

Міністерство охорони здоров'я України  
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

Явтушенко Іван Валерійович

УДК 616.714 – 001 : 616.831

**ДИСЕРТАЦІЯ**

РОЛЬ ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ЧИННИКІВ У ПАТОГЕНЕЗІ  
ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ РОЗЛАДІВ У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ПРИ  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ

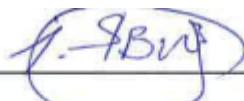
222 Медицина

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

джерело \_\_\_\_\_



І.В. Явтушенко

Науковий керівник

Костенко Віталій Олександрович  
доктор медичних наук, професор

Полтава – 2021

## АНОТАЦІЯ

*Явтушенко І.В.* Роль транскрипційних чинників у патогенезі вільнорадикальних розладів у головному мозку при експериментальній черепно-мозковій травмі. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина». – Полтавський державний медичний університет МОЗ України, Полтава, 2021; Полтавський державний медичний університет МОЗ України, Полтава, 2021.

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і розв’язання наукової задачі, що полягає у з’ясуванні ролі транскрипційних чинників NF-κB, AP-1 та Nrf2 у механізмах вільнорадикальних розладів у головному мозку та розвитку неврологічного дефіциту у ранньому періоді після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми.

Експерименти виконані на 166 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г. Використовували експериментальні, біохімічні, функціональні, нейроетологічні та математико-статистичні методи дослідження.

Виявлено, що у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання черепно-мозкової травми у тканині великих півкуль головного мозку щурів виявляються ознаки окисно-нітрозативного стресу: збільшення порівняно з результатами хибнотравмованих тварин вироблення супероксидного аніон-радикала (на 3 добу посттравматичного періоду: мітохондріями – на 47.8%; мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою – на 44.5%; NADPH-оксидазою фагоцитів – на 69.3%,  $p < 0.001$ ), підвищення активності індукцибельної синтази оксиду азоту (через 3 доби – на 78.5%,  $p < 0.05$ , через 7 діб – на 88.0%,  $p < 0.01$ , через 14 діб – на 71.2%,  $p < 0.01$ )

при зменшенні активності ферменту конкурентного (аргіназного) шляху метаболізму L-аргініну – орнітиндекарбоксилази (через 3 доби – на 26.8%, через 7 діб – на 32.7%, через 14 діб – на 18.7%,  $p < 0.001$ ), зменшення та порушення спряженості конститутивної ізоформи NO-синтази, зростання концентрації пероксинітриту (через 3 доби – на 31.8%,  $p < 0.01$ , через 7 діб – на 55.5%,  $p < 0.001$ , через 14 діб – на 32.9%,  $p < 0.01$ ), що супроводжується розвитком декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів.

Після моделювання експериментальної черепно-мозкової травми виживаність щурів, розрахована за процедурою Каплана-Мейера, становила на 3-тю добу –  $0.53 \pm 0.09$ ; на 7-му та 14-ту добу –  $0.40 \pm 0.09$ . Протягом першого тижня посттравматичного періоду і більшості тварин виявляються ознаки неврологічного дефіциту: порушення м'язового тону, координації рухів і больової реакції, що супроводжується високими значеннями інтегрального показника неврологічного дефіциту (на 3-тю добу –  $53.31 \pm 2.47$  бала, на 7-му добу –  $51.33 \pm 2.95$  бала), порушенням локомоторної активності та психоемоційного стану щурів.

Розвиток окисно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів після моделювання черепно-мозкової травми пов'язаний з активністю транскрипційних чинників NF- $\kappa$ B та AP-1. Застосування їх інгібіторів (піролідиндитіокарбамату амонію, SR 11302) істотно зменшує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу посттравматичного періоду генерацію супероксидного аніон-радикала (мітохондріями – на 49.1 і 43.1% відповідно,  $p < 0.001$ ; мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою – на 45.3 і 38.8% відповідно,  $p < 0.001$ ) та активність індукбельної синтази оксиду азоту (на 53.9 і 42.7% відповідно,  $p < 0.01$ ) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази (на 44.5 і 37.7% відповідно,  $p < 0.001$ ), покращує спряженість її конститутивної

ізоформи, обмежує концентрацію пероксинітриту (на 31.1%,  $p < 0.001$ , та 20.3%,  $p < 0.01$ , відповідно), що супроводжується ослабленням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу.

Транскрипційні фактори NF- $\kappa$ B та AP-1 є важливими чинниками патогенезу неврологічного дефіциту після відтворення черепно-мозкової травми. Введення піролідиндитіокарбамату амонію та SR 11302 вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби, істотно обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду порушення м'язового тону, координації рухів та больової реакції, що супроводжується достовірним зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту до  $25.64 \pm 2.06$  бала (вдвічі) та до  $31.50 \pm 2.47$  бала (на 38.6%) відповідно, покращенням поведінкових реакцій.

Активація транскрипційного чинника NRF2 є ефективним засобом пригнічення окисно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів після моделювання черепно-мозкової травми. Застосування індукторів транскрипційного чинника NRF2 (диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату) суттєво зменшує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу посттравматичного періоду генерацію супероксидного аніон-радикала (мітохондріями – на 38.9 і 26.5% відповідно,  $p < 0.001$ ; мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою – на 34.4 і 21.0% відповідно,  $p < 0.001$ ) та активність індукцибельної синтази оксиду азоту (на 71.6%,  $p < 0.001$ , та 34.6%,  $p < 0.02$ , відповідно) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази (на 38.3,  $p < 0.001$ , та 23.3%,  $p < 0.02$ , відповідно), що супроводжується пригніченням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу. При цьому диметилфумарат, на відміну від епігалокатехін-3-галату, виявляє здатність покращувати спряженність конститутивної ізоформи NO-

синтази та обмежувати концентрацію пероксинітриту (на 37.3%,  $p < 0.001$ ).

Індукція NRF2-асоційованої сигнальної системи є ефективним засобом обмеження неврологічного дефіциту після відтворення черепно-мозкової травми. Введення диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби, суттєво обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду порушення м'язового тону, координації рухів та больової реакції, що супроводжується достовірним зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту до  $27.08 \pm 2.73$  бала (на 47.2%) та  $35.08 \pm 3.02$  бала (на 31.7%). Застосування диметилфумарату та, у дещо меншій мірі, епігалокатехін-3-галату покращує протягом цього часу показники рухової та дослідницької активності, орієнтувальної реакції, зменшує рівень емоційної тривожності та страху.

Призначення кверцетину істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після відтворення черепно-мозкової травми ознаки окисно-нітрозативного стресу, зменшує генерацію супероксидного аніон-радикала (мітохондріями – на 35.0%; мікосомальними монооксигеназами та NO-синтазою – на 30.2%  $p < 0.001$ ) та активність індукцибельної синтази оксиду азоту (на 45.3%,  $p < 0.01$ ) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази (на 25.3%,  $p < 0.01$ ), покращує спряженність її конститутивної ізоформи (в 2.12 рази,  $p < 0.001$ ), обмежує концентрацію пероксинітриту (на 19.5%,  $p < 0.01$ ), що супроводжується пригніченням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу.

Застосування кверцетину вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання черепно-мозкової травми, істотно обмежує впродовж

першого тижня посттравматичного періоду порушення м'язового тону, координації рухів та больової реакції, що супроводжується достовірним зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту до  $27.15 \pm 1.97$  бала (на 47.1%), покращенням показників рухової та дослідницької активності, а також орієнтувальної реакції, але без істотного впливу на показник емоційної тривожності та страху (число актів грумінгу).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Показано, що розвиток окисно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів після моделювання черепно-мозкової травми пов'язаний з активністю транскрипційних чинників NF- $\kappa$ B та AP-1. Вперше виявлено, що застосування інгібіторів цих факторів (піролідидитіокарбамату амонію, SR 11302) істотно зменшує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу посттравматичного періоду генерацію супероксидного аніон-радикала та активність індукбельної ізоформи синтази оксиду азоту при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази, покращує спряженність конститутивного ізоферменту NO-синтази, обмежує концентрацію пероксинітриду, що супроводжується ослабленням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу.

Отримало подальший розвиток уявлення, що транскрипційні фактори NF- $\kappa$ B та AP-1 є важливими чинниками патогенезу неврологічного дефіциту після відтворення черепно-мозкової травми. Вперше показано, що введення піролідидитіокарбамату амонію та SR 11302 вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби, суттєво зменшує інтегральний показник неврологічного дефіциту, покращує поведінкові реакції тварин.

Вперше виявлено, що застосування індукторів транскрипційного чинника NRF2 (диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату) суттєво

зменшує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу посттравматичного періоду генерацію супероксидного аніон-радикала та активність індукбельної ізоформи NO-синтази при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази, що супроводжується пригніченням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу. Вперше показано, що введення диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання черепно-мозкової травми, суттєво обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду ознаки неврологічного дефіциту.

Дістало подальший розвиток уявлення, що призначення кверцетину істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після відтворення черепно-мозкової травми ознаки окисно-нітрозативного стресу, підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання ЧМТ, істотно обмежує ознаки неврологічного дефіциту.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати дослідження доводять, що оцінка показників окисно-нітрозативного стресу в тканині великих півкуль головного мозку лабораторних тварин може використовуватися в експериментальній медицині як чутливий метод оцінки тяжкості травматичної хвороби після нанесення ЧМТ.

Робота є експериментальним підтвердженням доцільності подальшого дослідження інгібіторів транскрипційних чинників NF- $\kappa$ B та AP-1, а також індукторів системи NRF2 / ARE як перспективних засобів патогенетичної терапії наслідків ЧМТ у людей.

Автором запропоновано «Спосіб експериментальної терапії окисно-нітрозативного стресу» (пат. 131230).

**Ключові слова:** черепно-мозкова травма, транскрипційні чинники NF-κB, AP-1 та Nrf2, окисно-нітрозативний стрес, головний мозок, виживаність, неврологічний дефіцит, поведінкові реакції, тести «Темно-світла камера» та «Відкрите поле».

## SUMMARY

Yavtushenko I.V. The role of transcription factors in the pathogenesis of free radical disorders in the cerebrum in experimental traumatic brain injury. – Qualification research work (manuscript).

Dissertation for a Doctor of Philosophy Degree, Specialty “Medicine”. – Poltava State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Poltava, 2021; Poltava State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Poltava, 2021.

This dissertation presents the conceptual synthesis and solution of the scientific issue aimed at elucidating the role of transcription factors NF-κB, AP-1 and Nrf2 in the mechanisms of free radical disorders in the cerebrum and the development of neurological deficit in the early period after the simulation of experimental craniocerebral injuries.

The experiments were performed on 166 white male Wistar rats weighing 180-220 g. The methodology included experimental, biochemical, functional, neuroethological and mathematical-statistical methods and techniques.

The study has demonstrated that over the period of early manifestations of traumatic disease following the simulation of traumatic brain injury, the cerebral tissue in the rats were found out to have the signs of oxidative-nitrosative stress including an increase in superoxide anion radical compared to the results in the sham-injured animals (on the 3 day of post-traumatic by 47.8%, microsomal monooxygenases and NO-synthase by 44.5%, NADPH-



oxidase of phagocytes by 69.3%,  $p < 0.001$ ), increased activity of inducible nitric oxide synthase (after 3 days by 78.5%,  $p < 0.05$ , after 7 days by 88.0%,  $p < 0.01$ , after 14 days by 71.2%,  $p < 0.01$ ) under the decline in the activity of ornithine decarboxylase, an enzyme of competitive (arginase) pathway of L-arginine metabolism (after 3 days by 26.8%, after 7 days by 32.7%, after 14 days by 18.7%,  $p < 0.001$ ), reduction and impairment of the conjugation of the constitutive isoform of NO-synthase, growth in the concentration of peroxynitrite (after 3 days by 31.8%,  $p < 0.01$ , after 7 days by 55.5 %,  $p < 0.001$ , after 14 days by 32.9%,  $p < 0.01$ ) that was accompanied by the development of decompensated lipid peroxidation.

After modelling the experimental traumatic brain injury, the survival rate of the rats, calculated by the Kaplan-Meyer procedure was  $0.53 \pm 0.09$  on the 3rd day;  $0.40 \pm 0.09$  on the 7th and 14th day. During the first week of the post-traumatic period, most rats show signs of neurological deficit such as impaired muscle tone, impaired coordination and pain response, accompanied by high values of the integrated indicator of neurological deficit ( $53.31 \pm 2.47$  scores on the 3 day,  $51.33 \pm 2.95$  scores on the on the 7th day), deteriorated locomotion and psycho-emotional state.

The development of oxidative-nitrosative stress in the brain of rats after the simulation of traumatic brain injury is associated with the activity of transcription factors NF- $\kappa$ B and AP-1. The use of their inhibitors (ammonium pyrrolidine dithiocarbamate, SR 11302) significantly reduces the production of superoxide anion radical in the cerebral tissue of the rats on the 7th day of the post-traumatic period (by mitochondria by 49.1 and 43.1%, respectively,  $p < 0.001$ ; by microsomal monooxygenases and NO-synthase by 45.3 and 38.8%, respectively,  $p < 0.001$ ) and the activity of inducible nitric oxide synthase (by 53.9 and 42.7%, respectively,  $p < 0.01$ ) with increasing ornithine decarboxylase activity (by 44.5 and 37.7%, respectively,  $p < 0.001$ ), improves the conjugation of its constitutive isoform, and limits the concentration of

peroxynitrite (by 31.1%,  $p < 0.001$ , and 20.3%,  $p < 0.01$ , respectively) that is accompanied by the enervation of lipid peroxidation and the enhancement of antioxidant potential.

Transcription factors NF- $\kappa$ B and AP-1 serve as important factors in the pathogenesis of neurological deficits after the reproduction of traumatic brain injury. The introduction of ammonium pyrrolidinedithiocarbamate and SR 11302 probably increases the survival rate of the rats over the period of the early manifestations of traumatic disease, significantly limits the impairment of muscle tone, coordination and pain response during the first week of the post-traumatic period that is accompanied by a significant decrease of integral neurological deficit index to  $25.64 \pm 2.06$  (twice as much) scores and to  $31.50 \pm 2.47$  scores (by 38.6%), respectively, and by the improvement of behavioural reactions.

Activation of the transcription factor NRF2 is an effective means to suppress oxidative-nitrosative stress in the brain of the rats after the simulation of traumatic brain injury. The use of inducers of the transcription factor NRF2 (dimethylfumarate and epigallocatechin-3-gallate) significantly reduces the production of superoxide anion radical in the cerebral tissue in the rats on the 7th day of the post-traumatic period (by mitochondria by 38.9 and 26.5%, respectively,  $p < 0.001$ ; microsomal monooxygenases and NO synthase by 34.4 and 21.0%, respectively,  $p < 0.001$ ) and the activity of inducible nitric oxide synthase (by 71.6%,  $p < 0.001$ , and 34.6%,  $p < 0.02$ , respectively) with increasing ornithine decarboxylase activity (by 38.3,  $p < 0.001$ , and 23.3%,  $p < 0.02$ , respectively) that is accompanied by the inhibition of lipid peroxidation and the elevation in the antioxidant potential. Dimethyl fumarate, in contrast to epigallocatechin-3-gallate, possesses the ability to improve the conjugation of the constitutive isoform of NO synthase and limit the concentration of peroxynitrite (by 37.3%,  $p < 0.001$ ).

Induction of the NRF2-associated signalling system is an effective means of limiting neurological deficits after the reproduction of traumatic brain injury. The introduction of dimethyl fumarate and epigallocatechin-3-gallate probably increases the survival rates of the rats over the period of the early manifestations of traumatic disease, significantly lessens disorders of muscle tone, coordination and pain response during the first week of the post-traumatic period that is supported by the significant decline of integral neurological deficit index to  $27.08 \pm 2.73$  scores (by 47.2%) and  $35.08 \pm 3.02$  scores (by 31.7%). Applying of dimethylfumarate and, to a lesser extent, epigallocatechin-3-gallate during this time improves motor activity and exploratory behaviour, orientation response, as well as reduces the intensity of anxiety and fear.

The study demonstrates that on the on the 7 day after the reproduction of traumatic brain injury, the administration of quercetin significantly lessens the signs of oxidative nitrosatous stress, reduces the generation of superoxide anion radical (by mitochondria - by 35.0%; microsomal monooxygenases and NO-synthase - by 30.2%  $p < 0.001$ ), and the activity of inducible nitric oxide synthase (by 45.3%,  $p < 0.01$ ) in the cerebral tissue of the rats under the increasing ornithine decarboxylase activity (by 25.3%,  $p < 0.01$ ), as well as improves the conjugation of its constitutive isoform (2.12 times,  $p < 0.001$ ) and limits the concentration of peroxynitrite (by 19.5%,  $p < 0.01$ ) that is accompanied by the inhibition of lipid peroxidation and increase in antioxidant potential.

The use of quercetin probably increases the survival rate of the rats over the period of early manifestations of traumatic disease following the simulation of traumatic brain injury, significantly limits the impairment of muscle tone, motor coordination and pain response through the 1<sup>st</sup> week of post-traumatic period that is accompanied by a significant decrease in the integrated neurological deficit index to  $27.15 \pm 1.97$  scores (by 47.1%), the

improvement of motor activity, exploratory behaviour indicators, and orientation reaction, while no significant impact has been found out in terms of the indicator of emotional anxiety and fear (number of grooming acts).

**Scientific relevance of obtained results.** The research has shown the development of oxidative-nitrosative stress in the brain of the rats after the simulation of traumatic brain injury is associated with the activity of transcription factors NF- $\kappa$ B and AP-1. The dissertation is the first to reveal that the application of inhibitors of these factors (ammonium pyrrolidinedithiocarbamate, SR 11302) significantly reduces the generation of superoxide anion radical and the activity of the inducible isoform of NO-synthase, limits the concentration of peroxynitrite in the cerebral tissue of the rats on day 7 of the posttraumatic period that is accompanied by the enervation of lipid peroxidation and the enhancement of antioxidant potential.

The dissertation has provided the further developed of the concept that the transcription factors NF- $\kappa$ B and AP-1 play an important role in the pathogenesis of neurological deficits after the simulation of traumatic brain injury. The research has demonstrated for the first time that the introduction of ammonium pyrrolidinedithiocarbamate and SR 11302 probably increases the survival rate of rats over the period of early manifestations of traumatic disease, significantly reduces the integrated neurological deficit, and improves the behavioural responses of the animals.

The present study demonstrates for the first time that the use of inducers of the transcription factor NRF2 (dimethylfumarate and epigallocatechin-3-gallate) significantly reduces the production of superoxide anionic radical and the activity of inducible isoform of NO-synthase in the cerebral tissue of the rats on the 7th day of the post-traumatic period under the increasing activity of ornithine decarboxylase that is accompanied by the suppression of lipid peroxidation and increased antioxidant potential. This research is the first demonstrating the introduction of dimethyl fumarate and

epigallocatechin-3-gallate significantly increases the survival rate of the rats over the period of early manifestations of traumatic disease after the simulation of traumatic brain injury, significantly lessens the signs of neurological deficits during the first week of the post-traumatic period.

The dissertation has contributed to the further elaboration of the idea that the administration of quercetin significantly enervates the signs of oxidative-nitrosative stress in the cerebral tissue of the rats on the day 7 day after the simulation of traumatic brain injury, as well as increases the survival rate of the rats over the period of early manifestations of traumatic disease after the trauma modelling trauma, and significantly lessens the signs of neurological deficit.

**Practical relevance of obtained results.** The results of the present research prove that the assessment of oxidative-nitrosative stress in the tissue of the cerebral hemispheres of laboratory animals can be applied in experimental medicine as a sensitive method for assessing the severity of post-traumatic course after the craniocerebral trauma.

The work provides experimental evidence in the appropriateness for the further investigation of inhibitors of transcription factors NF- $\kappa$ B and AP-1, as well as inducers of the NRF2 / IS system as promising means of pathogenetic therapy of trauma in humans.

The author proposed "Method of experimental therapy of oxidative-nitrosative stress" (Pat. No. 131230).

**Key words:** traumatic brain injury, NF- $\kappa$ B, AP-1 and Nrf2 transcription factors, oxidative-nitrosative stress, brain, survival rate, neurological deficit, behavioural reactions, "Dark-light chamber" and "Open field" tests.

## Список публікацій здобувача за темою дисертації

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

1. Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Пригнічення транскрипційних чинників NF карра В та AP-1 обмежує розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканині великих півкуль головного мозку щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2020;20(1):80-85. (Особиста участь дисертанта – аналіз літературних даних, організація та проведення досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).

2. Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Вплив модуляторів редоксчутливих транскрипційних чинників на неврологічний дефіцит у щурів після відтворення черепно-мозкової травми. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2020; 20(2):198-202. (Особиста участь дисертанта – аналіз літературних даних, організація та проведення досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).

3. Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканині великих півкуль головного мозку щурів після моделювання черепно-мозкової травми. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020; 5(4):117-123. (Особиста участь дисертанта – аналіз літературних даних, організація та проведення досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).

4. Явтушенко ІВ, Левков АА, Костенко ВО. Зміни поведінкових реакцій щурів після відтворення черепно-мозкової травми та їхня корекція модуляторами транскрипційних чинників. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2020;

20(4):157-162. (Особиста участь дисертанта – аналіз літературних даних, організація та проведення досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).

5. Yavtushenko IV, Nazarenko SM, Katrushov OV, Kostenko VO. Quercetin limits the progression of oxidative and nitrosative stress in the rats' tissues after experimental traumatic brain injury. *Wiadomości Lekarskie*. 2020; LXXIII (10):2127-2132. (Безпосередньо дисертантом одержано та проаналізовано результати щодо здатності кверцетину пригнічувати окисно-нітрозативний стрес у головному мозку щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми).

*2) які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

6. Єлінська АМ, Френкель ЮД, Коваль МС, Ковальова ІО, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Роль редокс-чутливих транскрипційних чинників у механізмах окисно-нітрозативного стресу. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: X наук.-практ. конф. з міжнарод. участю (Тернопіль, 5–6 жовтня 2017 р.): мат. Тернопіль; 2017. С. 16. (Безпосередньо дисертанту належать дані щодо ролі редоксчутливих транскрипційних чинників у механізмах окисно-нітрозативного стресу у головному мозку щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми).

7. Явтушенко ІВ. Роль редокс-чутливих транскрипційних чинників NF-κB і AP-1 у розвитку окисно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів після черепно-мозкової травми. *Multilevel Prevention and Diagnosis in Oncology: Ukraine Pathophysiology and Biobank Conference* (Харків, 1-2 лютого 2018 р.). Харків; 2018. С. 43.

8. Костенко ВО, Єлінська АМ, Ковальова ІО, Назаренко СМ, Соловійова НВ, Френкель ЮД, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ. Інгібітори активації транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 як засоби

профілактики та патогенетичної терапії окисно-нітрозативного стресу. Бюлл. XVII чтений им. В.В. Подвысоцкого (г. Одесса, 24–25 мая 2018 г.). Одесса; 2018. С. 110-111. (Безпосередньо дисертанту належать дані щодо впливу інгібіторів активації транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 на розвиток окисно-нітрозативного стресу у головному мозку щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми).

9. Явтушенко ІВ, Левков АА. Роль транскрипційного чинника AP-1 у розвитку метаболічних і функціональних порушень у великих півкулях головного мозку щурів після черепно-мозкової травми. Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики: VII пленум Укр. наук. тов. патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячені 110-річчю з дня народження чл.-кор. АМН СРСР, проф. М.Н. Зайка : мат. доп. (Полтава, 11-12 жовтня 2018 р.). Полтава; 2018. С. 101. (Особиста участь дисертанта – аналіз літературних даних, організація та проведення досліджень, інтерпретація результатів, написання тез доповіді).

10. Явтушенко ИВ. Роль транскрипционных факторов NF-карра В и AP-1 в механизмах свободнорадикального повреждения головного мозга и развития неврологического дефицита у крыс после экспериментальной черепно-мозговой травмы. Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье: тез. XXII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей. СПб.: Изд-во СПбГУ; 2019. - С. 577-578.

11. Костенко ВО, Єлінська АМ, Назаренко СМ, Соловійова НВ, Френкель ЮД, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ. Модулятори редоксчутливих транскрипційних чинників як засоби контролю формування патологічної системи на молекулярному рівні. Бюлл. XVIII читань ім. В.В. Підвисоцького (м. Одеса, 21–22 травня 2019 р.). Одеса; 2019. С. 100-101. (Безпосередньо дисертанту належать дані щодо впливу



модуляторів активації транскрипційних чинників на розвиток окисно-нітрозативного стресу у головному мозку щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми).

12. Костенко ВО, Єлінська АМ, Назаренко СМ, Френкель ЮД, Черно ВС, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ. Роль редоксчутливих чинників транскрипції в патогенезі дизрегуляторної патології. Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми»: науково-практична конференція з міжнародною участю (м. Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р.). Івано-Франківськ; 2019. С. 28-29. (Безпосередньо дисертанту належать дані щодо ролі редоксчутливих транскрипційних чинників у патогенезі дизрегуляторної патології на прикладі функціонально-метаболических розладів головному мозку щурів після відтворення черепно-мозкової травми).

13. Явтушенко ІВ. Вплив інгібіторів активації транскрипційних факторів NF-карраВ і AP-1 на розвиток неврологічного дефіциту у щурів після експериментальної черепно-мозкової травми. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доповідей II Науково-практичної Інтернет-конференції з міжнародною участю (Харків, 21 листопада 2019 р.). Харків: Вид-во НФаУ; 2019. С. 386-387.

14. Костенко ВО, Єлінська АМ, Ковальова ІО, Назаренко СМ, Соловійова НВ, Таран ОВ, Френкель ЮД, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ. Дизрегуляторні механізми окисно-нітрозативного стресу в організмі ссавців. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доп. VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (13-15 травня 2020 р.). Одеса; 2020. Т.1. С. 255-256. (Безпосередньо дисертанту належать дані щодо ролі редоксчутливих транскрипційних чинників у дизрегуляторних механізмах окисно-нітрозативного стресу на прикладі функціонально-метаболических

розладів головному мозку щурів після відтворення черепно-мозкової травми).

15. Явтушенко ІВ, Назаренко СМ, Таран ОВ. Вплив кверцетину на вільнорадикальні процеси в організмі щурів при відтворенні різних моделей травматичної хвороби. 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.). Харків: Вид-во НФаУ; 2020. С. 232-233. (Безпосередньо дисертантом одержано та проаналізовано результати щодо здатності кверцетину пригнічувати вільнорадикальні процеси у головному мозку щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми).

*3) які додатково відображають наукові результати дисертації:*

16. Костенко ВО, Єлінська АМ, Назаренко СМ, Соловійова НВ, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, заявник і патентовласник. Спосіб експериментальної терапії окисно-нітрозативного стресу. Патент України 131230; заявл. 25.06.2018; опубл. 10.01.2019, бюл. № 1/2019. (Безпосередньо дисертанту належать дані щодо позитивної дії водорозчинної форми кверцетину та епігалокатехін-3-галату щодо корекції показників окисно-нітрозативного стресу на прикладі функціонально-метаболічних розладів головному мозку щурів після відтворення черепно-мозкової травми).

## З М І С Т

АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	3
ВСТУП	26
<b>РОЗДІЛ 1. РОЛЬ ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ЧИННИКІВ У МЕХАНІЗМАХ УРАЖЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПІСЛЯ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)</b>	34
1.1. Сучасні погляди на механізми пошкодження головного мозку за умов черепно-мозкової травми	34
1.2. Роль редоксчутливих факторів транскрипції у механізмах травматичних, гемодинамічних та нейродегенеративних ушкоджень головного мозку	47
<b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ</b>	
2.1. Загальна характеристика матеріалів та методів дослідження	60
2.2. Методика моделювання черепно-мозкової травми	61
2.3. Методика зміни активності транскрипційних чинників	62
2.4. Біохімічні методи дослідження	63
2.5. Дослідження показників неврологічного дефіциту	66
2.6. Дослідження поведінкових реакцій	66
2.7. Статистична обробка результатів експерименту	67
<b>РОЗДІЛ 3. СТАН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ТКАНИНІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ, НЕВРОЛОГІЧНИЙ ДЕФІЦИТ ТА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ТВАРИН ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ</b>	69
3.1. Генерація активних форм кисню і азоту в тканині головного мозку в динаміці розвитку травматичної хвороби після експериментальної черепно-мозкової травми	69

3.2. Процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканині головного мозку в динаміці розвитку травматичної хвороби після експериментальної черепно-мозкової травми	80
3.3. Показники виживаності та неврологічного дефіциту у щурів в динаміці розвитку травматичної хвороби головного мозку після експериментальної черепно-мозкової травми	85
3.4. Характеристика поведінкових реакцій щурів у динаміці розвитку травматичної хвороби головного мозку після експериментальної черепно-мозкової травми	91
РОЗДІЛ 4. РОЛЬ РЕДОКСЧУТЛИВИХ ФАКТОРІВ ТРАНСКРИПЦІЇ NF-κB І AP-1 У МЕТАБОЛІЧНИХ І ФУНКЦІОНАЛЬНИХ РОЗЛАДАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПІСЛЯ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ	
4.1. Вплив інгібіторів NF-κB і AP-1 на генерацію активних форм кисню і азоту в тканині головного мозку	95
4.2. Вплив інгібіторів NF-κB і AP-1 на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканині головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	101
4.3. Вплив інгібіторів NF-κB і AP-1 на виживаність щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	103
4.4. Вплив інгібіторів NF-κB і AP-1 на показники неврологічного дефіциту у щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	108
4.5. Вплив інгібіторів NF-κB і AP-1 на характеристики поведінкових реакцій щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	116
РОЗДІЛ 5. РОЛЬ ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦІЇ NRF2 У МЕТАБОЛІЧНИХ І ФУНКЦІОНАЛЬНИХ РОЗЛАДАХ ГОЛОВНОГО	

МОЗКУ ПІСЛЯ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ	119
5.1. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на генерацію активних форм кисню і азоту в тканині головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	119
5.2. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканині головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	124
5.3. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на виживаність щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	126
5.4. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на показники неврологічного дефіциту у щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	131
5.5. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на характеристики поведінкових реакцій щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	138
РОЗДІЛ 6. ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА МЕТАБОЛІЧНІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ РОЗЛАДИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПІСЛЯ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ	141
6.1. Вплив кверцетину на генерацію активних форм кисню і азоту в тканині головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	141
6.2. Вплив кверцетину на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканині головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	145
6.3. Вплив кверцетину на виживаність щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	146

6.4. Вплив кверцетину на показники неврологічного дефіциту у щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	149
6.5. Вплив кверцетину на характеристики поведінкових реакцій щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми	153
РОЗДІЛ 7. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	155
ВИСНОВКИ	168
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	172
ДОДАТКИ	208

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АФА – активні форми азоту

АФК – активні форми кисню

ГЕБ – гематоенцефалічний бар'єр

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ЕТЛ – електронно-транспортний ланцюг

мРНК – матрична рибонуклеїнова кислота

ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів

СЗВ – системна запальна відповідь

СОД – супероксиддисмутаза

ТБК – тіобарбітурова кислота

ТХ – травматична хвороба

ЦНС – центральна нервова система

ЧМТ – черепно-мозкова травма

ADP – аденозиндифосфат

AP-1 – білок-активатор 1 (англ. Activator Protein 1)

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

АТР – аденозинтрифосфат

cAMP – циклічний аденозинмонофосфат

cGMP – циклічний гуанозинмонофосфат

DAMPs – молекулярні патерни, що асоційовані з ушкодженням (англ. Damage-Associated Molecular Patterns)

DMF – диметилфумарат (англ. Dimethyl fumarate)

EGCG – епігалокатехін-3-галат (англ. Epigallocatechin-3-gallate)

FAD – флавінаденіндинуклеотид

НО – гемоксигеназа

GM-CSF – гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулювальний фактор (англ. Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor)

I $\kappa$ B – білок-інгібітор  $\kappa$ B

IKK – I $\kappa$ B-кіназний комплекс

IL – інтерлейкін (и)

Jun – компонент транскрипційного чинника AP-1

Keap1 – репресорний білок (англ. Kelch like ECH Associated Protein 1)

MAPK – мітоген-активована протеїнкіназа (англ. Mitogen-Activated Protein Kinase)

MMP – матриксна металопротеїназа

NADH – нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений

NADPH – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений

NF- $\kappa$ B – ядерний фактор  $\kappa$ B (англ. Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)

NMDA – N-метил-D-аспартат

NOS (cNOS, nNOS, eNOS, iNOS) – синтази оксиду азоту (конститутивні, нейрональна, ендотеліальна, індукцибельна ізоформи)

Nox – NADPH оксидаза

Nrf2 – транскрипційний чинник (англ. Nuclear Factor Erythroid 2-related Factor 2)

$\cdot\text{O}_2^-$  – супероксидний аніон-радикал

ONOO $^-$  – пероксинітрит

PAMPs – патоген-асоційовані молекулярні шаблони (патерни) (англ. Pathogen-Associated Molecular Patterns)

PDTC – піролідиндитіокарбамат амонію (англ. Pyrrolidine dithiocarbamate)

SIRS – синдром системної запальної відповіді (англ. Systemic Inflammatory Response Syndrome)

TLR – Toll-подібний рецептор



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

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

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Черепно-мозкова травма (ЧМТ) вважається головною причиною смерті осіб віком до 45 років [185]. Окрім того, за прогнозом Всесвітньої організації охорони здоров'я, у 20-х роках XXI століття ЧМТ має стати третьою провідною причиною смерті та втрати працездатності у всіх вікових групах [126]. ЧМТ тільки у США щорічно призводить до вражаючих 6 мільярдів доларів прямих витрат і понад 40 мільярдів доларів непрямих витрат [257].

Вважається, що у патогенезі ЧМТ важлива роль належить вторинній альтерації тканини мозку протягом запально-токсичної стадії, дебют якої припадає на 2-гу добу (за умов ЧМТ середнього ступеню тяжкості) після передуючої їй реактивно-метаболическої стадії. При цьому виснаження компенсаторно-приспосувальних механізмів супроводжується розвитком системної запальної відповіді (СЗВ) та поліорганної недостатності [33, 35].

Механізми, що лежать в основі вторинного пошкодження є складними та взаємопов'язаними. Попередні дослідження, зосереджені на одному з цих механізмів, виявились неефективними в клінічній практиці. Отже, терапевтичною стратегією при лікуванні ЧМТ може бути усунення декількох провідних ланок патогенезу, що призводять до розвитку тяжких ускладнень [185].

Більшість дослідників вважають, що провідними патогенетичними механізмами ЧМТ є гіпоксія і локальна ішемія головного мозку [176, 185]. За цих умов значно активується утворення активних форм кисню та азоту (АФК / АФА), що зумовлює активацію у тканині мозку відьнорадикального окиснення з розвитком комплексу структурно-функціональних порушень мембран нервових клітин.

Примітно, що АФК / АФА у тканині головного мозку можуть у залежності від концентрації та інших причин виконувати як фізіологічну роль у регулюванні його нормальних функцій (між- та внутрішньонейрональної сигналізації, синаптичної пластичності, церебральної гемодинаміки, осциляторної активності нейронів та ін.), так і чинити негативний вплив на функціонування центральної нервової системи (ЦНС), викликаючи окисно-нітрозативний стрес [49, 62, 176].

В останні роки показано, що розвиток окисно-нітрозативного стресу регулюється активністю редоксчутливих транскрипційних факторів (NF-κB, AP-1, Nrf2 та ін.) [22, 138, 141, 143]. При цьому повідомляється про можливість деструктивних і нейропротективних наслідків активації цих чинників [201, 234, 302].

Проте участь редоксчутливих транскрипційних факторів у механізмах метаболічних і функціональних розладів у головному мозку за умов ЧМТ є недостатньо з'ясованою. Суперечливими залишаються погляди науковців щодо патогенної або протективної ролі транскрипційних факторів NF-κB, AP-1, Nrf2 за умов ушкодження ЦНС. З'ясування цих питань дозволить розширити існуючі засоби попередження неврологічного дефіциту та лікування ускладнень, пов'язаних з ЧМТ.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана як самостійний фрагмент планових науково-дослідницьких тем Полтавського державного медичного університету (до реорганізації – Української медичної стоматологічної академії МОЗ України «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу» (№ держреєстрації №0114U004941) та «Роль транскрипційних факторів, системи циркадіанного осцилятора та метаболічних розладів в утворенні

та функціонуванні патологічних систем» (№ держреєстрації 0119U103898). Здобувач є співвиконавцем тем.

**Мета дослідження:** Метою цієї роботи було з'ясування ролі транскрипційних чинників NF-κB, AP-1 та Nrf2 у механізмах вільнорадикальних розладів у головному мозку та розвитку неврологічного дефіциту за умов експериментальної черепно-мозкової травми.

**Завдання дослідження:**

1. Дослідити закономірності змін продукції супероксидного аніон-радикала, активності ферментів NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, концентрації пероксинітриту, стан пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту в тканині великих півкуль головного мозку білих щурів у динаміці постратравматичного періоду після ЧМТ.

2. Вивчити маркери неврологічного дефіциту та зміни поведінкових реакцій білих щурів (тести «Темно-світла камера» та «Відкрите поле») у динаміці постратравматичного періоду після ЧМТ.

3. Встановити закономірності дії інгібіторів активації NF-κB (піролідиндитіокарбамат амонію - PDTC) та AP-1 (SR 11302) на продукцію супероксидного аніон-радикала, активність ферментів NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, концентрацію пероксинітриту, стан пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту, а також на маркери неврологічного дефіциту та зміни поведінкових реакцій білих щурів у ранньому періоді після ЧМТ.

4. Дослідити вплив індукторів активації Nrf2-асоційованої сигнальної системи диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату (EGCG) на продукцію супероксидного аніон-радикала, активність ферментів NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, концентрацію

пероксинітриду, стан пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту, а також на маркери неврологічного дефіциту та зміни поведінкових реакцій білих щурів у ранньому періоді після ЧМТ.

5. З'ясувати дію водорозчинної форми кверцетину (корвітину) на продукцію супероксидного аніон-радикала, активність ферментів NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, концентрацію пероксинітриду, стан пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту, а також на маркери неврологічного дефіциту та зміни поведінкових реакцій білих щурів у ранньому періоді після ЧМТ.

*Об'єкт дослідження:* патогенез ураження головного мозку за умов ЧМТ.

*Предмет дослідження:* участь транскрипційних факторів NF-κB, AP-1 та Nrf2 у механізмах метаболічних і функціональних порушень у головному мозку ссавців у ранньому періоді після експериментальної ЧМТ.

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

**Наукова новизна одержаних результатів.** Показано, що розвиток окисно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів після моделювання черепно-мозкової травми пов'язаний з активністю транскрипційних чинників NF-κB та AP-1. Вперше виявлено, що застосування інгібіторів цих факторів (піролідиндитіокарбамату амонію, SR 11302) істотно зменшує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу посттравматичного періоду генерацію супероксидного аніон-радикала та активність індукбельної ізоформи синтази оксиду азоту при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази, покращує

спряженність конститутивного ізоферменту NO-синтази, обмежує концентрацію пероксинітриту, що супроводжується ослабленням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу.

Дістало подальший розвиток уявлення, що транскрипційні фактори NF- $\kappa$ B та AP-1 є важливими чинниками патогенезу неврологічного дефіциту після відтворення черепно-мозкової травми. Вперше показано, що введення піролідиндитіокарбамату амонію та SR 11302 вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби, суттєво зменшує інтегральний показник неврологічного дефіциту, покращує поведінкові реакції тварин.

Вперше виявлено, що застосування індукторів транскрипційного чинника NRF2 (диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату) суттєво зменшує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу посттравматичного періоду генерацію супероксидного аніон-радикала та активність індукцибельної ізоформи NO-синтази при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази, що супроводжується пригніченням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу. Вперше показано, що введення диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання черепно-мозкової травми, суттєво обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду ознаки неврологічного дефіциту.

Дістало подальший розвиток уявлення, що призначення кверцетину істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після відтворення черепно-мозкової травми ознаки окисно-нітрозативного стресу, підвищує виживаність щурів у динаміці

періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання ЧМТ, істотно обмежує ознаки неврологічного дефіциту.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати дослідження доводять, що оцінка показників окисно-нітрозативного стресу в тканині великих півкуль головного мозку лабораторних тварин може використовуватися в експериментальній медицині як чутливий метод оцінки тяжкості травматичної хвороби після нанесення ЧМТ.

Робота є експериментальним підтвердженням доцільності подальшого дослідження інгібіторів транскрипційних чинників NF- $\kappa$ B та AP-1, а також індукторів системи NRF2 / ARE як перспективних засобів патогенетичної терапії наслідків ЧМТ у людей.

Автором запропоновано «Спосіб експериментальної терапії окисно-нітрозативного стресу» (пат. 131230).

Результати роботи впроваджено у навчальний процес на кафедрі патофізіології Української медичної стоматологічної академії, кафедрі нормальної та патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету, на кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету, на кафедрі клінічної патологічної фізіології, топографічної анатомії та оперативної хірургії Харківської медичної академії післядипломної освіти (цикл «Загальна патофізіологія в клінічній медицині (для лікарів усіх спеціальностей, наукових співробітників та викладачів)»).

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем разом із науковим керівником розроблено програму, визначено мету та завдання дослідження, методичні підходи до його проведення. Дисертантом особисто здійснено опрацювання наукової літератури з досліджуваної проблеми, оволодіння необхідними методами досліджень, виконання експериментальних робіт, функціональних і нейротологічних тестів,

здійснення статистичної обробки отриманих результатів. Частину дослідів проведено разом із співавторами (аспірантками С.М. Назаренко, О.В. Таран, канд. мед. наук А.А. Левковим), які досліджували інші органи. Здобувачем особисто або у співавторстві підготовлено до друку наукові праці, у яких викладені основні положення дисертації, самостійно сформульовано основні положення та висновки.

**Апробація результатів дослідження.** Основні наукові положення і результати дисертації доповідалися та обговорювалися на X науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів» (Тернопіль, 5–6 жовтня 2017 р.), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Багаторівнева профілактика та діагностика в онкології», присвяченій 95-річчю з дня заснування Харківської медичної академії післядипломної освіти (Харків, 1-2 лютого 2018 р.), XVII читаннях ім. В.В. Підвисоцького (Одеса, 24–25 травня 2018 р.), VII пленумі Українського наукового товариства патофізіологів та науково-практичній конференції «Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики», присвячені 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н. Зайка (Полтава, 10-12 жовтня 2018 р.), XXII міжнародній медико-біологічній конференції молодих дослідників «Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 20 квітня 2019 р.), XVIII читаннях ім. В.В. Підвисоцького (Одеса, 21–22 травня 2019 р.), науково-практичній конференції з міжнародною участю Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми» (Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р.), II науково-практичній Інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 21 листопада 2019 р.), науково-



практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні аспекти вільнорадикальної патології в експериментальній та клінічній медицині», присвяченій 70-річчю з дня народження професора В.М. Бобирьова (Полтава, 7–8 травня 2020 р.), II науково-практичній конференції молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 15 травня 2020 р.).

**Публікації.** Результати дослідження опубліковано в 16-ти друкованих працях, з яких 4 статті у фахових журналах України, 1 стаття у фаховому журналі, виданому в країні ЄС (Польща), що реферується міжнародною наукометричною базою “Scopus”, 10 тез доповідей у матеріалах конгресів і конференцій, 1 патент України на корисну модель.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація викладена на \_\_\_ сторінках комп’ютерного набору, містить 56 таблиць та 27 рисунків. Складається з анотації, вступу, огляду літератури, характеристики матеріалів і методів дослідження, 4-х розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, який містить 312 джерел – 89 кирилицею та 221 латиницею, додатків.

# РОЗДІЛ 1

## РОЛЬ ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ЧИННИКІВ

### У МЕХАНІЗМАХ УРАЖЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПІСЛЯ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

#### 1.1. Сучасні погляди на механізми пошкодження головного мозку за умов черепно-мозкової травми

Вплив механічної енергії (ударна хвиля, ударний ефект кістково-черепної деформації, гідродинамічний поштовх та ін.) призводить до первинних структурних та функціонально-метаболічних ушкоджень, які ініціюють розвиток травматичної хвороби (ТХ) та запускають цілий каскад вторинних реакцій на молекулярному, клітинному, тканинному, органному і системному рівнях.

ТХ розглядається як складний комплекс патологічних процесів, що мають спільну етіологію, але багато в чому різні субстрати і реакції – в залежності від біомеханіки, тяжкості, характеру пошкоджень, індивідуальної реактивності організму [39, 40, 74]. За умов ЧМТ вона супроводжується розвитком низки клінічних синдромів: нейроендокринної дизрегуляції, ендогенної інтоксикації, запального, імунодефіцитного, автоімунного, функціональних порушень нервової системи [33].

Процес формування патологічної системи у ЦНС залучає не тільки первинно пошкоджені, але і інтактні структури [8]. Отже, можливість виживання після травми у ранньому періоді (протягом 2-х тижнів після травми), а також ступінь подальшого функціонального відновлення визначається не тільки обсягом первинного ушкодження мозку, але і характером вторинних реакцій, що супроводжуються місцевими та загальними гемодинамічними, нейроендокринними, метаболічними та

імунними ураженнями, які виникають у найближчий час після травми, що і визначає патогенез ЧМТ [19, 20, 113].

Характер і тяжкість первинних ушкоджень при ЧМТ в значній мірі визначаються деструктивно-дегенеративними процесами, залежними від особливостей впливу механічної енергії (біомеханіки травми) та виявляються у вигляді травматичних некрозів і дистрофій, що розвиваються в момент патогенного механічного впливу [59]. До первинних ушкоджень належать вогнищеві забої і розтрощення мозку, дифузні аксональні пошкодження, множинні поширені внутрішньомозкові геморагії, контузії і розриви стовбура мозку, ураження черепних нервів [39, 107, 121, 198, 214].

Вторинні механізми ураження мозку поділяються на інтракраніальні (порушення гемо- та ліквородинаміки, внутрішньочерепна гіпертензія, ішемія мозку, стиснення мозку внутрішньочерепними гематомами, активація прозапальних цитокінів, метаболічні розлади, ексайтотоксичність) і екстракраніальні (гіпоксемія і анемія; артеріальна гіпотензія й гіпертензія; гіперкапнія та гіпокапнія; гиперосмолярність і гіпоосмолярність; гіпертермія та ін.). Ці механізми суттєво ускладнюють перебіг ТХ [39, 107, 113, 121, 198, 214, 265, 285].

Ця відстрочена фаза викликається різними клітинними та молекулярними реакціями, потенційно спрямованими на відновлення клітинного гомеостазу пошкодженої тканини, але найчастіше виходить з-під регуляторного контролю та призводить до загострення первинного пошкодження, оксидативного / нітрозативного стресу, глутаматної ексайтотоксичності, гіпоксії, нейрозапалення, прогресуючої нейродегенерації, розладів між- та внутрішньоклітинної сигналізації, некрозу та апоптозу клітин [64, 77, 110, 121, 170, 190].

У відповідь на вторинне пошкодження мозку виникають порушення лікворо- та гемодинаміки, збільшується проникність ГЕБ і,

як наслідок, розвивається набряк головного мозку, що супроводжується підвищенням внутрішньочерепного тиску. Далі відбувається дислокація мозку, яка може призводити до ущемлення стовбура з подальшим погіршенням кровообігу, циркуляції цереброспінальної рідини та посиленням функціональних розладів головного мозку.

Мікроскопічно у вогнищах контузії розрізняють зону повного руйнування, редуковану зону (з частково життєздатними нейронами) та зону молекулярних потрясінь. При несвоєчасній допомозі дві останні зони трансформуються у фокус вторинного травматичного некрозу. Це може статися і за рахунок екстракраніальних причин, наприклад, гіпоксемії, анемії, артеріальної гіпотензії, гіперкапнії, що суттєво погіршує прогноз захворювання [39, 40, 80, 142].

Важливими механізмами вторинного пошкодження головного мозку є деполяризація нейронів із викидом збудливих нейротрансмітерів, таких як глутамат та аспартат. Під час гострої фази після ЧМТ надлишок глутамату порушує іонну рівновагу на постсинаптичних мембранах. Кількість іонів калію, що вивільняється, збільшується зі ступенем тяжкості травми. Введення кінуренової кислоти, антагоніста збуджувальних амінокислот, обмежує збільшення іонів калію залежно від дози. Необхідною умовою нормального функціонування клітин мозку є відновлення іонної рівноваги, для чого потрібна АТР як макроергічна сполука [230].

Деполяризація термінальної мембрани з вивільненням збуджувальних нейротрансмітерів та активацією NMDA,  $\alpha$ -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолпропіонату, а також залежних від напруги кальцієвими каналами активує мітохондріальне захоплення іонів  $\text{Ca}^{2+}$ . Це викликає окисний стрес і погіршує функцію мітохондрій [191, 223]. Накопичення іонів  $\text{Ca}^{2+}$  супроводжується розвитком когнітивного дефіциту протягом 30 днів після травми [128].

Іони кальцію стимулюють низку механізмів розвитку апоптозу через активацію каспаз та утворення вільних радикалів [146].  $\text{Ca}^{2+}$ -залежні ушкодження нервової тканини посилюють порушення ГЕБ з подальшим розвитком набряку головного мозку [168].

Після нанесення ЧМТ у дорослих щурів вже через 30 хвилин виявляється раннє минуше підвищення рівня глюкози у головному мозку (CMR<sub>glc</sub> – cerebral metabolic rate of glucose), обумовлене збільшеними біоенергетичними потребами для відновлення іонного балансу та мембранного потенціалу нейронів [230]. У людей такий період «гіпергліколізу» спостерігається протягом перших 8 діб після тяжкої ЧМТ.

Далі слідує період зниження мозкового рівня глюкози, що підтверджується як експериментально [119, 241, 274], так і клінічно [116, 135, 193, 256, 286]. Показано, що метаболічна депресія глюкози має вікові відмінності, зберігається у дорослих щурів протягом 5, 10 або 14 діб після легкої, середньої або тяжкої ЧМТ відповідно, а її величина та тривалість зростають зі ступенем тяжкості травми [111, 230, 231].

Основний механізм зменшення споживання глюкози при ЧМТ все ще залишається невідомим. Для пояснення цього факту дослідники припускають існування таких механізмів: 1) зниження перфузії мозку через порушення мозкового кровотоку; 2) дисфункція транспортера глюкози; 3) зменшення метаболічного попиту на глюкозу.

При цьому раннє збільшення у головному мозку метаболізму глюкози розглядається як компенсаторна реакція на зменшення церебрального кровотоку [150]. Так, в експерименті на білих щурах показники кортикального кровотоку знижуються на 52% вже через 15 хвилин після ЧМТ і залишається на низькому рівні протягом 4 годин [230]. При дослідженні виділених церебральних артерій щурів через 24 години після помірної ЧМТ було показано роль iNOS ендотеліального

походження у механізмі їх вазодилатації; при цьому продукція NO у судинах збільшувалася у 60 разів) [278]. Під час цієї фази церебральна гемодинаміка не відповідає метаболічним потребам тканини головного мозку, ця невідповідність або «роз'єднання» може ініціювати біоенергетичну недостатність та каскад подій вторинного пошкодження.

Інша причина зменшення споживання глюкози після ЧМТ може бути пов'язана з порушенням транспорту глюкози через кровеносні судини та клітини головного мозку. В експерименті на дорослих щурах у нейронах виявлено зниження імунореактивності транспортера глюкози GLUT1 через 2–4 години після травми [97]. Проте клінічні дослідження свідчать про неоднорідність експресії цього нейронного транспортера за умов ЧМТ, оскільки виявляються ділянки як зі зниженою, так і з підвищеною експресією [124].

N. Hattori et al. [156] досліджували кінетичні зміни  $^{18}\text{F}$ -2-флуор-2-дезоксид-глюкози методом позитронної емісійної томографії після помірної та тяжкої ЧМТ у людини. Автори визначали зниження щільності транспортера глюкози та загальної гексокіназної активності. При цьому доведено, що порушення транспорту глюкози можуть виникати локально в місцях контузії. Дослідники виявили значні відмінності у метаболізмі глюкози в таламусі, стовбурі мозку та мозочку у пацієнтів після ЧМТ у стані коми та без її розвитку. Швидкість метаболізму глюкози в цих ділянках, за даними авторів, суттєво корелює з рівнем свідомості на момент проведення томографії.

У сукупності дослідження показують, що ЧМТ значно впливає на транспортування глюкози через ГЕБ у головному мозку як у тварин, так і у людини.

Нарешті, зниження рівня глюкози в головному мозку може відображати внутрішньоклітинні порушення обміну глюкози.

V.L. Bartnik et al. [99] виявили, що після ЧМТ у щурів на 9-12% підвищується залучення  $^{13}\text{C}$ -міченої глюкози у пентозофосфатний шлях (найбільше збільшення відбувається через 24 години). Крім того,  $^{13}\text{C}$  було включено до глутамату та глутаміну, пов'язаних з функціональною активністю циклу Кребса, що, на думку авторів, вказує на те, що окиснювальне фосфорилування глюкози зберігається у пошкоджених кортикальних структурах упродовж 3.5 та 24 годин після помірної та тяжкої ЧМТ.

G. Xing et al. [290] показали, що контрольоване кортикальне ушкодження, спричинене ЧМТ, змінює у головному мозку щурів експресію та фосфорилування субодиниці 1 піруватдегідрогенази (PDHE1- $\alpha$ 1).

Примітно, що порушення активності піруватдегідрогенази та гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази пов'язують з розвитком оксидативного або нітрозативного стресу після ЧМТ [180, 216, 236, 289]. Вивільненням цинку і утворення АФК / АФА після ЧМТ викликає пригнічення гексокінази [94] та збільшує полі (ADP-рибозо) полімеразну активність, що призводить до зниження  $\text{NAD}^+$  [123, 159]. Оскільки останній є ко-фактором для гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази та лактатдегідрогенази, то гліколіз і перетворення лактату в піруват, важливе для використання в циклі Кребса, можуть пригнічуватися після ЧМТ.

N. Mogo et al. [207] та K. Shijo et al. [260] в експериментах на щурах виявили, що піруват натрію, етилпіруват та глюкоза, призначені після відтворення ЧМТ, знижують загибель нейронів та покращують метаболізм у головному мозку.

Таким чином, індуковані ЧМТ зміни в функціонуванні ферментів гліколізу в кінцевому рахунку зменшують здатність глюкози ефективно

перероблятися для окисного обміну, і тим самим сприяють розвитку біоенергетичної недостатності через порушення синтезу АТР.

Чимало авторів підтверджують той факт, що важливими чинниками патогенезу метаболічних порушень при ЧМТ є надмірне утворення АФК / АФА [62, 63, 117, 125, 152, 183, 195, 230].

Деякі дослідження присвячені з'ясуванню динаміки продукції кисневих метаболітів після ЧМТ. Так, у експерименті на мишах показано, що вироблення гідроксильних радикалів ( $\bullet\text{OH}$ ) збільшується на 60% протягом першої хвилини після травмування, досягає піку через 30 хвилин, потім зменшується [230]. Рівень продукції АФК / АФА залежить від тяжкості ЧМТ. При її тяжкому перебігу концентрація  $\bullet\text{OH}$  досягає максимального значення через 30 хв після травмування та залишається значно підвищеним упродовж 90 хв. [195].

Продемонстровано збільшення активності NOS та супутнє підвищення рівня NO в мозку, що сприяє ЧМТ-асоційованій глутаматній цитотоксичності та мітохондріальної дисфункції [62, 117, 125, 152, 183]. ЧМТ також пов'язана з підвищеним рівнем NO у периферичних органах, що свідчить про те, що ЧМТ може викликати системні зміни регуляції NO [22, 183].

Вивільнення після ЧМТ прозапальних медіаторів не тільки позитивно регулює рівень iNOS, але і сприяє експресії cNOS [215]. Так, активація nNOS має негативну дію: сприяє ексайтотоксичності та утворенню АФА, зокрема, пероксинітриду ( $\text{ONOO}^-$ ), що спричиняє загибель нейронів. NO, що продукується nNOS, також бере участь у синаптичній пластичності та нейрональній сигналізації після ЧМТ [117].

Нещодавно показано, що перша відповідь iNOS починається через 4-6 год після ЧМТ, а пікові значення – через 8-23 год після травмування [117, 145, 276]. Експресія iNOS може бути пов'язана зі збільшеною кількістю нейтрофілів та мікроглії під час цієї відповіді [100].



Друга відповідь iNOS починається через 72 години після ЧМТ та пов'язана з імунореактивністю мікроглії та макрофагів [217]. Максимальна активність iNOS спостерігається через 7 діб після ЧМТ [117, 169]. Роль iNOS залишається суперечливою, але багато досліджень припускають, що NO, який генерується iNOS, може вступати в реакцію із супероксидним аніон-радикалом з утворенням більш шкідливих АФА, наслідком чого є загибель нейронів та погіршення неврологічних результатів [69, 70, 103]. Однак є відомості, що за певних умов NO такого ж походження може послаблювати вільнорадикальні реакції, запобігаючи пошкодженню мітохондрій АФК та зменшуючи окисно-відновлювальну активність [137].

Надлишкова продукція АФК / АФА через ексайтотоксичність та виснаження антиоксидантної системи, зокрема ферментів (СОД, каталази, глутатіонпероксидази) індукує ПОЛ, окисну модифікацію білків, ушкодження ДНК, пригнічення мітохондріального ЕТЛ [4, 200, 263, 275]. Так, збільшення маркерів ПОЛ спостерігається через 1-2 години після відтворення ЧМТ [263, 275]. Продукти окиснення білків або нітрування значно підвищуються через 30 хвилин після ЧМТ у дорослих мишей і повертаються до вихідного рівня протягом 12 годин [263]. На експериментальних тваринах показано, що величина та тривалість окисного ураження білків мала зворотний зв'язок зі ступенем тяжкості ЧМТ [226]. Відтворення легкої ЧМТ призводило до потрійного збільшення ТБК-реактантів та розвитку карбонільного стресу в корі великих півкуль, гіпокампі, смугастому тілі та мозочку відразу після травмування, з максимумом через 3 години та загальним часом підвищення впродовж 12 годин.

Також було продемонстровано, що пошкодження ДНК вільними радикалами може статися внаслідок активації деяких ферментів відновлення ДНК. Так, показано, що патологічна активація полі (ADP-

рибозо) полімерази зменшує у нейронах цитозольний пул  $\text{NAD}^+$ , пригнічує гліколіз та зменшує продукцію АТФ [93]. Виявлено підвищення активності підтипу полі (ADP-рибозо) полімерази PARP1 через 8 годин після ЧМТ [254]. Пригнічення активності цього ферменту зменшило розмір ураження через 24 години після ЧМТ, але суттєво не змінювало кількість апоптотичних клітин [184]. Часткове пригнічення PARP1 після ЧМТ зберігало клітинну концентрацію  $\text{NAD}^+$  та покращувало функціональні показники ЦНС [254].

У літературі обговорюються механізми розвитку біоенергетичної недостатності за умов ЧМТ та їх зв'язок з генерацією АФК / АФА. В експерименті на дорослих мишах виявлено роз'єднання мітохондріального окиснення та фосфорилування ADP через 30 хвилин після травмування з відновленням через 1 годину [263]. Спостерігалися структурні зміни кортикальних мітохондрій (набряклість, дезорганізація крист, розриви мембран), що свідчать про порушення мітохондріальної проникності. Через 3 години після травми виявлялися  $\text{Ca}^{2+}$ -залежне збільшення окисної трансформації білків мітохондрій та розвиток ПОЛ. Автори повідомляють про підвищення утворення АФА та вважають посттравматичні окисні зміни ліпідів та білків пероксинітрит-опосередкованими. Примітно, що скевенджери АФА, на думку дослідників, можуть бути особливо ефективним для лікування ЧМТ, хоча терапевтичне вікно для цього нейропротекторного впливу може бути лише протягом 3 годин.

У іншій роботі показано, що ЧМТ викликає значне зниження окисного фосфорилування через 1 годину після травми, причому цей стан зберігається протягом 14 діб. В іпсилатеральній корі спостерігали найбільше мітохондріальне накопичення іонів  $\text{Ca}^{2+}$  та найнижчу продукцію АТФ. Наслідком мітохондріальних порушень є активація

апоптотичного і некротичного шляхів загибелі нервових клітин [242, 287].

Провідним патологічним процесом, який при порушенні регуляторних механізмів може стати рушійною силою прогресування ТХ за умов ЧМТ, є запалення [3, 121]. Часто для цього своєрідного запального процесу, до перебігу якого залучені медіатори запалення та нейромедіатори, у науковій літературі використовується назва «нейрозапалення». Розвиток останнього розглядається як складний процес кумулятивних змін, що відбуваються в тканині мозку.

Дослідження останніх років дозволяють вважати гліальні клітини важливим компонентом хронічного дегенеративного процесу при ЧМТ [76, 149, 208, 247]. Після травматичного ушкодження головного мозку спокійні гліальні клітини декількох типів швидко активуються у процесі «реактивного гліозу». При цьому активована мікроглія ініціює та підтримує астроцитарну реакцію через активацію iNOS, генерацію та вивільнення прозапальних цитокінів (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  та ін.), які, у свою чергу, діють на навколишні гліоцити та нейрони. Посттравматичне церебральне запалення характеризується активацією глії, рекрутуванням лейкоцитів (нейтрофілів, макрофагів та лімфоцитів) і позитивною регуляцією вироблення та секреції запальних медіаторів, у тому числі цитокінів та хемокінів [121, 206, 266]. З іншого боку, останні можуть опосередковано індукувати нейропротекторні сигнальні шляхи. Після травми нерву Т-клітини можуть позитивно впливати на нейрони ЦНС. Автори наголошують, що протилежні нейротоксичні та нейропротекторні властивості нейрозапалення під час ураження ЦНС все ще потребують додаткових цілеспрямованих досліджень [266].

Реактивний гліоз викликає морфологічні та функціональні зміни в клітинах, що впливають на нервово-гліальну та гліально-гліальну взаємодію. Наслідком цього може бути дисфункція синаптичних

зв'язків, дисбаланс нейромедіаторів, аксональна дегенерація та загибель нейронів [60, 98]. Окрім того, астроцити відповідають за інкапсуляцію пошкоджених ділянок після травми, тим самим частково відокремлюючи *locus morbi* від здорової тканини мозку [144, 212].

Показана участь різноманітних цитокінів у механізмах ініціації та модуляції реактивного астрогліозу [121]. До їхнього числа належать IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TGF-1 $\beta$ , для яких астроцити експресують рецептори. При цьому IL-1 $\beta$  і TNF- $\alpha$  сприяють нейротоксичності, тоді як TGF- $\beta$ 1 вважається нейропротекторним.

Примітно, що мікрогліальні клітини відразу після ЧМТ здатні проявляти прозапальний фенотип M1, або протизапальний фенотип M2, який може бути індукований IL-4, інсуліноподібним фактором росту-1, IL-10 [154, 267] та інкретином GLP-1 [174]. Реакція M2 супроводжується продукцією мікрогліальними клітинами факторів росту, що підвищують ріст та виживання нейронів, зокрема, NGF, BDNF, NT-3 [221].

Здатність мікроглії змінювати фенотип як наслідок відповідних посилів мікросередовища пояснює неоднорідність її функціонального стану [121, 154]. Певні чинники (вік, місфолдинг білків) підвищують індукцію прозапальних цитокінів, зокрема TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$ , і погіршують нормальний залежний від часу перехід мікрогліоцитів у репаративну фазу M2, що призводить до ушкодження нейронів та їх загибелі [121, 151].

У літературі обговорюються закономірності розвитку автоімунного процесу за умов ЧМТ. Ознаки цього виявляються одразу після травмування та характеризуються накопиченням маркерів пошкодження нервової тканини, зокрема, білків S100B, NSE і GAPF, а згодом спостерігається активація утворення автоімунних антифосфоліпідних антитіл [34, 35]. На думку авторів, одночасне зростання вмісту нейроспецифічних білків і прозапальних цитокінів

становить підґрунтя формування порочного кола, яке активує запальні та автоімунні реакції.

Молекулярні та клітинні механізми дизрегуляції при розвитку ТХ після ЧМТ, за даними літератури, сприяють розвитку та прогресуванню дисфункції інших органів (печінки, міокарда, легень, нирок, пародонта та ін.) [6, 7, 22, 58, 65, 72-73, 79]. Це відбувається за рахунок механізмів системної запальної відповіді та ендогенної інтоксикації, що може спричинити розвиток поліорганної недостатності [28, 29, 78, 115, 165, 178].

Показано, що збільшення внутрішньочерепного тиску після тяжкої ЧМТ може супроводжуватися розвитком синдрому системної запальної відповіді (SIRS) [189]. Ризик виникнення останнього підвищується при ушкодженні головного мозку за умов політравми [232].

SIRS часто спостерігається після різних типів гострого ураження головного мозку і пов'язаний з клінічним погіршенням ТХ. Виявлено зв'язок між показниками SIRS та тривалістю госпіталізації та смертністю пацієнтів з ЧМТ. За даними 5-річного ретроспективного когортного дослідження дорослих ( $\geq 18$  років) з ізольованою ЧМТ наявність SIRS суттєво асоціювалася з негативним результатом ( $p < 0.001$ ). Відносний ризик цього був у 2.7 раза більшим у пацієнтів з оцінкою SIRS 2 при надходженні ( $p = 0.007$ ) та значно збільшувався до 6.5 разів у пацієнтів з оцінкою SIRS 3 ( $p = 0.002$ ) [165].

У 2019 році С.В. Зябліцев і В.Н. Ельський [28], підсумовуючи результати численних експериментальних досліджень Донецької школи патофізіологів [21, 27, 29-32, 36, 37, 311, 312], запропонували концепцію стадійності та провідних механізмів розвитку ендогенної інтоксикації при ЧМТ. Автори виділили 4 стадії розвитку цього синдрому за умов травматичного ушкодження головного мозку:

1) реактивно-метаболична стадія – характеризується гіперергічною реакцією нейроендокринних систем з катаболічною дією; гіперглікемією, гіперінсулінізмом та інсулінорезистентністю; гіперметаболізмом;

2) запально-токсична стадія – виявляє виражену гіперферментемію (внаслідок ушкодження плазматичних мембран клітин і мембран лізосом); накопичення в крові молекул середньої маси і продуктів ПОЛ; гіперцитокінемію (підвищення концентрації IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ );

3) стадія системної ендогенної інтоксикації – характеризується значною лактатемією (внаслідок системної гіпоксії), суттєвим вторинним приростом молекул середньої маси та прозапальних цитокінів, активацією MMP-9 і TIMP-1, збільшенням вмісту маркерів пошкодження нервової тканини – кальцій-зв'язувального білка S100B та нейроноспецифічної енолази (NSE);

4) стадія розвитку поліорганної недостатності – супроводжується накопиченням у крові сечовини і креатиніну, ушкодженням еритроцитів, тканини міокарда; різким приростом NSE; появою в крові великих кількостей антифосфоліпідних антитіл, що вказує на приєднання автоімунних порушень.

Численні механізми, що забезпечують вторинне ураження головного мозку при ЧМТ (розвиток окисного / нітрозативного стресу, глутаматної ексайтотоксичності, нейрозапалення, прогресуючої нейродегенерації, некрозу та апоптозу клітин) можуть бути пов'язані з дизрегуляцією систем розладів між- та внутрішньоклітинної сигналізації.

Так, дослідження D.R. Rojo et al. [245] та D.K. Boone et al. [109] показали, що тривала нейродегенерація може бути пов'язана з індукованими травмою епігеномними змінами ключових генів-регуляторів основних клітинних сигнальних систем. У різних ділянках

головного мозку (корі, гіпокампі) було виявлено виражену дизрегуляцію декількох шляхів, що забезпечують виживання клітин, нейропластичність та протеостаз [166].

У іншому дослідженні D.R. Voone et al. [110] виявили, що за умов ЧМТ спостерігаються тривалі скоординовані зміни в експресії генів, що належать до канонічних шляхів, пов'язаних з вродженою імунною відповіддю (NF-κB-сигналізацією, NFAT, системою комплементу, гострофазовою реакцією, TLR-сигналізацією, сигнальними нейрозапальними шляхами). Проведений біоінформаційний аналіз дає підстави вважати, що порушення регуляції цих чинників змінює функціонування численних клітинних сигнальних шляхів, необхідних для гомеостатичної функції мозку, виживання його клітин та нейропластичності.

Таким чином, сучасні літературні джерела обґрунтовують думку, що вторинна альтерація, що виникає після первинного травматичного ураження головного мозку, супроводжується комплексом патологічних процесів (розвитком нейрозапалення, ендотоксикозу та системної запальної відповіді, оксидативного та нітративного стресу, ексайтотоксичності, некрозу та апоптозу клітин та ін.), інтенсивність яких може бути пов'язана зі станом систем між- та внутрішньоклітинної сигналізації. У функціонуванні останніх велика роль відводиться редоксчутливим транскрипційним чинникам, роль яких у патогенезі травматичної хвороби та патології ЦНС розглядається у наступному пункті.

## **1.2. Роль редоксчутливих факторів транскрипції у механізмах травматичних, гемодинамічних та нейродегенеративних ушкоджень головного мозку**

Клітини практично всіх тканин тварин організмів здатні продукувати АФК / АФА і використовувати їх в регуляції найважливіших клітинних процесів від диференціювання до загибелі. Примітно, що такі АФК / АФА, як супероксидний аніон-радикал, пероксид водню та монооксид азоту, з одного боку, беруть участь у регуляції нормальних функцій ЦНС, зокрема синаптичної передачі, а з іншого боку, вони можуть бути залучені в розвиток нейропатології [56]. Порушення внутрішньоклітинного редокс-балансу вважається важливим механізмом ушкодження нейронів при травматичних, судинних та нейродегенеративних захворюваннях головного мозку, а також перспективним напрямком пошуку нових засобів їх патогенетичної терапії.

Нині ідентифіковано понад 500 генів ссавців, активність яких регулюється внутрішньоклітинним редокс-станом. Промоторна ділянка більшості таких генів містить послідовність нуклеотидів, що позначається як респонсивний елемент: EpRE (Electrophile Response Element), TRE (12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate Responsive Element), CRE (cAMP Responsive Element), ARE (Antioxidant Response Element) та ін. [55, 250]. Через внутрішньоклітинний редокс-стан регулюються такі транскрипційні чинники як NF-κB, AP-1, AP-2, Nrf-2, CREB, HIF-1, Oct2, STAT-3, p53, c-Myc та ін. [55, 133]. Найбільш вивченим редокс-залежним фактором транскрипції є NF-κB.

*1.2.1. NF-κB (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)* – ядерний фактор «каппа-бі», це універсальний фактор транскрипції, який контролює експресію генів імунної відповіді, апоптозу та клітинного циклу. До сімейства NF-κB належить 5 видів білків: NF-κB1 (p50), NF-κB2 (p52), RelA (p65), RelB і c-Rel, які утворюють 15 комбінацій димерів. У всіх білків сімейства є загальний домен гомології Rel, необхідний для утворення білкових димерів,



зв'язування NF-κB з IκB, а після транслокації в ядро – з ДНК. Активна форма NF-κB проявляється тільки у формі димеру. Найбільш поширеною формою є димер субодиниць p50 або p52 з субодиницею p65 [202].

У цитоплазмі субодиниці NF-κB знаходяться в неактивному стані в комплексі з інгібіторними білками сімейства IκB. Вирішальним етапом активації NF-κB є фосфорилування білків під дією кінази IκB (IKK), що призводить до їх протеасомальної деградації. Цей процес викликає ядерну транслокацію та транскрипційну регуляцію генів-мішеней.

У ЦНС активація NF-κB обумовлена різними стимулами, що включають молекулярні патерни, асоційовані з ушкодженням (DAMPs, Damage-Associated Molecular Patterns), та патоген-асоційовані молекулярні патерни (PAMPs, Pathogen-Associated Molecular Patterns), синаптична активність, нейромедіатори, нейротрофічні чинники та нейротоксини, В- і Т-клітинні мітогени, цитокіни (наприклад TNF і IL-1), молекули клітинної адгезії, фактори окисно-нітрозативного стресу (АФК / АФА, ультрафіолет), промотори пухлин [157, 194, 259].

NF-κB активується 2-ма різними кіназозалежними шляхами, класичним, або канонічним) та альтернативним (неканонічним). Найбільш широко вивченим є канонічний шлях, який опосередковуються через активацію різних клітинних рецепторів, включаючи рецептор IL-1, толл-подібні рецептори (TLR), рецептори TNF-α, у відповідь на наведені вище стимули. Канонічний шлях NF-κB має важливе значення як для гострих, так і для хронічних запальних реакцій. Більше того, цей шлях стосується проліферації та виживання клітин, що підтверджує конститутивно активна NF-κB сигналізація у багатьох клітинах, включаючи нейрони та гліюцити [102, 171]. Тригером неканонічного шляху є активація представників надсімейства TNF-рецепторів, включаючи фактор активації В-клітин, CD40, лімфотоксин β, рецептор-

активатор NF-κB (RANK) [269]. Проте ці рецептори одночасно запускають не тільки неканонічний шлях, але й канонічний шлях активації NF-κB.

NF-κB регулює експресію майже 500 різних генів, включаючи ферменти (циклооксигеназу-2, 5-ліпоксигеназу, iNOS), цитокіни (IL-1, IL-6, IL-8, хемокіни, TNF-α), молекули адгезії, регуляторні молекули клітинного циклу та ангіогенні фактори [259].

Результат активації NF-κB у значній мірі пов'язаний з участю тих чи інших його компонентів – білків, що утворюють відповідні димери. Так, незбалансована активація димеру p50 / RelA над комплексами, що містять c-Rel, сприяє смерті клітин, що є вторинною для ішемічного ураження головного мозку У той же час димер p50 / RelA діє як індуктор транскрипції проапоптотичних генів Bim та Noxa сімейства Bcl-2 [253].

У ЦНС NF-κB є ключовим учасником низки фізіологічних і патологічних процесів. Повідомляється про участь цього транскрипційного чинника у механізмах нейрогенезу, синаптичної пластичності, когнітивної активності та пам'яті [91, 182, 197, 199, 273]. За даними дослідників, активація NF-κB може захищати нейрони від різних патогенних впливів, таких як ексайтотоксичність та окисний стрес [259].

Показана протективна дія гіперекспресії p65 на апоптотичні нейрони кори головного мозку, тоді як суперрепресор IκB або домінантно негативна NF-κB-індукуюча кіназа (NIK) викликали додаткове пошкодження [105].

У той же час повідомляється про численні негативні наслідки активації NF-κB у ЦНС. Виявлено, що активація NF-κB має зв'язок з широким спектром неврологічних захворювань людини, включаючи інсульт, розсіяний склероз, хвороби Альцгеймера та Паркінсона, автоімунний енцефаломієліт, епілепсію [196, 197, 199, 222, 228, 293, 299,

310]. За умов хронічної гіпомелатоніемії саме з активацією цього транскрипційного чинника пов'язані порушення окисного метаболізму в тканині головного мозку. Застосування інгібітора ядерної транслокації NF-κB знижує ознаки окисно-нітрозативного стресу та біоенергетичної недостатності у тканині великих півкуль головного мозку [67].

Декілька праць підтверджують збільшення активації NF-κB головному мозку після ЧМТ в експерименті та клініці: у щурів після контрольованого кортикального удару та перкусійної травми головного мозку [213, 292, 284], а також на біоптатах мозкової тканини пацієнтів з ЧМТ [153]. У останньому імуногістохімічному дослідженні показано, що висока активність NF-κB (за субодинамиціями p65 і p50) виявляється в ділянці ушкодження головного мозку з моменту травмування впродовж усього передопераційного періоду. Максимальна експресія цього чинника спостерігається через 48 год після ЧМТ. Експресія p65 головним чином виявлялася в гліальних і судинних ендотеліальних клітинах без ознак експресії в нейронах. Експресія p50 була характерною для гліальних клітин і, в меншій мірі, нейронів і не спостерігалася в ендотеліюцитах. Протягом перших 24 годин після ЧМТ в ядрі клітин спостерігається переважно імунореактивність за субодинамиціями p65 та p50. Через 24 години після травмування було виявлено маркування за субодинамицею p65 як в ядрі, так і в цитоплазмі гліальних та ендотеліальних клітин.

Показано, що при кортикальному пошкодженні після ЧМТ активація NF-κB характерна головним чином для дегенеративних нейронів та астроцитів мозолистого тіла [252]. Було виявлено, що субодинамиця p50 надмірно експресується в нейронах після травмування гіпокампу [224].

Нанесення ЧМТ трансгенним мишам (із специфічним для мозку дефектом IκBα) збільшує обсяг ушкодження головного мозку та дисфункції ГЕБ [186].

У той же час повідомляється, що наслідки ЧМТ (вторинне пошкодження, або нейропротекція) можуть залежати від особливостей функціонального стану компонентів шляхів, що забезпечують NF-κB-сигналізацію. Так, M. Mettang et al. [201] в експерименті на мишах досліджували специфічну для нейрона функцію сигнального шляху IKK2 / NF-κB за умов відтворення ЧМТ. Автори виявили, що пригнічення сигналів IKK2 / NF-κB у нейронах спричиняє посилену експресію прозапальних генів, погіршує неврологічний дефіцит, сприяє апоптотичній загибелі нейронів, збільшує швидкість гострої посттравматичної смертності. Такі зміни також спостерігалися, коли активність нейрональних IKK / NF-κB пригнічувалася безпосередньо перед нанесенням ЧМТ. Навпаки, специфічна для нейрона активація сигналів IKK / NF-κB не погіршувала наслідки ЧМТ.

Таким чином, проаналізовані результати досліджень свідчать, що активація транскрипційного чинника NF-κB у ЦНС може виявляти як патогенні, так і нейропротективні властивості. Це може залежати від типу клітин, де вона відбувається, характеру травми тощо. У літературних джерелах підкреслюється важкопрогнозований характер наслідків активації NF-κB-залежної сигналізації, що потребує проведення додаткових досліджень.

*1.2.2. AP-1 (Activator Protein-1)* – редоксчутливий транскрипційний фактор, що складається з гомо- та гетеродимерів, які утворюються білками «лейцинової застібки» (“leucine zipper”) сімейств Jun, Fos, ATF та MAF [173, 297]. AP-1 регулює низку життєво важливих процесів: проліферацію та диференціювання клітин, апоптоз, репарацію ДНК, клітинну адгезію, внутрішньоклітинну сигналізацію, імунну відповідь, запалення, зокрема, експресію прозапальних цитокінів (IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-8, TNF-α, інтерферону-γ, GM-CSF та ін.) та ферментів (iNOS, MMP, зокрема, MMP-9 та MMP-13) [1, 122, 204, 240, 248, 249].

Активність AP-1 індукується численними чинниками, зокрема, факторами росту, нейротрансмітерами, прозапальними цитокінами, білками теплового шоку, онкобілками, RAMPs, ультрафіолетовим та іонізуючим опроміненням, ксенобіотиками [1, 112, 148, 220].

Під дією прозапальних цитокінів (наприклад, IL-1 $\beta$ ) регуляція AP-1 (на етапі транскрипції генів Jun і Fos) забезпечується каскадом MAPK та через посттрансляційну модифікацію [225]. Виявлено здатність агоністів NMDA-рецепторів впливати на активність AP-1 у ЦНС через функціонування підгрупи MAPK, відомої як p38 [140]. Стимуляція AP-1 частково опосередковується фосфорилуванням c-Jun за участю Jun N-кінцевих кіназ (JNK), які також належать до сімейства MAPK [129, 255]. Примітно, що активація p38 MAPK і JNK сприяє у ЦНС вивільненню NF- $\kappa$ B з інгібуючого комплексу, внаслідок чого цей чинник транслокується в ядро та викликає експресію генів NOS, цитокінів та інших регуляторних чинників запалення [164, 304]. Також p38 MAPK регулює транскрипційну активність NF- $\kappa$ B в первинних астроцитах людини за допомогою ацетилювання його компоненту - p65 [246].

Саме регуляція c-Jun є особливо поширеною подією у морфогенезі ЦНС та, на думку дослідників, може бути моделлю транскрипційного контролю роботи головного мозку [234]. Експресія c-Jun та c-Fos спостерігається впродовж усього нейрогенезу у головному мозку ссавців, проте вона значно збільшується у відповідь на пошкодження нейронів [160, 229]. Однак повідомляється, що різні комбінації Fos і Jun димерів можуть неоднозначно впливати на експресію генів-мішеней, стимулюючи або пригнічуючи їх [161].

Виявлено активацію AP-1 після ішемії / реперфузії головного мозку [134, 130, 298, 261], або після активації NMDA-рецепторів [140]. Цікаво, що окиснювачі виявляють подвійний вплив активацію цього транскрипційного чинника у ЦНС [234, 298].

R.L. Hayes et al. [158] у досліджах на гризунах показали, що ЧМТ (контрольоване коркове ушкодження) спричиняє тимчасове збільшення експресії мРНК *c-fos*, яке починається вже через 5 хв і стихає через 1 день після ушкодження кори головного мозку. Крім того, активність AP-1 значно збільшується в корі головного мозку через 1, 3 та 5 год після травмування. Зв'язування AP-1 з енансерною ділянкою ДНК залишається підвищеним принаймні протягом 1 доби після відтворення ЧМТ. Додаткові дослідження підтвердили збільшення експресії мРНК *c-fos* у гіпокампі через 30 хв, 1 год та 3 год після кортикального ушкодження. Цікаво, що збільшення мРНК *c-fos* у гіпокампі передували підвищенню експресії мРНК NGF. Після відтворення іншої моделі ЧМТ (рідинно-перкусійної) збільшення мРНК *c-fos* виявлялося у корі головного мозку та гіпокампі через 2 год після травмування. Через добу після ЧМТ експресія гена *c-fos* поверталася до рівня контролю.

Повідомляється про важливість індукції AP-1 для регенерації нервової тканини. Виявлено, що після трансекції лицевого нерву відсутність *c-Jun* у трансгенних мишей спричиняла серйозні дефекти аксональної відповіді, включаючи перинейрональний ріст, рекрутування лімфоцитів та активацію мікрогліальних клітин. За умов дефіциту *c-Jun* спостерігалася атрофія мотонейронів, порушення експресії молекул, що беруть участь у регенерації (CD44, галаніну та  $\alpha7\beta1$  інтегрину) [235]. Автори зробили висновок, що *c-Jun* є важливим регулятором аксональної регенерації у травмованій ЦНС.

Літературні джерела підкреслюють важливу роль AP-1 у розвитку неврологічних захворювань людини (розсіяного склерозу, хвороб Альцгеймера та Паркінсона), психічних розладів [108, 141, 147, 297].

Лише поодинокі роботи висвітлюють роль AP-1 у патогенезі ТХ після ЧМТ.

S.M. Beni et al. [101] у досліджах на мишах виявили, що ослаблення активації AP-1 за умов мозкової травми пов'язане з більш сприятливим результатом лікування її наслідків. На думку авторів, через потенціювання антиоксидантів мозку та ослаблення активації NF-κB та AP-1 реалізується нейропротективна дія мелатоніну,

X.H. Wang et al. [280] показали, що гіперекспресія компоненту AP-1 JDP2 (Jun dimerization protein 2) сприяє розвитку запалення, апоптозу та активації каспази-3. Нокаут гена JDP2 ефективно послаблює ТХ за умов ЧМТ, блокуючи, зокрема, активацію каспази-3.

Цікаво, що нейропротекторний вплив деяких інгібіторів NF-κB (наприклад, метформіну) за умов ЧМТ може бути пов'язаним не тільки з дією на NF-κB, але і на MAPK-асоційований сигнальний шлях [272].

Таким чином, дані літератури свідчать, що патофізіологічна роль AP-1 все ще залишається недостатньо визначеною, оксиданти виявляють неоднозначну дію на активацію цього транскрипційного чинника, проте є нечисленні праці, що підкреслюють його роль у патогенезі ЧМТ та розглядають компоненти AP-1-сигналізації як перспективну терапевтичну мішень.

1.2.3. *Nrf2 (Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2)* – редоксчутливий транскрипційний фактор, що належить до підсмейства Cap 'n' Collar (CNC) і складається з 7 функціональних доменів – від Neh 1 до Neh7 [90, 210]. Neh2 містить два важливі мотиви, відомі як DLG та ETGE, які мають важливе значення для взаємодії між Nrf2 та його негативним регулятором Keap1.

Білок Keap1 є субстратним адаптером для E3 убіквітинлігази, що пригнічує транскрипційну активність Nrf2. За умов окисного стресу або під дією активаторів Nrf2 відмежовується від Keap1 та переміщується в ядро, гетеродимеризується з білками Maf і трансактивує пакет генів ARE [90]. Нещодавно були описані деякі інші шляхи активації Nrf2,

незалежні від Keap1, зокрема, за участю кінази глікоген-синтази-3 та білка p62 [181, 233].

Серед білків, біосинтез яких залежить від активності сигнального шляху Nrf2 / ARE, є ферменти-регулятори редокс стану клітин, ферменти детоксикації та репарації, регулятори клітинного циклу, диференціювання та апоптозу, білки теплового шоку, молекули клітинної адгезії та внутрішньоклітинного транспорту, регулятори трансляції, ферменти-регулятори клітинного метаболізму, регулятори імунної відповіді та запалення [25, 26, 66, 175, 301].

Описано понад 200 підконтрольних Nrf2 / ARE генів детоксикації та антиоксидантів, що обґрунтовує доцільність дослідження нейропротективного потенціалу цієї сигнальної системи. Активація Nrf2 / ARE має позитивну дію при різних неврологічних захворюваннях, таких як ішемічний і геморагічний інсульт, нейродегенеративні захворювання (хвороби Альцгеймера та Паркінсона) [127, 132, 139, 264, 271].

Повідомляється, що індуктори Nrf2 / ARE здатні зменшувати вироблення АФК, з чим пов'язано обмеження втрати нейронів після ішемії головного мозку [288, 294, 309].

У трансгенних мишей, дефіцитних за чинником Nrf2, у яких відтворювали геморагічний інсульт, виявлялися більш високі рівні АФК, ніж у мишей дикого типу, на підставі чого автори зробили висновок про роль активації Nrf2 як природного компенсаторного механізму [308].

Показано, що після крововиливу у головний мозок селективний активатор Nrf2 tBHQ послаблює нейродегенерацію та покращує неврологічні результати [268, 306]. Дефіцитні за Nrf2 миші виявляли більш тяжкий неврологічний дефіцит та пошкодження клітин головного мозку після відтворення геморагічний інсульту [279].



У той же час показано, експресія гена гемоксигенази-1 (НО-1), підконтрольного Nrf2, може викликати негативну дію на тлі гострих розладів церебральної гемодинаміки [118, 271], але одночасна активація багатьох інших Nrf2-залежних генів антиоксидантної реакції може пом'якшувати наслідки руйнування гема за участю НО-1.

При відтворенні субарахноїдального крововиливу у гризунів у судинах головного мозку спостерігалася активація Nrf2, що свідчить про посилення ядерної транслокації Nrf2 та зв'язування ДНК в ендотеліальних і в гладеньком'язових клітинах базилярної артерії [281]. Введення селективного індуктора Nrf2 tBHQ помітно збільшувало експресію Keap1, Nrf2, НО-1, NADPH:хінооксидоредуктази-1 та глутатіон-S-трансферази після моделювання субарахноїдального крововиливу. При цьому у щурів значно покращувалася когнітивна функція [282].

У літературних джерелах містяться неоднозначні дані щодо активності системи Nrf2 / ARE за умов ЧМТ. З одного боку повідомляється, що після ЧМТ збільшується експресія Nrf2-підконтрольних ферментів – НО-1 та NADPH:хінооксидоредуктази-1 [120, 291]. При цьому активація Nrf2 / ARE природним флавонолом епікатехіном, мала позитивний ефект (зменшувала об'єм ураження та дегенерацію нейронів у головному мозку мишей. Однак у дефіцитних за Nrf2 тварин ці ефекти епікатехіну скасовувалися [120].

З іншого боку, публікації містять дані щодо зменшення активності Nrf2 після відтворення ЧМТ. Так, S. Bhowmick et al. [106], застосовуючи методи імуногістохімії, полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (q-RT-PCR) та вестерн-блоттінгу на моделі ЧМТ виявили у зразках мозку миші зниження експресії підконтрольних Nrf2 антиоксидантних білків – НО-1, глутатіонпероксидази-1, глутатіон-S-трансферази та NADPH : хінооксидоредуктази-1. Таке погіршення регуляції генів Nrf2

та антиоксидантів після ЧМТ корелювало з індукцією NADPH-оксидази та iNOS, що генерують АФК / АФА, а також з маркерами окисно-нітрозативного стресу – концентраціями 4-гідроксиноненалу та 3-нітротирозину. Зниження Nrf2 супроводжувалося активацією MMP-3 та MMP-9, TGF- $\beta$ 1 та NF- $\kappa$ B, що в подальшому призводило до розвитку нейрозапалення та апоптозу нервових клітин. Відсутність функції Nrf2 (у дефіцитних за ним мишей) викликало загострення ТХ (через 24 год після ЧМТ підвищувалися маркери окисно-нітрозативного стресу, прозапальні цитокіни та маркери апоптозу).

Інші дослідники також підтверджують антиоксидатну, антиапоптозотичну та протизапальну дію активаторів Nrf2 при ЧМТ, що опосередковується через різні молекули та шляхи, включаючи NF- $\kappa$ B, HO-1, NADPH : хіноноксидоредуктазу, NADPH-оксидазу 2 [303].

Примітно, що активація Nrf2 може також обмежувати дисфункцію ГЕБ. Так, J. Zhao et al. [305] повідомляють, що ГЕБ зберігає свою цілісність у мишей дикого типу, оброблених активатором Nrf2, на відміну від нокаутованих за Nrf2 тварин. Це свідчить, що активація Nrf2 має захисну дію на функціонування ГЕБ.

Таким чином, сигнальна система Nrf2 / ARE є важливим регулятором ендогенних внутрішньоклітинних захисних механізмів. У той же час, експресія певних генів (зокрема, гена HO-1) може збільшувати ушкодження головного мозку за умов гострих судинних розладів, що, вочевидь, потребує додаткового з'ясування.

У цілому слід зазначити, що роль редоксчутливих транскрипційних факторів у механізмах розвитку ТХ досліджено недостатньо, оскільки з активацією NF- $\kappa$ B та AP-1 можуть бути пов'язаними не тільки негативні ефекти, але і певні нейропротективні реакції. Немає узгодженої думки щодо закономірностей функціонально-метаболических розладів головного мозку при активації транскрипційного

чинника Nrf2 за умов ЧМТ. Вирішення цих питань дозволить розширити арсенал засобів патогенетичної терапії та профілактики ускладнень ЧМТ із застосуванням певних модуляторів редоксчутливих факторів транскрипції, що обґрунтовує актуальність і доцільність цього дослідження.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

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

Експерименти виконані на 166 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г. Тварин утримували в умовах віварію згідно зі “Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)”. При роботі з тваринами дотримувалися вимог “Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях” (Страсбург, 18.03.1986 р.). Комісією з питань біоетики Полтавського державного медичного університету (до реорганізації – Української медичної стоматологічної академії), протокол №191 від 25.02.2021 р., порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Групування дослідів наведено у таблиці 2.1.

*Таблиця 2.1.*

#### Групування експериментів

№ групи	Умови дослідів	Кількість тварин
1	2	3
1-ша	Інтактні тварини	7
2-га	Хибнотравмовані тварини, що зазнавали дію ефірного наркозу, фіксацію, стиснення шкіри голови затискачем Мікуліча на одне клацання (дослідження на 3-тю, 7-му та 14-ту добу після моделювання)	21

Продовження таблиці 2.1

1	2	3
3-тя	Моделювання ЧМТ (дослідження на 3-тю, 7-му та 14-ту добу після відтворення ЧМТ)	58
4-та	Призначення інгібітора ядерної транслокації NF-κB піролідиндитіокарбамат амонію після відтворення ЧМТ (дослідження на 3-тю та 7-му добу після травмування)	16
5-та	Введення інгібітора AP-1 SR 11302 після відтворення ЧМТ (дослідження на 3-тю та 7-му добу після травмування)	16
6-та	Застосування індуктора Nrf2 диметилфумарату (DMF) після відтворення ЧМТ (дослідження на 3-тю та 7-му добу після травмування)	16
7-ма	Введення індуктора Nrf2 епігалокатехін-3-галату (EGCG) після відтворення ЧМТ (дослідження на 3-тю та 7-му добу після травмування)	16
8-ма	Застосування водорозчинної форми кверцетину (корвітину) після відтворення ЧМТ (дослідження на 3- тю та 7-му добу після травмування)	16

Евтаназію тварин проводили методом декапітації під ефірним наркозом, дотримуючись принципів біомедичної етики.

## 2.2. Методика моделювання черепно-мозкової травми

Відтворювали модель ЧМТ середнього ступеня тяжкості за рекомендаціями В.М. Єльського та С.В. Зябліцева [18]. Для цього під

ефірним наркозом здійснювали фіксацію тварин, голови яких поміщати під металеві трубки, через які забезпечували вільне падіння вантажу масою 66.7 г з висоти 65 см, що дозволяло отримувати удар з енергією 0.425 Дж.

### 2.3. Методика зміни активності транскрипційних чинників

З метою зміни активності транскрипційних чинників застосовували сполуки, наведені у таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

#### Сполуки, що змінюють активність транскрипційних чинників, які використовували у дослідженні

Назва сполуки	Призначення	Походження	Доза
1	2	3	4
Амонію піролідиндитіокарбамат (PDTC)	Інгібітор активації NF-κB	“Sigma-Aldrich, Inc.”, США	76 мг/кг [24]
SR 11302 ((E,E,Z,E)-3-Methyl-7-(4-methylphenyl)-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-2,4,6,8-nonatetraenoic acid)	Інгібітор активації AP-1	“Tocris Bioscience”, Велика Британія	1 мг/кг [270]
Диметилфумарат (DMF)	Індуктор Nrf2	“Sigma-Aldrich, Inc.”, США	15 мг/кг у 10% розчині диметилсульфоксиду [307]

Продовження табл. 2.2

1	2	3	4
Епігалокатехін-3-галат (EGCG)	Індуктор Nrf2	“Sigma-Aldrich, Inc.”, США	20 мг/кг [237],
Кверцетин (препарат «Корвітин» - комплекс з полівінілпіролідом)	Інгібітор активації NF-κB (інгібітор протеасоми), індуктор Nrf2	ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна	100 мг/кг (10 мг/кг у перерахунку на кверцетин) [71]

Модулятори транскрипційних чинників вводили щурам після відтворення ЧМТ протягом 7-діб внутрішньочеревинно. Тваринам контрольної групи замість цих сполук внутрішньочеревинно вводили 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію.

#### 2.4. Біохімічні методи дослідження

Перелік біохімічних методів дослідження наведено в таблиці 2.3.

Таблиця 2.3

#### Біохімічні методи дослідження

№	Параметр, що вивчається	Літературні джерела
1	2	3
1.	Швидкість продукції супероксидного аніон-радикала	Костенко В.О., Цебржинський О.І. (2000) [47]
2.	Сумарна активність NO-синтази	Akimov O. Ye., Kostenko V.O. (2016) [92]
3.	Активність конститутивної та індукцибельної ізоформ NO-синтази	Yelins'ka A.M, Akimov O.Ye, Kostenko V.O. (2019) [296]

Продовження табл. 2.3

1	2	3
4.	Активність орнітиндекарбоксилази	Храмов В.А. (1997) [75]
5.	Концентрація пероксинітриту	Акимов О. Ye., Kostenko V.O. (2016) [92]
6.	Концентрація ТБК-активних продуктів	Кайдашев І.П. та співавт. (2003) [38]
7.	Активність супероксиддисмутази	Кайдашев І.П. та співавт. (2003) [38]
8.	Активність каталази	Корольок М.А. (1988) [41]

2.4.1. *Визначення продукції супероксидного аніон-радикала.* У гомогенаті великих півкуль головного мозку оцінювали утворення супероксидного аніон-радикала ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм з використанням спектрофотометру Ulab та індукторів: нікотинамідаденіндинуклеотиду відновленого (NADH) для оцінки продукції  $\cdot\text{O}_2^-$  мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом (ЕТЛ), нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату відновленого (NADPH) – ендоплазматичним ретикулумом і NO-синтазою (NOS), пірогеналу – NADPH-оксидазою лейкоцитів [47].

2.4.2. *Визначення активності NO-синтази.* Загальну активність NO-синтази (NOS) визначали за різницею концентрації нітрит-йонів до та після інкубації гомогенату великих півкуль головного мозку в середовищі, що містить L-аргінін та NADPH [92]. Для визначення активності конститутивних ізоферментів (cNOS) додавали 1% розчин аміногуанідину гідрохлориду (98%, "Sigma-Aldrich, Inc.", США) [296].



Активність індукцйбельної ізоформи (iNOS) розраховували шляхом віднімання активності cNOS від загальної активності NOS. Розраховували індекс спряження cNOS як відношення активності cNOS до величини продукції  $\cdot O_2^-$  NADPH-залежними ЕТЛ [209].

*2.4.3. Визначення активності орнітиндекарбоксилази.* Активність орнітиндекарбоксилази визначали за зниженням вмісту орнітину в інкубаційному середовищі методом Chinard у модифікації В.А. Храмова [75]. Метод базується на нінгідриновій реакції при рН=1.0 і є специфічним, оскільки значне забарвлення дають тільки орнітин, пролін та цитрулін. Інтенсивність забарвлення розчину з продуктами взаємодії нінгідрину з амінокислотами пропорційна концентрації орнітину в досліджуваному розчині. Оптичну щільність визначали при  $\lambda=490$  нм.

*2.4.4. Визначення концентрації пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів.* Концентрацію пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у гомогенаті великих півкуль головного мозку визначали спектрофотометрично [92]. Ці пероксинітрити здатні відновлювати атомарний йод із солей калію (КІ), який у водному середовищі утворює комплексний аніон із  $I^-$  ( $I_3^-$ ). Утворений комплексний аніон має високу молярну екстинкцію ( $25000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) на довжині хвилі 355 нм.

*2.4.5. Визначення стану пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи.* Рівень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у гомогенаті оцінювали за утворенням у реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами забарвленого триметинового комплексу [38]. Стан антиоксидантної системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних сполук за час інкубації гомогенату в прооксидантному залізоаскорбатному буферному розчині, а також за активністю антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази (СОД) [38] та каталази [41].

## **2.5. Дослідження показників неврологічного дефіциту**

Для об'єктивної оцінки ступеня неврологічного дефіциту застосовували 100-бальну шкала Todd et al (у модифікаціях Л.А. Шалякіної та О.Я. Євтушенка) [18]. Оцінювали 14 ознак, які відображають рівень свідомості тварин; стан рефлекторної сфери, у тому числі ширину й реакцію зіниць на світло, рогівковий рефлекс, рефлекторну реакцію на гучний звук, реакцію на світло і біль; м'язовий тонус тулуба і кінцівок; дихання; рух і деякі поведінкові реакції.

Порушення больової чутливості фіксували при значенні латентного періоду больової реакції (ЛПБР) у тесті «Гаряча пластинка» (“Hot plate”)  $>15$  с [5]. За ЛПБР брали мінімальний час від моменту розміщення тварини на гарячій пластинці до першої рухової реакції больового рефлексу (відсмикування лап, підстрибування, вокалізація, облизування подушечок лап). Як термічний подразник використовували металевий лоток, нагрітий на водяній бані ( $t = 55.0 \pm 0.6$  °C).

Про порушення м'язового тону судили у разі неспроможності щурів підтягуватися на горизонтальній перекладині.

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

## **2.6. Дослідження поведінкових реакцій**

Вивчення поведінкових реакцій тварин проводили за допомогою тестів «темно-світла камера» та «відкрите поле».

Тест «темно-світла камера» призначений для вивчення поведінки тварин при вільному виборі комфортних умов. Установка являла собою

арену з двома відсіками, відокремленими один від одного перегородкою з невеликим отвором: першим, забарвленим у білий колір і яскраво освітленим, і другим – темним, закритим від доступу світла. Розміри відсіків становили (30x30) см, висота стінок – 30 см. Щурів поміщали всередину світлої частини арени, тривалість експерименту для кожної тварини становила 5 хв. Не менш ніж за 60 хв до початку тесту щурів витримували без сторонніх звуків, в слабо освітленому приміщенні. У темно-світлій камері реєстрували такі показники активності, як відносний час (у відсотковому співвідношенні), проведений тваринами в темному відсіку, а також кількість переходів між відсіками [9, 51].

Тест «відкрите поле» призначений для вивчення поведінки гризунів за нових стресогенних умов і дозволяє оцінити характеристики окремих поведінкових елементів; рівень емоційно-поведінкової активності тварин; стратегію дослідницької / захисної поведінки; ознаки неврологічного дефіциту та системної реакції на стрес [9, 53, 61]. Установка складалася з прямокутного поля розміром (140x70) см, розділеного на квадрати (10x10) см і обгородженого непрозорими стінками заввишки 50 см, забарвленими у білий колір (окрім передньої прозорої стінки, через яку здійснювалося спостереження впродовж 5 хв) [53]. Не менше ніж за 60 хв до тестування щурів переносили в тихе, слабо освітлене приміщення, залишаючи їх у спокої. Під час дослідження реєстрували тривалість латентного періоду (час перебування тварини у стані спокою після переміщення на арену), показники вертикальної і горизонтальної рухової активності, кількість виходів до центру, число дефекацій і актів грумінгу (вмивання) [50, 52].

## **2.7. Статистична обробка результатів експерименту**

Статистичні розрахунки проводили з використанням пакету програм Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics. Для

перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Shapiro–Wilk. Якщо дані відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували критерій  $t$  (Student's  $t$ -test) для незалежних або пов'язаних вибірок. У разі, коли ряди результатів не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – Mann–Whitney  $U$ -test.

Аналіз виживаності щурів проводили за методом Каплана-Мейера (Kaplan-Meier estimator) з оцінкою ймовірності похибки за логарифмічним ранговим критерієм (Log-rank) 1 та 2, а також за методами Wilcoxon та Tarone-Ware. Для аналізу відмінностей частот у незалежних групах досліджень для перевірки нульової статистичної гіпотези про тотожність частот застосовували розрахунок точного критерію Фішера (Fisher's exact test). При оцінці показників шкали Todd et al. та результатів тестів «Темно-світла камера» та «Відкрите поле» використовували непараметричний Mann–Whitney  $U$ -test.

### РОЗДІЛ 3

## СТАН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ТКАНИНІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ, НЕВРОЛОГІЧНИЙ ДЕФІЦИТ ТА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ТВАРИН ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

### 3.1. Генерація активних форм кисню і азоту в тканині головного мозку в динаміці розвитку травматичної хвороби після експериментальної черепно-мозкової травми

Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мітохондріями (рис. 3.1) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин становила  $13.10 \pm 0.38$  нмоль/с·г.

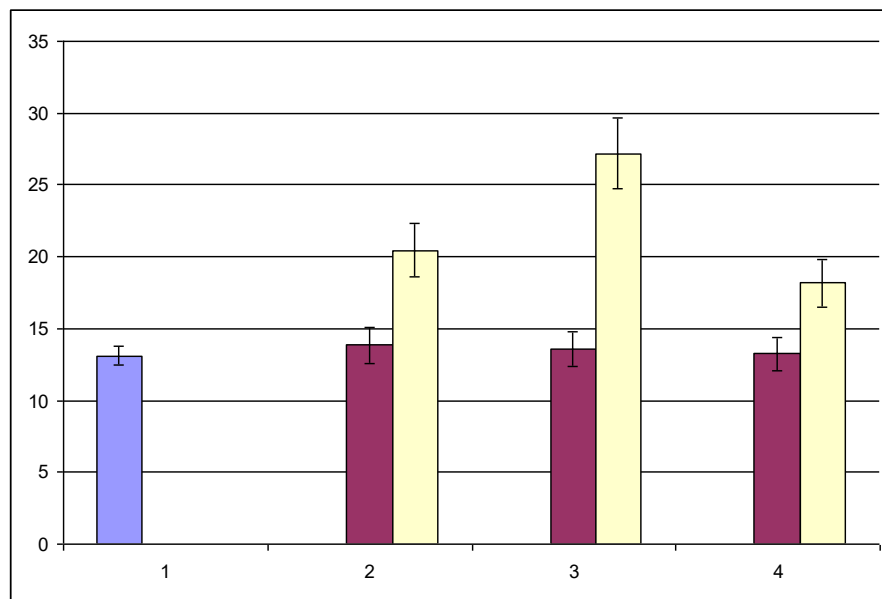


Рис. 3.1. Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мітохондріями (нмоль/с·г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); через 3 доби (2), 7 діб (3), 14 діб (4) у хибнотравмованих тварин (перший стовпчик) та після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми (другий стовпчик).

Величини цього показника суттєво не змінювалися у хибнотравмованих тварин через 3, 7 та 14 діб після втручання:  $13.84 \pm 0.41$ ;  $13.57 \pm 0.47$  та  $13.23 \pm 0.39$  нмоль/с·г.

У динаміці посттравматичного періоду (після нанесення ЧМТ) відмічалось вірогідне збільшення значень швидкості генерації супероксидного аніон-радикала мітохондріями у гомогенаті великих півкуль головного мозку: через 3 доби – до  $20.46 \pm 0.79$  нмоль/с·г; через 7 діб – до  $27.19 \pm 1.54$  нмоль/с·г; через 14 діб – до  $18.18 \pm 0.88$  нмоль/с·г. Ці дані перевищували результати груп хибнотравмованих тварин на 47.8%; вдвічі та на 37.4% (в усіх випадках  $p < 0.001$ ), відповідно.

Примітно, що значення цього показника через 7 діб після ЧМТ перевищували на 32.9% ( $p < 0.01$ ) дані попереднього терміну спостереження (через 3 доби), а через 14 діб – поступалися на 33.1% ( $p < 0.001$ ) результату на 7-му добу посттравматичного періоду.

Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мікосомальними монооксигеназами та NO-синтазою (рис. 3.2) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин становила  $10.92 \pm 0.32$  нмоль/с·г та вірогідно не відрізнялася від значень груп, які складали щури через 3, 7 та 14 діб після «хибного» ураження:  $11.53 \pm 0.34$ ;  $11.31 \pm 0.40$  та  $11.04 \pm 0.33$  нмоль/с·г.

Після відтворення ЧМТ значення цього показника суттєво збільшувалися: через 3 доби – до  $16.66 \pm 0.68$  нмоль/с·г; через 7 діб – до  $21.08 \pm 0.40$  нмоль/с·г; через 14 діб – до  $14.98 \pm 0.40$  нмоль/с·г. Ці дані перевищували результати груп хибнотравмованих тварин на 44.5%; 86.4% та 35.7% (в усіх випадках  $p < 0.001$ ), відповідно.

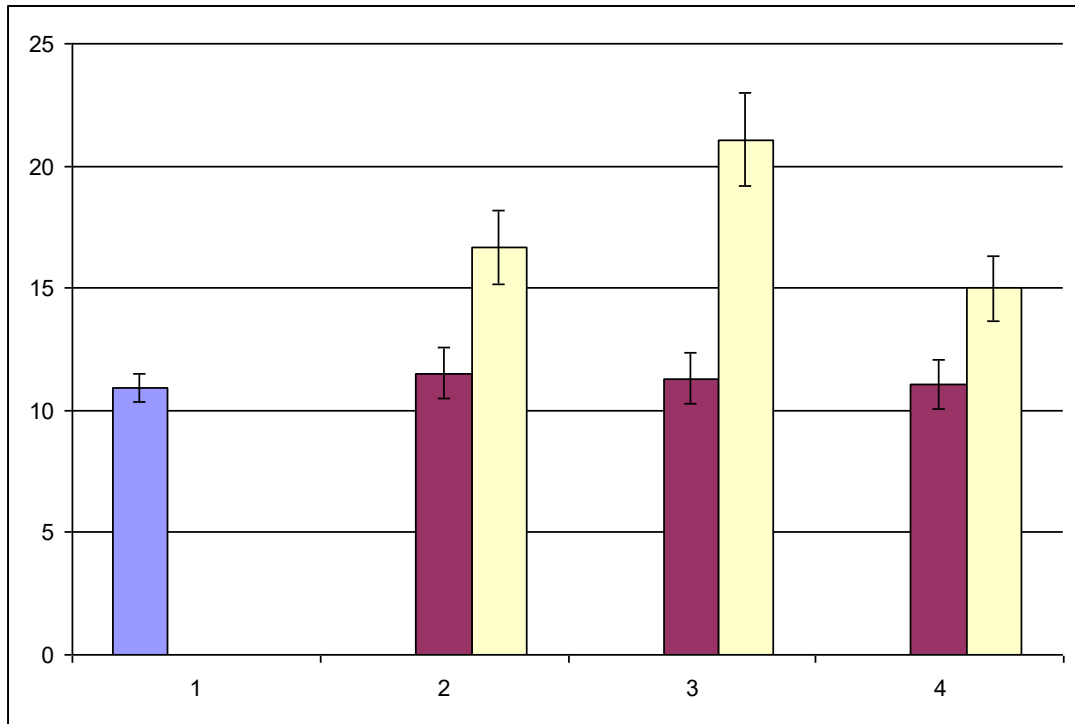


Рис. 3.2. Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою (нмоль/с·г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); через 3 доби (2), 7 діб (3), 14 діб (4) у хибнотравмованих тварин (перший стовпчик) та після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми (другий стовпчик).

Значення цього показника через 7 діб після ЧМТ перевищували на 26.5% ( $p < 0.001$ ) дані попереднього терміну спостереження (через 3 доби), а через 14 діб – поступалися на 28.9% ( $p < 0.001$ ) результату на 7-му добу посттравматичного періоду.

Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала NADPH-оксидазою фагоцитів (рис. 3.3) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин становила  $1.20 \pm 0.04$  нмоль/с·г та суттєво не відрізнялася від результатів дослідів через 3, 7 та 14 діб після «хибного» ураження:  $1.27 \pm 0.04$ ;  $1.25 \pm 0.04$  та  $1.21 \pm 0.04$  нмоль/с·г.

Після відтворення ЧМТ значення цього показника вірогідно збільшувалися: через 3 доби – до  $2.15 \pm 0.19$  нмоль/с·г; через 7 діб – до  $2.67 \pm 0.18$  нмоль/с·г; через 14 діб – до  $1.90 \pm 0.18$  нмоль/с·г. Ці дані перевищували результати груп хибнотравмованих тварин на 69.3% ( $p < 0.001$ ), 113.0% та 57.0% ( $p < 0.01$ ), відповідно.

Значення цього показника через 7 діб після ЧМТ істотно не відрізнялося від даних попереднього терміну спостереження (через 3 доби), проте через 14 діб – на 28.8% ( $p < 0.02$ ) поступалося результату, одержаному на 7-му добу посттравматичного періоду.

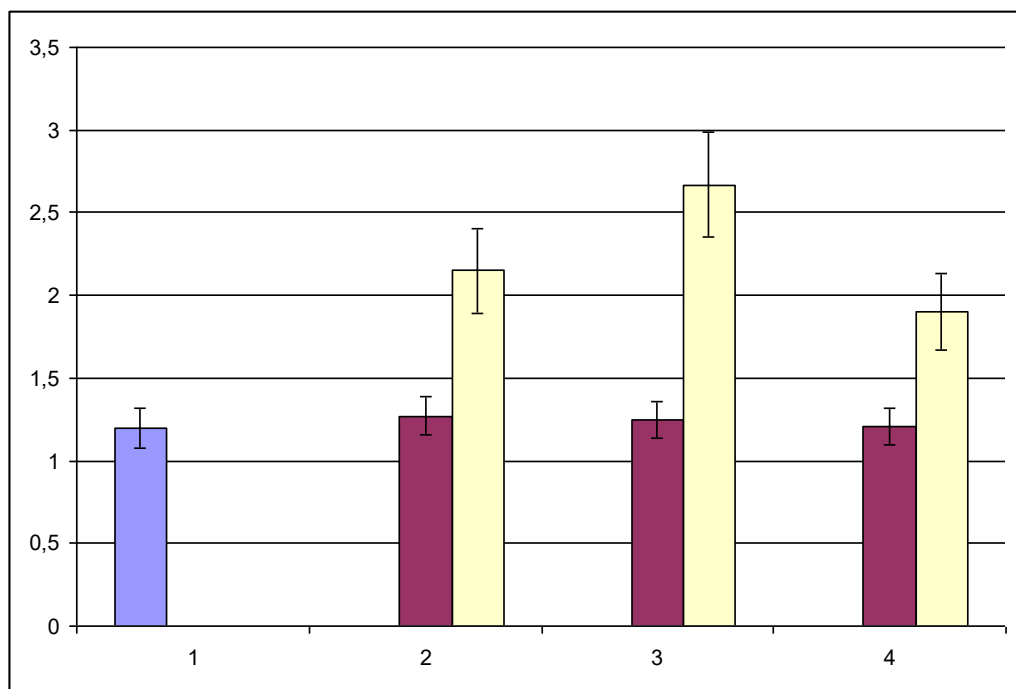
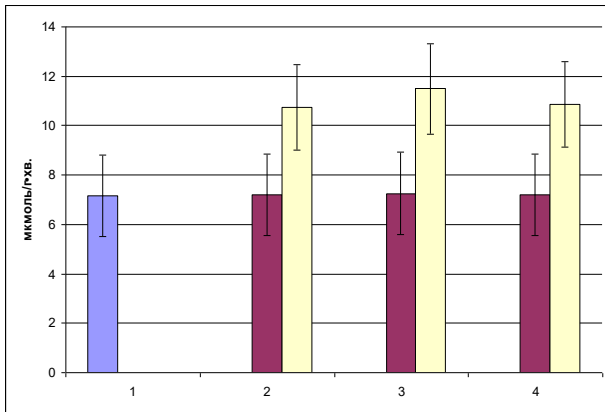


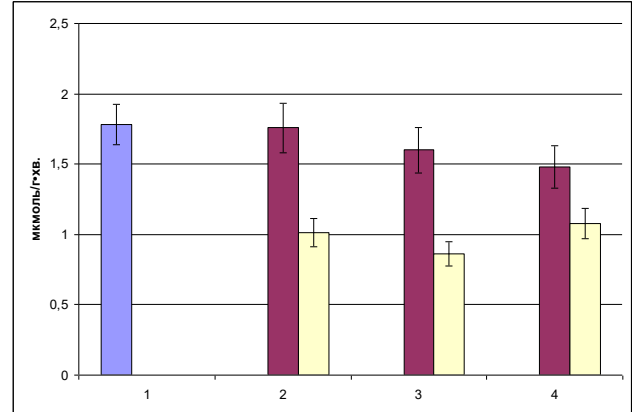
Рис. 3.3. Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала NADPH-оксидазою лейкоцитів і гліальних клітин (нмоль/с·г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); через 3 доби (2), 7 діб (3), 14 діб (4) у хибнотравмованих тварин (перший стовпчик) та після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми (другий стовпчик).



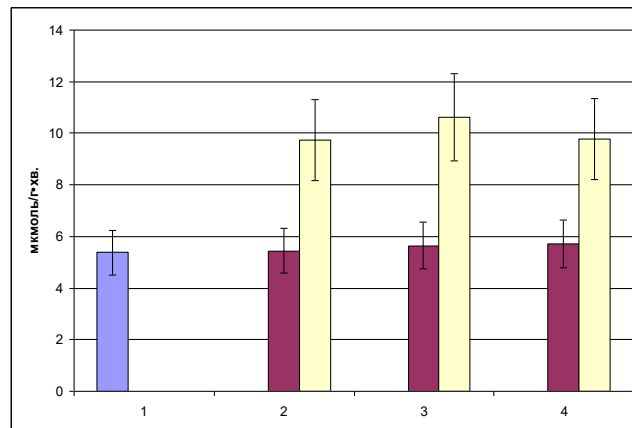
Загальна NO-синтазна активність (рис. 3.4, А) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин становила  $7.16 \pm 0.65$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{Г} \cdot \text{хв.}$



А



Б



В

Рис. 3.4. Активність NO-синтази (мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{Г} \cdot \text{хв.}$ ): загальної (А), конститутивної (Б), індукцйбельної (В) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); через 3 доби (2), 7 діб (3), 14 діб (4) у хибнотравмованих тварин (перший стовпчик) та після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми (другий стовпчик).

Величини цього показника суттєво не відрізнялися від даних 1-ї групи у хибнотравмованих тварин через 3, 7 та 14 діб після втручання:  $7.21 \pm 0.66$ ;  $7.26 \pm 0.77$  та  $7.20 \pm 0.77$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ .

Після моделювання ЧМТ відмічалось вірогідне збільшення загальної NO-синтазної активності у гомогенаті великих півкуль головного мозку: через 3 доби – до  $10.74 \pm 1.49$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ ; через 7 діб – до  $11.49 \pm 1.27$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ ; через 14 діб – до  $10.87 \pm 0.99$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ . Ці дані перевищували результати груп хибнотравмованих тварин на 49.0% ( $p < 0.05$ ); на 58.3% ( $p < 0.02$ ) та на 51.0% ( $p < 0.02$ ), відповідно.

У динаміці постратматичного періоду (3, 7 та 14 доба) суттєвих відмінностей в активності NOS у гомогенаті великих півкуль головного мозку не спостерігалось.

Активність cNOS (рис. 3.4, Б) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин була  $7.16 \pm 0.65$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$  та суттєво не змінювалася через 3, 7 та 14 діб після «хибного» ушкодження:  $1.76 \pm 0.13$ ;  $1.60 \pm 0.13$  та  $1.48 \pm 0.14$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ , відповідно.

Після нанесення ЧМТ достовірно зменшувалася активність cNOS у гомогенаті великих півкуль головного мозку: через 3 доби – до  $1.01 \pm 0.08$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ ; через 7 діб –  $0.86 \pm 0.06$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ ; через 14 діб – до  $1.08 \pm 0.08$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ . Ці дані поступалися результатам груп хибнотравмованих тварин на 42.6% ( $p < 0.001$ ); на 46.2% ( $p < 0.001$ ) та на 27.0% ( $p < 0.05$ ), відповідно.

Значення цього показника через 7 діб після ЧМТ істотно не відрізнялося від даних попереднього терміну спостереження (через 3 доби), проте через 14 діб – на 25.6% ( $p < 0.05$ ) перевищувало результат, одержаний на 7-му добу постратматичного періоду.

Активність iNOS (рис. 3.4, В) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних щурів становила  $5.38 \pm 0.61$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$  та суттєво не змінювалася на 3-тю, 7-му та 14-ту добу дослідження у хибнотравмованих тварин:  $5.45 \pm 0.65$ ;  $5.65 \pm 0.75$  та  $5.72 \pm 0.74$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ , відповідно.

Після моделювання ЧМТ відмічалось вірогідне збільшення активності iNOS у гомогенаті великих півкуль головного мозку: через 3 доби – до  $9.73 \pm 1.50$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ ; через 7 діб – до  $10.62 \pm 1.26$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ ; через 14 діб – до  $9.79 \pm 1.00$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв}$ . Ці дані перевищували результати груп хибнотравмованих тварин на 78.5% ( $p < 0.05$ ); на 88.0% ( $p < 0.01$ ) та на 71.2% ( $p < 0.01$ ), відповідно. Одержані результати доводять, що збільшення загальної NO-синтазної активності у гомогенаті великих півкуль головного мозку пов'язано саме з підвищенням активності iNOS.

Істотних відмінностей в активності iNOS у різний термін дослідження не спостерігалось.

Нещодавно обґрунтовано доцільність комплексного вивчення NO-синтазної та аргіназної компонент обміну L-аргініну як єдиної системи, оскільки неокисний (аргіназний) шлях конкурує з окисним (NO-синтазним), особливо у мітохондріальному компартменті, що має значення для синтезу глутамату, необхідного для утворення  $\gamma$ -аміномасляної кислоти та ефективної адаптації клітин до дії різних подразників [48].

Встановлено, що у гомогенаті великих півкуль головного мозку активність орнітиндекарбоксилази (рис. 3.5), одного з ключових ферментів аргіназного шляху метаболізму L-аргініну, який каталізує реакцію синтезу поліамінів – перетворення L-орнітину в путресцин, у інтактних тварин становила  $274.4 \pm 7.3$  нмоль/ $\text{г} \cdot \text{хв}$  та суттєво не

змінювалася на 3-тю, 7-му та 14-ту добу після «хибного» ушкодження:  $275.7 \pm 7.1$ ;  $271.9 \pm 5.7$  та  $268.2 \pm 3.8$  нмоль/г·хв, відповідно.

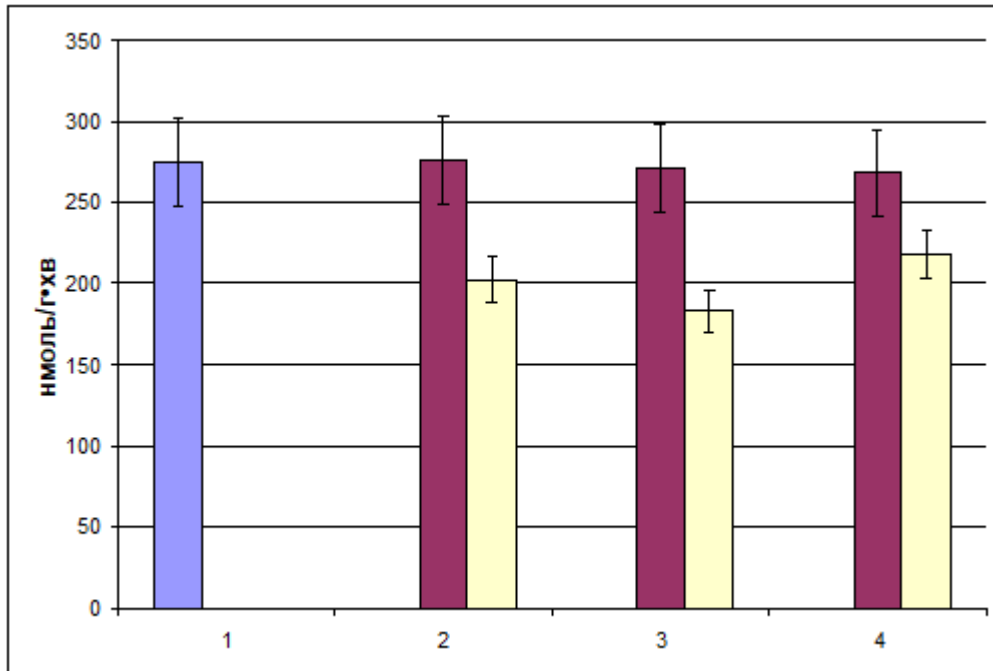


Рис. 3.5. Активність орнітиндекарбоксилази (нмоль/г·хв.) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); через 3 доби (2), 7 діб (3), 14 діб (4) у хибнотравмованих тварин (перший стовпчик) та після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми (другий стовпчик).

Після нанесення ЧМТ достовірно зменшувалася активність орнітиндекарбоксилази у гомогенаті великих півкуль головного мозку: через 3 доби – до  $201.8 \pm 6.6$  нмоль/г·хв; через 7 діб –  $183.0 \pm 7.0$  нмоль/г·хв; через 14 діб – до  $218.0 \pm 6.5$  нмоль/г·хв. Ці дані поступалися результатам груп хибнотравмованих тварин на 26.8%; на 32.7% та на 18.7% (в усіх випадках  $p < 0.001$ ), відповідно.

Величина цього показника через 7 діб після ЧМТ істотно не відрізнялося від даних попереднього терміну спостереження (через 3

добу), проте через 14 діб – на 19.1% ( $p < 0.01$ ) перевищувало результат, одержаний на 7-му добу посттравматичного періоду.

Індекс спряження cNOS характеризує наявність субстратів (L-аргінін, молекулярний кисень) і кофактора тетрагідробіоптерину ( $\text{BH}_4$ ) для утворення монооксиду азоту. Неспрямлена cNOS не лише виробляє супероксиданіонрадикал, але може активувати й інші джерела утворення АФО [10].

Індекс спряження cNOS (рис. 3.6) при дослідженні гомогенату великих півкуль головного мозку в інтактних тварин був  $0.163 \pm 0.013$  та суттєво не змінювався у хибнотравмованих щурів на 3-тю, 7-му та 14-ту добу:  $0.153 \pm 0.012$ ;  $0.141 \pm 0.010$  та  $0.136 \pm 0.015$ , відповідно.

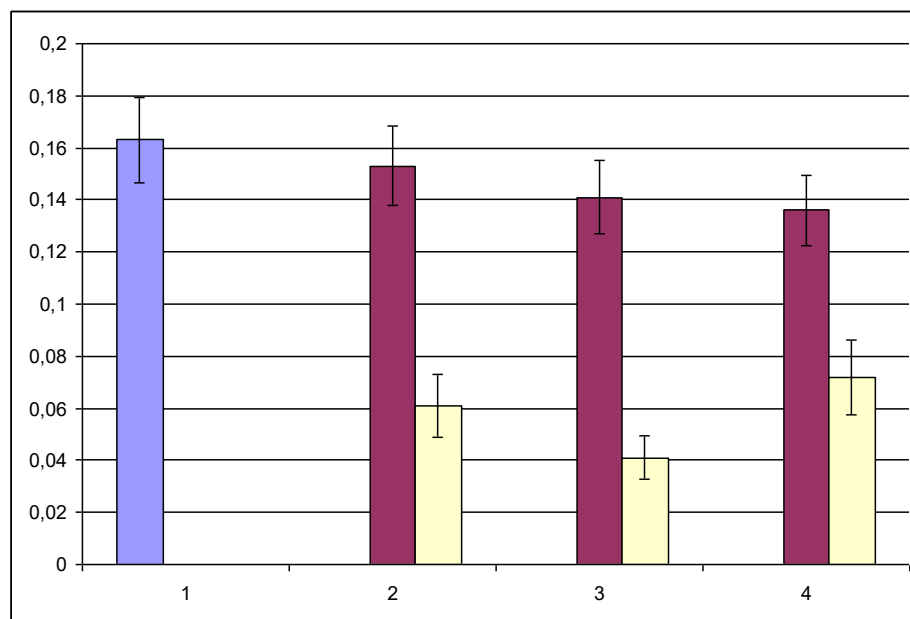


Рис. 3.6. Значення індексу спряження cNOS у тканині великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); через 3 доби (2), 7 діб (3), 14 діб (4) у хибнотравмованих тварин (перший стовпчик) та після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми (другий стовпчик).

Після моделювання ЧМТ індекс спряження cNOS достовірно зменшувався: через 3 доби – до  $0.061 \pm 0.005$ ; через 7 діб – до  $0.041 \pm 0.003$ ; через 14 діб – до  $0.072 \pm 0.006$ . Ці дані поступалися результатам груп хибнотравмованих тварин на 60.1% ( $p < 0.001$ ); на 70.9% ( $p < 0.001$ ) та на 47.1% ( $p < 0.01$ ), відповідно.

Величина індексу спряження cNOS через 7 діб після ЧМТ поступалася на 32.8% ( $p < 0.01$ ) даним попереднього терміну спостереження (через 3 доби), а через 14 діб – перевищувала на 75.6% ( $p < 0.001$ ) результат на 7-му добу посттравматичного періоду.

Одночасне підвищення синтезу NO та супероксидного аніон-радикала різними джерелами після відтворення ЧМТ створює передумови для утворення пероксинітриту [68, 262].

Вміст пероксинітритів (рис. 3.7) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних щурів становила  $1.53 \pm 0.07$  мкмоль/г та суттєво не змінювався на 3-тю, 7-му та 14-ту добу дослідження у хибнотравмованих тварин:  $1.51 \pm 0.09$ ;  $1.55 \pm 0.07$  та  $1.55 \pm 0.09$  мкмоль/г, відповідно.

Після моделювання ЧМТ відмічалось вірогідне збільшення концентрації пероксинітритів у гомогенаті великих півкуль головного мозку: через 3 доби – до  $1.99 \pm 0.12$  мкмоль/г; через 7 діб – до  $2.41 \pm 0.11$  мкмоль/г; через 14 діб – до  $2.06 \pm 0.12$  мкмоль/г. Ці дані перевищували результати груп хибнотравмованих тварин на 31.8% ( $p < 0.01$ ); на 55.5% ( $p < 0.001$ ) та на 32.9% ( $p < 0.01$ ), відповідно.

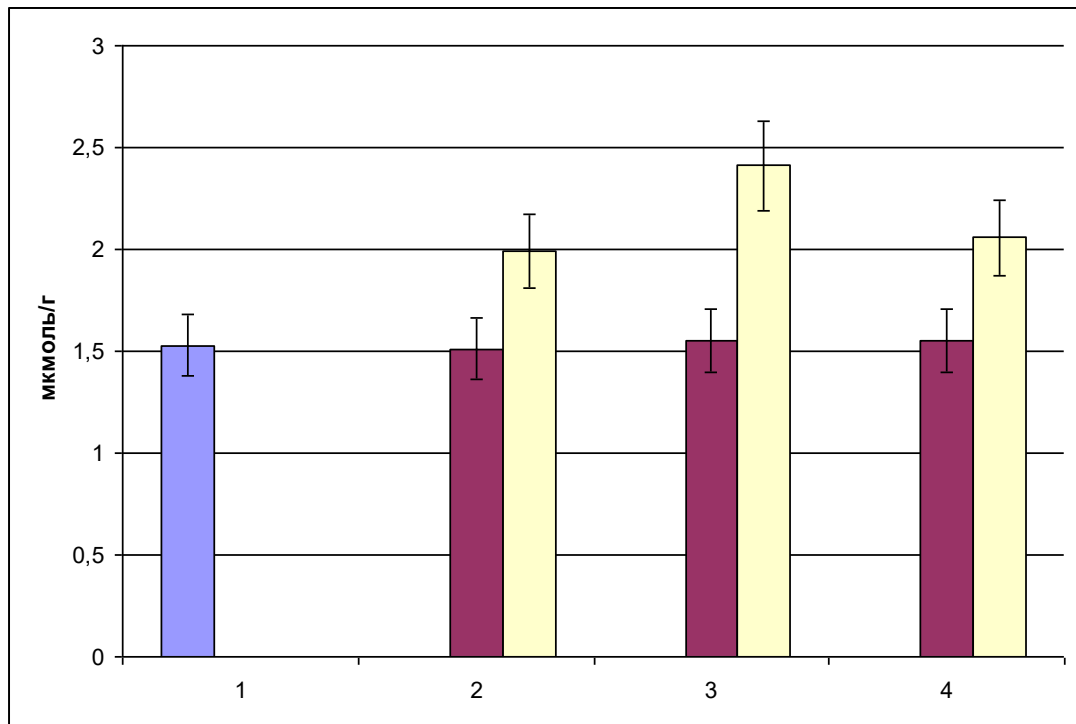


Рис. 3.7. Вміст пероксинітритів (мкмоль/г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); через 3 доби (2), 7 діб (3), 14 діб (4) у хибнотравмованих тварин (перший стовпчик) та після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми (другий стовпчик).

Значення цього показника через 7 діб після ЧМТ на 21.1% ( $p < 0.05$ ) перевищувало результат, одержаний на 3-ту добу посттравматичного періоду, а через 14 діб – істотно не відрізнялося від даних попереднього терміну спостереження (через 7 діб).

Таким чином, після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби у тканині великих півкуль головного мозку щурів виявляються ознаки окисно-нітрозативного стресу: збільшення вироблення супероксидного аніон-радикала  $\text{NADPH-}$  і  $\text{NADH-}$  залежними електронно-транспортними ланцюгами, підвищення активності синтази оксиду азоту (загальної та індукцибельної) на фоні зменшення активності ферменту

конкурентного (аргіназного) шляху метаболізму L-аргініну – орнітиндекарбоксилази, зменшення та порушення спряженості конститутивної ізоформи NO-синтази, зростання концентрації пероксинітриту.

### **3.2. Процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканині головного мозку в динаміці розвитку травматичної хвороби після експериментальної черепно-мозкової травми**

Як відомо, головний мозок має високу чутливість до дії АФК / АФА, що обумовлено великим вмістом в ньому ліпідів, високими енергетичними потребами, високим ступенем кисневого насичення, великою концентрацією заліза, а також відносно низьким рівнем антиоксидантів [54].

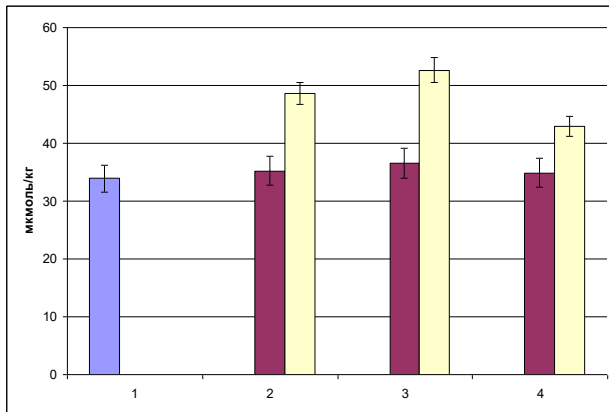
Підвищення АФК / АФА закономірно впливає на активність ПОЛ у тканинах мозку.

Початкова концентрація вторинних продуктів ПОЛ – ТБК-активних сполук до інкубації гомогенату великих півкуль головного мозку у прооксидантному розчині (рис. 3.8 А) була  $33.89 \pm 1.38$  мкмоль/кг та вірогідно не зазнавала змін на 3-тю, 7-му та 14-ту добу дослідження у хибнотравмованих тварин:  $35.23 \pm 1.11$ ;  $36.61 \pm 1.22$  та  $34.89 \pm 1.51$  мкмоль/кг, відповідно.

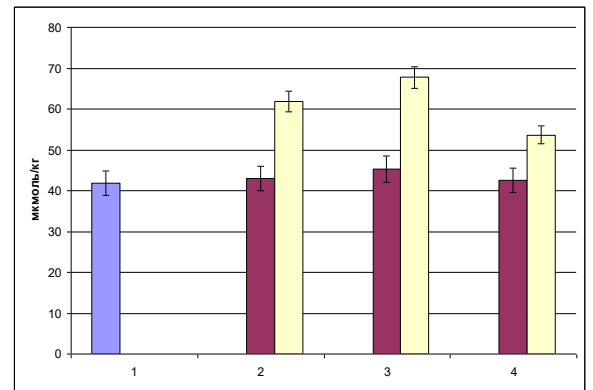
Концентрація ТБК-реактантів після 1.5-годинної інкубації гомогенату у прооксидантному залізоаскорбатному буферному розчині (рис. 3.8 Б) становила  $41.86 \pm 1.30$  мкмоль/кг та істотно не змінювалася через 3, 7 та 14 діб після «хибного» ураження:  $43.06 \pm 1.11$ ;  $45.30 \pm 1.03$  та  $42.48 \pm 1.36$  мкмоль/кг, відповідно.



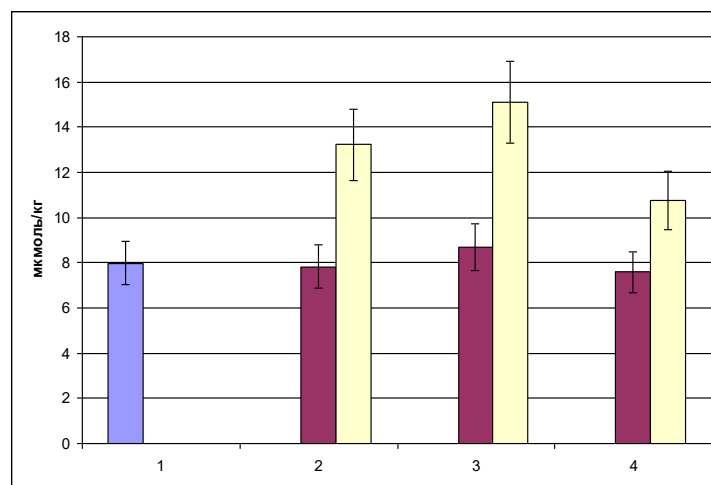
Приріст вмісту ТБК-активних сполук за час інкубації (рис. 3.8 В), що відображає стан антиоксидантного потенціалу тканин, був  $7.97 \pm 0.45$  мкмоль/кг та суттєво не змінювалася на 3-тю, 7-му та 14-ту добу дослідження у хибнотравмованих тварин:  $7.83 \pm 0.44$ ;  $8.69 \pm 0.48$  та  $7.59 \pm 0.47$  мкмоль/кг, відповідно.



А



Б



В

Рис. 3.8. Концентрація ТБК-активних сполук (мкмоль/кг) до інкубації (А), після інкубації (Б) та її приріст за час інкубації гомогенату великих півкуль головного мозку в прооксидантному буферному розчині (В) в інтактних тварин (1); через 3 доби (2), 7 діб (3), 14 діб (4) у

хибнотравмованих тварин (перший стовпчик) та після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми (другий стовпчик).

Після відтворення ЧМТ відмічалось вірогідне збільшення концентрації вторинних продуктів ПОЛ. Так, вміст ТБК-реактивів до інкубації (див. рис. 3.8 А) підвищувався через 3 доби – до  $48.63 \pm 1.49$  мкмоль/кг; через 7 діб – до  $52.64 \pm 0.94$  мкмоль/кг; через 14 діб – до  $42.89 \pm 1.69$  мкмоль/кг. Ці дані перевищували результати груп хибнотравмованих щурів на 38.0% ( $p < 0.001$ ); на 43.8% ( $p < 0.001$ ) та на 22.9% ( $p < 0.01$ ), відповідно.

Значення цього показника через 7 діб після ЧМТ перевищували на 8.2% ( $p < 0.05$ ) дані попереднього терміну спостереження (через 3 доби), а через 14 діб – поступалися на 18.51% ( $p < 0.001$ ) результату на 7-му добу посттравматичного періоду.

Концентрація ТБК-реактивів після інкубації (див. рис. 3.8 Б) збільшувалася через 3 доби – до  $61.85 \pm 2.08$  мкмоль/кг; через 7 діб – до  $67.72 \pm 1.20$  мкмоль/кг; через 14 діб – до  $53.67 \pm 1.85$  мкмоль/кг. Ці дані були більшими за результати групи порівняння (після «хибного» ураження) на 43.6%, на 49.5% та на 26.3% (в усіх випадках  $p < 0.001$ ), відповідно.

Значення ТБК-активних сполук після інкубації на 7 добу після ЧМТ були більшими на 9.5% ( $p < 0.05$ ) за дані попереднього терміну спостереження, а через 14 діб – зменшувалися на 20.7% ( $p < 0.001$ ) порівняно з результатом на 7-му добу після травматичного ураження головного мозку.

Приріст вмісту ТБК-активних сполук за час інкубації (див. рис. 3.8 В) також зростав через 3 доби – до  $13.22 \pm 0.72$  мкмоль/кг; через 7 діб – до  $15.08 \pm 0.50$  мкмоль/кг; через 14 діб – до  $10.78 \pm 0.34$  мкмоль/кг, що

перевищувало результати групи хибнотравмованих щурів на 68.8%, на 73.5% та на 42.0% (в усіх випадках  $p < 0.001$ ), відповідно.

Зменшення антиоксидантного потенціалу, виявлене у посттравматичному періоді на підставі збільшення приросту концентрації ТБК-активних сполук за час 1.5-годинної інкубації гомогенату великих півкуль головного мозку в прооксидантному залізоаскорбатному буферному розчині, підтверджується зменшенням активності антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази та каталази.

Активність супероксиддисмутази (рис. 3.9) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин становила  $0.32 \pm 0.02$  од. акт. та суттєво не змінювалася у хибнотравмованих щурів на 3-тю, 7-му та 14-ту добу:  $0.33 \pm 0.02$ ;  $0.34 \pm 0.01$  та  $0.28 \pm 0.02$  од. акт., відповідно.

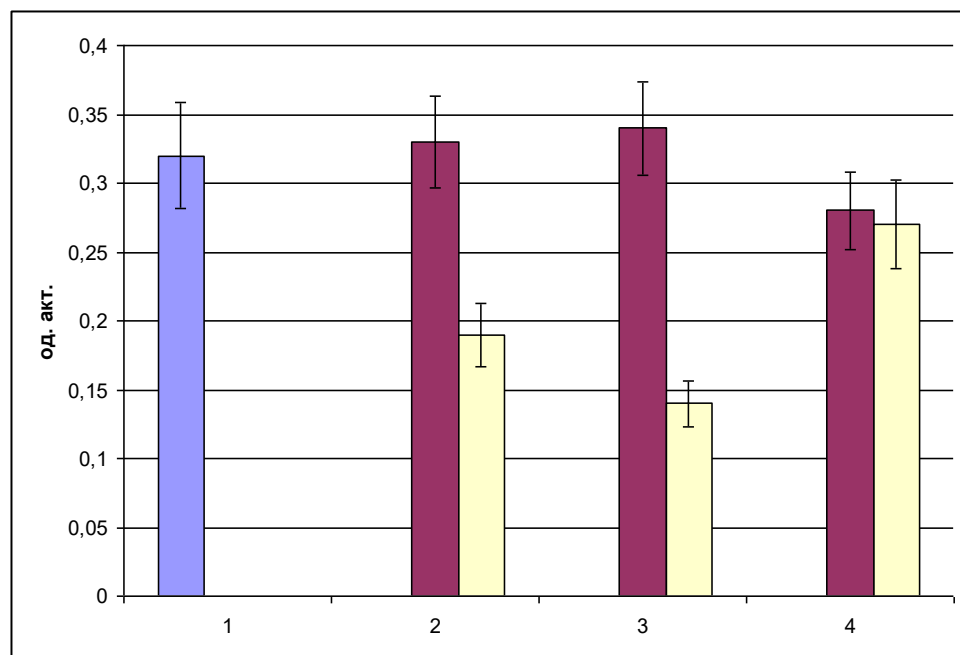


Рис. 3.9. Активність супероксиддисмутази (од. акт.) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); через 3 доби (2), 7 діб (3), 14 діб (4) у хибнотравмованих тварин (перший стовпчик) та після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми (другий стовпчик).

Після моделювання ЧМТ активність супероксиддисмутази достовірно зменшувалася: через 3 доби – до  $0.19 \pm 0.01$  од. акт.; через 7 діб – до  $0.14 \pm 0.01$  од. акт. Ці дані поступалися результатам груп хибнотравмованих тварин на 42.4% та 58.8% (для обох  $p < 0.001$ ), відповідно. На 14 добу посттравматичного періоду активність супероксиддисмутази становила  $0.27 \pm 0.02$  од. акт. та вірогідно не відрізнялася від контрольних груп.

Значення цього показника через 7 діб після ЧМТ поступалося на 26.3% ( $p < 0.01$ ) даним попереднього терміну спостереження (через 3 доби), а через 14 діб – перевищувало на 92.9% ( $p < 0.001$ ) результат на 7-му добу після травмування.

У взаємозв'язку з активністю СОД, очевидно, знаходиться активність іншого антиоксидантного ферменту – каталази, оскільки СОД постачає субстрат для каталази (пероксид водню), який є її індуктором на генному рівні [244].

Активність каталази (рис. 3.10) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин була  $0.39 \pm 0.02$  мккат/г та не зазнавала вірогідних змін у тварин з відтворенням «хибного» ураження на 3-тю, 7-му та 14-ту добу:  $0.39 \pm 0.02$ ;  $0.40 \pm 0.01$  та  $0.34 \pm 0.02$  мккат/г, відповідно.

На 3-тю та 7-му добу після нанесення ЧМТ активність каталази достовірно зменшувалася та становила  $0.17 \pm 0.02$  та  $0.18 \pm 0.01$  мккат/г, відповідно. Ці результати поступалися даним хибнотравмованих тварин на 56.4% та 55.0% (для обох  $p < 0.001$ ). На 14 добу посттравматичного періоду активність ферменту складала  $0.31 \pm 0.02$  мккат/г та вірогідно не відрізнялася від величин контрольних груп.

Активність каталази через 7 діб після ЧМТ істотно не відрізнялася від даних попереднього терміну спостереження (через 3 доби), а через

14 діб – перевищувала на 72.2% ( $p < 0.001$ ) результат на 7-му добу після ЧМТ.

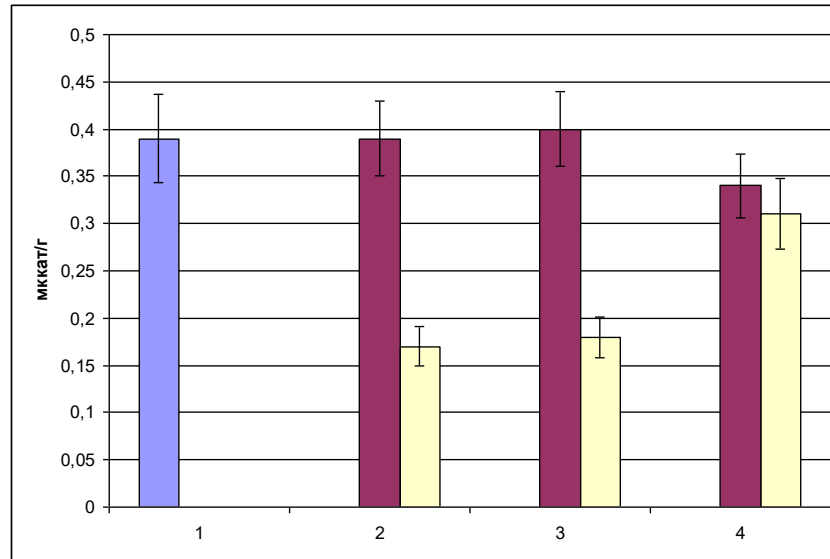


Рис. 3.10. Активність каталази (мккат/г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в інтактних тварин (1); через 3 доби (2), 7 діб (3), 14 діб (4) у хибнотравмованих тварин (перший стовпчик) та після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми (другий стовпчик).

Таким чином, після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби у тканині великих півкуль головного мозку щурів виявляються ознаки декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів, незважаючи на нормалізацію активності супероксиддисмутази та каталази на 14 добу після травмування.

**3.3. Показники виживаності та неврологічного дефіциту у щурів в динаміці розвитку травматичної хвороби головного мозку після експериментальної черепно-мозкової травми**

На 3-тю добу після моделювання експериментальної ЧМТ виживаність щурів, розрахована за процедурою Каплана-Мейера, становила  $0.53 \pm 0.09$ ; на 7-му та 14-ту добу -  $0.40 \pm 0.09$  (таблиця 3.1).

Таблиця 3.1

**Аналіз виживаності щурів за методом Каплана-Мейера  
після моделювання ЧМТ протягом 14-ти діб спостереження**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Кумулятивна кількість тварин, що		Показник виживаності S(t)	Ст. похибка	Межі квантилів	
	загинули	вижили			Нижній	Верхній
0		30	1			
1	8	22	0.73	0.08	0.54	0.86
2	12	18	0.60	0.09	0.40	0.75
3	14	16	0.53	0.09	0.34	0.69
4	16	14	0.47	0.09	0.28	0.63
7	18	12	0.40	0.09	0.22	0.57
14	18	12	0.40	0.09	0.22	0.57

Графічно виживаність щурів упродовж 14 діб посттравматичного періоду показана на рис. 3.11. Максимальна летальність спостерігалася протягом перших 2-х діб (40%).

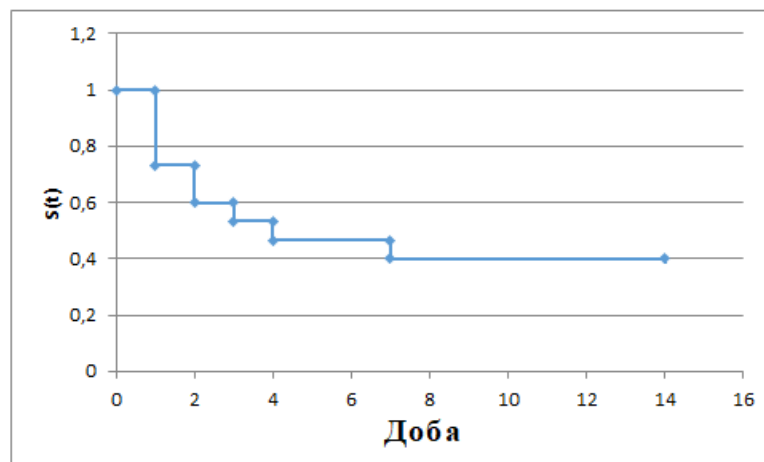


Рис. 3.11. Графічне зображення виживаності щурів  $S(t)$ , розрахованої за процедурою Каплана-Мейера, впродовж 14-ти діб після нанесення ЧМТ.

У всіх щурів після відтворення ЧМТ виявлялися ті чи інші неврологічні розлади. Так, зменшувалася спроможність тварин підтягуватися та утримуватися на проволочі всіма кінцівками, що вказувало на порушення м'язового тону. На 3-тю добу посттравматичного періоду цей показник був зниженим у 87.5% щурів, на 7-му добу – у 83.3%, на 14-ту добу – у 66.7% (таблиця 3.2). Вірогідної нормалізації м'язового тону за час 14-денного спостереження не виявлено.

Таблиця 3.2

**Кількість тварин з порушеннями м'язового тону впродовж 14-ти діб після нанесення ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Результат дослідження			
	Порушення м'язового тону	Нормальний м'язовий тонус	P1	P2
До травмування		30 (100%)		
3	14 (87.5%)	2 (12.5%)	<0.001	
7	10 (83.3%)	2 (16.7%)	<0.001	>0.05
14	8 (66.7%)	4 (33.3%)	<0.001	>0.05

Примітка (у таблицях 3.2 – 3.4):

P1 – імовірність похибки при порівнянні результатів зі значенням до нанесення ЧМТ;

P2 – імовірність похибки при порівнянні результатів зі значеннями попереднього терміну спостереження.

Кількість тварин з порушеннями координації рухів на 3-тю добу посттравматичного періоду становила 93.8%; на 7-му добу – 83.3%; на 14-ту добу – 66.7% (таблиця 3.3). Вірогідного відновлення координації рухів за час 14-денного спостереження не виявлено.

Таблиця 3.3

**Кількість тварин з порушеннями координації рухів впродовж 14-ти діб після нанесення ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Результат дослідження			
	Порушення координації рухів	Нормальна координація рухів	P1	P2
До травмування		30 (100%)		
3	15 (93.8%)	1 (6.2%)	<0.001	
7	10 (83.3%)	2 (16.7%)	<0.001	>0.05
14	8 (66.7%)	4 (33.3%)	<0.001	>0.05

Число тварин з порушеннями больової реакції на 3-тю добу посттравматичного періоду становила 87.5%; на 7-му добу – 66.7%; на 14-ту добу – 50.0% (таблиця 3.4). Суттєвого покращення больової реакції за час 14-денного спостереження не виявлено.

Таблиця 3.4

**Кількість тварин з порушеннями больової реакції впродовж 14-ти діб після нанесення ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Результат дослідження			
	Порушення больової реакції	Нормальна больова реакція	P1	P2
До травмування		30 (100%)		
3	14 (87.5%)	2 (12.5%)	<0.001	
7	8 (66.7%)	4 (33.3%)	<0.001	>0.05



14	6 (50%)	6 (50%)	<0.001	>0.05
----	---------	---------	--------	-------

На рис. 3.12 наведена порівняльна характеристика відсотка тварин з порушеннями м'язового тону, координації рухів та больової реакції в динаміці посттравматичного періоду.

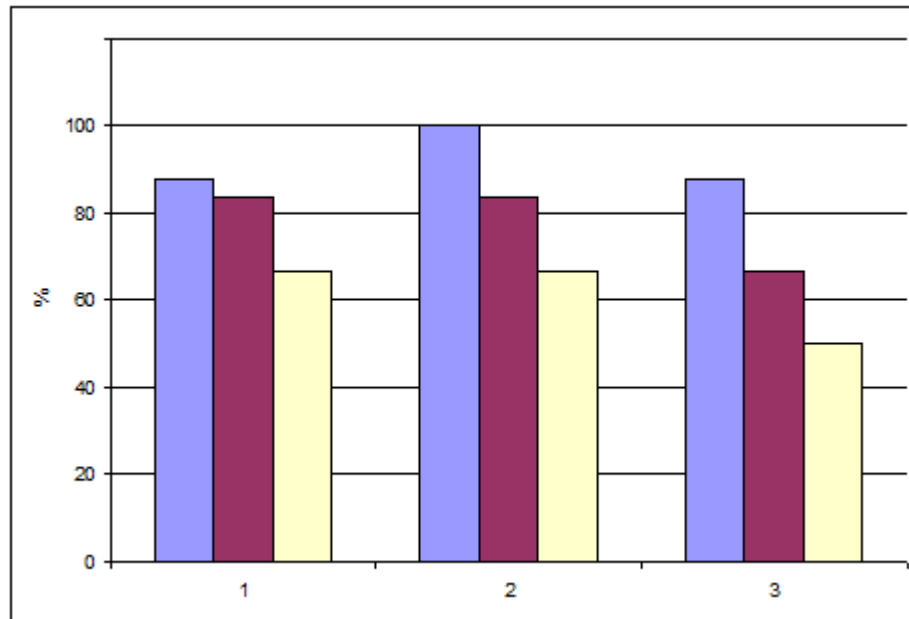


Рис. 3.12. Порівняльна характеристика кількості тварин (у %) з порушеннями м'язового тону (1), координації рухів (2) та больової реакції (3) у динаміці посттравматичного періоду (через 3, 7 та 14 діб після ЧМТ).

Показано превалювання у ранньому посттравматичному періоді розладів м'язового тону та координації рухів. Це знайшло своє підтвердження також при аналізі показників неврологічного дефіциту за шкалою Todd et al. (таблиця 3.5). У порівняльному аспекті вірогідних відмінностей між показниками неврологічного дефіциту, у тому числі інтегральними, через 3 та 7

дiб пiсля ЧМТ не виявлено.

Таблиця 3.5

**Показники шкали Todd et al. для визначення ступеня  
неврологічного дефіциту у тварин у динаміці  
посттравматичного періоду після ЧМТ, сума балів  
(M±m)**

Показники	Термін після ЧМТ	
	на 3-тю добу, n=16	на 7-му добу, n=12
Рівень свідомості	12.50±1.27	12.50±1.69
Рефлекторна сфера	14.31±0.85	13.08±0.88
Дихання	5.94±0.06	5.96±0.08
Рух	9.69±0.31	9.58±0.41
Поведінка	10.88±0.38	10.25±0.45
Інтегральний показник неврологічного дефіциту	53.31±2.47	51.33±2.95

Примітка: вірогідних відмінностей (при  $p < 0.05$ ) між наведеними у таблиці групами не виявлено.

Таким чином, протягом першого тижня після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості у більшості тварин виявляються ознаки неврологічного дефіциту: порушення м'язового тону, координації рухів і больової реакції, що супроводжується високим значенням інтегрального показника неврологічного дефіциту.

### 3.4. Характеристика поведінкових реакцій щурів у динаміці розвитку травматичної хвороби головного мозку після експериментальної черепно-мозкової травми

У тесті з використанням темно-світлої камери (таблиця 3.6) здорові тварини проводили в темному відсіку  $28.3 \pm 1.4\%$  часу. За час досліду вони переходили з однієї частини камери в іншу  $9.1 \pm 0.4$  рази.

Таблиця 3.6

#### Дослідження рухової активності щурів у «темно-світлій камері» у динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ

( $M \pm m$ )

Показники	Фонова активність, n=7	Термін після ЧМТ	
		на 3-тю добу, n=7	на 7-му добу, n=7
Час, проведений у темній частині камери, %	$28.3 \pm 1.4$	$71.0 \pm 5.2$ *	$77.1 \pm 5.1$ *
Кількість переходів між частинами камери	$9.1 \pm 0.4$	$1.9 \pm 0.3$ *	$3.1 \pm 0.3$ */**

Примітка:

\* -  $p < 0.05$  при порівнянні результатів зі значенням до нанесення ЧМТ (фонової активності);

\*\* -  $p < 0.05$  при порівнянні результатів зі значеннями попереднього терміну спостереження.

Тривалість часу, проведеного щурами з ЧМТ в темній частині камери значно збільшувалася та становила на 3-тю добу

посттравматичного періоду –  $71.0 \pm 5.2\%$ ; на 7-му добу –  $77.1 \pm 5.1\%$ , тобто в 2.5 та 2.7 рази ( $p < 0.001$ ) порівняно з фоновою активністю тварин.

Число переходів між частинами камери тваринами, які перенесли ЧМТ, на 3-тю та 7-му добу було знижено щодо того ж показника фонової активності – на 79.1 та 65.9% ( $p < 0.001$ ), відповідно. При цьому через 7 діб після ЧМТ кількість переходів між частинами камери дещо покращилася – збільшилася на 63.2% ( $p < 0.02$ ) порівняно з даними на 3-тю добу посттравматичного періоду.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що щури, які перенесли ЧМТ, упродовж першого тижня після її нанесення знаходяться в стані пригнічення, обмежують своє переміщення та перебувають переважно в темному відсіку камери, що свідчить про їхню тривожність і зменшення дослідницької активності.

Такий висновок підтверджується результатами дослідження поведінкових реакцій у тесті «відкрите поле» (таблиця 3.7).

*Таблиця 3.7*

**Дослідження поведінкових реакцій у тесті «відкрите поле»  
у тварин у динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ  
( $M \pm m$ )**

Показники	Фоновий нейроетологічний портрет, n=7	Термін після ЧМТ	
		на 3-тю добу, n=7	на 7-му добу, n=7
Латентний період, с	$1.7 \pm 0.3$	$5.1 \pm 0.8$ *	$6.1 \pm 0.6$ *
Кількість вертикальних стійок	$18.1 \pm 1.9$	$8.4 \pm 1.3$ *	$8.1 \pm 0.8$ *
Кількість перетнутих квадратів	$85.1 \pm 9.9$	$34.0 \pm 5.1$ *	$36.3 \pm 4.2$ *

Кількість виходів до центру	3.1±0.3	1.1±0.3 *	1.3±0.2 *
Кількість дефекацій	2.4±0.2	1.9±0.4	2.0±0.3
Кількість актів грумінгу	4.0±0.3	3.4±0.5	6.9±0.5 */**

Безпосередньо перед відтворенням ЧМТ було відібрано тварин «стресостійких» тварин, фоновий нейроетологічний портрет яких характеризувався нормальним фізичним і психоемоційним статусом [53].

Через 3 доби після ЧМТ спостерігалось збільшення латентного періоду – втричі ( $p < 0.01$ ), зменшення кількості вертикальних стійок – на 53.6% ( $p < 0.01$ ), числа перетнутих квадратів – на 60.0% ( $p < 0.001$ ), кількості виходів до центру – на 64.5% ( $p < 0.001$ ). Число дефекацій та актів грумінгу вірогідно не змінювалося.

Через 7 діб після ЧМТ латентний період залишався підвищеним – в 3.6 рази. Вертикальна рухова активність, що включає в себе стійки як з упором на стінку, так і без упору, залишалася зниженою впродовж усього першого тижня спостереження та поступалася на 7-му добу посттравматичного періоду на 55.2% ( $p < 0.001$ ) даним фонового нейроетологічного портрету. Показник горизонтальної активності у цей термін також був зменшеним – на 57.3% ( $p < 0.001$ ), а кількість виходів до центру – на 58.1% ( $p < 0.001$ ). Ці дані поряд з результатом оцінки вертикальної активності (rearing) відображають суттєве обмеження дослідницької активності [53].

На 7-му добу посттравматичного періоду виявляється значне збільшення числа актів грумінгу, що перевищує на 72.5% ( $p < 0.001$ ) дані фонового нейроетологічного портрету та вдвічі ( $p < 0.001$ ) – результат, одержаний через 3 доби після ЧМТ.

На думку дослідників [53], грумінг може розглядатися як прояв «замісної» поведінки за умов безвихідної стресорної ситуації, при якій у головному мозку виникає синхронізована біоелектрична активність, що має, виходячи з концепції М.Г. Айрапетянца «про охоронно-стабілізувальний характер гальмівних механізмів у стресових ситуаціях», адаптивне значення, так як вона близька за характером до активності спокою, комфорту та підкріплення.

Таким чином, отримані дані дозволяють зробити висновок, що протягом першого тижня після ЧМТ порушується локомоторна активність і психоемоційний стан білих щурів, зокрема, погіршуються показники рухової та дослідницької активності, орієнтувальної реакції, зростає рівень емоційної тривожності, страху, підвищується частота актів грумінгу.

Результати розділу відображено у статтях [83-85] і тезах [42].

**РОЗДІЛ 4**

**РОЛЬ РЕДОКСЧУТЛИВИХ ФАКТОРІВ ТРАНСКРИПЦІЇ  
NF-κB І AP-1 У МЕТАБОЛІЧНИХ І ФУНКЦІОНАЛЬНИХ  
РОЗЛАДАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПІСЛЯ ВІДТВОРЕННЯ  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ**

**4.1. Вплив інгібіторів NF-κB і AP-1 на генерацію активних форм кисню і азоту в тканині головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми**

При застосування PDTC за умов експерименту на 7-му добу посттравматичного періоду вірогідно знижувалася генерація  $\cdot\text{O}_2^-$  NADPH- і NADH залежними ЕТЛ на 45.3 та 49.1%, відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи, тобто до величин, які статистично не відрізнялися від значень 2-ї групи (таблиця 4.1). Продукція цього радикала NADPH-оксидазою лейкоцитів поступалася на 52.4% ( $p < 0.001$ ) значенню 3-ї групи.

*Таблиця 4.1*

**Вплив інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 на генерацію супероксидного аніон-радикала у гомогенаті великих півкуль головного мозку через 7 діб після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми, нмоль/с·г ( $M \pm m$ ,  $n=28$ )**

Групи	Індуктори вироблення $\cdot\text{O}_2^-$		
	NADPH	NADH	Пірогенал
1	2	3	4
Хибнотравмовані тварини	11.31±0.40	13.57±0.47	1.25±0.04

Продовження табл. 4.1

1	2	3	4
Моделювання експериментальної ЧМТ	21.08±0.40 *	27.19±1.54 *	2.67±0.18 **
Застосування PDTC після моделювання експериментальної ЧМТ	11.53±0.26 **	13.83±0.31 **	1.27±0.03 **
Застосування SR 11302 після моделювання експериментальної ЧМТ	12.91±0.34 *,**	15.48±0.41 *,**	1.42±0.04 *,**

Примітка (у таблицях 4.1-4.4):

\* –  $p < 0.05$  порівняно з результатами 2-ї групи;

\*\* –  $p < 0.05$  порівняно з результатами 3-ї групи.

При введенні SR 11302 через 7 діб після моделювання експериментальної ЧМТ також зменшувалося вироблення  $\cdot O_2^-$  NADPH- і NADH залежними ЕТЛ на 38.8 та 43.1%, відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи, але величини цих показників все ж таки поступалися значенням 2-ї групи. Генерація  $\cdot O_2^-$  NADPH-оксидазою лейкоцитів знижувалася за цих умов на 46.8% ( $p < 0.001$ ) порівняно з результатом 3-ї групи.

При застосуванні PDTC на 7 добу посттравматичного періоду вірогідно знижувалася у гомогенаті великих півкуль головного мозку активність NOS – загальна та її індукцйбельної ізоформи – на 43.4 та 53.9% ( $p < 0.01$ ), відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи (таблиця 4.2). Активність сNOS за цих умов збільшувалася на 87.2% ( $p < 0.001$ ).

При введенні SR 11302 на 7-му добу після моделювання ЧМТ у гомогенаті великих півкуль головного мозку також зменшувалася



активність NOS та iNOS – на 37.1 та 42.7% ( $p < 0.01$ ), відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи. Активність cNOS збільшувалася на 33.7% ( $p < 0.01$ ).

Таблиця 4.2

**Вплив інгібіторів транскрипційних чинників NF- $\kappa$ B та AP-1 на активність ізоформ синтази оксиду азоту в гомогенаті великих півкуль головного мозку через 7 діб після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми ( $M \pm m$ ,  $n=28$ )**

Групи	Активність NOS, мкмоль $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв.}$		
	Загальна	cNOS	iNOS
Хибнотравмовані тварини	$7.26 \pm 0.77$	$1.60 \pm 0.13$	$5.65 \pm 0.75$
Моделювання експериментальної ЧМТ	$11.49 \pm 1.27^*$	$0.86 \pm 0.06^*$	$10.62 \pm 1.26^*$
Застосування PDTC після моделювання експериментальної ЧМТ	$6.50 \pm 0.49^{**}$	$1.61 \pm 0.11^{**}$	$4.90 \pm 0.58^{**}$
Застосування SR 11302 після моделювання експериментальної ЧМТ	$7.23 \pm 0.57^{**}$	$1.15 \pm 0.07^{*,**}$	$6.08 \pm 0.57^{**}$

При застосування PDTC і SR 11302 на 7 добу посттравматичного періоду активність орнітиндекарбоксилази (рис. 4.1) у гомогенаті великих півкуль головного мозку підвищувалася – до  $264.4 \pm 5.2$  та  $251.9 \pm 6.8$  нмоль/г·хв, тобто на 44.5 та 37.7% ( $p < 0.001$ ), відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи.

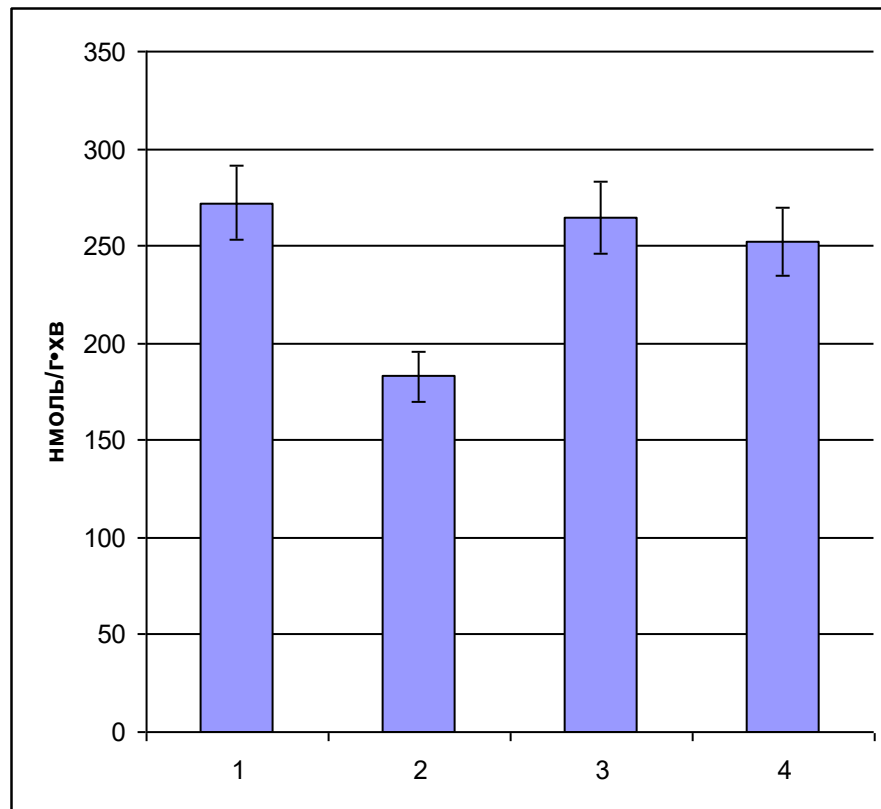


Рис. 4.1. Активність орнітиндекарбоксилази (нмоль/г·хв) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в хибнотравмованих тварин (1); після відтворення експериментальної ЧМТ (2); при застосуванні після моделювання ЧМТ PDTC (3) та SR 11302 (4).

Розрахунок індексу спряження cNOS (рис. 4.2) виявив підвищення цього показника при призначенні PDTC та SR 11302 – до  $0.141 \pm 0.012$  та  $0.090 \pm 0.007$ , тобто у 3.4 та 2.2 рази, відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи (при значенні  $p < 0.001$  для обох).

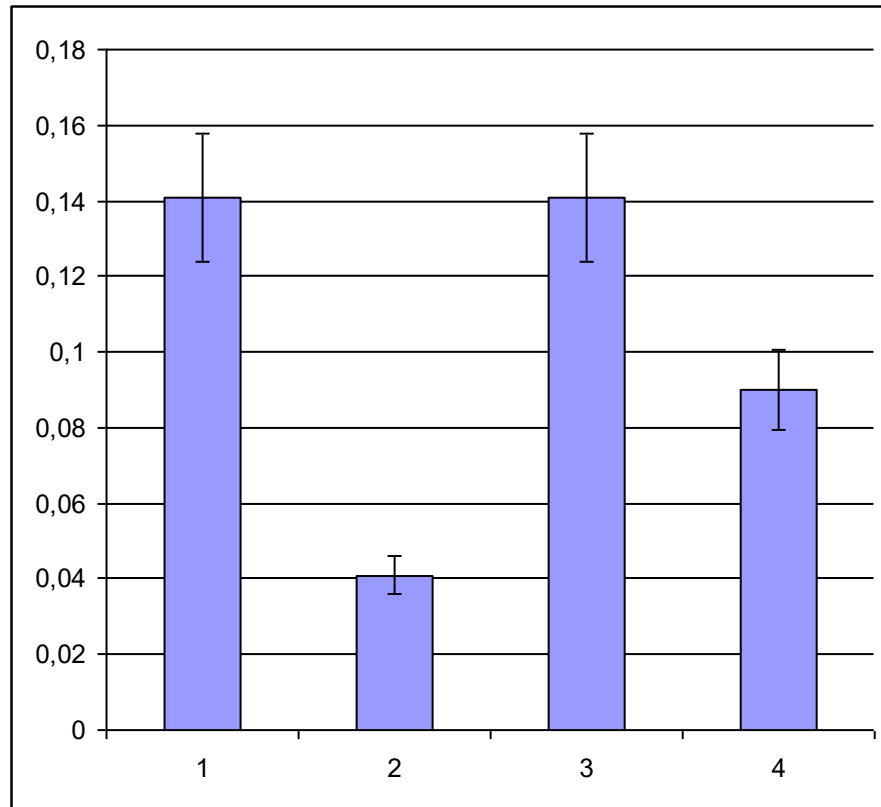


Рис. 4.2. Значення індексу спряження sNOS у тканині великих півкуль головного мозку в хибнотравмованих тварин (1); після відтворення експериментальної ЧМТ (2); при застосуванні після моделювання ЧМТ PDTC (3) та SR 11302 (4).

За умов застосуванні інгібіторів NF- $\kappa$ B та AP-1 суттєво зменшувалося утворення пероксинітриту (рис. 4.3). При введенні PDTC та SR 11302 вміст пероксинітритів становив  $1.66 \pm 0.08$  та  $1.92 \pm 0.10$  мкмоль/г, відповідно, що на 31.1% ( $p < 0.001$ ) та на 20.3% ( $p < 0.01$ ) поступалося значенням 3-ї групи.

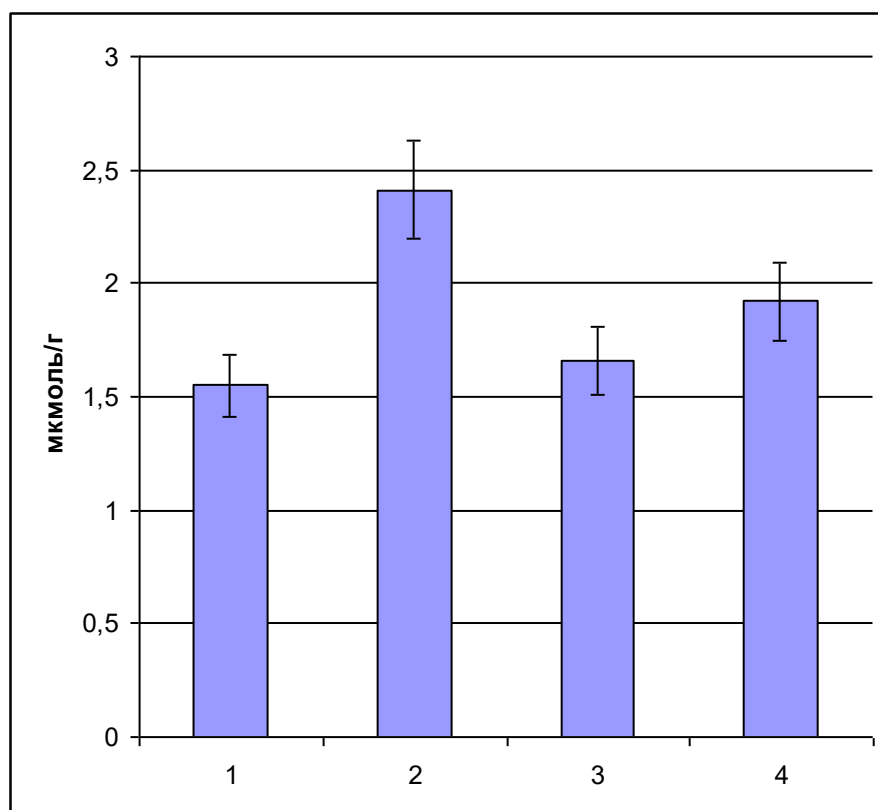


Рис. 4.3. Вміст пероксинітритів (мкмоль/г) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в хибнотравмованих тварин (1); після відтворення експериментальної ЧМТ (2); при застосуванні після моделювання ЧМТ PDTC (3) та SR 11302 (4).

Таким чином, застосування інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB (піролідиндитіокарбамату амонію) та AP-1 (SR 11302) істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості ознаки окисно-нітрозативного стресу, зменшує генерацію супероксидного аніон-радикала та активність синтази оксиду азоту (загальної та індукцйбельної) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази, що конкурує з попереднім ферментом на субстрат (L-аргінін), покращує спряженність її конститутивної ізоформи, обмежує концентрацію пероксинітриту.

#### 4.2. Вплив інгібіторів NF-κB і AP-1 на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканині головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми

Призначення PDTC за умов експерименту вірогідно знижувало у гомогенаті великих півкуль головного мозку концентрацію ТБК-активних сполук до та після інкубації у прооксидантному буферному розчині (таблиця 4.3) – на 19.9 та 26.5% ( $p < 0.001$ ), відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи. Приріст концентрації ТБК-активних сполук знижувався на 49.2% ( $p < 0.001$ ) порівняно з даними 3-ї групи.

Таблиця 4.3

#### Вплив інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 на показники пероксидного окиснення ліпідів в гомогенаті великих півкуль головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми ( $M \pm m$ , $n=28$ )

Групи	ТБК-активні сполуки, мкмоль/кг		
	До інкубації	Після інкубації	Приріст за час інкубації
1	2	3	4
Хибнотравмовані тварини	36.61±01.22	45.3±1.03	8.69±0.48
Моделювання експериментальної ЧМТ	52.64±0.94 *	67.72±1.20 *	15.08±0.50 *
Застосування PDTC після моделювання експериментальної ЧМТ	42.14±1.33 *,**	49.79±0.97 *,**	7.66 ±0.55 **

Продовження табл. 4.3

1	2	3	4
Застосування SR 11302 після моделювання експериментальної ЧМТ	35.95±0.68 **	44.47±0.89 **	8.52±0.30 **

Застосування SR 11302 після моделювання ЧМТ зменшувало у гомогенаті великих півкуль головного мозку концентрацію ТБК-активних сполук до та після інкубації у прооксидантному буферному розчині – на 31.7 та 34.3% ( $p < 0.001$ ) відповідно порівняно з результатом 3-ї групи. Приріст концентрації ТБК-активних сполук знижувався на 43.5% ( $p < 0.001$ ) відповідно порівняно з результатом 3-ї групи.

При введенні інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 активність СОД і каталази (таблиця 4.4) збільшувалася в 2.4 та 2.1 раза ( $p < 0.001$ ) (при застосуванні PDTC) і на 85.7% ( $p < 0.05$ ) та 72.2% ( $p < 0.01$ ) (при призначенні SR 11302) порівняно з даними 3-ї групи.

Таблиця 4.4

**Вплив інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 на антиоксидантного захисту в гомогенаті великих півкуль головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми ( $M \pm m$ ,  $n=28$ )**

Групи	Активність антиоксидантних ферментів	
	СОД, од. акт.	Каталаза, мккат/г
1	2	3
Хибнотравмовані тварини	0.34±0.01	0.40±0.01

Продовження табл. 4.4

1	2	3
Моделювання експериментальної ЧМТ	0.14 ±0.01 *	0.18±0.01 *
Застосування PDTC після моделювання експериментальної ЧМТ	0.34±0.04 **	0.38±0.04 **
Застосування SR 11302 після моделювання експериментальної ЧМТ	0.26±0.05 **	0.31±0.04 **

Одержані результати підтверджують залежність розвитку окисно-нітрозативного стресу у великих півкулях головного мозку від активності NF-κB та AP-1-залежних сигнальних шляхів.

Таким чином, застосування інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB (піролідиндитіокарбамату амонію) та AP-1 (SR 11302) істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості розвиток пероксидного окиснення ліпідів, суттєво підвищує у ній антиоксидантний потенціал.

#### **4.3. Вплив інгібіторів NF-κB і AP-1 на виживаність щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми**

Застосування всіх інгібіторів NF-κB і AP-1, що вивчалися, вірогідно збільшувало виживаність тварин протягом 7 діб посттравматичного періоду.

Так, при призначенні PDTC після моделювання експериментальної ЧМТ виживаність щурів, розрахована за процедурою Каплана-Мейера, на 3-тю та 7-му добу посттравматичного періоду становила  $0.88 \pm 0.08$  (таблиця 4.5).

Таблиця 4.5

**Вплив PDTC на виживаність щурів (метод Каплана-Мейера)  
після моделювання ЧМТ протягом 14-ти діб спостереження**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Кумулятивна кількість тварин, що		Показник виживаності S(t)	Ст. похибка	Межі квантилів	
	загинули	вижили			Нижній	Верхній
0		16	1			
1	1	15	0.94	0.06	0.67	1.00
2	1	15	0.94	0.06	0.67	0.99
3	2	14	0.88	0.08	0.64	0.96
5	2	14	0.88	0.08	0.64	0.96
7	2	14	0.88	0.08	0.64	0.96

Графічно виживаність щурів упродовж 7 діб посттравматичного періоду при застосуванні PDTC показана на рис. 4.4. Летальність тварин протягом перших 2-х діб становила 6.3%.



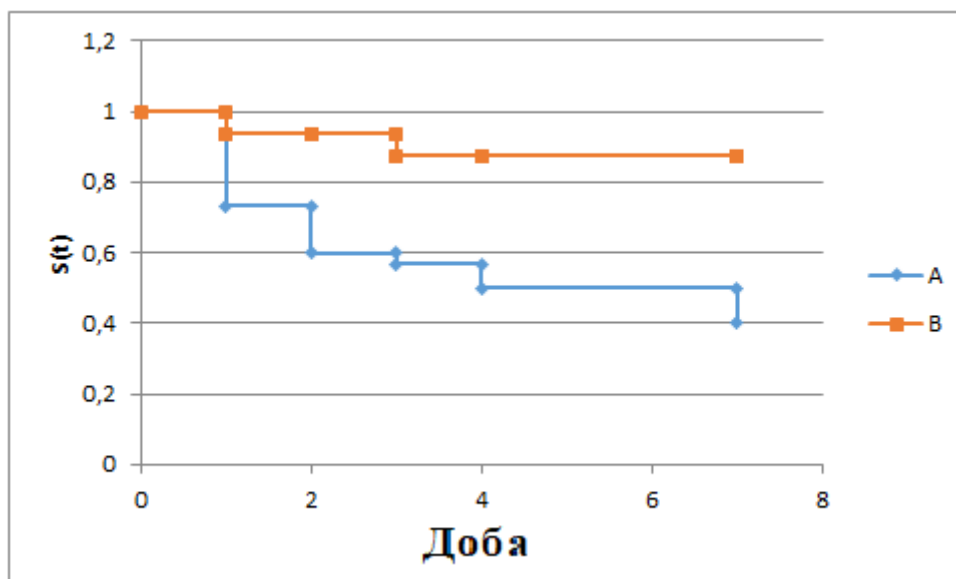


Рис. 4.4. Вживаність щурів  $S(t)$ , розрахована за процедурою Каплана-Мейера, впродовж 7-ми діб після нанесення ЧМТ (А) та при застосуванні після травмування PDTC (В).

У таблиці 4.6 наведено дані статистичного аналізу результатів дослідження виживаності тварин при застосуванні PDTC з використанням різних критеріїв (логарифмічні рангові критерії Log-rank 1 та Log-rank 2, методи Wilcoxon та Tarone-Ware). Усі вони спростували нульову статистичну гіпотезу про тотожність варіаційних рядів контрольної групи (після нанесення ЧМТ) та при введенні інгібітора активації NF-κB.

Таблиця 4.6

**Оцінка нульової статистичної гіпотези при порівнянні показника виживаності щурів при застосуванні PDTC та без нього після моделювання ЧМТ**

Методи статистичного дослідження	Статистичний показник	Імовірність похибки (p)
1	2	3

Продовження табл. 4.6

1	2	3
Log-rank 1	7.527701	0.006076
Log-rank 2	8.572348	0.003413
Wilcoxon	7.997304	0.004685
Tarone-Ware	8.339959	0.003878

При застосуванні SR 11302 після моделювання експериментальної ЧМТ виживаність щурів, розрахована за методом Каплана-Мейера, на 3-тю добу посттравматичного періоду становила  $0.81 \pm 0.10$ , а на 7-му добу –  $0.75 \pm 0.11$  (таблиця 4.7).

Таблиця 4.7

**Вплив SR 11302 на виживаність щурів (метод Каплана-Мейера)  
після моделювання ЧМТ протягом 14-ти діб спостереження**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Кумулятивна кількість тварин, що		Показник виживаності S(t)	Ст. похибка	Межі квартилів, %	
	загинули	вижили			Нижній	Верхній
0		16	1			
1	1	15	0.93	0.06	0.67	0.99
2	2	14	0.88	0.08	0.64	0.96
3	3	13	0.81	0.10	0.59	0.92
5	4	12	0.75	0.11	0.55	0.87
7	4	12	0.75	0.11	0.55	0.87

Графічно виживаність щурів упродовж 7 діб посттравматичного періоду при застосуванні SR 11302 показана на рис. 4.5. Летальність тварин протягом перших 2-х діб становила 12.5%.

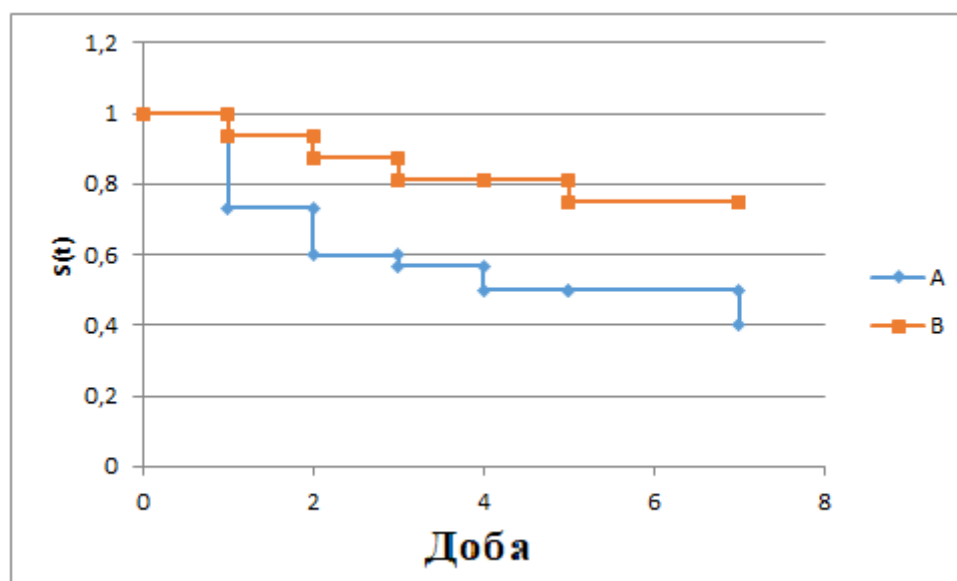


Рис. 4.5. Вживаність щурів  $S(t)$ , розрахована за процедурою Каплана-Мейера, впродовж 7-ми діб після нанесення ЧМТ (А) та при застосуванні після травмування SR 11302 (В).

У таблиці 4.8 наведено дані статистичного аналізу результатів дослідження виживаності тварин при застосуванні SR 11302 з використанням різних критеріїв (логарифмічні рангові критерії Log-rank 1 та Log-rank 2, методи Wilcoxon та Tarone-Ware). Усі ці методи спростували нульову статистичну гіпотезу про тотожність варіаційних рядів контрольної групи (після нанесення ЧМТ) та при введенні інгібітора активації AP-1.

Таблиця 4.8

**Оцінка нульової статистичної гіпотези при порівнянні показника виживаності щурів при застосуванні SR 11302 та без нього після моделювання ЧМТ**

Методи статистичного дослідження	Статистичний показник	Імовірність похибки (p)
1	2	3

Продовження табл. 4.8

1	2	3
Log-rank 1	4.194715	0.04055
Log-rank 2	4.761421	0.029105
Wilcoxon	4.835189	0.027885
Tarone-Ware	4.83933	0.027818

Таким чином, застосування інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB (піролідиндитіокарбамату амонію) та AP-1 (SR 11302) вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання ЧМТ, зменшує летальність тварин у період гострої реакції на травму (на 2-гу добу).

#### **4.4. Вплив інгібіторів NF-κB і AP-1 на показники неврологічного дефіциту у щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми**

При застосуванні інгібітора NF-κB після ЧМТ кількість тварин з порушеннями м'язового тонузу вірогідно зменшувалася (таблиця 4.9). Так, введення PDTC супроводжувалося меншою кількістю щурів з порушеннями м'язового тонузу: на 3-тю добу – 35.7%, на 7-му добу – 21.4%, що на 51.8 та 61.9% поступалося відповідним значенням 3-ї групи.

Таблиця 4.9

**Вплив PDTC на кількість тварин з порушеннями м'язового тонусу в динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + PDTC		P
	Порушення м'язового тонусу	Нормальний м'язовий тонус	Порушення м'язового тонусу	Нормальний м'язовий тонус	
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	
3	14 (87.5%)	2 (12.5%)	5 (35.7%)	9 (64.3%)	<0.01
7	10 (83.3%)	2 (16.7%)	3 (21.4%)	11 (78.6%)	<0.005

Примітка (у таблицях 4.9 – 4.14): P – імовірність похибки при порівнянні результатів зі значеннями 3-ї групи.

При цьому також істотно знижувалося число щурів з порушеннями координації рухів (таблиця 4.10). На 3-тю добу кількість таких тварин становила 42.9%, на 7-му добу – 14.3%, що на 50.9 та 69.0% було нижчим за відповідні результати 3-ї групи.

Таблиця 4.10

**Вплив PDTC на кількість тварин з порушеннями координації рухів у динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + PDTC		P
	Порушення координації рухів	Нормальна координація рухів	Порушення координації рухів	Нормальна координація рухів	
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	
3	15 (93.8%)	1 (6.2%)	6 (42.9%)	8 (57.1%)	<0.02
7	10 (83.3%)	2 (16.7%)	2 (14.3%)	12 (85.7%)	<0.002

Кількість тварин з порушеннями больової реакції через 7 діб після ЧМТ при застосуванні PDTC також достовірно знижувалася (таблиця 4.11). На 3-тю добу кількість таких щурів становила 28.6%, на 7-му добу – 14.3%, що на 58.9 та 52.4% поступалося відповідним даним 3-ї групи.

Таблиця 4.11

**Вплив PDTC на кількість тварин з порушеннями больової реакції в динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + PDTC		P
	Порушення больової реакції	Нормальна больова реакція	Порушення больової реакції	Нормальна больова реакція	
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	
3	14 (87.5%)	2 (12.5%)	4 (28.6%)	10 (71.4%)	<0.003
7	8 (66.7%)	4 (33.3%)	2 (14.3%)	12 (85.7%)	<0.02

При застосуванні інгібітора AP-1 після ЧМТ кількість тварин з порушеннями м'язового тонузу вірогідно зменшувалася (таблиця 4.12). Так, введення SR 11302 супроводжувалося меншою кількістю щурів з порушеннями м'язового тонузу: на 3-тю добу – 38.5%, на 7-му добу – 33.3%, що на 49.0 та 50.0% поступалося відповідним результатам 3-ї групи.

Таблиця 4.12

**Вплив SR 11302 на кількість тварин з порушеннями м'язового тонусу в динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + SR 11302		p
	Порушення м'язового тонусу	Нормальний м'язовий тонус	Порушення м'язового тонусу	Нормальний м'язовий тонус	
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	
3	14 (87.5%)	2 (12.5%)	5 (38.5%)	8 (61.5%)	<0.02
7	10 (83.3%)	2 (16.7%)	4 (33.3%)	8 (66.7%)	<0.04

Число щурів з порушеннями координації рухів при застосуванні SR 11302 за умов експерименту на 3-тю добу становило 53.8% та суттєво не відрізнялося від даних контролю (таблиця 4.13). Проте на 7-му добу вірогідно зменшувалося до 25.0%, що на 58.3% було нижчим за результат 3-ї групи.



Таблиця 4.13

**Вплив SR 11302 на кількість тварин з порушеннями  
координації рухів у динаміці посттравматичного періоду  
після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + SR 11302		P
	Порушення координації рухів	Нормальна координація рухів	Порушення координації рухів	Нормальна координація рухів	
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	
3	15 (93.8%)	1 (6.2%)	7 (53.8%)	6 (46.2%)	>0.05
7	10 (83.3%)	2 (16.7%)	3 (25.0%)	9 (75.0%)	<0.02

Кількість тварин з порушеннями больової реакції через 7 діб після ЧМТ при застосуванні SR 11302 достовірно знижувалася (таблиця 4.14). На 3-тю добу кількість таких щурів становила 30.8%, на 7-му добу – 25.0%, що на 56.7 та 41.7% поступалося відповідним даним 3-ї групи.

Таблиця 4.14

**Вплив SR 11302 на кількість тварин з порушеннями больової реакції в динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + SR 11302		P
	Порушення больової реакції	Нормальна больова реакція	Порушення больової реакції	Нормальна больова реакція	
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	
3	14 (87.5%)	2 (12.5%)	4 (30.8%)	9 (69.2%)	<0.003
7	8 (66.7%)	4 (33.3%)	3 (25.0%)	9 (75.0%)	>0.05

Застосування інгібіторів NF-κB і AP-1 виявило значний вплив на показники неврологічного дефіциту за шкалою Todd et al. (таблиця 4.15).

Так, введення PDTC супроводжувалося вірогідним зменшенням показників порушення рівня свідомості, рефлексорної сфери, дихання, руху та поведінки. Інтегральний показник неврологічного дефіциту за цих умов становив  $25.64 \pm 2.06$ , що вдвічі поступалося даним 3-ї групи.

Таблиця 4.15

**Вплив інгібіторів NF-κB і AP-1 на показники шкали Todd et al.  
для визначення ступеня неврологічного дефіциту у тварин  
через 7 діб після ЧМТ, сума балів**

Показники	Умови досліджу		
	Контроль (ЧМТ), n=12	ЧМТ + PDTC, n=14	ЧМТ + SR 11302, n=12
Рівень свідомості	12.50±1.69	6.79±0.66 *	7.08±0.74 *
Рефлекторна сфера	13.08±0.88	7.86±0.82 *	10.17±0.58 *
Дихання	5.96±0.08	2.14±0.78 *	4.00±0.85
Рух	9.58±0.41	4.64±0.36 *	5.83±0.56 *
Поведінка	10.25±0.45	4.21±0.21 *	5.00±0.43 *
Інтегральний показник неврологічного дефіциту	51.33±2.95	25.64±2.06 *	31.50±2.47 *

Примітка: \* -  $p < 0.05$  похибки при порівнянні результатів зі значеннями контролю (3-ї групи).

При застосуванні SR 11302 значно знижувалися показники розладів свідомості, рефлекторної сфери, руху та поведінки. При цьому інтегральний показник неврологічного дефіциту становив  $31.50 \pm 2.47$ , що на 38.6% було меншим за результат 3-ї групи.

Таким чином, застосування інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB (піролідиндітіокарбамату амонію) та AP-1 (SR 11302) істотно обмежує впродовж першого тижня після моделювання ЧМТ порушення

м'язового тону, координації рухів та больової реакції, що супроводжується суттєвим зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту.

#### **4.5. Вплив інгібіторів NF-κB і AP-1 на характеристики поведінкових реакцій щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми**

Застосування інгібіторів NF-κB і AP-1 виявило значний вплив на показники рухової активності щурів у «темно-світлій камері» (таблиця 4.16).

Так, введення PDTC супроводжувалося вірогідним зменшенням на 7 добу посттравматичного періоду часу, проведеного тваринами у темній частині камери, - на 32.9% ( $p < 0.01$ ), число переходів між частинами камери – збільшувалося в 2.45 рази ( $p < 0.001$ ) порівняно з даними 3-ї групи.

*Таблиця 4.16*

#### **Вплив інгібіторів NF-κB і AP-1 на рухову активність щурів у «темно-світлій камері» через 7 діб після ЧМТ ( $M \pm m$ , $n=21$ )**

Показники	Умови дослідження		
	Контроль (ЧМТ)	ЧМТ + PDTC	ЧМТ + SR 11302
Час, проведений у темній частині камери, %	77.1±5.1 *	51.7±5.3 *	63.1±2.8 *
Кількість переходів між частинами камери	3.1±0.3 */**	7.6±0.3 *	5.0±0.4 *

Примітка (у таблицях 4.16 – 4.17): \* -  $p < 0.05$  при порівнянні результатів зі значеннями контролю (3-ї групи).

При застосуванні SR 11302 тривалість часу, проведеного тваринами у темній частині камери, поступалася на 18.2% ( $p < 0.05$ ), а число переходів між частинами камери – перевищувало на 61.3% ( $p < 0.01$ ) відповідні результати 3-ї групи.

Покращення локомоторних реакцій при дії за умов ЧМТ інгібіторів NF-кВ і AP-1 підтверджується результатами тесту «відкрите поле» (таблиця 4.17).

Таблиця 4.17

**Вплив інгібіторів NF-кВ і AP-1 на поведінкові реакції у тесті «відкрите поле» у тварин через 7 діб після ЧМТ ( $M \pm m$ ,  $n=21$ )**

Показники	Умови досліджу		
	Контроль (ЧМТ)	ЧМТ + PDTC	ЧМТ + SR 11302
Латентний період, с	6.1±0.6	2.9 ±0.3 *	3.7 ±0.5 *
Кількість вертикальних стійок	8.1±0.8	14.1±1.1 *	11.9±1.2 *
Кількість перетнутих квадратів	36.3±4.2	67.4±6.2 *	52.6±6.3
Кількість виходів до центру	1.3±0.2	2.7±0.3 *	2.3±0.3 *
Кількість дефекацій	2.0±0.3	2.1±0.1	1.7±0.2
Кількість актів грумінгу	6.9±0.5	4.6±0.4 *	5.4±0.4 *

При введенні PDTC на 52.5% ( $p < 0.001$ ) зменшувався латентний період порівняно з даними 3-ї групи. При цьому значно збільшувалися показники амбуляцій: кількість вертикальних стійок – на 74.1%

( $p < 0.001$ ), число перетнутих квадратів – на 85.7% ( $p < 0.01$ ), кількість виходів до центру – в 2.1 рази ( $p < 0.01$ ) порівняно з результатом групи порівняння. Число актів грумінгу зменшувалося на 33.3% ( $p < 0.01$ ).

При застосуванні SR 11302 латентний період на час дослідження знижувався на 39.3% ( $p < 0.01$ ) порівняно з даними 3-ї групи. Кількість вертикальних стійок збільшувалася на 46.9% ( $p < 0.05$ ), кількість виходів до центру – на 76.9% ( $p < 0.02$ ) порівняно з результатом групи порівняння. Проте число перетнутих квадратів істотно не змінювалося.

Число актів грумінгу зменшувалося на 21.7% ( $p < 0.05$ ).

Таким чином, застосування інгібіторів транскрипційних чинників NF- $\kappa$ B (піролідиндитіокарбамату амонію) та AP-1 (SR 11302) покращує протягом першого тижня після відтворення ЧМТ показники рухової та дослідницької активності, орієнтувальної реакції, зменшують рівень емоційної тривожності та страху.

Результати розділу відображено у статтях [83-85] і тезах [23, 43, 44, 46, 81, 86, 88, 89].

## РОЗДІЛ 5

### РОЛЬ ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦІЇ NRF2 У МЕТАБОЛІЧНИХ І ФУНКЦІОНАЛЬНИХ РОЗЛАДАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПІСЛЯ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

#### 5.1. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на генерацію активних форм кисню і азоту в тканині головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми

При застосування DMF за умов експерименту через 7 діб після відтворення ЧМТ вірогідно знижувалася генерація  $\cdot\text{O}_2^-$  NADPH- і NADH залежними ЕТЛ на 34.4 та 38.9%, відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи (таблиця 5.1). Продукція цього радикала NADPH-оксидазою лейкоцитів поступалася на 43.1% ( $p < 0.001$ ) значенню 3-ї групи.

*Таблиця 5.1*

#### Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на генерацію супероксидного аніон-радикала у гомогенаті великих півкуль головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми, нмоль/с·г ( $M \pm m$ , $n=28$ )

Групи	Індуктори вироблення $\cdot\text{O}_2^-$		
	NADPH	NADH	Пірогенал
1	2	3	4
Хибнотравмовані тварини	11.31±0.40	13.57±0.47	1.25±0.04
Моделювання експериментальної ЧМТ	21.08±0.40 *	27.19±1.54 *	2.67±0.18 **
Застосування DMF після моделювання ЧМТ	13.83±0.18 *,**	16.61±0.21 **	1.52±0.02 **

Продовження табл. 5.1

1	2	3	4
Застосування EGCG після моделювання ЧМТ	16.66±0.68 *,**	19.98±0.82 *,**	1.83±0.08 *,**

Примітка (у таблицях 5.1-5.4):

\* –  $p < 0.05$  порівняно з результатами 2-ї групи;\*\* –  $p < 0.05$  порівняно з результатами 3-ї групи.

При введенні EGCG через 7 діб після моделювання ЧМТ також зменшувалося вироблення  $\cdot O_2^-$  NADPH- і NADH залежними ЕТЛ на 21.0 та 26.5%, відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи. Генерація  $\cdot O_2^-$  NADPH-оксидазою лейкоцитів знижувалася за цих умов на 31.5% ( $p < 0.01$ ) порівняно з результатом 3-ї групи.

При застосуванні DMF на 7 добу посттравматичного періоду у гомогенаті великих півкуль головного мозку вірогідно знижувалася активність NOS – загальна та її індукцибельної ізоформи – на 61.2 та 71.6% ( $p < 0.001$ ), відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи (таблиця 5.2). Активність cNOS за цих умов збільшувалася на 67.4% ( $p < 0.001$ ).

Таблиця 5.2

**Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на активність ізоформ синтази оксиду азоту в гомогенаті великих півкуль головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми ( $M \pm m$ ,  $n=28$ )**

Групи	Активність NOS, мкмоль $NO_2^-$ /г·хв.		
	Загальна	cNOS	iNOS
1	2	3	4



Продовження табл. 5.2

1	2	3	4
Хибнотравмовані тварини	7.26±0.77	1.60±0.13	5.65±0.75
Моделювання експериментальної ЧМТ	11.49±1.27 *	0.86±0.06 *	10.62±1.26 *
Застосування DMF після моделювання ЧМТ	4.46±0.51 *,**	1.44±0.07 **	3.02±0.49 *,**
Застосування EGCG після моделювання ЧМТ	7.42±0.27 **	0.47±0.06 *,**	6.95±0.28 **

При введенні EGCG на 7-му добу після моделювання ЧМТ у гомогенаті великих півкуль головного мозку також зменшувалася активність NOS та iNOS – на 35.4 (p<0.01) та 34.6% (p<0.02), відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи. Активність sNOS збільшувалася на 45.3% (p<0.001).

При застосування DMF та EGCG на 7 добу посттравматичного періоду активність орнітиндекарбоксилази (рис. 5.1) у гомогенаті великих півкуль головного мозку підвищувалася – до 253.1±10.9 та 225.6±13.5 нмоль/Г·хв, тобто на 38.3 (p<0.001), та 23.3% (p<0.02), відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи.

При застосування DMF на 7 добу посттравматичного періоду збільшувався індекс спряження sNOS (рис. 5.2) - до 0.104±0.005, що 2.5 раза (p<0.001) перевищувало значення 3-ї групи. При призначенні EGCG за умов експерименту величина цього показника становила 0.029±0.004, що вірогідно не відрізнялося від результату групи порівняння.

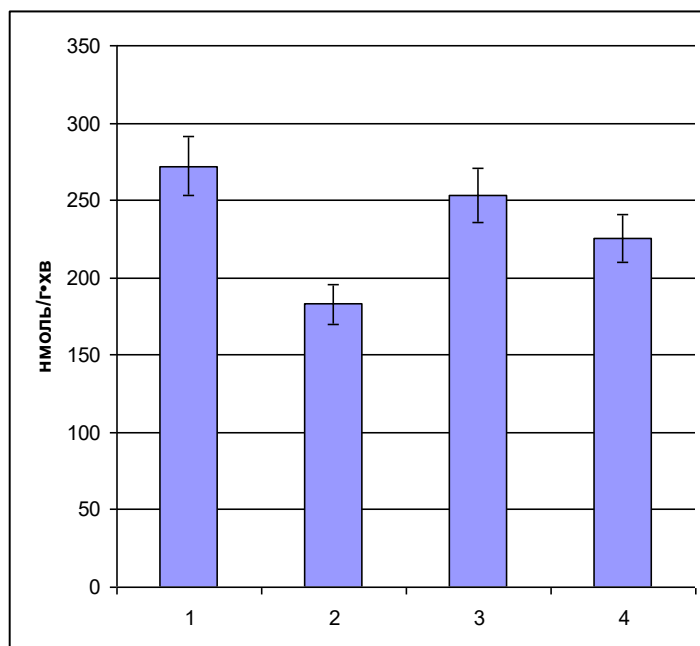


Рис. 5.1. Активність орнітиндекарбоксилази (нмоль/г·хв) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в хибнотравмованих тварин (1); після відтворення експериментальної ЧМТ (2); при застосуванні після моделювання ЧМТ DMF (3) та EGCG (4).

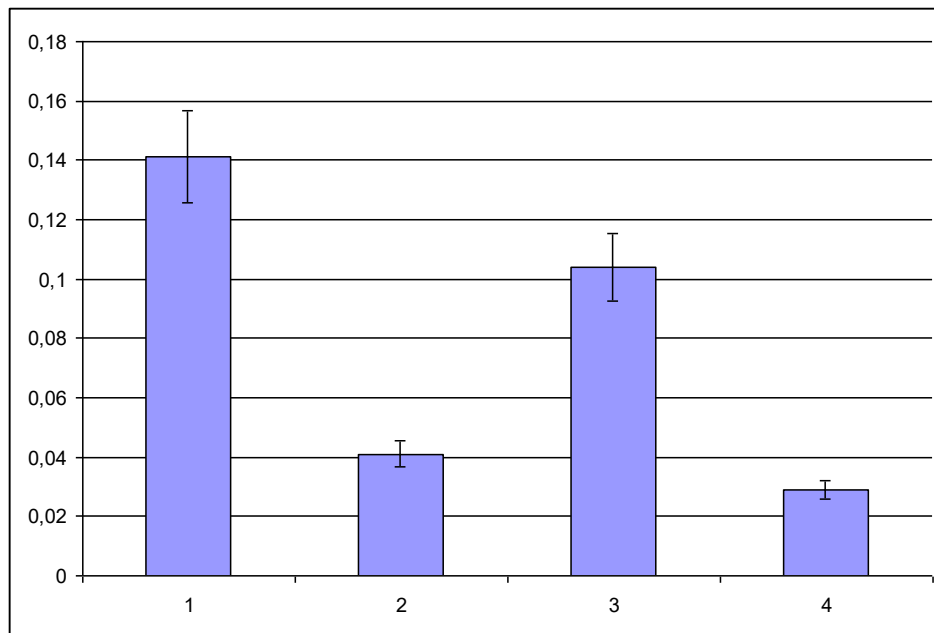


Рис. 5.2. Значення індексу спряження sNOS у тканині великих півкуль головного мозку в хибнотравмованих тварин (1); після відтворення експериментальної ЧМТ (2); при застосуванні після моделювання ЧМТ DMF (3) та EGCG (4).

При введенні DMF вміст пероксинітритів знижувався до  $1.51 \pm 0.05$  мкмоль/г (рис. 5.3), що було на 37.3% ( $p < 0.001$ ) нижчим за результат 3-ї групи. При застосуванні EGCG величина цього показника складала  $2.08 \pm 0.13$  мкмоль/г, що вірогідно не відрізнялося від значення групи порівняння.

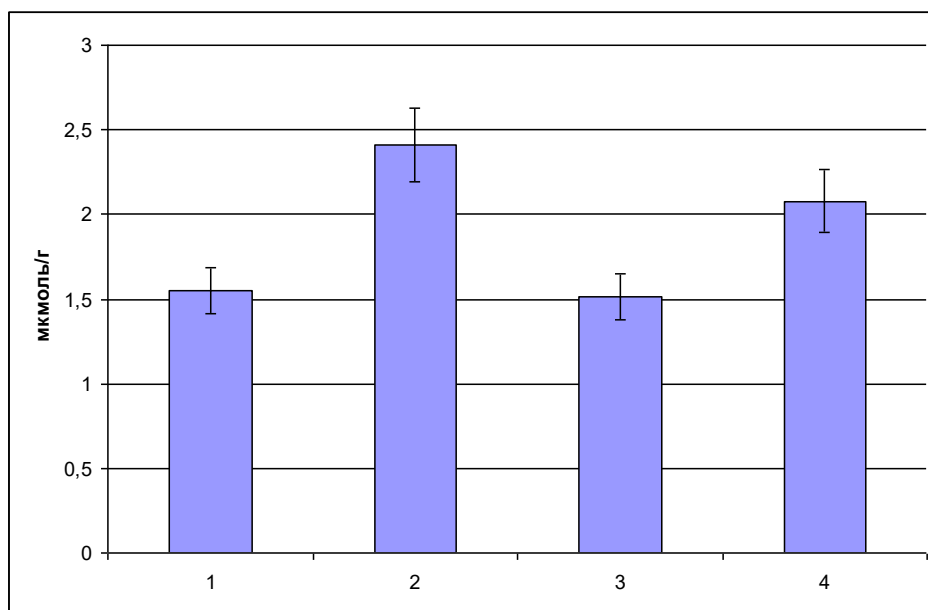


Рис. 5.3. Вміст пероксинітритів у гомогенаті великих півкуль головного мозку в хибнотравмованих тварин (1); після відтворення експериментальної ЧМТ (2); при застосуванні після моделювання ЧМТ DMF (3) та EGCG (4).

Таким чином, застосування індукторів транскрипційного чинника NRF2 диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості ознаки окисно-нітрозативного стресу, зменшує генерацію супероксидного аніон-радикала та активність синтази оксиду азоту (загальної та індукцибельної) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази, що конкурує з попереднім ферментом на субстрат (L-аргінін). Окрім того,

диметилфумарат, на відміну від епігалокатехін-3-галату, виявляє здатність покращувати спряженність конститутивної ізоформи NO-синтази та обмежувати концентрацію пероксинітриту.

## **5.2. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканині головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми**

Застосування DMF за умов експерименту вірогідно знижувало у гомогенаті великих півкуль головного мозку концентрацію ТБК-активних сполук до та після інкубації у прооксидантному буферному розчині (таблиця 5.3) – на 25.2 та 31.3% ( $p < 0.001$ ), відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи. Приріст концентрації ТБК-активних сполук знижувався на 52.7% ( $p < 0.001$ ) порівняно з даними 3-ї групи.

*Таблиця 5.3*

### **Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на показники пероксидного окиснення ліпідів в гомогенаті великих півкуль головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми ( $M \pm m$ , $n=28$ )**

Групи	ТБК-активні сполуки, мкмоль/кг		
	До інкубації	Після інкубації	Приріст за час інкубації
1	2	3	4
Хибнотравмовані тварини	36.61±01.22	45.3±1.03	8.69±0.48
Моделювання експериментальної ЧМТ	52.64±0.94 *	67.72±1.20 *	15.08±0.50 *

Продовження табл. 5.3

1	2	3	4
Застосування DMF після моделювання ЧМТ	39.39±1.03 *,**	46.53±1.06 *,**	7.14±0.48 **
Застосування EGCG після моделювання ЧМТ	43.58±1.62 *,**	55.25±1.53 *,**	11.68±0.80 *,**

Введення EGCG після моделювання ЧМТ зменшувало у гомогенаті великих півкуль головного мозку концентрацію ТБК-активних сполук до та після інкубації у прооксидантному буферному розчині – на 17.2 та 18.4% ( $p < 0.001$ ) відповідно порівняно з результатом 3-ї групи. Приріст концентрації ТБК-активних сполук знижувався на 22.5% ( $p < 0.01$ ) відповідно порівняно з результатом 3-ї групи.

При призначенні індукторів транскрипційного чинника NRF2 активність СОД і каталази (таблиця 5.4) збільшувалася в 2.35 та 2.22 раза ( $p < 0.001$ ) (при застосуванні DMF) і на 85.7% ( $p < 0.001$ ) та 72.2% ( $p < 0.01$ ) (при введенні EGCG) порівняно з даними 3-ї групи.

Таблиця 5.4

**Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на антиоксидантного захисту в гомогенаті великих півкуль головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми ( $M \pm m$ ,  $n=28$ )**

Групи	Активність антиоксидантних ферментів	
	СОД, од. акт.	Каталаза, мккат/г
1	2	3
Хибнотравмовані тварини	0.34±0.01	0.40±0.01

Продовження табл. 5.4

1	2	3
Моделювання експериментальної ЧМТ	0.14 ±0.01 *	0.18±0.01 *
Застосування DMF після моделювання ЧМТ	0.33±0.02 **	0.40±0.02 **
Застосування EGCG після моделювання ЧМТ	0.26±0.02 *,**	0.31±0.03 *,**

Одержані результати підтверджують здатність індукторів сигнальної системи Nrf2-ARE запобігати розвитку окисно-нітрозативного стресу у тканині мозку як механізму вторинної альтерації при ЧМТ.

Таким чином, застосування індукторів сигнальної системи Nrf2-ARE диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості розвиток пероксидного окиснення ліпідів, істотно підвищує у ній антиоксидантний потенціал.

### **5.3. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на виживаність щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми**

Застосування всіх індукторів сигнальної системи Nrf2-ARE, що вивчалися, вірогідно збільшувало виживаність тварин протягом 7 діб посттравматичного періоду.

Так, при призначенні DMF після моделювання експериментальної ЧМТ виживаність щурів, розрахована за процедурою Каплана-Мейера,

на 3-тю добу посттравматичного періоду становила  $0.88 \pm 0.08$ , а на 7-му добу –  $0.81 \pm 0.10$  (таблиця 5.5).

Таблиця 5.5

**Вплив DMF на виживаність щурів за методом Каплана-Мейера після моделювання ЧМТ протягом 14-ти діб спостереження**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Кумулятивна кількість тварин, що		Показник виживаності S(t)	Ст. похибка	Межі квантилів	
	загинули	вижили			Нижній	Верхній
0		16	1			
1	1	15	0.94	0.06	0.67	0.99
3	2	14	0.88	0.08	0.64	0.96
4	3	13	0.81	0.10	0.59	0.92
5	3	13	0.81	0.10	0.59	0.92
7	3	13	0.81	0.10	0.59	0.92

Графічно виживаність щурів упродовж 7 діб посттравматичного періоду при застосуванні DMF показана на рис. 5.4. Летальність тварин протягом перших 2-х діб становила 6.3%.

У таблиці 5.6 наведено дані статистичного аналізу результатів дослідження виживаності тварин при застосуванні DMF з використанням різних критеріїв (логарифмічні рангові критерії Log-rank 1 та Log-rank 2, методи Wilcoxon та Tarone-Ware). Усі вони спростували нульову статистичну гіпотезу про тотожність варіаційних рядів контрольної групи (після нанесення ЧМТ) та при введенні DMF.

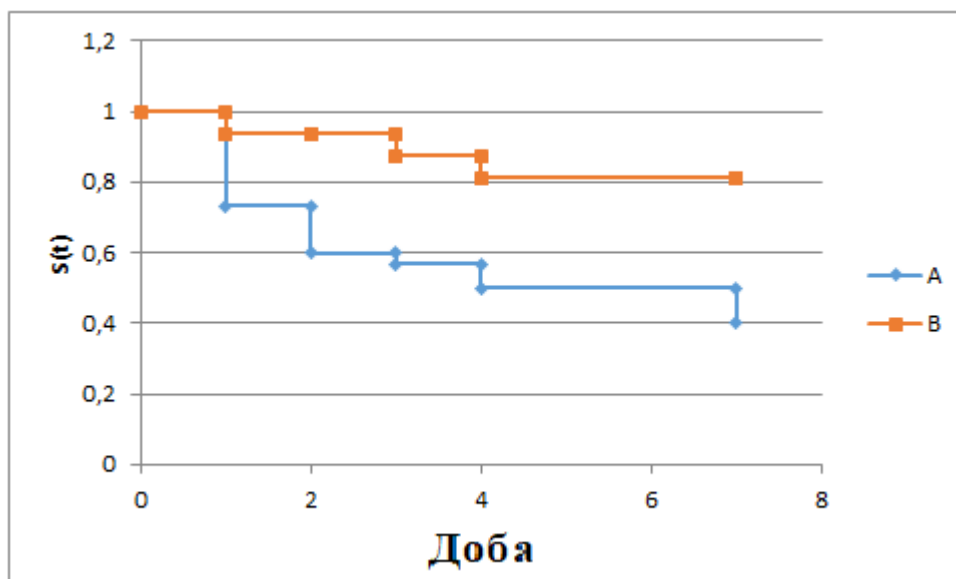


Рис. 5.4. Вживаність щурів  $S(t)$ , розрахована за процедурою Каплана-Мейера, впродовж 7-ми діб після нанесення ЧМТ (А) та при застосуванні після травмування DMF (В).

Таблиця 5.6

**Оцінка нульової статистичної гіпотези при порівнянні показника виживаності щурів при застосуванні DMF та без нього після моделювання ЧМТ**

Методи статистичного дослідження	Статистичний показник	Імовірність похибки (p)
Log-rank 1	5.802647	0.016002
Log-rank 2	6.608126	0.010151
Wilcoxon	6.472164	0.010958
Tarone-Ware	6.590426	0.010253

При застосуванні EGCG після моделювання експериментальної ЧМТ виживаність щурів, розрахована за методом Каплана-Мейера, на 3-тю добу посттравматичного періоду становила  $0.81 \pm 0.10$ , а на 7-му добу –  $0.75 \pm 0.11$  (таблиця 5.7).



Таблиця 5.7

**Вплив EGCG на виживаність щурів (метод Каплана-Мейера)  
після моделювання ЧМТ протягом 14-ти діб спостереження**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Кумулятивна кількість тварин, що		Показник виживаності S(t)	Ст. похибка	Межі квантилів	
	загинули	вижили			Нижній	Верхній
0		16	1			
1	1	15	0.94	0.06	0.67	0.99
2	2	14	0.88	0.08	0.64	0.96
3	3	13	0.81	0.10	0.59	0.92
4	4	12	0.75	0.11	0.55	0.87
5	4	12	0.75	0.11	0.55	0.87
7	4	12	0.75	0.11	0.55	0.87

Графічно виживаність щурів упродовж 7 діб посттравматичного періоду при застосуванні EGCG показана на рис. 5.5. Летальність тварин протягом перших 2-х діб становила 12.5%.

У таблиці 5.8 наведено дані статистичного аналізу результатів дослідження виживаності тварин при застосуванні EGCG з використанням різних критеріїв (логарифмічні рангові критерії Log-rank 1 та Log-rank 2, методи Wilcoxon та Tarone-Ware). Усі ці методи спростували нульову статистичну гіпотезу про тотожність варіаційних

рядів контрольної групи (після нанесення ЧМТ) та при введенні EGCG.

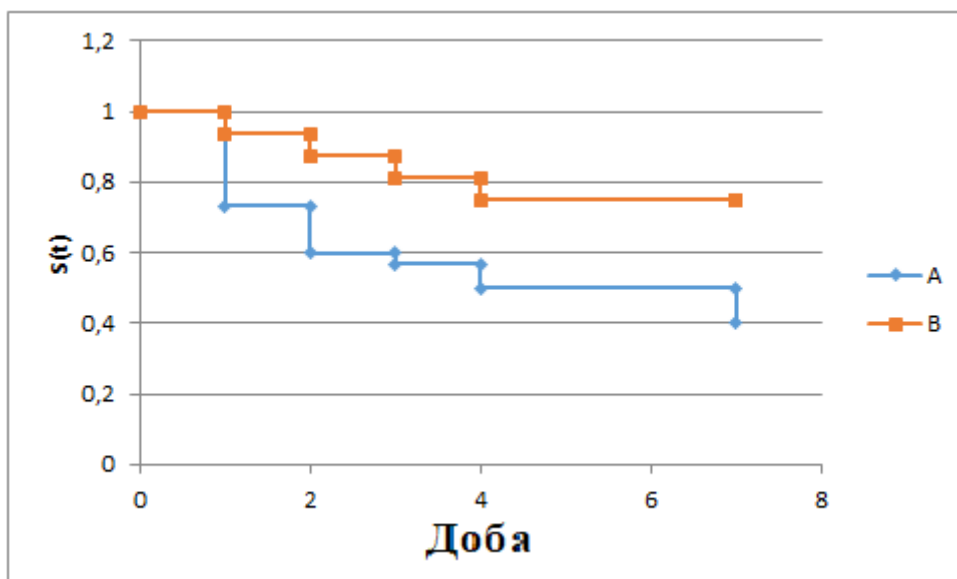


Рис. 5.5. Вживаність щурів  $S(t)$ , розрахована за процедурою Каплана-Мейера, впродовж 7-ми діб після нанесення ЧМТ (А) та при застосуванні після травмування EGCG (В).

Таблиця 5.8

**Оцінка нульової статистичної гіпотези при порівнянні показника виживаності щурів при застосуванні EGCG та без нього після моделювання ЧМТ**

Методи статистичного дослідження	Статистичний показник	Імовірність похибки (p)
Log-rank 1	4.144751	0.041764
Log-rank 2	4.736739	0.029525
Wilcoxon	4.730944	0.029625
Tarone-Ware	4.766466	0.029019

Таким чином, застосування індукторів сигнальної системи Nrf2-ARE диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату вірогідно підвищує

виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання ЧМТ, зменшує летальність тварин у період гострої реакції на травму (на 2-гу добу).

#### **5.4. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на показники неврологічного дефіциту у щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми**

При застосуванні DMF після ЧМТ кількість тварин з порушеннями м'язового тонузу вірогідно зменшувалася (таблиця 5.9): на 3-тю добу цей показник становив 35.7%, на 7-му добу – 23.1%, що на 51.8 та 60.2% поступалося відповідним значенням 3-ї групи.

*Таблиця 5.9*

#### **Вплив DMF на кількість тварин з порушеннями м'язового тонузу в динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + DMF		P
	Порушення м'язового тонузу	Нормальний м'язовий тонус	Порушення м'язового тонузу	Нормальний м'язовий тонус	
1	2	3	4	5	6
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	

Продовження табл. 5.9

1	2	3	4	5	6
3	14 (87.5%)	2 (12.5%)	5 (35.7%)	9 (64.3%)	<0.01
7	10 (83.3%)	2 (16.7%)	3 (23.1%)	10 (76.9%)	<0.005

Примітка (у таблицях 5.9 – 5.14): Р – імовірність похибки при порівнянні результатів зі значеннями 3-ї групи.

За цих умов також істотно знижувалося число щурів з порушеннями координації рухів (таблиця 5.10). На 3-тю добу кількість таких тварин становила 42.9%, на 7-му добу – 15.4%, що на 50.9 та 67.9% було нижчим за відповідні результати 3-ї групи.

Таблиця 5.10

**Вплив DMF на кількість тварин з порушеннями координації рухів у динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, дів	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + DMF		Р
	Порушення координації рухів	Нормальна координація рухів	Порушення координації рухів	Нормальна координація рухів	
1	2	3	4	5	6
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	

Продовження табл. 5.10

1	2	3	4	5	6
3	15 (93.8%)	1 (6.2%)	6 (42.9%)	8 (57.1%)	<0.02
7	10 (83.3%)	2 (16.7%)	2 (15.4%)	11 (84.6%)	<0.002

Кількість тварин з порушеннями больової реакції через 7 діб після ЧМТ при застосуванні DMF також достовірно знижувалася (таблиця 5.11). На 3-тю добу кількість таких щурів становила 35.7%, на 7-му добу – 23.1%, що на 51.8 та 43.6% поступалося відповідним даним 3-ї групи.

Таблиця 5.11

**Вплив DMF на кількість тварин з порушеннями больової реакції в динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + DMF		P
	Порушення больової реакції	Нормальна больова реакція	Порушення больової реакції	Нормальна больова реакція	
1	2	3	4	5	6

Продовження табл. 5.11

1	2	3	4	5	6
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	
3	14 (87.5%)	2 (12.5%)	5 (35.7%)	9 (64.3%)	<0.007
7	8 (66.7%)	4 (33.3%)	3 (23.1%)	10 (76.9%)	<0.05

Введення EGCG також супроводжувалося меншою кількістю щурів з порушеннями м'язового тонусу (таблиця 5.12): на 3-тю добу цей показник становив 46.2%, на 7-му добу – 25.0%, що на 41.3 та 58.3% поступалося відповідним результатам 3-ї групи.

Таблиця 5.12

**Вплив EGCG на кількість тварин з порушеннями м'язового тонусу в динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + EGCG		P
	Порушення м'язового тонусу	Нормальний м'язовий тонус	Порушення м'язового тонусу	Нормальний м'язовий тонус	
1	2	3	4	5	6
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	

Продовження табл. 5.12

1	2	3	4	5	6
3	14 (87.5%)	2 (12.5%)	6 (46.2%)	7 (53.8%)	<0.05
7	10 (83.3%)	2 (16.7%)	3 (25.0%)	9 (75.0%)	<0.02

Число щурів з порушеннями координації рухів при застосуванні EGCG (таблиця 5.13) за умов експерименту на 3-тю добу становило 61.5% та суттєво не відрізнялося від даних контролю. Проте на 7-му добу вірогідно зменшувалося до 33.3%, що на 50.0% було нижчим за результат 3-ї групи.

Таблиця 5.13

**Вплив EGCG на кількість тварин з порушеннями координації рухів у динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, дів	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + EGCG		P
	Порушення координації рухів	Нормальна координація рухів	Порушення координації рухів	Нормальна координація рухів	
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	
3	15 (93.8%)	1 (6.2%)	8 (61.5%)	5 (38.5%)	>0.05
7	10 (83.3%)	2 (16.7%)	4 (33.3%)	8 (66.7%)	<0.04

Кількість тварин з порушеннями больової реакції через 7 діб після ЧМТ при застосуванні EGCG також достовірно знижувалася (таблиця 5.14). На 3-тю добу кількість таких щурів становила 46.2%, на 7-му добу – 16.7%, що на 41.3 та 50.0% поступалося відповідним даним 3-ї групи.

Таблиця 5.14

**Вплив EGCG на кількість тварин з порушеннями больової реакції в динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + EGCG		P
	Порушення больової реакції	Нормальна больова реакція	Порушення больової реакції	Нормальна больова реакція	
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	
3	14 (87.5%)	2 (12.5%)	6 (46.2%)	7 (53.8%)	<0.05
7	8 (66.7%)	4 (33.3%)	2 (16.7%)	10 (83.3%)	<0.04

Виявлено суттєвий вплив індукторів сигнальної системи Nrf2-ARE на показники неврологічного дефіциту за шкалою Todd et al. (таблиця 5.15).

Так, введення DMF супроводжувалося вірогідним зменшенням показників порушення рівня свідомості, рефлекторної сфери, дихання, руху та поведінки. Інтегральний показник неврологічного дефіциту за цих умов становив  $27.08 \pm 2.73$ , що на 47.2% було меншим за значення 3-ї групи.



Таблиця 5.15

**Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на показники шкали Todd et al. для визначення ступеня неврологічного дефіциту у тварин через 7 діб після ЧМТ, сума балів**

Показники	Умови досліджу		
	Контроль (ЧМТ), n=12	ЧМТ + DMF, n=13	ЧМТ + EGCG, n=12
Рівень свідомості	12.50±1.69	6.92±0.70 *	7.50±0.75 *
Рефлекторна сфера	13.08±0.88	7.92±0.77 *	10.00±0.78 *
Дихання	5.96±0.08	2.31±0.84 *	4.50±0.78
Рух	9.58±0.41	5.38±0.38 *	7.50±0.75
Поведінка	10.25±0.45	4.54±0.42 *	5.25±0.45 *
Інтегральний показник неврологічного дефіциту	51.33±2.95	27.08±2.73 *	35.08±3.02 *

Примітка: \* -  $p < 0.05$  похибки при порівнянні результатів зі значеннями контролю (3-ї групи).

При застосуванні EGCG значно знижувалися показники розладів свідомості, рефлекторної сфери та поведінки. При цьому інтегральний показник неврологічного дефіциту становив  $35.08 \pm 3.02$ , що на 31.7% було меншим за результат 3-ї групи.

Таким чином, застосування індукторів сигнальної системи Nrf2-ARE диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату істотно обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду порушення м'язового тону, координації рухів та больової реакції, що

супроводжується суттєвим зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту.

### **5.5. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на характеристики поведінкових реакцій щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми**

Застосування індукторів транскрипційного чинника NRF2 позитивно позначається на показниках локомоторної активності щурів у «темно-світлій камері (таблиця 5.16).

*Таблиця 5.16*

#### **Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на рухову активність щурів у «темно-світлій камері» через 7 діб після ЧМТ (M±m, n=21)**

Показники	Умови досліджу		
	Контроль (ЧМТ)	ЧМТ + DMF	ЧМТ + EGCG
Час, проведений у темній частині камери, %	77.1±5.1 *	44.7±4.2 *	58.4±6.1 *
Кількість переходів між частинами камери	3.1±0.3 */**	7.1±0.1 *	5.6±0.3 *

Примітка (у таблицях 5.16 – 5.17): \* -  $p < 0.05$  при порівнянні результатів зі значеннями контролю (3-ї групи).

Так, введення DMF супроводжувалося вірогідним зменшенням на 7 добу посттравматичного періоду часу, проведеного тваринами у

темній частині камери, - на 42.0% ( $p<0.001$ ), число переходів між частинами камери – збільшувалося в 2.3 раза ( $p<0.001$ ) порівняно з даними 3-ї групи.

При застосуванні EGCG тривалість часу, проведеного тваринами у темній частині камери, поступалася на 24.3% ( $p<0.05$ ), а число переходів між частинами камери – перевищувало на 80.6% ( $p<0.001$ ) відповідні результати 3-ї групи.

За даними тесту «відкрите поле» (таблиця 5.17), при введенні DMF на 45.9% ( $p<0.01$ ) зменшувався латентний період порівняно з даними 3-ї групи. При цьому значно збільшувалися показники вертикальної та горизонтальної рухової активності: кількість вертикальних стійок – на 72.8% ( $p<0.01$ ), число перетнутих квадратів – у 2.1 раза ( $p<0.01$ ), кількість виходів до центру – в 2.2 раза ( $p<0.001$ ) порівняно з результатом групи порівняння. Число актів грумінгу зменшувалося на 27.5% ( $p<0.01$ ).

Таблиця 5.17

**Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на поведінкові реакції у тесті «відкрите поле» у тварин через 7 діб після ЧМТ ( $M\pm m$ ,  $n=21$ )**

Показники	Умови досліджу		
	Контроль (ЧМТ)	ЧМТ + DMF	ЧМТ + EGCG
1	2	3	4
Латентний період, с	6.1±0.6	3.3±0.3 *	3.4±0.3 *
Кількість вертикальних стійок	8.1±0.8	14.0±1.4 *	13.0±1.3 *
Кількість перетнутих квадратів	36.3±4.2	74.6±9.3 *	65.0±7.8 *

Продовження табл. 5.17

1	2	3	4
Кількість виходів до центру	1.3±0.2	2.9±0.3 *	2.3±0.5
Кількість дефекацій	2.0±0.3	1.9±0.3	2.0±0.3
Кількість актів грумінгу	6.9±0.5	5.0±0.3 *	5.6±0.3 *

При застосуванні EGCG латентний період на час дослідження знижувався на 44.3% ( $p < 0.01$ ) порівняно з даними 3-ї групи. Кількість вертикальних стійок збільшувалася на 60.5% ( $p < 0.01$ ), число перетнутих квадратів – на 79.1% ( $p < 0.01$ ) порівняно з результатом групи порівняння. Проте кількість виходів до центру істотно не змінювалася.

Число актів грумінгу зменшувалося на 18.8% ( $p < 0.05$ ).

Таким чином, застосування індукторів сигнальної системи Nrf2-ARE диметилфумарату та, у дещо меншій мірі, епігалокатехін-3-галату покращує протягом першого тижня після відтворення ЧМТ показники рухової та дослідницької активності, орієнтувальної реакції, зменшує рівень емоційної тривожності та страху.

Результати розділу відображено у статтях [82-84], тезах [23, 44, 46], матеріалах патенту України на корисну модель [45].

## РОЗДІЛ 6

### ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА МЕТАБОЛІЧНІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ РОЗЛАДИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПІСЛЯ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

#### 6.1. Вплив кверцетину на генерацію активних форм кисню і азоту в тканині головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми

При введенні кверцетину за умов експерименту через 7 діб після відтворення ЧМТ вірогідно знижувалася генерація  $\cdot O_2^-$  NADPH- і NADH залежними ЕТЛ на 30.2 та 35.0%, відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи (таблиця 6.1). Продукція цього радикала NADPH-оксидазою лейкоцитів поступалася на 39.3% ( $p < 0.001$ ) значенню 3-ї групи.

*Таблиця 6.1*

#### Вплив кверцетину на генерацію супероксидного аніон-радикала у гомогенаті великих півкуль головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми, нмоль/с·г ( $M \pm m$ )

Групи	Індуктори вироблення $\cdot O_2^-$		
	NADPH	NADH	Пірогенал
Хибнотравмовані тварини	11.31±0.40	13.57±0.47	1.25±0.04
Моделювання експериментальної ЧМТ	21.08±0.40 *	27.19±1.54 *	2.67±0.18 **
Застосування кверцетину після моделювання ЧМТ	14.72±0.22 *,**	17.67±0.27 *,**	1.62±0.02 *,**

Примітка (у таблицях 6.1-6.4):

\* –  $p < 0.05$  порівняно з результатами 2-ї групи;

\*\* –  $p < 0.05$  порівняно з результатами 3-ї групи.

При застосуванні кверцетину на 7 добу посттравматичного періоду у гомогенаті великих півкуль головного мозку вірогідно знижувалася активність NOS – загальна та її індукційної ізоформи – на 38.2 та 45.3% ( $p < 0.01$ ), відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи (таблиця 6.2). Активність cNOS за цих умов збільшувалася на 50.0% ( $p < 0.01$ ).

Таблиця 6.2

**Вплив кверцетину на активність ізоформ синтази оксиду азоту в гомогенаті великих півкуль головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми ( $M \pm m$ )**

Групи	Активність NOS, мкмоль $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв.}$		
	Загальна	cNOS	iNOS
Хибнотравмовані тварини	$7.26 \pm 0.77$	$1.60 \pm 0.13$	$5.65 \pm 0.75$
Моделювання експериментальної ЧМТ	$11.49 \pm 1.27^*$	$0.86 \pm 0.06^*$	$10.62 \pm 1.26^*$
Застосування кверцетину після моделювання ЧМТ	$7.10 \pm 0.67^{**}$	$1.29 \pm 0.11^{*,**}$	$5.81 \pm 0.66^{**}$

При застосування кверцетину на 7 добу посттравматичного періоду активність орнітиндекарбоксилази (рис. 6.1) у гомогенаті великих півкуль головного мозку підвищувалася – до  $229.3 \pm 9.8$  нмоль/г·хв, що на 25.3% ( $p < 0.01$ ) перевищувало дані 3-ї групи.

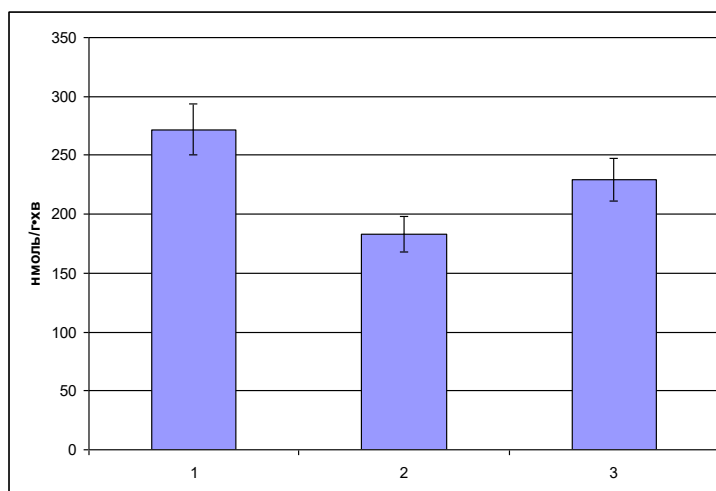


Рис. 6.1. Активність орнітиндекарбоксилази (нмоль/г·хв) у гомогенаті великих півкуль головного мозку в хибнотравмованих тварин (1); після відтворення експериментальної ЧМТ (2); при застосуванні після моделювання ЧМТ кверцетину (3).

При застосування кверцетину на 7 добу посттравматичного періоду збільшувався індекс спряження cNOS (рис. 6.2) - до  $0.087 \pm 0.007$ , що 2.12 раза ( $p < 0.001$ ) перевищувало значення 3-ї групи.

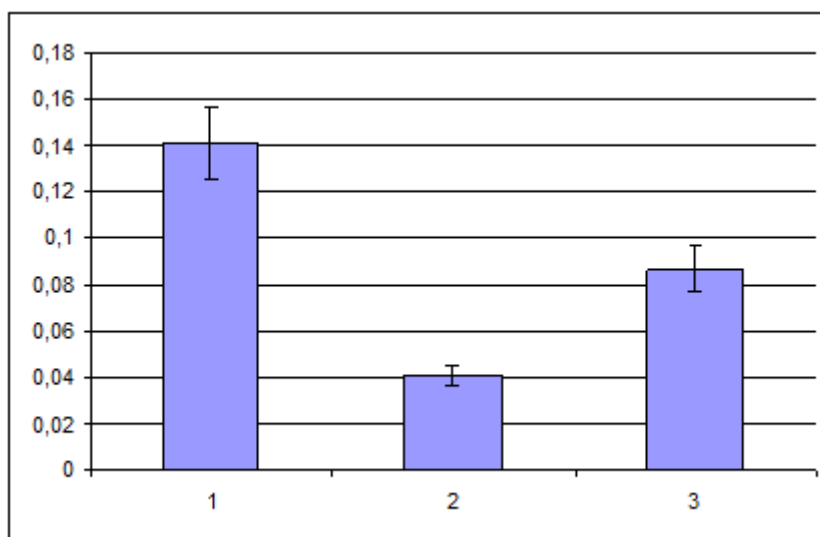


Рис. 6.2. Значення індексу спряження cNOS у тканині великих півкуль головного мозку в хибнотравмованих тварин (1); після відтворення експериментальної ЧМТ (2); при застосуванні після моделювання ЧМТ кверцетину (3).

При введенні кверцетину вміст пероксинітритів знижувався до  $1.94 \pm 0.05$  мкмоль/г (рис. 6.3), що було на 19.5% ( $p < 0.01$ ) нижчим за результат 3-ї групи.

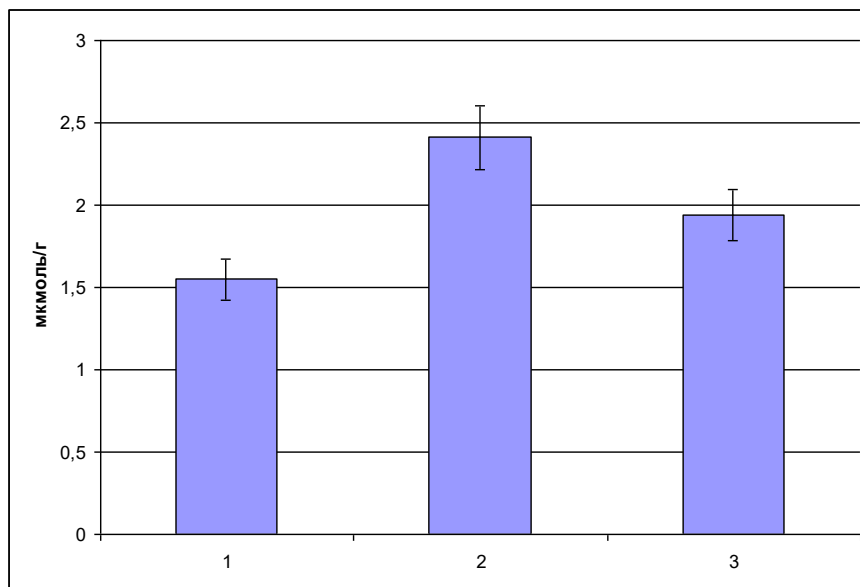


Рис. 6.3. Вміст пероксинітритів у гомогенаті великих півкуль головного мозку в хибнотравмованих тварин (1); після відтворення експериментальної ЧМТ (2); при застосуванні після моделювання ЧМТ кверцетину (3).

Таким чином, застосування кверцетину істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості ознаки окисно-нітрозативного стресу, зменшує генерацію супероксидного аніон-радикала та активність синтази оксиду азоту (загальної та індукцибельної) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази, що конкурує з попереднім ферментом на субстрат (L-аргінін), покращує спряженність її конститутивної ізоформи, обмежує концентрацію пероксинітриту.



## 6.2. Вплив кверцетину на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканині головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми

Застосування кверцетину за умов експерименту вірогідно знижувало у гомогенаті великих півкуль головного мозку концентрацію ТБК-активних сполук до та після інкубації у прооксидантному буферному розчині (таблиця 6.3) – на 17.0 та 22.7% ( $p < 0.001$ ), відповідно, порівняно з результатом 3-ї групи. Приріст концентрації ТБК-активних сполук знижувався на 42.6% ( $p < 0.001$ ) порівняно з даними 3-ї групи.

Таблиця 6.3

### Вплив кверцетину на показники пероксидного окиснення ліпідів в гомогенаті великих півкуль головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми ( $M \pm m$ )

Групи	ТБК-активні сполуки, мкмоль/кг		
	До інкубації	Після інкубації	Приріст за час інкубації
Хибнотравмовані тварини	36.61±01.22	45.3±1.03	8.69±0.48
Моделювання експериментальної ЧМТ	52.64±0.94 *	67.72±1.20 *	15.08±0.50 *
Застосування кверцетину після моделювання ЧМТ	43.7±1.2 *,**	52.3±1.1 *,**	8.7±0.4**

При призначенні кверцетину активність СОД і каталази (таблиця 6.4) збільшувалася на 78.6 та 66.7% ( $p < 0.001$ ) порівняно з даними 3-ї групи.

Таблиця 6.4

**Вплив кверцетину на антиоксидантного захисту в гомогенаті великих півкуль головного мозку після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми (M±m)**

Групи	Активність антиоксидантних ферментів	
	СОД, од. акт.	Каталаза, мккат/г
Хибнотравмовані тварини	0.34±0.01	0.40±0.01
Моделювання експериментальної ЧМТ	0.14 ±0.01 *	0.18±0.01 *
Застосування кверцетину після моделювання ЧМТ	0.25±0.02 *,**	0.30±0.02 *,**

Таким чином, застосування кверцетину істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості розвиток пероксидного окиснення ліпідів, підвищує у ній антиоксидантний потенціал.

**6.3. Вплив кверцетину на виживаність щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми**

Застосування кверцетину вірогідно збільшувало виживаність тварин протягом 7 діб посттравматичного періоду. Так, за цих умов виживаність щурів, розрахована за процедурою Каплана-Мейера, на 3-тю добу посттравматичного періоду становила 0.88±0.08, а на 7-му добу – 0.81±0.10 (таблиця 6.5).

Таблиця 6.5

**Вплив кверцетину на виживаність щурів (метод Каплана-Мейера)  
після моделювання ЧМТ протягом 14-ти діб спостереження**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Кумулятивна кількість тварин, що		Показник виживаності $S(t)$ , %	Ст. похибка, %	Межі квартилів, %	
	загинули	вижили			Нижній	Верхній
0		16	1			
1	1	15	0.94	0.06	0.67	0.99
3	2	14	0.88	0.08	0.63	0.96
5	3	13	0.81	0.10	0.59	0.92
7	3	13	0.81	0.10	0.59	0.92

Графічно виживаність щурів упродовж 7 діб посттравматичного періоду при застосуванні кверцетину показана на рис. 6.4. Летальність тварин протягом перших 2-х діб становила 6.3%.

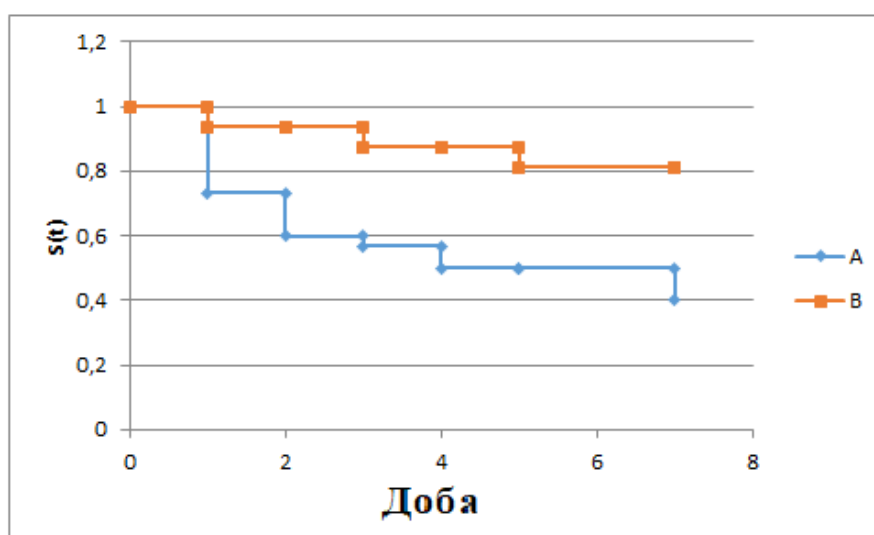


Рис. 6.4. Виживаність щурів  $S(t)$ , розрахована за процедурою Каплана-Мейера, впродовж 4-ми діб після нанесення ЧМТ (А) та при застосуванні після травмування кверцетину (В).

У таблиці 6.6 наведено дані статистичного аналізу результатів дослідження виживаності тварин при застосуванні кверцетину з використанням різних критеріїв (логарифмічні рангові критерії Log-rank 1 та Log-rank 2, методи Wilcoxon та Tarone-Ware). Усі вони спростували нульову статистичну гіпотезу про тотожність варіаційних рядів контрольної групи (після нанесення ЧМТ) та при введенні кверцетину.

*Таблиця 6.6*

**Оцінка нульової статистичної гіпотези при порівнянні показника виживаності щурів при застосуванні PDTC та без нього після моделювання ЧМТ**

Методи статистичного дослідження	Статистичний показник	Імовірність похибки (p)
Log-rank 1	5.862508	0.015467
Log-rank 2	6.631921	0.010017
Wilcoxon	6.595274	0.010225
Tarone-Ware	6.673865	0.009784

Таким чином, застосування кверцетину вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання ЧМТ, зменшує летальність тварин у період гострої реакції на травму (на 2-гу добу).

#### 6.4. Вплив кверцетину на показники неврологічного дефіциту у щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми

При застосуванні кверцетину після ЧМТ кількість тварин з порушеннями м'язового тонусу вірогідно зменшувалася (таблиця 6.7): на 3-тю добу цей показник становив 28.6%, на 7-му добу – 23.1%, що на 58.9 та 60.2% поступалося відповідним значенням 3-ї групи.

Таблиця 6.7

#### Вплив кверцетину на кількість тварин з порушеннями м'язового тонусу в динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + кверцетин		Р
	Порушення м'язового тонусу	Нормальний м'язовий тонус	Порушення м'язового тонусу	Нормальний м'язовий тонус	
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	
3	14 (87.5%)	2 (12.5%)	4 (28.6%)	10 (71.4%)	<0.003
7	10 (83.3%)	2 (16.7%)	3 (23.1%)	10 (76.9%)	<0.005

Примітка (у таблицях 6.7 – 6.9): Р – імовірність похибки при порівнянні результатів зі значеннями 3-ї групи.

За цих умов також істотно знижувалося число щурів з порушеннями координації рухів (таблиця 6.8). На 3-тю добу кількість таких тварин становила 42.9%, на 7-му добу – 23.1%, що на 50.9 та 60.2% було нижчим за відповідні результати 3-ї групи.

Таблиця 6.8

**Вплив кверцетину на кількість тварин з порушеннями координації рухів у динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + кверцетин		P
	Порушення координації рухів	Нормальна координація рухів	Порушення координації рухів	Нормальна координація рухів	
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	
3	15 (93.8%)	1 (6.2%)	6 (42.9%)	8 (57.1%)	<0.02
7	10 (83.3%)	2 (16.7%)	3 (23.1%)	10 (76.9%)	<0.005

Кількість тварин з порушеннями больової реакції через 7 діб після ЧМТ при застосуванні кверцетину також достовірно знижувалася (таблиця 6.9). На 3-тю добу кількість таких щурів становила 21.4%, на 7-му добу – 15.4%, що на 66.1 та 51.3% поступалося відповідним даним 3-ї групи.

Таблиця 6.9

**Вплив кверцетину на кількість тварин з порушеннями больової реакції в динаміці посттравматичного періоду після ЧМТ, абс. кількість та %**

Термін спостереження після ЧМТ, діб	Контроль (ЧМТ)		ЧМТ + кверцетин		P
	Порушення больової реакції	Нормальна больова реакція	Порушення больової реакції	Нормальна больова реакція	
До травмування		30 (100%)		16 (100%)	
3	14 (87.5%)	2 (12.5%)	3 (21.4%)	11 (78.6%)	<0.001
7	8 (66.7%)	4 (33.3%)	2 (15.4%)	11 (84.6%)	<0.02

Виявлено суттєвий вплив кверцетину на показники неврологічного дефіциту за шкалою Todd et al. (таблиця 6.10). Так, введення кверцетину супроводжувалося вірогідним зменшенням показників порушення рівня свідомості, рефлекторної сфери, дихання, руху та поведінки. Інтегральний показник неврологічного дефіциту за цих умов становив  $27.15 \pm 1.97$ , що на 47.1% було меншим за значення 3-ї групи.

Таблиця 6.10

**Вплив кверцетину на показники шкали Todd et al. для визначення ступеня неврологічного дефіциту у тварин через 7 діб після ЧМТ, сума балів**

Показники	Умови дослідю	
	Контроль (ЧМТ), n=12	ЧМТ + кверцетин, n=13
Рівень свідомості	12.50±1.69	6.92±0.70 *
Рефлекторна сфера	13.08±0.88	8.62±0.66 *
Дихання	5.96±0.08	2.77±0.86 *
Рух	9.58±0.41	4.23±0.52 *
Поведінка	10.25±0.45	4.46±0.31 *
Інтегральний показник неврологічного дефіциту	51.33±2.95	27.15±1.97 *

Примітка: \* -  $p < 0.05$  похибки при порівнянні результатів зі значеннями контролю (3-ї групи).

Таким чином, застосування кверцетину істотно обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду порушення м'язового тону, координації рухів та больової реакції, що супроводжується суттєвим зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту.



### 6.5. Вплив кверцетину на характеристики поведінкових реакцій щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми

Застосування водорозчинної форми кверцетину покращує рухову активність щурів у «темно-світлій камері» (таблиця 6.11), що підтверджується вірогідним зменшенням на 7 добу посттравматичного періоду часу, проведеного тваринами у темній частині камери, - на 19.6% ( $p < 0.05$ ), а також збільшенням числа переходів між частинами камери – в 2.3 раза ( $p < 0.001$ ) порівняно з даними 3-ї групи.

Таблиця 6.11

#### Вплив кверцетину на рухову активність щурів у «темно-світлій камері» через 7 діб після ЧМТ (M±m, n=21)

Показники	Умови дослідю	
	Контроль (ЧМТ)	ЧМТ + кверцетин
Час, проведений у темній частині камери, %	77.1±5.1 *	62.0±2.7 *
Кількість переходів між частинами камери	3.1±0.3 */**	7.1±0.3 *

Примітка (у таблицях 6.11 – 6.12): \* -  $p < 0.05$  при порівнянні результатів зі значеннями контролю (3-ї групи).

За даними тесту «відкрите поле» (таблиця 6.12), при введенні кверцетину на 50.8% ( $p < 0.01$ ) зменшувався латентний період порівняно з даними 3-ї групи, значно збільшувалися показники вертикальної та горизонтальної рухової активності: кількість вертикальних стійок – на

69.1% ( $p < 0.001$ ) та число перетнутих квадратів – на 78.8% ( $p < 0.02$ ) порівняно з результатом групи порівняння.

Таблиця 6.12

**Вплив кверцетину на поведінкові реакції у тесті «відкрите поле» у тварин через 7 діб після ЧМТ ( $M \pm m$ ,  $n=21$ )**

Показники	Умови досліджу	
	Контроль (ЧМТ)	ЧМТ + кверцетин
Латентний період, с	6.1±0.6	3.0±0.4 *
Кількість вертикальних стійок	8.1±0.8	13.7±0.8 *
Кількість перетнутих квадратів	36.3±4.2	64.9±8.6 *
Кількість виходів до центру	1.3±0.2	2.4±0.7
Кількість дефекацій	2.0±0.3	2.4±0.2
Кількість актів грумінгу	6.9±0.5	5.3±0.6

Кількість виходів до центру та число актів грумінгу істотно не змінювалися.

Таким чином, застосування кверцетину протягом першого тижня після відтворення ЧМТ покращує показники рухової та дослідницької активності, а також орієнтувальної реакції, але істотно не впливають на показники тривожності (кількість виходів до центру, дефекацій та актів грумінгу).

Результати розділу відображено у статтях [83, 84, 295], тезах [87], опису до патенту [45].

## РОЗДІЛ 7

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Поширеною є думка, що одними з провідних патогенетичних механізмів ЧМТ є гіпоксія та локальна ішемія головного мозку [176, 185]. За цих умов значно активується утворення АФК / АФА, що зумовлює активацію у тканині мозку відьнорадикального окиснення з розвитком комплексу структурно-функціональних порушень мембран нервових клітин.

Дійсно, нами виявлено, що у динаміці періоду ранніх проявів ТХ після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості у тканині великих півкуль головного мозку щурів виявляються ознаки оксидативного стресу. Цей висновок підтверджується суттєвим збільшенням вироблення супероксидного аніон-радикала  $\text{NADPH}^-$  і  $\text{NADH}^-$  залежними ЕТЛ, ознаками декомпенсованого ПОЛ (збільшується приріст ТБК-реактивів за час інкубації гомогенату великих півкуль мозку в прооксидантному залізоаскорбатному буферному розчині), незважаючи на нормалізацію активності супероксиддисмутази та каталази на 14 добу після травмування.

Відомо, що АФК виконують в організмі різноманітні функції, пов'язані з регулюванням процесів проліферації, диференціювання, клітинної адгезії, згортання крові, апоптозу, а також забезпечують захист організму від чужорідних агентів. За фізіологічних умов низькі та помірні концентрації АФК відіграють роль вторинних месенджерів у численних сигнальних каскадах, ініційованих гормонами, цитокінами, факторами росту, впливаючи на ключові ланки імунної відповіді, запалення, синаптичної пластичності, навчання та пам'яті [95, 179].

У той же час нервова тканина є чутливою до негативного впливу АФК, що пояснюється високою інтенсивністю обмінних процесів в

тканині головного мозку, відсутністю в ній надлишкових запасів енергії, високим вмістом субстратів ПОЛ і його каталізаторів (наприклад, іонів заліза та міді) в поєднанні з порівняно низькою активністю антиоксидантних ферментів [57].

Одержані нами результати узгоджуються з думкою про те, що у всіх клітинних елементах нервової тканини мітохондрії виступають головними продуцентами АФК, формують внутрішньоклітинний фонд ацетил-КоА, відіграють важливу роль в ініціюванні апоптозу клітин. Ці процеси вважаються патогенетичними механізмами травматичних, запальних і нейродегенеративних захворювань головного мозку [95, 114].

У тканині головного мозку основними джерелами одноелектронного відновлення  $O_2$  з утворенням супероксидного аніону мітохондріями є дихальні комплекси I і III (цикл убихінону) [95]. Наслідком індукції окисного пошкодження нуклеїнових кислот, білків і ліпідів є окиснювальний стрес, який розглядається як основна причина порушення функцій мітохондрій і загибелі клітин при багатьох захворюваннях головного мозку.

Отримані нами дані підтверджують також точку зору щодо ролі інших джерел продукції АФК у головному мозку, якими є NADPH-залежні мікросомальні монооксигенази [70] та конститутивні NOS, що містять NADPH-залежний ЕТЛ, та можуть утворювати супероксиданіонрадикал за умов порушення спряження при дефіциті субстратів та деяких кофакторів (L-аргініну,  $O_2$ , тетрагідробіоптерину та ін.) [251].

За умов нейрозападення у тканинах головного мозку також закономірно збільшується вироблення супероксидного аніон-радикала цитохром b558-асоційованою NADPH-оксидазою лейкоцитів і гліальних клітин [155, 163, 258].

NADPH оксидаза (Nox) - це мульти-субодиничний фермент, який переносить електрони через біологічні мембрани. Субодиниці локалізовані як у структурі плазматичної мембрани (цитохром b558, що складається з p22rhox і gp91rhox), так і в цитоплазмі (p40rhox, p47rhox і p67rhox). Після стимуляції активація білка G з низькою молекулярною масою (Rac1 або Rac2) та фосфорилування p47rhox ініціює міграцію цитоплазматичних елементів до плазматичної мембрани. Каталітичний компонент gp91rhox полегшує транспортування електронів. Електрон з цитоплазматичної NADPH прямує спочатку до FAD, потім через гемогрупи Nox і, нарешті, через мембрану та передається кисню. Супероксидний аніон-радикал є основним продуктом передачі електронів. Його продукують ізоформи Nox 1–5, тоді як ферменти Duox здатні вивільняти H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ізоформи Nox1, Nox2, Nox3 та Nox4 виявлено у більшості структур головного мозку ссавців (стовбурі, гіпокампі, таламусі, кортексі та ін.) [162, 163].

За нашими даними, у динаміці періоду ранніх проявів ТХ після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості у тканині великих півкуль головного мозку щурів значно підвищується сумарно активність NOS та її індукційної ізоформи.

Відомо, що АФА відіграють важливу роль як у фізіології, так і патології головного мозку. NO функціонує як ретроградний нейротрансмітер у синапсах, регулює церебральну гемодинаміку, забезпечує внутрішньоклітинну сигналізацію у нервових клітинах від контролю метаболічного статусу нейрона до росту дендритів. Утворення надмірної кількості NO та його перетворення в інші АФА, зокрема, пероксинітрит, є ланкою патогенезу низки нейрозапальних та нейродегенеративних захворювань [227].

NO здебільшого синтезується сімейством NO-синтаз (NOS), які окиснюють L-аргінін з утворенням цитруліну та NO. Нейрони, глія та

ендотеліальні клітини здатні експресувати NOS і є потенційними джерелами NO у головному мозку.

Конститутивними ізоформами (сNOS) є ендотеліальний (eNOS) та нейрональний (nNOS) ізоферменти, що активуються через  $\text{Ca}^{2+}$ -залежні негайні алостеричні модуляції молекул [164], тоді як активність індукбельної ізоформи (iNOS) зростає пізніше внаслідок експресії відповідних генів, підконтрольних редоксчутливим транскрипційним чинникам NF- $\kappa$ B, AP-1, Nrf2 [90, 96, 167, 239, 259].

У ЦНС eNOS окрім ендотеліоцитів експресується у моторнейронах та астроглії, де NO працює як нейромедіатор або сигнальна молекула з різними внутрішньоклітинними ефектами; nNOS є широко розповсюдженою в головному мозку, де відіграє ключову роль у диференціації нейронів, механізмах болю та сну, нейроендокринної функції осі гіпоталамус-гіпофіз, функції гіпокампа [227].

Для з'ясування стану аргіназного шляху метаболізму L-аргініну ми досліджували активність у гомогенаті великих півкуль головного мозку одного з ферментів цієї ланки обміну – орнітиндекарбоксилази, яка є каталізатором ключової реакції синтезу поліамінів – перетворення L-орнітину в путресцин. Поліаміни – це невеликі катіонні молекули, які в головному мозку ссавців беруть участь у нейрональній сигналізації через регулювання  $\text{K}^{+}$ -каналів та глутаматних рецепторів. Активність орнітиндекарбоксилази у ЦНС забезпечує процеси проліферації клітин, біосинтеза білка та реплікації ДНК, а її дефіцит супроводжує розвиток ішемії / гіпоксії головного мозку та нейродегенеративних захворювань [2, 192, 238]. Фермент локалізований у ядрах нейронів, дендритах, аксонах та нервових терміналях. У головному мозку також представлені всі ферменти деградації поліамінів. У цьому процесі також беруть участь моноамінооксидази [2].

Нами показано, що у динаміці періоду ранніх проявів ТХ після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості у тканині великих півкуль головного мозку щурів значно зменшується активність орнітиндекарбоксилази, що відображає переважання окисного (NO-синтазного) шляху метаболізму L-аргініну над неокисним (аргіназним), з яким він конкурує. При цьому знижується та порушується спряженість сNOS, зростає концентрація високотоксичної форми АФА – пероксинітриту.

Пероксинітрит-опосередковане оксидативне ушкодження є важливим чинником біоенергетичної недостатності, некротичної та апоптотичної загибелі нейронів головного мозку [68, 262].

В останні роки показано, що розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканинах пов'язаний із залученням сигнальних шляхів за участю редоксчутливих транскрипційних чинників – NF-κB і AP-1 [22, 138, 141, 143]. У той же час повідомляється про можливість нейропротективних наслідків активації цих чинників [201, 234, 302].

За нашими даними, застосування інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB (PDTC) та AP-1 (SR 11302) істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості ознаки окисно-нітрозативного стресу, зменшує генерацію супероксидного аніон-радикала та активність синтази оксиду азоту (загальної та індукцйбельної) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази, що конкурує з попереднім ферментом за субстрат (L-аргінін), покращує спряженість її конститутивної ізоформи, обмежує концентрацію пероксинітриту.

АФК / АФА, що утворюються, є чинниками, що регулюють активність редоксчутливих транскрипційних факторів, у тому числі NF-κB та AP-1. Показано, що АФК / АФА є необхідними для залежної від NF-κB та AP-1 експресії iNOS, c-Fos та c-Jun [167, 205]. Тобто активація

наведених транскрипційних факторів та генерація АФК / АФА утворюють своєрідне порочне коло, яке, за нашими даними, може бути розірване у тканині головного мозку після ЧМТ введенням PDTC та SR 11302.

Призначення PDTC і SR 11302 за умов експерименту вірогідно знижує у гомогенаті великих півкуль головного мозку концентрацію вторинних продуктів ПОЛ – ТБК-активних сполук та їхній приріст за час інкубації у прооксидантному буферному розчині. При їх введенні вірогідно збільшується активність антиоксидантних ферментів – СОД і каталази. Тобто застосування інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості розвиток ПОЛ і суттєво підвищує у ній антиоксидантний потенціал.

Таким чином, одержані результати вказують на залежність розвитку окисно-нітрозативного стресу у великих півкулях головного мозку від активності NF-κB та AP-1-залежних сигнальних шляхів.

Раніше було показано, що травматичне ушкодження головного та спинного мозку супроводжується тривалою (протягом тижнів або місяців) активацією NF-κB у нейронах, астроцитах і клітинах мікроглії, що викликає розвиток запалення [104]. Активація NF-κB, наприклад за умов хронічної гіпомелатоніемії, впливає на окисний метаболізм у тканині головного мозку. Показано, що введення інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23 може знижувати активність NOS, продукцію супероксидного аніон-радикала та рівень ПОЛ, підвищувати антиоксидантний захист та енергетичний потенціал [67].

Відомо, що з саме активацією NF-κB і AP-1 пов'язаний розвиток нейрозапалення та нейродегенерації [141, 229, 259].

Наслідком застосування інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB та AP-1, за нашими даними, є суттєве обмеження впродовж першого



тижня після моделювання ЧМТ порушення м'язового тону, координації рухів та больової реакції. Це супроводжується суттєвим зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту, покращенням протягом першого тижня після відтворення ЧМТ (за даними тестів «темно-світла камера» та «відкрите поле») показників рухової та дослідницької активності, орієнтувальної реакції, зменшенням рівня емоційної тривожності та страху.

Іншим шляхом обмеження вільнорадикальних процесів у головному мозку за умов ЧМТ може бути індукція антагоністичних щодо NF-κB і AP-1 сигнальних шляхів, зокрема, системи Nrf2 / ARE. Відомо, що індуктори Nrf2 / ARE здатні зменшувати вироблення АФК / АФА та подальшу втрату нейронів після ішемії головного мозку [288, 294, 309]. Крім того, активація цього сигнального шляху має позитивну дію при різних нейродегенеративних захворюваннях [127, 132, 139, 264, 271].

Застосування електрофільних індукторів системи Nrf2 – ARE диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату, за нашими даними, істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після моделювання ЧМТ ознаки окисно-нітрозативного стресу, зменшує генерацію супероксидного аніон-радикала та активність синтази оксиду азоту (загальної та індукцибельної) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази, що конкурує з попереднім ферментом на субстрат (L-аргінін). Введення DMF і EGCG за умов експерименту істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку розвиток ПОЛ, істотно підвищує у ній антиоксидантний потенціал.

Звертає на себе увагу зменшення при застосуванні EGCG активності cNOS. Такі зміни, за даними літератури, можуть бути пов'язаними зі зниженням під дією речовини активності нейрональної NOS, що раніше було виявлено у нервовій тканині (мотонейронах)

щурів [283] та гомогенаті головного мозку мишей [131]. Саме цей ізофермент відіграє першочергову патогенну роль при ішемії головного мозку [300]. У той же час EGCG виявляє нейропротекторну дію при відтворенні моделі ушкодження головного мозку щурів за умов оклюзії середньої мозкової артерії шляхом посилення сигнального шляху фосфатидилінозитол-3-кіназа / протеїнкіназа В (Akt) / eNOS [211].

Диметилфумарат, у свою чергу, за нашими даними, на відміну від EGCG, може покращувати спряженність cNOS та обмежувати концентрацію пероксинітриду.

Одержані результати підтверджують здатність індукторів сигнальної системи Nrf2-ARE запобігати розвитку окисно-нітрозативного стресу у тканині мозку як механізму вторинної альтерації при ЧМТ.

Транскрипційний фактор Nrf2 нині розглядається як чинник стійкості клітин до дії прооксидантів, який через елементи антиоксидантної відповіді в межах регуляторної області багатьох (понад 500) генів-мішеней (ARE) координує процеси антиоксидантної дії та детоксикації, дозволяючи всім типам клітин нервової системи адаптуватися до патологічних змін, викликаних внутрішньоклітинними або позаклітинними подразниками [277].

Враховуючи центральну роль, яку відіграє Nrf2 у протидії окисному пошкодженню, раніше була запропонована модуляція цього фактора транскрипції як нейропротектора при різних неврологічних захворюваннях, зокрема, хворобі Альцгеймера, хворобі Паркінсона, розсіяному склерозі та церебральній ішемії [218, 277].

На сьогоднішній день найбільшу ефективність як індуктори Nrf2 виявляють електрофільні сполуки, які ковалентно модифікують (шляхом окислення або алкілування) залишки цистеїну, присутні у багатому на тіюли інгібіторному білку Keap1. До цієї групи, зокрема, належить DMF,

який виявився перспективним засобом лікування розсіяного склерозу [243]. Індукована DMF активація Nrf2 в центральній нервовій системі, яка корелює з поліпшенням клінічного перебігу, збереженням аксонів та посиленням активації астроцитів, показана також на моделі енцефаломієліту у мишей [219].

Дійсно, за нашими даними, застосування індукторів сигнальної системи Nrf2-ARE диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату істотно обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду порушення м'язового тону, координації рухів та больової реакції.

Це супроводжується суттєвим зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту, покращенням протягом першого тижня після відтворення ЧМТ (за даними тестів «темно-світла камера» та «відкрите поле») показників рухової та дослідницької активності, орієнтувальної реакції, зменшують рівень емоційної тривожності та страху.

Здатність одночасно пригнічувати транскрипційний чинник NF-κB та індукувати систему Nrf2-ARE притаманна кверцетину. Введення цього флавоноїду пригнічує убиквітин-залежний протеоліз NF-κB, що порушує його подальшу активацію (транслокацію в ядро клітини) [172]. Це усуває можливість експресії NF-κB-залежних генів [187]. Більш того, кверцетин виявляє здатність індукувати Nrf2 та підконтрольний йому ген гемоксигенази-1, що супроводжується інактивацією NF-κB [177].

Застосування кверцетину, за нашими даними, істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після моделювання ЧМТ середнього ступеня тяжкості ознаки окисно-нітрозативного стресу, зменшує генерацію супероксидного аніон-радикала та активність синтази оксиду азоту (загальної та індукційної) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази, що

конкурує з попереднім ферментом за субстрат (L-аргінін), покращує спряженність її конститутивної ізоформи, обмежує концентрацію пероксинітриту. За цих умов у гомогенаті великих півкуль головного мозку суттєво зменшується концентрація ТБК-реактивних та її приріст за час інкубації в прооксидантному буферному розчині, що вказує на обмеження ПОЛ та підвищення антиоксидантного потенціалу.

Крім NF- $\kappa$ B та Nrf2-модулюючої дії зменшення ознак оксидативного стресу під дією кверцетину, вочевидь, може бути пов'язаним з його загальновідомою здатністю гальмувати низку ферментів, що беруть участь у деградації фосфоліпідів (фосфоліпазу, ліпоксигеназу, циклооксигеназу) [71].

Нейпротекторна дія кверцетину за умов ЧМТ підтверджується виявленим нами обмеженням впродовж першого тижня посттравматичного періоду порушень м'язового тону, координації рухів та больової реакції. Це супроводжується суттєвим зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту, показників рухової та дослідницької активності, а також орієнтувальної реакції. Проте, за нашими даними, кверцетин не виявляє істотного впливу на число актів грумінгу (у тесті «відкрите поле») як показника емоційної тривожності та страху.

Раніше вже повідомлялося про здатність водорозчинної форми кверцетину (корвітину) в дозі 150 мг/кг та його ліпосомального препарату (ліпофлакону) у дозі 370 мг/кг відновлювати рухову активність у посттравматичному періоді після ЧМТ середнього та важкого ступеня [11]. Їхнє призначення супроводжується мінімізацією посттравматичних змін поведінки, координації рухів, зменшенням неврологічного дефіциту [12, 14, 15]. Обидва препарати кверцетину запобігають у посттравматичному періоді розвитку депресії, тривожності, когнітивних

порушень, активують у головному мозку антиоксидантні ферменти, стимулюють енергетичний метаболізм [13, 16].

При дослідженні морфологічних наслідків повторної легкої ЧМТ у дослідях на мишах показано, що внутрішньоочеревинне введення водорозчинної форми кверцетину (корвітину) гальмує розвиток реактивного гліюзу у CA1-зоні гіпокампа, вірогідно зменшуючи кількість активованих астроцитів і клітин мікроглії, а також позитивно впливає на поведінкові показники (за результатами тесту «відкрите поле») [17].

Нейропротективна дія кверцетину також пов'язана з послабленням апоптозу нейронів унаслідок гальмування сигнального шляху ERK (Ras-ERK, MAPK/ERK, англ. extracellular signal-regulated kinase) через пригнічення фосфорилування ERK  $\frac{1}{2}$  та активації фосфорилування Akt серин / треонін протеїнкінази [136]. Припускають, що введення кверцетину може потенційно послабити пошкодження головного мозку в моделі ЧМТ також за рахунок посилення активності біогенезу мітохондрій через активацію коактиватора 1-альфа рецепторів, що активують проліферацію пероксисом (PGC-1 $\alpha$ , англ. peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha) [188].

Схематично механізми метаболічних і функціональних розладів головного мозку ссавців за умов експериментальної ЧМТ, залежні від активності транскрипційних чинників NF- $\kappa$ B, AP-1 та Nrf2, наведено на рис. 7.1.

Таким чином, підбиваючи підсумки дослідження ролі редоксчутливих транскрипційних чинників (NF- $\kappa$ B, AP-1, Nrf2) у механізмах вільнорадикальних розладів у головному мозку та розвитку неврологічного дефіциту за умов експериментальної черепно-мозкової травми, можна констатувати розвиток окисно-нітрозативного стресу, що виявляється дизрегуляторним збільшенням вироблення супероксидного



Рис. 7.1. Механізми метаболічних і функціональних розладів головного мозку ссавців за умов експериментальної ЧМТ, залежні від активності транскрипційних чинників NF-κB, AP-1 та Nrf2 (за даними власних досліджень та літературних джерел).

аніон-радикала, підвищенням активності індукцибельної ізоформи синтази оксиду азоту при ослабленні конкурентного (аргіназного) шляху метаболізму L-аргініну, зменшенням та порушенням спряженості конститутивного ізоферменту NO-синтази, зростанням концентрації пероксинітриду.

Показана роль транскрипційних факторів NF-κB і AP-1 як чинників патогенезу наведених порушень, а Nrf2-асоційованої сигнальної системи як шляху обмеження прогресування окисно-нітрозативного стресу та неврологічного дефіциту у ранньому посттравматичному періоді. З'ясовано закономірності нейротективної дії інгібіторів активації NF-κB та AP-1 (піролідидитіокарбамату амонію та SR 11302, відповідно) та індукторів Nrf2 (диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату), а також водорозчинної форми кверцетину (корвітину) за умов відтворення у щурів черепно-мозкової травми.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведене теоретичне узагальнення і експериментальне розв'язання наукового завдання, що полягає у з'ясуванні ролі транскрипційних чинників NF-κB, AP-1 та Nrf2 у механізмах вільнорадикальних розладів у головному мозку та розвитку неврологічного дефіциту у ранньому періоді після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми.

1. У динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання черепно-мозкової травми у тканині великих півкуль головного мозку щурів виявляються ознаки окисно-нітрозативного стресу: збільшення порівняно з результатами хибнотравмованих тварин вироблення супероксидного аніон-радикала (на 3 добу посттравматичного періоду: мітохондріями – на 47.8%; мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою – на 44.5%; NADPH-оксидазою фагоцитів – на 69.3%,  $p < 0.001$ ), підвищення активності індукцибельної синтази оксиду азоту (через 3 доби – на 78.5%,  $p < 0.05$ , через 7 діб – на 88.0%,  $p < 0.01$ , через 14 діб – на 71.2%,  $p < 0.01$ ) при зменшенні активності ферменту конкурентного (аргіназного) шляху метаболізму L-аргініну – орнітиндекарбоксилази (через 3 доби – на 26.8%, через 7 діб – на 32.7%, через 14 діб – на 18.7%,  $p < 0.001$ ), зменшення та порушення спряженості конститутивної ізоформи NO-синтази, зростання концентрації пероксинітриту (через 3 доби – на 31.8%,  $p < 0.01$ , через 7 діб – на 55.5%,  $p < 0.001$ , через 14 діб – на 32.9%,  $p < 0.01$ ), що супроводжується розвитком декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів.

2. Після моделювання експериментальної черепно-мозкової травми виживаність щурів, розрахована за процедурою Каплана-Мейера,



становила на 3-тю добу –  $0.53 \pm 0.09$ ; на 7-му та 14-ту добу –  $0.40 \pm 0.09$ . Протягом першого тижня посттравматичного періоду і більшості тварин виявляються ознаки неврологічного дефіциту: порушення м'язового тону, координації рухів і больової реакції, що супроводжується високими значеннями інтегрального показника неврологічного дефіциту (на 3-тю добу –  $53.31 \pm 2.47$  бала, на 7-му добу –  $51.33 \pm 2.95$  бала), порушенням локомоторної активності та психоемоційного стану щурів.

3. Розвиток окисно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів після моделювання черепно-мозкової травми пов'язаний з активністю транскрипційних чинників NF- $\kappa$ B та AP-1. Застосування їх інгібіторів (піролідиндитіокарбамату амонію, SR 11302) істотно зменшує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу посттравматичного періоду генерацію супероксидного аніон-радикала (мітохондріями – на 49.1 і 43.1%, відповідно,  $p < 0.001$ ; мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою – на 45.3 і 38.8%, відповідно,  $p < 0.001$ ) та активність індукцйбельної синтази оксиду азоту (на 53.9 і 42.7% відповідно,  $p < 0.01$ ) при збільшенні активності орнітин-декарбоксилази (на 44.5 і 37.7%, відповідно,  $p < 0.001$ ), покращує спряженність її конститутивної ізоформи, обмежує концентрацію пероксинітриду (на 31.1%,  $p < 0.001$ , та 20.3%,  $p < 0.01$ , відповідно), що супроводжується ослабленням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу.

4. Транскрипційні фактори NF- $\kappa$ B та AP-1 є важливими чинниками патогенезу неврологічного дефіциту після відтворення черепно-мозкової травми. Введення піролідиндитіокарбамату амонію та SR 11302 вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби, істотно обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду порушення м'язового

тону, координації рухів та больової реакції, що супроводжується достовірним зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту до  $25.64 \pm 2.06$  бала (вдвічі) та до  $31.50 \pm 2.47$  бала (на 38.6%) відповідно, покращенням поведінкових реакцій.

5. Активація транскрипційного чинника NRF2 є ефективним засобом пригнічення окисно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів після моделювання черепно-мозкової травми. Застосування індукторів транскрипційного чинника NRF2 (диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату) суттєво зменшує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу посттравматичного періоду генерацію супероксидного аніон-радикала (мітохондріями – на 38.9 і 26.5%, відповідно,  $p < 0.001$ ; мікосомальними монооксигеназами та NO-синтазою – на 34.4 і 21.0%, відповідно,  $p < 0.001$ ) та активність індукційної синтази оксиду азоту (на 71.6%,  $p < 0.001$ , та 34.6%,  $p < 0.02$ , відповідно) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази (на 38.3,  $p < 0.001$ , та 23.3%,  $p < 0.02$ , відповідно), що супроводжується пригніченням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу. При цьому диметилфумарат, на відміну від епігалокатехін-3-галату, виявляє здатність покращувати спряженність конститутивної ізоформи NO-синтази та обмежувати концентрацію пероксинітриду (на 37.3%,  $p < 0.001$ ).

6. Індукція NRF2-асоційованої сигнальної системи є ефективним засобом обмеження неврологічного дефіциту після відтворення черепно-мозкової травми. Введення диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби, суттєво обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду порушення м'язового тону, координації рухів та больової реакції, що супроводжується достовірним зменшенням інтегрального показника неврологічного

дефіциту до  $27.08 \pm 2.73$  бала (на 47.2%) та  $35.08 \pm 3.02$  бала (на 31.7%), відповідно. Застосування диметилфумарату та, у дещо меншій мірі, епігалокатехін-3-галату покращує протягом цього часу показники рухової та дослідницької активності, орієнтувальної реакції, зменшує рівень емоційної тривожності та страху.

7. Призначення кверцетину істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після відтворення черепно-мозкової травми ознаки окисно-нітрозативного стресу, зменшує генерацію супероксидного аніон-радикала (мітохондріями – на 35.0%; мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою – на 30.2%  $p < 0.001$ ) та активність індукцйбельної синтази оксиду азоту (на 45.3%,  $p < 0.01$ ) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази (на 25.3%,  $p < 0.01$ ), покращує спряженність її конститутивної ізоформи (в 2.12 рази,  $p < 0.001$ ), обмежує концентрацію пероксинітриту (на 19.5%,  $p < 0.01$ ), що супроводжується пригніченням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу.

8. Застосування кверцетину вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання черепно-мозкової травми, істотно обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду порушення м'язового тону, координації рухів та больової реакції, що супроводжується достовірним зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту до  $27.15 \pm 1.97$  бала (на 47.1%), покращенням показників рухової та дослідницької активності, а також орієнтувальної реакції, але без істотного впливу на показник емоційної тривожності та страху (число актів грумінгу).

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Беланова АА, Лебедева ЮА, Кузьминова ОН и др. Активаторный белок 1: структура, функционирование и роль в окислительном статусе человека. *Sci Pract J Health Life Sci.* 2014;(3):11-20.
2. Березов ТТ, Маклецова МГ, Федорова ТН. Полиамины: их роль в норме и при патологии центральной нервной системы. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2012;6(2):38-42.
3. Вастьянов РС, Стоянов ОМ, Антоненко СА та ін. Патогенетичне значення порушення нейромедіаторної передачі при черепно-мозкової травми. *Вісник морської медицини.* 2016;(3):113-121.
4. Гоженко АІ, Гудима АА, Борис РМ. Відхилення глутатіонової антипероксидної системи в динаміці періоду гострої реакції на краніоскелетну травму. *Медична хімія.* 2013;15(1):40-44.
5. Гладких ФВ, Степанюк НГ. Експериментальне обґрунтування доцільності застосування вінборону з метою підвищення знеболювальної активності ібупрофену. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2016;(3):41-48.
6. Гудима АА, Михайлюк ІА, Михайлюк ВМ. Динаміка показників жовчоутворювальної функції печінки у відповідь на скелетну, черепно-мозкову та поєднану травми в ранній період травматичної хвороби. *Медична та клінічна хімія.* 2015;17(3):66-70.
7. Гудима АА, Сушко ЮІ. Вікові особливості активації процесів ліпідної пероксидації в нирці в умовах експериментальної краніоскелетної травми. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини.* 2018;(3):47-51.
8. Гусев ЕИ, Крыжановский ГН. Дизрегуляционная патология нервной системы. М.: МИА; 2009. 512 с.

9. Дмитриенко ЕВ, Филатенкова ТА, Рыбакина ЕГ, Корнева ЕА. Поведенческие реакции животных после экспериментальной черепно-мозговой травмы: влияние препарата нуклеотидной природы. Вестн. Санкт-Петербургского ун-та. 2014; 11(3):180-190.

10. Драчук КО. Роль сірководню в порушенні функцій серця і судин при старінні [дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук]. Київ, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України; 2016. 138 с.

11. Жилияев СО. Експериментальне обґрунтування використання препаратів кверцетину в різних лікарських формах при черепно-мозковій травмі [автореф. дис. на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук]. Харків, Національний фармацевтичний університет, 2014. 21 с.

12. Жилияев СО, Штриголь СЮ, Абдулін РФ. Гістологічні зміни мозку та неврологічний дефіцит при експериментальній черепно-мозковій травмі у щурів під впливом препаратів кверцетину. Укр. біофарм. журн. 2012;(5–6):52–57.

13. Жилияев СО, Штриголь СЮ. Порівняльний аналіз впливу корвітину та ліпофлаону на показники енергетичного обміну у головному мозку щурів з моделлю тяжкої черепно-мозкової травми. Запорозж. мед. журн. 2013;(2):21–25.

14. Жилияев СО, Штриголь СЮ. Препарати кверцетину як церебропротектори при тяжкій черепно-мозковій травмі в експерименті. Фармацевт. часопис. 2012;(2):125–130.

15. Жилияев СО, Штриголь СЮ. Психотропні ефекти корвітину та ліпофлаону у щурів із тяжкою черепно-мозковою травмою. Укр. біофарм. журн. 2013;(1):35–38.

16. Жилияев СО, Штриголь СЮ. Экспериментальное исследование влияния корвитина и липофлаона на показатели прооксидантно-

антиоксидантного балансу и ендогенной интоксикации при черепно-мозговой травме. Науч. вест. Белгородского гос. ун-та. 2013;18:146–151.

17. Забенько ЄЮ. Морфофункціональні зміни в головному мозку мишей після повторюваної легкої черепно-мозкової травми та їх корекція корвітином [дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук]. Київ, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України; 2020. 123 с.

18. Ельський ВН, Зяблицев СВ. Моделирование черепно-мозговой травмы. Донецк: Новый мир; 2008. 140 с.

19. Ельський ВН. Патологія, діагностика і інтенсивна терапія тяжкої черепно-мозгової травми. Донецк: Новый мир; 2004. 200 с.

20. Ельський ВН. Нейрогормональні регуляторні механізми при черепно-мозгової травмі. Донецк: Новый мир; 2008. 240 с.

21. Ельський ВН. Роль нейроіммуноендокринних механізмів в формуванні синдрому ендогенної інтоксикації при травматичній хворобі. Тавричеський медико-біологічний вестник. 2012;15(3, ч. 1):115-117.

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

23. Єлінська АМ, Френкель ЮД, Коваль МС, Ковальова ІО, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Роль редокс-чутливих транскрипційних чинників у механізмах окисно-нітрозативного стресу. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: Х наук.-практ. конф. з міжнарод. участю (Тернопіль, 5–6 жовтня 2017 р.): мат. Тернопіль; 2017. С. 16.

24. Єлінська АМ, Швайковська ОО, Костенко ВО. Вплив піролідиндитіокарбамату амонію на продукцію активних форм кисню і азоту в тканинах пародонта та слинних залоз щурів за умов системного введення ліпополісахариду *Salmonella typhi*. Фізіол. журн. 2018;64(5):63-69.
25. Зенков НК, Колпаков АР, Меньщикова ЕБ. Редокс-чувствительная система Keap1 Nrf2 ARE как фармакологическая мишень при сердечно-сосудистой патологии. Сиб. научн. мед. журн. 2015;35(5):5-25.
26. Зенков НК, Меньщикова ЕБ, Ткачѳв ВО. Редокс-чувствительная сигнальная система Keap1 Nrf2 ARE как фармакологическая мишень. Биохимия. 2013;78(1):27-47.
27. Зяблицев СВ. Механизмы и ключевые звенья развития синдрома эндогенной интоксикации при черепно-мозговой травме. Міжнародний вісник медицини. 2013;6(1):18-23.
28. Зяблицев СВ, Ельський ВН. Стадии развития синдрома эндогенной интоксикации при экспериментальной черепно-мозговой травме. Травма. 2019;20(4):80-87.
29. Зяблицев СВ. Системные проявления неспецифической воспалительной реакции при травматической болезни головного мозга. Травма. 2012;13(4):85-88.
30. Зяблицев СВ. Состояние реактивности нейрогормональных систем при травматической болезни головного мозга. Клінічна та експериментальна патологія. 2012;11(3, ч. 1):83-86.
31. Зяблицев СВ. Динаміка маркерів посттравматичного та аутоімунного пошкодження при черепно-мозковій травмі. Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. 2013;9(1–2):17-20.

32. Зяблицев СВ, Ельський ВН, Стрельченко ЮІ, Піщуліна СВ. Механізми і стадійність порушень, які зумовлюють розвиток синдрому ендогенної інтоксикації. Вісник морфології. 2014;20(2):318-324.

33. Зяблицев СВ, Єльський ВМ. Синдроми травматичної хвороби при черепно-мозковій травмі. Краматорськ: Каштан; 2020. 264 с.

34. Зяблицев СВ, Юзьків ЯС, Дядик ОО. Динаміка вмісту нейроспецифічних білків та їх утворення при експериментальній черепно-мозковій травмі. Патологія. 2016;(1):49-53.

35. Зяблицев СВ, Юзьків ЯС. Механізми запальних та автоімунних реакцій при черепно-мозковій травмі. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2016;(3):34-38.

36. Зяблицев СВ. Динаміка вмісту нейроспецифічних білків та їх утворення при експериментальній черепно-мозковій травмі. Патологія. 2016;(1):49-53.

37. Зяблицев СВ. Механізми формування посттравматичної міокардіодистрофії при черепно-мозковій травмі. Таврический медико-биологический вестник. 2012;15(4):403-406.

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

39. Кондаков ЕН, Кривецкий ВВ. Черепно-мозговая травма: руководство. СПб.: СпецЛит.; 2002. 380 с.

40. Коновалов АН, Лихтерман ЛБ, Потапов АА, редакторы. Клиническое руководство по черепно-мозговой травме: в 3 т. М.: Антидор; 1998. Т. 1. 550 с.

41. Королюк МА, Иванова ЛИ, Майорова ИГ. Метод определения активности каталазы. Лаб. дело.1988;(1):16-19.

42. Костенко ВО, Єлінська АМ, Ковальова ІО, Назаренко СМ, Соловійова НВ, Таран ОВ, Френкель ЮД, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ. Дизрегуляторні механізми окисно-нітрозативного стресу в організмі



савців. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доп. VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (13-15 травня 2020 р.). Одеса; 2020. Т.1. С. 255-256.

43. Костенко ВО, Єлінська АМ, Ковальова ІО, Назаренко СМ, Соловійова НВ, Френкель ЮД, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ. Інгібітори активації транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 як засоби профілактики та патогенетичної терапії окисно-нітрозативного стресу. Бюлл. XVII чтений им. В.В. Подвысоцкого (г. Одесса, 24–25 мая 2018 г.). Одесса; 2018. С. 110-111.

44. Костенко ВО, Єлінська АМ, Назаренко СМ, Соловійова НВ, Френкель ЮД, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ. Модулятори редоксчутливих транскрипційних чинників як засоби контролю формування патологічної системи на молекулярному рівні. Бюл. XVIII читань ім. В.В. Підвисоцького (м. Одеса, 21–22 травня 2019 р.). Одеса; 2019. С. 100-101.

45. Костенко ВО, Єлінська АМ, Назаренко СМ, Соловійова НВ, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, заявник і патентовласник. Спосіб експериментальної терапії окисно-нітрозативного стресу. Патент України 131230; заявл. 25.06.2018; опубл. 10.01.2019, бюл. № 1/2019.

46. Костенко ВО, Єлінська АМ, Назаренко СМ, Френкель ЮД, Черно ВС, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ. Роль редоксчутливих чинників транскрипції в патогенезі дизрегуляторної патології. Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми»: науково-практична конференція з міжнародною участю (м. Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р.). Івано-Франківськ; 2019. С. 28-29.

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

48. Коцюруба АВ, Коркач ЮП, Таланов СО. Вікові особливості змін аргіназо-NO-синтазної системи в серці щурів в умовах адаптації до тривалих фізичних навантажень плаванням. Фізіол. журн. 2012;58(1):27-35.

49. Куровська ВО, Пішак ВП, Ткачук СС. Роль оксиду азоту в ішемічних і ішемічно-реперфузійних ушкодженнях головного мозку. Буковинськ. мед. вісн. 2008; 12(4):143-149.

50. Луценко РВ. Використання тесту “відкрите поле” для пошуку стреспротективних речовин серед похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти. Здобуття клінічної і експериментальної медицини. 2008;(2):70-72.

51. Луценко РВ, Дев'яткіна ТО. Дослідження анксиолітичної активності N-(1-нафтил)амід-2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти при моделюванні неконфліктної поведінки в щурів. Вісник проблем біології і медицини. 2012;(3, ч. 2):82-85.

52. Луценко РВ. Оцінка нейротропної активності похідного 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти в тесті “відкрите поле”. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2008;(12):345-348.

53. Майоров ОЮ. Оценка индивидуально-типологических особенностей поведения и устойчивости интактных белых крыс-самцов на основе факторной модели нормального этологического спектра показателей в тесте «открытое поле». Клин. информат. и телемед. 2011;7(8):21-32.

54. Максимович НЕ, Дремза ИК, Троян ЭИ и др. Корректирующие эффекты дигидрокверцетина при ишемии-реперфузии головного мозга. Биомед. хим. 2014;60(6):643-650.

55. Мартинович ГГ, Черенкевич СН. Окислительно-восстановительные процессы в клетках: монография. Минск: БГУ; 2008. 159 с.

56. Матлашов МЕ. Молекулярные инструменты для модуляции редокс-статуса и мониторинга активности нейронов [диссертация кандидата биологических наук]. Москва, Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН; 2014. 105 с.

57. Менабде КО, Бурджанадзе ГМ, Чачуа МВ та ін. Тканинна специфічність пероксидного окислення в умовах емоційного стресу в щурів. Укр. біохім. журн. 2011;83(3): 85-90.

58. Михайлюк ІА, Гудима АА, Дацко ТВ. Динаміка порушень структурного стану печінки в умовах раннього періоду травматичної хвороби після скелетної, черепно-мозкової травми та їх поєднання. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2014;(2):253.

59. Молдованов МА. Диагностика и мониторинг нейронального повреждения при тяжелой черепно-мозговой травме. Общая реаниматология. 2010;1(1):17-21.

60. Олійник Ж, Сенчило Н, Довбинчук Т та ін. Реактивний астрогліоз у щурів із ЛПС-індукованою хворобою Паркінсона. Вісн. Київськ. нац. ун-ту ім. Тараса Шевченка. Сер. Біологія. 2020;(1):19-25.

61. Пермяков АА, Елисеева ЕВ, Юдицкий АД, Исакова ЛС. Поведенческие реакции у экспериментальных животных с различной прогностической устойчивостью к стрессу в тесте «открытое поле». Вестн. Удмурт. ун-та. Сер. «Биология. Науки о Земле». 2013;(3):83-90.

62. Реутов ВП, Сорокина ЕГ, Самосудова НВ, Захарчук НВ. Гемодинамика мозга: глутаматергическая система и цикл оксида азота в регуляции мозгового кровообращения: новая концепция. Тихоокеанский мед. журн. 2017;(3):37-45.

63. Салій ЗВ. Клініко-лабораторні співвідношення у хворих з наслідками черепно-мозкової травми. ScienceRise. Medical science. 2015;8(3):58-64.

64. Стоянов ОМ, Пулик ОР, Вастьянов РС. Патогенетичне значення центральної моноамінергічної нейроредачі в механізмах розвитку моторних дисфункцій та неврологічного дефіциту після легкої черепно-мозкової травми. Наук. вісн. Ужгородського ун-ту. Сер. Медицина. 2015;(1):100-107.

65. Сушко ЮІ, Гудима АА. Вплив експериментальної краніоскелетної травми на активність процесів ліпідної пероксидації в легенях щурів різного віку. Шпитальна хірургія. 2018;(4):46-49.

66. Турпаев КТ. Сигнальная система Keap1 - Nrf2. Механизм регуляции и значение для защиты клеток от токсического действия ксенобиотиков и электрофильных соединений. Биохимия. 2013;78(2):147-166.

67. Френкель ЮД, Черно ВС. Роль транскрипционного ядерного фактора κВ в механизмах нарушений окислительного метаболизма в головном мозге крыс при хронической гипомелатонинемии. Georgian Medical News. 2014;(7-8):99–102.

68. Френкель ЮД. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на окиснювальний метаболізм у тканині головного мозку за умов хронічної експериментальної гіпомелатоніємі. Загальна патологія та патологічна фізіологія. 2013;8(3):86–90.

69. Френкель ЮД. Роль NO-синтаз у механізмах порушень біоенергетичних процесів у тканині головного мозку за умов хронічної експериментальної гіпомелатоніємі. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2014; 14(1):109–112.

70. Френкель ЮД. Роль NO-синтаз у механізмах порушень окиснювального метаболізму у тканині головного мозку за умов хронічної експериментальної гіпомелатоніемії. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2014;14(2):162–165.

71. Хміль ДО, Костенко ВО. Вплив L-аргініну та корвітину на окисно-нітрозативний стрес у шкірі щурів за умов підвищеного вмісту нітрату натрію. Фізіол. журн. 2017;63(6):53-59. (Ukrainian).

72. Холодкова ОЛ, Прус РВ. Морфологічні зміни печінки, міокарда і нирок щурів у динаміці перебігу експериментальної черепно-мозкової травми залежно від віку. Досягнення біології та медицини. 2018;(1):13-17.

73. Холодкова ОЛ, Прус РВ. Морфологічні особливості печінки та нирок статевозрілих та статевонезрілих щурів після модельованої черепно-мозкової травми. Вісник проблем біології і медицини. 2017;(4, ч. 2):160-163.

74. Холодкова ОЛ, Прус РВ. Сучасні погляди на морфологічні порушення внутрішніх органів після черепно-мозкової травми. Вісник проблем біології і медицини. 2018;(3):46-50.

75. Храмов В.А. Простой метод определения активности орнитиндекарбоксилазы в смешанной слюне человека. Клини. лабор. диагн. 1997;(4):14-15.

76. Чайка АВ, Забенько ЕЮ, Лабунец ИФ, Пивнева ТА. Черепно-мозговая травма: патогенез, экспериментальные модели, перспективы клеточной терапии. Клітинна та органна трансплантологія. 2017;5(2):200-216.

77. Шабанов ПД, Зарубина ИВ. Гипоксия и антигипоксантаы, в фокусе черепно-мозговая травма. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2019;(1):7-16.

78. Шарлай КЮ. Тяжка черепно-мозкова травма: фактори ризику та прогноз виживання. Експериментальна і клінічна медицина. 2017;(3):80-85.

79. Шаторна ВФ, Гарець ВІ, Колосова П та ін. Морфологічні особливості печінки та нирок статевозрілих та статевонезрілих щурів після модельованої черепно-мозкової травми. Вісник проблем біології і медицини. 2017;(4, ч. 2):164-167.

80. Щедренок ВВ, Гуманенко ЕК, Кирьянова ВВ и др. Принципы ранней хирургической реабилитации нейротравмы. Вестн. хир. им. И. И. Грекова. 2013;172(5):51-55.

81. Явтушенко ІВ. Вплив інгібіторів активації транскрипційних факторів NF-карраВ і AP-1 на розвиток неврологічного дефіциту у щурів після експериментальної черепно-мозкової травми. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доповідей II Науково-практичної Інтернет-конференції з міжнародною участю (Харків, 21 листопада 2019 р.). Харків: Вид-во НФаУ; 2019. С. 386-387.

82. Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканині великих півкуль головного мозку щурів після моделювання черепно-мозкової травми. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020; 5(4):117-123.

83. Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Вплив модуляторів редоксчутливих транскрипційних чинників на неврологічний дефіцит у щурів після відтворення черепно-мозкової травми. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2020; 20(2):198-202.

84. Явтушенко ІВ, Левков АА, Костенко ВО. Зміни поведінкових реакцій щурів після відтворення черепно-мозкової травми та їхня

корекція модуляторами транскрипційних чинників. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2020; 20(4):157-162.

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

86. Явтушенко ІВ, Левков АА. Роль транскрипційного чинника AP-1 у розвитку метаболічних і функціональних порушень у великих півкулях головного мозку щурів після черепно-мозкової травми. Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики: VII пленум Укр. наук. тов. патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячені 110-річчю з дня народження чл.-кор. АМН СРСР, проф. М.Н. Зайка : мат. доп. (Полтава, 11-12 жовтня 2018 р.). Полтава; 2018. С. 101.

87. Явтушенко ІВ, Назаренко СМ, Таран ОВ. Вплив кверцетину на вільнорадикальні процеси в організмі щурів при відтворенні різних моделей травматичної хвороби. 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.). Харків: Вид-во НФаУ; 2020. С. 232-233.

88. Явтушенко ІВ. Роль редокс-чутливих транскрипційних чинників NF-κB і AP-1 у розвитку окисно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів після черепно-мозкової травми. Multilevel Prevention and Diagnosis in Oncology: Ukraine Pathophysiology and Biobank Conference (Харків, 1-2 лютого 2018 р.). Харків; 2018. С. 43.

89. Явтушенко ИВ. Роль транскрипционных факторов NF-карра В и AP-1 в механизмах свободнорадикального повреждения головного мозга и развития неврологического дефицита у крыс после экспериментальной черепно-мозговой травмы. *Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье: тез. XXII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей.* СПб.: Изд-во СпбГУ; 2019. - С. 577-578.

90. Ahmed SM, Luo L, Namani A et al. Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017 Feb;1863(2):585-597.

91. Ahn HJ, Hernandez CM, Levenson JM et al. c-Rel, an NF-kappaB family transcription factor, is required for hippocampal long-term synaptic plasticity and memory formation. *Learn Mem.* 2008 Jul 11;15(7):539-49.

92. Akimov OYe, Kostenko VO. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. *Ukr Biochem J.* 2016;88(6):70-75.

93. Alano CC, Garnier P, Ying W et al. NAD<sup>+</sup> depletion is necessary and sufficient for poly(ADP-ribose) polymerase-1-mediated neuronal death. *J Neurosci.* 2010 Feb 24;30(8):2967-2978.

94. Andrabi SA, Umanah GK, Chang C et al. Poly(ADP-ribose) polymerase-dependent energy depletion occurs through inhibition of glycolysis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111:10209–10214.

95. Angelova PR, Abramov AY. Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration. *FEBS Lett.* 2018 Mar;592(5):692-702.

96. Arias-Salvatierra D, Silbergeld EK, Acosta-Saavedra LC, Calderon-Aranda ES. Role of nitric oxide produced by iNOS through NF-κB pathway in migration of cerebellar granule neurons induced by Lipopolysaccharide. *Cell Signal.* 2011;23(2):425-435.



97. Balabanov R, Goldman H, Murphy S et al. Endothelial cell activation following moderate traumatic brain injury. *Neurol Res.* 2001 Mar-Apr;23(2-3):175-182.

98. Bal-Price A, Brown GC. Inflammatory neurodegeneration mediated by nitric oxide from activated glia-inhibiting neuronal respiration, causing glutamate release and excitotoxicity. *J Neurosci.* 2001 Sep 1;21(17):6480-6491.

99. Bartnik BL, Sutton RL, Fukushima M et al. Upregulation of pentose phosphate pathway and preservation of tricarboxylic acid cycle flux after experimental brain injury. *J Neurotrauma.* 2005 Oct;22(10):1052-65.

100. Bayir H, Kagan VE, Borisenko GG et al. Enhanced oxidative stress in iNOS-deficient mice after traumatic brain injury: support for a neuroprotective role of iNOS. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2005;25:673–684.

101. Beni SM, Kohen R, Reiter RJ et al. Melatonin-induced neuroprotection after closed head injury is associated with increased brain antioxidants and attenuated late-phase activation of NF-kappaB and AP-1. *ASEB J.* 2004 Jan;18(1):149-151.

102. Ben-Neriah Y, Karin M. Inflammation meets cancer, with NF- $\kappa$ B as the matchmaker. *Nat Immunol.* 2011 Jul 19;12(8):715-723.

103. Berka V, Liu W, Wu G, Tsai AL. Comparison of oxygen-induced radical intermediates in iNOS oxygenase domain with those from nNOS and eNOS. *J Inorg Biochem.* 2014;139:93–105.

104. Bethea JR, Castro M, Keane RW et al. Traumatic spinal cord injury induces nuclear factor-kappaB activation. *J Neurosci.* 1998;18(9):3251–3260.

105. Bhakar AL, Tannis LL, Zeindler C et al. Constitutive nuclear factor-kappa B activity is required for central neuron survival. *J Neurosci.* 2002 Oct 1;22(19):8466-8475.

106. Bhowmick S, D’Mello V, Caruso D et al. Traumatic brain injury-induced downregulation of Nrf2 activates inflammatory response and apoptotic cell death. *J Mol Med*. 2019; 97:1627–1641.

107. Blennow K, Brody DL, Kochanek PM et al. Traumatic brain injuries. *Nat Rev Dis Primers*. 2016 Nov 17;2:16084.

108. Bonetti B, Stegagno C, Cannella B et al. Activation of NF-kappaB and c-jun transcription factors in multiple sclerosis lesions. Implications for oligodendrocyte pathology. *Am J Pathol*. 1999 Nov;155(5):1433-1438.

109. Boone DK, Weisz HA, Bi M et al. Evidence linking microRNA suppression of essential prosurvival genes with hippocampal cell death after traumatic brain injury. *Sci Rep*. 2017 Jul 27;7(1):6645.

110. Boone DR, Weisz HA, Willey HE et al. Traumatic brain injury induces long-lasting changes in immune and regenerative signaling. *PLoS One*. 2019;14(4):e0214741.

111. Bowman CE, Scafidi J, Scafidi S. Metabolic perturbations after pediatric TBI: It's not just about glucose. *Exp Neurol*. 2019 Jun;316:74-84.

112. Cahill CM, Zhu W, Oziolor E et al. Differential Expression of the Activator Protein 1 Transcription Factor Regulates Interleukin-1 $\beta$  Induction of Interleukin 6 in the Developing Enterocyte. *PLoS One*. 2016 Jan 22;11(1):e0145184.

113. Capizzi A, Woo J, Verduzco-Gutierrez M. Traumatic Brain Injury: An Overview of Epidemiology, Pathophysiology, and Medical Management. *Med Clin North Am*. 2020 Mar;104(2):213-238.

114. Cenini G, Lloret A, Cascella R. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From a Mitochondrial Point of View. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:2105607.

115. Chaikittisilpa N, Krishnamoorthy V, Lele AV et al. Characterizing the relationship between systemic inflammatory response syndrome and early

cardiac dysfunction in traumatic brain injury. *J Neurosci Res.* 2018;96(4):661–670.

116. Champagne AA, Coverdale NS, Ross A et al. Multi-modal normalization of resting-state using local physiology reduces changes in functional connectivity patterns observed in mTBI patients. *Neuroimage Clin.* 2020 Feb 4;26:102204.

117. Che X, Fang Y, Si X et al. The Role of Gaseous Molecules in Traumatic Brain Injury. *Front Neurosci.* 2018 Jun 8;12:392.

118. Chen M, Regan RF. Time course of increased heme oxygenase activity and expression after experimental intracerebral hemorrhage: correlation with oxidative injury. *J Neurochem.* 2007 Dec; 103(5):2015-2021.

119. Chen SF, Richards HK, Smielewski P et al. Relationship between flow-metabolism uncoupling and evolving axonal injury after experimental traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2004 Sep;24(9):1025-1036.

120. Cheng T, Wang W, Li Q et al. Cerebroprotection of flavanol (-)-epicatechin after traumatic brain injury via Nrf2-dependent and -independent pathways. *Free Radic Biol Med.* 2016 Mar; 92:15-28.

121. Chiu CC, Liao YE, Yang LY, et al. Neuroinflammation in animal models of traumatic brain injury. *J Neurosci Methods.* 2016;272:38–49.

122. Cho HJ, Kang JH, Kwak JY et al. Ascofuranone suppresses PMA-mediated matrix metalloproteinase-9 gene activation through the Ras Raf MEK ERK- and Ap1-dependent mechanisms. *Carcinogenesis.* 2007 May;28(5):1104-1110.

123. Clark RS, Vagni VA, Nathaniel PD et al. Local administration of the poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor INO-1001 prevents NAD<sup>+</sup> depletion and improves water maze performance after traumatic brain injury in mice. *J Neurotrauma.* 2007;24:1399–1405.

124. Cornford EM, Hyman S, Cornford ME, Caron MJ. Glut1 glucose transporter activity in human brain injury. *J Neurotrauma*. 1996 Sep;13(9):523-536.

125. Crobeddu E, Pilloni G, Tardivo V, Fontanella MM. Role of nitric oxide and mechanisms involved in cerebral injury after subarachnoid hemorrhage: is nitric oxide a possible answer to cerebral vasospasm? *J Neurosurg Sci*. 2016 Sep;60(3):385-391.

126. Dashnaw ML, Petraglia AL, Huang JH. Surgical Treatment of Severe Traumatic Brain Injury. Available from: <https://www.intechopen.com/books/traumatic-brain-injury/surgical-treatment-of-severe-traumatic-brain-injury>

127. Denzer I, Münch G, Friedland K. Modulation of mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases via activation of nuclear factor erythroid-2-related factor 2 by food-derived compounds. *Pharmacol Res*. 2016 Jan; 103:80-94.

128. Deshpande LS, Sun DA, Sombati S et al. Alterations in neuronal calcium levels are associated with cognitive deficits after traumatic brain injury. *Neurosci Lett*. 2008 Aug 15;441(1):115-119.

129. Dhanasekaran DN, Reddy EP. JNK signaling in apoptosis. *Oncogene*. 2008;27(48):6245 - 6251.

130. Diaz-Cañestro C, Reiner MF, Bonetti NR et al. AP-1 (Activated Protein-1) Transcription Factor JunD Regulates Ischemia Reperfusion Brain Damage via IL-1 $\beta$  (Interleukin-1 $\beta$ ). *Stroke*. 2019 Feb;50(2):469-477.

131. Ding L, Gao X, Hu J, Yu S. Epigallocatechin-3-gallate attenuates anesthesia-induced memory deficit in young mice via modulation of nitric oxide expression. *Mol Med Rep*. 2018;18(6):4813-4820.

132. Dinkova-Kostova AT, Kostov RV, Kazantsev AG. The role of Nrf2 signaling in counteracting neurodegenerative diseases. *FEBS J.* 2018 Oct;285(19):3576-3590.

133. Djordjevic J, Sabbir MG, Albensi BC. Traumatic Brain Injury as a Risk Factor for Alzheimer's Disease: Is Inflammatory Signaling a Key Player? *Curr Alzheimer Res.* 2016;13(7):730-738.

134. Dong Y, Liu H, Zhao R et al. Ischemia activates JNK c-Jun AP-1 pathway to up-regulate 14-3-3 $\gamma$  in astrocyte. *J Neurochem.* 2009;109(Suppl 1):182-188.

135. Doshi H, Wiseman N, Liu J et al. Cerebral hemodynamic changes of mild traumatic brain injury at the acute stage. *PLoS One.* 2015 Feb 6;10(2):e0118061.

136. Du G, Zhao Z, Chen Y et al. Quercetin protects rat cortical neurons against traumatic brain injury. *Mol Med Rep.* 2018;17:7859-7865.

137. Dungal P, Perlinger M, Weidinger A et al. The cytoprotective effect of nitrite is based on the formation of dinitrosyl iron complexes. *Free Radic. Biol. Med.* 2015;89:300–310.

138. Espinosa-Diez C, Miguel V, Mennerich D, et al. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biol.* 2015;6:183-197.

139. Esteras N, Dinkova-Kostova AT, Abramov AY. Nrf2 activation in the treatment of neurodegenerative diseases: a focus on its role in mitochondrial bioenergetics and function. *Biol Chem.* 2016 May; 397(5):383-400.

140. Fan J, Gladding CM, Wang L et al. P38 MAPK is involved in enhanced NMDA receptor-dependent excitotoxicity in YAC transgenic mouse model of Huntington disease. *Neurobiol Dis.* 2012 Mar;45(3):999-1009.

141. Farooqui AA. Therapeutic Potentials of Curcumin for Alzheimer Disease. Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer; 2016.

142. Fehily B, Fitzgerald M. Repeated Mild Traumatic Brain Injury: Potential Mechanisms of Damage. *Cell Transplant*. 2017;26(7):1131–1155.

143. Filipović D, Todorović N, Bernardi RE, Gass P. Oxidative and nitrosative stress pathways in the brain of socially isolated adult male rats demonstrating depressive- and anxiety-like symptoms. *Brain Struct Funct*. 2017 Jan;222(1):1-20.

144. Fitch MT, Silver J. CNS injury, glial scars, and inflammation: Inhibitory extracellular matrices and regeneration failure. *Exp Neurol*. 2008 Feb;209(2):294-301.

145. Gahm C, Holmin S, Mathiesen T. Nitric oxide synthase expression after human brain contusion. *Neurosurgery*. 2002;50:1319–1326.

146. Galgano M, Toshkezi G, Qiu X et al. Traumatic Brain Injury: Current Treatment Strategies and Future Endeavors. *Cell Transplant*. 2017;26(7):1118–1130.

147. Gallo FT, Kathe C, Morici JF et al. Immediate Early Genes, Memory and Psychiatric Disorders: Focus on c-Fos, Egr1 and Arc. *Front Behav Neurosci*. 2018;12:79.

148. Garces de Los Fayos Alonso I, Liang HC, Turner SD et al. The Role of Activator Protein-1 (AP-1) Family Members in CD30-Positive Lymphomas. *Cancers (Basel)*. 2018 Mar 28;10(4). pii: E93.

149. Glushakova OY, Johnson D, Hayes RL. Delayed increases in microvascular pathology after experimental traumatic brain injury are associated with prolonged inflammation, blood-brain barrier disruption, and progressive white matter damage. *J Neurotrauma*. 2014 Jul 1;31(13):1180-1193

150. Golding EM, Robertson CS, Bryan RM Jr. The consequences of traumatic brain injury on cerebral blood flow and autoregulation. *Clin Exp Hypertens*. 1999 May;21(4):299-332.

151. Greig NH, Tweedie D, Rachmany L et al. Incretin mimetics as pharmacologic tools to elucidate and as a new drug strategy to treat traumatic brain injury. *Alzheimers Dement*. 2014 Feb;10(1 Suppl):S62-75.

152. Guo ZN, Shao A, Tong LS et al. The Role of Nitric Oxide and Sympathetic Control in Cerebral Autoregulation in the Setting of Subarachnoid Hemorrhage and Traumatic Brain Injury. *Mol Neurobiol*. 2016 Aug;53(6):3606-3615.

153. Hang CH, Chen G, Shi JX et al. Cortical expression of nuclear factor kappaB after human brain contusion. *Brain Res*. 2006 Sep 13;1109(1):14-21.

154. Harry GJ. Microglia during development and aging. *Pharmacol Ther*. 2013 Sep;139(3):313-326.

155. Haslund-Vinding J, McBean G, Jaquet V, Vilhardt F. NADPH oxidases in oxidant production by microglia: activating receptors, pharmacology and association with disease. *Br J Pharmacol*. 2017;174(12):1733-1749.

156. Hattori N, Huang SC, Wu HM et al. Correlation of regional metabolic rates of glucose with glasgow coma scale after traumatic brain injury. *J Nucl Med*. 2003 Nov;44(11):1709-1716.

157. Hayden MS, Ghosh S. NF- $\kappa$ B, the first quarter-century: remarkable progress and outstanding questions. *Genes Dev*. 2012 Feb 1;26(3):203-34.

158. Hayes RL, Yang K, Raghupathi R, McIntosh TK. Changes in gene expression following traumatic brain injury in the rat. *J Neurotrauma*. 1995 Oct;12(5):779-90.

159. Hellmich HL, Eidson KA, Capra BA et al. Injured Fluoro-Jade-positive hippocampal neurons contain high levels of zinc after traumatic brain injury. *Brain Res.* 2007;1127:119–126.

160. Herdegen T, Leah JD. Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system: control of gene expression by Jun, Fos and Krox, and CREB ATF proteins. *Brain Res Brain Res Rev.* 1998 Dec;28(3):370-490.

161. Herdegen T, Waetzig V. AP-1 proteins in the adult brain: facts and fiction about effectors of neuroprotection and neurodegeneration. *Oncogene.* 2001;20:2424–2437.

162. Hernandez MS, Britto LR, Real CC et al. Reactive oxygen species and the structural remodeling of the visual system after ocular enucleation. *Neuroscience.* 2010;170(4):1249–60.

163. Hernandez MS, Britto LR. NADPH oxidase and neurodegeneration. *Curr Neuropharmacol.* 2012;10(4):321-327.

164. Ignarro LJ, Freeman B, eds. *Nitric Oxide: Biology and Pathobiology*; 3rd ed. Academic Press; 2017. 434 p.

165. Jacome T, Tatum D. Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) Score Independently Predicts Poor Outcome in Isolated Traumatic Brain Injury. *Neurocritical Care.* 2018, 28(1):110-116

166. Jalles A, Maciel P. The disruption of proteostasis in neurodegenerative disorders. *Molecular Science.* 2016;2(3):259–293.

167. Jang JH, Surh YJ. AP-1 mediates beta-amyloid-induced iNOS expression in PC12 cells via the ERK2 and p38 MAPK signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;331(4):1421 - 1428.

168. Jha RM, Kochanek PM, Simard JM. Pathophysiology and treatment of cerebral edema in traumatic brain injury. *Neuropharmacology.* 2019;145(Pt B):230–246.



169. Jin X, Ishii H, Bai Z, Itokazu T, Yamashita T. Temporal changes in cell marker expression and cellular infiltration in a controlled cortical impact model in adult male C57BL/6 mice. *PLoS One*. 2012;7(7):e41892.

170. Kabadi SV, Faden AI. Neuroprotective strategies for traumatic brain injury: improving clinical translation. *Int J Mol Sci*. 2014 Jan 17;15(1):1216-36.

171. Kaltschmidt B, Kaltschmidt C. NF-kappaB in the nervous system [published correction appears in *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010 Jan;2(1):a001271]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009;1(3):a001271.

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

173. Kannan MB, Solovieva V, Blank V. The small MAF transcription factors MAFF, MAFG and MAFK: current knowledge and perspectives. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Oct;1823(10):1841-1846.

174. Kappe C, Tracy LM, Patrone C et al. GLP-1 secretion by microglial cells and decreased CNS expression in obesity. *J Neuroinflammation*. 2012 Dec 23;9:276.

175. Kensler TW, Wakabayashi N. Nrf2: friend or foe for chemoprevention? *Carcinogenesis*. 2010;31(1):90-99.

176. Khatri N, Thakur M, Pareek V et al. Oxidative Stress: Major Threat in Traumatic Brain Injury. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2018;17(9):689-695.

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

178. Kinoshita K. Traumatic brain injury: pathophysiology for neurocritical care. *J Intensive Care*. 2016;4:29.

179. Kishida KT, Klann E. Sources and targets of reactive oxygen species in synaptic plasticity and memory. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2007;9(2):233–244.

180. Kochanek AR, Kline AE, Gao WM et al. Gel-based hippocampal proteomic analysis 2 weeks following traumatic brain injury to immature rats using controlled cortical impact. *Dev Neurosci*. 2006;28:410–419.

181. Komatsu M, Kurokawa H, Waguri S et al. The selective autophagy substrate p62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of Keap1. *Nat Cell Biol*. 2010;12:213–223.

182. Koo JW, Russo SJ, Ferguson D et al. Nuclear factor-kappaB is a critical mediator of stress-impaired neurogenesis and depressive behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Feb 9;107(6):2669-2674.

183. Kozlov AV, Bahrami S, Redl H, Szabo C. Alterations in nitric oxide homeostasis during traumatic brain injury. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2017 Oct;1863(10 Pt B):2627-2632.

184. LaPlaca MC, Zhang J, Raghupathi R et al. Pharmacologic inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase is neuroprotective following traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma*. 2001 Apr;18(4):369-76.

185. Laskowitz D, Grant G, editors. *Translational Research in Traumatic Brain Injury*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor and Francis Group; 2016.

186. Lian H, Shim DJ, Gaddam SS et al. IκBα deficiency in brain leads to elevated basal neuroinflammation and attenuated response following traumatic brain injury: implications for functional recovery. *Mol Neurodegener*. 2012 Sep 19;7:47.

187. Liu X, Lin R, Zhao B, Guan R, Li T, Jin R. Correlation between oxidative stress and the NF-κB signaling pathway in the pulmonary tissues of obese asthmatic mice. *Mol Med Rep*. 2016 Feb;13(2):1127-1134.

188. Li X, Wang H, Wen G et al. Neuroprotection by quercetin via mitochondrial function adaptation in traumatic brain injury: PGC-1 $\alpha$  pathway as a potential mechanism. *J Cell Mol Med*. 2018;22(2):883-891.

189. Lou M, Chen X, Wang K et al. Increased intracranial pressure is associated with the development of acute lung injury following severe traumatic brain injury. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013 Jul;115(7):904-908.

190. Lozano D, Gonzales-Portillo GS, Acosta S et al. Neuroinflammatory responses to traumatic brain injury: etiology, clinical consequences, and therapeutic opportunities. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2015 Jan 8;11:97-106.

191. Luo P, Li X, Wu X et al. Preso regulates NMDA receptor-mediated excitotoxicity via modulating nitric oxide and calcium responses after traumatic brain injury. *Cell Death Dis*. 2019 Jun 24;10(7):496.

192. Mäkitie LT, Kanerva K, Polvikoski T et al. Brain neurons express ornithine decarboxylase-activating antizyme inhibitor 2 with accumulation in Alzheimer's disease. *Brain Pathol*. 2010;20(3):571-580.

193. Mannino C, Glenn TC, Hovda DA et al. Acute glucose and lactate metabolism are associated with cognitive recovery following traumatic brain injury. *J Neurosci Res*. 2018;96(4):696–701.

194. Maqbool A, Lattke M, Wirth T, Baumann B. Sustained, neuron-specific IKK/NF- $\kappa$ B activation generates a selective neuroinflammatory response promoting local neurodegeneration with aging. *Mol Neurodegener*. 2013 Oct 12; 8:40.

195. Marklund N, Clausen F, Lewander T, Hillered L. Monitoring of reactive oxygen species production after traumatic brain injury in rats with microdialysis and the 4-hydroxybenzoic acid trapping method. *J Neurotrauma*. 2001 Nov;18(11):1217-1227.

196. Marwarha G, Ghribi O. Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B Cells (NF- $\kappa$ B) - a Friend, a Foe, or a Bystander - in

the Neurodegenerative Cascade and Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2017;16(10):1050-1065.

197. Mattson MP, Meffert MK. Roles for NF-kappaB in nerve cell survival, plasticity, and disease. *Cell Death Differ*. 2006 May;13(5):852-860

198. McGinn MJ, Povlishock JT. Pathophysiology of Traumatic Brain Injury. *Neurosurg Clin N Am*. 2016 Oct;27(4):397-407.

199. Mémet S. NF-kappaB functions in the nervous system: from development to disease. *Biochem Pharmacol*. 2006 Oct 30;72(9):1180-1195.

200. Mendes Arent A, de Souza LF, Walz R, Dafre AL. Perspectives on molecular biomarkers of oxidative stress and antioxidant strategies in traumatic brain injury. *Biomed Res Int*. 2014;2014:723060.

201. Mettang M, Reichel SN, Lattke M et al. IKK2/NF-κB signaling protects neurons after traumatic brain injury. *FASEB J*. 2018;32(4):1916-1932.

202. Mitchell JP, Carmody RJ. NF-κB and the Transcriptional Control of Inflammation. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2018;335:41-84.

203. Mitchell S, Vargas J, Hoffmann A. Signaling via the NFκB system. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2016 May;8(3):227-241.

204. Mittelstadt ML, Patel RC. AP -1 mediated transcriptional repression of matrix metalloproteinase-9 by recruitment of histone deacetylase 1 in response to interferon β. *PLoS One*. 2012;7(8):e42152.

205. Morgan MJ, Liu ZG. Crosstalk of reactive oxygen species and NF-κB signaling. *Cell Res*. 2011;21(1):103–115.

206. Morganti-Kossmann MC, Rancan M, Otto VI et al. Role of cerebral inflammation after traumatic brain injury: a revisited concept. *Shock*. 2001 Sep;16(3):165-177.

207. Moro N, Ghavim SS, Harris NG et al. Pyruvate treatment attenuates cerebral metabolic depression and neuronal loss after experimental traumatic brain injury. *Brain Res*. 2016 Jul 1;1642:270-277.

208. Mouzon BC, Bachmeier C, Ferro A et al. Chronic neuropathological and neurobehavioral changes in a repetitive mild traumatic brain injury model. *Ann Neurol*. 2014 Feb;75(2):241-254.

209. Mys LA, Strutynska NA, Strutynskiy VR, Sagach, VF. Activation of endogenous hydrogen sulfide synthesis inhibits mitochondrial permeability transition pore opening and restores constitutive NO-synthase coupling in old rat heart. *Int J Physiol Pathophysiol*. 2018;9(1):59-67.

210. Namani A, Li Y, Wang XJ, Tang X. Modulation of NRF2 signaling pathway by nuclear receptors: implications for cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2014 Sep;1843(9):1875-1885.

211. Nan W, Zhonghang X, Keyan C et al. Epigallocatechin-3-Gallate Reduces Neuronal Apoptosis in Rats after Middle Cerebral Artery Occlusion Injury via PI3K/AKT/eNOS Signaling Pathway. *Biomed Res Int*. 2018 Mar 25;2018:6473580.

212. Nimmerjahn A. Astrocytes going live: advances and challenges. *J Physiol*. 2009 Apr 15;587(Pt 8):1639-1647.

213. Nonaka M, Chen XH, Pierce JE et al. Prolonged activation of NF-kappaB following traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma*. 1999 Nov;16(11):1023-1034.

214. O'leary RA, Nichol AD. Pathophysiology of severe traumatic brain injury. *J Neurosurg Sci*. 2018 Oct;62(5):542-548.

215. Olmos G, Llado J. Tumor necrosis factor alpha: a link between neuroinflammation and excitotoxicity. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:861231.

216. Opii WO, Nukala VN, Sultana R et al. Proteomic identification of oxidized mitochondrial proteins following experimental traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2007;24:772-789.

217. Orihara Y, Ikematsu K, Tsuda R, Nakasono I. Induction of nitric oxide synthase by traumatic brain injury. *Forensic Sci Int*. 2001;123:142-149.

218. Paladino S, Conte A, Caggiano R et al. Nrf2 Pathway in Age-Related Neurological Disorders: Insights into MicroRNAs. *Cell Physiol Biochem*. 2018;47(5):1951-1976.

219. Pålsson-McDermott EM, O'Neill LAJ. Targeting immunometabolism as an anti-inflammatory strategy. *Cell Res*. 2020; 30(4): 300-314.

220. Papoudou-Bai A, Hatzimichael E, Barbouti A, Kanavaros P. Expression patterns of the activator protein-1 (AP-1) family members in lymphoid neoplasms. *Clin Exp Med*. 2017 Aug;17(3):291-304.

221. Parekkadan B, Berdichevsky Y, Irimia D et al. Cell-cell interaction modulates neuroectodermal specification of embryonic stem cells. *Neurosci Lett*. 2008 Jun 20;438(2):190-195.

222. Pawlowska E, Szczepanska J, Wisniewski K et al. NF- $\kappa$ B-Mediated Inflammation in the Pathogenesis of Intracranial Aneurysm and Subarachnoid Hemorrhage. Does Autophagy Play a Role? *Int J Mol Sci*. 2018;19(4):1245.

223. Peng TI, Jou MJ. Oxidative stress caused by mitochondrial calcium overload. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Jul;1201:183-188.

224. Pennypacker KR, Kassed CA, Eidizadeh S et al. NF-kappaB p50 is increased in neurons surviving hippocampal injury. *Exp Neurol*. 2001 Dec;172(2):307-319.

225. Persichini T, Maio N, di Patti MC et al. Interleukin-1 $\beta$  induces ceruloplasmin and ferroportin-1 gene expression via MAP kinases and C EBP $\beta$ , AP-1, and NF- $\kappa$ B activation. *Neurosci Lett*. 2010 Oct 29;484(2):133-138.

226. Petronilho F, Feier G, de Souza B, Guglielmi C et al. Oxidative stress in brain according to traumatic brain injury intensity. *J Surg Res*. 2010 Dec;164(2):316-320.

227. Picón-Pagès P, Garcia-Buendia J, Muñoz FJ. Functions and dysfunctions of nitric oxide in brain. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2019 Aug 1;1865(8):1949-1967.

228. Pizzi M, Spano P. Distinct roles of diverse nuclear factor-kappaB complexes in neuropathological mechanisms. *Eur J Pharmacol.* 2006 Sep 1;545(1):22-28.

229. Powell AL, Hindley E, Nelson AJ et al. Lesions of retrosplenial cortex spare immediate-early gene activity in related limbic regions in the rat. *Brain Neurosci Adv.* 2018 Nov 13;2:2398212818811235.

230. Prins M, Greco T, Alexander D, Giza CC. The pathophysiology of traumatic brain injury at a glance. *Dis Model Mech.* 2013;6(6):1307–1315.

231. Prins ML. Glucose metabolism in pediatric traumatic brain injury. *Childs Nerv Syst.* 2017 Oct;33(10):1711-1718.

232. Probst C, Mirzayan MJ, Mommsen P et al. Systemic inflammatory effects of traumatic brain injury, femur fracture, and shock: an experimental murine polytrauma model. *Mediators Inflamm.* 2012;2012:136020.

233. Rada P, Rojo AI, Chowdhry S et al. SCF {beta}-TrCP promotes glycogen synthase kinase 3-dependent degradation of the Nrf2 transcription factor in a Keap1-independent manner. *Mol Cell Biol.* 2011 Mar;31(6):1121-33.

234. Raivich G, Behrens A. Role of the AP-1 transcription factor c-Jun in developing, adult and injured brain. *Prog Neurobiol.* 2006 Apr;78(6):347-363.

235. Raivich G, Bohatschek M, Da Costa C et al. The AP-1 transcription factor c-Jun is required for efficient axonal regeneration. *Neuron.* 2004 Jul 8;43(1):57-67.

236. Ralser M, Wamelink MM, Kowald A et al. Dynamic rerouting of the carbohydrate flux is key to counteracting oxidative stress. *J Biol.* 2007;6:10.

237. Ramachandran B, Jayavelu S, Murhekar K, Rajkumar T. Repeated dose studies with pure Epigallocatechin-3-gallate demonstrated dose and route dependant hepatotoxicity with associated dyslipidemia. *Toxicol Rep.* 2016;3:336-345.

238. Ramos-Molina B, Lambertos A, Peñafiel R. Antizyme Inhibitors in Polyamine Metabolism and Beyond: Physiopathological Implications. *Med Sci (Basel).* 2018;6(4):89.

239. Ratajczak-Wrona W, Jablonska E, Garley M et al. Role of AP-1 family proteins in regulation of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in human neutrophils. *J Immunotoxicol.* 2013;10(1):32-39.

240. Role of p38 MAPK pathway in induction of iNOS expression in neutrophils and peripheral blood mononuclear cells in patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(11):2354-2363.

241. Richards HK, Simac S, Piechnik S, Pickard JD. Uncoupling of cerebral blood flow and metabolism after cerebral contusion in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2001 Jul;21(7):779-81.

242. Robertson CL. Mitochondrial dysfunction contributes to cell death following traumatic brain injury in adult and immature animals. *J Bioenerg Biomembr.* 2004 Aug;36(4):363-8.

243. Robledinos-Antón N, Fernández-Ginés R, Manda G, Cuadrado A. Activators and Inhibitors of NRF2: A Review of Their Potential for Clinical Development. *Oxid Med Cell Longev.* 2019 Jul 14;2019:9372182.

244. Röhrdanz E, Kahl R. Alterations of antioxidant enzyme expression in response to hydrogen peroxide. *Free Radic Biol Med.* 1998;24(1):27-38.

245. Rojo DR, Prough DS, Falduto MT et al. Influence of stochastic gene expression on the cell survival rheostat after traumatic brain injury. *PLoS One.* 2011;6(8):e23111.



246. Saha RN, Jana M, Pahan K. MAPK p38 regulates transcriptional activity of NF-kappaB in primary human astrocytes via acetylation of p65. *J Immunol.* 2007;179(10):7101-7109.

247. Sajja VS, Perrine SA, Ghoddoussi F et al. Blast neurotrauma impairs working memory and disrupts prefrontal myo-inositol levels in rats. *Mol Cell Neurosci.* 2014 Mar;59:119-126.

248. Saklatvala J. The p38 MAP kinase pathway as a therapeutic target in inflammatory disease. *Curr Opin Pharmacol.* 2004;(4):372-377.

249. Samuel S, Twizere JC, Beifuss KK, Bernstein LR. Nucleolin binds specifically to an AP-1 DNA sequence and represses AP 1-dependent transactivation of the matrix metalloproteinase-13 gene. *Mol Carcinog.* 2008 Jan;47(1):34-46.

250. Sandberg M, Patil J, D'Angelo B et al. NRF2-regulation in brain health and disease: implication of cerebral inflammation. *Neuropharmacology.* 2014;79:298-306.

251. Santhanam AV, d'Uscio LV, Smith LA, Katusic ZS. Uncoupling of eNOS causes superoxide anion production and impairs NO signaling in the cerebral microvessels of hph-1 mice. *J Neurochem.* 2012;122(6):1211 - 1218.

252. Sanz O, Acarin L, González B, Castellano B. NF-kappaB and IkappaBalpha expression following traumatic brain injury to the immature rat brain. *J Neurosci Res.* 2002 Mar 15;67(6):772-80.

253. Sarnico I, Lanzillotta A, Benarese M et al. NF-kappaB dimers in the regulation of neuronal survival. *Int Rev Neurobiol.* 2009; 85:351-62.

254. Satchell MA, Zhang X, Kochanek PM et al. A dual role for poly-ADP-ribosylation in spatial memory acquisition after traumatic brain injury in mice involving NAD<sup>+</sup> depletion and ribosylation of 14-3-3gamma. *J Neurochem.* 2003 May;85(3):697-708.

255. Schellino R, Boido M, Vercelli A. JNK Signaling Pathway Involvement in Spinal Cord Neuron Development and Death. *Cells*. 2019;8(12):1576.

256. Sharma A, Hind K, Hume P et al. Neurovascular Coupling by Functional Near Infra-Red Spectroscopy and Sport-Related Concussion in Retired Rugby Players: The UK Rugby Health Project. *Front Hum Neurosci*. 2020 Feb 13;14:42.

257. Sharma S, de Mestral C, Hsiao M et al. Benchmarking trauma center performance in traumatic brain injury: The limitations of mortality outcomes. *J Trauma Acute Care Surg*. 2013;74:890-894.

258. Sheng WS, Hu S, Feng A, Rock RB. Reactive oxygen species from human astrocytes induced functional impairment and oxidative damage. *Neurochem Res*. 2013;38(10):2148-2159.

259. Shih RH, Wang CY, Yang CM. NF-kappaB Signaling Pathways in Neurological Inflammation. *Front Mol Neurosci*. 2015 Dec 18;8:77.

260. Shijo K, Sutton RL, Ghavim SS et al. Metabolic fate of glucose in rats with traumatic brain injury and pyruvate or glucose treatments: A NMR spectroscopy study. *Neurochem Int*. 2017;102:66–78.

261. Shvedova M, Anfinogenova Y, Atochina-Vasserman EN et al. c-Jun N-Terminal Kinases (JNKs) in Myocardial and Cerebral Ischemia Reperfusion Injury. *Front Pharmacol*. 2018;9:715.

262. Singh I, Sullivan P, Hall E. Peroxynitrite-mediated oxidative damage to brain mitochondria: Protective effects of peroxynitrite scavengers. *J Neurosci Res*. 2007; 85:2216-23. 10. 1002 jnr. 21360.

263. Singh IN, Sullivan PG, Deng Y et al. Time course of post-traumatic mitochondrial oxidative damage and dysfunction in a mouse model of focal traumatic brain injury: implications for neuroprotective therapy. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2006;26:1407–1418.

264. Sivandzade F, Prasad S, Bhalerao A, Cucullo L. NRF2 and NF- $\kappa$ B interplay in cerebrovascular and neurodegenerative disorders: Molecular mechanisms and possible therapeutic approaches. *Redox Biol.* 2019 Feb; 21:101059.
265. Smith C. Neurotrauma. *Handb Clin Neurol.* 2017;145:115-132.
266. Stoll G, Jander S, Schroeter M. Detrimental and beneficial effects of injury-induced inflammation and cytokine expression in the nervous system. *Adv Exp Med Biol.* 2002;513:87-113.
267. Suh HS, Zhao ML, Derico L et al. Insulin-like growth factor 1 and 2 (IGF1, IGF2) expression in human microglia: differential regulation by inflammatory mediators. *J Neuroinflammation.* 2013 Mar 12;10:37.
268. Sukumari-Ramesh S, Alleyne CH Jr. Post-Injury Administration of Tert-butylhydroquinone Attenuates Acute Neurological Injury After Intracerebral Hemorrhage in Mice. *J Mol Neurosci.* 2016 Apr; 58(4):525-531.
269. Sun SC. The non-canonical NF- $\kappa$ B pathway in immunity and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2017 Sep;17(9):545-558.
270. Sun Y, Lin Z, Liu CH et al. Inflammatory signals from photoreceptor modulate pathological retinal angiogenesis via c-Fos. *J Exp Med.* 2017 Jun 5;214(6):1753-1767.
271. Sun Y, Yang T, Leak RK et al. Preventive and Protective Roles of Dietary Nrf2 Activators Against Central Nervous System Diseases. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2017;16(3):326-338.
272. Tao L, Li D, Liu H et al. Neuroprotective effects of metformin on traumatic brain injury in rats associated with NF- $\kappa$ B and MAPK signaling pathway. *Brain Res Bull.* 2018 Jun;140:154-161.
273. Teng FY, Tang BL. NF-kappaB signaling in neurite growth and neuronal survival. *Rev Neurosci.* 2010;21(4):299-313.
274. Tu TW, Ibrahim WG, Jikaria N et al. On the detection of cerebral metabolic depression in experimental traumatic brain injury using Chemical

Exchange Saturation Transfer (CEST)-weighted MRI. *Sci Rep.* 2018 Jan 12;8(1):669.

275. Tyurin VA, Tyurina YY, Borisenko GG et al. Oxidative stress following traumatic brain injury in rats: quantitation of biomarkers and detection of free radical intermediates. *J Neurochem.* 2000;75:2178–2189.

276. Ucal M, Kraitsy K, Weidinger A et al. Comprehensive profiling of modulation of nitric oxide levels and mitochondrial activity in the injured brain: an experimental study based on the fluid percussion injury model in rats. *J Neurotrauma.* 2017;34:475–486.

277. Vasconcelos AR, Dos Santos NB, Scavone C, Munhoz CD. Nrf2/ARE Pathway Modulation by Dietary Energy Regulation in Neurological Disorders. *Front Pharmacol.* 2019;10:33.

278. Villalba N, Sonkusare SK, Longden TA et al. Traumatic brain injury disrupts cerebrovascular tone through endothelial inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide gain of function. *J Am Heart Assoc.* 2014 Dec;3(6):e001474.

279. Wang J, Fields J, Zhao C et al. Role of Nrf2 in protection against intracerebral hemorrhage injury in mice. *Free Radic Biol Med.* 2007 Aug 1; 43(3):408-414.

280. Wang XH, Liu Q, Shao ZT. Deletion of JDP2 improves neurological outcomes of traumatic brain injury (TBI) in mice: Inactivation of Caspase-3. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018 Oct 12;504(4):805-811.

281. Wang Z, Chen G, Zhu WW, Zhou D. Activation of nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) in the basilar artery after subarachnoid hemorrhage in rats. *Ann Clin Lab Sci.* 2010 Summer; 40(3):233-239.

282. Wang Z, Ji C, Wu L et al. Tert-butylhydroquinone alleviates early brain injury and cognitive dysfunction after experimental subarachnoid hemorrhage: role of Keap1 Nrf2 ARE pathway. *PLoS One.* 2014; 9(5):e97685.

283. Wei IH, Tu HC, Huang CC et al. Epigallocatechin gallate attenuates NADPH-d/nNOS expression in motor neurons of rats following peripheral nerve injury. *BMC Neurosci*. 2011 Jun 1;12:52.

284. White TE, Ford GD, Surlles-Zeigler MC et al. Gene expression patterns following unilateral traumatic brain injury reveals a local pro-inflammatory and remote anti-inflammatory response. *BMC Genomics*. 2013 Apr 25;14:282.

285. Winkler EA, Minter D, Yue JK, Manley GT. Cerebral Edema in Traumatic Brain Injury: Pathophysiology and Prospective Therapeutic Targets. *Neurosurg Clin N Am*. 2016 Oct;27(4):473-88

286. Wright AD, Smirl JD, Bryk et al. Sport-Related Concussion Alters Indices of Dynamic Cerebral Autoregulation. *Front Neurol*. 2018 Mar 27;9:196.

287. Wu Q, Xia SX, Li QQ et al. Mitochondrial division inhibitor 1 (Mdivi-1) offers neuroprotection through diminishing cell death and improving functional outcome in a mouse model of traumatic brain injury. *Brain Res*. 2016 Jan 1;1630:134-43.

288. Wu S, Yue Y, Peng A et al. Myricetin ameliorates brain injury and neurological deficits via Nrf2 activation after experimental stroke in middle-aged rats. *Food Funct*. 2016 Jun 15; 7(6):2624-2634.

289. Xing G, Ren M, O'Neill JT et al. Pyruvate dehydrogenase phosphatase1 mRNA expression is divergently and dynamically regulated between rat cerebral cortex, hippocampus and thalamus after traumatic brain injury: a potential biomarker of TBI-induced hyper- and hypoglycaemia and neuronal vulnerability. *Neurosci Lett*. 2012;525:140–145.

290. Xing G, Ren M, Watson WD et al. Traumatic brain injury-induced expression and phosphorylation of pyruvate dehydrogenase: a mechanism of dysregulated glucose metabolism. *Neurosci Lett*. 2009 Apr 17;454(1):38-42.

291. Yan W, Wang HD, Hu ZG et al. Activation of Nrf2-ARE pathway in brain after traumatic brain injury. *Neurosci Lett*. 2008 Jan 31; 431(2):150-154.

292. Yang K, Mu XS, Hayes RL. Increased cortical nuclear factor-kappa B (NF-kappa B) DNA binding activity after traumatic brain injury in rats. *Neurosci Lett*. 1995 Sep 8;197(2):101-104.

293. Yang L, Tao LY, Chen XP. Roles of NF-kappaB in central nervous system damage and repair. *Neurosci Bull*. 2007 Sep;23(5):307-313.

294. Yao Y, Miao W, Liu Z et al. Dimethyl Fumarate and Monomethyl Fumarate Promote Post-Ischemic Recovery in Mice. *Transl Stroke Res*. 2016 Dec; 7(6):535-547.

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

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

297. Ye N, Ding Y, Wild C et al. Small molecule inhibitors targeting activator protein 1 (AP-1). *J Med Chem*. 2014 Aug 28;57(16):6930-6948.

298. Yi JH, Park SW, Kapadia R, Vemuganti R. Role of transcription factors in mediating post-ischemic cerebral inflammation and brain damage. *Neurochem Int*. 2007;50(7-8):1014-1027.

299. Yue Y, Stone S, Lin W. Role of nuclear factor  $\kappa$ B in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neural Regen Res*. 2018 Sep;13(9):1507-1515.

300. Zhang CZ, Dong L, Mu FH et al. Progress in the studies on neuronal nitric oxide synthase inhibitors. *Yao Xue Xue Bao*. 2014 Jun;49(6):781-788.

301. Zhang DD. Mechanistic studies of the Nrf2-Keap1 signaling pathway. *Drug Metab Rev*. 2006;38(4):769-789.

302. Zhang H, Zhang D, Li H et al. Biphasic activation of nuclear factor- $\kappa$ B and expression of p65 and c-Rel following traumatic neuronal injury. *Int J Mol Med*. 2018 Jun;41(6):3203-3210.

303. Zhang L, Wang H. Targeting the NF-E2-Related Factor 2 Pathway: a Novel Strategy for Traumatic Brain Injury. *Mol Neurobiol*. 2018 Feb;55(2):1773-1785.

304. Zhang Q, Wang J, Duan MT et al. NF- $\kappa$ B, ERK, p38 MAPK and JNK contribute to the initiation and or maintenance of mechanical allodynia induced by tumor necrosis factor-alpha in the red nucleus. *Brain Res Bull*. 2013 Oct;99:132-139.

305. Zhao J, Moore AN, Redell JB, Dash PK. Enhancing expression of Nrf2-driven genes protects the blood brain barrier after brain injury. *J Neurosci*. 2007 Sep 19; 27(38):10240-10248.

306. Zhao X, Aronowski J. Nrf2 to pre-condition the brain against injury caused by products of hemolysis after ICH. *Transl Stroke Res*. 2013 Feb; 4(1):71-75.

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

308. Zhao X, Sun G, Zhang J et al. Transcription factor Nrf2 protects the brain from damage produced by intracerebral hemorrhage. *Stroke*. 2007 Dec; 38(12):3280-3286.

309. Zhou N, Tang Y, Keep RF et al. Antioxidative effects of Panax notoginseng saponins in brain cells. *Phytomedicine*. 2014 Sep 15; 21(10):1189-1195.

310. Zhou Y, Cui C, Ma X et al. Nuclear Factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)-Mediated Inflammation in Multiple Sclerosis. *Front Immunol*. 2020 Mar 24;11:391.

311. Ziablitsev SV. Disorders of carbohydrate metabolism in experimental brain injury. *Фізіол. журн*. 2016;62(4):18-22.

312. Ziablitsev SV. Systemic effects of unspecific inflammatory reaction at traumatic brain injury. *Фізіол. журн*. 2016;62(1):67-72.



## ДОДАТКИ

### Додаток А

#### СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

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

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

2. Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Вплив модуляторів редоксчутливих транскрипційних чинників на неврологічний дефіцит у щурів після відтворення черепно-мозкової травми. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2020; 20(2):198-202.

3. Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканині великих півкуль головного мозку щурів після моделювання черепно-мозкової травми. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020; 5(4):117-123.

4. Явтушенко ІВ, Левков АА, Костенко ВО. Зміни поведінкових реакцій щурів після відтворення черепно-мозкової травми та їхня корекція модуляторами транскрипційних чинників. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2020; 20(4):157-162.

5. Yavtushenko IV, Nazarenko SM, Katrushov OV, Kostenko VO. Quercetin limits the progression of oxidative and nitrosative stress in the rats'

tissues after experimental traumatic brain injury. *Wiadomości Lekarskie*. 2020; LXXIII (10):2127-2132.

*2) які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

6 Єлінська АМ, Френкель ЮД, Коваль МС, Ковальова ІО, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Роль редокс-чутливих транскрипційних чинників у механізмах окисно-нітрозативного стресу. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: X наук.-практ. конф. з міжнарод. участю (Тернопіль, 5–6 жовтня 2017 р.): мат. Тернопіль; 2017. С. 16.

7. Явтушенко ІВ. Роль редокс-чутливих транскрипційних чинників NF-κB і AP-1 у розвитку окисно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів після черепно-мозкової травми. *Multilevel Prevention and Diagnosis in Oncology: Ukraine Pathophysiology and Biobank Conference* (Харків, 1-2 лютого 2018 р.). Харків; 2018. С. 43.

8. Костенко ВО, Єлінська АМ, Ковальова ІО, Назаренко СМ, Соловійова НВ, Френкель ЮД, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ. Інгібітори активації транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 як засоби профілактики та патогенетичної терапії окисно-нітрозативного стресу. *Бюлл. XVII чтений им. В.В. Подвысоцкого (г. Одесса, 24–25 мая 2018 г.)*. Одесса; 2018. С. 110-111.

9. Явтушенко ІВ, Левков АА. Роль транскрипційного чинника AP-1 у розвитку метаболічних і функціональних порушень у великих півкулях головного мозку щурів після черепно-мозкової травми. Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики: VII пленум Укр. наук. тов. патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячені 110-річчю з дня народження чл.-кор. АМН СРСР, проф. М.Н. Зайка : мат. доп. (Полтава, 11-12 жовтня 2018 р.). Полтава; 2018. С. 101.

10. Явтушенко ИВ. Роль транскрипционных факторов NF-карра В и AP-1 в механизмах свободнорадикального повреждения головного мозга и развития неврологического дефицита у крыс после экспериментальной черепно-мозговой травмы. *Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье: тез. XXII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей.* СПб.: Изд-во СпбГУ; 2019. - С. 577-578.

11. Костенко ВО, Єлінська АМ, Назаренко СМ, Соловійова НВ, Френкель ЮД, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ. Модулятори редоксчутливих транскрипційних чинників як засоби контролю формування патологічної системи на молекулярному рівні. *Бюл. XVIII читань ім. В.В. Підвисоцького (м. Одеса, 21–22 травня 2019 р.).* Одеса; 2019. С. 100-101.

12. Костенко ВО, Єлінська АМ, Назаренко СМ, Френкель ЮД, Черно ВС, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ. Роль редоксчутливих чинників транскрипції в патогенезі дизрегуляторної патології. *Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми»:* науково-практична конференція з міжнародною участю (м. Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р.). Івано-Франківськ; 2019. С. 28-29.

13. Явтушенко ІВ. Вплив інгібіторів активації транскрипційних факторів NF-карраВ і AP-1 на розвиток неврологічного дефіциту у щурів після експериментальної черепно-мозкової травми. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доповідей II Науково-практичної Інтернет-конференції з міжнародною участю (Харків, 21 листопада 2019 р.).* Харків: Вид-во НФаУ; 2019. С. 386-387.

14 Костенко ВО, Єлінська АМ, Ковальова ІО, Назаренко СМ, Соловійова НВ, Таран ОВ, Френкель ЮД, Швайковська ОО, Явтушенко

ІВ. Дизрегуляторні механізми окисно-нітрозативного стресу в організмі ссавців. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доп. VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (13-15 травня 2020 р.). Одеса; 2020. Т.1. С. 255-256.

15. Явтушенко ІВ, Назаренко СМ, Таран ОВ. Вплив кверцетину на вільнорадикальні процеси в організмі щурів при відтворенні різних моделей травматичної хвороби. 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.). Харків: Вид-во НФаУ; 2020. С. 232-233.

*3) які додатково відображають наукові результати дисертації:*

16. Костенко ВО, Єлінська АМ, Назаренко СМ, Соловйова НВ, Швайковська ОО, Явтушенко ІВ, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, заявник і патентовласник. Спосіб експериментальної терапії окисно-нітрозативного стресу. Патент України 131230; заявл. 25.06.2018; опубл. 10.01.2019, бюл. № 1/2019.

**Додаток Б****ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. X науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів» (Тернопіль, 5–6 жовтня 2017 р., публікація матеріалів).

2. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Багаторівнева профілактика та діагностика в онкології», присвячена 95-річчю з дня заснування Харківської медичної академії післядипломної освіти (Харків, 1-2 лютого 2018 р., публікація матеріалів).

3. XVII читання ім. В.В. Підвисоцького (Одеса, 24–25 травня 2018 р., публікація матеріалів).

4. VII Пленум Українського наукового товариства патофізіологів та науково-практична конференція «Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики», присвячені 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н. Зайка (Полтава, 10-12 жовтня 2018 р., стендова доповідь).

5. XXII міжнародна медико-біологічна конференція молодих дослідників «Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 20 квітня 2019 р., публікація матеріалів).

6. XVIII читання ім. В.В. Підвисоцького (Одеса, 21–22 травня 2019 р., публікація матеріалів).

7. Науково-практична конференція з міжнародною участю Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві

та системні механізми» (Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р., усна доповідь).

8. II науково-практична Інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 21 листопада 2019 р., публікація матеріалів).

9. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні аспекти вільнорадикальної патології в експериментальній та клінічній медицині», присвячена 70-річчю з дня народження професора В.М. Бобирьова (Полтава, 7–8 травня 2020 р., публікація матеріалів).

10. II науково-практична конференція молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 15 травня 2020 р., публікація матеріалів).

## Додаток В


**ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
 В.в. ректора Одеського  
 національного медичного  
 університету, д.мед.н., професор  
 Вастьянов Р.С.  
 » вересня 2020 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Назва впровадження:** Механізми розвитку окисно-нітрозативного стресу в головному мозку за умов відтворення експериментальної черепно-мозкової травми.

**2. Установа-розробник, автор:** Українська медична стоматологічна академія, кафедра патофізіології, аспірант Явтушенко Іван Валерійович.

**3. Джерела інформації:** 1. Явтушенко І.В., Костенко В.О. Пригнічення транскрипційних чинників NF карра В та AP-1 обмежує розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканині великих півкуль головного мозку щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2020;20(1):80-85. 2. Явтушенко І.В., Костенко В.О. Вплив модуляторів редоксчутливих транскрипційних чинників на неврологічний дефіцит у щурів після відтворення черепно-мозкової травми. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2020; 20(2):198-202.

**4. Де впроваджено:** На кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету при проведенні лекційного курсу та практичних занять за темою «Патофізіологія нервової системи».

**5. Терміни впровадження:** лютий-травень 2020 р.


**6. Результати впровадження:** Використання результатів наукових досліджень Явтушенка Івана Валерійовича в навчальному дозволяє розширити знання студентів про механізми пошкодження головного мозку при черепно-мозковій травмі.

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

**8. Обговорено** на засіданні кафедри 28 серпня 2020., протокол № 1.

Відповідальний за впровадження:

Доцент кафедри загальної та клінічної  
 патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького  
 Одеського національного медичного університету,  
 доцент


 Поспелов О.М.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор Харківської медичної академії післядипломної освіти,  
професор

« 8 » вересня 2020 р.



Марченко В.Г.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Пропозиція для впровадження:** Вплив модуляторів редоксчутливих транскрипційних чинників на неврологічні наслідки черепно-мозкової травми.

**2. Установа-розробник:** Українська медична стоматологічна академія, кафедра патофізіології, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36000. Аспірант Явтушенко Іван Валерійович.

**3. Джерело інформації:**

Явтушенко І.В., Костенко В.О. Вплив модуляторів редоксчутливих транскрипційних чинників на неврологічний дефіцит у щурів після відтворення черепно-мозкової травми. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2020; 20(2):198-202.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** Харківська медична академія післядипломної освіти, кафедра клінічної патофізіології, топографічної анатомії та оперативної хірургії.

**5. Термін впровадження:** травень 2020 р.

**6. Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри - лекційному курсі та практичних заняттях циклу «Загальна патофізіологія в клінічній медицині (для лікарів усіх спеціальностей, наукових співробітників та викладачів).

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

Відповідальна за впровадження:

Завідувач кафедри клінічної патофізіології, топографічної анатомії та оперативної хірургії Харківської медичної академії післядипломної освіти, д.мед.н., професор

І.Ю. Багмут





**“ЗАТВЕРДЖУЮ”**

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Національного фармацевтичного університету  
проф. І.М. Владимирова  
16” 12 2020 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** Індуктори сигнального шляху Keap1 /Nrf2/ антиоксидант-респонсивний елемент як засоби обмеження окисно-нітрозативного стресу за умов експериментальної черепно-мозкової травми.

**2. Установа, автор:** 36011, м. Полтава, вул. Шевченка, 23, кафедра патофізіології Українська медична стоматологічна академія, кафедра патофізіології, очний аспірант Явтушенко Іван Валерійович.

**3. Джерело інформації:**

Стаття: Явтушенко І.В, Костенко В.О. Вплив індукторів транскрипційного чинника NRF2 на вільнорадикальні процеси у щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020; 5(4):117-123.

Застосування електрофільних індукторів системи Nrf2 – антиоксидант-респонсивний елемент (диметилфумарат та епігалокатехін-3-галат) суттєво обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після моделювання черепно-мозкової травми середнього ступеня тяжкості ознаки окисно-нітрозативного стресу: зменшує вироблення активних форм кисню та азоту, знижує пероксидне окиснення ліпідів, підвищує антиоксидантний потенціал.

**4. Де і коли впроваджено:** Національний фармацевтичний університет, кафедра нормальної та патологічної фізіології.

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

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

**7. Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри нормальної та патологічної фізіології  
Національного фармацевтичного університету,  
д.мед.н., професор

Н.М. Кононенко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної  
роботи Української медичної  
стоматологічної академії  
професор

Дворник В.М.

« 17 » січня 2021 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Пропозиція для впровадження:** Роль редоксчутливих факторів транскрипції на неврологічний дефіцит і поведінкові реакції у щурів після відтворення черепно-мозкової травми.

**2. Установа-розробник:** Українська медична стоматологічна академія, очний аспірант кафедри патофізіології Явтушенко Іван Валерійович..

**3. Джерела інформації:**

Статті:

Явтушенко ІВ, Костенко ВО. Вплив модуляторів редоксчутливих транскрипційних чинників на неврологічний дефіцит у щурів після відтворення черепно-мозкової травми. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2020; 20(2):198-202.

Явтушенко ІВ, Левков АА, Костенко ВО. Зміни поведінкових реакцій щурів після відтворення черепно-мозкової травми та їхня корекція модуляторами транскрипційних чинників. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2020; 20(4):157-162.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** Українська медична стоматологічна академія, кафедра патофізіології. Обговорено на засіданні кафедри (протокол № 9 від 15 грудня 2020 р.).

**5. Термін впровадження:** вересень – листопад 2020 р.

**6. Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та практичних заняттях за темою “Патофізіологія нервової системи”, у наукових дослідженнях.

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

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патофізіології

Української медичної  
стоматологічної академії,

д.мед.н., професор

Костенко В.О.