічних змін у слинних залозах тварин на тлі стрептозоцин-індукованою нейропатією за допомогою внутрішньом'язового введення розчину кокарніту протягом 9 днів, який містить 50 мг кокарбоксилази, 20 мг нікотинаміду, 500 мкг ціанкобаламіну, 10 мг динатрію аденозинтрифосфату тригідрату, що забезпечує пригнічення розвитку оксидативного стресу, активації протеолізу та збільшення білоксинтезуючої функції слинних залоз.

##### 3. Анотований зміст

Запропоновано спосіб експериментальної корекції стрептозоцин-індукованої нейропатії у білих щурів, шляхом внутрішньом'язового введення розчину кокарніту, який запобігає розвитку ушкоджень слинних залоз, про що свідчить зменшення оксидативного стресу, нормалізація активності амілази та протеїнази у порівнянні з тваринами, яким моделювали діабетичну нейропатію без корекції.

##### 4. Проблеми, які технологія дає змогу вирішувати

Даний спосіб експериментальної корекції діабетичної нейропатії, дає змогу дослідити патогенетичні ланки розвитку патологічних змін у слинних залозах тварин та розробити заходи профілактики і корекції.

##### 5. Ознаки новизни технології

Вперше було запропоновано експериментальну корекцію патологічних змін у слинних залозах кокарнітом за умов діабетичної нейропатії у лабораторних тварин.

##### 6. Складові технології

Стрептозоцин 65 мг/кг, кокарніт (World Medicine) 1 мг/кг, шприц для ін'єкцій.

##### Опис технології англійською мовою

A method of experimental correction of streptozocin-induced neuropathy in white rats by intramuscular injection of a cocarnite solution is proposed, which prevents the development of damage to the salivary glands, as evidenced by a decrease in oxidative stress, normalization of amylase and proteinase activity in comparison with animals that modeled diabetic neuropathy without correction

#### 9127. Технічні характеристики

Моделювали діабетичну нейропатію шляхом одноразового внутрішньом'язового введення стрептозоцину 65 мг/кг. Щурам з підтвердженою діабетичною нейропатією протягом 9 днів внутрішньом'язово вводили кокарніт (1 мг/кг), який містить 50 мг кокарбоксилази, 20 мг нікотинаміду, 500 мкг ціанкобаламіну, 10 мг динатрію аденозинтрифосфату тригідрату.

#### 9128. Техніко-економічний чи соціальний ефект

Використання даної технології дозволяє підвищити ефективність, знизити негативні побічні ефекти стрептозоцин-індукованої нейропатії, зокрема, на розвиток патологічних змін у слинних залозах тварин. Середня ціна стрептозоцину від 7500 грн. за 100 мг; середня ціна Кокарніту 270 грн. за 3 ампули.

#### 5490. Об'єкти інтелектуальної власності

Немає

#### 9156. Основні переваги порівняно з існуючими технологіями

Використання запропонованої технології експериментальної корекції кокарніт діабетичної нейропатії у тварин дозволяє максимально спростити та пришвидшити дослідження превентивних та лікувальних заходів корекції ушкодження слинних залоз для подальшого впровадження у клінічній практиці. Здатність кокарніту коригувати патогенетичні механізми формування дисфункції слинних залоз за умов діабетичної нейропатії в експерименті дозволяє рекомендувати його для подальшого дослідження як потенційного фармакологічного засобу для стоматологічної практики. Впровадження в клінічну практику застосування кокарніту у пацієнтів з діабетичною нейропатією, що мають в анамнезі



цукровий діабет, дозволить удосконалити тактику їх медикаментозного лікування, що матиме значний економічний та соціальний ефект, так як дозволить зменшити розвиток патологічних змін в органах порожнини рота.

**9155. Галузь застосування**

Біологія, Медицина

**9158. Інформація щодо потенційних ринків збуту технології**

Україна

**9160. Інформація щодо потенційних ринків збуту продукції, виробленої з використанням технології**

Україна

**9157. Ступінь відпрацювання технології**

- якщо технологічну документацію розроблено за результатами лабораторних випробувань дослідного зразка - 9157/Л
- 9157/TRI4 - перевірено прототип в лабораторії, технологію перевірено в лабораторії

**5535. Умови поширення в Україні**

53 - за договірною ціною

**5211. Умови передачі зарубіжним країнам**

63 - за договірною ціною

**6012. Орієнтовна вартість технології та витрат на впровадження: 5 тис. грн.**

**6013. Особливі умови впровадження технології**

Немає

## **Підсумкові відомості**

**5634. Індекс УДК:** 616.316, 616.316:616.8:612.8:599.323.4

**5616. Коди тематичних рубрик НТІ:** 76.29.55.07

**6111. Керівник юридичної особи:** Ждан Вячеслав Миколайович

**6210. Науковий ступінь, вчене звання керівника юридичної особи:** (д. мед. н., професор)

**6120. Керівник НДДКР**

1 - українською мовою

Непорада Каріне Степанівна

2 - англійською мовою

Neporada Karine

**6228. Науковий ступінь, вчене звання керівника НДДКР:** (д.мед.н., професор)

**6140. Керівник структурного підрозділу МОН України:** Чайка Дар'я Юріївна

**Тел.:** +38 (044) 287-82-55

**Email:** chayka@mon.gov.ua

**6142. Реєстратор:** Іванов Олексій Васильович

На електронний документ накладено: 1 (Один) підписи чи печатки:  
На момент друку копії, підписи чи печатки перевірено:  
Програмний комплекс: eSign v. 2.3.0;  
Засіб кваліфікованого електронного підпису чи печатки: ПТ Користувач ЦСК-1  
Експертний висновок: №04/05/02-1277 від 09.04.2021;  
Цілісність даних: не порушена;



0108199708957692



Підпис № 1 (реквізити підписувача та дані сертифіката)  
Підписувач: Тихонович Ксенія Володимирівна 2970111107;  
Належність до Юридічної особи: ;  
Код юридичної особи в ЄДР: 2970111107;  
Серійний номер кваліфікованого сертифіката: 382367105294AF9704000000B00E3201CE70F202;  
Видавець кваліфікованого сертифіката: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг;  
Тип носія особистого ключа: Захищений;  
Тип підпису: Кваліфікований;  
Сертифікат: Кваліфікований;  
Час та дата підпису (позначка часу для підпису): 13:23 08.10.2024;  
Чинний на момент підпису. Підтверджено позначкою часу для підпису від АЦСК (кваліфікованого надавача електронних довірчих послуг)  
Час та дата підпису (позначка часу для даних): 13:23 08.10.2024;  
Чинний на момент підпису. Підтверджено позначкою часу для даних від АЦСК (кваліфікованого надавача електронних довірчих послуг)