

Вищий державний навчальний заклад України
“УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ”

На правах рукопису

Єлінська Аліна Миколаївна

УДК 616.314.17 -001-092 : 546.172.6

НО- ТА NF-кВ –ЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ УРАЖЕННЯ
СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ ЗА УМОВ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

14.03.04 – патологічна фізіологія

ДИСЕРТАЦІЯ

на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Науковий керівник

Костенко Віталій Олександрович

доктор медичних наук, професор

ПОЛТАВА – 2015

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень.....	6
ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. СПІЛЬНІ NO ТА NF-κB-ЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ ТА ДИСФУНКЦІЇ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ССАВЦІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	16
1.1. Метаболічний синдром як приклад дизрегуляторної патології.....	16
1.2. Взаємозв'язок патологічних змін у тканинах слинних залоз із системними метаболічними розладами.....	20
1.3. Роль оксиду азоту та транскрипційного ядерного фактора κB у патогенезі системних метаболічних розладів і дисфункції слинних залоз.....	27
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	42
РОЗДІЛ 3. ЗМІНИ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ФУНКЦІЇ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ.....	48
3.1. Зміни активності NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....	51
3.2. Зміни продукції супероксидного аніон-радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....	53
3.3. Зміни процесів пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....	53

3.4. Зміни активності α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....56

РОЗДІЛ 4. РОЛЬ ІЗОФОРМ NO-СИНТАЗ У ПАТОГЕНЕЗІ ПОРУШЕНЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ФУНКЦІЇ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ.....59

4.1. Вплив інгібіторів NOS на активність NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....59

4.2. Вплив інгібіторів NOS на продукцію супероксидного аніон-радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....62

4.3. Вплив інгібіторів NOS на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....64

4.4. Вплив інгібіторів NOS на активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....67

РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ СУБСТРАТУ NOS НА ОКИСНЮВАЛЬНІ ПРОЦЕСИ ТА ФУНКЦІЇ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ.....71

5.1. Вплив L-аргініну на активність його NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....71

5.2. Вплив L-аргініну на продукцію супероксидного аніон-радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....74

5.3. Вплив L-аргініну на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....76

5.4. Вплив L-аргініну на активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....78

РОЗДІЛ 6. РОЛЬ ПЕРОКСИНІТРИТУ У ПАТОГЕНЕЗІ ПОРУШЕНЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ФУНКЦІЇ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ.....81

6.1. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на активність NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....81

6.2. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на продукцію супероксидного аніон-радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....84

6.3. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....86

6.4. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....90

РОЗДІЛ 7. РОЛЬ NF-κB У МЕХАНІЗМАХ ПОРУШЕНЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ФУНКЦІЇ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ.....	92
7.1. Вплив інгібіторів NF-κB на активність NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....	92
7.2. Вплив інгібіторів NF-κB на продукцію супероксидного аніон- радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....	95
7.3. Вплив інгібіторів NF-κB на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....	98
7.4. Вплив інгібіторів NF-κB на активність α-амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.....	100
РОЗДІЛ 8. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	104
ВИСНОВКИ.....	117
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	120
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	121

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АО	антиоксидант, антиоксидантний
АТФ	аденозинтрифосфат
АФК	активні форми кисню
ВРО	вільнорадикальне окиснення
ЕД	ендотеліальна дисфункція
ЕТЛ	електронно-транспортний ланцюг
ЖК	жирні кислоти
ІР	інсулінорезистентність
ІХС	ішемічна хвороба серця
ЛПВЩ	ліпопротеїни високої щільності
ЛПДНЩ	ліпопротеїни дуже низької щільності
ЛПНЩ	ліпопротеїни низької щільності
МС	метаболічний синдром
МФК	мітохондріальний ферментний комплекс
НАДН	нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений
НАДФН	нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений
ПОЛ	пероксидне окиснення ліпідів
СЗ	слинні залози
ССЗ	серцево-судинні захворювання
ТАГ	триацилгліцерол
ТБК	тіобарбітурова кислота
ХГП	хронічний генералізований пародонтит
ХС	холестерол
цГМФ	циклічний гуанозинмонофосфат
ЦД	цукровий діабет
ВН ₄	тетрагідробіоптерин

IκB	інгібітор κB
IL	інтерлейкін
IRS	субстрат інсулінового рецептору
MAP	мітоген-активована кіназа
7-NI	7-нітроіндазол
NOS (nNOS, eNOS, iNOS)	синтаза оксиду азоту (нейрональна, ендотеліальна, індуцибельна)
NF-κB	транскрипційний ядерний фактор κB
$\cdot\text{O}_2^-$	супероксидний аніон-радикал
PI-3-K	фосфоінозитол-3-кіназа
TNF	фактор некрозу пухлини

ВСТУП

Актуальність теми. Метаболічний синдром (МС) являє собою сукупність факторів ризику серцево-судинних захворювань (ССЗ), а саме – вісцерального ожиріння, атерогенної дисліпідемії, порушень вуглеводного обміну й артеріальної гіпертензії, що мають єдину патофізіологічну основу – інсулінорезистентність (ІР). При наявності МС ризик розвитку ССЗ, цукрового діабету (ЦД) 2 типу та смерті в результаті них є значно підвищеним [15,41,43,143,248,261].

До цього часу причини розвитку МС не цілком ясні. Певне значення мають генетичні фактори, проте у сучасних умовах домінуючу роль відіграють екзогенні чинники, особливо надмірне харчування, що призводить до розвитку ожиріння. На думку багатьох дослідників, однією з основних причин високої частоти метаболічних порушень і епідемії ССЗ є збільшення споживання фруктози, головним чином, у вигляді сахарози та глюкозо-фруктозних сиропів. Несприятливу метаболічну дію цього вуглеводу продемонстровано також в експериментах на тваринах [27,82,98,236].

В останні роки виявлено, що у хворих з МС окрім загальноприйнятих його складових (ІР, абдомінальне ожиріння, артеріальна гіпертензія, порушення обміну ліпідів, системна запальна відповідь та ін.) розвивається реактивно-дистрофічне ураження слинних залоз (СЗ) з порушенням їхньої функції [10-12]. За думкою авторів ці зміни можуть розглядатися в структурі єдиного патологічного процесу, загальним патогенетичним механізмом якого є ІР. Виразність клінічних проявів сіаладенозу корелює з тяжкістю перебігу МС [5].

Важливим аспектом МС, який сприяє розвитку кардіоваскулярних ускладнень, вважається ендотеліальна дисфункція (ЕД) [40,44,64,141]. Слід зазначити, що до цього часу все ще не вирішене питання щодо

причинно-наслідкових взаємозв'язків IP та ендотеліальної дисфункції, проте безсумнівним є той факт, що IP і дисфункція ендотелію, основним наслідком якої є порушення синтезу оксиду азоту (NO), є ланки одного ланцюга, що замикає порочне коло метаболічних і кардіоваскулярних розладів.

У наш час значно розширилися уявлення про участь NO в місцевій регуляції функціонального та метаболічного стану СЗ. У тканинах СЗ знайдено усі три ізоформи NO-синтаз (eNOS, nNOS, iNOS) [264]. Завдяки здатності вільно перетинати мембрани ендогенний NO грає важливу роль у забезпеченні процесу секреції слини, регуляції кровопостачання СЗ, нейротрансмісії, утворенні гістогематичного бар'єру, впливає на проліферацію та диференціювання клітин [201,243, 276].

Функції СЗ у значній мірі залежать від стану окиснювального метаболізму. Процеси активної секреції та реабсорбції вимагають високого рівня сполученого окиснювального фосфорилування [135]. Кисень-залежними є також NO-синтазні реакції [230].

Значна кількість ефектів NO опосередкується через активацію транскрипційного ядерного фактора κB (NF-κB) [260], який ініціює більшість механізмів у патогенезі системної запальної відповіді. У той же час, від активності NF-κB залежить індукція індукцибельної NO-синтази (iNOS) у клітинах *in vivo* та *in vitro*. Промотор гена iNOS містить зв'язуючий центр для NF-κB [278].

Нещодавно висунуто припущення, що порушення NF-κB сигналізації може бути загальною ланкою, яка об'єднує всі компоненти МС та призводить до розвитку IP, ліпотоксичності, системної прозапальної гіперцитокінемії та артеріальної гіпертензії [40,44].

Проте участь компонентів системи NO та NF-κB-залежних процесів у патогенезі ушкоджень СЗ за умов МС залишається

нез'ясованою. Розв'язання цього питання дозволить розширити арсенал засобів попередження та лікування розладів СЗ та інших залежних від їх стану систем при дії факторів-ініціаторів розвитку МС.

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

Дисертація виконана як самостійний фрагмент планових наукових робіт Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України «Кисень- та NO-залежні механізми ушкодження внутрішніх органів та їх корекція фізіологічно активними речовинами» (№ держреєстрації №0108U010079) та «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу» (№ держреєстрації №0114U004941). Здобувачка є співвиконавцем тем. Тема дисертації затверджена на засіданні Проблемної комісії МОЗ і НАМН України «Нормальна та патологічна фізіологія» від 30.01.2013 р. (протокол № 1) та на засіданні Вченої ради стоматологічного факультету (протокол №10 від 28.05.2013 р.).

Мета дослідження. Метою роботи є з'ясування ролі компонентів системи оксиду азоту (різних ізоформ NO-синтази, її субстрату, пероксинітриту) та транскрипційного ядерного фактора κВ у патогенезі функціонально-метаболических розладів піднижньощелепних СЗ у щурів за умов відтворення метаболічного синдрому.

Завдання дослідження:

1. Дослідити стан NO-синтазного (за активністю NOS) та аргіназного (за активністю орнітиндекарбоксилази) шляхів метаболізму L-аргініну, рівень продукції супероксидного аніон-радикала, стан пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантної системи в тканинах піднижньощелепних СЗ щурів та їх білоксинтезуючої функції (за активністю α-амілази) за умов відтворення експериментального МС.

2. Вивчити вплив селективних інгібіторів нейрональної та індукцибельної NO-синтаз на стан NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, рівень продукції $\cdot\text{O}_2^-$, стан ПОЛ, АО захисту в тканинах піднижньощелепних СЗ щурів та їх білоксинтезуючої функції за умов відтворення експериментального МС.

3. Дослідити вплив екзогенного L-аргініну на стан NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, рівень продукції $\cdot\text{O}_2^-$, стан ПОЛ, АО захисту в тканинах піднижньощелепних СЗ щурів та їх білоксинтезуючої функції за умов відтворення експериментального МС.

4. З'ясувати вплив скевенджеру пероксинітриду L-селенометіоніну на стан NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, рівень продукції $\cdot\text{O}_2^-$, стан ПОЛ, АО захисту в тканинах піднижньощелепних СЗ щурів та їх білоксинтезуючої функції за умов відтворення експериментального МС.

5. Вивчити вплив інгібіторів активації NF-κB (JSH-23 та метформіну гідрохлориду) на стан NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, рівень продукції $\cdot\text{O}_2^-$, стан ПОЛ, АО захисту в тканинах піднижньощелепних СЗ щурів та їх білоксинтезуючої функції за умов відтворення експериментального МС.

Об'єкт дослідження: NO- та NF-κB-залежні механізми ушкодження тканин СЗ.

Предмет дослідження: роль NO-синтазних систем і NF-κB-сигналізації у патогенезі пошкодження СЗ за умов експериментального МС.

Методи дослідження: поставлена мета досягнута шляхом використання експериментальних і біохімічних методів дослідження слинних залоз щурів.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше виявлено, що відтворення метаболічного синдрому призводить у тканинах СЗ до реципрокних змін окисного (NO-синтазного, головним чином, за рахунок гіперактивації iNOS) й неокисного (аргіназного) шляхів метаболізму L-аргініну та посилення загального фону продукції $\cdot\text{O}_2^-$ та його генерації мітохондріальним і НАДФН-залежними ЕТЛ (мікросомальним і NOS) з подальшою активацією процесів ПОЛ і зниженням АО потенціалу. Пригнічення iNOS супроводжується у піднижньощелепних СЗ активацією конкуруючого аргіназного шляху метаболізму L-аргініну, що виявляється у збільшенні активності орнітиндекарбоксилази.

Вперше виявлено, що функціональна активність nNOS за умов експериментального МС зменшує у тканинах піднижньощелепних СЗ продукцію $\cdot\text{O}_2^-$ НАДФН- і НАДН-залежним ЕТЛ, обмежує активацію ПОЛ, але знижує активність каталази та істотно не позначається на стані АО потенціалу. Функціонування nNOS за умов відтворення МС сприяє збільшенню активності α -амілази у тканинах піднижньощелепних СЗ.

Показано, що введення щурам екзогенного L-аргініну під час відтворення МС не супроводжується феноменом «аргінінового парадоксу» при оцінці активності NOS у тканинах піднижньощелепних СЗ щурів, але оптимізує функціонування неокисного (аргіназного) шляху метаболізму цієї амінокислоти, знижує продукцію у тканинах СЗ $\cdot\text{O}_2^-$ НАДФН-залежними ЕТЛ.

Вперше виявлено, що дисбаланс NOS та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну та активація вільнорадикальних реакцій у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов експериментального МС є пероксинітрит- та NF- κ B-залежними процесами. Введення білим щурам скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну та інгібіторів активації

NF-κB JSH-23 та метформіну гідрохлориду під час відтворення МС знижує у тканинах СЗ активність NOS, продукцію $\cdot O_2^-$ НАДФН-залежними і НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ, обмежує активність ПОЛ і підвищує стан АО захисту. Призначення L-селенометіоніну та інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23 за умов експерименту покращує білоксинтезуючу функцію піднижньощелепних СЗ, що не є характерним при застосуванні метформіну гідрохлориду.

Практичне значення одержаних результатів. Одержані результати можуть використовуватися як експериментальна база для розробки патогенетично обґрунтованих методів попередження та корекції дисфункції СЗ за умов МС засобами, що впливають на активність ізоформ NOS і NF-κB-сигналізацію. Одержані результати можуть використовуватися як експериментальне обґрунтування призначення L-селенометіоніну та інгібіторів активації NF-κB як перспективних засобів корекції функціонально-метаболічного стану СЗ за умов МС. Розроблений спосіб експериментального моделювання метаболічного синдрому (патент України на корисну модель № 93517).

Результати роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрах патофізіології Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія», Державного вищого навчального закладу України «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського», Запорізького державного медичного університету, Національного фармацевтичного університету, Харківського національного медичного університету, науково-дослідницьку роботу Науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія».

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Здобувачем особисто здійснено патентно-інформаційний пошук, експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, сформульовано висновки дисертації. Разом із науковим керівником розроблена програма, визначені мета і завдання дослідження, методичні підходи до проведення експерименту на тваринах. У працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок: результати власних експериментальних досліджень, участь в аналізі та узагальненні отриманих даних, підготовлено статті до друку.

Апробація результатів дослідження. Основні наукові положення і результати дисертації доповідалися та обговорювалися на XVIII міжміській конференції молодих учених “Актуальные проблемы патофизиологии” (Санкт-Петербург, 2012), VI конгресі патофізіологів України “Від експериментальних досліджень до клінічної патофізіології” (Місхор, 2012), Всеукраїнській науково-практичній конференції “Медична наука в практику охорони здоров’я” (Полтава, 2012), VI науково-практичній конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів” (Тернопіль, 2013), XVII Всеросійській медико-біологічній конференції молодих дослідників (з міжнародною участю) “Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье” (Санкт-Петербург, 2014), науково-практичній конференції “Актуальні питання експериментальної та клінічної патофізіології” (Вінниця, 2014), науково-практичній інтернет-конференції «Актуальні проблеми функціональної морфології», присвяченій 110 річниці з дня народження Е.Д. Бромберг (Полтава, 2014), Всеукраїнській науково-практичній конференції “Медична наука в практику охорони здоров’я” (Полтава, 2014).

Публікації. Результати дослідження опубліковані в 5 статтях у фахових журналах України (згідно з переліком МОН України), що реферуються міжнародними наукометричними базами даних *РИНЦ*, *Index Copernicus International*, *Google Scholar*, 1 статті у фаховому журналі за кордоном (Республіка Білорусь), 7 робіт опубліковано у матеріалах конгресів і конференцій, одержано 1 патент України на корисну модель.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 156 сторінках комп'ютерного набору, містить 30 таблиць та 1 рисунок. Складається зі вступу, огляду літератури, характеристики об'єктів і методів дослідження, 5-ти розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, який містить 289 джерел – 113 кирилицею та 176 латиницею (обсягом 34 сторінки).

РОЗДІЛ 1

СПІЛЬНІ NO ТА NF-кВ-ЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ ТА ДИСФУНКЦІЇ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ССАВЦІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Метаболічний синдром як приклад дизрегуляторної патології

Метаболічний синдром (МС) розглядається як комплекс гормональних та метаболічних порушень, які збільшують ризик виникнення цукрового діабету (ЦД) 2 типу та серцево-судинних захворювань (ССЗ) [169,179,248,261,272]. МС як ніяка інша форма патології викликає цілу низку термінологічних суперечностей та, на думку дослідників [42,78], потребує корекції деяких уявлень у загальному вченні про хворобу (загальній нозології). Чи є МС комплексом непов'язаних факторів ризику, синтропією, патологічним процесом, патологічним станом, передхворобою або окремою хворобою (нозологічною одиницею)?

МС все ще залишається нозологічно невизначеним поняттям і розглядається або як сукупність факторів ризику ЦД і ССЗ без урахування можливого патогенетичного зв'язку між ними, або як різновид синтропії – поєднання у одного індивіда клінічно різних хвороб із загальним патогенезом, або як окреме захворювання (“метаболічну хворобу”) [32,42,43,78,79,98-101,261]. В останні роки повідомляється про можливість існування певного патогенетичного зв'язку між артеріальною гіпертензією, ІР, ожирінням та дисліпідемією, порушенням системи гемостазу та хронічним субклінічним запаленням [35,40,43,44].

До цього часу залишається незрозумілою точка зору щодо головної ланки патогенезу МС. За думкою багатьох дослідників [138, 218], провідна роль у патогенезі МС належить ІР і пов'язаній з нею компенсаторній гіперінсулінемії. Остання, з одного боку, знижує чутливість інсулінових рецепторів, внаслідок чого глюкоза і ліпіди, що надходять з їжею, депонуються жировою тканиною. З іншого боку, гіперінсулінемія пригнічує розпад жирів, що сприяє прогресуванню вісцерального ожиріння, виснажує секреторний апарат β -клітин підшлункової залози, що призводить до порушення толерантності до глюкози, а згодом і до розвитку ЦД 2-го типу. За умов ІР розвивається ендотеліальна дисфункція. При цьому підвищується секреція вазоконстрикторів (ендотеліну, тромбоксану) і знижується продукція вазодилаторів (NO та простагліцину), що сприяє розвитку артеріальної гіпертензії.

У якості головної ланки патогенезу МС називають також центральне ожиріння, хронічну активацію імунної системи, порушення функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-наднирочкової системи, зміни дії глюкокортикоїдів, хронічний стрес, продукцію надлишкової кількості цитокінів, гормонів та інших біологічно активних сполук адипоцитами [78,82,98,99-101,131,164,216].

При центральному ожирінні адипоцити вісцеральної жирової тканини секретують вільні жирні кислоти безпосередньо в ворітну вену печінки, що в поєднанні з підвищенням рівня глюкози в крові призводить до збільшення синтезу в печінці ТАГ, ЛПНЩ і ЛПДНЩ. Знижується також вміст ЛПВЩ [15].

Певні перспективи пов'язані з обґрунтуванням І.П. Кайдашевим [40,44] нової концепції щодо ролі активації ядерного чинника NF- κ B як центральної молекулярної основи розвитку МС. Автор розглядає перманентну активацію NF- κ B як можливий типовий патологічний

процес, наслідком якого є розвиток усіх компонентів МС (ІР, системного запалення, артеріальної гіпертензії, ЕД та дисліпідемії) (рис. 1.1).



Рис. 1.1. NF-κВ як головний ланцюг патогенезу МС [40,44].

Саме гіперактивація NF-κВ здатна запустити патологічні процеси, наслідком реалізації яких є клінічні прояви МС. Серед таких процесів є типові розлади вуглеводного та ліпідного метаболізму, типові порушення гемодинаміки, системна дія медіаторів запалення. Останній ефект у світовій практиці нерідко називають «системним запаленням» [25,109,272]. Однак традиції вітчизняної патофізіології не допускають можливість розвитку запального процесу без точного визначення фокусу первинної альтерації (тобто запалення – первинно місцевий процес, який з часом виявляє загальні ефекти через системну дію медіаторів запалення) [36]. При розвитку МС конкретний локус первинної альтерації («вогнище запалення») виявити не можливо. В останні роки з'явилися терміни «асоційоване» та «безмовне» запалення [46].

Проте вказане протиріччя легко усувається, якщо виділити новий типовий патологічний процес, який включає надлишкове утворення та системну дію прозапальних медіаторів – цитокінів, білків гострої фази. При цьому необов'язково навіть міняти назву такого процесу – можна залишити «історичний» термін «системне запалення» [109]. Цей процес є самостійним і може розгортатися як у динаміці запалення та може бути пов'язаний з ним патогенетично (як і гарячка, приклад – синдром системної запальної відповіді, англ. – systemic inflammatory response syndrome, SIRS), так і у відсутності первинного місцевого пошкодження внаслідок дизрегуляторної активації утворення та вивільнення прозапальних медіаторів.

Тобто “системне запалення” може розглядатися як окремий типовий патологічний процес, який є проявом дизрегуляторної патології [25,109]. Організм людини реагує на нові реалії життя цивілізації (надлишок надходження енергетичних субстратів, можливості швидкої міграції на далекі відстані, зміни світлового режиму, гіподинамія тощо), до яких у процесі еволюції не було сформовано адекватних механізмів пристосування, реалізацією архаїчних адаптивних генетичних програм [41], у т.ч. пов'язаних з активацією певних транскрипційних факторів, зокрема – NF-κB, та подальшою прозапальною гіперцитокінемією [42, 80,131]

Таким чином, експериментальне підтвердження ключової ролі NF-κB як головної ланки патогенезу МС дозволить довести наявність єдиного патогенезу його складових, підтвердить його нозологічну специфічність, виявить причинно-наслідкові відносини за типом “порочного” кола. У термінах теорії дизрегуляторної патології Г.М. Крижановського [54] гіперактивація NF-κB є патологічною детермінантою – тригером формування патологічної системи, яка має дизадаптивне значення та грає роль ендogenous патогенного чинника,

що викликає подальший розвиток ініціального патологічного процесу (ожиріння, ІР, ліпотоксичності, дії ендотоксинів мікроорганізмів, артеріальної гіпертензії тощо) чи виникнення нового компоненту МС.

1.2. Взаємозв'язок патологічних змін у тканинах слинних залоз із системними метаболічними розладами

Захворювання СЗ зустрічаються досить часто. За даними різних авторів вони становлять від 3 до 24% [8,11,34]. Серед них на частку запальних (сіаладеніт) і дистрофічних (сіаладеноз) процесів припадає понад 50%. Останній термін більш точно позначає сутність захворювання при наявності дистрофічних реактивних змін СЗ, що виникають внаслідок і як ускладнення різних системних хвороб (ЦД, ССЗ, МС, захворювань системи крові тощо) [9].

У наш час зростає число випадків сіаладенозу, що, ймовірно, пов'язано з погіршенням навколишнього середовища, порушенням якісно-кількісних характеристик компонентів харчування, зростанням захворювань ендокринної системи (ЦД, хвороби щитоподібної залози та ін.) [8,11].

Експериментально доведено, що сіаладеноз вже на ранніх стадіях розвитку може ускладнюватися явищами сіаладеніту, прогресувати, посилюючи дистрофічні зміни [112]. Проблема лікування хворих з хронічними сіаладенозами та сіаладенітами до цього часу залишається актуальною у зв'язку з відсутністю об'єктивних критеріїв для призначення того чи іншого виду вже розробленої терапії. Це призводить до емпіричного призначення схем лікування з метою апробації методу у конкретного пацієнта. У клінічній практиці сіаладеноз часто своєчасно не діагностується у зв'язку з повільним і

поступовим наростанням клінічних ознак, а також відсутністю болю, що призводить до пізнього звернення хворих до фахівців [8,11].

Показано, що системні захворювання людини можуть не тільки справляти токсичний вплив на СЗ, але й призводити до зміни регіонарної гемодинаміки, внаслідок чого виникають порушення мікроциркуляції органу, що є важливою ланкою патогенезу хронізації патологічних процесів.

Відомо, що у хворих на ЦД можлива безболісна гіпертрофія СЗ [251]. У вітчизняній і зарубіжній літературі зміни СЗ при порушенні вуглеводного обміну описані під різними назвами: синдром Кюттнера, симптом Харвата, синдром Рубашова, інтерстиціальний сіаладеніт або сіаладеноз [7,10,12,33,251].

Клінічна картина ураження СЗ у хворих з порушенням вуглеводного обміну найчастіше характеризується зниженням рівня салівації, аж до розвитку справжньої ксеростомії, печією слизової оболонки порожнини рота, розвитком гінгівіту, пародонтиту, афтозного стоматиту, кандидозу, підвищенням в'язкості слини [1]. В останній час з'явилися повідомлення про більш частий розвиток пухлин СЗ у групах хворих на ЦД 2-го типу та пацієнтів з МС [267].

Асиятилов А.Х. та Ордашев Х.А. [6] показали, що у хворих на ЦД 1-го типу частіше уражаються піднижньощелепні залози, а при СД 2-го типу – привушні. При цьому для хворих з гнійним сіаладенітом на тлі ЦД були характерні значне пригнічення Т-системи імунітету, активація гуморального імунітету, розвиток гнійних ускладнень. Чим тяжче протікає ЦД, тим активніше маніфестує гнійний сіаладеніт, причому особливо гостро – у хворих на ЦД 1-го типу.

У дослідженні Т.В. Лоскутової [58] проведена комплексна діагностика та оцінка результатів лікування захворювань СЗ у хворих на

ЦД. За допомогою сіалографії та ультразвукового методу дослідження СЗ встановлено реактивно-дистрофічні зміни піднижньощелепних залоз.

Патоморфологічні дослідження СЗ у хворих на ЦД виявили зменшення ацинусів привушних залоз, збільшення числа ліпідних відкладень у клітинах кінцевих відділів і проток, рясну жирову інфільтрацію строми СЗ [133], значну варіабельність розмірів проток та частки жирової тканини [212].

Численні дослідження свідчать, що одним із найчастіших симптомів у клініці внутрішніх хвороб є гіпосалівація та її клінічний прояв – ксеростомія. Цей патологічний процес відмічається у 80% хворих на ЦД 2-го типу [182] та у 17-50% пацієнтів з артеріальною гіпертензією [192,231]. Розвиток ксеростомії вважається процесом, асоційованим з віком. Наприклад, її поширеність серед осіб віком до 50 років становить 6% та зростає до 15% у 65-річному віці [233].

Примітно, що показники слини використовуються для оцінки стану внутрішніх органів людини, зокрема, серцево-судинної системи [142,240]. Так, дані щодо активності α -амілази використовуються для післяопераційного спостереження у пацієнтів клініки серцево-судинної хірургії. Низький рівень цього ферменту в слині передопераційних хворих з аневризмою аорти пов'язують з прогнозом підвищеної смертності. Зростання числа серцевих скорочень за умов стресу корелює зі збільшеним рівнем α -амілази у слині.

Показано, що пацієнти з гострим інфарктом міокарда виявляють більш високий рівень креатинфосфокінази (КФК), як у сироватці крові, так і у слині. При цьому, концентрація КФК у нестимульованій ротовій рідині у значній мірі корелює з рівнем сироваткової КФК у першу та другу добу гострого інфаркту міокарда [215]. Тобто, оцінка КФК слини може вважатися альтернативою визначенню активності цього ферменту у сироватці крові для діагностики та моніторингу інфаркту міокарда.

Повідомляється про доцільність визначення біомаркерів у нестимульованій ротовій рідині для своєчасного виявлення гострого інфаркту міокарда, у тому числі при відсутності підйому ST. Так, оцінка у слині С-реактивного білка, розчинного CD40 ліганду (sCD40L), креатинкінази фракції міоглобіну виявляє чутливість 86%, специфічність 81%, позитивну прогностичну цінність 81% і негативну прогностичну цінність 86% для діагностики гострого інфаркту міокарда [159].

Про доцільність визначення С-реактивного білка у слині повідомляє ще дві дослідницькі групи, які встановили його концентрацію у здорових добровольців (5-600 нг/л) та у пацієнтів із захворюваннями пародонта (65-11500 нг/л) [147,158]. Наявність молекул С-реактивного білка в слині є прикладом неінвазивного методу оцінки ризику ССЗ. Проте низька концентрація С-реактивного білка в слині диктує необхідність застосування чутливих технологій його виявлення [128].

Дослідження слини дозволяє зробити певні висновки про стан ендотеліальної функції при серцево-судинних захворюваннях. Так, у слині осіб з хронічною серцевою недостатністю підвищується концентрація ендотеліну, що має значення для оцінки тяжкості захворювання [145]. У хворих з артеріальною гіпертензією виявлений асинхронний характер виділення СЗ оксиду азоту. При цьому вміст NO різко збільшується у секреті піднижньощелепних і під'язикових залоз, в той час як у здорових осіб найбільший вміст відмічається у правій привушній залозі [72]. Рівень NO в секреті СЗ, на думку авторів, є інформативним маркером стану фізіологічних і патофізіологічних реакцій в організмі, що супроводжують артеріальну гіпертензію.

Незначна кількість наукових праць стосується морфо-функціональних розладів СЗ за умов ожиріння та гіперпродукції жировою тканиною прозапальних цитокінів.

Mozaffari M.S. et al. [225] експериментально підтвердили гіпотезу, що ожиріння активує запальні маркери в піднижньощелепних СЗ, що супроводжується ушкодженнями їхньої структури. Так, у опасистих щурів-самців лінії Zucker (OZR) з ознаками ІР, гіперінсулінемії та помірної гіперглікемії відмічається зниження маси СЗ, наявність у них перілобулярних фіброзних волокон, що оточують деякі посмуговані та екскреторні протоки. На зрізах, забарвлених Oil-Red-O, спостерігається велика кількість внутрішньо- та позаклітинних жирових відкладень, які автори розцінюють як потенційне джерело локальної продукції хемокінів / цитокінів зі шкідливим впливом на СЗ.

Hart P.S. [172] повідомляє про зниження швидкості секреції слини у СЗ та збільшення залежного від гіпосалівації розвитку карієсу в хворих з синдромом Прадера-Віллі (Prader-Willi), який є результатом аномалії 15 пари хромосом з розвитком тяжкого ожиріння.

До недавнього часу у вітчизняній і зарубіжній літературі відомості про МС стосувалися, головним чином, клініко-лабораторних даних загального профілю, без стоматологічних особливостей. І лише в останні роки з'явилися численні повідомлення про позитивний зв'язок між МС і захворюваннями органів ротової порожнини, зокрема, хронічним пародонтитом [119,171,199,221,228]. Деякі автори вважають за доцільне розглядати останній як компонент МС [229].

Значно менше публікацій відображають розвиток патології СЗ у пацієнтів з МС. Так, В.В. Афанасьєв та співавт. [10,12] у ході комплексного обстеження 82 пацієнтів з ознаками МС у всіх випадках виявили захворювання СЗ, що протікали за типом сіаладенозу. У хворих відмічалось збільшення привушних і піднижньощелепних СЗ, виражене

у тій чи іншій мірі в залежності від стадії захворювання. При цьому інтерстиціальна форма сіаладенозу діагностувалася у 69 хворих, паренхіматозна – у 7, протоковий сіаладеноз – у 6. Дослідники виявили зниження у пацієнтів з МС функціональної активності великих і малих СЗ на пізніх стадіях різних форм сіаладенозу.

Результати клінічних досліджень підтверджуються даними сіалограми, які виявляють звуження проток III-V порядку у пацієнтів з МС, паренхіма місцями не визначалася [5]. Вивчення біоптатів малих СЗ також свідчить про розвиток сіаладенозу з явищами склерозу і ліпоматозу стромы, наявністю вогнищевих лімфоїдних інфільтратів, склерозом окремих часточок [5].

Автори зробили висновок, що у хворих з МС виникають патологічні процеси у СЗ, які протікають за типом дистрофічного ураження – сіаладенозу – і можуть розглядатися в структурі єдиного патологічного процесу, загальним патогенетичним механізмом якого є ІР.

Афанасьев В.В. та співавт. [10,12] та Арутюнян С.Е. [5] доводять, що сіаладеноз, що діагностується у хворих з МС, є захворюванням, яке раніше було відомо як синдром Рубашова, синдром Харвата, синдром Кюттнера, та виникає у хворих з ознаками ІР. Авторі запропонували та клінічно обґрунтували схему комплексного лікування хворих із сіаладенозом на тлі МС з включенням препарату, що збільшує чутливість інсулінових рецепторів до інсуліну – метформіну (глюкофаж).

Порушення структури та функції СЗ за умов ІР підтверджується нечисленними експериментальними дослідженнями з використанням різних моделей МС.

Bighetti V.V. et al. [124] відтворили модель МС (глюкокортикоїд-індукованої ІР) на щурах-самцях лінії Вістар шляхом щоденних ін'єкцій

дексаметазону (0,1 мг/кг маси тіла, внутрішньоочеревинно) протягом 10 діб. У піддослідних тварин відмічається значне зниження маси привушних (на 29%) і піднижньощелепних (на 16%) СЗ, асоційоване зі зменшенням секреції слини. Гіпотрофія обох залоз, за даними дослідників, пов'язана з помітним зниженням у них об'єму клітин кінцевих відділів – відповідно на 50% та 26% ($P < 0.05$). Отримані дані підкреслюють, що глюкокортикоїдна терапія та ІР мають негативний вплив на СЗ.

Zalewska A. et al. [288] відтворили на білих щурах модель ІР з використанням дієти з надлишкової кількістю жирів (протягом 5 тижнів). Автори показали, що система антиоксидантного захисту в привушних та піднижньощелепних залоз по-різному реагує на розвиток ІР. При цьому привушні СЗ є більш чутливими. Саме у цих залозах за умов ІР відмічається підвищення активності супероксиддисмутази, каталази та сечової кислоти.

Проте у дослідженні Л.П. Гордієнко та К.С. Непоради [21] при тривалому призначенні щурам висококалорійного раціону (дієта #С 11024, Research Diets, New Brunswick, NJ) виявлена певна фазність у реакції АО ферментів у тканинах піднижньощелепних СЗ. Так, активність СОД достовірно збільшувалася на 10-й та 12-й тижень експерименту та зменшувалася, починаючи з 15-й тижня перебування на висококалорійній дієті. Активність каталази у тканинах СЗ підвищувалася на 10-й тижень експерименту у тканинах з подальшим прогресивним зниженням. Таким чином, тривале перебування щурів на зазначеному раціоні харчування, що призводить до вісцерального ожиріння та ІР, супроводжується виснаженням АО системи у тканинах СЗ щурів.

Rocha E.M. et al. [250] у експерименті на білих щурах-самцях лінії Вістар застосували інсулін-індуковану модель ІР. Дослідники виявили

суттєві метаболічні розлади у СЗ, більш виражені у старих тварин (віком 20 міс.). Автори зробили висновок, що старіння впливає на трансдукцію сигналу інсуліну у СЗ, що може бути важливим механізмом їхньої дисфункції.

Таким чином, наявність МС, як стану з високим ризиком розвитку ЦД 2-го типу та ССЗ, створює передумови для формування запально-дистрофічних уражень як органів ротової порожнини (пародонта, слизової оболонки тощо), так і великих і малих СЗ. Розвиток морфофункціональних порушень у СЗ доведений як клінічно у пацієнтів з МС, так і експериментально при відтворенні на лабораторних тваринах різних моделей ІР. Проте лише незначна частина наукових праць присвячена з'ясуванню механізмів розвитку дисфункції СЗ за умов МС, що потребує подальших цілеспрямованих досліджень.

1.3. Роль оксиду азоту та транскрипційного ядерного фактора κB у патогенезі системних метаболічних розладів і дисфункції слинних залоз

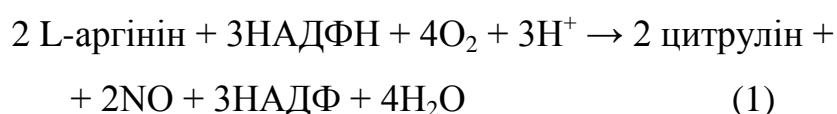
Оксид азоту (NO) – нетипова сигнальна молекула. Функціональна відповідь клітини на дію NO різноманітна і, в значній мірі, залежить не тільки від фенотипу клітини-мішені, але від інших істотних чинників (кількості NO, його походження та функціональної компартменталізації в клітині, редокс-стану самого NO і оточуючих його молекул тощо) [50]. Оксид азоту добре розчиняється у воді і ліпідах, легко і швидко дифундує через мембрани. Час життя NO не перевищує 6-10 с, після чого він перетворюється за участю кисню і води в нітрати і нітрити.

NO вважається потенційно токсичною молекулою, яка широко використовується організмом людини не тільки в різних фізіологічних, але і патологічних процесах. Ймовірно, не існує патологічного процесу,

в якому б не брала участь ця сполука – це і системні соматичні захворювання (артеріальна гіпертензія, атеросклероз, ЦД, нейродегенеративні хвороби, пептичні виразки шлунка та дванадцятипалої кишки, захворювання нирок, тромбози та ін.) [55, 60,77,92,113], це і стоматологічні хвороби (сіаладеніти, генералізований пародонтит, захворювання слизової оболонки порожнини рота) [49,88,95,263,276].

Функції NO в організмі дуже різноманітні. Ця молекула бере участь у підтримці системної та локальної гемодинаміки, сприяє зниженню підвищеного тонуусу гладенької мускулатури судин і забезпечує підтримання нормального рівня артеріального тиску. NO виступає в ролі нейротрансмітера в шлунково-кишковому тракті, сечовивідній та статевій системах, що опосередкується через активацію цГМФ. При імунній відповіді NO є стимулятором знешкодження внутрішньоклітинних паразитів. При сепсисі, під впливом цитокінів, відбувається вивільнення NO у великих кількостях, що сприяє розвитку синдрому системної запальної відповіді (SIRS).

Синтез оксиду азоту здійснюється NOS, які відносяться до класу гемвісних циторедуктаз, що беруть участь у реакції синтезу NO і L-цитруліну з амінокислоти L-аргініну [22,39,67,114,230]:



Молекули NOS містять домени з редуктазною й оксигеназною активністю. N-термінальний оксигеназний домен містить сайти для зв'язування гема, тетрагідробіоптерину (BH₄) і L-аргініну, а C-термінальний редуктазний домен має зв'язувати сайти для флавінаденіндинуклеотиду (ФАД), флавінмононуклеотиду (ФМН) і НАДФ [114,162]. Ці два домени з'єднані кальмодулінзв'язуючим сайтом, який здійснює перенесення електронів від НАДФН до редуктазного

домену флавінів і від нього до гема оксигеназного домену для окиснення субстрату – L-аргініну. Потік електронів у молекулі NOS спрямований від C-терміналі редуктазного домену до N-терміналі оксигеназного. У регуляції цього потоку найважливіше значення мають кальмодулін, кофактор BH_4 , стан гема і цинк-тіолового кластера. Експресія і активність усіх типів NOS визначається доступністю і необхідною кількістю субстрату (L-аргініну) та кофакторів (BH_4 , НАДФ, O_2 , ФМН і ФАД). Порухення функції будь-якого з елементів молекули NOS, а також дефіцит субстрату L-аргініну та / або хоча б одного з кофакторів, призводить до так званого роз'єднання (uncoupling) у роботі NOS та її дисфункції, внаслідок чого NOS може перейти від продукції NO до генерації $\cdot\text{O}_2^-$ [115,117,161]. Цьому сприяє, зокрема, наявність за умов МС та атеросклерозу окиснених ЛПНЩ [277]. Продукція $\cdot\text{O}_2^-$ за участю nNOS є значно підвищеною у опасистих щурів лінії Zucker з ознаками IP [252].

При взаємодії $\cdot\text{O}_2^-$ і NO утворюється високотоксичний пероксинітрит ($\cdot\text{ONOO}^-$) [183,234,246,269]:



Пероксинітрит, в свою чергу, індукує синтез $\cdot\text{O}_2^-$ самою NOS [286].

Швидкість реакції NO з $\cdot\text{O}_2^-$ є дуже високою та обмежена лише швидкістю дифузії часток одна до одної ($6,7 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) [73].

У свою чергу $\cdot\text{ONOO}^-$ розкладається з утворенням надзвичайно реактогенного гідроксильного радикала ($\cdot\text{OH}$).

В наш час виділяють три ізоформи NOS, які кодуються різними генами [114]. Ці ферменти відрізняються локалізацією в тканинах і за характером індукції поділяються на два види: 1) конститутивні (cNOS) – нейрональна (nNOS) і ендотеліальна (eNOS); 2) індукційна (iNOS).

eNOS експресуються постійно і забезпечують базальне вивільнення низьких рівнів NO у пікомолярних концентраціях. iNOS продукує набагато більші кількості NO (у нано- та мікромолярних концентраціях). Активність цього ферменту в сотні разів вище, ніж активність eNOS, і тримається кілька днів з моменту індукції [113].

Ендотеліальна NOS (eNOS). Ген, який кодує eNOS, локалізований у 7-й хромосомі людини і містить 26 екзонів. ДНК eNOS кодує білок в 133 кДа, який активується підвищеним рівнем внутрішньоклітинного кальцію [114]. Стабільність молекули eNOS, як і інших NOS, залежить від доступності L-аргініну і BH_4 [115,117,161]. Активність eNOS збільшується при фосфорилуванні її серинових залишків, що досягається активацією фосфатидилінозитол-3-кінази (PI-3-K) та протеїнкінази B (PKB або Akt). Фосфорилування треонінових залишків під впливом цАМФ може інактивувати eNOS [211].

Через вироблення NO у ендотеліальних клітинах СЗ за участю eNOS реалізується неадренергічна, нехолінергічна дія нейропептидів, які вивільняються з вегетативних нервових волокон та стимулюють секрецію СЗ та продукцію вазоактивного інтестинального пептиду (VIP) [243].

Повідомляється, що NO ендотеліального походження здатний блокувати у СЗ до цього часу нез'ясовані механізми секреції амілази та / або розслабляти міоепітеліальні клітини [201].

Багато авторів вважають eNOS найважливішою протекторною молекулою у судинах [113]. У числі найважливіших ендогенних захисних механізмів NO (eNOS) називають такі: розширення усіх типів судин за умов дії на клітини гладеньких м'язів, пригнічення агрегації й адгезії тромбоцитів і фактора росту тромбоцитів, адгезії лейкоцитів, порушення експресії адгезивних молекул лейкоцитів CD11 / CD18 або їхньої здатності утворювати адгезивні зв'язку з поверхнею

ендотеліальних клітин. Усі ці властивості NO ендотеліального походження є потужною протидією розвитку судинних уражень, а їх пригнічення при артеріальній гіпертензії, гіперхолестеринемії, ЦД, палінні сприяють розвитку атеросклерозу та системного ураження судин.

Індуцибельна NOS (iNOS). Ген, який кодує iNOS, локалізований у людини в 17-й хромосомі в позиції 17cen-q11.2 і містить 26 екзонів. ДНК iNOS кодує протеїн з молекулярною масою 130 кДа, що містить 1153 амінокислоти та міцно зв'язує кальмодулін навіть за умов низького рівня внутрішньоклітинного кальцію [114].

Примітно, що експресія генів, що кодують iNOS, відбувається за участю транскрипційного фактора NF-κB, тому активність ферменту може бути знижена безпосереднім пригніченням транскрипції мРНК iNOS або активності NF-κB [155,247]. Основний механізм регуляції експресії iNOS – регуляція транскрипції і зміна стабільності мРНК. Промотор iNOS містить сайти для зв'язування факторів транскрипції, таких, як NF-κB, активатор транскрипції 1, фактор транскрипції jun / fos, IL-6 тощо [114].

Примітно, що експресія iNOS активується більшістю індукторів IP, зокрема, прозапальними цитокінами [153], вільними жирними кислотами [257], глюкозою (за умов гіперглікемії) [136,256], ендотоксинами [268,283] і АФК [170].

Повідомляється про гіперекспресію iNOS у інсулін-чутливих тканинах при відтворенні IP [134,163,232,238,265]. За цих умов погіршується дія інсуліну на рівень глюкози через порушення інсулін-залежної сигналізації в IRβ, IRS-1/-2 і Akt [137], виявляється дисфункція сигнального шляху IRβ/IRS/PI-3-K /Akt [134,185,238,241].

Широко поширеною є думка, що iNOS є ізоформою, що активується виключно патологічними стимулами. Проте було

встановлено, що iNOS може експресуватися у тканинах організму і конститутивно, тобто без впливу будь-яких чинників, що ушкоджують [168,235]. Повідомляється про протективну дію iNOS на серце та судини [139].

Експресія iNOS відбувається в нормі і при патології в макрофагах і поліморфноядерних лейкоцитах (переважна локалізація), а у СЗ – у клітинах каналців і проток [200].

Цей ізофермент і утворений ним NO відіграють важливу роль у процесах вільнорадикального пошкодження СЗ, розвитку та прогресуванні сіаладенітів, генералізованого пародонтиту, розладах скронево-нижньощелепного суглоба та раку органів порожнини рота [276].

Нейрональна NOS (nNOS). Ген, який кодує nNOS, локалізований у 12-й хромосомі і має 29 екзонів. ДНК nNOS кодує білок (1433 амінокислоти) з молекулярною масою 161 кДа [114].

Soinila J. et al. [264] повідомляють про наявність у людини nNOS у нервових волокнах привушних і під'язикових СЗ. У малих СЗ ця ізоформа відсутня.

Lomniczia A. et al. [200] виявили nNOS у протоках СЗ, зокрема, апікальній мембрані екскреторних та посмугованих проток, цитоплазмі гранулярних і, у меншій мірі, екскреторних та посмугованих проток.

nNOS утворює NO як сигнальну молекулу, що регулює секрецію білків у СЗ, у відповідь на дію аутоміметиків [243], через активацію β -адренорецепторів (симпатична активність) [254,255], VIP- та М-холінорецепторів (парасимпатична активність) [254,258]. За цих умов збільшується секреція привушною залозою α -амілази головним чином за рахунок NO/цГМФ-залежної сигналізації [254,258].

Lomniczia A. et al. [200] припускають, що nNOS, що міститься у не-нервових клітинах піднижньощелепної СЗ, активується через

M-холіно- або K_1 рецептори метахоліном і субстанцією Р. Це супроводжується збільшенням внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} та активацією ферменту. Сигнальна функція NO, що виробляється за цих умов, реалізується через NO/цГМФ-залежний механізм та подальше відкриття йонних каналів, що ініціює процес секреції у СЗ.

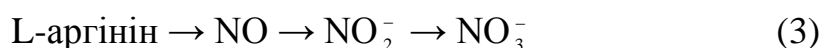
З активністю nNOS пов'язана протекторна дія на СЗ за умов їх токсичного та травматичного ураження, що виражається у обмеженні iNOS-залежної активацію ПОЛ, підвищенні антиоксидантного захисту, ресинтезу АТФ та енергетичного потенціалу в тканинах піднижньощелепних залоз [48,96].

Повідомляється про зменшення каталітичної активності nNOS у скелетних м'язах при відтворенні IP у опасистих щурів лінії Zucker fa/fa, що автори пов'язують деградацією цього ферменту через убіквітин-протеасомний механізм. Відновлення функціонального стану nNOS розцінюється дослідниками як потенційно новий підхід до вирішення проблеми IP [176].

У останні роки підкреслюється провідна роль СЗ та феномену ентеро-саліварної циркуляції нітратів у забезпеченні функціонування механізму авторегуляції рівня NO в організмі ссавців [52].

В основі уявлення про цей механізм лежить концепція “циклу NO” [76,83-87,107,205,207].

Наявність NOS-механізму забезпечує ендогенний синтез NO, який далі окиснюється до нітрит- та нітрат-йонів:



Але NO може утворюватися не тільки за участю NOS, але і завдяки ферментативним і неферментативним реакціям відновлення нітратів і нітритів. Активність нітритредуктазних систем в 10^2 - 10^3 разів перевищує NOS-механізм (особливо за умов гіпоксії) [87]. Тому за цих

умов ланцюг (3) може функціонувати за замкненим циклом, відомим як «цикл оксиду азоту» [76,83-87,107].

Нещодавно висунуто точку зору про ключову роль СЗ у механізмі авторегуляції кількості NO у органах системи травлення та організмі в цілому [52].

Так, в останні роки у ссавців описано феномен ентеро-саліварної циркуляції нітратів, важливий для концентрування нітратів у СЗ для подальшого їх використання організмом для утворення нітрит-йонів та NO, необхідного для функціонування як системи травлення, так і інших функціональних систем організму за умов дисфункції NOS [151,207].

Нітрати, як екзогенного походження (після всмоктування у кишечнику), так і ендogenous (див. ланцюг (3)), захоплюються та концентрується СЗ (до 20-разового перевищення в слині) [204]. Далі нітрат-йони під дією нітратредуктази слини відновлюються до нітрит-йонів [104,108,125,151,206]. Цей процес може супроводжуватися утворенням активних форм нітрогену – N_2O_3 , NO_2 , пероксинітриту [270]. Після екзогенного нітратного навантаження рівень NO_3^- у слині може наближатися до 10 мМ, NO_2^- – до 1-2 мМ [204].

Таким чином, СЗ можуть вважатися головним органом регуляції функціонування циклу NO за фізіологічних умов. При достатньому кисневому режимі тканин має місце ефективна продукція NO за участю NOS і СЗ вивільняють меншу кількість неорганічних нітросполук у складі слини. За умов дефіциту кисню роль NOS-механізму знижується і для підтримки фізіологічного рівня NO у тканинах органів ШКТ та крові підвищується секреція нітратів і нітритів зі слиною, зростає внесок нітритредуктазної компоненти в утворення NO [205]. Цей механізм дозволяє уникнути різких коливань вмісту NO та його метаболітів у органах кровотоку та системи травлення [177].

Порушення функціонування механізму авторегуляції рівня NO в організмі ссавців призводить до того, що замість відносно безпечних нітрат-йонів утворюються токсичні продукти, зокрема, пероксинітрит. Ця сполука, розпадаючись при фізіологічних значеннях рН, справляє сильний окисний вплив на різні внутрішньоклітинні мішені через утворення діоксиду азоту (NO_2) і надзвичайно реактогенного $\cdot\text{OH}$ -радикала [132,178,234,269]. Середній час існування пероксинітриту у фосфатному буфері при рН = 7,4 і 37° С складає 1-2 с, тому він досить ефективно мігрує в клітині [73].

Мішенями окиснювальної та нітрозилуючої атаки пероксинітриту є тіоли, CO_2 , металопротеїни, нуклеїнові кислоти, метаболіотропні трансмітери та ліпіди [234,269]. Пероксинітрит взаємодіє з тіолами за типом нітрозилування, в результаті чого утворюються нітрозотіоли, а при розвитку лактат-ацидозу взаємодія відбувається за типом окиснення з утворенням більш стійких дисульфідів. Ці реакції мають істотний вплив на механізми цитодеструкції через зсув тіол-дисульфідної системи у бік окиснених тіольних сполук, зниження відновного потенціалу клітини, порушення експресії генів за рахунок незворотного окиснення цистеїнових залишків редокс-залежних доменів, роз'єднання MAP-кіназного каскаду.

Важливим механізмом токсичної дії пероксинітриту є його реакція з тирозином та утворення ніротирозину. Пероксинітрит значно пригнічує активність СОД через нітрування її тирозинового залишку, а також зв'язування з міддю та зміни її валентності. Пероксинітрит є специфічним агентом, який необоротно пригнічує мітохондріальне дихання, безпосередньо взаємодіючи з залізом активних центрів ключових ензимів, а також через нітрузування по S-,N-,O-елементам тіольних, фенольних, гідроксильних і аміногруп білкової частини цих

ферментів, а при більш вираженому розвитку нітрузуючого стресу, через їх необоротне окиснення.

Пероксинітрит-залежне пригнічення мітохондріального дихання призводить до падіння заряду мітохондрій, що може ініціювати апоптотичний процес, а за відсутності глюкози – і некроз клітин [234,269]. Наводяться дані щодо прямої активації пероксинітритом відкриття мітохондріальної пори, що призводить до виходу цитохрому с і запуску каспазного каскаду.

Нітрозилування білків по залишках тирозину за участю пероксинітриту може мати серйозні функціональні наслідки, так як воно пригнічує фосфорилування тирозину, тобто порушує важливі шляхи внутрішньоклітинної сигналізації [234].

Пероксинітрит також призводить до нітрозилування гуаніну та розриву ланцюжків ДНК. Відносно ушкоджень геному відомий ще один ефект цієї сполуки: пригнічення ферментів, відповідальних за репарацію ДНК. Доведено дію пероксинітриту на алкілтрансферазу, формамідопіримідин-ДНК-глікозилазу та лігазу.

Примітно, що за даними літератури, дизрегуляторні розлади у функціонуванні циклу NO виявляються під час розвитку ішемічних і запальних процесів у СЗ: за умов відтворення карагенінового та травматичного сіаладенітів, токсичної дії нітратів і фторидів. За умов утворення надлишкової кількості NO в організмі активність NOS (головним чином за рахунок iNOS) у тканинах СЗ не тільки не знижується, як це повинно було бути за механізмом авторегуляції рівня NO, але й значно підвищується, викликаючи суттєве збільшення продукції $\cdot\text{O}_2^-$, активності ПОЛ, зниження АО захисту [48,52,96].

Примітно, що активність NOS у значній мірі може бути пов'язана зі станом аргіназного шляху метаболізму L-аргініну.

Як відомо, метаболізм L-аргініну йде, як мінімум, двома альтернативними шляхами: окисним (NO-синтазним) з утворенням NO та L-цитруліну та неокисним (аргіназним) з утворенням L-орнітину та сечовини. Можливий одночасний перебіг цих двох процесів [213,214, 222-224,279].

Важливою функцією аргінази є її участь у процесах відновлення ушкоджених тканин [213,214]. В організмі ссавців аргіназа присутня у вигляді двох ізоформ: цитозольної (тип I) та мітохондріальної (тип II). Ці ізоформи є продуктами генів, які у людини локалізовані на хромосомах 6q23 (аргіназа I) і 14q24 (аргіназа II) [220]. Нещодавно аргінази I та II типів були виявлені у СЗ щурів [287].

Помірний рівень аргіназної активності конститутивно представлений в ендотеліальних клітинах. Активність підвищується при впливі ліпополісахаридів і TNF- α або в міру старіння [122].

Аргіназа II, чия експресія істотно не представлена у нестимульованих ендотеліоцитах людини, індукується під впливом ліпополісахаридів і являє собою мінімальну фракцію загальної кількості аргіназної активності в стимульованих ендотеліальних клітинах [122, 285].

Аргінази здатні впливати на стан регіонарної гемодинаміки за допомогою як NO-залежного, так і NO-незалежного механізмів. Дослідження показали, що пригнічення активності аргінази призводить до підвищення продукції NO клітинами, а наявність аргінази обмежує доступність субстрату для NO за умов ішемії / реперфузії. Проте ефекти аргінази можуть бути також пов'язані з підвищенням синтезу поліамінів і проліферації клітин, утворенням проліну та колагену [223].

У роботах останніх років підкреслюється необхідність комплексного дослідження NOS і аргіназного шляху метаболізму L-аргініну як єдиної аргіназо-NO-синтазної системи [3,53,89,90].

Низка сучасних наукових досліджень указує на досить тісні стосунки системи оксиду азоту та активності NF-κB. Так, промотор гена iNOS містить зв'язуючий центр для NF-κB [278], який безпосередньо змінює функцію більше ніж 200 генів, відповідальних за синтез білків. Відомо, що АФК активують цей фактор, регулюючи апоптоз та впливаючи на онкогенну трансформацію клітин [260,262].

NF-κB опосередковує вивільнення TNF-α та IL-1β, які, в свою чергу, є індукторами NOS. Активація NF-κB визначається, зокрема, внутрішньоклітинним редокс-станом.

Примітно, що NO перешкоджає експресії власного гена шляхом зниження експресії NF-κB у гепатоцитах щурів і в культурі первинних гепатоцитів людини [260]. На активацію NF-κB також негативно впливає утворення пероксинітриту [197]. Вочевидь, наведені факти свідчать про наявність негативного зворотного зв'язку між NO та NF-κB, що дозволяє підтримувати певний рівень експресії гена iNOS, обмежуючи за умов патології надмірне утворення NO та його активних метаболітів.

В останні роки виявлено дуже цікаві факти щодо взаємостосунків pNOS та NF-κB. Так, на культурі астроцитів та при дослідженні тканин тонкої кишки в досліді *in vivo* продемонстрована здатність pNOS пригнічувати NF-κB опосередковану експресію iNOS [245,273]. Введення селективних інгібіторів pNOS знижує вміст інгібіторного білка IκBα, що призводить до активації NF-κB, підвищення синтезу та активності iNOS [245].

За даними Л.І. Ляшенко [63], здатність pNOS забезпечувати down-регуляцію продукції супероксидного аніон-радикала, ПОЛ, колагенолізу та деполімеризації протеогліканів у тканинах пародонта щурів за умов експериментального МС є NF-κB-опосередкованою. Збільшення за умов введення 7-нітроіндазолу генерації супероксидного аніон-радикала

мікросомальним і мітохондріальним електронно-транспортними ланцюгами, утворення ТБК-активних сполук, концентрації вільного оксипроліну та глікозаміногліканів у тканинах пародонта усувається призначенням інгібітора активації NF-κB – JSH-23, який порушує процес ядерної транслокації NF-κB.

Роль NF-κB як молекулярної основи патологічного процесу при МС детально проаналізована на підставі даних літератури та власних досліджень у працях І.П. Кайдашева [40,44]. Так, гіперінсулінемія подвоює здатність ангіотензину II у гладеньком'язових клітинах судин активувати NF-κB [167]. За цих умов NF-κB активує численні прозапальні механізми, що беруть участь у патогенезі МС. Зокрема, пригнічення передачі інсулінового сигналу може бути пов'язано з фосфорилуванням за серином IRS-1 за участю ферменту канонічного шляху активації NF-κB – ІκB-кінази, що призводить до порушення передачі інсулінового сигналу [165]. Крім того, ангіотензин II не тільки стимулює NF-κB, але і викликає фосфорилування за серином IRS-1, тим самим порушуючи утилізацію глюкози та провокуючи ІР [160]. Тобто, активація NF-κB може призводити до ІР і навпаки.

Інший механізм NF-κB-опосередкованого розвитку ІР пов'язаний з дією ліпідів [40,42,44], що реалізується через активацію за участю ЖК-ацил СоА NF-κB, який у вільному стані транслокується в ядро і зв'язується з κB-послідовностями ДНК, стимулюючи синтез TNF-α, ІЛ-1β, ІЛ-6 тощо. В свою чергу наведені цитокіни викликають фосфорилування за серином IRS-1, пригнічуючи передачу інсулінового сигналу та викликаючи ІР [140]. Неестерифіковані ЖК можуть активувати NF-κB через зв'язування з мембранними рецепторами, зокрема, TLR-4.

Показана роль NF-κB у механізмі пошкодження тканин пародонта за умов експериментального МС [62,216]. Так, при дослідженні

опасистих щурів лінії Zucker (ZF) з ознаками IP виявляється більша експресія мРНК p65 субодиниці NF-κB, що супроводжується підвищенням у яснах активності α, β₂, δ і ε ізоформ протеїнкінази C та пригніченням інсулін-індукованої активації протеїнкінази B і eNOS, з чим пов'язують розвиток ЕД та запалення [216].

За даними Л.І. Ляшенко [61,63], відтворення експериментального МС супроводжується посиленням сумарної активності NO-синтаз (головним чином, за рахунок NF-κB-опосередкованої активації iNOS) та збільшенням вмісту продуктів відновлення NO – нітрит-йонів – у м'яких тканинах пародонта, підвищенням продукції АФК, порушенням прооксидантно-антиоксидантного статусу. Примітно, що введення інгібітора NF-κB JSH-23 за умов експериментального МС супроводжується підвищенням у тканинах пародонта антиоксидантної та колагенопротективної дії L-аргініну.

Лише одиничні праці висвітлюють стан NF-κB-сигналізації у СЗ за умов МС. Так, у опасистих щурів-самців лінії Zucker (OZR) з ознаками IP, гіперінсулінемії та помірної гіперглікемії відмічається активація NF-κB (підвищення співвідношення фосфо-NF-κB / загальний NF-κB) та підвищення експресії залежних від цієї події прозапальних медіаторів, зокрема, VCAM-1 (vascular adhesion molecule-1) [225].

Таким чином, дані літератури вказують на здатність NO впливати на широкий спектр фізіологічних і патологічних процесів у великих СЗ. Підкреслюється неоднозначність ефектів NO за умов IP, його здатність взаємодіяти з іншими АФК з утворенням високотоксичного пероксинітриду. Результати досліджень останніх років доводять складні взаємостосунки між системою NO та функціональним станом NF-κB, що залежить від низки додаткових умов. Міститься суперечлива інформація щодо ролі NOS, пероксинітриду та NF-κB у механізмах ушкодження органів за умов метаболічних розладів. При цьому практично відсутні

публікації про участь різних ланок системи NO (зокрема різних ізоформ NOS, їх субстрату, пероксинітриту) та NF-κB у механізмах ушкодження або захисту тканин СЗ за умов МС. До цього часу відсутні підходи до визначення шляхів корекції NO- та NF-κB-залежних процесів у СЗ за умов МС, що обґрунтовує доцільність цієї роботи.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Загальна характеристика матеріалів та методів дослідження

Експерименти виконані на 85 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-230 г.

Тварин утримували в умовах акредитованого 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, 20.09.1985 р.), основних правил належної лабораторної практики GLP (1981), закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. "Про захист тварин від жорстокого поводження". Проведені дослідження відповідають етичним та морально-правовим вимогам згідно з наказом МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. Комісією з питань біоетики Вищого державного навчального закладу України “Українська медична стоматологічна академія” (протокол № 120 від 14.01.2015 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Проведено 8 серій дослідів:

- у першій серії необхідні показники вивчали в інтактних тварин (*контрольна серія*);
- у другій – після моделювання МС;
- у третій, четвертій і п'ятій серіях – протягом відтворення МС тваринам вводили відповідно селективний інгібітор нейрональної NO-

синтази (nNOS) 7-нітроіндазол (7-NI), селективний інгібітор iNOS – аміногуанідин і субстрат NO-синтазної реакції – L-аргінін;

- у шостій – протягом відтворення МС тваринам вводили скевенджер пероксинітриту – L-селенометіонін;

- у сьомій і восьмій – протягом відтворення МС тваринам вводили відповідно інгібітор активації NF-κB – JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діамін) та метформіну гідрохлорид.

Для дослідження під ефірним наркозом вилучали піднижньощелепні СЗ у комплексі з великими під'язиковими. Останні відсепарували, після чого не виводячи тварин з наркозу проводили евтаназію тварин методом дислокації шийних хребців.

2.2. Методика відтворення МС

МС моделювали згідно з описом патенту України на корисну модель “Спосіб моделювання метаболічного синдрому” [74], запропонованого з нашою участю. Для відтворення МС гризунам протягом двох місяців призначали 20% водний розчин фруктози для пиття та "дієту західного типу", що містить такі складові: рафіноване пшеничне борошно – 45%, сухе знежирене коров'яче молоко – 20%, крохмаль – 10%, столовий маргарин (зі складом жирів 82%) – 20%, переокиснена соняшникова олія – 4%, натрію хлорид – 1%.

Переокиснену соняшкову олію отримують шляхом її нагрівання у присутності 2% сульфату міді протягом 6-10 годин до досягнення перекисного числа вище 30 од.

Застосування названого способу, за даними наших співавторів [61], дозволяє виявити порушення обміну речовин, характерні для МС (зниження толерантності до глюкози, вісцеральне ожиріння, дисліпопротеїнемію, системну запальну відповідь). За цих умов

концентрація глюкози крові натще складає 6.95 ± 0.21 ммоль/л (у інтактних тварин – 5.08 ± 0.14 ммоль/л, $p < 0.001$); ЛПНЩ + ЛПДНЩ – 3.27 ± 0.14 г/л (у інтактних – 2.48 ± 0.15 г/л, $p < 0.01$); церулоплазміну – 352.9 ± 28.6 мг/л (у інтактних – 265.7 ± 28.8 мг/л, $p < 0.05$). Маса абдомінального жиру – 2.86 ± 0.09 г (у інтактних – 1.27 ± 0.08 г, $p < 0.001$). За даними підшкірного інсулінового тесту, вміст глюкози у крові через 60 хв після введення інсуліну в дозі 0,2 МО/кг маси тварини зменшується у середньому на 21% (у інтактних – на 48%).

2.3. Методика зміни режимів функціонування NO-синтаз та активності NF-κB

Селективний інгібітор nNOS – 7-нітроіндазол (7-NI , 7-nitroindazole) виробництва "Sigma Chemical Co" (США) призначали внутрішньоочеревинно в дозі 30 мг/кг [195].

Селективний інгібітор індукцйбельної NO-синтази – аміногуанідин (Aminoguanidine) виробництва "Sigma Chemical Co" (США) вводили внутрішньоочеревинно в дозі 20 мг/кг [271].

Субстрат NO-синтазної реакції – L-аргінін (субстанція виробництва "Kyowa Hakko Kogyo Co LTD" (Японія) вводили внутрішньоочеревинно в дозі 500 мг/кг [31].

Скевенджер пероксинітриду L-селенометіонін виробництва "Sigma-Aldrich, Inc." (США) вводили внутрішньоочеревинно в дозі 3 мг/кг [195].

Інгібітор активації NF-κB II – JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діамін) виробництва "Santa Cruz Biotechnology" (ФРН) призначали внутрішньоочеревинно в дозі 1 мг/кг маси тварини [191].

Інгібітор активації NF-κB метформіну гідрохлорид виробництва «Wanbury LTD» (Індія) вводили внутрішньоочеревинно в дозі 200 мг/кг маси щура [190].

Останній засіб призначали через день, інші – 2 рази на тиждень протягом періоду відтворення МС.

2.4. Біохімічні методи дослідження

Перелік біохімічних методів дослідження наведено в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Біохімічні методи дослідження

№	Параметр, що вивчається	Літературні джерела
1.	NOS, нітрит-йони	Nevel J.M. (1991)
2.	Орнітиндекарбоксилаза	Храмов В.А. (1997)
3.	Супероксидний аніон-радикал	Цебржинский О.И. (2002)
4.	ТБК-реактанти	Кайдашев І.П. та співавт. (2003)
5.	СОД	Брусов О.С. и соавт. (1976)
6.	Каталаза	Архипова О.Г. (1980)
7.	α-Амілаза	Меньшиков В.В. и соавт. (1987)

2.4.1. Визначення активності NO-синтази та концентрації нітрит-йонів. Активність NOS визначали за різницею концентрації нітрит-йонів (NO_2^-) до та після інкубації гомогенату піднижньощелепних СЗ у середовищі, що містить L-аргінін (субстрат NOS) та нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений (НАДФН). Концентрацію NO_2^- визначали шляхом утворення діазосполук у реакції з сульфаніловою кислотою, а потім проводили реакцію з α-

нафтилетилендіаміном, у результаті якої утворюються похідні червоного кольору (азобарвники) [175].

2.4.2. Визначення активності орнітиндекарбоксілази. Активність орнітиндекарбоксілази визначали за зниженням вмісту орнітину в інкубаційному середовищі методом Chinard у модифікації В.А. Храмова [105]. 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.

2.4.3. Визначення продукції супероксидного аніон-радикала. Утворення супероксидного аніон-радикала (O_2^-) у тканинах піднижньощелепних СЗ оцінювали при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм з такими індукторами: НАДН – для оцінки продукції O_2^- мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом (ЕТЛ); НАДФН – для оцінки продукції O_2^- мікросомальним ЕТЛ та NOS [106].

2.4.4. Визначення концентрації ТБК-активних продуктів. Рівень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у тканинах піднижньощелепних СЗ оцінювали за утворенням у реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами забарвленого триметінового комплексу до і після 1,5-годинної інкубації у прооксидантному залізоаскорбатному буферному розчині [70]. Активність антиоксидантної (АО) системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних продуктів за час півторагодинної інкубації гомогенату тканин у залізоаскорбатному буферному розчині.

2.4.5. Визначення активності супероксиддисмутази. Визначення активності супероксиддисмутази (СОД) у тканинах піднижньощелепних СЗ проводили за методом О.С. Брусова і співавт. [16]. Принцип методу полягає в тому, що СОД інгібує аутоокиснення адреналіну. За різницею

швидкості реакції без додавання біологічного матеріалу та з його додаванням обчислюють активність ферменту.

2.4.6. Визначення активності каталази. Визначення активності каталази у тканинах піднижньощелепних СЗ проводили за методом, наведеним у керівництві О.Г. Архипової [69], в основі якого знаходиться здатність каталази, що міститься в біоматеріалі, розкладати пероксид водню. Кількість пероксиду водню, що залишився в пробі, визначають титруванням 0,1 н розчином калію перманганату.

2.4.7. Визначення активності α -амілази. Активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних СЗ визначали за методикою Каравея за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна, м. Дніпропетровськ). За наявності α -амілази крохмаль гідролізується до похідних, що не дають кольорової реакції з йодом. Зміна інтенсивності забарвлення йод-крохмального комплексу пропорційна активності ферменту в досліджуваній пробі [56].

2.5. Статистична обробка результатів експерименту

Отримані дані піддавали статистичній обробці [20,81]. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Вілка. Якщо дані відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували t-критерій Ст'юдента для незалежних вибірок. У випадку, коли ряди даних не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – тест Мана-Вітні.

Статистичні розрахунки проводили з використанням програм "Microsoft Excel 2007" та "StatisticSoft 6.0".

РОЗДІЛ 3

ЗМІНИ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ФУНКЦІЇ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

3.1. Зміни активності NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.

Слинні залози, як відомо, досить чутливо реагують на дефіцит або надлишок оксиду азоту, що утворюється за участю різних ізоформ NOS, неферментативних і ферментативних реакцій відновлення нітрит-йонів [18,48,52,96].

Для патогенезу МС притаманна неоднозначна дія NO. З одного боку, має місце розвиток ендотеліальної дисфункції, пов'язаної зі зменшенням активності eNOS [40,44,64,141], а також порушення активності nNOS та конститутивної продукції NO, що має властивості сигнальної молекули [61]. З іншого боку, за цих умов можлива гіперактивація iNOS та надлишкова продукція цитотоксичних кількостей NO [265].

За даними літератури, у СЗ виявлено всі три ізоформи NOS (eNOS, nNOS та iNOS) [264]. Проте їхня активність у тканинах СЗ за умов МС залишається нез'ясованою.

Для дослідження стану системи оксиду азоту у тканинах СЗ щурів за умов МС ми дослідили сумарну активність NOS та вміст нітрит-йонів. Останні є продуктами метаболізму NO та утворюються за умов його окиснення, чому сприяє наявність молекулярного кисню та церулоплазміну [205,207]. У той же час нітрит-йони утворюються за

участю нітратредуктаз (мікрофлори та власних), а далі відновлюватися у NO (особливо за умов дефіциту кисню). Активність нітритредуктазних систем може бути в 10^2 - 10^3 разів вища, ніж NO-синтаз [87].

За результатами дослідження, у тканинах піднижньощелепних СЗ інтактних тварин активність NOS становить – 4.12 ± 0.22 мкмоль $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв.}$, а вміст NO_2^- – 0.112 ± 0.007 мкмоль/г (таблиця 3.1).

Таблиця 3.1

Показники активності NOS та вмісту нітрит-аніонів в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=10$)

Показники	Серії дослідів	
	Інтактні тварини	Відтворення МС
NOS, мкмоль $\text{NO}_2^-/\text{г} \cdot \text{хв.}$	4.12 ± 0.22	8.51 ± 0.38 *
Вміст NO_2^- , мкмоль/г	0.112 ± 0.007	0.149 ± 0.011 *

Примітка (у табл. 3.1-3.6): * – $p < 0.05$ у порівнянні з даними інтактних щурів.

У нормі активність NOS у тканинах піднижньощелепних СЗ забезпечується переважно функціонуванням конститутивних NOS (nNOS, eNOS) [243].

За умов МС активність NOS у тканинах піднижньощелепних СЗ збільшується – у 2.07 рази ($p < 0.001$), вміст NO_2^- у 1.33 рази ($p < 0.05$).

За нашими даними, підвищення активності NOS супроводжується обмеженням у тканинах піднижньощелепних СЗ реакцій аргіназного

шляху метаболізму L-аргініну, на що вказує зменшення активності орнітиндекарбоксилази (таблиця 3.2) – з 275.4 ± 10.2 до 205.3 ± 9.8 нмоль/Г·хв. (на 25.5%, $p < 0.01$).

Таблиця 3.2

Зміни активності орнітиндекарбоксилази в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=10$)

Назва ферменту	Серії дослідів	
	Інтактні тварини	Відтворення МС
Орнітиндекарбоксилаза, нмоль/Г·хв.	275.4 ± 10.2	205.3 ± 9.8 *

Орнітиндекарбоксилаза є ключовим ферментом у механізмі синтезу поліамінів, які регулюють процеси реплікації та транскрипції ДНК, біосинтезу білків і проліферації клітин [217]. За даними літератури, неокисний (аргіназний) шлях конкурує з NOS за субстрат, тобто, може обмежувати продукцію NO [279].

Таким чином, відтворення метаболічного синдрому призводить у тканинах піднижньощелепних СЗ до реципрокних змін окисного (NO-синтазного) й неокисного (аргіназного) шляхів метаболізму L-аргініну: посилення сумарної активності NOS і вмісту продуктів окиснення NO – нітрит-йонів, з одного боку, та зменшення активності орнітиндекарбоксилази, з іншого боку.

3.2. Зміни продукції супероксидного аніон-радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Супероксидний аніон-радикал вважається ключовою АФК, що утворюється при приєднанні одного електрона до молекули кисню. $\cdot\text{O}_2^-$ сам по собі має малу реакційну здатність і у водному середовищі може спонтанно дисмутувати. Час його життя в біологічних субстратах становить близько 6-10 с [66,106]. Небезпека будь-яких реакційно активних сполук в значній мірі залежить від їх стабільності. В цьому плані $\cdot\text{O}_2^-$ є досить небезпечним, тому що час його життя у водному середовищі триваліший, ніж у решти O_2 -похідних радикалів.

Він також здатний ушкоджувати білки, що містять залізо-сірчані кластери, такі як аконітаза, сукцинатдегідрогеназа і НАДН-убіхінон-оксидоредуктаза. При кислих значеннях рН $\cdot\text{O}_2^-$ може протонувати з утворенням більш реакційноздатного пероксильного радикала. Приєднання двох електронів до молекули кисню або одного електрона до $\cdot\text{O}_2^-$ призводить до утворення пероксиду водню, який є окиснювачем помірної сили. Токсичність $\cdot\text{O}_2^-$ може збільшуватися за рахунок вторинних реакцій, що призводить до утворення гідроксидних радикалів ($\cdot\text{OH}$) і синглетного кисню ($^*\text{O}_2$).

Основним джерелом $\cdot\text{O}_2^-$ вважається мітохондріальний ЕТЛ. При цьому відбувається 4 етапи одноелектронного відновлення, внаслідок чого виникають проміжні продукти радикальної природи. У ланцюгу переносу електронів можливе неповне відновлення кисню: у випадку приєднання одного електрона утворюється $\cdot\text{O}_2^-$, а двох — пероксид водню [110,150,226]. Одноелектронне відновлення кисню можливе на

рівні МФК I (НАДН – убіхіноноксидоредуктаза), МФК III (убіхінонол – цитохром с оксидоредуктаза) та комплексу цитохром b-c₁ [150].

При нормальному перебігу аеробного метаболізму 1-2% всіх електронів, що пересуваються по дихальному ланцюгу, використовуються при утворенні $\cdot\text{O}_2^-$. Кожна клітина людського організму за нормальних фізіологічних умов продукує 0.15 моля $\cdot\text{O}_2^-$ на добу, або 1.75 кг у рік [110].

Іншим важливим шляхом утворення $\cdot\text{O}_2^-$ є реакції мікросомального окиснення за участю цитохрому P-450 [110,181]. Так, до 75 % кисню, який поглинають мікросоми, перетворюється у АФК. Цей шлях продукції $\cdot\text{O}_2^-$ представлений групою оксигеназ (гідроксилаз), що забезпечують оксигенування в мембранах ендоплазматичного ретикулуму продуктів метаболізму та ксенобіотиків. $\cdot\text{O}_2^-$ утворюється в процесі розриву подвійного зв'язку в ароматичному кільці.

За результатами контрольної серії, у тканинах піднижньощелепних СЗ інтактних тварин загальний фон продукції $\cdot\text{O}_2^-$ складає 0.89 ± 0.09 нмоль/г·с. Вироблення $\cdot\text{O}_2^-$ НАДФН-залежними ЕТЛ мікросомальним і NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ складає відповідно 16.13 ± 0.77 нмоль/г·с та 16.80 ± 0.33 нмоль/г·с (таблиця 3.3).

Таблиця 3.3

Зміни продукції супероксидного аніон-радикала у
тканинах піднижньощелепних слинних залоз умов відтворення
експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, n=10)

Показники	Серії дослідів	
	Інтактні тварини	Відтворення МС
1	2	3
Продукція $\cdot\text{O}_2^-$, нмоль/г·с		

Продовження табл. 3.3

1	2	3
загальний фон	0.89 ±0.09	1.27 ±0.07 *
НАДФН-залежні ЕТЛ (мікросомальний і NOS)	16.13 ±0.77	24.00 ±0.42 *
НАДН-залежний ЕТЛ (мітохондріальний)	16.80 ±0.33	25.73 ±0.27 *

Моделювання МС призводить до достовірних змін продукції $\cdot\text{O}_2^-$ у тканинах піднижньощелепних СЗ. Так, загальний фон генерації $\cdot\text{O}_2^-$ підвищується на 42.7% ($p < 0.02$). Вироблення $\cdot\text{O}_2^-$ НАДФН – залежними ЕТЛ (мікросомальним і NOS) зростає – на 48.8% ($p < 0.001$), а мітохондріальним ЕТЛ – на 53.2% ($p < 0.001$).

Таким чином, відтворення метаболічного синдрому супроводжується у тканинах піднижньощелепних СЗ посиленням загального фону продукції $\cdot\text{O}_2^-$ та його генерації мітохондріальним і НАДФН – залежними ЕТЛ (мікросомальним і NOS).

3.3. Зміни процесів пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Одним із проявів патогенної дії метаболітів кисню є інтенсифікація реакцій ВРО. Останнє є універсальним механізмом, за допомогою якого контролюються найважливіші гомеостатичні фізико-хімічні параметри клітин: в'язкість, вибіркова проникність і цілісність

клітинних мембран [66,91]. Інтенсифікація процесів ВРО під дією АФК призводить до посилення пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), окисної модифікації білків, деструкції нуклеїнових кислот, вуглеводів, що спричиняє структурні та метаболічні порушення у клітинах. Ініціатором цього процесу у більшості випадків виступає O_2^- , особливо за рахунок вторинних реакцій, що викликають утворення гідроксидного радикала ($\text{OH}\cdot$) та синглетного кисню (*O_2).

За фізіологічних умов АФК та продукти ПОЛ знешкоджуються за участю АО системи. Зростання інтенсивності їхнього утворення та виснаження АО захисту супроводжується розвитком в організмі окиснювального стресу [66].

За нашими даними, концентрація ТБК-активних сполук у тканинах піднижньощелепних СЗ інтактних щурів до та після 1.5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині (таблиця 3.4) складає відповідно – 24.6 ± 0.9 та 32.7 ± 1.2 мкмоль/кг. Приріст концентрації ТБК-активних сполук за час інкубації – 8.1 ± 0.6 мкмоль/кг.

Таблиця 3.4

Зміни концентрації ТБК-реактантів у гомогенаті піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=10$)

Показники	Серії дослідів	
	Інтактні тварини	Відтворення МС
1	2	3
Концентрація ТБК-реактантів, мкмоль/кг до інкубації	24.6 ± 0.9	37.5 ± 0.6 *

Продовження табл. 3.4

1	2	3
після інкубації	32.7	49.5
	±1.2	±1.2 *
приріст	8.1	12.0
	±0.6	±0.8 *

Моделювання МС призводить до істотних змін показників пероксидації. Так, концентрація ТБК-активних сполук зростає в тканинах піднижньощелепних СЗ: до інкубації – на 52.4% ($p < 0.001$), після інкубації – на 51.4% ($p < 0.001$), що вказує на активацію у піднижньощелепних СЗ процесів ПОЛ.

Приріст концентрації ТБК-активних сполук за час 1.5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині також збільшується в тканинах піднижньощелепних СЗ – на 48.1% ($p < 0.01$) – у порівнянні з даними інтактної групи, що вказує на суттєве зниження АО потенціалу.

Це також підтверджується істотним зменшенням активності у тканинах піднижньощелепних СЗ антиоксидантних ферментів (таблиця 3.5).

Таблиця 3.5

Зміни активності антиоксидантних ферментів у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=10$)

Назва ферменту	Серії дослідів	
	Інтактні тварини	Відтворення МС
1	2	3

Продовження табл. 3.5

1	2	3
СОД, од. акт.	0.24 ±0.02	0.15 ±0.02*
Каталаза, мккатал/кг	2.79 ±0.21	1.80 ±0.16 *

Так, активність СОД зменшується з 0.24 ± 0.02 од. акт. до 0.15 ± 0.02 од. акт. (на 37.5%, $p < 0.02$). Активність каталази знижується з 2.79 ± 0.21 мккатал/кг до 1.80 ± 0.16 мккатал/кг (на 35.5%, $p < 0.01$).

Таким чином, відтворення метаболічного синдрому супроводжується у тканинах піднижньощелепних СЗ активацією процесів ПОЛ, зниженням антиоксидантного потенціалу, активності АО ферментів (СОД і каталази).

3.4. Зміни активності α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

α -Амілаза (КФ 3.2.1.1; 1,4- α -D-глюкан-глюканогідролаза; глікогеназа) є кальцій-залежним ферментом, що розщеплює крохмаль до олігосахаридів. У тварин α -амілаза є основним травним ферментом слини. Активність α -амілази оптимальна при нейтральній рН 6.7-7.0. α -Амілаза гідролізує α -1,4-глікозидні зв'язки в молекулах крохмалю та глікогену з утворенням олігосахаридів, мальтози та глюкози [17, 93].

Ми досліджували активність α -амілази в гомогенаті піднижньощелепних СЗ за умов відтворення метаболічного синдрому (таблиця 3.6) з метою оцінки білоксинтезуючої функції СЗ.

За результатами дослідження, у тканинах піднижньощелепних СЗ інтактних тварин активність α -амілази становить – 75.4 ± 2.2 мг/год \times г, що узгоджується з даними літературних джерел [48,96].

Таблиця 3.6

Активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

($M \pm m$, n=10)

Назва ферменту	Серії дослідів	
	Інтактні тварини	Відтворення МС
α -Амілаза, мг/год \times г	75.4 ± 2.2	61.0 ± 2.1 *

За умов МС активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних СЗ зменшується на 19.1% ($p < 0.01$).

Таким чином, відтворення метаболічного синдрому супроводжується у тканинах піднижньощелепних СЗ білих щурів достовірним зниженням активності α -амілази, що вказує на порушення білоксинтезуючої функції цих залоз.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях і тезах:

1. Роль слинних залоз у механізмах ауторегуляції рівня оксиду азоту в організмі ссавців та їх порушень / В.О. Костенко, А.М. Єлінська, Л.І. Ляшенко, І.В. Нагорняк, О.А.Стасюк // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2013. – Т.13, №2. – С. 10-14.

2. NO- и пероксинитрит-зависимые изменения продукции супероксидного анион-радикала в органах крыс при экспериментальном метаболіческом синдроме / В.А. Костенко А.Н. Елинская, Л.И.

Ляшенко, Н.В. Соловьева, В.В. Талаш // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2014. – №2 (46). – С. 74–77.

3. Єлінська А.М. NO- та NF-κB –залежні механізми порушення білоксинтезуючої функції слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому / А.М. Єлінська, В.О. Костенко // Світ мед. та біол.– 2014. – № 4. - С. 120-123.

4. Роль NO-синтаз у механізмах порушень вільнорадикальних процесів у тканинах пародонта і слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому / Л.І. Ляшенко, А.М. Єлінська, В.В. Талаш, В.О. Костенко // Світ мед. та біол.– 2014. – № 2. - С. 139-142.

5. Дизрегуляторні механізми ушкодження слинних залоз та пародонта за умов надлишкового утворення оксиду азоту / В.О. Костенко, О.В. Богданов, А.М. Єлінська, Л.І. Ляшенко, І.В. Нагорняк // Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів : наук.-практ. конф. (Тернопіль, 31 жовтня – 1 листопада 2013 р.) : мат. // Здобутки клін. і експерим. мед. – 2013. - №2. – С. 254.

6. NO-зависимые механизмы расстройств окислительного обмена при экспериментальном метаболическом синдроме / А.Н. Елинская, Л.И. Ляшенко, Н.В. Соловьева, В.В. Талаш // Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье : XVII Всерос. мед.-биол. конф. молодых исследователей (с международным участием) : тезисы. – СПб. : Изд-во СПбГУ, 2014. – С. 149-150. [Фундам. наука клин. мед. - 2014. - Т. 17. - С. 149-150].

РОЗДІЛ 4

РОЛЬ ІЗОФОРМ NO-СИНТАЗ У ПАТОГЕНЕЗІ ПОРУШЕНЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ФУНКЦІЇ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

4.1. Вплив інгібіторів NOS на активність NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Роль NO у механізмах розладів СЗ у наш час не викликає сумніву [52,201,243,276]. Так, за нормальних умов NO постійно утворюється у СЗ та спричиняє низку фізіологічних ефектів. Зокрема, він виконує роль внутрішньоклітинної та позаклітинної сигнальної молекули, модулює функціональний стан рецепторів, вивільнення секрету СЗ. Вироблення NO *in situ* ацинарними клітинами СЗ є наслідком стимуляції певних рецепторів та залежить від регуляторного впливу Ca^{2+} . Завдяки здатності вільно перетинати мембрани (шляхом простої дифузії) NO забезпечує процес секреції слини, регулює кровопостачання СЗ, нейротрансмісію та синаптичну пластичність, утворення гістогематичного бар'єру, впливає на проліферацію та диференціювання клітин СЗ.

Дані літературних джерел дають можливість припустити, що активація NOS і продукція NO може виявляти як протекторні, так і цитотоксичні властивості, наслідком яких може бути дисфункція СЗ. Відмінності у ефектах цього біорегулятора значною мірою пов'язані з джерелами його утворення (різні ізоформи NOS, нітрат- та нітритредуктазні реакції) [50].

Нами досліджено вплив інгібіторів nNOS та iNOS на сумарну активність NO-синтаз та концентрацію проміжного стабільного метаболіту NO – нітрит-йонів – у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов МС (таблиця 4.1).

Таблиця 4.1

Вплив інгібіторів NOS на показники активності NOS та вмісту нітрит-аніонів у тканинах піднижньощелепних слинних залоз умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=20$)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ 7-NI	+ аміногуанідин
NOS, мкмоль $\text{NO}_2^-/\text{Г} \cdot \text{хв.}$	4.12 ± 0.22	8.51 $\pm 0.38^*$	7.44 $\pm 0.32^*$	3.57 $\pm 0.44^{**}$
Вміст NO_2^- , мкмоль/Г	0.112 ± 0.007	0.149 $\pm 0.011^*$	0.112 $\pm 0.003^{**}$	0.071 $\pm 0.004^{**/*}$

Примітка (у табл. 4.1-4.6): * – $p < 0.05$ у порівнянні з даними інтактних щурів, ** – $p < 0.05$ у порівнянні з даними другої серії.

При введенні селективного інгібітора nNOS 7-NI за умов моделювання МС активність NOS у тканинах піднижньощелепних СЗ у порівнянні з даними другої серії достовірно не змінюється, проте концентрація нітрит-йонів зменшується – на 24.8% ($p < 0.02$). Останні розглядаються як «депо» оксиду азоту та за умов зниження його вироблення конститутивними NOS нітритредуктазний шлях стає важливим механізмом продукції NO, необхідного для забезпечення певного рівня кровопостачання тканин та їх функціонування [85,107,205,

207]. Значення цього шляху значно зростає при порушеннях кисневого режиму тканин [85,107].

Введення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину за умов відтворення МС супроводжується значним зменшенням сумарної активності NOS, яка на 58.0% ($p < 0.001$) поступається даним другої серії. Концентрація нітрит-йонів при цьому знижується на 52.3% ($p < 0.001$).

Введення селективного інгібітора nNOS 7-NI за умов моделювання МС не призводить до суттєвих змін активності орнітиндекарбоксилази в тканинах СЗ, у той час як введення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину – на 28.2% ($p < 0.01$) – підвищує активність цього ферменту в порівнянні з даними другої серії (таблиця 4.2).

Таблиця 4.2

Вплив інгібіторів NOS на показники активності орнітиндекарбоксилази в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=20$)

Назва ферменту	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ 7-NI	+ аміногуанідин
Орнітиндекарбоксилаза, нмоль/Г·хв.	275.4 ±10.2	205.3 ±9.8 *	231.6 ±24.0	263.2 ±13.0 **

Таким чином, за умов моделювання МС активність сумарної NOS у тканинах СЗ підвищується, головним чином, за рахунок iNOS. Пригнічення iNOS супроводжується у піднижньощелепних СЗ активацією конкуруючого аргіназного шляху метаболізму L-аргініну, що виявляється у збільшенні активності орнітиндекарбоксилази.

4.2. Вплив інгібіторів NOS на продукцію супероксидного аніон-радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

В багатьох дослідженнях останніх років показано, що за умов патології (запалення, інтоксикації, ішемії / реперфузії) зміни функціональної активності NOS супроводжуються вивільненням $\cdot\text{O}_2^-$ НАДН- та НАДФН-залежними ЕТЛ [50,84]. Основні механізми NO-залежної генерації АФК пов'язані з порушеннями функціонування електронно-транспортних ланцюгів мітохондрій і мікросом, особливо при низькій концентрації АДФ, а також при зміні властивостей дегідрогеназ [150]. Левова частка $\cdot\text{O}_2^-$ утворюється в мітохондріях, біополімери яких є мішенями дії великих концентрацій NO та реагують на низьку кількість NO як засіб внутрішньо- та міжклітинної сигналізації, що виробляється конститутивними NOS (зокрема, nNOS). Важливу роль можуть грати і НАДФН-залежні джерела генерації $\cdot\text{O}_2^-$ (мікросомальний ЕТЛ, асоційований із цитохромом P-450 і локалізований у ендоплазматичному ретикулумі, а також власне NOS, здатна за певних умов переключатися з продукції NO на $\cdot\text{O}_2^-$) [286].

Нами досліджено вплив інгібіторів NOS на показники продукції $\cdot\text{O}_2^-$ у тканинах СЗ за умов експериментального МС (таблиця 4.3).

Введення селективного інгібітора nNOS 7-NI за цих умов суттєво не позначається на величині загального фону продукції $\cdot\text{O}_2^-$, проте підвищує його вироблення НАДФН-залежними ЕТЛ (мікросомальним і NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ – відповідно на 15.5% ($p < 0.001$) та 14.5% ($p < 0.001$) у порівнянні з даними другої серії.

Застосування селективного інгібітора iNOS аміногуанідину за умов МС також істотно не позначається на величині загального фону

продукції $\cdot\text{O}_2^-$, але достовірно зменшує продукцію $\cdot\text{O}_2^-$ НАДФН-залежними ЕТЛ мікросомальним і NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ – відповідно на 10.5% ($p<0.01$) та 18.1% ($p<0.001$) у порівнянні з даними другої серії.

Таблиця 4.3

Вплив інгібіторів NOS на зміни продукції супероксидного аніон-радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M_{\pm m}$, $n=20$)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ 7-NI	+ аміногуанідин
Продукція $\cdot\text{O}_2^-$, нмоль/Г·с				
загальний фон	0.89 ±0.09	1.27 ±0.07 *	1.49 ±0.09 *	1.18 ±0.11
НАДФН-залежні ЕТЛ (мікросомальний і NOS)	16.13 ±0.77	24.00 ±0.42 *	27.73 ±0.34 */**	21.47 ±0.53 */**
НАДН-залежний ЕТЛ (мітохондріальний)	16.80 ±0.33	25.73 ±0.27 *	29.47 ±0.25 */**	21.07 ±0.27 */**

Отримані нами результати свідчать, що надлишкова продукція $\cdot\text{O}_2^-$ НАДФН-залежними ЕТЛ мікросомальним і NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ у тканинах піднижньощелепних СЗ білих щурів за умов експериментального МС пов'язана з функціонуванням iNOS.

Таким чином, 1) функціональна активність nNOS за умов експериментального МС обмежує у тканинах піднижньощелепних СЗ продукцію $\cdot\text{O}_2^-$ НАДФН-залежними ЕТЛ мікросомальним і NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ;

2) функціональна активність iNOS за умов експериментального МС збільшує у тканинах піднижньощелепних СЗ продукцію $\cdot\text{O}_2^-$ НАДФН-залежними ЕТЛ мікросомальним і NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ.

4.3. Вплив інгібіторів NOS на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Відомо, що генерація NO призводить до вивільнення великої кількості активних метаболітів кисню та нітрогену: $\cdot\text{O}_2^-$, гідроксильних радикалів, пероксинітриту тощо, через які реалізується прооксидантна дія оксиду азоту [230,269]. Показано, що утворення великих кількостей NO в результаті активності iNOS супроводжується різким зростанням продукції АФК з наступною активацією ПОЛ у різних органах і тканинах, зокрема, у органах системи травлення (СЗ, пародонті, шлунку, кишечнику) [50,52], у т.ч. за умов відтворення МС [63].

У той же час, у дослідях *in vitro* продемонстровано, що NO здатний сповільнювати ПОЛ, діючи як скевенджер кисневих радикалів [184], через зв'язування вільних йонів заліза у складі нітрозильних комплексів [23,111], а також завдяки взаємодії з алкілпероксильними й алкоксильними радикалами [28]. Тобто NO за певних умов здатний виконувати антиоксидантну функцію, захищаючи біологічні молекули

від окисної модифікації, зокрема, шляхом нітрозилування гему та відновлення оксоферилформ гемопротейдів.

Таким чином, характер прооксидантної або антиоксидантної дії NO, що продукується різними NOS, за умов патології прогнозувати досить важко, що потребує проведення цілеспрямованих експериментальних досліджень.

Нами досліджено вплив селективних інгібіторів nNOS та iNOS на концентрацію ТБК-активних сполук у гомогенаті піднижньощелепних СЗ за умов відтворення експериментального МС (таблиця 4.4).

Таблиця 4.4

Вплив інгібіторів NOS на концентрацію ТБК-реактивів у гомогенаті піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=20$)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ 7-NI	+ аміногуанідин
Концентрація ТБК-реактивів, мкмоль/кг до інкубації	24.6	37.5	43.3	33.2
	± 0.9	$\pm 0.6^*$	$\pm 1.1^{**}$	$\pm 0.9^{**}$
після інкубації	32.7	49.5	56.3	41.8
	± 1.2	$\pm 1.2^*$	$\pm 1.0^{**}$	$\pm 1.2^{**}$
приріст	8.1	12.0	13.0	8.7
	± 0.6	$\pm 0.8^*$	$\pm 0.6^*$	$\pm 1.0^{**}$

Введення селективного інгібітора nNOS 7-NI за умов МС підвищує у гомогенаті піднижньощелепних СЗ концентрацію ТБК-активних сполук до інкубації – на 15.5% ($p < 0.01$), після інкубації – на 13.7% ($p < 0.01$) у порівнянні з даними другої серії. Проте за цих умов приріст концентрації ТБК-активних сполук за час інкубації тканин СЗ у прооксидантному залізоаскорбатному буферному розчині достовірно не відрізняється від результату другої серії.

Одержані результати свідчать, що за умов експерименту функціональна активність nNOS у тканинах піднижньощелепних СЗ обмежує реакції ПОЛ, що, вочевидь, пов'язано з сигнальною функцією низьких концентрацій NO, що виробляється nNOS.

У той же час, введення 7-NI за умов експерименту достовірно не позначається на активності СОД (таблиця 4.5) та підвищує активність каталази – на 33.9% ($p < 0.05$) – у порівнянні з даними другої серії.

Таблиця 4.5

Вплив інгібіторів NOS на активність антиоксидантних ферментів у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=20$)

Назва ферменту	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ 7-NI	+ аміногуанідин
СОД, од. акт.	0.24 ± 0.02	0.15 $\pm 0.02^*$	0.20 ± 0.03	0.22 $\pm 0.02^{**}$
Каталаза, мккатал/кг	2.79 ± 0.21	1.80 $\pm 0.16^*$	2.41 $\pm 0.16^{**}$	2.69 $\pm 0.17^{**}$

Ці зміни вказують, що активація nNOS сприяє зниженню активності каталази, що очевидно пов'язано зі здатністю NO

зв'язуватися з активним центром цього ферменту та пригнічувати його активність, зокрема, через утворення ферікаталази-NO [187].

Внесення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину за умов експериментального МС достовірно знижує у гомогенаті піднижньощелепних СЗ як концентрацію ТБК-активних сполук до інкубації (див. табл. 4.4) – на 38.5% ($p < 0.01$) – та після інкубації – на 38.8% ($p < 0.001$), так і величину приросту їх концентрації за час інкубації у прооксидантному буферному розчині – на 39.1% ($p < 0.001$) у порівнянні з даними другої серії, що вказує на суттєве обмеження ПОЛ за цих умов зі значним підвищенням антиоксидантного потенціалу тканин СЗ.

При цьому, оптимізація АО захисту також підтверджується підвищенням активності АО ферментів – СОД – на 46.7% ($p < 0.05$) та каталази – на 49.4% ($p < 0.01$) (див. табл. 4.5).

Отримані результати свідчать, що стан ВРО та АО захисту у тканинах піднижньощелепних СЗ істотно залежить від функціонального стану iNOS.

Таким чином, 1) функціонування nNOS за умов відтворення МС обмежує активацію ПОЛ у тканинах піднижньощелепних СЗ щурів, але знижує активність каталази та істотно не позначається на стані АО потенціалу;

2) функціонування iNOS за умов моделювання МС призводить до активації у тканинах піднижньощелепних СЗ щурів декомпенсованого ПОЛ, що супроводжується виснаженням АО потенціалу, зменшенням активності АО ферментів (СОД і каталази).

4.4. Вплив інгібіторів NOS на активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Конститутивні NO-синтази відіграють важливу роль у секреції СЗ білків і, зокрема, α -амілази через NO/цГМФ-залежний сигнальний шлях. Так, у СЗ за участю nNOS продукуються незначні концентрації NO, який регулює процес секреції білків у відповідь на дію аутоміметиків [243], зокрема, через активацію β -адренорецепторів [254,255], VIP- та М-холінорецепторів [254,258], а також K_1 -рецепторів [200].

Велика кількість nNOS міститься у протоках СЗ, зокрема, апікальній мембрані екскреторних та посмугованих проток, цитоплазмі гранулярних і, у меншій мірі, екскреторних та посмугованих проток [200].

Ми дослідили вплив інгібіторів NOS на активність α -амілази в гомогенаті піднижньощелепних СЗ за умов відтворення МС (таблиця 4.6).

Таблиця 4.6

Вплив інгібіторів NOS на активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=20$)

Назва ферменту	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ 7-NI	+ аміногуанідин
α -Амілаза, мг/год \times г	75.4 ± 2.2	61.0 ± 2.1 *	47.0 ± 2.3 */**	67.2 ± 1.6 */**

Введення за цих умов селективного інгібітора nNOS 7-NI знижує активність α -амілази в тканинах піднижньощелепних СЗ – на 23.0% ($p < 0.01$) – у порівнянні з даними другої серії.

Отримані нами результати узгоджуються з даними літератури щодо участі nNOS у забезпеченні білоксинтезуючої функції СЗ [200,

243,254].

У той час як введення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину підвищує активність цього ферменту – на 10.2% ($p < 0.05$) – у порівнянні з даними другої серії.

Таким чином, 1) функціонування pNOS за умов відтворення MC сприяє збільшенню активності α -амілази у тканинах піднижньощелепних СЗ, що вказує на роль pNOS у забезпеченні їхньої білоксинтезуючої функції;

2) функціонування iNOS за умов моделювання MC пригнічує активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних СЗ, що вказує на роль NO, що виробляється за участю iNOS, у порушенні їхньої білоксинтезуючої функції.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях і тезах:

1. Роль NO-синтаз у механізмах порушень вільнорадикальних процесів у тканинах пародонта і слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому / Л.І. Ляшенко, А.М. Єлінська, В.В. Талаш, В.О. Костенко // Світ мед. та біол.– 2014. – № 2. - С. 139-142.

2. NO- и пероксинитрит-зависимые изменения продукции супероксидного анион-радикала в органах крыс при экспериментальном метаболическом синдроме / В.А. Костенко А.Н. Елинская, Л.И. Ляшенко, Н.В. Соловьева, В.В. Талаш // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2014. – №2 (46). – С. 74–77.

3. Єлінська А.М. NO- та NF- κ B –залежні механізми порушення білоксинтезуючої функції слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому / А.М. Єлінська, В.О. Костенко // Світ мед. та біол.– 2014. – № 4. - С. 120-123.

4. NF-κB- та NO-залежні механізми метаболічних розладів при надмірному утворенні в організмі оксиду азоту / В.О. Костенко, Н.В. Соловйова, Л.І. Ляшенко, В.В. Талаш, А.М. Єлінська, Б.В. Сорокін, Д.О. Хміль, Б.О. Шаталін // VI конгрес патофізіологів України : мат. // Таврический медико-биол. вестн. – 2012. – Т.15, №3. – Ч.2. - С.342-343.

5. NO-зависимые механизмы расстройств окислительного обмена при экспериментальном метаболическом синдроме / А.Н. Елинская, Л.И. Ляшенко, Н.В. Соловьева, В.В. Талаш // Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье : XVII Всерос. мед.-биол. конф. молодых исследователей (с международным участием) : тезисы. – СПб. : Изд-во СПбГУ, 2014. – С. 149-150. [Фундам. наука клин. мед. - 2014. - Т. 17. - С. 149-150].

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ СУБСТРАТУ NOS НА ОКИСНЮВАЛЬНІ ПРОЦЕСИ ТА ФУНКЦІЇ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

5.1. Вплив L-аргініну на активність його NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

L-аргінін (α -аміно- δ -гуанідино-валеріанова кислота) є двоосновною, катіоноактивною амінокислотою, що входить до складу майже всіх рослинних і тваринних білків і є попередником оксиду азоту (NO), орнітину, цитруліну, глутамату, глутаміну, глутатіону, γ -аміномасляної кислоти, креатину, поліамінів та інших важливих для життєдіяльності сполук [97,222,274,279].

Серед відомих шляхів катаболізму L-аргініну найбільш важливими є два альтернативні шляхи – окисний (за участю NOS) – з утворенням L-цитруліну та NO – та неокисний (опосередкований аргіназами) – з утворенням L-орнітину і сечовини [97,222,274,279]. Примітно, що СЗ щурів містять аргінази I та II типів [287].

Повідомляється, що афінність NOS для L-аргініну приблизно у 1000 разів більше, ніж для аргіназ, проте v_{\max} останніх у 1000 разів більше, ніж NOS. Тому аргіназний шлях здатний конкурувати з окисним, особливо у мітохондріальному компартменті, де локалізована високоактивна індукцибельна ізоформа аргінази – аргіназа II [152,220, 279].

В останні роки виявлена невідповідність між половинною концентрацією насичення L-аргініну для ізольованої, очищеної

ендотеліальної eNOS (2,9 мкмоль) та концентрацією L-аргініну у плазмі (60-100 мкмоль) [244]. З точки зору ферментативної біохімії це вказує на те, що додаткове введення L-аргініну не повинно справляти дію на активність NOS, оскільки цей фермент має бути насичений субстратом на фізіологічному рівні і незалежним від позаклітинного надходження субстрату (K_m усіх форм NOS для L-аргініну $\sim 2-10$ мкМ). Однак L-аргінін виявляє досить потужний ефект на ендотелійзалежну дилатацію *in vivo*, *in situ* та *in vitro*. Цей феномен отримав назву «аргініновий парадокс» [19,45,102,126,127,148].

Вважається, що потенційним механізмом цього феномену може бути зміна афінітету eNOS до її субстрату L-аргініну [126]. Таку дію пояснюють конкуренцією NOS і аргінази за субстрат і недоступністю внутрішньоклітинного пулу L-аргініну та близьким розташування NOS і переносника цієї амінокислоти [198,203].

Нами досліджено вплив L-аргініну на сумарну активність NO-синтаз та концентрацію проміжного стабільного метаболіту NO – нітрит-йонів – у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов МС (таблиця 5.1).

Таблиця 5.1

Вплив L-аргініну на показники активності NOS та вмісту нітрит-аніонів у тканинах піднижньощелепних слинних залоз умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=15$)

Показники	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	
		Контроль	+ L-аргінін
1	2	3	4
NOS, мкмоль NO_2^- /Г·хв.	4.12 ± 0.22	8.51 ± 0.38 *	7.46 ± 0.53 *

Продовження табл. 5.1

1	2	3	4
Вміст NO ₂ ⁻ , мкмоль/г	0.112 ±0.007	0.149 ±0.011 *	0.106 ±0.011 **

Примітка (у табл. 5.1-5.6): * – $p < 0.05$ у порівнянні з даними інтактних щурів, ** – $p < 0.05$ у порівнянні з даними другої серії.

При внесенні L-аргініну за умов моделювання МС активність NOS у тканинах піднижньощелепних СЗ у порівнянні з даними другої серії достовірно не змінюється, проте концентрація нітрит-йонів зменшується – на 28.9% ($p < 0.05$).

Звертає на себе увагу, що за умов експерименту у тканинах піднижньощелепних СЗ на 23.9% ($p < 0.05$) підвищується активність орнітиндекарбоксилази (таблиця 5.2).

Таблиця 5.2

Вплив L-аргініну на показники активності орнітиндекарбоксилази в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=15$)

Назва ферменту	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	
		Контроль	+ L-аргінін
Орнітиндекарбоксилаза, нмоль/г·хв.	275.4 ±10.2	205.3 ±9.8 *	254.4 ±18.2 **

Таким чином, отримані нами дані не виявляють феномен «аргінінового парадоксу» при оцінці активності NOS у тканинах піднижньощелепних СЗ щурів за умов відтворення МС. Проте введення

L-аргініну за цих умов істотно обмежує зниження активності орнітиндекарбоксилази, що, вочевидь, пов'язано з оптимізацією функціонування неокисного (аргіназного) шляху метаболізму цієї амінокислоти.

5.2. Вплив L-аргініну на продукцію супероксидного аніон-радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Відомо, що конститутивні та індукбельна NOS окрім NO постійно продукують АФК. Таке «роз'єднане» утворення $\cdot\text{O}_2^-$ виявляється при дефіциті L-аргініну або BH_4 . Коли має місце роз'єднання переносу електронів в оксигеназних ферментах, O_2 стає єдиним акцептором електронів, що призводить до утворення $\cdot\text{O}_2^-$ [115,117,161]. Якщо рівень L-аргініну стає нижче 100 мкмоль/л, ініційоване НАДФН окиснення не сполучається із синтезом NO, що збільшує продукцію NOS $\cdot\text{O}_2^-$. При дефіциті BH_4 eNOS генерує на конкурентній основі $\cdot\text{O}_2^-$, H_2O_2 та NO.

Ми дослідили вплив субстрату NOS L-аргініну на продукцію $\cdot\text{O}_2^-$ НАДФН-залежними ЕТЛ мікросомальним і NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов відтворення МС (таблиця 5.3).

Введення щурам L-аргініну за цих умов достовірно не позначається на величині загального фону продукції $\cdot\text{O}_2^-$ та його продукції $\cdot\text{O}_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ, але зменшує вироблення $\cdot\text{O}_2^-$ НАДФН-залежними ЕТЛ – на 15.0% ($p < 0.01$) у порівнянні з даними другої серії.

Таблиця 5.3

Вплив L-аргініну на зміни продукції супероксидного аніон-радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=15$)

Показники	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	
		Контроль	+ L-аргінін
Продукція $\cdot O_2^-$, нмоль/г·с			
загальний фон	0.89 ± 0.09	1.27 $\pm 0.07^*$	1.29 $\pm 0.08^*$
НАДФН-залежні ЕТЛ (мікросомальний і NOS)	16.13 ± 0.77	24.00 $\pm 0.42^*$	20.40 $\pm 0.62^{*/**}$
НАДН-залежний ЕТЛ (мітохондріальний)	16.80 ± 0.33	25.73 $\pm 0.27^*$	24.80 $\pm 0.39^*$

Отриманий результат підтверджує здатність L-аргініну попереджати роз'єднання переносу електронів в оксигеназних ферментах, запобігаючи тим самим утворенню $\cdot O_2^-$ [282].

Таким чином, введення білим щурам L-аргініну під час відтворення МС знижує продукцію у тканинах піднижньощелепних СЗ супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами.

5.3. Вплив L-аргініну на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Процеси вільнорадикального окиснення мають принципове значення у патогенезі МС [35]. Порушення окиснювально-антиоксидантного гомеостазу виявляються у механізмах розвитку усіх його компонентів (ІР, ліпотоксичності, системної гіперцитокінемії та артеріальної гіпертензії).

L-аргінін має властивості як потенційної антиоксидантної речовини, так і опосередкованого підсилювача ВРО. Через NOS / NO-залежний механізм ця амінокислота здатна як активувати ланцюгові вільнорадикальні реакції, так і пригнічувати їх [24,184,194]. У модельних системах L-аргінін гальмує утворення АФК, зменшує вміст продуктів ПОЛ *in vitro* і *in vivo* за умов гіпоксії [71]. Показана роль nNOS у продукції NO з сигнальними властивостями, спрямованими на обмеження ПОЛ та підсилення антиоксидантного потенціалу тканин за умов механічного та токсичного ураження СЗ [48,52,96].

Проте внесення L-аргініну може сприяти утворенню великої кількості NO, особливо через активацію iNOS. Наслідком цього може бути прооксидантна дія NO, пов'язана з утворенням агресивного пероксинітриту [269], підвищенням продукції АФК через брак роботи НАДН- і НАДФН-залежних ЕТЛ (у т.ч. у СЗ) [48,96], активацію NF-κB-опосередкованих шляхів утворення АФК [166,202].

Ми дослідили вплив L-аргініну на стан ПОЛ та АО захисту в тканинах піднижньощелепних СЗ за умов експериментального МС (таблиця 5.4).

Введення тваринам L-аргініну під час відтворення МС достовірно не позначається на концентрації ТБК-активних продуктів та їх прирості за час півторигодинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині у порівнянні з даними другої серії.

Таблиця 5.4

Вплив L-аргініну на концентрацію ТБК-реактантів у гомогенаті піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=15$)

Показники	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	
		Контроль	+ L-аргінін
Концентрація ТБК-реактантів, мкмоль/кг до інкубації	24.6 ±0.9	37.5 ±0.6*	35.1 ±1.2*
після інкубації	32.7 ±1.2	49.5 ±1.2 *	46.2 ±1.4 *
приріст	8.1 ±0.6	12.0 ±0.8*	11.1 ±1.0*

Оцінка активності АО ферментів (СОД і каталази) у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов експериментального МС (таблиця 5.5) також не виявила достовірних відмінностей отриманих результатів від даних другої серії.

Таблиця 5.5

Вплив L-аргініну на активність антиоксидантних ферментів у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=15$)

Назва ферменту	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	
		Контроль	+ L-аргінін
СОД, од. акт.	0.24 ± 0.02	0.15 $\pm 0.02^*$	0.18 ± 0.03
Каталаза, мккатал/кг	2.79 ± 0.21	1.80 $\pm 0.16^*$	2.24 ± 0.12

Таким чином, введення білим щурам L-аргініну під час відтворення МС не призводить до істотних змін стану процесів ПОЛ та антиоксидантного потенціалу, активності АО ферментів (СОД і каталази).

5.4. Вплив L-аргініну на активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Можна припустити, що L-аргінін через шлях nNOS – NO – цГМФ може впливати на біосинтез білків у СЗ. Відомо, що nNOS бере участь у регуляції секреції білків, зокрема, α -амілази [254,255,258,243]. Крім того, внесення L-аргініну може негативно позначатися на білоксинтезуючій функції СЗ через цитотоксичну дію NO, що виробляється за умов активації iNOS [48].

Для з'ясування характеру впливу L-аргініну на білоксинтезуючу функцію піднижньощелепних СЗ за умов відтворення МС ми дослідили активність α -амілази (таблиця 5.6).

Таблиця 5.6

Вплив L-аргініну на активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому (M_{±m}, n=15)

Назва ферменту	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	
		Контроль	+ L-аргінін
α -Амілаза, мг/год × г	75.4 ±2.2	61.0 ±2.1 *	64.5 ±2.3 *

Введення тваринам L-аргініну під час моделювання МС достовірно не впливає на величину активності α -амілази у тканинах піднижньощелепних СЗ у порівнянні з даними другої серії.

Таким чином, введення білим щурам L-аргініну за умов експериментального МС суттєво не впливає на білоксинтезуючу функцію піднижньощелепних слинних залоз.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях і тезах:

1. Роль NO-синтаз у механізмах порушень вільнорадикальних процесів у тканинах пародонта і слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому / Л.І. Ляшенко, А.М. Єлінська, В.В. Талаш, В.О. Костенко // Світ мед. та біол.– 2014. – № 2. - С. 139-142.

2. NO- и пероксинитрит-зависимые изменения продукции супероксидного анион-радикала в органах крыс при экспериментальном

метаболическом синдроме / В.А. Костенко А.Н. Елинская, Л.И. Ляшенко, Н.В. Соловьева, В.В. Талаш // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2014. – №2 (46). – С. 74–77.

3. Єлінська А.М. NO- та NF-κB –залежні механізми порушення білоксинтезуючої функції слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому / А.М. Єлінська, В.О. Костенко // Світ мед. та біол.– 2014. – № 4. - С. 120-123.

4. NO-зависимые механизмы расстройств окислительного обмена при экспериментальном метаболическом синдроме / А.Н. Елинская, Л.И. Ляшенко, Н.В. Соловьева, В.В. Талаш // Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье : XVII Всерос. мед.-биол. конф. молодых исследователей (с международным участием) : тезисы. – СПб. : Изд-во СПбГУ, 2014. – С. 149-150. [Фундам. наука клин. мед. - 2014. - Т. 17. - С. 149-150].

РОЗДІЛ 6

**РОЛЬ ПЕРОКСИНІТРИТУ У ПАТОГЕНЕЗІ ПОРУШЕНЬ
ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ФУНКЦІЇ СЛИННИХ ЗАЛОЗ
ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ**

6.1. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на активність NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Пероксинітрит (ONOO^-) – сполука, з надлишковою продукцією якого пов'язують виникнення таких компонентів МС, як ІР [266], системна запальна відповідь [210], ендотеліальна дисфункція [154,156], ліпотоксичність [193], артеріальна гіпертензія [156,253]. Проте останнім часом пероксинітрит розглядають як компонент системи вторинних месенджерів, відповідальний за регуляцію метаболізму, активності ферментів, процесів транскрипції, клітинної диференціації та апоптозу [234,269]. Він здатний змінювати йонну проникність, збільшувати ригідність мембран, викликати реорганізацію цитоскелету клітини, модулювати метаболізм глюкози та знижувати кількість АТФ.

Утворення пероксинітриту відбувається в результаті взаємодії NO з супероксидним аніон-радикалом, вироблення якого за умов МС, за нашими даними, істотно збільшується у тканинах СЗ.

Одним із шляхів дослідження ефектів пероксинітриту *in vivo* є застосування скевенджерів цієї речовини [234,269]. Так, з цією метою використовують L-селенометіонін [189], у тому числі при дослідженні ролі пероксинітриту у пошкодженні СЗ [47,94]. Показано, що сполуки селену з низькою молекулярною масою ефективно реагують з

пероксинітридом та захищають модельні речовини від окиснення та нітрування, а плазмідну ДНК від пероксинітрид-індукованих одониткових розривів [189].

Взаємозв'язок пероксинітриду та активності NOS досліджений недостатньо. Відомо, що найбільший рівень постачання NO у реакцію, де він взаємодіє з $\cdot\text{O}_2^-$, забезпечується функціонуванням іNOS (поряд з нітриредуктазним шляхом) [234,269]. У той же час, за несприятливих умов (гіпоксія, дефіцит субстратів NO-синтазної реакції) NOS генерує $\cdot\text{O}_2^-$ замість NO. Крім того, виявлено, що NOS здатні продукувати нітроксильний аніон, який бере участь у реакції з молекулярним киснем з утворенням пероксинітриду [188].

Тобто, рівень утворення пероксинітриду залежить від багатьох чинників і є важко прогнозованим.

Нами досліджено вплив скевенджера пероксинітриду L-селенометіоніну на сумарну активність NOS та концентрацію проміжного стабільного метаболіту NO – нітрид-йонів – у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов МС (таблиця 6.1).

Таблиця 6.1

Вплив L-селенометіоніну на показники активності NOS та вмісту нітрид-аніонів у тканинах піднижньощелепних слинних залоз умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, n=15)

Показники	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	
		Контроль	+ L-селенометіонін
1	2	3	4

Продовження табл. 6.1

1	2	3	4
NOS, мкмоль NO ₂ ⁻ /Г·хв.	4.12 ±0.22	8.51 ±0.38 *	6.18 ±0.38 */**
Вміст NO ₂ ⁻ , мкмоль/Г	0.112 ±0.007	0.149 ±0.011 *	0.089 ±0.007 */**

Примітка (у табл. 6.1-6.6): * – $p < 0.05$ у порівнянні з даними інтактних щурів, ** – $p < 0.05$ у порівнянні з даними другої серії.

При внесенні L-селенометіоніну за умов моделювання МС активність NOS і концентрація нітрит-йонів у тканинах піднижньощелепних СЗ зменшуються – відповідно на 27.4% ($p < 0.01$) та 40.3% ($p < 0.01$) у порівнянні з даними другої серії.

Звертає на себе увагу, що за цих умов у тканинах піднижньощелепних СЗ підвищується активність орнітиндекарбоксилази (таблиця 6.2) – на 25.6% ($p < 0.05$) у порівнянні з даними другої серії.

Таблиця 6.2

Вплив L-селенометіоніну на показники активності орнітиндекарбоксилази в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому (M±m, n=15)

Назва ферменту	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	
		Контроль	+ L-селенометіонін
Орнітиндекарбоксилаза, нмоль/Г·хв.	275.4 ±10.2	205.3 ±9.8 *	257.9 ±15.6 **

Таким чином, 1) введення білим щурам скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну за умов експериментального МС знижує у тканинах піднижньощелепних СЗ активність NOS і концентрацію нітрит-йонів та підвищує активність ферменту аргіназного шляху метаболізму L-аргініну – орнітиндекарбоксилази;

2) дисбаланс NOS та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов експериментального МС є пероксинітрит-залежним процесом.

6.2. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на продукцію супероксидного аніон-радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Найбільш сприятливі умови для синтезу пероксинітриту створюються в клітинних компартментах з високою активністю NOS і ферментів, відповідальних за утворення $\cdot\text{O}_2^-$ (ксантиноксидаза, НАДФН-оксидоредуктаза, циклооксигеназа, ліпоксигеназа та цитохром P₄₅₀), а також у процесі функціонування дихального ланцюга мітохондрій [269].

У той же час, за умов запалення та інтоксикації у тканинах СЗ і пародонта виявлена здатність пероксинітриту збільшувати продукцію $\cdot\text{O}_2^-$ мікросомальним та мітохондріальним ЕТЛ, підтримуючи тим самим своєрідне «зачароване» коло [50].

Ми дослідили вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на продукцію $\cdot\text{O}_2^-$ НАДН і НАДФН-залежними ЕТЛ у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов експериментального МС (таблиця 6.3).

Таблиця 6.3

Вплив L-селенометіоніну на зміни продукції супероксидного аніон-радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому (M_{±m}, n=15)

Показники	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	
		Контроль	+ L-селенометіонін
Продукція $\cdot O_2^-$, нмоль/г·с			
загальний фон	0.89 ±0.09	1.27 ±0.07 *	1.29 ±0.08 *
НАДФН-залежні			
ЕТЛ (мікросомальний і NOS)	16.13 ±0.77	24.00 ±0.42 *	22.53 ±0.39 */**
НАДН-залежний			
ЕТЛ (мітохондріальний)	16.80 ±0.33	25.73 ±0.27 *	23.07 ±0.16 */**

Введення білим щурам L-селенометіоніну за цих умов достовірно не впливає на величину загального фону продукції $\cdot O_2^-$ у тканинах СЗ, але знижує його вироблення НАДФН і НАДН-залежними ЕТЛ – відповідно на 6.1% (p<0.05) та 10.3% (p<0.001) у порівнянні з даними другої серії.

Обмеження продукції $\cdot O_2^-$ НАДФН-залежним (мікросомальним та NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ при дії скевенджеру пероксинітриду L-селенометіоніну, за нашою думкою, відображує здатність пероксинітриду порушувати у клітинах функціонування цих

ланцюгів (інактивувати НАДН- та НАДФН-залежні оксидоредуктази, руйнувати FeS-кластери) [269]. У мітохондріях пероксинітрит пригнічує комплекси МФК I (НАДН-дегідрогеназа), МФК II (сукцинатдегідрогеназа), МФК III (цитохром с редуктаза) та комплекс V (АТФ синтаза), за допомогою різних механізмів, пов'язаних, зокрема, з окисненням цистеїнових і метіонінових залишків білків, нітруванням тирозину, ушкодженням FeS центрів [130,237,246]. Нітрування пероксинітритом Mn-SOD запобігає дисмутації $\cdot\text{O}_2^-$ з подальшою участю останнього в утворенні пероксинітриту [209]. Тобто, цей механізм функціонує з ознаками «зачарованого» кола.

Таким чином, 1) введення білим щурам скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну за умов експериментального МС знижує у тканинах піднижньощелепних СЗ продукцію супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними (мікросомальним та NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) електронно-транспортними ланцюгами;

2) зростання продукції у тканинах піднижньощелепних СЗ супероксидного аніон-радикала за умов експериментального МС є пероксинітрит-залежним процесом.

6.3. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Хоча пероксинітрит не належить до вільних радикалів, але він є значно більш агресивним, ніж його попередники – NO і $\cdot\text{O}_2^-$ [13,14, 28,269]. Період напіврозпаду пероксинітрит є дуже коротким і складає 10-20 мс, але цього часу вистачає, щоб перетнути біологічні мембрани, дифундувати на відстань від одного до двох діаметрів клітини [144], що

дозволяє йому взаємодіяти з більшістю біомолекул [234]. Кінетичні дослідження показали, що пероксинітрит окиснює молекули-мішені за допомогою двох різних механізмів. По-перше, пероксинітрит і його протонувана форма – пероксинітритна кислота (ONOOH) – може завдавати прямий окисний вплив через процес одно- або двоелектронного окиснення [234]. Тільки декілька хімічних груп здатні безпосередньо реагувати з пероксинітритом, наприклад, тіоли, FeS центри та йони цинку в складі білків [234]. Другий механізм включає в себе непрямий (опосередкований) окиснювальний вплив пероксинітриту шляхом утворення високотоксичних радикалів [118]. Так, пероксинітрит сприяє утворенню гідроксильних радикалів і діоксиду азоту (NO_2) через гомолітичний розпад пероксинітритної кислоти [234]. Проте вироблення гідроксильних радикалів за цим механізмом, можливо, відіграє незначну роль за природних умов у зв'язку з особливо швидким перебігом реакції пероксинітриту з діоксидом вуглецю (CO_2). Пряма реакція пероксинітрита з CO_2 ($4.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ при 37°C) призводить до утворення нестійкого продукту (нітрозопероксикарбонату, ONOOCO_2), який швидко гомолізується у CO_3^- (карбонат-радикал) і NO_2 [121]. Карбонат-радикал вважається більш токсичним, ніж гідроксильний радикал. Таким чином, діоксид вуглецю, переспрямовує більшу частину пероксинітриту, що утворюється в організмі, за радикальними механізмами [118]. Проте внесок останніх у патогенез порушень тих чи інших органів за умов різноманітної патології може бути різним.

Ми дослідили вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на стан ПОЛ та АО захисту в тканинах піднижньощелепних СЗ за умов експериментального МС (таблиця 6.4).

Введення тваринам L-селенометіоніну за умов відтворення МС достовірно зменшує концентрацію ТБК-активних сполук до інкубації – на 21.9% ($p < 0.001$), після інкубації – на 23.2% ($p < 0.001$). Величина

приросту концентрації ТБК-активних сполук за час півторогодинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині – знижується на 27.5% ($p < 0.05$) у порівнянні з даними другої серії.

Таблиця 6.4

Вплив L-селенометіоніну на концентрацію ТБК-активних сполук у гомогенаті піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M_{\pm m}$, $n=15$)

Показники	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	
		Контроль	+ L-селенометіонін
Концентрація ТБК-активних сполук , мкмоль/кг до інкубації	24.6	37.5	29.3
	± 0.9	$\pm 0.6 *$	$\pm 0.9 */**$
після інкубації	32.7	49.5	38.0
	± 1.2	$\pm 1.2 *$	$\pm 1.6 */**$
приріст	8.1	12.0	8.7 \pm
	± 0.6	$\pm 0.8 *$	1.0 **

Зниження приросту концентрації ТБК-активних сполук за час інкубації при призначенні L-селенометіоніну вказує на цю здатність обмежувати зниження АО потенціалу в тканинах СЗ за умов моделювання МС, що також підтверджується достовірним підвищенням у тканинах активності АО ферментів (таблиця 6.5).

Таблиця 6.5

Вплив L-селенометіоніну на активність антиоксидантних ферментів у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=15$)

Назва ферменту	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	
		Контроль	+ L-селенометіонін
СОД, од. акт.	0.24 ±0.02	0.15 ±0.02*	0.22 ±0.02 **
Каталаза, мккатал/кг	2.79 ±0.21	1.80 ±0.16 *	2.72 ±0.18 **

Так, при введенні тваринам L-селенометіоніну за умов експериментального МС активність СОД і каталази збільшується – відповідно на 46.7% ($p < 0.05$) та 51.1% ($p < 0.01$) у порівнянні з даними другої серії.

Таким чином, 1) введення білим щурам скевенджеру пероксинітрит у L-селенометіоніну за умов відтворення МС знижує у тканинах піднижньощелепних СЗ активність ПОЛ і підвищує стан АО захисту, що підтверджується зменшенням концентрації ТБК-активних сполук та їх приросту за час півторигодинної інкубації у прооксидатному буферному розчині, збільшенням активності СОД і каталази;

2) зростання у тканинах піднижньощелепних слинних залоз активності ПОЛ та зниження АО потенціалу за умов експериментального МС є пероксинітрит-залежними процесами.

6.4. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

За умов окиснювального та нітрозативного стресу, пов'язаного з утворенням пероксинітриту, в клітинах різко порушується біосинтез білків через пригнічення алкілтрансферазної реакції і, як наслідок, репарації ДНК [28]. Порушенню пластичних процесів сприяє виснаження біоенергетичних ресурсів шляхом пригнічення АТФ-синтазної реакції та посилення піролізу АТФ внаслідок активації полі(АДФ-рибоза)синтази при пероксинітрит-залежному пошкодженні ДНК.

Окрім того, з дією пероксинітриту пов'язують активацію протеолітичних процесів у органах ротової порожнини [103]. Так, пероксинітрит сприяє інактивації α_1 -інгібітора протеїназ і тканинного інгібітора металопротеїназ через окиснення NH- і SH-груп білків [269,289]. Пероксинітрит-залежне пригнічення білоксинтезуючої функції СЗ розглядається як важливий механізм патогенезу токсичного та травматичного ураження СЗ [47,94].

Введення тваринам L-селенометіоніну за умов моделювання МС підвищує у тканинах піднижньощелепних СЗ активність α -амілази (таблиця 6.6) – на 16.4% ($p < 0.02$) у порівнянні з даними другої серії.

Таким чином, призначення білим щурам скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну за умов експериментального МС істотно покращує білоксинтезуючу функцію піднижньощелепних СЗ.

Таблиця 6.6

Вплив L-селенометіоніну на активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=15$)

Назва ферменту	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	
		Контроль	+ L-селенометіонін
α -Амілаза, мг/год \times г	75.4 ± 2.2	61.0 ± 2.1 *	71.0 ± 2.2 **

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях і тезах:

1. NO- и пероксинитрит-зависимые изменения продукции супероксидного анион-радикала в органах крыс при экспериментальном метаболическом синдроме / В.А. Костенко А.Н. Елинская, Л.И. Ляшенко, Н.В. Соловьева, В.В. Талаш // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2014. – №2 (46). – С. 74-77.

2. Єлінська А.М. Роль пероксинітриту у механізмах вільнорадикальних процесів у слинних залозах за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому / А.М. Єлінська, Н.В. Соловйова, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2014. – Т.14, №3. – С. 198-201.

3. Єлінська А.М. NO- та NF- κ B –залежні механізми порушення білоксинтезуючої функції слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому / А.М. Єлінська, В.О. Костенко // Світ мед. та біол.– 2014. – № 4. - С. 120-123.

РОЗДІЛ 7

РОЛЬ NF-κB У МЕХАНІЗМАХ ПОРУШЕНЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ФУНКЦІЇ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

7.1. Вплив інгібіторів NF-κB на активність NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Ядерний фактор κB є індукцибельним чинником транскрипції, що активує експресію генів, продукти яких грають ключову роль у розвитку МС, серцево-судинних захворювань, цукрового діабету II типу, канцерогенезу, запальних та вірусних захворювань [42,44,174,275].

У більшості клітин цей фактор знаходиться в цитоплазмі в неактивному стані внаслідок зв'язування з інгібіторними білками класу IκB. У процесі активації NF-κB під дією різноманітних індукторів відбувається фосфорилування IκB, після чого він убіквітинується і гідролізується протеїназним комплексом, а вільний NF-κB транслокується в ядро, де зв'язується з відповідними ДНК-послідовностями і впливає на транскрипцію багатьох генів [227]

Існує багато протиріч у результатах визначення участі NF-κB у розвитку патології, пов'язаних як з відсутністю стандартного методу визначення активності NF-κB, так і з відмінностями в інтерпретації результатів, отриманих одним і тим самим методом. Тому найбільш точні результати ефектів активації NF-κB можливо отримати шляхом застосування у експерименті метода його «виключення», наприклад, при застосуванні інгібіторів активації NF-κB [30,68,149].

Ми застосовували «інгібітор активації NF-κB II» – JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діамін), який порушує процес транслокації NF-κB у ядро [191]. В останні роки ця речовина використовується в експериментальних дослідженнях участі JSH-23 у розвитку різних патологічних процесів як у закордонних [116,120,249, 259,280], так і у вітчизняних лабораторіях [62,63].

З дією JSH-23 ми порівнювали ефекти відомого протидіабетичного лікарського засобу групи похідних бігуанідів – метформіну гідрохлориду. Нещодавно було показано, що останній у концентрації 100-1000 мкмоль/л інгібує фосфорилування ІκВ-кінази та деградацію ІκBα в ендотеліальних клітинах пупкової вени людини. Цей ефект пов'язаний із здатністю метформіну збільшувати фосфорилування АМФ-активованої кінази за участю PI-3-K [173,180]. Така здатність метформіну ставить його в ряд препаратів – інгібіторів NF-κB [57,281]. Включення метформіну в комплексну терапію хворих МС і ІХС призводить до блокади активації NF-κB під дією ендогенних прозапальних цитокінів (на прикладі CD40+-мононуклеарів периферичної крові) шляхом стабілізації комплексів NF-κB/ІκВ за рахунок пригнічення фосфорилування ІκВ-кінази [57]. Цей ефект метформіну перериває «зачароване» коло у патогенезі МС, впливаючи на його ключову ланку – активацію NF-κB.

У таблиці 7.1 наведено дані щодо впливу JSH-23 і метформіну гідрохлориду на сумарну активність NOS та концентрацію нітрит-йонів у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов відтворення експериментального МС.

Введення як JSH-23, так і метформіну гідрохлориду, за умов експерименту викликає достовірне зменшення сумарної активності NOS, що відповідно на 35.5% ($p < 0.001$) та 20.2% ($p < 0.05$) поступається даним другої серії. Ці зміни, очевидно, пов'язані з пригніченням при

застосуванні названих засобів NF-κB-залежної активації транскрипції гена iNOS [227].

Таблиця 7.1

Вплив інгібіторів NF-κB на показники активності NOS та вмісту нітрит-аніонів у тканинах піднижньощелепних слинних залоз умов відтворення експериментального метаболічного синдрому (M_{±m}, n=20)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ JSH-23	+ метформін
NOS, мкмоль NO ₂ ⁻ /Г·хв.	4.12 ±0.22	8.51 ±0.38 *	5.49 ±0.28 */**	6.79 ±0.47 */**
Вміст NO ₂ ⁻ , мкмоль/Г	0.112 ±0.007	0.149 ±0.011 *	0.095 ±0.006 **	0.095 ±0.006 **

Примітка (у табл. 7.1-7.6): * – p<0.05 у порівнянні з даними інтактних щурів, ** – p<0.05 у порівнянні з даними другої серії.

Концентрація нітрит-йонів поступається результатам другої серії при застосуванні як JSH-23, так і метформіну гідрохлориду, – на 36.2% (p<0.01).

При введенні JSH-23 за умов експериментального МС у тканинах піднижньощелепних СЗ підвищується активність орнітиндекарбоксилази (таблиця 7.2) – на 19.6% (p<0.05) у порівнянні з даними другої серії. У той же час, призначення метформіну гідрохлориду не призводить до достовірних змін активності цього ферменту.

Таблиця 7.2

Вплив інгібіторів NF-κB на показники активності орнітиндекарбоксилази в піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому (M±m, n=20)

Назва ферменту	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення MC		
		Контроль	+ JSH-23	+ метформін
Орнітиндекарбоксилаза, нмоль/г·хв.	275.4 ±10.2	205.3 ±9.8 *	245.6 ±13.3 **	240.4 ±17.9

Таким чином, 1) введення як інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23, так і метформіну гідрохлориду, за умов відтворення MC знижує сумарну активність NOS та концентрацію продуктів окиснення NO – нітрит-йонів;

2) за цих умов JSH-23 виявляє здатність підвищувати активність ферменту аргіназного шляху метаболізму L-аргініну – орнітиндекарбоксилази, що не є характерним при призначенні метформіну гідрохлориду.

7.2. Вплив інгібіторів NF-κB на продукцію супероксидного аніон-радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Активація NF-κB може неоднозначно позначатися на рівні O_2^- у тканинах. Це пов'язано з тим, що з одного боку, під впливом низки фізичних і хімічних чинників (радіації, ультрафіолетового опромінення, підвищеного атмосферного тиску, окиснювального стресу, присутності

форболових ефірів тощо), а також інфекційних агентів і сигнальних молекул (гормонів, цитокінів, ростових факторів, цАМФ тощо) NF-κB впливає на гени, які задіяні як в експресії біомолекул, здатних до продукції $\cdot\text{O}_2^-$, або стимулюють цей процес (iNOS, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-18, TNF-α, TNF-β тощо), так і таких, що обмежують кількість $\cdot\text{O}_2^-$ у реакційному середовищі (зокрема, СОД, церулоплазмін) [65,129,239, 262].

Таким чином, вплив активації NF-κB на генерацію рівні $\cdot\text{O}_2^-$ за умов патології прогнозувати досить складно.

Нами досліджено вплив JSH-23 і метформіну гідрохлориду на показники продукції $\cdot\text{O}_2^-$ у тканинах піднижньощелепних СЗ умов відтворення експериментального МС (таблиця 7.3).

Таблиця 7.3

Вплив інгібіторів NF-κB на зміни продукції супероксидного аніон-радикала в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому (M±m, n=20)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ JSH-23	+ метформін
1	2	3	4	5
Продукція $\cdot\text{O}_2^-$, нмоль/г·с загальний фон	0.89 ±0.09	1.27 ±0.07 *	1.04 ±0.10	1.04 ±0.09
НАДФН-залежні ЕТЛ (мікросомальний і NOS)	16.13 ±0.77	24.00 ±0.42 *	18.53 ±0.57 */**	19.07 ±0.58 */**

Продовження табл. 7.3

1	2	3	4	5
НАДН-залежний ЕТЛ (мітохондріальний)	16.80 ±0.33	25.73 ±0.27 *	18.80 ±0.39 */**	19.20 ±0.33 */**

Застосування JSH-23 за цих умов істотно не позначається на величині загального фону продукції $\cdot O_2^-$ у тканинах піднижньощелепних СЗ, але знижує його вироблення НАДФН і НАДН-залежними ЕТЛ – відповідно на 22.8% ($p < 0.001$) та 26.9% ($p < 0.001$) у порівнянні з даними другої серії.

Застосування метформіну гідрохлориду за умов експерименту також достовірно не впливає на величину загального фону продукції $\cdot O_2^-$ у тканинах піднижньощелепних СЗ, проте знижує його генерацію НАДФН і НАДН-залежними ЕТЛ – відповідно на 20.5% ($p < 0.001$) та 25.4% ($p < 0.001$) у порівнянні з даними другої серії.

Таким чином, 1) введення білим щурам як інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23, так і метформіну гідрохлориду, за умов відтворення МС знижує у тканинах піднижньощелепних СЗ продукцію супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними (мікросомальним та NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) електронно-транспортними ланцюгами;

2) зростання продукції у тканинах піднижньощелепних СЗ супероксидного аніон-радикала за умов експериментального МС є NF-κB-залежним процесом.

7.3. Вплив інгібіторів NF-κB на процеси пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Нами досліджено вплив інгібітора активації NF-κB II JSH-23 та метформіну гідрохлориду на концентрацію ТБК-активних сполук у гомогенаті тканин піднижньощелепних СЗ за умов відтворення експериментального МС (таблиця 7.4).

Таблиця 7.4

Вплив інгібіторів NF-κB на концентрацію ТБК-активних сполук у гомогенаті піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому ($M \pm m$, $n=20$)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ JSH-23	+ метформін
Концентрація ТБК-активних сполук, мкмоль/кг до інкубації	24.6	37.5	32.2	34.1
	±0.9	±0.6 *	±0.6 */**	±1.2 */**
після інкубації	32.7	49.5	41.8	43.3
	±1.2	±1.2 *	±0.6 */**	±1.1 */**
приріст	8.1	12.0	9.6	9.1
	±0.6	±0.8 *	±0.8	±1.8

Введення JSH-23 за умов моделювання МС знижує концентрацію ТБК-активних сполук до інкубації – на 14.1% ($p < 0.001$), після інкубації – на 15.6% ($p < 0.001$) у порівнянні з результатом другої серії. Проте приріст концентрації ТБК-активних сполук за час інкубації у прооксидантному залізоаскорбатному буферному розчині достовірно не відрізняється від даних другої серії.

Введення метформіну гідрохлориду за умов експерименту також знижує концентрацію ТБК-активних сполук до інкубації – на 9.1% ($p < 0.05$), після інкубації – на 12.5% ($p < 0.01$) у порівнянні з результатом другої серії. Приріст концентрації ТБК-активних сполук за час інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині також не відрізняється від даних другої серії.

Отримані нами результати свідчать, що розвиток у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов МС ПОЛ залежить від функціональної активності NF-κB.

Нещодавно було показано, що альдегіди, що утворюються у процесі ПОЛ (4-гідрокси-транс-2-ноненаль, акролеїн та головний компонент ТБК-активних сполук – малоновий діальдегід), здатні регулювати redox-чутливі фактори транскрипції – NF-κB і AP-1 – через відповідні протеїнкіназні каскади [26,286]. Таким чином, у цьому випадку ми також спостерігаємо формування у патогенезі вільнорадикального ушкодження тканин своєрідного «зачарованого» кола.

Проте відсутність достовірних змін величин приросту концентрації ТБК-активних сполук за час інкубації у прооксидантному буферному розчині при призначенні інгібіторів активації NF-κB свідчить про відсутність NF-κB-залежних зрушень АО потенціалу.

Цей факт також підтверджує відсутність достовірних змін величин активності АО ферментів – СОД і каталази – у тканинах

піднижньощелепних СЗ за умов моделювання МС та застосуванні JSH-23 та метформіну гідрохлориду (таблиця 7.5).

Таблиця 7.5

Вплив інгібіторів NF-κB на активність антиоксидантних ферментів у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому (M±m, n=20)

Назва ферменту	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ JSH-23	+ метформін
СОД, од. акт.	0.24 ±0.02	0.15 ±0.02*	0.19 ±0.04	0.18 ±0.04
Каталаза, мккатал/кг	2.79 ±0.21	1.80 ±0.16 *	1.87 ±0.25 *	1.67 ±0.27 *

Таким чином, 1) введення білим щурам як інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23, так і метформіну гідрохлориду, за умов відтворення МС знижує у тканинах піднижньощелепних СЗ утворення вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-активних сполук) без істотних змін антиоксидантного потенціалу та активності антиоксидантних ферментів (СОД і каталази);

2) зростання активності у тканинах піднижньощелепних СЗ процесу пероксидного окиснення ліпідів за умов експериментального МС є NF-κB-залежним процесом.

7.4. Вплив інгібіторів NF-κB на активність α-амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому

Відомо, що NF-κB індукує досить велику кількість генів, відповідальних за синтез молекулярних структур, які беруть участь у розвитку запального процесу. Так, під впливом NF-κB посилюється продукція прозапальних цитокінів, хемокінів, адгезинів, гострофазових білків, імунорегуляторних і костимулюючих молекул, антигенів I і II класу системи HLA, α- і β-рецепторів Т-клітин, асоційованого з процесингом антигену транспортера, індукцибельних ферментів (iNOS, циклооксигенази-2, фосфоліпази A₂), металопротеїназ екстрацелюлярного матриксу тощо [65,196]. За умов запального процесу у СЗ активність α-амілази може як підвищується (наприклад, при інфекційному паротиті) [93], так і знижуватися (при травматичному сіаладеніті, токсичних ураженнях СЗ) [37,38,48, 96] у залежності від стану секреторної функції СЗ. Можливість активації металопротеїназ екстрацелюлярного матриксу та пов'язаних з цим протеолітичних процесів у СЗ також становить небезпеку порушення процесів біосинтезу білка у цих залозах.

Нами досліджено вплив інгібітора активації NF-κB II JSH-23 та метформіну гідрохлориду на активність α-амілази у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов відтворення експериментального МС (таблиця 7.6).

Таблиця 7.6

Вплив інгібіторів NF-κB на активність α-амілази у тканинах слинних залоз за умов відтворення МС (M±m, n=20)

Назва ферменту	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ JSH-23	+ метформін
α-Амілаза, мг/год × г	75.4 ±2.2	61.0 ±2.1 *	68.9 ±2.3 **	66.5 ±1.7 *

Введення тваринам JSH-23 за умов моделювання МС підвищує у тканинах піднижньощелепних СЗ активність α -амілази – на 13.0% ($p < 0.05$) у порівнянні з даними другої серії.

Застосування за умов експерименту метформіну гідрохлориду не позначається на змінах величини активності α -амілази у тканинах піднижньощелепних СЗ у порівнянні з результатом другої серії.

Таким чином, 1) призначення білим щурам інгібітора активації NF- κ B II JSH-23 за умов експериментального МС істотно покращує білоксинтезуючу функцію піднижньощелепних СЗ;

2) введення метформіну гідрохлориду суттєво не позначається на стані білоксинтезуючої функції піднижньощелепних СЗ при моделюванні МС.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях і тезах:

1. Єлінська А.М. Роль ядерного фактора κ B у механізмах порушень окиснювальних процесів у слинних залозах за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому / А.М. Єлінська, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2014. – Т.14, №4. – С. 192-195.

2. Єлінська А.М. NO- та NF- κ B –залежні механізми порушення білоксинтезуючої функції слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому / А.М. Єлінська, В.О. Костенко // Світ мед. та біол.– 2014. – № 4. - С. 120-123.

3. Роль NF- κ B у механізмах NO-залежних порушень вільнорадикальних процесів за умов експериментального метаболічного синдрому / В.О. Костенко, А.М. Єлінська, Л.І. Ляшенко, Н.В. Соловйова, В.В. Талаш // Актуальні питання експериментальної та клінічної патофізіології : мат. VI Пленуму наук. тов. патофізіологів України та наук.-практ. конф. за участю міжнародних спеціалістів, Вінниця, 23-25 вересня 2014 р. - Вінниця, 2014. – С. 37-38.

4. Роль NF-κB-опосредованных эффектов NO в механизмах метаболических расстройств при избыточном образовании оксида азота / Н.В. Соловьева, Л.И. Ляшенко, В.В. Талаш, А.Н. Елинская, Б.О. Шаталин // Актуальные проблемы патофизиологии : XVIII межгор. конф. мол. ученых. – СПб., 2012. – С. 114–116.

5. Вплив інгібіторів NF-κB на активність NO-синтази в тканинах щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому та інтоксикацій / Л.І. Ляшенко, А.М. Єлінська, В.В. Талаш, Н.В. Соловйова, В.О. Богданов, І.В. Нагорняк // Медична наука в практику охорони здоров'я : Всеукр. наук.-практ. конф. : мат. доп. (Полтава, 21 листопада 2014 р.). – Полтава, 2014. – С. 83.

РОЗДІЛ 8

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

В останні роки у літературі підвищилася зацікавленість щодо взаємозв'язку системи оксиду азоту та NF-κB. Ці чинники виявляють здатність впливати на широкий спектр фізіологічних і патологічних процесів у СЗ, зокрема, на проліферацію, диференціювання та апоптоз гландулоцитів [120,201,243,276], процеси внутрішньоклітинної сигналізації [131,174,155], розвиток запалення [63]. Примітно, що саме ці системи беруть участь у трансформації первинно локальних патологічних процесів у системні та навпаки. Через це отримала підтримку точка зору щодо провідної ролі перманентної активації NF-κB у патогенезі всіх компонентів МС (ІР, системного запалення, артеріальної гіпертензії, ЕД та дисліпідемії тощо) [40,44]. Подібна дія притаманна і високотоксичному метаболіту системи NO – пероксинітриду [234]. Проте внесок наведених механізмів у розвиток ушкодження великих СЗ за умов МС досить залишається нез'ясованим.

Для відтворення МС у білих щурів ми застосували дієту з додатковим вуглеводно-жировим навантаженням (за типом «дієти західного типу») згідно з описом до патенту на корисну модель № 93517 [74], підготовленого за нашою участю. Тваринам протягом 2-х місяців призначали 20% водний розчин фруктози для пиття та раціон харчування, що містить такі складові: рафіноване пшеничне борошно – 45%; сухе знежирене коров'яче молоко – 20%; крохмаль – 10%; столовий маргарин (зі складом жирів 72-82%) – 20%; переокиснена соняшникова олія – 4%; натрію хлорид – 1%.

За даними наших співавторів [61], призначення щурам наведеної дієти супроводжується розладами обміну речовин, характерними для МС (зниження толерантності до глюкози, вісцеральне ожиріння,

дисліпопротеїнемія, системна запальна відповідь). Так, концентрація глюкози крові натще складає 6.95 ± 0.21 ммоль/л (у інтактних тварин – 5.08 ± 0.14 ммоль/л, $p < 0.001$); ЛПНЩ + ЛПДНЩ – 3.27 ± 0.14 г/л (у інтактних – 2.48 ± 0.15 г/л, $p < 0.01$); церулоплазміну – 352.9 ± 28.6 мг/л (у інтактних – 265.7 ± 28.8 мг/л, $p < 0.05$). Маса абдомінального жиру – 2.86 ± 0.09 г (у інтактних – 1.27 ± 0.08 г, $p < 0.001$). За даними підшкірного інсулінового тесту, вміст глюкози у крові через 60 хв після введення інсуліну в дозі 0,2 МО/кг маси тварини зменшується у середньому на 21% (у інтактних – на 48%).

За нашими даними, моделювання МС призводить до збільшення активності NOS і вмісту нітрит-йонів у піднижньощелепних СЗ. За цих умов спостерігається обмеження у тканинах СЗ реакцій аргіназного шляху метаболізму L-аргініну, на що вказує зменшення активності орнітиндекарбоксилази. Тобто, відтворення МС призводить до реципрокних змін конкурентних шляхів метаболізму L-аргініну: окисного (NO-синтазного) й неокисного (аргіназного).

Важливою функцією аргіназного шляху метаболізму L-аргініну є його участь у процесах відновлення ушкоджених тканин [213,214]. При цьому, сама орнітиндекарбоксилаза бере участь у механізмі синтезу поліамінів, які регулюють процеси реплікації та транскрипції ДНК, біосинтезу білків і проліферації клітин [217].

Саме зі зниженням активності цього ферменту та обмеженням процесу біосинтезу білка може бути пов'язане виявлене нами за умов МС зменшення у тканинах піднижньощелепних СЗ активності α -амілази.

Примітно, що введення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину за умов відтворення МС супроводжується значним зменшенням сумарної активності NOS та підвищенням активності орнітиндекарбоксилази, що не відмічається при застосуванні селективного інгібітора nNOS 7-NI.

Тобто, за умов МС активність сумарної NOS у тканинах СЗ підвищується, головним чином, саме за рахунок іNOS. Пригнічення останньої призводить у СЗ до активації конкуруючого аргіназного шляху метаболізму L-аргініну, що супроводжується збільшенням активності орнітиндекарбоксилази.

Проте введення L-аргініну під час моделювання МС істотно не впливає на активність NOS у тканинах піднижньощелепних СЗ, що вказує на відсутність феномену «аргінінового парадоксу» за цих умов.

Відомо, що більша чутливість до екзогенного L-аргініну притаманна конститутивним NOS [126], що пояснюється конкуренцією eNOS і аргінази за субстрат і недоступністю внутрішньоклітинного пулу L-аргініну та близьким розташування eNOS і переносника цієї амінокислоти [19,198,203].

У той же час, додаткове навантаження L-аргініном істотно обмежує зниження активності орнітиндекарбоксилази, що, вочевидь, може бути пов'язано з оптимізацією функціонування неокисного (аргіназного) шляху метаболізму цієї амінокислоти.

Звертає на себе увагу участь пероксинітриту в механізмах порушення функціонування NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов експериментального МС.

Нами виявлено, що введення білим щурам скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну під час відтворення МС знижує у тканинах піднижньощелепних СЗ активність NOS і концентрацію нітрит-йонів та підвищує активність ферменту аргіназного шляху метаболізму L-аргініну – орнітиндекарбоксилази.

У літературних джерелах неоднозначно висвітлюється вплив пероксинітриту на активність NOS. Показано, що продукти пероксинітрит-залежної активації окиснювального та нітрозильного

стресу здатні підвищувати синтез iNOS через NF-κB-залежний механізм [262]. З іншого боку, повідомляється про здатність пероксинітриду пригнічувати NF-κB [197]. З активацією останнього, як відомо, пов'язана експресія низки генів, у т.ч. iNOS [65,174].

Дійсно, за нашими даними, пригнічення NF-κB шляхом введення інгібітора його ядерної транслокації JSH-23 та метформіну гідрохлориду за умов відтворення МС призводить до зниження сумарної активності NOS та концентрації продуктів окиснення NO – нітрит-йонів. Примітно, що така дія JSH-23 (але не метформіну гідрохлориду) пов'язана з підвищенням активності ферменту конкуруючого аргіназного шляху метаболізму L-аргініну – орнітиндекарбоксилази.

Звертає на себе увагу, що засоби, які, за нашими даними, здатні підвищувати активність орнітиндекарбоксилази (селективний інгібітор iNOS аміногуанідин, скевенджер пероксинітриду L-селенометіонін, інгібітор ядерної транслокації NF-κB JSH-23), виявляють властивість істотно покращувати за умов експериментального МС білоксинтезуючу функцію піднижньощелепних СЗ, що виявляється у збільшенні активності у них α-амілази. Цей ефект, очевидно, пов'язаний з участю орнітиндекарбоксилази у механізмі репаративної регенерації СЗ, зокрема, синтезу поліамінів, які регулюють процеси реплікації та транскрипції ДНК, біосинтезу білків і проліферації клітин [217].

Для вивчення NO- та NF-κB-залежних процесів у СЗ нами досліджено інтенсивність вільнорадикальних реакцій, оскільки відома неоднозначна участь цих механізмів у продукції АФК, ініціюванні або обмеженні ПОЛ, утворенні в реакції з $\cdot O_2^-$ пероксинітриду, регуляції функціонального стану СЗ [50,52,275,276].

Так, за нашими даними, моделювання МС супроводжується посиленням у тканинах піднижньощелепних СЗ загального фону

продукції $\cdot\text{O}_2^-$ та його вироблення НАДН-залежним (мітохондріальним) і НАДН-залежними ЕТЛ.

За даними літератури, найбільша кількість $\cdot\text{O}_2^-$ продукується мітохондріальний ЕТЛ внаслідок одноелектронного відновлення кисню на рівні МФК I (НАДН – убіхіноноксидоредуктаза), МФК III (убіхінонол – цитохром с оксидоредуктаза) та комплексу цитохром b-c₁ [29,59,110, 150, 226]. Цьому можуть сприяти NF-κB [129] та пероксинітрит-залежні [269] механізми.

У той же час, потужний рівень вироблення $\cdot\text{O}_2^-$, за умов МС забезпечується НАДН-залежними ЕТЛ: у реакціях мікросомального окиснення (за участю цитохрому P-450) [110,181] та власне NOS, здатною за несприятливих умов переключатися з продукції NO на $\cdot\text{O}_2^-$ [115,117,161].

Примітно, що продукція $\cdot\text{O}_2^-$ у тканинах СЗ за умов відтворення МС залежить від функціонального стану різних ізоформ NOS. Так, введення селективного інгібітора nNOS 7-NI за умов експерименту підвищує вироблення $\cdot\text{O}_2^-$ НАДН-залежним (мітохондріальним) і НАДН-залежними ЕТЛ. Це вказує на той факт, що функціональна активність nNOS за умов експериментального МС обмежує у тканинах піднижньощелепних СЗ продукцію $\cdot\text{O}_2^-$ наведеними ЕТЛ.

Застосування селективного інгібітора iNOS аміногуанідину за умов МС, навпаки, зменшує продукцію $\cdot\text{O}_2^-$ НАДН-залежним (мітохондріальним) і НАДН-залежними ЕТЛ. Тобто продукція $\cdot\text{O}_2^-$ у СЗ у значній мірі пов'язана з функціонуванням iNOS. Це узгоджується з даними літературних джерел [48,52,96].

Одержані результати дозволяють нам зробити висновок щодо участі NO, який утворюється nNOS, у регуляції вироблення $\cdot\text{O}_2^-$ у тканинах СЗ.

Про здатність NO, який продукується конститутивними NOS (nNOS, eNOS, мітохондріальною NOS), виконувати сигнальну роль та обмежувати таким чином продукцію АФК уже повідомлялося у літературі [50,51,123,146,157].

Інтерес викликає точка зору щодо здатності nNOS контролювати експресію iNOS з подальшим виробленням АФК через пригнічення NF-κB, що було підтверджено у досліджах на культурі астроцитів та *in vivo* (тканини тонкої кишки) [245,273]. Призначення інгібіторів nNOS, за даними дослідників, активує NF-κB, знижує вміст інгібіторного білка IκBα з наступним підвищенням активності iNOS [245].

За нашими даними, введення білим щурам L-аргініну під час відтворення МС знижує продукцію у тканинах піднижньощелепних СЗ $\cdot\text{O}_2^-$ НАДФН-залежними ЕТЛ.

Цей результат підтверджує здатність L-аргініну попереджати роз'єднання переносу електронів в оксигеназних ферментах (зокрема, NOS) запобігаючи тим самим утворенню $\cdot\text{O}_2^-$ [282].

Одночасне підвищення при відтворенні МС рівнів NO та $\cdot\text{O}_2^-$ створює передумови для утворення високотоксичного пероксинітриду.

За нашими даними, введення щурам скевенджеру пероксинітриду L-селенометіоніну під час моделювання МС знижує у тканинах піднижньощелепних СЗ продукцію $\cdot\text{O}_2^-$ НАДФН-залежним (мікросомальним та NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ.

Передбачається існування своєрідного “зачарованого” кола: збільшення $\cdot\text{O}_2^-$ за умов утворення великої кількості NO за рахунок активності iNOS призводить до підвищення утворення високотоксичного пероксинітриду, який, у свою чергу, сприяє ще більшому збільшенню вироблення $\cdot\text{O}_2^-$ ЕТЛ.

Пероксинітрит-залежне зростання продукції у тканинах піднижньощелепних СЗ $\cdot\text{O}_2^-$ за умов експериментального МС, на нашу думку, пов'язане зі здатністю пероксинітриту інактивувати НАДН- та НАДФН-залежні оксидоредуктази, руйнувати FeS-кластери [269], пригнічувати МФК (НАДН-дегідрогеназний, сукцинатдегідрогеназний, цитохром с редуктазний, АТФ синтазний) через окиснення цистеїнових і метіонінових залишків білків, нітрування тирозину, ушкодження FeS центрів [130,237,246]. Нітрування пероксинітритом Mn-SOD запобігає дисмутації $\cdot\text{O}_2^-$ з подальшою участю останнього в утворенні пероксинітриту [209]. Тобто, цей механізм також функціонує з ознаками «зачарованого» кола.

Відомо, що важливим механізмом надлишкової продукції АФК є активація ядерного фактора κB [129]. Для вивчення ролі NF- κB у генерації $\cdot\text{O}_2^-$ в тканинах СЗ за умов відтворення МС щурам призначали інгібітор активації NF- κB II – JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл) бензол-1,2-діамін), який порушує процес транслокації NF- κB у ядро [191], та протидіабетичний лікарський засіб групи похідних бігуанідів – метформіну гідрохлорид, здатний пригнічувати фосфорилування I κB -кінази та деградацію I $\kappa\text{B}\alpha$ [173,180].

Застосування наведених інгібіторів активації NF- κB , за нашими даними, знижує за умов експериментального МС у тканинах піднижньощелепних СЗ продукцію супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежним (мікосомальним та NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ.

Таким чином, пригнічення NF- κB у більшій мірі обмежує реалізацію прооксидантних ефектів, пов'язаних з експресією відповідних генів, до числа яких можуть належати гени iNOS, IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, TNF- α , TNF- β тощо. У той же час, відомо, що через

активацію NF-κB експресуються гени, що утворюють антиоксидантні ферменти (зокрема, СОД і церулоплазмін) [65,239, 262].

Примітно, що нещодавно було з'ясовано, що здатність pNOS забезпечувати down-регуляцію продукції супероксидного аніон-радикала у тканинах пародонта за умов експериментального МС є NF-κB-опосередкованою [63]. Подібні зміни, на нашу думку, відмічаються і у СЗ. Збільшення за умов введення 7-NI генерації $\cdot O_2^-$ мікросомальним і мітохондріальним ЕТЛ усувається призначенням інгібітора активації NF-κB – JSH-23.

Підвищення продукції АФК за умов МС закономірно позначається на інтенсивності ПОЛ у тканинах СЗ.

За нашими даними, концентрація вторинних продуктів ПОЛ – ТБК-активних сполук – у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов експерименту достовірно зростає, що вказує на активацію процесів ПОЛ.

При цьому суттєво збільшується в тканинах піднижньощелепних СЗ приріст концентрації ТБК-активних сполук за час 1.5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині, що свідчить про зниження АО потенціалу. Це також підтверджується істотним зменшенням активності у тканинах піднижньощелепних СЗ АО ферментів – СОД і каталази.

Звертає на себе увагу той факт, що зниження активності у тканинах СЗ СОД і каталази за умов відтворення МС відбувається на тлі підвищення вироблення АФК. Наведені ферменти є субстратіндуцибельними. Тобто їхній синтез і активність залежать від наявності відповідного субстрату, яким для СОД є $\cdot O_2^-$ [75,129], а для каталази – продукт супероксиддисмутазної реакції – пероксид водню [242].

Пригнічення активності СОД і каталази у тканинах СЗ за умов моделювання МС, очевидно, пов'язано з виснаженням АО потенціалу, окиснювальною модифікацією білків [21], зв'язуванням надлишкової кількості NO, що утворюється за участю iNOS, з металами активного центру наведених ферментів. Відомо, що NO здатний взаємодіяти з йонами міді активного центру СОД [219] та блокувати йони заліза в активному центрі каталази (за умов зв'язування каталази з NO генерується ферікаталаза-NO, що є пригніченою формою ферменту) [187].

На роль NO у пригніченні активності АО ферментів також вказує збільшення активності СОД і каталази у тканинах СЗ при призначенні під час відтворення МС селективного інгібітора iNOS аміногуанідину. Призначення селективного інгібітора nNOS 7-NI також підвищує активність каталази. У той же час, функціонування nNOS за умов відтворення МС істотно не позначається на стані АО потенціалу в тканинах СЗ.

Нами виявлено певні відмінності у стані процесів ПОЛ у залежності від функціональної активності ізоформ NOS.

Так, внесення селективного інгібітора iNOS аміногуанідину за умов експериментального МС достовірно знижує у гомогенаті піднижньощелепних СЗ концентрацію ТБК-активних сполук, що вказує на суттєве обмеження ПОЛ за цих умов зі значним підвищенням антиоксидантного потенціалу тканин СЗ.

Введення селективного інгібітора nNOS 7-NI за умов МС, навпаки, підвищує у гомогенаті піднижньощелепних СЗ концентрацію ТБК-активних сполук, що свідчить про здатність nNOS обмежувати реакції ПОЛ.

За нашою думкою, ця закономірність, як і протекторна дію nNOS, спрямована на обмеження вироблення в тканинах СЗ $\cdot\text{O}_2^-$, пов'язана з

сигнальною функцією низьких концентрацій NO, що виробляється nNOS.

Виявлена нами різноспрямована дія NO, що генерується конститутивною та індукційною NOS, очевидно, пояснюється характеристиками місця утворення NO та наявністю функціональної компартменталізації. Так, конститутивні NOS безпосередньо контактують з плазматичною мембраною. Гідрофобний і ліпофільний характер NO сприяє його компартменталізації в ліпідному бішарі, що захищає цю молекулу від реакції з гідрофільним $\cdot O_2^-$ та попереджає утворення високоактивного пероксинітриду. У той же час, всередині ліпідного бішару NO може легко (константа швидкості реакції – $3 \times 10^9 M^{-1} s^{-1}$) реагувати з ліпідними пероксидними радикалами [230].

Примітно, що введення білим щурам субстрату NOS L-аргініну під час відтворення МС не виявляє істотних змін стану процесів ПОЛ та антиоксидантного потенціалу, активності АО ферментів (СОД і каталази).

Одержані нами результати підтверджують істотну роль пероксинітриду в механізмах активації ПОЛ та пригнічення АО системи у тканинах СЗ за умов експериментального МС.

Так, введення білим щурам скевенджеру L-селенометіоніну за умов відтворення МС знижує у тканинах піднижньощелепних СЗ активність ПОЛ і підвищує стан АО захисту, що підтверджується зменшенням концентрації ТБК-активних сполук та їх приросту за час півторогодинної інкубації у прооксидатному буферному розчині, збільшенням активності СОД і каталази.

Це вказує на той факт, що підвищення у тканинах СЗ ВРО та порушення антиоксидантної системи за умов експериментального МС є пероксинітрид-залежними процесами.

Пероксинітрит здатний окиснювати NH- і SH-групи білків, ДНК, викликає інактивацію низки ферментів (α_1 -інгібітора протеїназ, тканинного інгібітора металопротеїназ та ін.), пригнічує активність Cu-Zn-СОД і Mn-СОД шляхом нітрування тирозинового залишку, а також через зв'язування з міддю і зміною її валентності [269,289].

У присутності пероксинітриту утворюються радикали глутатіону, внаслідок чого останній перетворюється з антиоксиданту в прооксидант, який ініціює процеси ПОЛ [186].

На прикладі запалення та інтоксикацій показано, що розвиток оксидативного та нітрозативного стресу, пов'язаного з утворенням пероксинітриту, порушення на тлі цього процесів енергетичного обміну у тканинах СЗ з подальшим їх вільнорадикальним та гіпоксичним некробіозом, ініціація програми апоптотичної загибелі клітин закономірно призводять до порушення біосинтезу нуклеїнових кислот та білка з порушенням функції СЗ [52].

Дійсно, за нашими даними, введення щурам L-селенометіоніну за умов моделювання МС підвищує у тканинах піднижньощелепних СЗ активність α -амілази, що відбиває значне покращення їхньої білоксинтезуючої функції.

На підставі результатів власних досліджень та даних літератури [132,246,269] можна відмітити основні механізми патогенної дії пероксинітриту на тканини СЗ:

- 1) порушення функції важливих білкових молекул (у т.ч. АО ферментів);
- 2) посилення продукції АФК та пероксидного окиснення ліпідів;
- 3) посилення протеолізу білків;
- 4) порушення фосфорилування тирозину, внутрішньо- та міжклітинних сигнальних процесів;

5) ініціація автоімунних реакцій до гаптенів, що виникають у ході нітрування білків.

Виявлене нами NF-κB-опосередковане підвищення продукції у тканинах СЗ АФК за умов експериментального МС дає підстави припустити подальшу інтенсифікацію процесів ПОЛ з порушенням функції СЗ.

Так, за нашими даними, введення білим щурам як інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23, так і метформіну гідрохлориду, за умов відтворення МС знижує у тканинах піднижньощелепних СЗ утворення вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-активних сполук) без істотних змін антиоксидантного потенціалу та активності антиоксидантних ферментів (СОД і каталази);

Відсутність істотного впливу інгібіторів активації NF-κB на вказані ферменти, очевидно пов'язана з неоднозначним впливом NF-κB-сигналізації на про- та антиоксидантні механізми. З одного боку, активація NF-κB включає експресію генів iNOS, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-18, TNF-α, TNF-β, що інтенсифікують вироблення АФК та вільнорадикальні реакції, а, з іншого боку, забезпечує експресію генів, що утворюють антиоксидантні ферменти (у т.ч. СОД) [65,239, 262].

Обмеження вільнорадикального некробіозу дозволяє прогнозувати покращення функціонального стану СЗ за умов МС при застосуванні інгібіторів активації NF-κB. Дійсно, призначення білим щурам JSH-23 за умов експерименту істотно покращує білоксинтезуючу функцію СЗ, що виявляється у підвищенні у тканинах піднижньощелепних СЗ активності α-амілази. У той же час, введення метформіну гідрохлориду суттєво не позначається на стані білоксинтезуючої функції піднижньощелепних СЗ при моделюванні МС.

Відомо, що JSH-23 порушує процес транслокації NF-κB у ядро [191], де він зв'язується з відповідними ДНК-послідовностями і впливає

на транскрипцію багатьох генів, відповідальних за синтез молекулярних структур, які беруть участь у розвитку запального процесу. Можливість NF-κB-залежної активації металопротеїназ екстрацелюлярного матриксу та пов'язаних з цим протеолітичних процесів у СЗ також становить небезпеку порушення процесів біосинтезу білка у цих залозах.

Таким чином, підбиваючи підсумки дослідження механізмів ушкодження СЗ за умов експериментального МС, можна констатувати наявність таких важливих ланок патогенезу: посилення у тканинах СЗ вироблення АФК НАДН-залежним (мітохондріальним) і НАДФН-залежними (мікросомальним і NOS) ЕТЛ, активацію ПОЛ, зниження АО потенціалу, порушення білоксинтезуючої функції піднижньощелепних СЗ. У механізмах цих розладів чинне місце займають дизрегуляторні зміни у тканинах СЗ окисного (NO-синтазного) й неокисного (аргіназного) шляхів метаболізму L-аргініну, порушення балансу конститутивної (нейрональної) та індукцибельної NOS, пероксинітрит-залежні та NF-κB-залежні порушення.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведене теоретичне узагальнення і розв'язання наукової задачі, що полягає у визначенні ролі компонентів системи оксиду азоту (різних ізоформ NO-синтази, її субстрату, пероксинітриту) та транскрипційного ядерного фактора κВ у патогенезі функціонально-метаболических порушень піднижньощелепних СЗ щурів за умов відтворення експериментального метаболического синдрому.

1. Відтворення метаболического синдрому призводить у тканинах піднижньощелепних СЗ до реципрокних змін окисного (NO-синтазного) й неокисного (аргіназного) шляхів метаболізму L-аргініну: посилення сумарної активності NOS (у 2.07 рази, $p < 0.001$) і вмісту продуктів окиснення NO – нітрит-йонів (у 1.33 рази, $p < 0.05$), з одного боку, та зменшення активності орнітиндекарбоксилази (на 25.5%, $p < 0.01$), з іншого.

2. Відтворення метаболического синдрому супроводжується у тканинах піднижньощелепних СЗ посиленням загального фону продукції $\cdot O_2^-$ (на 42.7%, $p < 0.02$) та його генерації мітохондріальним (на 53.2%, $p < 0.001$) і НАДФН – залежними ЕТЛ (мікросомальним і NOS, на 48.8%, $p < 0.001$), активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів, зниженням антиоксидантного потенціалу, активності супероксид-дисмутази (на 37.5%, $p < 0.02$) та каталази (на 35.5%, $p < 0.01$), порушеннями білоксинтезуючої функції цих залоз.

3. За умов моделювання МС активність сумарної NOS у тканинах СЗ підвищується, головним чином, за рахунок iNOS. Пригнічення iNOS супроводжується у піднижньощелепних СЗ активацією конкуруючого аргіназного шляху метаболізму L-аргініну, що виявляється у збільшенні активності орнітиндекарбоксилази (на 28.2%, $p < 0.01$).

4. Функціональна активність nNOS за умов експериментального МС зменшує у тканинах піднижньощелепних СЗ продукцію супероксидного аніон-радикала НАДФН- і НАДН-залежним ЕТЛ, обмежує активацію пероксидного окиснення ліпідів, але знижує активність каталази та істотно не позначається на стані антиоксидантного потенціалу. Функціонування nNOS за умов відтворення МС сприяє збільшенню активності α -амілази у тканинах піднижньощелепних СЗ, що вказує на роль nNOS у забезпеченні їхньої білоксинтезуючої функції.

5. Функціональна активність iNOS за умов експериментального МС збільшує у тканинах піднижньощелепних СЗ продукцію супероксидного аніон-радикала НАДФН- і НАДН-залежним ЕТЛ, призводить до активації у них декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів, що супроводжується виснаженням антиоксидантного потенціалу, зменшенням активності СОД і каталази, порушенням білоксинтезуючої функції цих залоз.

6. Введення білим щурам екзогенного L-аргініну під час відтворення МС не супроводжується феноменом «аргінінового парадоксу» при оцінці активності NOS у тканинах піднижньощелепних СЗ, але оптимізує функціонування неокисного (аргіназного) шляху метаболізму цієї амінокислоти, знижує продукцію у тканинах СЗ супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами (на 15.0%, $p < 0.01$) без істотних змін стану процесів пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного потенціалу.

7. Дисбаланс NOS та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну та активація вільнорадикальних реакцій у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов експериментального МС є пероксинітрит-залежними процесами. Введення білим щурам скевенджеру пероксинітриту L-

селенометіоніну за цих умов знижує у тканинах СЗ активність NOS (на 27.4%, $p < 0.01$) і концентрацію нітрит-йонів (40.3%, $p < 0.01$), підвищує активність ферменту аргіназного шляху метаболізму L-аргініну – орнітиндекарбоксилази (на 25.6%, $p < 0.05$), знижує продукцію супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними (на 6.1%, $p < 0.05$) і НАДН-залежним (на 10.3%, $p < 0.001$) електронно-транспортними ланцюгами, обмежує активність пероксидного окиснення ліпідів і підвищує стан антиоксидантного захисту та білоксинтезуючої функції СЗ.

8. Введення інгібіторів активації NF- κ B JSH-23 та метформіну гідрохлориду під час відтворення МС знижує сумарну активність NOS (відповідно на 35.5%, $p < 0.001$, та 20.2%, $p < 0.05$) і концентрацію продуктів окиснення NO – нітрит-йонів (на 36.2%, $p < 0.01$). у тканинах піднижньощелепних СЗ, пригнічує у них продукцію супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними (на 22.8%, $p < 0.001$, та 20.5%, $p < 0.001$) і НАДН-залежним (на 26.9%, $p < 0.001$, та 25.4%, $p < 0.001$) електронно-транспортними ланцюгами, обмежує утворення вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-активних сполук – на 14.1%, $p < 0.001$, та 9.1%, $p < 0.05$) без істотних змін антиоксидантного потенціалу. Призначення інгібітора ядерної транслокації NF- κ B JSH-23 за умов експерименту покращує білоксинтезуючу функцію піднижньощелепних СЗ, що не є характерним при застосуванні метформіну гідрохлориду.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Одержані результати обґрунтовують доцільність клінічного дослідження ефективності застосування засобів, що впливають на активність ізоформ NO-синтаз і NF-κB-сигналізації, з метою попередження та корекції пошкодження СЗ за умов метаболічного синдрому.

2. На підставі проведених досліджень доцільно рекомендувати призначення L-селенометіоніну та інгібіторів активації NF-κB як перспективних засобів корекції функціонально-метаболічного стану СЗ за умов МС.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Авдиенко О.В. Клиника, диагностика и комплексное лечение больных различными формами сиалоаденоза : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14.00.21 «Стоматология» / О.В. Авдиенко. – М., 2008. – 22 с.
2. Аветіков Д.С. Зміни активності α -амілази в тканинах слинних залоз на фоні хронічної нітратної інтоксикації / Д.С. Аветіков, В.Д. Ахмеров, В.В. Бондаренко [та ін.] // Вісн. пробл. біол. і мед. – 2014. – Вип. 2, Ч. 1. – С. 25-28.
3. Акопова О.В. Влияние оксида азота in vivo на метаболизм АФК и АФА в митохондриях сердца крыс / О.В. Акопова, А.В. Коцюруба, Ю.П. Коркач [и др.] // Дисфункция эндотелия. – Витебск, 2010. – С. 3-7.
4. Анализ циклических процессов с участием оксида азота в организмах и молекулярного азота в биосфере с позиций голографического принципа и принципа цикличности / [В.П. Реутов, А.И. Гоженко, Б.А. Насибуллин и др.]. – Одесса, 2003. – 66 с.
5. Арутюнян С.Э. Заболевания слюнных желёз у больных с метаболическим синдромом : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14.01.14 «Стоматология» / С.Э. Арутюнян. – М., 2012. – 25 с.
6. Асиятилов А.Х. Особенности клинического проявления заболеваний слюнных желез у лиц, страдающих эндокринными заболеваниями / А.Х. Асиятилов, Х.А. Ордашев // Сборник работ. – М. : МГМСУ, 1998. – Ч. 1. – С. 138-140.
7. Афанасьев В.В. Атлас заболеваний и повреждений слюнных желез : [учебное пособие] / В.В. Афанасьев, М.Р. Абдусаламов. – М. : ВУНМЦ Росздрава, 2008. – 191 с.

8. Афанасьев В.В. Использование инфузионной терапии для лечения больных сиаладенитом и сиаладенозом / В.В. Афанасьев, О.В. Авдиенко // Стоматология. – 2006. – Т. 85, № 4. – С. 30-32.

9. Афанасьев В.В. Классификация заболеваний и повреждений слюнных желез / В.В. Афанасьев // Стоматология. – 2010. – Т. 89, № 1. – С. 63-65.

10. Афанасьев В.В. Реактивно-дистрофические процессы слюнных желез (сиалоаденозы), протекающие на фоне метаболического синдрома / В.В. Афанасьев, Р.И. Стрюк, С.Э. Арутюнян [и др.] // Стоматология. – 2011. – Т. 90, № 4. – С. 49-53.

11. Афанасьев В.В. Слюнные железы. Болезни и травмы : [рук-во для врачей] / В.В. Афанасьев. – М. : Гэотар-Медиа, 2012. – 296 с.

12. Афанасьев В.В. Состояние слюнных желез у больных с метаболическим синдромом / В.В. Афанасьев, Р.И. Стрюк, С.Э. Арутюнян [и др.] // Росс. стоматол. журн. – 2011. – № 3. – С. 17-19.

13. Беда Н.В. NO-зависимые модификации нуклеиновых кислот / Н.В. Беда, А.А. Недоснасов // Биоорг. хим. – 2007. – Т. 33, № 2. – С. 195-228.

14. Беленичев И.Ф. Механизмы формирования ишемической нейродеструкции: соотношение оксида азота и тиол-дисульфидной системы как фактор, определяющий тип гибели нейрона / И.Ф. Беленичев, С.В. Павлов, Н.В. Бухтиярова // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. – 2010. – Т. 6, № 2. – С. 20-27.

15. Братусь В.В. Метаболический синдром: природа и механизмы развития / В.В. Братусь, В.А. Шумаков, Т.В. Талаева // Журн. АМН України. – 2004. – Т. 10, № 4. – С. 646-670.

16. Брусов О.С. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина / О.С. Брусов, А.М. Герасимов, Л.Ф. Панченко // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1976. – № 1. – С. 33-35.

17. Вавилова Т.П. Биохимия тканей и жидкостей полости рта / Вавилова Т.П. – [2-е изд., испр. и доп.]. – М. : Гэотар-Медия, 2008. – 208 с.

18. Волобуєва О.В. Механізми патогенного впливу надлишкової кількості оксиду азоту на енергетичний метаболізм в тканинах слинних залоз / О.В. Волобуєва, А.І. Березнякова // X читання ім. В.В. Підвисоцького : бюл., 26-27 травня 2011 р. – Одеса, 2011. – С. 34-35.

19. Гишинский М.А. Асимметричный диметиларгинин: метаболизм, аргининовый парадокс, патофизиология / М.А. Гишинский // Усп. физиол. наук. – 2007. – Т. 38, № 3. – С. 21-39.

20. Гланц С. Медико-биологическая статистика : пер. з англ. / Гланц С. – М. : Практика, 1999. – 459 с.

21. Гордієнко Л.П. Стан антиоксидантної системи у слинних залозах щурів за умов висококалорійної дієти / Л.П. Гордієнко, К.С. Непорада // Актуальні питання експериментальної та клінічної патофізіології : мат. VI Пленуму наук. тов. патофізіологів України та наук.-практ. конф. за участю міжнародних спеціалістів, Вінниця, 23-25 вересня 2014 р. – Вінниця, 2014. – С. 14-15.

22. Горен А.К.Ф. Универсальная и комплексная энзимология синтазы оксида азота / А.К.Ф. Горен, Б. Майер ; пер. с англ. // Биохимия. – 1998. – Т. 63, Вып. 7. – С. 870-880.

23. Губкин А.А. Динитрозильные комплексы железа, S-нитрозотиолы и коэнзим Q как антиоксиданты в системах, моделирующих окислительный стресс : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. физ.-мат. наук: спец. 03.00.02 “Биофизика” / А.А. Губкин. – М., 2006. – 23 с.

24. Гудков Л.Л. Антиоксидантное и прооксидантное действие доноров и метаболитов оксида азота / Л.Л. Гудков, К.Б. Шумаев, Е.И. Каленжова [и др.] // Биофизика. – 2007. – Т. 52, № 3. – С. 503-509.

25. Гусев Е.Ю. Системное воспаление: теоретические и методологические подходы к описанию модели общепатологического процесса. Часть 1. Общая характеристика процесса / Е.Ю. Гусев, В.А. Черешнев // Патол. физиол. и эксперим. тер. – 2012. – № 4. – С. 3-14.

26. Дадали В.А. 4-Гидрокси-транс-2-ноненаль в функциональной активности клеток / В.А. Дадали, Е.Е. Дубинина // Биохимия. – 2010. – Т. 75, № 9. – С. 1189-1212.

27. Деримедвідь Л.В. Ефективність використання антиоксиданта рексод при експериментальному метаболічному синдромі / Л.В. Деримедвідь, І.П. Бухтіярова, Т.В. Горбач // Експерим. і клін. мед. – 2011. – № 3. – С. 30-35.

28. Дмитренко Н.П. Роль взаимодействия путей метаболизма формальдегида и оксида азота в механизме их токсического действия. Токсическое действие оксида азота / Н.П. Дмитренко, А. Холиан // Укр. біохім. журн. – 2005. – Т. 77, № 5. – С. 5-23.

29. Дмитриев Л.Ф. Синтез АТФ в митохондриях печени можно ингибировать и стимулировать, генерируя супероксид с помощью УФ облучения / Л.Ф. Дмитриев, М.В. Иванова, И.И. Иванов // Биол. мембраны. – 1990. – Т. 7, № 9. – С. 961-965.

30. Долинная Н.Г. Низкомолекулярные ингибиторы различных компонентов сигнального каскада фактора транскрипции NF-κB / Н.Г. Долинная, Е.А. Кубарева, Е.В. Казанова [и др.] // Усп. химии. – 2008. – Т. 77, № 11. – С. 1036-1052.

31. Дробінська О. Вплив L-аргініну на ураження в слизовій оболонці шлунка, спричинені серотоніном / О. Дробінська, Л. Остапченко, О. Цирюк [та ін.] // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2004. – Вип. 38. – С. 201-204.

32. Дудченко М.А. Метаболическая болезнь – синдром. Хирургические и консервативные аспекты. – Полтава : ОАО «Изд-во «Полтава», 2009. – 192 с.

33. Заболевания и повреждения слюнных желез / И.Ф. Ромачева, Л.А. Юдин, В.В. Афанасьев, А.Н. Морозов. – М. : Медицина, 1987. – 238 с.

34. Заболевания слюнных желез : монография / А.М. Солнцев, В.С. Колесов, Н.А. Колесова. – К. : Здоров'я, 1991. – 310 с.

35. Загайко А.Л. Метаболічний синдром: механізми розвитку та перспективи антиоксидантної терапії / А.Л. Загайко, Л.М. Вороніна, К.В. Стрельченко. – Харків : Вид-во “Золоті сторінки”, 2007. – 216 с.

36. Зайчик А.Ш. Патофизиология. Ч.І. Общая патофизиология (с основами иммунопатологии) : учебн. [для студ. мед. вузов] / А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов. – [4-е изд.]. – СПб. : Элби, 2008. – 656 с.

37. Залевська В.А. Біохімічне дослідження ефективності патогенетичної терапії травматичного сіалоаденіту у щурів в експерименті / В.А. Залевська // Досягнення біол. та мед. – 2008. – № 1. – С. 11-16.

38. Залевська В.А. Особливості лікування та протезування хворих, які страждають на посттравматичний сіалоаденіт (клініко-експериментальне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.01.22 “Стоматологія” / В.А. Залевська. – Одеса, 2010. – 20 с.

39. Зенков Н.К. NO-синтазы в норме и при патологии различного генеза / Н.К. Зенков, Е.Б. Меньщикова, В.П. Реутов // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 30-34.

40. Кайдашев И.П. Активация ядерного фактора κВ как молекулярной основы патогенеза метаболического синдрома /

И.П. Кайдашев // Патол. физиол. и эксперим. тер. – 2013. – № 3. – С. 65-72.

41. Кайдашев И.П. Изменение образа жизни, нарушение энергетического метаболизма и системное воспаление как факторы развития болезней цивилизации / И.П. Кайдашев // Укр. мед. часопис. – 2013. – № 5. – С. 103-108.

42. Кайдашев И.П. Роль NFκB в функционировании отдельных тканей, развитии и синтропии заболеваний основных систем организма / И.П. Кайдашев // Журн. НАМН України. – 2012. – Т. 18, № 2. – С. 186-198.

43. Кайдашев И.П. Эволюция понятия «метаболический синдром» и его современное значение / И.П. Кайдашев // Укр. мед. часопис. – 2012. – № 2. – С. 157-160.

44. Кайдашев І.П. Активация NF-κB при метаболічному синдромі / І.П. Кайдашев // Фізіол. журн. – 2012. – Т. 58, № 1. – С. 93-101.

45. Кишко Т.О. Аргинин: биологическое действие, влияние на синтез оксида азота / Т.О. Кишко, С.Г. Шандренко, Н.П. Дмитренко // Журн. АМН України. – 2008. – Т. 14, № 1. – С. 150-158.

46. Клименко М.О. Асоційоване та безмовне запалення / Клименко М.О. // Актуальні питання експериментальної та клінічної патофізіології : мат. VI Пленуму наук. тов. патофізіологів України та наук.-практ. конф. за участю міжнародних спеціалістів, Вінниця, 23-25 вересня 2014 р. – Вінниця, 2014. – С. 25.

47. Коваленко О.В. Морфофункціональні зміни піднижньощелепної залози щурів за умов відтворення хронічного травматичного сіалоаденіту та введення L-селенометіоніну / О.В. Коваленко, Г.А. Єрошенко, В.О. Костенко // Світ мед. та біол. – 2012. – № 1. – С. 63-67.

48. Коваленко О.В. Участь NO-синтаз і пероксинітриту в патогенезі експериментального травматичного сіалоаденіту : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04 “Патологічна фізіологія” / О.В. Коваленко. – Харків, 2012. – 20 с.

49. Коваленко О.В. NO-залежні зміни процесів пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення травматичного сіалоаденіту / О.В. Коваленко, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2011. – Т. 11, № 4, Ч. 2. – С. 153-157.

50. Костенко В.О. Механізми ауторегуляції утворення оксиду азоту в організмі ссавців та їх порушення при розвитку патологічних процесів / В.О. Костенко, Н.В. Соловйова, О.В. Коваленко [та ін.] // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2011. – Т. 11, № 3. – С. 150-154.

51. Костенко В.А. Не только концентрация, но и происхождение оксида азота определяет его патогенетическую или саногенетическую роль / [В.А. Костенко, И.В. Батухина, А.А. Левков и др.] // Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів : V Національний конгрес патофізіологів України // Патологія. – 2008. – Т. 5, № 2. – С. 58.

52. Костенко В.О. Роль слинних залоз у механізмах ауторегуляції рівня оксиду азоту в організмі ссавців та їх порушень / В.О. Костенко, А.М. Єлінська, Л.І. Ляшенко [та ін.] // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2013. – Т. 13, № 2. – С. 10-14.

53. Коцюруба А.В. Вікові особливості змін аргіназо-NO-синтазної системи в серці щурів в умовах адаптації до тривалих фізичних

навантажень плаванням / А.В. Коцюруба, Ю.П. Коркач, С.О. Таланов [та ін.] // Фізіол. журн. – 2012. – Т. 58, № 1. – С. 27-35.

54. Дизрегуляционная патология : [рук-во для врачей и биологов] / под ред. Г.Н. Крыжановского. – М. : Медицина, 2002. – 632 с.

55. Куровська В.О. Роль оксиду азоту в ішемічних і ішемічно-реперфузійних ушкодженнях головного мозку / В.О. Куровська, В.П. Пішак, С.С. Ткачук // Буковинськ. мед. вісн. – 2008. – Т. 12, № 4. – С. 143-149.

56. Лабораторные методы исследования в клинике / [В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотиницкая и др.] – М. : Медицина, 1987. – 368 с.

57. Лавренко А.В. Влияние метформина на продукцию провоспалительных цитокинов и инсулинорезистентность (NF-κB-сигнальный путь) / А.В. Лавренко, Н.Л. Куценко, Л.А. Куценко [и др.] // Пробл. эндокринол. – 2012. – № 2. – С. 25-28.

58. Лоскутова Т.В. Комплексная диагностика и оценка результатов лечения заболеваний слюнных желез у больных сахарным диабетом : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14.00.21 «Стоматология» / Т.В. Лоскутова. – Пермь, 2006. – 20 с.

59. Лукьянова Л.Д. Регуляторная роль митохондриальной дисфункции при гипоксии и ее взаимодействие с транскрипционной активностью / Л.Д. Лукьянова, А.М. Дудченко, Т.А. Цыбина [и др.] // Вестн. РАМН. – 2007. – № 2. – С. 3-13.

60. Львова О.А. К вопросу о роли оксида азота в норме и при патологии нервной системы // О.А. Львова, А.Е. Орлова, В.В. Гусев [и др.] // Системная интеграция в здравоохранении. – 2010. – № 4. – С. 20-35.

61. Ляшенко Л.І. Роль NO-синтаз у механізмах порушень вільнорадикальних процесів у тканинах пародонта і слинних залоз щурів

за умов експериментального метаболічного синдрому / Л.І. Ляшенко, А.М. Єлінська, В.В. Талаш, В.О. Костенко // Світ мед. та біол.– 2014. – № 2. – С. 139-142.

62. Ляшенко Л.І. Роль транскрипційного ядерного фактора κВ у механізмах порушень вільнорадикальних процесів і дезорганізації сполучної тканини пародонта за умов експериментального метаболічного синдрому / Л.І. Ляшенко, С.В. Денисенко, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2014. – Т. 14, № 1. – С. 97-100.

63. Ляшенко Л.І. NF-κВ-опосередкований вплив NO-синтаз на вільнорадикальні процеси у тканинах пародонта за умов експериментального метаболічного синдрому / Л.І. Ляшенко, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2014. – Т. 14, № 2. – С. 140-143.

64. Мазуров В.И. Эндотелиальная дисфункция при метаболическом синдроме / В.И. Мазуров, В.А. Якушева // Эфферентная терапия. – 2006. – Т. 12, № 3. – С. 19-25.

65. Маянский А.Н. Нуклеарный фактор-κВ и воспаление / А.Н. Маянский, Н.А. Маянский, М.И. Заславская // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6, № 2. – С. 3-9.

66. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков [и др.]. – М. : Слово, 2006. – 556 с.

67. Меньщикова Е.Б. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях / Е.Б. Меньщикова, Н.К. Зенков, В.П. Реутов // Биохимия. – 2000. – Т. 65, № 4. – С. 485-503.

68. Метелев В.Г. Регулирование активности фактора транскрипции NF-κВ с помощью синтетических олигонуклеотидов / В.Г. Метелев,

Е.А. Кубарева, Т.С. Орецкая // Биохимия. – 2013. – Т. 78, № 8. – С. 1108-1121.

69. Методы исследования в профпатологии / под ред. О.Г.Архиповой. – М. : Медицина, 1988. – 208 с.

70. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / [Л.В. Беркало, О.В. Бобович, Н.О. Боброва та ін.] ; за ред. І.П. Кайдашева. – Полтава, 2003. – 320 с.

71. Милютина Н.П. Антирадикальный и антиоксидантный эффект аргинина и его влияние на активность перекисного окисления липидов при гипоксии / Н.П. Милютина, А.А. Ананян, В.С. Шугалей // Бюл. эксп. биол. и мед. – 1990. – Т. 60, № 3.– С. 263–265.

72. Мячина О.В. Особенности секреции оксида азота в слюнных железах у человека в норме и при патологии / О.В. Мячина, А.А. Зуйкова, А.Н. Пашков [и др.] // Вестн. ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2006. – № 1. – С. 137- 140.

73. Осипов А.Н. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротейнов / А.Н. Осипов, Г.Г. Борисенко, Ю.А. Владимиров // Усп. биол. хим. – 2007. – Т. 47. – С. 259-292.

74. Пат. 93517 Україна, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання метаболічного синдрому / І.П. Кайдашев, В.О. Костенко, В.В. Талаш, А.М. Єлінська, Л.І. Ляшенко, Н.В. Соловйова ; № и 2014 02769 ; заявл. 19.03.2014, опубл. 10.10.2014, Бюл. № 19.

75. Поберезкина Н.Б. Биологическая роль супероксиддисмутазы / Н.Б. Поберезкина, Л.Ф. Осинская // Укр. биохим. журн. – 1989. – Т. 61, № 2. – С. 14-23.

76. Проблема оксида азота в биологии и медицине и принцип цикличности: Ретроспективный анализ идей, принципов и концепций / [В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, Н.С. Косицын и др.]. – М. : Едиториал УРСС, 2003. – 96 с.

77. Проблема оксида азота в неврологии / [В.А. Малахов, А.Н. Завгородняя, В.С. Лычко и др.]. – Сумы : Изд-во СумГПУ им. А.С. Макаренко, 2009. – 242 с.

78. Расин М.С. Метаболический синдром – болезнь хронического низкоинтенсивного системного воспаления? / М.С. Расин, А.В. Лавренко, О.А. Борзых [и др.] // Укр. терапевт. журн. – 2011. – № 4. – С. 56-62

79. Расин М.С. Метаболический синдром: Совокупность отдельных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний или болезнь хронического системного воспаления? / М.С. Расин, А.В. Лавренко, Н.Д. Герасименко [и др.] // Вісн. пробл. біол. і мед. – 2011. – № 2, Ч. 1. – С. 155-159.

80. Расин М.С. Роль ядерных транскрипционных факторов в синтропии современной внутренней патологии / М.С. Расин, И.П. Кайдашев // Укр. мед. часопис. – 2014. – № 1. – С. 17-21.

81. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М. : МедиаСфера, 2002. – 312 с.

82. Резников А.Г. Нейроэндокринные механизмы и экспериментальные модели ожирения (обзор литературы и собственных исследований) / А.Г. Резников // Журн. АМН України. – 2003. – Т. 9, № 3. – С. 423-437.

83. Реутов В.П. Биохимическое предопределение NO-синтазной и нитритредуктазной компонент цикла оксида азота / В.П. Реутов // Биохимия. – 1999. – Т. 64, № 5. – С. 634-651.

84. Реутов В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала / В.П. Реутов // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 35-41.

85. Реутов В.П. Проблемы оксида азота и цикличности в биологии и медицине / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, Н.С. Косицын // Усп. совр. биол. – 2005. – Т. 125, № 1. – С. 41-65.

86. Реутов В.П. Цикл оксида азота в организме млекопитающих и принцип цикличности / В.П. Реутов // Биохимия. – 2002. – Т. 67, № 3. – С. 353-376.

87. Реутов В.П. Цикл оксида азота как механизм стабилизации содержания NO и продуктов его превращения в организме млекопитающих / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, А.И. Гоженко [и др.] // Актуал. пробл. трансп. мед. – 2008. – № 1 (11). – С. 22-28.

88. Романенко О.Г. Роль метаболітів оксиду азоту в патогенезі запальних захворювань тканин порожнини рота і шлунково-кишкового тракту / О.Г. Романенко, І.В. Ковач, О.І. Руденко, І.А. Кленіна // Вісн. пробл. біол. і мед. – 2010. – № 3. – С. 37-41.

89. Сагач В.Ф. Інгібітори аргіназного шляху метаболізму L-аргініну як новий клас антигіпертензивних сполук: дія карбаміду на окисний метаболізм ліпідів і судинний тонус при артеріальній гіпертензії / В.Ф. Сагач, А.В. Коцюруба, О.В. Базілюк [та ін.] // Фізіол. журн. – 2001. – Т. 47, № 5. – С. 3-11.

90. Сагач В.Ф. Порушення ендотелій-залежних реакцій аргіназного та NO-синтазного шляхів обміну L-аргініну при артеріальній гіпертензії / В.Ф. Сагач, О.В. Базілюк, А.В. Коцюруба, О.М. Буханевич // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 3. – С. 3-13.

91. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / [В.К. Казимирко, В.И. Мальцев, В.Ю. Бутылин, Н.И. Горобец]. – К. : Морион, 2004. – 160 с.

92. Синяченко О.В. Оксид азота в терапевтической практике / О.В. Синяченко, Т.В. Звягина – Донецк, 2001. – 258 с.

93. Слюнные железы. Биохимия, физиология, клинические аспекты / [Л.М. Тарасенко, Г.А. Суханова, В.П. Мищенко, К.С. Непорада.]. – Томск : Изд-во НТЛ, 2002. – 124 с.

94. Стасюк О.А. Вплив скевенджерів пероксинітриту на окиснювальні процеси у тканинах слинних залоз білих щурів за умов спільного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію / О.А. Стасюк, В.О. Костенко // Пробл. екол. та мед. – 2012. – Т.16, № 5-6. – С. 30-33.

95. Стасюк О.А. Роль ізоформ NO-синтази у механізмах порушень вільнорадикальних процесів у слинних залозах щурів за умов спільного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію / О.А. Стасюк, В.О. Костенко // Світ мед. та біол. – 2012.– № 4. – С. 101-104.

96. Стасюк О.А. NO-залежні механізми порушень окиснювального метаболізму у слинних залозах щурів за умов спільного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04 “Патологічна фізіологія” / О.А. Стасюк О.А. – Луганськ, 2013. – 20 с.

97. Степанов Ю.М. Аргинин в медицинской практике / Ю.М. Степанов, И.Н. Кононов, А.И. Журбина, А.Ю. Филиппова // Журн. АМН України. – 2004. – Т. 10, № 1. – С. 340-352.

98. Тарасенко К.В. Експериментальне моделювання інсулінорезистентності / К.В. Тарасенко // Світ мед. та біол. – 2011. – № 4. – С. 142-144.

99. Титов В.Н. Теория гуморальной патологии К. Рокитанского, целлюлярная патология Р. Вирхова и новая филогенетическая теория становления болезни. Этиология и патогенез "метаболических пандемий" / В.Н. Титов // Клин. мед. – 2013. – Т. 91, № 4. – С. 4-11.

100. Титов В.Н. Филогенез, становление переноса и поглощения клетками жирных кислот, биологической функции локомоции и

действия инсулина. Патогенез синдрома резистентности к инсулину / В.Н. Титов // Клин. лаб. диагн. – 2010. – № 6. – С. 3-17.

101. Титов В.Н. Филогенетическая теория становления болезни, теория патологии. Патогенез "метаболических пандемий" и роль клинической биохимии / В.Н. Титов // Клин. лаб. диагн. – 2012. – № 10. – С.5-14.

102. Тюренков И.Н. Изучение «L-аргининового парадокса» для оценки эндотелиальной функции в норме и патологии / И.Н. Тюренков., А.В. Воронков, А.И. Робертус // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2008. – № 3. – С. 54-57.

103. Фартушна А.М. Вплив скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну на стан окиснювальних і відновлювальних процесів у тканинах ясен білих щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію / А.М. Фартушна, В.О. Костенко // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2012. – Т.7, № 1. – С. 111-116.

104. Храмов В.А. К вопросу об обмене нитратов в организме: нитратредуктазная активность слюны человека / В.А. Храмов // Экологические проблемы накопления нитратов и нитритов в окружающей среде : всесоюзн. конф. : тез. докл. – Пущино, 1989. – С. 134-135.

105. Храмов В.А. Простой метод определения активности орнитиндекарбоксилазы в смешанной слюне человека / В.А. Храмов // Клин. лаб. диагностика. – 1997. – № 4. – С. 14-15.

106. Цебржинский О.И. Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом / О.И. Цебржинский // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2002. – Т. 2, № 1. – С. 96-97.

107. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / [В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, В.Е. Охотин и др.]. – М. : Наука, 1998. – 159 с.

108. Чайковська І.В. Роль порушень метаболізму оксид азоту в патогенезі хронічного генералізованого пародонтиту / І.В. Чайковська // Арх. клін. та експерим. мед. – 2008. – Т. 17, № 2. – С. 226-228.

109. Черешнев В.А. Иммунологические и патофизиологические механизмы системного воспаления / В.А. Черешнев, Е.Ю. Гусев // Мед. иммунол. – 2012. – № 1-2. – С. 9-20.

110. Чеснокова Н.П. Общая характеристика источников образования свободных радикалов и антиоксидантных систем / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Усп. совр. естествозн. – 2006. – № 7. – С. 37-41.

111. Шумаев К.Б. Антиоксидантные и прооксидантные свойства метаболитов оксида азота / К.Б. Шумаев, С.А. Губкина, А.А. Губкин [и др.] // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии : XIV Международная конференция и дискуссионный научный клуб : мат. конф. Т. 8. – Ялта – Гурзуф, 2006. – С. 416-417.

112. Щипский А.В. Сиаладеноз (сиалоз). Классификация, патогенез, клиника, дифференциальная диагностика и выбор схем лечения (клинико-экспериментальное исследование) : автореф. дис. на соискание ученой степени д-ра мед. наук : спец. 14.00.21 «Стоматология» / А.В. Щипский. – М., 2002. – 42 с.

113. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца / Под ред. А.А. Мойбенко, В.Е. Досенко, А.Н. Пархоменко. – К. : Наукова думка, 2008. – 520 с.

114. Alderton W.K. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition / W.K. Alderton, C.E. Cooper, R.G. Knowles // *Biochem J.* – 2001. – V. 357, Pt 3. – P. 593-615.

115. Alkaitis M.S. Recoupling the cardiac nitric oxide synthases: tetrahydrobiopterin synthesis and recycling / M.S. Alkaitis, M.J. Crabtree // *Curr Heart Fail Rep.* – 2012. – V. 9, № 3. – P. 200-210.

116. Almeida P.E. Differential TLR2 downstream signaling regulates lipid metabolism and cytokine production triggered by *Mycobacterium bovis* BCG infection / P.E. Almeida, N.R. Roque, K.G. Magalhães [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 2014. – V. 841, № 1. – P. 97-107.

117. Alp N.J. Regulation of endothelial nitric oxide synthase by tetrahydrobiopterin in vascular diseases / N.J. Alp, K.M. Channon // *Arterioscl Thromb Vase Biol.* – 2004. – V. 24. – P. 413-420.

118. Alvarez B. Peroxynitrite reactivity with amino acids and proteins / B. Alvarez, R. Radi // *Amino Acids.* – 2003. – V. 25. – P. 295-311.

119. Andriankaja O.M. Association between metabolic syndrome and periodontal disease / O.M. Andriankaja, S. Sreenivasa, R. Dunford [et al.] // *Aust Dent J.* – 2010. – V. 55. – P. 252-259.

120. Arias-Salvatierra D. Role of nitric oxide produced by iNOS through NF- κ B pathway in migration of cerebellar granule neurons induced by Lipopolysaccharide / D. Arias-Salvatierra, E.K. Silbergeld, L.C. Acosta-Saavedra [et al.] // *Cell Signal.* – 2011. – V. 23, № 2. – P. 425-435.

121. Augusto O. Nitrogen dioxide and carbonate radical anion: two emerging radicals in biology / O. Augusto, M.G. Bonini, A.M. Amanso [et al.] // *Free Radic Biol Med.* – 2002. – V. 32. – P. 841-859.

122. Bachetti T. Arginase pathway in human endothelial cells in pathophysiological conditions / T. Bachetti, L. Comini, G. Francolini [et al.] // *J Mol Cell Cardiol.* – 2004. – V. 37. – P. 515-523.

123. Beck P.L. Paradoxical roles of different nitric oxide synthase isoforms in colonic injury / P.L. Beck, R. Xavier, J. Wong [et al.] // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2004. – V. 286. – G. 137-147.

124. Bighetti B.B. Long-term dexamethasone treatment alters the histomorphology of acinar cells in rat parotid and submandibular glands / B.B. Bighetti, G.F. Assis, D.C. Vieira [et al.] // *Int J Exp Pathol.* – 2014. – V. 95, № 5. – P. 351-363.

125. Björne H.H. Nitrite in saliva increases gastric mucosal blood flow and mucus thickness / H.H. Björne, J. Petersson, M. Phillipson [et al.] // *J Clin Invest.* – 2004. – V. 113, № 1. – P. 106-114.

126. Bode-Boger S.M. The L-arginine paradox: Importance of the L-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio / S.M. Bode-Boger, F. Scalera, L.J. Ignarro // *Pharmacol Ther.* – 2007. – V. 114, № 3. – P. 295–306.

127. Böger R. The pharmacodynamics of L-arginine / R. Böger // *J Nutr.* – 2007. – V. 137, № 6, Suppl. 2. – P. 1650S–1655S.

128. Bowman J. Translational research: next generation salivary biomarker cardiovascular devices at point of care / J. Bowman, C. Miller, C. Campbell [et al.] [Electronic resource] // Association of Dental Research/American Association of Dental Research/Canadian Association of Dental Research 87th General Session and Exhibition; 2009 April 1-4, Miami Beach, FL. Available at.– Access mode : <http://iadr.confex.com/iadr/2009miami/webprogram/Paper120255.html>.

129. Brady T.C. Extracellular superoxide dismutase is upregulated with inducible nitric oxide synthase after NF-kappa B activation / T.C. Brady, L.Y. Chang, B.J. Day [et al.] // *Am J Physiol.* – 1997. – V. 273, № 5 (Pt 1). – P. L1002- L1006.

130. Brown G.C. Inhibition of mitochondrial respiratory complex I by nitric oxide, peroxynitrite and S-nitrosothiols / G.C. Brown, V. Borutaite // *Biochim Biophys Acta.* – 2004. – V. 1658. – P. 44-49.

131. Cai D. Inflammatory cause of metabolic syndrome via brain stress and NF- κ B / D. Cai, T. Liu // *Aging (Albany NY)*. – 2012. – V. 4, № 2. – P. 98-115.

132. Calcerrada P. Nitric oxide-derived oxidants with a focus on peroxynitrite: molecular targets, cellular responses and therapeutic implications / P. Calcerrada, G. Peluffo, R. Radi // *Curr Pharm Des.* – 2011. – V. 17, № 35. – P. 3905-3932.

133. Carda C. Structural differences between alcoholic and diabetic parotid sialosis / C. Carda, M. Carranza, A. Arriaga [et al.] // *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* – 2005. – V.10, № 4. – P. 309-314.

134. Carvalho-Filho M.A. S-nitrosation of the insulin receptor, insulin receptor substrate 1, and protein kinase B/Akt: a novel mechanism of insulin resistance / M.A. Carvalho-Filho, M. Ueno, S.M. Hirabara [et al.] // *Diabetes.* – 2005. – V. 54. – P. 959-967.

135. Catalán M.A. The salivary gland fluid secretion mechanism / M.A. Catalán, T. Nakamoto, J.E. Melvin // *J Med Invest.* – 2009. – V. 56. – P. 192-196.

136. Ceriello A. Acute hyperglycemia induces nitrotyrosine formation and apoptosis in perfused heart from rat / A. Ceriello, L. Quagliaro, M. D'Amico [et al.] // *Diabetes.* – 2002. – V. 51. – P. 1076-1082.

137. Charbonneau A. Inducible nitric oxide synthase induction underlies lipid-induced hepatic insulin resistance in mice: potential role of tyrosine nitration of insulin signaling proteins / A. Charbonneau, A. Marette // *Diabetes.* – 2010. – V. 59. – P. 861-871.

138. Coletta D.K. Effect of acute physiological hyperinsulinemia on gene expression in human skeletal muscle in vivo / D.K. Coletta, B. Balas, A.O. Chavez [et al.] // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2008. – V. 294, № 5. – P. E910-E917.

139. Dayal S. Protective vascular and cardiac effects of inducible nitric oxide synthase in mice with hyperhomocysteinemia / S. Dayal, I.O. Blokhin, R.A. Erger [et al.] // PLoS One. – 2014. – V. 9, № 9. – Publ. e107734.

140. De Alvaro C. Tumor necrosis factor alpha produces insulin resistance in skeletal muscle by activation of inhibitor kappa B kinase in a p38 mark-dependent manner / C. De Alvaro, T. Teruel, R. Hernandez [et al.] // J Biol Chem. – 2004. – V. 279. – P. 17070-17078.

141. De Arriba A. Metabolic syndrome and endothelial dysfunction in a population born small for gestational age relationship to growth and Gh therapy / A. de Arriba, M. Domínguez, J. Labarta [et al.] // *Pediatr Endocrinol Rev.* – 2013. – V. 10, № 3. – P. 297-307.

142. Deepa T. Saliva as a potential diagnostic tool / T. Deepa, N. Thirrunavukkarasu // *Indian J Med Sci.* – 2010. – V. 64, № 7. – P. 293-306.

143. De Fronzo R.A. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard lecture 2009 / R.A. De Fronzo // *Diabetologia.* – 2010. – V. 53. – P. 1270-1287.

144. Denicola A. Diffusion of peroxynitrite across erythrocyte membranes / A. Denicola, J.M. Souza, R. Radi // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1998. – V. 95. – P. 3566-3571.

145. Denver R.A. Salivary endothelin concentrations in the assessment of chronic heart failure / R.A. Denver, A. Tzanidis, P. Martin [et al.] // *Lancet.* – 2000. – V. 355. – P. 468-469.

146. Dijkstra G. Targeting nitric oxide in the gastrointestinal tract / G. Dijkstra, H. van Goor, P.L. Jansen, H. Moshage // *Curr Opin Investig Drugs.* – 2004. – V. 5, № 5. – P. 529-536.

147. Dillon M.C. Detection of homocysteine and C-reactive protein in the saliva of healthy adults: comparison with blood levels / M.C. Dillon, D.C. Opris, R. Kopanczyk [et al.] // *Biomark Insights.* – 2010. – V. 5. – P. 57-61.

148. Dioguardi F.S. To give or not to give? Lessons from the arginine paradox / F.S. Dioguardi // *J Nutrigenet Nutrigenomics*. – 2011. – V. 4, № 2. – P. 90-98.

149. Dolinnaya N.G. ChemInform Abstract: Low-molecular-weight inhibitors of NF- κ B signalling pathways / N.G. Dolinnaya, E.A. Kubareva, E.V. Kazanova [et al.] // *ChemInform*. – 2009. – V. 40, № 20. – DOI : 10.1002/chin.200920262.

150. Dröse S. Molecular mechanisms of superoxide production by the mitochondrial respiratory chain / S. Dröse, U. Brandt // *Adv Exp Med Biol*. – 2012. – V. 748. – P. 145-169.

151. Duncan C. Chemical generation of nitric oxide in the mouth from the enterosalivary circulation of dietary nitrate / C. Duncan, H. Dougall, P. Johnston [et al.] // *Nat Med*. – 1995. – V. 1. – P. 546-551.

152. Durante W. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function / W. Durante, F.K. Johnson, R.A. Johnson // *Clin Exp Pharmacol Physiol*. – 2007. – V. 34, № 9. – P. 906-911.

153. Elizalde M. Expression of nitric oxide synthases in subcutaneous adipose tissue of nonobese and obese humans / M. Elizalde, M. Ryden, V. van Harmelen [et al.] // *J Lipid Res*. – 2000. – V. 41. – P. 1244-1251.

154. El-Remessy A.B. Peroxynitrite mediates diabetes-induced endothelial dysfunction: possible role of Rho kinase activation / A.B. El-Remessy, H.E. Tawfik, S. Matragoon [et al.] // *Exp Diabetes Res*. – 2010. – V. 2010. Publ. 247861. doi: 10.1155/2010/247861.

155. Fang L.S. NF- κ B activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation / L.S. Fang, A.B. Malik // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. – 2006. – V. 290. – P. L622–L645.

156. Ferroni P. Endothelial dysfunction and oxidative stress in arterial hypertension / P. Ferroni, S. Basili, V. Paoletti [et al.] // *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. – 2006. – V. 16, № 3. – P. 222-233.

157. Fischer H. Expression of constitutive nitric oxide synthase in rat and human gastrointestinal tract / H. Fischer, J.C. Becker, P. Boknik [et al.] // *Biochim Biophys Acta*. – 1999. – V. 1450, № 3. – P. 414-422.

158. Floriano P.N. Use of salivabased nano-biochip tests for acute myocardial infarction at the point of care: a feasibility study / P.N. Floriano, N. Christodoulides, C.S. Miller [et al.] // *Clin Chem*. – 2009. – V. 55. – P. 1530-1538.

159. Foley J.D. Identification of salivary biomarkers of acute myocardial infarction using classification and regression tree analysis / J.D. Foley, C.L. Campbell, C.S. Miller [et al.] // *J Am Coll Cardiol*. – 2010. – V. 55. – P. A107-E996.

160. Folli F. Angiotensin II inhibits insulin signaling in aortic smooth muscle cells at multiple levels / F. Folli, J.L. Bouchie, C.R. Kahn [et al.] // *J Clin Invest*. – 1997. – V. 100. – P. 2158-2169.

161. Förstermann U. Janus-faced role of endothelial NO synthase in vascular disease: uncoupling of oxygen reduction from NO synthesis and its pharmacological reversal / U. Förstermann // *Biol Chem*. – 2006. – V. 387, № 12. – P. 1521-1533.

162. Förstermann U. Nitric oxide synthases: regulation and function / U. Förstermann, W.C. Sessa // *Eur Heart J*. – 2011. – doi : 10.1093/eurheartj/ehr304.

163. Fujimoto M. A role for iNOS in fasting hyperglycemia and impaired insulin signaling in the liver of obese diabetic mice / M. Fujimoto, N. Shimizu, K. Kunii [et al.] // *Diabetes*. – 2005. – V. 54. – P. 1340-1348.

164. Garg M.K. Adipokines (adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1) in metabolic syndrome / M.K. Garg, M.K. Dutta, N. Mahalle // *Indian J Endocrinol Metab*. – 2012. – V. 16. – P. 116-123.

165. Gao Z. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor kappa B kinase complex / Z. Gao, D. Hwang, F. Bataille [et al.] // *J Biol Chem.* – 2002. – V. 277. – P. 48115-48121.

166. Gochman E. NF- κ B activation by peroxynitrite through I κ B α -dependent phosphorylation versus nitration in colon cancer cells / E. Gochman, J. Mahajna, A.Z. Reznick // *Anticancer Res.* – 2011. – V. 31, № 5. – P. 1607-1617.

167. Golovchenko I. Hyperinsulinemia enhances transcriptional activity of nuclear factor- κ B induced by angiotensin II, hyperglycemia, and advanced glycosylation end products in vascular smooth muscle cells / I. Golovchenko, M.L. Goalstone, P. Watson [et al.] // *Circulat Res.* – 2000. – V. 87. – P. 746-762.

168. Grimm E.A. Constitutive intracellular production of iNOS and NO in human melanoma: possible role in regulation of growth and resistance to apoptosis / Grimm E.A., Ellerhorst J., Tang C.H., Ekmekcioglu S. // *Nitric Oxide.* – 2008. – V. 19, № 2. – P. 133-137.

169. Haffner S.M. The metabolic syndrome: Inflammation, diabetes mellitus, and cardiovascular disease / S.M. Haffner // *Am J Cardiol.* – 2006. – V. 97. – P. 3A-11A.

170. Haidara M.A. Diabetes and antioxidants: myth or reality? / M.A. Haidara, H.Z. Yassin, Z. Zakula // *Curr Vasc Pharmacol.* – 2010. – V. 8. – P. 661-672.

171. Han D.H. Periodontitis could be related factors on metabolic syndrome among Koreans: A case-control study / D.H. Han, S. Lim, D. Paek [et al.] // *J Clin Periodontol.* – 2012. – V. 39. – P. 30-37.

172. Hart P.S. Salivary abnormalities in Prader-Willi Syndrome / P.S. Hart // *Ann NY Acad Sci.* – 1998. – V. 842. – P. 125-131.

173. Hattori K. Metformin inhibits cytokine-induced nuclear factor kappa B activation via AMP-activated protein kinase activation in vascular

endothelial cells / K. Hattori, K. Suzuki, S. Horton, K. Kanai // *Hypertension*. – 2006. – V. 47, № 6. – P. 1183-1186.

174. Hayden M.S. Shared principles in NF-kappaB signaling / M.S. Hayden, S. Ghosh // *Cell*. – 2008. – V. 132, № 3. – P. 344-362.

175. Hevel J.M. Purification of the inducible murine macrophage nitric oxide synthase / J.M. Hevel // *J Biol Chem*. – 1991. – V. 266, № 34. – P. 22789-22791.

176. Hinchee-Rodriguez K. Neuronal nitric oxide synthase is phosphorylated in response to insulin stimulation in skeletal muscle / K. Hinchee-Rodriguez, N. Garg, P. Venkatakrisnan [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2013. – V. 435, № 3. – P. 501-505.

177. Holm M. Intra-gastric CO₂ and nitric oxide participate in the regulation of peptone-induced gastrin release in humans / M. Holm, L. Olbe, L. Fändriks // *Scand J Gastroenterol*. – 2000. – V. 35, № 12. – P. 1260-1265.

178. Hrabarova E. Pro-oxidative effect of peroxynitrite regarding biological systems: a special focus on high-molar-mass hyaluronan degradation / E. Hrabarova, I. Juranek, L. Soltes // *Gen Physiol Biophys*. – 2011. – V. 30, № 3. – P. 223-238.

179. Huang P.L. eNOS, metabolic syndrome and cardiovascular disease / P.L. Huang // *Trends Endocrinol Metab*. – 2009. – V. 20, № 6. – P. 295-302.

180. Huang Y L. Metformin inhibits TNF-alpha-induced I kappa B kinase phosphorylation, I kappa B alpha degradation and IL-6 production in endothelial cells through PI3-dependent AMPK phosphorylation / Y.L. Huang, S.H. Chiang, C.H. Hsueh [et al.] // *Int J Cardiol*. – 2009. – V. 134, № 2. – P. 169-175.

181. Im S.C. The interaction of microsomal cytochrome P450 2B4 with its redox partners, cytochrome P450 reductase and cytochrome b(5) / S.C. Im, L. Waskell // *Arch Biochem Biophys*. – 2011. – V. 507, № 1. – P. 144-153.

182. Ivanovski K. Xerostomia and salivary levels of glucose and urea in patients with diabetes / K. Ivanovski, V. Naumovski, M. Kostadinova [et al.] // *Prilozi*. – 2012. – V. 33, № 2. – P. 219-229.

183. Kamat J.P. Peroxynitrite: a potent oxidizing and nitrating agent / J.P. Kamat // *Indian J Exp Biol*. – 2006. – V. 44, № 6. – P. 436-447.

184. Kanner J. Nitric oxide as an antioxidant / J. Kanner, S. Harel, R. Granit // *Arch Biochem Biophys*. – 1991. – V. 289. – P.130-135.

185. Kapur S. Expression of nitric oxide synthase in skeletal muscle: a novel role for nitric oxide as a modulator of insulin action / S. Kapur, S. Bedard, B. Marcotte [et al.] // *Diabetes*. – 1997. – V. 46. – P. 1691-1700.

186. Kim S.H. Abrogation of cisplatin-induced hepatotoxicity in mice by xanthorrhizol is related to its effect on the regulation of gene transcription / S.H. Kim, K.O. Hong, W.Y. Chung [et al.] // *Toxicol Appl Pharmacol*. – 2004. – V. 196, № 3. – P. 346-355.

187. Kim Y.S. Superoxide reactivates nitric oxide-inhibited catalase / Y.S. Kim, S. Han // *Biol Chem*. – 2000. – V. 381, № 12. – P.1269-1271.

188. Kirsch M. Formation of peroxynitrite from reaction of nitroxyl anion with molecular oxygen / M. Kirsch, H. de Groot // *J Biol Chem*. – 2002. – V. 277. – P. 13379-13388.

189. Klotz L.O. Defenses against peroxynitrite: selenocompounds and flavonoids / L.O. Klotz, H. Sies // *Toxicol Lett*. – 2003. – V. 140/141. – P. 125-132.

190. Kravchuk E. The effect of metformin on the myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury in the rat model of diabetes mellitus type II / E. Kravchuk, E. Grineva, A. Bairamov [et al.] // *Exp Diabetes Res*. – 2011. – doi: 10.1155/2011/907496.

191. Kumar A. JSH-23 targets nuclear factor-kappa B and reverses various deficits in experimental diabetic neuropathy: effect on

neuroinflammation and antioxidant defence / A. Kumar, G. Negi, S.S. Sharma // *Diabetes Obes Metab.* – 2011. – V. 13, № 8. – P.750-758.

192. Kumar P. Oral manifestations in hypertensive patients: A clinical study / P. Kumar, K.M.K. Mastan, R. Chowdhary [et al.] // *J Oral Maxillofac Pathol.* – 2012. – V. 16, № 2. – P. 215-221.

193. Kupai K. Cholesterol diet-induced hyperlipidemia impairs the cardioprotective effect of postconditioning: role of peroxynitrite / K. Kupai, C. Csonka [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2009. – V. 297, № 5. – P. H1729- H1735.

194. Kwiecien S. The role of reactive oxygen species in action of nitric oxide-donors on stress-induced gastric mucosal lesions / S. Kwiecien, T. Brzozowski, P.C. Konturek, S.J. Konturek // *J Phys Pharm.* – 2002. – V. 53, № 4. – P. 761-773.

195. Laude K. NO produced by endothelial NO synthase is a mediator of delayed preconditioning-induced endothelial protection / K. Laude, J. Favre, C. Thuillez [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2003. – V. 284, № 6. – P. 2053-2060.

196. Lawrens T. The nuclear factor NF- κ B pathway in inflammation / T. Lawrens // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2009. – V. 1, № 6. – Publ. a001651.

197. Levrant S. Peroxynitrite is a potent inhibitor of NF-kappa B activation triggered by inflammatory stimuli in cardiac and endothelial cell lines / S. Levrant, B. Pesse, F. Feihl [et al.] // *J Biol Chem.* – 2005. – V. 280, № 41. – P. 34878-34887.

198. Li H. Regulatory role of arginase I and II in nitric oxide, polyamine, and proline syntheses in endothelial cells / H. Li, C.J. Meininger, J.R. Hawker [et al.] // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2001. – V. 280, № 1. – P. 75-82.

199. Li P. Relationship of metabolic syndrome to chronic periodontitis / P. Li, L. He, Y.Q. Sha [et al.] // *J Periodontol.* – 2009. – V. 80. – P. 541-9.
200. Lomniczia A. Role of nitric oxide in salivary secretion / A. Lomniczia, A.M. Suburo, J.C. Elverdinc [et al.] // *Neuroimmunomodulation.* – 2000. – V. 5. – P. 226-233.
201. Looms D. Nitric oxide signalling in salivary glands // D. Looms, K. Tritsarlis, A.M. Pedersen [et al.] // *J Oral Pathol Med.* – 2002. – V. 31, № 10. – P. 569-584.
202. Loukili N. Oxidants positively or negatively regulate nuclear factor kappaB in a context-dependent manner / N. Loukili, N. Rosenblatt-Velin, J. Rolli [et al.] // *J Biol Chem.* – 2010. – V. 285, № 21. – P. 15746-15752.
203. Luiking Y.C. Regulation of nitric oxide production in health and disease / Y.C. Luiking, M.P. Engelen, N.E. Deutz // *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* – 2010. – V. 13, № 1. – P. 97-104.
204. Lundberg J.O. Inorganic nitrate is a possible source for systemic generation of nitric oxide / J.O. Lundberg, M. Govoni // *Free Radic Biol Med.* – 2004. – V. 37, № 3. – P. 395-400.
205. Lundberg J.O. Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics / J.O. Lundberg, M.T. Gladwin, S. Shiva [et al.] // *Nature chem biol.* – 2009. – V. 5, № 12. – P. 865-869.
206. Lundberg J.O. Nitrate, bacteria and human health / J.O. Lundberg, E. Weitzberg, J.A. Cole, N. Benjamin // *Nature Rev Microbiol.* – 2004. – № 2. – P. 593-602.
207. Lundberg J.O. The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics / J.O. Lundberg, E. Weitzberg, M.T. Gladwin // *Nature reviews.* – 2008. – V. 7. – P. 156-167.

208. Lymar S.V. Carbon dioxide: physiological catalyst for peroxynitrite-mediated cellular damage or cellular protectant? / S.V. Lymar, J.K. Hurst // *Chem Res Toxicol.* – 1996. – V. 9. – P. 845-850.

209. MacMillan-Crow L.A. Tyrosine modifications and inactivation of active site manganese superoxide dismutase mutant (Y34F) by peroxynitrite / L.A. MacMillan-Crow, J.A. Thompson // *Arch Biochem Biophys.* – 1999. – V. 366. – P. 82-88.

210. Mangge H. Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease / H. Mangge, K. Becker, D. Fuchs [et al.] // *World J Cardiol.* – 2014. – V. 6, № 6. – P. 462-477.

211. Massion P.B. Modulation of cardiac contraction, relaxation and rate by the endothelial nitric oxide synthase (eNOS): lessons from genetically modified mice / P.B. Massion, J.L. Balligand // *J Physiol.* – 2003. – V. 546, Pt 1. – P. 63-75.

212. Merlo C. Parotid sialosis: morphometrical analysis of the glandular parenchyme and stroma among diabetic and alcoholic patients / C. Merlo, L. Bohl, Carda C. [et al.] // *J Oral Pathol Med.* – 2010. – V. 39, № 1. – P. 10-15.

213. Mielczarek-Putna M. New insights into arginase. Part I. Structure and characteristics / M. Mielczarek-Putna, A. Chrzanowska, E. Bara [et al.] // *Postepy Hig Med Dosw.* – 2008. – № 62. – P. 206-213.

214. Mielczarek-Putna M. New insights into arginase. Part II. Role in physiology and pathology / M. Mielczarek-Putna, A. Chrzanowska, E. Grabo [et al.] // *Postepy Hig Med Dosw.* – 2008. – № 62. – P. 214-221.

215. Mirzaii-Dizgah I. Unstimulated whole saliva creatine phosphokinase in acute myocardial infarction / I. Mirzaii-Dizgah, M. Jafari-Sabet // *Oral Dis.* – 2011. – V. 17. – P. 597-600.

216. Mizutani K. Obesity-associated gingival vascular inflammation and insulin resistance / K. Mizutani, K. Park, A. Mima [et al.] // *J Dent Res.* – 2014. – Apr 17. [Epub ahead of print]

217. Moinard C. Polyamines: metabolism and implications in human diseases / C. Moinard, L. Cynober, J.P. de Bandt // *Clin Nutr.* – 2005. – V. 24, № 2. – P. 184-197.

218. Monnier L. Insulin and atherosclerosis: how are they related? / L. Monnier, M. Hanefeld, O. Schnell [et al.] // *Diabetes Metab.* – 2013. – V. 39, № 2. – P. 111-117.

219. Monzani E. Binding of nitrite and its reductive activation to nitric oxide at biomimetic copper centers / E. Monzani, G.J. Anthony, A. Koolhaas [et al.] // *J Biol Inorg Chem.* – 2000. – V. 5, № 2. – P. 251-261.

220. Mori M. Regulation of nitric oxide synthesis and apoptosis by arginase and arginine recycling / M. Mori // *J Nutr.* – 2007. – V. 137, № 6. – P. 1616-1620.

221. Morita T. A cohort study on the association between periodontal disease and the development of metabolic syndrome / T. Morita, Y. Yamazaki, A. Mita [et al.] // *J Periodontol.* – 2010. – V. 81. – P. 512-519.

222. Morris S.M. Jr. Arginine: beyond protein / S.M. Jr. Morris // *Am J Clin Nutr.* – 2006. – V. 83, № 2. – P. 508-512.

223. Morris S.M. Jr. Arginine metabolism: boundaries of our knowledge / S.M. Jr. Morris // *J Nutr.* – 2007. – V. 137, № 6. – P. 1602-1609.

224. Morris S.M. Jr. Enzymes of arginine metabolism / S.M. Jr. Morris // *J Nutr.* – 2004. – V. 134, № 10. – P. 2743-2747.

225. Mozaffari M.S. Submandibular gland and caries susceptibility in the obese Zucker rat / M.S. Mozaffari, R. Abdelsayed, I. Zakhary [et al.] // *Oral Pathol Med.* – 2011. – V. 40, № 2. – P. 194-200.

226. Murphy M.P. How mitochondria produce reactive oxygen species / M.P. Murphy // *Biochem J.* – 2009. – V. 417. – P. 1–13.

227. Napetschnig J. Molecular basis of NF- κ B signaling / J. Napetschnig, H. Wu // *Ann Rev Biophys.* – 2013. – V. 42. – P. 443-468.

228. Nesbitt M.J. Association of periodontitis and metabolic syndrome in the Baltimore Longitudinal Study of Aging / M.J. Nesbitt, M.A. Reynolds, H. Shiao [et al.] // *Aging Clin Exp Res.* – 2010. – V. 22. – P. 238-242.

229. Nishimura F. Periodontal disease as part of the insulin resistance syndrome in diabetic patients / F. Nishimura, Y. Soga, Y. Iwamoto [et al.] // *J Int Acad Periodontol.* – 2005. – V. 7. – P. 16-20.

230. Nitric Oxide, Second Edition: Biology and Pathobiology / L.J. Ignarro ed. – [2nd ed.]. – N.Y. : Science Press, 2009. – 845 p.

231. Nonzee V. Xerostomia, hyposalivation and oral microbiota in patients using antihypertensive medications / V. Nonzee, S. Manopatanakul, S.O. Khovidhunkit // *J Med Assoc Thai.* – 2012. – V. 95, № 1. – P. 96-104.

232. Noronha B.T. Inducible nitric oxide synthase has divergent effects on vascular and metabolic function in obesity / B.T. Noronha, J.M. Li, S.B. Wheatcroft [et al.] // *Diabetes.* – 2005. – V. 54. – P. 1082-1089.

233. Orellana M.F. Prevalence of xerostomia in population-based samples: a systematic review / M.F. Orellana, M.O. Lagravère, D.G. Boychuk [et al.] // *J Public Health Dent.* – 2006. – V. 66, № 2. – P. 152-158.

234. Pacher P. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease / P. Pacher, J.S. Beckman, L. Liaudet // *Physiol Rev.* – 2007. – V. 87. – P. 315-424.

235. Park C.S. Differential and constitutive expression of neuronal, inducible, and endothelial nitric oxide synthase mRNAs and proteins in pathologically normal human tissues / C.S. Park, G. Krishna, M.S. Ahn [et al.] // *Nitric Oxide.* – 2000. – V. 4, № 5. – P. 459-471.

236. Panchal S.K. Rodent models for metabolic syndrome research / S.K. Panchal, L. Brown // *J Biomed Biotechnol.* – 2011. – V. 2011. – Article ID 351982

237. Pearce L.L. Nitrosative stress results in irreversible inhibition of purified mitochondrial complexes I and III without modification of cofactors / L.L. Pearce, A.J. Kanai, M.W. Epperly, J. Peterson // *Nitric Oxide*. – 2005. – V. 13. – P. 254-263.

238. Perreault M. Targeted disruption of inducible nitric oxide synthase protects against obesity-linked insulin resistance in muscle / M. Perreault, A. Marette // *Nat Med*. – 2001. – V. 7. – P. 1138-1143.

239. Persichini T. Interleukin-1 β induces ceruloplasmin and ferroportin-1 gene expression via MAP kinases and C/EBP β , AP-1, and NF- κ B activation / T. Persichini, N. Maio, M.C. di Patti [et al.] // *Neurosci Lett*. – 2010. – V. 484, № 2. – P. 133-138.

240. Pfaffe T. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications / T. Pfaffe, J. Cooper-White, P. Beyerlein [et al.] // *Clin Chem*. – 2011. – V. 57, № 5. – P. 675-687.

241. Pilon G. Inhibition of inducible nitric-oxide synthase by activators of AMP-activated protein kinase: a new mechanism of action of insulin-sensitizing drugs / G. Pilon, P. Dallaire, A. Marette // *J Biol Chem*. – 2004. – V. 279. – P. 20767-20774.

242. Ponrdenz E. Alteration of antioxidant enzyme expression in response to hydrogen peroxide / E. Ponrdenz, R. Kahl // *Free Radical Biol Med*. – 1998. – V. 24, № 1. – P. 27-38.

243. Proctor G.B. Regulation of salivary gland function by autonomic nerves / G.B. Proctor, G.H. Carpenter // *Auton Neurosci*. – 2007. – V. 133, № 1. – P. 13-18.

244. Pollock J.S. Purification and characterization of particulate endothelium-derived relaxing factor synthase from cultured and native bovine aortic endothelial cells / J.S. Pollock, U. Forstermann, J.A. Mitchell [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 1991. – V. 88. – P. 10480-10484.

245. Qu X.-W. Neuronal nitric oxide synthase (NOS) regulates the expression of inducible NOS in rat small intestine via modulation of nuclear factor kappa B / X.-W. Qu, H. Wang, I.G. de Plaen [et al.] // FASEB. – 2001. – V. 15. – P. 439-446.

246. Radi R. Peroxynitrite reactions and formation in mitochondria / R. Radi, A. Cassina, R. Hodara [et al.] // Free Radic Biol Med. – 2002. – V. 33. – P. 1451-1464.

247. Rahman A. Blocking NF- κ B: an inflammatory issue / A. Rahman, F. Fazal // Proc Am Thorac Soc. – 2011. – V. 8, № 6. – P. 497-503.

248. Reaven G.M. The metabolic syndrome: Requiescat in pace / G.M. Reaven // Clin Chem. – 2005. – V. 51. – P. 931-938.

249. Ren S. NF- κ B p65 and c-Rel subunits promote phagocytosis and cytokine secretion by splenic macrophages in cirrhotic patients with hypersplenism / S. Ren, S. Zhang, M. Li [et al.] // Int J Biochem Cell Biol. – 2013. – V. 45, № 2. – P. 335-343.

250. Rocha E.M. The influence of ageing on the insulin signalling system in rat lacrimal and salivary glands / E.M. Rocha, C.R. Carvalho, M.J. Saad [et al.] // Acta Ophthalmol Scand. – 2003. – V. 81, № 6. – P. 639-645.

251. Russotto S.B. Asymptomatic parotid gland enlargement in diabetes mellitus / S.B. Russotto // Oral Surg Oral Med Oral Pathol. – 1981. – V. 52, № 6. – P. 594-598.

252. Sánchez A. Role of neural NO synthase (nNOS) uncoupling in the dysfunctional nitrenergic vasorelaxation of penile arteries from insulin-resistant obese Zucker rats / A. Sánchez, C. Contreras, M.P. Martínez [et al.] // PLoS One. – 2012. – V. 7, № 4. – Publ. e36027.

253. Saura M. Oral administration of bisphenol A induces high blood pressure through angiotensin II/CaMKII-dependent uncoupling of eNOS / M. Saura, S. Marquez, P. Reventun [et al.] // FASEB J. – 2014. – Aug 7. pii: fj.14-252460 [Epub ahead of print].

254. Sayardoust S. Nitric oxide-dependent in vitro secretion of amylase from innervated or chronically denervated parotid glands of the rat in response to isoprenaline and vasoactive intestinal peptide / S. Sayardoust, J. Ekström // *Exp Physiol.* – 2003. – V. 88, № 3. – P. 381-387.

255. Sayardoust S. Nitric oxide-dependent protein synthesis in parotid and submandibular glands of anaesthetized rats upon sympathetic stimulation or isoprenaline administration / S. Sayardoust, J. Ekström // *Exp Physiol.* – 2004. – V. 89, № 2. – P. 219-227.

256. Sharma K. Enhanced expression of inducible nitric oxide synthase in murine macrophages and glomerular mesangial cells by elevated glucose levels: Possible mediation via protein kinase C / K. Sharma, T.M. Danoff, A. DePiero [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* – 1995. – V. 207. – P. 80-88.

257. Shimabukuro M. Lipoapoptosis in beta-cells of obese prediabetic fa/fa rats. Role of serine palmitoyltransferase overexpression / M. Shimabukuro, M. Higa, Y.T. Zhou [et al.] // *J Biol Chem.* – 1998. – V. 273. – P. 32487-32490.

258. Shimomura H. Soluble guanylyl cyclase is localised in the acinar cells and participates in amylase secretion in rat parotid gland / H. Shimomura, S. Tanaka, N. Komine [et al.] // *Arch Oral Biol.* – 2004. – V. 49, № 9. – P. 691-696.

259. Shin H.M. Inhibitory action of novel aromatic diamine compound on lipopolysaccharide-induced nuclear translocation of NF-kappaB without affecting IkappaB degradation / H.M. Shin, M.H. Kim, B.H. Kim [et al.] // *FEBS Lett.* – 2004. – V. 571, № 1-3. – P. 50-54.

260. Simile M.M. Chemopreventive N-(4-hydroxyphenyl)retinamide (fenretinide) targets deregulated NF- κ B and Mat1A genes in the early stages of rat liver carcinogenesis / M.M. Simile, G. Pagnan, F. Pastorino [et al.] // *Carcinogenesis.* – 2005. – V. 26, № 2. – P. 417-427.

261. Simmons R.K. The metabolic syndrome: useful concept or clinical tool? Report of a WHO Expert Consultation / R.K. Simmons, K.G. Alberti, E.A. Gale [et al.] // *Diabetologia*. – 2010. – V. 53, № 4. – P. 600-605.

262. Siomek A. NF- κ B signaling pathway and free radical impact / A. Siomek // *Acta Biochim Pol.* – 2012. – V. 59, № 3. – P. 323-331.

263. Skaleric U. Proinflammatory and antimicrobial nitric oxide in gingival fluid of diabetic patients with periodontal disease / U. Skaleric, B. Gaspirc, N. McCartney-Francis [et al.] // *Infect Immun.* – 2006. – V. 74, № 12. – P. 7010-7013.

264. Soinila J. Nitric oxide synthase in human salivary glands / J. Soinila, K. Nuorva, S. Soinila // *Histochem Cell Biol.* – 2006. – V. 125, № 6. – P. 717-723.

265. Soskić S.S Regulation of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and its potential role in insulin resistance, diabetes and heart failure / S.S Soskić, B.D. Dobutović, E.M. Sudar [et al.] // *Open Cardiovasc Med J.* – 2011. – V. 5. – P. 153-163.

266. Stadler K. Peroxynitrite-driven mechanisms in diabetes and insulin resistance – the latest advances / K. Stadler // *Curr Med Chem.* – 2011. – V. 18, №2. – P. 280-290.

267. Suba Z. Epidemiological correlations of insulin resistance and salivary gland tumors / Z. Suba, J. Barabás, D. Takács [et al.] // *Orv Hetil.* – 2005. – V. 146, № 33. – P. 1727-1732.

268. Sugita H. Inducible nitric oxide synthase plays a role in LPS-induced hyperglycemia and insulin resistance / H. Sugita, M. Kaneki, E. Tokunaga [et al.] // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2002. – V. 282. – P. E386-394.

269. Szabó S. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics / C. Szabó, H. Ischiropoulos, R. Radi // *Nature Reviews.* – 2007. – V. 6. – P. 662-680.

270. Takahama U. Detection of nitric oxide and its derivatives in human mixed saliva and acidified saliva / U. Takahama, S. Hirota, O. Takayuki // *Methods Enzymol.* – 2008. – V. 440. – P. 381-396.

271. Takeuchi K. Role of endogenous nitric oxide (NO) and NO synthases in healing of indomethacin-induced intestinal ulcers in rats / K. Takeuchi, R. Hatazawa, M. Tanigami [et al.] // *Life Sci.* – 2007. – V. 80, № 4. – P. 329-336.

272. Taube A. Inflammation and metabolic dysfunction: links to cardiovascular diseases / A. Taube, R. Schlich, H. Sell [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2012. – V. 302, № 11. – P. H2148-H2165.

273. Togashi H. Neuronal (type I) nitric oxide synthase regulates nuclear factor kappaB activity and immunologic (type II) nitric oxide synthase expression / H. Togashi, M. Sasaki, E. Frohman [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 1997. – V. 94, № 6. – P. 2676-2680.

274. Tong B.C. Cellular and physiological effects of arginine / B.C. Tong, A. Barbul // *Mini Rev Med Chem.* – 2004. – V. 4, № 8. – P. 823-832.

275. Tornatore L. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation / L. Tornatore, A.K. Thotakura, J. Bennett [et al.] // *Trends Cell Biol.* – 2012. – V. 22, № 11. – P. 557-566.

276. Uğar-Cankal D. A multifaceted molecule, nitric oxide in oral and periodontal diseases / D. Uğar-Cankal, N. Ozmeric // *Clin Chim Acta.* – 2006. – V. 366, № 1-2. – P. 90-100.

277. Vergnani L. Effect of native and oxidized low-density lipoproteins in endothelial nitric oxide and superoxide production. Key role of L-arginine availability / L. Vergnani, S. Hatric, F. Ricci [et al.] // *Circulation.* – 2000. – V. 101, № 11. – P. 1261-1266.

278. Vos T.A. Expression of inducible nitric oxide synthase in endotoxemic rat hepatocytes is dependent on the cellular glutathione status /

T.A. Vos, H. Van Goor, L. Tuyt [et al.] // *Hepatology*. – 1999. – V. 29, № 2. – P. 421-426.

279. Wu G. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease / G. Wu, F.W. Bazer, T.A. Davis [et al.] // *Amino Acids*. – 2009. – V. 37, № 1. – P. 153-168.

280. Wu X. Hypoxia induces connexin 43 dysregulation by modulating matrix metalloproteinases via MAPK signaling / X. Wu, W. Huang, G. Luo, L.A. Alain // *Mol Cell Biochem*. – 2013. – V. 384, № 1-2. – P. 155-162.

281. Wysocki P.J. Obesity, hyperinsulinemia and breast cancer: novel targets and a novel role for metformin / P.J. Wysocki, R. Hizusz-Wysocka // *Exp Rev Mol Diagn*. – 2010. – V. 10, № 4. – P. 509-519.

282. Xia Y. Superoxide generation from endothelial nitric-oxide synthase: A Ca^{2+} /calmodulin-dependent and tetrahydrobiopterin regulatory process / Y. Xia, A.-L. Tsai, V. Berka, J.L. Zweier // *J Biol Chem*. – 1998. – V. 273, № 40. – P.25804-25808.

283. Xie Q.W. Role of transcription factor NF-kappa B/Rel in induction of nitric oxide synthase / Q.W. Xie, Y. Kashiwabara, C. Nathan // *J Biol Chem*. – 1994. – V. 269. – P. 4705-4708.

284. Xu J. Uncoupling of endothelial nitric oxidase synthase by hypochlorous acid: role of NAD(P)H oxidase-derived superoxide and peroxynitrite / J. Xu, Z. Xie, R. Reece [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2006. – V. 26, № 12. – P. 2688-2695.

285. Xu W. Increased arginase II and decreased NO synthesis in endothelial cells of patients with pulmonary arterial hypertension / W. Xu, F.T. Kaneko, S. Zheng [et al.] // *FASEB J*. – 2004. – V. 18. – P. 1746-1748.

286. Yadav U.C. Regulation of NF- κ B-induced inflammatory signaling by lipid peroxidation-derived aldehydes / U.C. Yadav, K.V. Ramana // *Oxid Med Cell Longev*. – 2013. – V. 2013. – doi: 10.1155/2013/690545.

287. Yasuda N. Distribution and properties of arginase in the salivary glands of four species of laboratory mammals / N. Yasuda, K. Moriwaki, S. Furuyama // *J Comp Physiol B.* – 2004. – V. 174, № 3. – P. 237-242.

288. Zalewska A. Antioxidant profile of salivary glands in high fat diet-induced insulin resistance rats / A. Zalewska, M. Knaś, M. Zendzian-Piotrowska [et al.] // *Oral Dis.* – 2014. – V. 20, № 6. – P. 560-566.

289. Zhang X. Peroxynitrite mediated oxidation damage and cytotoxicity in biological systems / X. Zhang, D. Li // *Life Sci J.* – 2006. – V. 3, № 3. – P. 41-44.