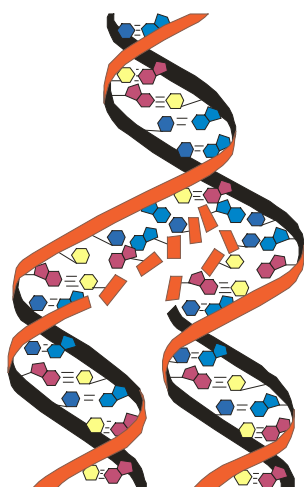


Тернопільський національний медичний університет  
імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України  
Інститут фармакології та токсикології НАМН України

# МЕДИЧНА ТА КЛІНІЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



*Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine  
Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine*

# MEDICAL AND CLINICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

**4(102)** TOM 26  
**2024**



Видавничий дім  
«Гельветика»  
2024

- ❖ *Молекулярні механізми розвитку патології*
- ❖ *Біохімія у діагностиці та лікуванні*
- ❖ *Біохімія серцево-судинних хвороб*
- ❖ *Біохімічна гепатологія та нефрологія*
- ❖ *Біохімія ендокринних хвороб*
- ❖ *Патохімія спадкових хвороб*
- ❖ *Патохімія екстремальних станів*
- ❖ *Біохімія в хірургічній клініці*
- ❖ *Нейрохімія та патохімія головного мозку*
- ❖ *Імунохімія*
- ❖ *Біохімія радіаційних уражень*
- ❖ *Біохімічні аспекти моделювання патологічних процесів*
- ❖ *Ксенобіохімія*
- ❖ *Методи біохімічних досліджень*
- ❖ *Історія біохімії*
- ❖ *Проблеми і досвід викладання біологічної та медичної хімії*
- ❖ *Інформація, хроніка, ювілеї*
  
- ❖ *Molecular Mechanisms of Pathology Development*
- ❖ *Biochemistry in Diagnostics and Treatment*
- ❖ *Biochemistry of Cardiovascular Diseases*
- ❖ *Biochemical Hepatology and Nephrology*
- ❖ *Biochemistry of Endocrinopathy*
- ❖ *Pathochemistry of Hereditary Diseases*
- ❖ *Pathochemistry of Extremal States*
- ❖ *Biochemistry in Surgical Clinics*
- ❖ *Neurochemistry and Pathochemistry of Cerebrum*
- ❖ *Immunochemistry*
- ❖ *Biochemistry of Radiation Injuries*
- ❖ *Biochemical Aspects of Simulation of Pathologic Processes*
- ❖ *Xenobiochemistry*
- ❖ *Methods of Biochemical Investigations*
- ❖ *History of Biochemistry*
- ❖ *Problems and Experience of Biological and Medical Chemistry Teaching*
- ❖ *Information, Chronicle, Jubilees*

# МЕДИЧНА ТА КЛІНІЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

## MEDICAL AND CLINICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 2410-681X

Виходить щоквартально  
Published 4 times per year

Заснований у січні 2011 р.  
Founded in January 2011

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації: ідентифікатор R30-02200 (рішення Національної ради України з питань телебачення і радіомовлення № 1551 від 23.11.2023)

Certificate of State Registration of printed mass media: identifier R30-02200 (Decision of the National Council of Television and Radio Broadcasting of Ukraine No. 1551 dated November 23, 2023)

Передплатний індекс: 22869  
Subscription index: 22869

Журнал включено в категорію "Б" Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата медичних, біологічних та фармацевтичних наук за спеціальностями 091, 211, 222, 226 (наказ МОН України від 11.07.2019 р. № 975).

Журнал включено до Міжнародної наукометричної бази даних Index Copernicus.

Рекомендовано до видання вченою радою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України (протокол № 14 від 26 грудня 2024 р.).

### АДРЕСА РЕДАКЦІЇ:

Журнал "Медична та клінічна хімія"  
Майдан Волі, 1  
46001, м. Тернопіль  
УКРАЇНА

### EDITORIAL OFFICE ADDRESS:

Journal "Medical and Clinical Chemistry"  
Maidan Voli, 1  
46001, Ternopil  
UKRAINE

Tel.: + 38 (063) 822 51 44  
ojs.tdmu.edu.ua/index.php/MCC  
e-mail: mcc.tdmu@gmail.com

При передруці або відтворенні повністю чи частково матеріалів журналу "Медична та клінічна хімія" посилання на журнал обов'язкове.

© Науковий журнал «Медична та клінічна хімія», 2024  
© Scientific Journal "Medical and Clinical Chemistry", 2024

## Зміст

### ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

- Будняк Л. І., Ожелевська В. В., Крамар Г. І., Чернецька С. Б.* ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ ПОЛІФЕНОЛІВ У ФІТОСУБСТАНЦІЯХ ІЗ ТРАВИ АЙСТРИ НОВОАНГЛІЙСЬКОЇ, ОДЕРЖАНИХ МЕТОДОМ МАЦЕРАЦІЇ З ПЕРЕМІШУВАННЯМ 4
- Команюк Л. В., Басараба Р. Ю.* ДОСЛІДЖЕННЯ СПОЛУК ФЕНОЛЬНОЇ ПРИРОДИ В СИРОВИНІ РУДБЕКІЇ ВОЛОСИСТОЇ 9
- Кравець Н. Я.* ВИКОРИСТАННЯ ЕКСПРЕС-БІОХІМІЧНИХ ТЕСТІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЕТІОЛОГІЇ ГОСТРОГО ТОНЗИЛІТУ В ПЕРСПЕКТИВІ ДІАГНОСТИЧНОГО ПІДХОДУ 14
- Луців Є. Р., Ярошенко Т. Я.* РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДНЮ ПРИ ЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНИХ ПРОЦЕСАХ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ) 19
- Римар А. А.* ПОРУШЕННЯ РЕДОКС-ГОМЕОСТАЗУ У ТКАНИНІ ЛЕГЕНЬ ЗА УМОВ ДМГ-ІНДУКОВАНОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ ТОВСТОЇ КИШКИ 30
- Сушко Ю. І.* ВПЛИВ КЛІТИННОЇ ТЕРАПІЇ НА ПРОЯВИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗА УМОВ КРАНІОСКЕЛЕТНОЇ ТРАВМИ 38
- Tsebenko M. O., Bilets M. V., Omelchenko O. E., Spivak M. Ya., Neporada K. S.* EFFECT OF NANOCERIUM ON STRESS SYNDROME SEVERITY AND ANTHROPOMETRY IN RATS WITH CHRONIC STRESS AND OBESITY 48
- Чолач С. Ю., Гнатюк М. С., Татарчук Л. В., Стець Н. Я., Ясіновський О. Б.* СТРУКТУРНО-БІОХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ КАМЕР СЕРЦЯ ПРИ ІНТОКСИКАЦІЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ХЛОРИДОМ КОБАЛЬТУ 53
- Щурко М. М., Любінець Л. А., Сопнева Н. Б., Кузык І. Я., Двудят-Лешневська І. С.* СУБКЛІНІЧНИЙ ДЕФІЦИТ КАЛЬЦІЮ В ДІТЕЙ МОЛОДШОГО ШКІЛЬНОГО ВІКУ 59

## Contents

### ORIGINAL RESEARCHES

- Budniak L. I., Ozhelevska V. V., Kramar H. I., Chernetska S. B.* INVESTIGATION OF POLYPHENOLS CONTENT IN THE PHYTOSUBSTANCES FROM NEW ENGLAND ASTER HERB OBTAINED BY MACERATION WITH STIRRING 4
- Komaniuk L. V., Basaraba R. Yu.* INVESTIGATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE RAW MATERIAL OF *RUDBECKIA HIRTA* L. 9
- Kravets N. Ya.* USE OF EXPRESS BIOCHEMICAL TESTS TO DETERMINE THE ETIOLOGY OF ACUTE TONSILLITIS IN THE PERSPECTIVE OF A DIAGNOSTIC APPROACH 14
- Lutsiv E. R., Yaroshenko T. Y.* THE ROLE OF MOLECULAR HYDROGEN IN NEURODEGENERATE PROCESSES (LITERATURE REVIEW) 19
- Rymar A. A.* DISRUPTION OF REDOX HOMEOSTASIS IN LUNG TISSUE IN A DMH-INDUCED COLON ADENOCARCINOMA MODEL 30
- Sushko Y. I.* THE EFFECT OF CELL THERAPY ON THE MANIFESTATIONS OF OXIDATIVE STRESS IN RATS OF DIFFERENT AGES UNDER CONDITIONS OF CRANIO-SKELETAL TRAUMA 38
- Tsebenko M. O., Bilets M. V., Omelchenko O. E., Spivak M. Ya., Neporada K. S.* EFFECT OF NANOCERIUM ON STRESS SYNDROME SEVERITY AND ANTHROPOMETRY IN RATS WITH CHRONIC STRESS AND OBESITY 48
- Cholach S. Ju., Hnatjuk M. S., Tatarchuk L. V., Stets N. Ja., Jasinovsky O. B.* STRUCTURAL AND BIOCHEMICAL STUDY OF HEART CHAMBERS AT EXPERIMENTAL ANIMAL INTOXICATION WITH COBALT CHLORIDE 53
- Shchurko M. M., Liubinets L. A., Sopneva N. B., Kuzyk I. Ya., Dvuliat-Leshnevskaya I. S.* SUBCLINICAL CALCIUM DEFICIENCY IN PRIMARY SCHOOL AGE CHILDREN 59

Л. І. Будняк<sup>1</sup>, В. В. Ожелевська<sup>1</sup>, Г. І. Крамар<sup>2</sup>, С. Б. Чернецька<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО  
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
<sup>2</sup>ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ М. І. ПИРОГОВА

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ ПОЛІФЕНОЛІВ У ФІТОСУБСТАНЦІЯХ ІЗ ТРАВИ АЙСТРИ НОВОАНГЛІЙСЬКОЇ, ОДЕРЖАНИХ МЕТОДОМ МАЦЕРАЦІЇ З ПЕРЕМІШУВАННЯМ

**Вступ.** *Aster novae-angliae* L. – це багаторічна трав'яниста рослина, що походить із Північної Америки. Даний вид традиційно застосовують для лікування респіраторних захворювань, серед яких кашель, астма та застуда. Айстра новоанглійська містить комплекс біологічно активних речовин з антиоксидантними, протизапальними й антимікробними властивостями.

**Мета дослідження** – визначити кількісний вміст суми поліфенолів у фітосубстанціях із трави айстри новоанглійської сорту *Andenken an Alma Pötschke*, одержаних методом мацерації з перемішуванням.

**Методи дослідження.** Об'єктами досліджень були фітосубстанції із трави айстри новоанглійської, які одержували методом мацерації з перемішуванням, у співвідношенні сировини й екстрагенту 1:10, за використання як екстрагенту 10% етанолу (серія 1) та 20% етанолу (серія 2). Спектрофотометричним методом визначали кількісний вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол.

**Результати й обговорення.** Результати досліджень показали, що кількісний вміст суми поліфенолів у фітосубстанції, одержаній із трави айстри новоанглійської сорту *Andenken an Alma Pötschke*, у разі використання 10% етанолу становив  $5,62 \pm 0,22\%$ . Вміст суми у фітосубстанції, одержаній із використанням 20% етанолу з досліджуваної сировини, становив  $6,29 \pm 0,10\%$ . У результаті проведених досліджень встановлено, що у фітосубстанції, яку одержували з використанням 20% етанолу із трави айстри новоанглійської, кількісний вміст суми поліфенолів був в 1,12 рази більшим, ніж у витяжці, одержаній із використанням 10% етанолу.

**Висновки.** Визначено кількісний вміст суми поліфенолів у фітосубстанціях із трави айстри новоанглійської сорту *Andenken an Alma Pötschke*, одержаних методом мацерації з перемішуванням, у співвідношенні сировини й екстрагенту 1:10, з використанням як екстрагенту 10 та 20% етанолу. Встановлено, що в разі використання 20% етанолу вилучається дещо більше суми поліфенолів, їх кількісний вміст становить  $6,29 \pm 0,10\%$ . У фітосубстанції, одержаній із використанням 10% етанолу, вміст суми поліфенолів становив  $5,62 \pm 0,22\%$ . Одержані результати можуть бути основою для проведення мікробіологічних, фармакологічних досліджень і використовуватися з метою розроблення дієтичних добавок чи лікарських засобів на основі айстри новоанглійської.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: айстра новоанглійська; *Aster novae-angliae* L.; поліфеноли; фітосубстанція.

ВСТУП. Рід *Symphotrichum* Nees (Asteraceae) походить із Північної Америки і включає понад 90 видів. У Європі рід представлений 16 видами, що були інтродуковані як декоративні рослини. Європейські популяції цього роду включають рослини, отримані як у результаті штучної гібридизації культивованих рослин, так і внаслідок подальшої спонтанної гібридизації [1]. Види *Symphotrichum* культивувалися в європейських ботанічних садах із XVII ст. [2].

Вид *Aster novae-angliae* L. (*Symphotrichum novae-angliae* (L.)) відомий як айстра новоанглійська [3]. Він походить із Північної Америки, де широко натуралізований. Даний вид зареєстрований у Європі й інтродукований у таких країнах: Австрії, Бельгії з Люксембургом, Чехії, Данії, Франції, Німеччині, Грузії,

Великій Британії, Угорщині, Італії, Ліхтенштейні, Молдові, Нідерландах, Норвегії, Україні, Польщі, Хорватії, Румунії, Республіці Сербія, Словаччині, Словенії, Швейцарії та Швеції [4; 5].

*Aster novae-angliae* L. – це багаторічна трав'яниста рослина. Стебла рослини ростуть із товстого кореневища, досягають висоти до 2 м, густо вкриті короткими м'якими волосками, розгалужені в суцвітті. Листки розетки мають довжину 3–10 см і ширину 5–20 мм, сидячі, що опадають на початку сезону. Верхні листки стебла ланцетоподібні, є цільними, вкриті короткими м'якими волосками. Квітки поодинокі або зібрані у волоть кошики. Квіткові промені-пелюстки численні (40–100), завширшки 0,8–1,3 мм, завдовжки 1–2 см і зазвичай фіолетово-пурпурового кольору [6]. Трапляється у природних і напівприродних середовищах, як-от вологі

© Л. І. Будняк, В. В. Ожелевська, Г. І. Крамар, С. Б. Чернецька, 2024

ліси, вологі луки, канами, а також на інших видах вологих ділянок.

Вид *Aster novae-angliae* L. цвіте із серпня по жовтень і легко розмножується насінням, яке може поширюватися на великі відстані. Він також здатний швидко поширюватися вегетативно за допомогою кореневищ [5].

Застосовують рослини цього виду для лікування респіраторних захворювань, серед яких кашель, застуда й астма. Айстра новоанглійська містить біологічно активні речовини із протизапальними, антимікробними й антиоксидантними властивостями, що можуть полегшувати симптоми алергії й астми [7].

Застосування айстри новоанглійської включає приготування настоек, чаїв, відварів і сиропів з її листків, квіток і коренів. Настойки готують шляхом настоювання свіжих або висушених подрібнених листків і квіток у спирті протягом 4–6 тижнів, після чого рідину проціджують і зберігають у темному місці. Чай готують, настоюючи висушені квітки та листки у воді протягом 10–15 хвилин. Відвари з коренів готують шляхом кип'ятіння у воді протягом 5–6 годин. Сиропи отримують шляхом варіння свіжих або висушених листків та квіток у цукровому розчині [8].

Фармакологічна дія айстри новоанглійської зумовлена наявністю біологічно активних речовин, склад яких є маловивченим в Україні.

Метою даних досліджень було визначення вмісту поліфенолів у фітосубстанціях із трави айстри новоанглійської сорту *Andenken an Alma Pötschke*, одержаних методом мацерації з перемішуванням.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Об'єктами досліджень були фітосубстанції із трави айстри новоанглійської сорту *Andenken an Alma Pötschke*.

Траву айстри новоанглійської сорту *Andenken an Alma Pötschke* заготовляли на початку цвітіння рослини у 2024 р.

Фітосубстанції одержували методом мацерації з перемішуванням, у співвідношенні сировини й екстрагента 1:10. Для цього висушену траву айстри новоанглійської за допомогою ручного млина подрібнювали на частки розміром 3–5 мм. У скляні ємкості поміщали подрібнену сировину та заливали 10 та 20% етанолом «до дзеркала».

Мацерацію проводили за температури 15–20°C протягом 7 днів, періодично перемішуючи. Після настоювання одержану

витяжку фільтрували через паперовий фільтр і згущували за температури 40°C.

Спектрофотометричним методом визначали кількісний вміст суми поліфенолів у фітосубстанціях із трави айстри новоанглійської сорту *Andenken an Alma Pötschke* у перерахунку на пірогалол за загальноприйнятною методикою ДФУ 2.8.14 у такій редакції [9].

Під час випробовування фітосубстанцію розчиняли та доводили водою Р до об'єму 250 мл. Суміш фільтрували через фільтрувальний папір діаметром 125 мм. Відкидали перші 50 мл фільтрату.

5 мл фільтрату доводили водою Р до 25 мл. Суміш 2 мл одержаного розчину поміщали в мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 1 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву і 10 мл води Р та доводили об'єм розчину до позначки розчином 290 г/л натрію карбонату, перемішували.

Стандартний розчин. 50 мг пірогалолу розчиняли у воді Р і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл, перемішували. 5 мл одержаного розчину поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл і доводили об'єм розчину водою Р до позначки, перемішували.

Розчин порівняння. 2 мл стандартного розчину пірогалолу поміщали в мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 1 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву і 10 мл води Р та доводили об'єм розчину до позначки розчином 290 г/л натрію карбонату, перемішували.

Через 30 хв вимірювали оптичну густину випробовуваних розчинів і розчину порівняння за довжини хвилі 760 нм, як компенсаційний розчин використовували воду Р.

Вміст суми поліфенолів обчислювали в перерахунку на пірогалол, у відсотках.

Опрацьовували результати досліджень методами математичної статистики за допомогою програми Excel (Microsoft Office). Статистично опрацьовували одержані результати досліджень за методикою ДФУ [10].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У фітосубстанціях із трави айстри новоанглійської сорту *Andenken an Alma Pötschke* визначали вміст суми поліфенолів спектрофотометричним методом. Результати визначення наведено на рисунках 1, 2 і в таблиці 1.

У результаті досліджень встановлено, що вміст суми поліфенолів, у перерахунку на пірогалол, у фітосубстанції, одержаній методом мацерації з перемішуванням із використанням 20% етанолу як екстрагента,

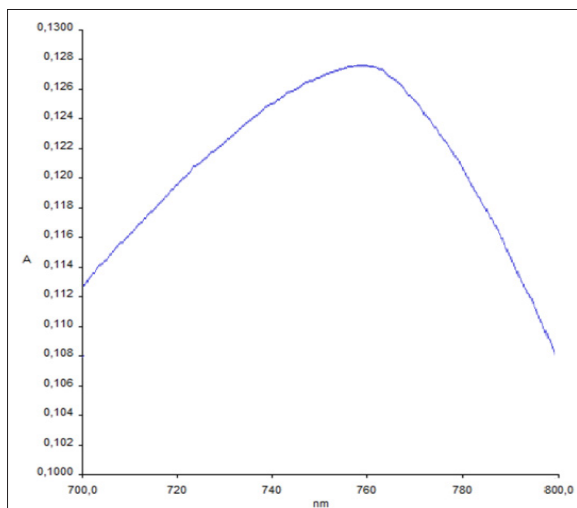


Рис. 1. УФ-спектр визначення суми поліфенолів у фітосубстанції (серія 1) із трави айстри новоанглійської сорту Andenken an Alma Pötschke, одержаній із використанням 10% етанолу як екстрагента

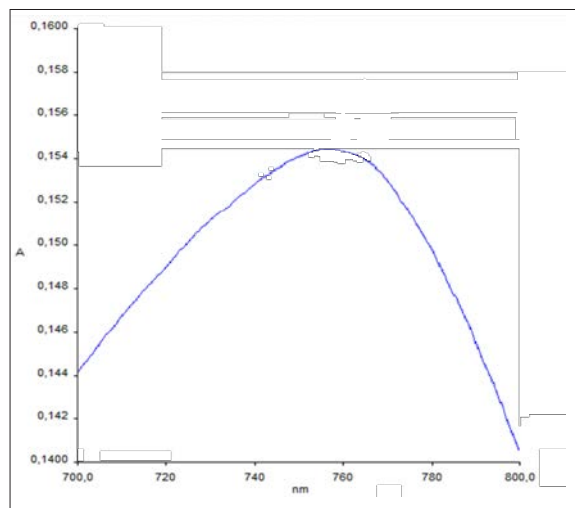


Рис. 2. УФ-спектр визначення суми поліфенолів у фітосубстанції (серія 2) із трави айстри новоанглійської сорту Andenken an Alma Pötschke, одержаній із використанням 20% етанолу як екстрагента

був в 1,12 раза більшим порівняно із вмістом досліджуваних сполук у витяжці, одержаній із використанням 10% етанолу (табл. 1).

Поліфеноли – це природні сполуки, які синтезують рослини. Вони мають хімічні властивості, пов'язані з фенольними речовинами, і демонструють біоактивність, спрямовану на модулювання окислювального та запального стресу, зміну процесів травлення макронутрієнтів і здійснення пребіотичних ефектів.

Поліфеноли виконують такі функції, як привабливості запилювачів, забезпечення структурної цілісності, захист від ультрафіолетового випромінювання, а також захист рослин від мікробних інвазій і травоядних тварин [11].

Поліфеноли є невід'ємною частиною раціону людини. Вони частково відповідають за сенсорні та поживні якості рослинної їжі, наприклад, в'язучий смак, колір і запах, які залежать від вмісту поліфенольних сполук. Навіть більше, деякі поліфеноли можуть зв'язувати й осаджувати макромолекули, як-от білки, вуглеводи та травні ферменти, зменшувати тим самим засвоюваність їжі [11].

Одержані у процесі досліджень результати можуть бути основою для проведення подальших фармакологічних, фітохімічних і мікробіологічних досліджень та використовуватися з метою розроблення лікарських засобів на рослинній основі чи дієтичних добавок.

**ВИСНОВКИ.** 1. З метою одержання фітосубстанцій із трави айстри новоанг-

Таблиця 1 – Кількісний вміст суми поліфенолів у фітосубстанціях із трави айстри новоанглійської сорту Andenken an Alma Pötschke, одержаних із використанням 10 та 20% етанолу як екстрагента

№ серії	Концентрація етанолу, який використано для одержання фітосубстанції	Вміст суми поліфенолів, %
1	10%	5,62 ± 0,22
2	20%	6,29 ± 0,10

Примітка. Вірогідність похибки:  $P < 0,05$ .

льської сорту Andenken an Alma Pötschke використовували метод екстрагування – мацерацію з перемішуванням, співвідношення сировини й екстрагента – 1:10, екстрагент у серії 1 – 10% етанол, у серії 2 – 20% етанол.

2. Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми поліфенолів у фітосубстанціях (серії 1 та 2) із трави досліджуваної рослини, у перерахунку на пірогалол. Встановлено, що вміст суми поліфенолів у фітосубстанції із трави айстри новоанглійської, одержаній із використанням 10% етанолу як екстрагента, становив  $5,62 \pm 0,22\%$ . Також було визначено вміст суми поліфенолів у фітосубстанції, одержаній із використанням як екстрагента 20% етанолу. Результати досліджень показали, що у фітосубстанції, одержаній із використанням 20% етанолу, кількісний вміст суми

поліфенолів був в 1,12 раза більший і становив  $6,29 \pm 0,10\%$ .

3. Одержані результати можуть бути основою для проведення фітохімічних,

мікробіологічних, фармакологічних досліджень і використовуватися з метою розроблення на рослинній основі лікарських засобів чи дієтичних добавок.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Gudžinskas Z., Petrulaitis L. New alien plant species recorded in the southern regions of Latvia. *Botanica Lithuanica*. 2016. Vol. 22. № 2. P. 153–160.

2. Jedlicka J., Prach K. A comparison of two North-American asters invading in central Europe *Flora (Jena)*. 2006. Vol. 201. № 8. P. 652–657. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2006.01.002>.

3. Nesom G. L. Review of the taxonomy of *Aster sensu lato* (Asteraceae: Astereae), emphasizing the New World species. *Phytologia*. 1994. Vol. 77. P. 141–297.

4. Greuter W., Raab-Straube E. *Compositae (pro parte majore)*. *Compositae / W. Greuter, E. Raab-Straube (eds.) Euro + Med Plantbase – the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity*. 2006–2009.

5. Lakušić D., Jovanović S. *Symphotrichum novae-angliae* (Compositae) – new alien species in Serbia. *Botanica Serbica*. 2012. Vol. 36. № 1. P. 67–70.

6. Chmielewski J. G., Semple J. C. The biology of Canadian weeds. 125. *Symphotrichum ericoides* (L.) Nesom (*Aster ericoides* L.) and *S. novae-angliae* (L.) Nesom (*A. novae-angliae* L.). *Canadian Journal of Plant Science*. 2003. Vol. 83. P. 1017–1037.

#### REFERENCES

1. Gudžinskas, Z., & Petrulaitis, L. (2016). New alien plant species recorded in the southern regions of Latvia. *Botanica Lithuanica*, 22 (2), 153–160.

2. Jedlicka, J., & Prach, K. (2006). A comparison of two North-American asters invading in central Europe. *Flora (Jena)*, 201 (8), 652–657. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2006.01.002>.

3. Nesom, G. L. (1994). Review of the taxonomy of *Aster sensu lato* (Asteraceae: Astereae), emphasizing the New World species. *Phytologia*, 77, 141–297.

4. Greuter, W., & Raab-Straube, E. (2006–2009). *Compositae (pro parte majore)*. In W. Greuter & E. Raab-Straube (Eds.), *Compositae. Euro + Med Plantbase – The information resource for Euro-Mediterranean plant diversity*.

5. Lakušić, D., & Jovanović, S. (2012). *Symphotrichum novae-angliae* (Compositae): New alien species in Serbia. *Botanica Serbica*, 36 (1), 67–70.

6. Chmielewski, J. G., & Semple, J. C. (2003). The biology of Canadian weeds. 125. *Symphotrichum ericoides* (L.) Nesom (*Aster ericoides* L.) and *S. novae-angliae* (L.) Nesom (*A. novae-angliae* L.). *Canadian Journal of Plant Science*, 83 (4), 1017–1037.

7. Terra Whisper. (n.d.). What to know about *Symphotrichum novae-angliae* (New England Aster) before using it medicinally. Retrieved October 16, 2024, from [https://terrawhisper.com/herbs/symphotrichum-novae-angliae.html?utm\\_source](https://terrawhisper.com/herbs/symphotrichum-novae-angliae.html?utm_source).

7. What to know about *Symphotrichum novae-angliae* (New England Aster) before using it medicinally Terra Whisper. URL: [https://terrawhisper.com/herbs/symphotrichum-novae-angliae.html?utm\\_source](https://terrawhisper.com/herbs/symphotrichum-novae-angliae.html?utm_source) (дата звернення: 16.10.2024).

8. New England Aster Mayernik Kitchen. URL: [https://www.mayernikkitchen.com/medicinal-plants/new-england-aster?utm\\_source](https://www.mayernikkitchen.com/medicinal-plants/new-england-aster?utm_source) (дата звернення: 16.10.2024).

9. Державна Фармакопея України : у 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : Державне підприємство «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

10. Державна Фармакопея України : у 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.

11. Bertelli A., Biagi M., Corsini M., Bains G., Cappellucci G., Miraldi E. Polyphenols: From Theory to Practice. *Foods*. 2021. Vol. 10. № 11. P. 2595. <https://doi.org/10.3390/foods10112595>.

8. Mayernik Kitchen. (n.d.). New England Aster. Retrieved October 16, 2024, from [https://www.mayernikkitchen.com/medicinal-plants/new-england-aster?utm\\_source](https://www.mayernikkitchen.com/medicinal-plants/new-england-aster?utm_source).

9. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy (2015). *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy: v 3 t. Derzhavne pidpriemstvo "Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv"* [State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 vol. State Enterprise "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for the Quality of Medicines"]. Kharkiv : State Enterprise "Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Centre for the Quality of Medicines", Vol. 2 [in Ukrainian].

10. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy (2014). *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy: v 3 t. Derzhavne pidpriemstvo "Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv"* [State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 vol. (2014). State Enterprise "Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Centre for Quality of Medicines"]. Kharkiv : State Enterprise "Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Centre for Quality of Medicines", Vol. 3 [in Ukrainian].

11. Bertelli, A., Biagi, M., Corsini, M., Bains, G., Cappellucci, G., & Miraldi, E. (2021). Polyphenols: From Theory to Practice. *Foods*, 10 (11), 2595. <https://doi.org/10.3390/foods10112595>

Адреса для листування: Л. І. Будняк, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: stoyko\_li@tdmu.edu.ua.

L. I. Budniak<sup>1</sup>, V. V. Ozhelevska<sup>1</sup>, H. I. Kramar<sup>2</sup>, S. B. Chernetska<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>I. HORBACHEVSKY TERNOPIIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY OF THE MINISTRY  
OF HEALTH OF UKRAINE  
<sup>2</sup>NATIONAL PIROGOV MEMORIAL MEDICAL UNIVERSITY, VINNYTSYA

## INVESTIGATION OF POLYPHENOLS CONTENT IN THE PHYTOSUBSTANCES FROM NEW ENGLAND ASTER HERB OBTAINED BY MACERATION WITH STIRRING

### Summary

**Introduction.** *Aster novae-angliae* L. is a perennial herbaceous plant native to North America. This species has been traditionally used for the treatment of respiratory diseases, including cough, asthma, and colds. New England aster contains a complex of biologically active substances with antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties.

**The aim of the study** – to determine the quantitative content of the total polyphenols in phytosubstances from the herb of *Aster novae-angliae* of the Andenken an Alma Pötschke variety, obtained by maceration with stirring.

**Research Methods.** The objects of the study were phytosubstances from the herb of *Aster novae-angliae* L., obtained by maceration with stirring in a raw material-to-extractant ratio of 1:10, using 10% ethanol as the extractant (series 1) and 20% ethanol (series 2). The quantitative content of the total polyphenols, recalculated as pyrogallol, was determined using the spectrophotometric method.

**Results and Discussion.** The results of the study showed that the quantitative content of total polyphenols in the phytosubstance obtained from the herb of *Aster novae-angliae* of the Andenken an Alma Pötschke variety using 10% ethanol was  $5,62 \pm 0,22\%$ . The content of total polyphenols in the phytosubstance obtained using 20% ethanol from the studied raw material was  $6,29 \pm 0,10\%$ . The conducted research established that the quantitative content of total polyphenols in the phytosubstance obtained using 20% ethanol from the herb of *Aster novae-angliae* was 1,12 times higher than in the extract obtained using 10% ethanol.

**Conclusions.** The quantitative content of total polyphenols in phytosubstances from the herb of *Aster novae-angliae* of the Andenken an Alma Pötschke variety, obtained by maceration with stirring in a raw material-to-extractant ratio of 1:10, was determined using 10 and 20% ethanol as extractants. It was established that the use of 20% ethanol extracted slightly more total polyphenols, with their quantitative content amounting to  $6,29 \pm 0,10\%$ . In the phytosubstance obtained using 10% ethanol, the total polyphenol content was  $5,62 \pm 0,22\%$ . The obtained results can serve as a basis for microbiological and pharmacological studies and can be used in the development of dietary supplements or medicinal products based on *Aster novae-angliae* L.

KEY WORDS: New England aster; *Aster novae-angliae* L.; polyphenols; phytosubstance.

Л. В. Команюк, Р. Ю. Басараба  
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

## ДОСЛІДЖЕННЯ СПОЛУК ФЕНОЛЬНОЇ ПРИРОДИ В СИРОВИНІ РУДБЕКІЇ ВОЛОСИСТОЇ

**Вступ.** Рудбекія волосиста (*Rudbeckia hirta* L.) – трав'яниста рослина родини Asteraceae, яку використовували з давніх-давен для лікування запальних захворювань, як-от застуда, виразки, та після укусів змій. Рудбекію волосисту використовують у традиційній медицині в деяких регіонах Північної Америки. Екстракти з коренів *Rudbeckia hirta* L. використовують для лікування гінекологічних захворювань і захворювань, що передаються статевим шляхом. Полісахариди, які містить рудбекія волосиста, проявляють імуномодулюючі властивості.

**Мета дослідження** – провести визначення індивідуальних компонентів флавоноїдів і кислот гідроксикоричних у траві рудбекії волосистої методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

**Методи дослідження.** Матеріалом для досліджень була трава рудбекії волосистої, яку заготовляли на території Чернівецької області. Методом високоефективної рідинної хроматографії визначали індивідуальні компоненти флавоноїдів і кислот гідроксикоричних на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200.

**Результати й обговорення.** Методом високоефективної рідинної хроматографії встановлено вісім індивідуальних компонентів флавоноїдів, серед яких рутин (1 308,96 мкг/г), ізокверцетин (97,68 мкг/г), астрагалін (43,93 мкг/г), нарингін (673,82 мкг/г), фізетин (2 381,39 мкг/г), кверцетин (800,9 мкг/г), апігенін (307,95 мкг/г), байкалеїн (562,72 мкг/г). Серед індивідуальних компонентів кислот гідроксикоричних встановлено наявність і визначено кількісний вміст кислоти хлорогенової (7 992,58 мкг/г), р-кумарової (763,85 мкг/г), кофейної (191,45 мкг/г), сирінгової (210,95 мкг/г), транс-цинамової (93,47 мкг/г), хінної (85,35 мкг/г), синапової (15,11 мкг/г), транс-ферулової (12,63 мкг/г).

**Висновки.** Визначено індивідуальні компоненти сполук фенольної природи у траві рудбекії волосистої методом високоефективної рідинної хроматографії. Установлено, що серед індивідуальних компонентів флавоноїдів найбільший вміст становили фізетин (2 381,39 мкг/г) та рутин (1 308,96 мкг/г). Серед індивідуальних компонентів кислот гідроксикоричних найбільший вміст становила кислота хлорогенова (7 992,58 мкг/г). Отримані результати свідчать про перспективність подальших поглиблених фітохімічних досліджень біологічно активних речовин трави рудбекії волосистої.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: рудбекія волосиста; *Rudbeckia hirta* L.; кислоти гідроксикоричні; флавоноїди; ВЕРХ.

ВСТУП. Одним із завдань фармацевтичної науки на сучасному етапі розвитку є пошук нових джерел ефективних препаратів. Цьому сприяє розширення асортименту лікарських рослин завдяки повному використанню власних ресурсів дикорослої сировини. Під час створення нових фітозасобів учені звертають особливу увагу на рослини, які здавна використовують у народній медицині. Перевагою фітотерапії є доступність і відносна дешевизна порівняно із синтетичними лікарськими засобами. Рослинні препарати можуть проявляти широкий терапевтичний спектр, впливати на більшість ланок патогенезу захворювання. Фітопрепарати можна тривало застосовувати, вони мають меншу кількість побічних ефектів для організму людини. Перспективною та маловивченою рослиною в цьому плані є рудбекія волосиста.

© Л. В. Команюк, Р. Ю. Басараба, 2024

Рудбекія волосиста (*Rudbeckia hirta* L.) – популярна садова трав'яниста рослина родини Asteraceae, яку використовували з давніх-давен американські індіанці для лікування запальних захворювань, як-от застуда, виразки, а також у разі укусів змій [1]. *Rudbeckia hirta* використовується у традиційній медицині в кількох регіонах Північної Америки. Наприклад, племена черокі й ірокезів використовували рослину як глистогінний засіб, у вигляді відварів, приготовлених із її коренів [2]. Також відомо, що екстракти з коренів рудбекії використовуються для лікування гінекологічних захворювань і захворювань, що передаються статевим шляхом [3].

Попередні дослідження показали, що рослини роду *Rudbeckia* володіють антимікробними властивостями [4]. Окрім того, полісахариди, які містить рудбекія, виявляють імуномодулюючу властивість [5]. Сесквітерпени, які містяться в рослинах родини

Asteraceae, тобто гермакрен D,  $\delta$ -кадинен і лактон типу псевдогваяноліду – рудбеколід, які показали значну інгібіторну активність 5-ліпоксигенази *in vitro*, також були виділені із квіток *Rudbeckia hirta* [6; 7].

Мета нашої роботи – провести визначення індивідуальних компонентів флавоноїдів і кислот гідроксикоричних у траві рудбекії волосистої методом високоефективної рідинної хроматографії (далі – ВЕРХ).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Об'єктом вивчення була трава рудбекії волосистої, яку заготовляли на території Чернівецької області.

Визначення індивідуальних компонентів флавоноїдів і кислот гідроксикоричних проводили методом ВЕРХ на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200.

Як рухому фазу для визначення флавоноїдів використовували ацетонітрил (А) і 0,1% розчин мурашиної кислоти у воді (В). Елювання проводили у градієнтному режимі: 0 хв – А (5%) : В (95%); 20 хв – А (30%) : В (70%); 30 хв – А (60%) : В (40%); 50 хв – А (100%) : В (0%); 60 хв – А (100%) : В (0%). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150 x 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку – 0,25 мл/хв, температура термостата – 30°C, об'єм інжекції – 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу за 280 та 365 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210–700 нм [8].

Як рухому фазу для визначення кислот гідроксикоричних використовували метанол (А) і 0,1% розчин мурашиної кислоти у воді (В). Елювання проводили у градієнтному режимі: 0 хв – А (25%) : В (75%); 25 хв – А (75%) : В (25%); 27 хв – А (100%) : В (0%); 35 хв – А (100%) : В (0%). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-Aq (4,6 мм  $\pm$  150 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку – 0,5 мл/хв, температура термостата – 30°C, об'єм інжекції – 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу за 250 та 275 нм і фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210–700 нм [9].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Якісний склад і кількісний вміст індивідуальних компонентів флавоноїдів у досліджуваній сировині визначали методом високоефективної рідинної хроматографії (рис. 1).

Флавоноїди є важливою групою вторинних метаболітів і джерелом біологічно активних сполук у рослинах. У траві рудбекії волосистої виявлено такі флавоноїди: рутин,

ізокверцетин, астрагалін, нарингін, фізетин, кверцетин, апігенін, байкалеїн. У таблиці 1 наведено концентрацію флавоноїдів у траві рудбекії волосистої. Найбільшу кількість серед індивідуальних сполук флавоноїдів становили фізетин (2 381,39 мкг/г) і рутин (1 308,96 мкг/г) (табл. 1).

Таблиця 1 – Результати ВЕРХ індивідуальних сполук флавоноїдів у траві *Rudbeckia hirta* L.

Час утримання, хв	Назва ідентифікованої сполуки	Кількісний вміст, мкг/г
22.23	Рутин	1 308,96
23.42	Ізокверцетин	97,68
25.63	Астрагалін	43,93
26.20	Нарингін	673,82
27.72	Фізетин	2 381,39
33.46	Кверцетин	800,90
38.68	Апігенін	307,95
39.55	Байкалеїн	562,72

Натепер флавоноїди вважаються незамінним компонентом у різноманітних нутрицевтичних, фармацевтичних, медичних і косметичних застосуваннях. Це пояснюється їхніми антиоксидантними, протизапальними, антимутагенними й антиканцерогенними властивостями в поєднанні з їхньою здатністю модулювати ключову функцію клітинного ферменту.

Аналіз ВЕРХ трави рудбекії волосистої показує наявність деяких кислот гідроксикоричних (табл. 2). Хроматограма ВЕРХ гідроксикоричних кислот трави *Rudbeckia hirta* L. наведена на рисунку 2. У сировині виявлено такі гідроксикоричні сполуки: хлорогенову кислоту, кофейну кислоту, сирінгову кислоту, *p*-кумарову кислоту, *транс*-ферулову кислоту, *транс*-цинамову кислоту та хінну кислоту (рис. 2).

Таблиця 2 – Результати ВЕРХ аналізу індивідуальних сполук кислот гідроксикоричних у траві рудбекії волосистої

Час утримання, хв	Назва ідентифікованої сполуки	Кількісний вміст, мкг/г
11.07	хлорогенова кислота	7 992,58
12.40	кофейна кислота	191,45
14.38	сирінгова кислота	210,95
16.32	<i>p</i> -кумарова кислота	763,85
17.85	<i>транс</i> -ферулова кислота	12,63
19.27	синапова кислота	15,11
22.92	<i>транс</i> -цинамова кислота	93,47
23.49	хінна кислота	85,35

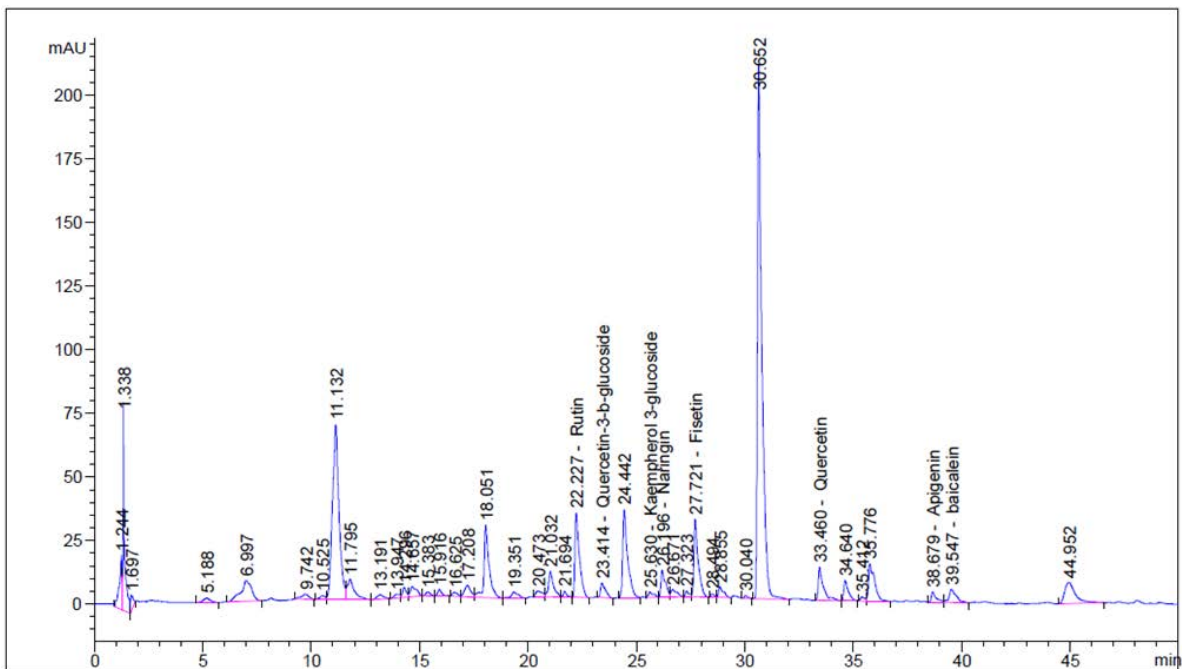


Рис. 1. ВЕРХ, хроматограма визначення флавоноїдів

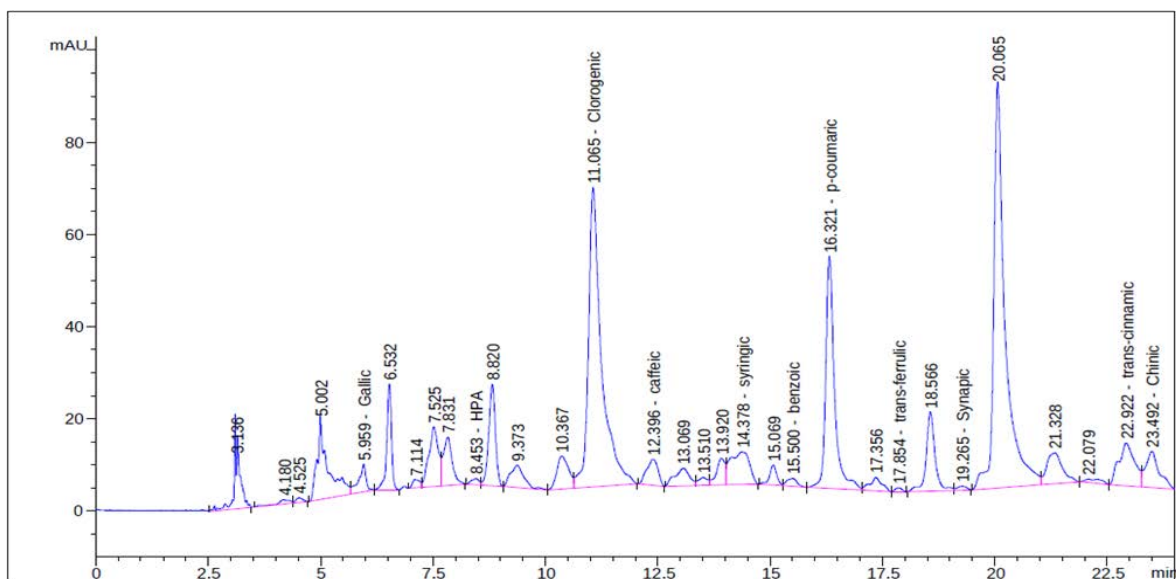


Рис. 2. Хроматограма ВЕРХ визначення кислот гідроксикоричних

Серед гідроксикоричних кислот найбільший вміст становила хлорогенова кислота (7 992,58 мкг/г) (табл. 2).

Вміст сполук фенольного характеру (кислот гідроксикоричних і флавоноїдів) із сировини рудбекії лікарської може проявляти протизапальну, антимікробну та противірусну дію.

Одержані нами результати створюють основу для подальшого фітохімічного дослідження та можуть бути використані для стандартизації трави рудбекії волосистої.

**ВИСНОВКИ.** 1. У літературних джерелах налічується значна кількість повідомлень щодо застосування рудбекії волосистої в медичній практиці з лікувальною і профілактичною метою за різних показань. Сполуки фенольної природи, які наявні в рослині, передбачають широкі перспективи щодо практичного застосування препаратів на основі *Rudbeckia hirta* L. у медицині.

2. Проведено визначення індивідуальних компонентів сполук фенольної природи

(флавоноїдів та кислот гідроксикоричних) у траві досліджуваного об'єкта методом аналізу ВЕРХ. Установлено, що серед індивідуальних сполук флавоноїдів найбільший вміст становили фізетин (2 381,39 мкг/г) і рутин (1 308,96 мкг/г). Серед гідроксикоричних

кислот найбільший вміст становила хлорогенова кислота (7 992,58 мкг/г).

3. Отримані нами результати свідчать про перспективність подальших поглиблених фітохімічних досліджень біологічно активних речовин рудбекиї волосистої.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Barker J. The encyclopedia of North American wild flowers. Bath : Parragon, 2004.

2. Branhagen A. Native Plants of the Midwest: A Comprehensive Guide to the Best 500 Species for the Garden. Portland, OR, USA : Timber Press, 2016.

3. Quattrocchi U. CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants. Boca Raton, FL, USA : CRC Press, 2012.

4. Antimycobacterial eudesmanolides from *Inula helenium* and *Rudbeckia subtomentosa* / C. Cantrell et al. *Planta Medica*. 1999. Vol. 65. P. 351–355.

5. Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants / A. Ebringerov6 et al. *Fitoterapia*. 2003. Vol. 74. P. 52–61.

6. A new highly oxygenated pseudoguaianolide with 5-LOX inhibitory activity from *Rudbeckia hirta* L. flowers / B. R. Michael et al. *Natural Product Research*. 2013. Vol. 27. P. 2281–2285.

7. The Genus *Rudbeckia*: A critical review of its traditional medicinal uses, phytochemistry, and pharmacology / E. Vardeman et al. *Journal of Herbal Medicine*. 2022. Vol. 31. Article ID: 100530. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2022.100530>.

8. Pyrzynska K., Sentkowska A. Chromatographic Analysis of Polyphenols. *Polyphenols in Plants*. Academic Press, 2019. P. 353–364.

9. Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum* L.) / B. R. Sumere et al. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2018. Vol. 48. P. 151–162.

## REFERENCES

1. Barker, J. (2004). *The encyclopedia of North American wild flowers*. Bath, Parragon.

2. Branhagen, A. (2016). *Native Plants of the Midwest: A Comprehensive Guide to the Best 500 Species for the Garden*. Portland, OR, USA: Timber Press.

3. Quattrocchi, U. (2012). *CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. ISBN 978-1-4200-8044-5.

4. Cantrell, C., Abate, L., Fronezek, F., Franzblau, S., Quijano, L., & Fischer, N. (1999). Antimycobacterial eudesmanolides from *Inula helenium* and *Rudbeckia subtomentosa*. *Planta Medica*, 65 (4), 351–355.

5. Ebringerov6, A., Kardošov6, A., Hrom6dkov6, Z., & Hřnbalov6, V. (2003). Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. *Fitoterapia*, 74 (1), 52–61.

6. Michael, B. R., Gedara, S. R., Amer, M. M. A., Stevenson, L., & Ahmed, A. F. (2013). A new highly oxygenated pseudoguaianolide with 5-LOX inhibitory activity from *Rudbeckia hirta* L. flowers. *Natural Product Research*, 27 (23), 2281–2285.

7. Vardeman, E., Lyles, J. T., & Quave, C. L. (2022). The genus *Rudbeckia*: A critical review of its traditional medicinal uses, phytochemistry, and pharmacology. *Journal of Herbal Medicine*, 31, Article 100530. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2022.100530>.

8. Pyrzynska, K., & Sentkowska, A. (2019). Chromatographic analysis of polyphenols. In *Polyphenols in Plants*, 353–364.

9. Sumere, B. R., de Souza, M. C., Dos Santos, M. P., Bezerra, R. M. N., da Cunha, D. T., Martinez, J., & Rostagno, M. A. (2018). Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum* L.). *Ultrasonics sonochemistry*, 48, 151–162.

Адреса для листування: Р. Ю. Басараба, Буковинський державний медичний університет, Театральна площа, 2, Чернівці, 58000, Україна, e-mail: roksgm09@gmail.com.

L. V. Komaniuk, R. Yu. Basaraba  
BUKOVINIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

## INVESTIGATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE RAW MATERIAL OF *RUDBECKIA HIRTA* L.

### Summary

**Introduction.** *Rudbeckia hirta* L. is an herbaceous plant of the Asteraceae family, traditionally used for the treatment of inflammatory diseases such as colds, ulcers, and snake bites. *Rudbeckia hirta* L. is utilized in traditional medicine in certain regions of North America. Extracts from the roots of *Rudbeckia hirta* L. are used for the treatment of gynecological diseases and sexually transmitted infections. Polysaccharides contained in *Rudbeckia hirta* L. exhibit immunomodulatory properties.

**The aim of the study** – to determine the individual components of flavonoids and hydroxycinnamic acids in the herb of *Rudbeckia hirta* L. using the high-performance liquid chromatography (HPLC) method.

**Research Methods.** The material for the study was the herb of *Rudbeckia hirta* L., harvested in the territory of the Chernivtsi region. Individual components of flavonoids and hydroxycinnamic acids were determined using the HPLC method on an Agilent Technologies 1200 liquid chromatograph.

**Results and Discussion.** Using the HPLC method, eight individual components of flavonoids were identified, including rutin (1 308,96  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), isoquercetin (97,68  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), astragalin (43,93  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), naringin (673,82  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), fisetin (2 381,39  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), quercetin (800,9  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), apigenin (307,95  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), and baicalein (562,72  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ). Among the individual components of hydroxycinnamic acids, the presence and quantitative content were determined for chlorogenic acid (7 992,58  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), p-coumaric acid (763,85  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), caffeic acid (191,45  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), syringic acid (210,95  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), trans-cinnamic acid (93,47  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), quinic acid (85,35  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), sinapic acid (15,11  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), and trans-ferulic acid (12,63  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ).

**Conclusions.** Individual components of phenolic compounds in the herb of *Rudbeckia hirta* L. were identified using the HPLC method. It was established that among the flavonoid components, fisetin (2 381,39  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) and rutin (1 308,96  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) had the highest content. Among the hydroxycinnamic acids, chlorogenic acid (7 992,58  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) had the highest content. The obtained results indicate the potential for further in-depth phytochemical studies of the biologically active substances in the herb of *Rudbeckia hirta* L.

KEY WORDS: **black-eyed Susan; *Rudbeckia hirta* L.; hydroxycinnamic acids; flavonoids; HPLC.**

## ВИКОРИСТАННЯ ЕКСПРЕС-БІОХІМІЧНИХ ТЕСТІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЕТІОЛОГІЇ ГОСТРОГО ТОНЗИЛІТУ В ПЕРСПЕКТИВІ ДІАГНОСТИЧНОГО ПІДХОДУ

**Вступ.** Діагностика гострого тонзиліту залишається важливим викликом сучасної медицини через різноманітність його інфекційних агентів. Диференціація етіології гострого тонзиліту є ключовим етапом у забезпеченні адекватного лікування пацієнтів. Без точного визначення етіології зростає ризик невиправданого використання антибіотиків у випадках вірусного походження захворювання. Це сприяє розвитку антибіотикорезистентності, зміні нормальної мікробіоти та виникненню побічних ефектів.

**Мета дослідження** – визначення типу збудника в пацієнтів з інфекцією ротоглотки шляхом застосування експрес-тестів для підвищення ефективності діагностики й оптимізації вибору терапевтичної стратегії.

**Методи дослідження.** Загалом було обстежено 46 пацієнтів молодого віку (25,97±7,71) з інфекцією верхніх дихальних шляхів, які проходили лікування в лікарів первинної ланки. Для визначення етіології збудників використовували імунохроматографічні тести з таким набором антигенів: аденовірусів, респіраторно-синцитіального вірусу, вірусів грипу А/В, Covid-19, стрептокока групи А.

**Результати й обговорення.** За результатами експрес-тестів, які проводили пацієнтам із симптомами гострих респіраторних інфекцій, було виявлено 10,41% позитивних результатів бактеріального генезу, а саме стрептестів, 70,83% – вірусного та 18,75% недіагностованої етіології. Аденовірусна інфекція була найпоширенішою, діагностована у 12 пацієнтів (26,7%), мала статистично значуще підвищення ризику інфекції (ДВШ = 2,67) у порівнянні з референтною групою. Респіраторно-синцитіальний вірус було виявлено у 8 пацієнтів (17,8%), (ДВШ = 1,89). Грип А/В (зокрема, у комбінації) діагностовано в 5 випадках (11,1%), (ДВШ = 1,34). Стрептокок групи А – підтверджено в 4 пацієнтів (8,9%), (ДВШ = 1,12). Мікст-інфекції, зокрема стрептокок групи А в поєднанні з аденовірусом, чи аденовірус + грип А/В, або грип із респіраторно-синцитіальним вірусом, виявлено у 5 пацієнтів (11,1%), (ДВШ = 1,42). У 9 пацієнтів (20%) причина залишилася недіагностованою, що служило референтною групою для розрахунків.

**Висновки.** Одержані результати підтверджують важливість використання швидких діагностичних тестів для встановлення етіології збудника гострого тонзиліту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бактерії; віруси; тонзиліт; запалення; експрес-тести.

ВСТУП. Діагностика гострого тонзиліту залишається важливим викликом сучасної медицини через різноманітність його інфекційних агентів [1]. Диференціація етіології гострого тонзиліту є ключовим етапом у забезпеченні адекватного лікування пацієнтів. Гострий тонзиліт може бути спричинений різними патогенами: бактеріальними, як-от *Streptococcus pyogenes* ( $\beta$ -гемолітичний стрептокок групи А), або вірусними, як-от аденовіруси, риновіруси чи вірус Епштейна – Барр, грипу А/В, коронавірусів та інших вірусів [2; 3]. Хоча клінічні прояви цих захворювань подібні (біль у горлі, підвищення температури, набряк мигдаликів), підхід до лікування принципово різних.

Без точного визначення етіології зростає ризик невиправданого використання антибіотиків у випадках вірусного походження

захворювання. Це сприяє розвитку антибіотикорезистентності, зміні нормальної мікробіоти та виникненню побічних ефектів [4]. З іншого боку, відсутність або затримка у призначенні антибіотиків у разі наявності стрептококової інфекції можуть призводити до ускладнень, як-от гостра ревматична лихоманка чи гломерулонефрит.

Швидкі біохімічні тести забезпечують можливість точної та швидкої диференціації бактеріальних і вірусних причин гострого тонзиліту [5]. Вони дають змогу виявляти *Strept. pyogenes* або інші патогени з високою специфічністю та чутливістю. Окрім того, сучасні тести з біомаркерами, як-от С-реактивний білок (CRP) або прокальцитонін, дозволяють визначити ступінь запалення та спрямувати лікаря на етіологічний діагноз навіть у складних випадках [6].

Своєчасне використання таких тестів не тільки скорочує час до постановки діагнозу,

але й знижує витрати на лікування. Також це сприяє уникненню емпіричного призначення антибіотиків, покращує якість лікування та сприяє раціональному використанню ресурсів. Подальші дослідження в цій сфері сприятимуть оптимізації алгоритмів діагностики та лікування гострого тонзиліту. Уникнення невиправданого використання антибіотиків є одним із пріоритетів у боротьбі з антибіотикорезистентністю [7]. Для цього необхідна точна та швидка диференціація бактеріальних збудників, як-от *Strep. pyogenes*, від вірусних причин захворювання.

**Метою дослідження** є визначення типу збудника в пацієнтів з інфекцією ротоглотки шляхом застосування експрес-тестів для підвищення ефективності діагностики й оптимізації вибору терапевтичної стратегії.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Загалом було обстежено 46 пацієнтів молодого віку ( $25,97 \pm 7,71$ ) з інфекцією верхніх дихальних шляхів, які проходили лікування у фахівців первинної ланки. Учасників дослідження відбирали за такими ознаками, як: висока температура тіла, наявність болю в горлі, а також наявність таких симптомів, як чхання, кашель, нежить. Для постановки діагнозу керувалися уніфікованим клінічним протоколом первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Тонзиліт [8]. Під час проведення дослідження керувались рекомендаціями, викладеними в конвенції Ради Європи про права людини та біомедицини, а також етичними принципами щодо участі в дослідженнях людських суб'єктів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації, наказом № 690 МОЗ України від 23 вересня 2009 р., а також вимогам комітету з біоетики Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України. Усі пацієнти дали інформаційну згоду на участь у дослідженні.

Для визначення етіології збудників використовували імунохроматографічні тести з таким набором антигенів: аденовірусів, респіраторно-синцитіального вірусу, вірусів грипу А/В, Covid-19, стрептокока групи А. Виявлення антигенів вірусів і стрептокока групи А, що спричиняють респіраторні інфекції, базується на імунохроматографічному аналізі. Антигени кожного зі збудників захворювання виявляють за допомогою окремої імунохроматографічної смужки, під час тестування зразок, що тестується, поглинається ділянкою зони для внесення зразка та

мігрує по капілярам мембрани. Якщо досліджуваний зразок містить антигени збудника інфекції, то вони вступають у реакцію із забарвленим кон'югантом із моноклональними антитілами до антигенів і утворюють комплекс з антитілами, які були нанесені на мембрану. Результатом такої взаємодії є поява кольорової лінії в тестовій зоні. Наявність лінії в тестовій ділянці мембранної смужки вказує на позитивний результат, тоді як відсутність її – на негативний результат тесту.

Статистичну обробку числових даних проводили за допомогою програмного забезпечення *Excel* (Microsoft Office, США). Для встановлення нормальності розподілу клінічних результатів використовували тест Колмогорова – Смирнова, для оцінювання діагностичного відношення шансів (далі – ДВШ) і 95% довірчих інтервалів (далі – ДІ) використано модель логістичної регресії. Ця модель була відкоригована за типами антигенів (аденовірусів, респіраторно-синцитіального вірусу, вірусів грипу А/В, Covid-19, стрептокока групи А), які спричиняють інфекцію, згруповано за категоріями, щодо кількості виявлених антигенів, моноінфекція й інфекція, спричинена кількома збудниками (далі – мікст-інфекції), референтною групою було обрано «недіагностовані» зразки.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** За допомогою експрес-тестів, які проводили пацієнтам із симптомами гострих респіраторних інфекцій, було виявлено 10,41% позитивних результатів бактеріального генезу, а саме стрептестів, 70,83% вірусного, 18,75% недіагностованої етіології (рис. 1). Серед позитивних тестів вірусної етіології найбільше було виявлено антигенів аденовірусів – 44,44%, респіраторно-сенсивіальних вірусів і вірусів грипу А/В – по 25,0% кожного, 5,55% – Covid-19.

За допомогою моделі логістичної регресії з отриманих результатів імунохроматографічних тестів пацієнтів з інфекціями дихальних шляхів, а саме гострого тонзиліту, з оцінюванням діагностичного відношення шансів (ДВШ) отримано такі результати (табл. 1). Аденовірусна інфекція була найпоширенішою, діагностовано у 12 пацієнтів (26,7%), мала статистично значуще підвищення ризику інфекції (ДВШ = 2,67, ДІ: 1,23–5,76) порівняно з референтною групою. Респіраторно-синцитіальний вірус було виявлено у 8 пацієнтів (17,8%), ДВШ = 1,89 (ДІ: 0,85–4,18). Грип А/В (зокрема, у комбінації) діагностовано в 5 випадках (11,1%),

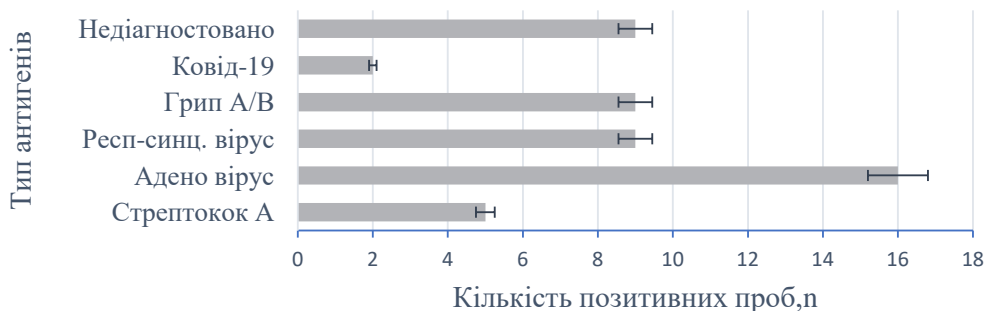


Рис. 1. Результати експрес-тестів хворих на гострий тонзиліт

Таблиця 1 – Оцінювання частоти виявлення антигенів у досліджуваних імунохроматографічних тестах

Типи антигенів в імунохроматографічних тестах	Пацієнти (n = 45)	ДВШ (Відн. до «недіагностован.»)	ДІ, 95%
Стрептокок А	4	0,39	0,14–1,09
Аденовірус	12	1,45	0,75–2,82
Респ.-синц. вірус	8	0,86	0,40–1,86
Грип А/В	5	0,50	0,20–1,27
Covid-19	2	0,19	0,05–0,77
Недіагностовано (референсна група)	9	1,00	0,48–2,08
Стрептокок А + Аденовірус	1	0,09	0,01–0,66
Грип А/В + Респ.-синц. вірус	1	0,09	0,01–0,66
Грип А/В + Аденовірус	3	0,29	0,09–0,92

Примітка: 95% CI: якщо довірчий інтервал не включає 1, результат статистично значущий.

ДВШ = 1,34 (ДІ: 0,52–3,44). Стрептокок групи А підтверджено в 4 пацієнтів (8,9%), ДВШ = 1,12 (ДІ: 0,40–3,16). Мікст-інфекції, зокрема стрептокок групи А в поєднанні з аденовірусом, чи аденовірус+ грип А/Б, або грип із респіраторно-синцитіальним вірусом, виявлено в 5 пацієнтів (11,1%), ДВШ = 1,42 (ДІ: 0,54–3,75). У 9 пацієнтів (20%) причина залишилась недіагностованою, що служило референтною групою для розрахунків.

Аналіз показав, що вірусна природа захворювання домінує в більшості випадків, що узгоджується з літературними даними [9; 10]. Проте стрептококова інфекція також відіграє суттєву роль, особливо у групах із супутніми мікст-інфекціями [11; 12]. Дотримання клінічних настанов, які рекомендують використовувати експрес-тести для визначення етіології інфекції, дозволить підвищити точність вибору терапії й уникнути невиправданого застосування антибіотиків, якщо збудником

є стрептококи групи А. Одержані результати підтверджують важливість використання швидких діагностичних тестів для встановлення етіології збудника гострого тонзиліту.

**ВИСНОВКИ.** На основі проведеного дослідження встановлено, що застосування експрес-тестів дозволяє швидко та точно ідентифікувати тип збудника в пацієнтів з інфекцією ротоглотки. Це сприяє підвищенню ефективності діагностичного процесу й оптимізації вибору раціональної терапевтичної стратегії, що покращує клінічні результати лікування. Вірусна природа гострого тонзиліту домінувала в 75% випадків, із значною часткою аденовірусної інфекції. Бактеріальні інфекції, зокрема стрептокок групи А, траплялися рідше, але їхнє значення посилювалось за наявності мікст-інфекцій. Найвищий відносний ризик був пов'язаний з аденовірусними інфекціями (OR = 2,67).

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Acute Tonsillitis in Covid-19 Patients: Case Report / D. E. El Hennawi, et al. *Acta Scientifica Otolaryngology*. 2023. № 5.8 P. 13–16
2. The profile of microorganisms that associate with acute tonsillitis in children and their antibiotics sensitivity pattern in Nigeria / M. D. Ughasoro et al. *Sci Rep*. 2021. № 11. e20084. DOI: 10.1038/s41598-021-99570-9.
3. Long-term impact of an intervention on rapid antigen detection tests in acute pharyngitis / J. M. Molero et al. *Aten Primaria*. 2020. № 9. P. 637–644. DOI: 10.1016/j.aprim.2020.02.016.
4. Efficiency of Rapid Antigen Test in Diagnosis of Acute Streptococcal Tonsillopharyngitis / T. Acar et al. *Clin Exp Health Sci*. 2019. № 9. P. 241–245. DOI: 10.33808/marusbed.600033.
5. Comparison of rapid antigen screening test results and laboratory findings in patients with acute tonsillitis / Ç. Hizli et al. *Ortadoğu Tip Dergisi*. 2018. 10. № 2. P. 89–92. DOI: 10.21601/ortadogutipdergisi.376703.
6. Procalcitonin for Diagnosis, Risk Assessment, and Prognosis of Respiratory Tract Infections / J. R. Yancey et al. *Am Fam Physician*. 2022. 106. № 3. P. 333–334.
7. Role of C reactive protein and procalcitonin in the diagnosis of lower respiratory tract infection in children in the outpatient setting / A. Pírez-Lypez et al. *Prat-Aymerich BMJ*. 2021. 373. n1409. DOI: 10.1136/bmj.n1409.
8. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Тонзиліт. 2021. URL: [https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/04/2021\\_639\\_kn\\_tonzylit.pdf](https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/04/2021_639_kn_tonzylit.pdf) (дата звернення: 20.10.2024).
9. Group A Streptococcus pharyngitis in Children: New Perspectives on Rapid Diagnostic Testing and Antimicrobial Stewardship / J. F. Cohen et al. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2024. 13. № 4. P. 250–256. DOI: 10.1093/jpids/piae022.
10. Rapid strep testing in children with recently treated streptococcal pharyngitis / J. A. Barakat et al. *Pediatr Investig*. 2019. 3. № 1. P. 27–30. DOI: 10.1002/ped4.12109.
11. A scoring system for management of acute pharyngo-tonsillitis in adults / M. Suzumoto et al. *Auris Nasus Larynx*. 2009. 36. № 3. P. 314–20. DOI: 10.1016/j.anl.2008.07.001.
12. Detection of group A streptococcus in children with confirmed viral pharyngitis and antiviral host response / L. Ivaska et al. *Eur J Pediatr*. 2022. 181. № 12. P. 4059–4065. DOI: 10.1007/s00431-022-04633-2.

#### REFERENCES

1. ElHennawi, D. E., RifaatAhmed, M., TEITabbakh, M., & Hassan Eid M. (2023). Acute Tonsillitis in COVID-19 Patients: Case Report. *Acta Scientifica Otolaryngology*, 5.8, 13–16.
2. Ughasoro, M. D., Akpeh, J. O., Echendu, N. (2021). The profile of microorganisms that associate with acute tonsillitis in children and their antibiotics sensitivity pattern in Nigeria. *Sci Rep*, 11, 20084. DOI: 10.1038/s41598-021-99570-9.
3. Molero, J. M., Cordoba, G., Lypez-Valc6rcel, B. G., Moragas, A., Losa, J. E., & Llor C. (2020). Long-term impact of an intervention on rapid antigen detection tests in acute pharyngitis. *Aten Primaria*, 52 (9), 637–644. DOI: 10.1016/j.aprim.2020.02.016.
4. Acar, T., Ertekin, B., Girisgin, A. S., Esma Ozturk, & Bilgi S. (2019). Efficiency of Rapid Antigen Test in Diagnosis of Acute Streptococcal Tonsillopharyngitis. *Clin Exp Health Sci*, 9, 241–245. DOI: 10.33808/marusbed.600033.
5. Hizli, Ö., Sivrikaya, C., Ulusoy, H., Sarisoy, Z. A., Sarisoy, A. B., Yildirim, G., & Uzcan, K. M. (2018). Comparison of rapid antigen screening test results and laboratory findings in patients with acute tonsillitis. *Ortadoğu Tip Dergisi*, 10 (2), 89–92. DOI: 10.21601/ortadogutipdergisi.376703.
6. Yancey, J. R., Nelson, M. D., Whalen, N. J. (2022). Procalcitonin for Diagnosis, Risk Assessment, and Prognosis of Respiratory Tract Infections. *Am Fam Physician*, 106 (3), 333–334.
7. Pírez-Lypez, A., Irwin, A., Rodrigo, C. & Prat-Aymerich, C. (2021) Role of C reactive protein and procalcitonin in the diagnosis of lower respiratory tract infection in children in the outpatient setting. *BMJ*, 373, n1409. DOI: 10.1136/bmj.n1409.
8. Unifikovanomu klinichnomu protokoli pervynnoi, vtorynnoi (spetsializovanoi) ta tretynnoi (vysokospetsializovanoi) medychnoi dopomohy (2021). [Unified clinical protocol for primary, secondary (specialized) and tertiary (highly specialized) medical care. Tonsillitis] [in Ukrainian]. Retrieved from [https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/04/2021\\_639\\_kn\\_tonzylit.pdf](https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/04/2021_639_kn_tonzylit.pdf).
9. Cohen, J. F., Tanz, R. R., Shulman, S. T. (2024) Group A Streptococcus pharyngitis in Children: New Perspectives on Rapid Diagnostic Testing and Antimicrobial Stewardship. *J Pediatric Infect Dis Soc*, 13(4), 250–256. DOI: 10.1093/jpids/piae022.
10. Barakat, A. J., Evans, C., Gill, M., & Nelson, D. (2019). Rapid strep testing in children with recently treated streptococcal pharyngitis. *Pediatr Investig*, 3 (1), 27–30. DOI: 10.1002/ped4.12109.
11. Suzumoto, M., Hotomi, M., Billal, D. S., Fujihara, K., Harabuchi, Y., & Yamanaka, N. (2009). A scoring system for management of acute pharyngo-tonsillitis in adults. *Auris Nasus Larynx*, 36 (3), 314–320. DOI: 10.1016/j.anl.2008.07.001.
12. Ivaska, L., Niemelä, J., Gröndahl-Yli-Hannuksela, K., Putkuri, N., Vuopio, J., Vuorinen, T., .....& Peltola, V. (2022). Detection of group A streptococcus in children with confirmed viral pharyngitis and antiviral host response. *Eur J Pediatr*, 181 (12), 4059–4065. DOI: 10.1007/s00431-022-04633-2.

## USE OF EXPRESS BIOCHEMICAL TESTS TO DETERMINE THE ETIOLOGY OF ACUTE TONSILLITIS IN THE PERSPECTIVE OF A DIAGNOSTIC APPROACH

### Summary

**Introduction.** The diagnosis of acute tonsillitis remains a significant challenge in modern medicine due to the variety of infectious agents involved. Differentiation of the etiology of acute tonsillitis is a critical step in ensuring appropriate treatment for patients. Without accurate determination of the cause, there is a higher risk of unwarranted antibiotic use in cases of viral infections. This contributes to the development of antibiotic resistance, disruption of normal microbiota, and the occurrence of side effects.

**The aim of the study** is to determine the type of pathogen in patients with oropharyngeal infection by using rapid tests to increase the efficiency of diagnosis and optimize the choice of therapeutic strategy.

**Research Methods.** A total of 46 patients (mean age  $25,97 \pm 7,71$  years) with upper respiratory tract infections were examined, all of whom were treated by primary care physicians. Immunochromatographic tests were employed to determine the etiology of the pathogens. These tests included antigen panels for adenoviruses, respiratory syncytial virus, influenza viruses A/B, Covid-19, and group A Streptococcus.

**Results and Discussion.** According to the results of rapid tests conducted on patients with symptoms of acute respiratory infections, 10,41% of cases were of bacterial origin, as confirmed by streptococcal tests, 70,83% were viral, and 18,75% had undiagnosed etiology. Adenoviral infection was the most common, diagnosed in 12 patients (26,7%), and was associated with a statistically significant increased risk of infection (OR = 2,67) compared to the reference group. Respiratory syncytial virus (RSV) was detected in 8 patients (17,8%) with an odds ratio (OR) of 1,89. Influenza A/B (including in combination with other pathogens) was identified in 5 cases (11,1%), with an OR of 1,34. Group A Streptococcus was confirmed in 4 patients (8,9%), with an OR of 1,12. Mixed infections, such as group A Streptococcus combined with adenovirus or adenovirus with influenza A/B or influenza with RSV, were observed in 5 patients (11,1%), with an OR of 1,42. In 9 patients (20%), the etiology remained undiagnosed, serving as the reference group for statistical calculations.

**Conclusions.** The obtained results highlight the importance of using rapid diagnostic tests to determine the etiology of pathogens causing acute tonsillitis.

KEY WORDS: **bacteria; viruses; tonsillitis; inflammation; rapid tests.**

Є. Р. Луців, Т. Я. Ярошенко  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

## РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДНЮ ПРИ ЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНИХ ПРОЦЕСАХ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

**Вступ.** Сприятливий вплив молекулярного водню ( $H_2$ , диводню) було підтверджено на багатьох моделях захворювань і в дослідженнях на людях протягом останнього десятиліття, а кількість рецензованих статей про водневу біомедицину перевищила 800, починаючи із 2005 року і дотепер. Для оцінювання терапевтичного потенціалу  $H_2$  було проведено понад два десятки клінічних випробувань. Було продемонстровано, що застосування додаткового молекулярного водню покращує низку клінічних ознак за різних захворювань. Це нервово-м'язові, нейродегенеративні та психічні захворювання, серцево-судинні захворювання, метаболічний синдром і діабет, гострі травми м'яких тканин і шкірні патології, захворювання нирок, запальні захворювання і рак. Зараз активно ведуться дослідження щодо доцільності застосування в разі Covid-19, а також щодо застосування з метою покращення витривалості спортсменів, навіть є дослідження, де йдеться про здатність водневої води сповільнювати старіння людського організму.

**Мета дослідження** – висвітлити загальні характеристики та терапевтичні властивості молекулярного водню, механізми взаємодії з організмом водню та сполук із ним, стратегії введення в організм, а також доцільність застосування в разі наявності нейродегенеративних розладів на прикладі конкретних захворювань (хвороба Паркінсона, Альцгеймера, розсіяний склероз і судинна деменція).

**Висновки.** Аналіз літературних джерел показав, що молекулярний водень і сполуки з ним (сірководень і комплексна терапія в поєднанні з оксидом азоту) виявляють виразну антиоксидантну та нейропротекторну дію, що робить доцільним їх використання в допоміжній терапії в разі нейродегенеративних захворювань.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** молекулярний водень; окисний стрес; нейродегенеративні захворювання; гідрогенізована вода; оксид азоту.

Молекулярний водень ( $H_2$ ) – найлегший і найпоширеніший елемент в атмосфері Землі. Його розглядають як новий тип природного антиоксиданту з низькою здатністю вступати в реакцію з більшістю біомолекул, що має потенційні терапевтичні ефекти. Фактично молекулярний водень при вдиханні може швидко дифундувати через альвеоли у кров і циркулювати по всьому тілу під час дихання. Потім, з огляду на його низьку відносну молекулярну масу і відсутність полярності,  $H_2$  може швидко проникати через клітинну мембрану і дифундувати в цитоплазму, ядро й інші органели, деякою мірою взаємодіяти з ними. Окрім того, диводень проходить через гематоенцефалічний бар'єр, тоді як більшість антиоксидантних сполук не мають такої проникної здатності. Як м'який газ  $H_2$  не виявляє цитотоксичності в організмі, а також не має прямого впливу на фізіологічні показники, як-от температура тіла, кров'яний тиск, рН або  $pO_2$  [1]. Однак він може відігравати протизапальну й антиоксидантну роль, безпосередньо впливати на транспорт електронів у мітохондріях

і нейтралізувати окиснювальний стрес, з метою зменшення пошкодження мітохондрій або шляхом балансування гомеостазу внутрішньоклітинного середовища та впливу на транскрипцію ключових регуляторних білків запалення [2; 3].

У 2007 р. японський учений виявив, що вдихання низьких концентрацій  $H_2$  може значно пригнічувати церебральні ішемічно-реперфузійні (далі – І/Р) пошкодження й інсульти в щурів шляхом буферизації окисного стресу [4]. З того часу біомедичні ефекти  $H_2$ , головним чином антиоксидантні, протизапальні та протиапоптичні, досліджувалися і продовжують надалі вивчатись у багатьох клітинних, тваринних і клінічних дослідженнях. Водневу терапію нещодавно було включено до протоколу ведення пацієнтів із COVID-19 у Китаї (Китайські клінічні рекомендації (7-е видання) щодо діагностики та лікування пневмонії COVID-19, видані Національною комісією охорони здоров'я Китаю). На основі обширних експериментальних і клінічних досліджень було виявлено, що вдихання суміші 66,6%  $H_2$  і 33,3% кисню значно знижує швидкість погіршення

респіраторної функції легень у разі нової коронавірусної інфекції, розвиток емфіземи та запальних реакцій у легеневій тканині за наявності різних гострих і хронічних захворювань [2], а також щодо застосування з метою покращення витривалості спортсменів [5], навіть є дослідження, де йдеться про здатність водневої води сповільнювати старіння людського організму [6].

*Шляхи надходження молекулярного водню в організм.* Стратегії введення  $H_2$  у тваринних моделях і дослідженнях на людях умовно поділяють на три типи: вдихання газу  $H_2$ , уживання води, у якій розчинений  $H_2$  (так звана гідрогенізована вода), та ін'єкції розчиненого  $H_2$  у фізіологічному розчині. Нещодавно також були розроблені системи доставки наноматеріалів. Однак ефекти всіх стратегій доставки залежать від розчинності  $H_2$  у воді, фізіологічному розчині або крові. У сучасних технологіях часто поєднують використання води, насиченої гідрогеном, з оксидом азоту. Таке поєднання пояснюється тим, що молекулярний водень регулює рівень NO завдяки зменшенню надмірного вироблення (наприклад, у результаті пригнічення активності iNOS), а також його збільшенню (наприклад, через посилення активності eNOS). Саме тому регулювання молекулярним воднем NO має вирішальне значення: з одного боку – для посилення його корисних терапевтичних ефектів, а з іншого – для пом'якшення шкідливих наслідків [2].

Останнім часом усе частіше, особливо в неврології, почали використовувати сполуку гідроген сульфід, оскільки сірководень ( $H_2S$ ) був визначений як модулятор запалення, окисного стресу, з нейропротекторною дією. Сірководень ( $H_2S$ ), що виробляється ендогенними джерелами, підтримується на низькому рівні в центральній нервовій системі (далі – ЦНС). Однак за наявності розладів, що впливають на ЦНС, було виявлено порушення біосинтетичного та катаболічного шляхів метаболізму  $H_2S$  [7]. За нейродегенеративних станів використання сполук, що вивільняють  $H_2S$ , продемонструвало нейропротекторну роль у разі введення у фізіологічних концентраціях (приблизно від 20 до 300 мкМ) [8]. Незважаючи на опис численних молекулярних механізмів, потенціал сполук на основі  $H_2S$  у лікуванні або профілактиці неврологічних розладів, залишається невирішеною низка проблем, зокрема і швидке вивільнення  $H_2S$ , його швидкий метаболізм *in vivo*, ефективна здатність сполук на основі

$H_2S$  проникати через гематоенцефалічний бар'єр (далі – ГЕБ), а також оптимізація лабораторних методів вимірювання рівнів  $H_2S$  у тканинах і клітинах.

Найбільш практичним методом введення молекулярного водню в організм є вживання води, насиченої  $H_2$ , що забезпечує зручність і доступність терапії. Проте цей підхід має обмеження, зумовлені низькою розчинністю молекулярного водню у воді [9]. За нормального атмосферного тиску та кімнатної температури насичення розчиненого водню досягає 0,78 мМ (1,57 мг/л) [10]. Цей чинник є важливим, оскільки часто ускладнює досягнення необхідної дози  $H_2$  для повного терапевтичного ефекту. Окрім того, варто враховувати, що воднева вода потребує негайного використання через короткий час збереження концентрації  $H_2$ , а також значні втрати (>90%) водню під час нормального видиху [11]. Це свідчить про значне поглинання  $H_2$  у шлунково-кишковому тракті та кровоносній системі, з подальшим транспортуванням до легень і видиханням. Водночас розподіл водню між різними органами та тканинами після споживання водневої води є нерівномірним, а проникнення  $H_2$  у клітини мозку за цього методу введення залишається мінімальним [12], що може мати принципове значення для визначення показань до його клінічного застосування.

Альтернативним методом введення  $H_2$  в організм є застосування ін'єкцій або інфузій ізотонічного розчину натрію хлориду, насиченого воднем [13]. Цей метод має як переваги, так і недоліки. Зокрема, він забезпечує точне дозування  $H_2$ , можливість використання різних концентрацій, підвищену біодоступність для органів-мішеней і локалізовану дію на окремі ділянки тканин, але водночас пов'язаний із ризиком інвазивності, потенційним інфікуванням і потребує участі кваліфікованого медичного персоналу. Застосування розчинів  $H_2$  здійснюється переважно внутрішньовенно для пацієнтів або внутрішньочеревно в експериментальних дослідженнях на лабораторних тваринах [14]. На нашу думку, клінічний потенціал цього шляху введення ще не повністю розроблений, про що свідчить багатий досвід внутрішньовенної озонотерапії, також заснованої на дії медичного газу [15].

Як згадувалося раніше, різні шляхи введення відрізняються не тільки за своєю близькістю до точки впливу, але і за своєю фармакокінетикою [9]. Зокрема, було виявлено, що концентрація водню у крові швидко

зростає після інгаляції, але через 3 хв після припинення вона знижується до 1/40 пікового значення. До того ж кількість водню в артеріальній крові завжди перевищує таку у венозній крові, що може свідчити про дифузію газу у тканини [16]. Установлено, що пікові концентрації  $H_2$  за інгаляції та споживання водневої води досягаються в однаковий час (наприклад, через 10–30 хв залежно від дози або концентрації). Проте тривалість перебування  $H_2$  в організмі до повернення до базового рівня перевищує 30 хвилин. Зазначається, що вплив на молекулярні каскади, як-от експресія NF- $\kappa$ B та інших регуляторних білків у печінковій тканині, є більш вираженим у разі застосування водневої води. Окрім того, комбінування її споживання з інгаляцією  $H_2$  значно підсилює цей ефект [17]. Цікаво, що тканинна концентрація  $H_2$  була значно вищою та зберігалася протягом більш тривалого часу після вдихання порівняно із прийомом водневої води [12]. У разі внутрішньовенного введення ізотонічних розчинів, насичених воднем, пікове значення концентрації  $H_2$  у видихуваному повітрі досягається вкрай швидко, приблизно за 1 хвилину [18].

Отже, натеper існує широкий спектр шляхів уведення молекулярного водню в організм, що різняться не тільки топічними та фізико-хімічними параметрами, але й фармакокінетикою дії молекули.

Окиснювальний стрес – це стан, у якому надмірна кількість активних форм кисню (далі – АФК) перевантажує біологічну антиоксидантну здатність, що призводить до порушення гомеостазу АФК і пошкодження клітин. Для клітин важливо підтримувати помірний рівень АФК для виконання нормальних фізіологічних функцій, отже, надмірний рівень АФК спричиняє окиснювальне пошкодження ДНК, мітохондрій і ліпідів, що може призвести до загибелі клітин [19]. Окиснювальний стрес також може спричинити запальні реакції, які можуть ще більше посилити окиснювальний стрес, що, як наслідок, може призвести до хронічного запалення, патологічні стани якого провокують різні захворювання, зокрема й серцево-судинні [20], метаболічний синдром і діабет [21; 22], нейродегенеративні розлади, рак [23] тощо [24]. Тому немає сумнівів, що окиснювальний стрес відіграє центральну роль у патогенезі деяких хронічних захворювань, а як уже доведено, поширені розлади, як-от гіпертонія, діабет, атеросклероз і розсіяний склероз, пов'язані саме з окиснювальним стресом. Важливо

розуміти, терапевтичні стратегії повинні бути спрямовані саме на зменшення утворення активних форм кисню, а не просто на призначення антиоксидантів.

Молекулярний водень контролює трансдукцію сигналу й експресію генів, пригнічує прозапальні цитокини та зменшує виробництво активних форм кисню, що власне і призводить до активації антиоксидантного транскрипційного ядерного чинника, пов'язаного з еритроїдним фактором 2 (Nrf2) (що регулює виробництво детоксикаційних ферментів, зокрема, S-трансферазу глутатіону, і гальмує сигнальні фактори (NF- $\kappa$ B)) [25]. Як було згадано раніше, доведено, що молекулярний водень має пом'якшувальні властивості в разі виникнення окиснювального стресу клітин завдяки своїм протизапальним і антиапоптозним властивостям, оскільки із цим зменшенням окиснених макромолекул відбувається зменшення пошкоджень клітин і мітохондрій [26].

Водень діє як терапевтичний антиоксидант, вибірково зменшує цитотоксичні радикали кисню, зокрема й гідроксильний радикал ( $\cdot$ OH) і пероксинітрил (ONOO $^-$ ), чим і зумовлена, як було сказано раніше, здатність молекулярного водню знижувати окиснювальний стрес, а також запобігати гіперліпідемії, тому його особливо доречно використовувати для профілактики та лікування захворювань серцево-судинної та нервової систем [2; 27]. Як відомо, нейроцити, наприклад, мають високий рівень метаболізму, який призводить до постійного утворення вільних радикалів унаслідок окиснювальних реакцій. Очевидно, що під час перебігу будь-яких захворювань головного чи спинного мозку антиоксидантний захист значно послаблюється, що спричиняє руйнацію структури нейроцитів і навіть може спричинити загальну інтоксикацію організму.

Як ідеальний антиоксидант водень має деякі переваги: він може проникати через біомембрани і дифундувати в цитозоль, мітохондрії та ядро, саме таким чином він здатний захищати ядерну ДНК і мітохондрії, водночас зменшувати окисне пошкодження, яке виникає між біологічними молекулами та гідроксильними радикалами [2; 28]. Із цим зменшенням окиснених макромолекул, відповідно, відбувається зменшення пошкоджень клітин і мітохондрій. Ще одна додаткова перевага водню полягає в тому, що навіть у високих концентраціях він не виявляє цитотоксичності і є абсолютно безпечним для організму.

Проте нинішні обмеження водневої терапії включають складність досягнення довготривалого ефективного накопичення водню у вогнищі захворювання за допомогою традиційних шляхів уведення, як-от інгаляція газоподібного водню, пероральне вживання води, збагаченої воднем, ін'єкції збагаченого воднем фізіологічного розчину. Це пов'язано з низькою розчинністю водню, яка становить приблизно 1,6 ppm [29].

Роль водню має велике значення для модуляції критичних клітинних функцій, зокрема нейронів, астроцитів і мікроглії. Ці функції включають активацію програми апоптозу, транспорт іонів і мобілізацію кальцію, які беруть участь в ексайтотоксичності. Отже, дві основні причини загибелі нейронів – це ексайтотоксичність і апоптоз. Функція мітохондрій у процесі апоптозу має велике значення. Безліч апоптичних шляхів беруть свій початок із мітохондрій. Дихальний ланцюг мітохондрій, який генерує клітинну енергію шляхом окисного фосфорилування, відповідає за більшість АФК, включаючи основний АФК, що утворюється, супероксид-аніон, дисфункція мітохондрій, що визначається як порушення виробництва клітинної енергії, апоптоз і надмірне утворення АФК є кінцевим загальним патогенетичним механізмом як за старіння, так і в разі наявності нейродегенеративних захворювань, як-от хвороба Альцгеймера (далі – ХА), хвороба Паркінсона (далі – ХП), розсіяний склероз (далі – РС), бічний аміотрофічний склероз (далі – БАС) та багато інших [30].

Неполярна природа і низька молекулярна маса (2 Да) молекулярного водню полегшують його проникнення через біологічні мембрани. Це має особливе значення для центральної нервової системи (ЦНС), оскільки водень може проникати через мембрани, що утворюють гематоенцефалічний бар'єр (далі – ГЕБ), який відіграє вирішальну роль у захисті ЦНС. Унікальні характеристики молекулярного водню включають його здатність проникати через мембрани ГЕБ і отримувати необмежений доступ до ЦНС, який мають лише кілька інших терапевтичних агентів. Спостережувані ефекти водню також були пов'язані із пригніченням набряку мозку і неврологічного дефіциту. Окрім того, було виявлено, що  $H_2$  зменшує набряк мозку і зменшує об'єм інфаркту в моделі неонатальної черепно-мозкової травми в мишей. Інші дослідження продемонстрували, що введення додаткового молекулярного водню

покращує клінічні характеристики в пацієнтів з нервово-м'язовими та нейродегенеративними захворюваннями [31].

Проте в розгляді механізмів, що лежать в основі протизапальних ефектів молекулярного водню в мозку, важливо враховувати як нейроімунологічні взаємодії, так і перехресні перешкоди з окисним стресом, наприклад, помітні захисні ефекти, опосередковані воднем, включають буферизацію окисного стресу, зниження регуляції стресу ендоплазматичного ретикулу (далі – ЕР), інгібування апоптозу, пригнічення запальних реакцій і регуляцію механізмів аутофагії.

Проте в нервовій системі молекулярний водень не тільки відіграє важливу роль у контексті окиснювального стресу, діє як потенційний поглинач вільних радикалів, а ще й як модулятор внутрішньоклітинної сигналізації, опосередкованої протеїнкіназами. Цій сигнальній ролі сприяють фізичні властивості молекулярного водню, а саме його здатність легко дифундувати по тканинах і клітинах. Отже, водень можна вважати газоподібною сигнальною молекулою, яку можна порівняти з NO-. Важливо відзначити, що хоча молекулярний водень може зменшувати окиснювальний стрес, він не здатний безпосередньо усувати функціонально важливі сигнальні АФК [32]. У низці досліджень задокументовано, що молекулярний водень може здійснювати свої ефекти, впливаючи на кілька протеїнкіназ у ЦНС. Вплив водню на сигналізацію не є односпрямованим; було продемонстровано як стимулюючу, так і інгібуючу роль молекулярного водню в активації окремих протеїнкіназних каскадів [33]. Клітинні ефекти молекулярного водню, як видається, опосередковуються кількома внутрішньоклітинними протеїнкіназними шляхами, особливо виразними у взаємодії із ЦНС є шлях PI3K/Akt та Wnt/ $\beta$ -катеніну (Wnt/ $\beta$ -catenin (Wingless-type mouse mammary tumor virus integration site family member/beta catenin), які пов'язані із глікогенсинтетазою кіназою 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ), ферментом, що відіграє ключову роль у регуляції клітинного ендогенного апоптозу [34].

Отже, зазначених вище даних досить, щоб припустити, що водень (а також сполуки з ним) доцільно використовувати з нейропротекторною ціллю, а також для зниження виразності симптомів нейродегенеративних захворювань або із загальнозміцнювальною метою. Нижче наведено механізми корисної взаємодії з організмом молекулярного водню (та його сполуки) за

деяких поширених нейродегенеративних захворювань.

Судинна деменція (далі – СД) – це клінічно та генетично гетерогенна група захворювань головного мозку, за яких когнітивні порушення пов'язані із цереброваскулярною патологією. Було продемонстровано, що аутофагія, механізм самоканібалізації, відіграє роль у прогресуванні СД. Молекулярний водень відомий своїми потужними антиоксидантними, антиапоптичними та протизапальними властивостями, як не дивно, також залучений до аутофагії [35].

Дане дослідження продемонструвало, що вода, збагачена воднем (так звана гідрогенізована вода), була ефективною для полегшення просторового навчання й уповільнення погіршення пам'яті. Також було виявлено, що водень гальмує втрату та скорочення нейронів в області CA1 гіпокампа, що можна порівняти з ефектом лікування донепезилом. Окрім того, результати показали, що диводень помітно підвищує співвідношення експресії Vcl-2/Vax і знижує рівень експресії розщепленої каспази-3 в гіпокампі щурів із СД. Окрім того, електронна мікроскопія продемонструвала, що молекулярний водень зменшує кількість аутофагосом. Також зазначається, що гадрогенізована вода зменшувала підвищене співвідношення експресії LC3-II/I та Beclin 1 і помітно підвищувала експресію p62. Спостерігалось, що рівні FoxO1 (основного медіатора регуляції аутофагії) і Atg7 були явно знижені в гіпокампі щурів із двосторонньою оклюзією загальної сонної артерії (2VO), які отримували активну водневу терапію [36].

Спостережуване збільшення переокисного окиснення заліза та ліпідів і супутнє зниження рівня відновленого глутатіону в чорній субстанції пацієнтів із хворобою Паркінсона (ХП) дозволяє припустити, що окисний стрес може відігравати деяку роль у патогенезі ХПЗ моменту першого опису хвороби Паркінсона (ХП), також нейротоксини 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин (MPTP) і 6-гідроксидопамін (6-OHDA), як було доведено, індукують патологію Паркінсона. Результати досліджень на тваринах із використанням цих нейротоксинів показали, що окиснювальний стрес є основною причиною клітинного апоптозу в дофамінергічних нейронах і має велике значення для нього [37]. Багато досліджень було зосереджено на зниженні окиснювального стресу як терапевтичної стратегії в боротьбі з даною хворобою.

У дослідженнях було продемонстровано, що молекулярний водень (H<sub>2</sub>) зменшує окиснювальний стрес і втрату дофамінергічних нейронів у моделі хвороби Паркінсона на мишах. У цих тваринних моделях введення нейротоксину призводило до зменшення кількості дофамінергічних нейронів у компактній чорній субстанції, а також нервових термінальних волокон у стриатумі. Однак було продемонстровано, що воднева вода значно зменшує втрату як тіл, так і волокон нейронів порівняно зі звичайною водою. У мишей, які отримували MPTP, хронічне введення через осмотичний мінінасос призводило до втрати нейронів і порушень поведінки, що підтверджується тестом у відкритому полі. Окрім того, щури, яким вводили 6-OHDA, також демонстрували поведінкові порушення, що оцінювали за допомогою ротародного тесту. Було виявлено, що введення водню покращує поведінкові порушення як у моделі MPTP, так і в моделі 6-OHDA, проте водень не детоксифікує безпосередньо 6-OHDA, а виявляє відстрочений захисний ефект для дофамінергічних клітин. Із цих спостережень можна зробити висновок, що воднева вода здатна запобігати поведінковим змінам, які вважаються основним симптомом за наявності ХП [38].

Уживання водневої води на постійній основі до і під час введення MPTP мало значний нейропротекторний ефект. Уживання водневої води навіть після введення MPTP також зменшувало нейротоксичні пошкодження [39]. Хвороба Паркінсона вважається нейродегенеративним захворюванням, що прогресує. Тому існує гіпотеза, що щоденне вживання водневої води може запобігти прогресуванню хвороби, а також появі нейродегенерації, сприятиме появі нових функціональних нейронних зв'язків.

З досліджень відомо, що дисфункція мітохондрій, спричинена окисним стресом, відіграє важливу роль у патогенезі хвороби Альцгеймера (ХА). Молекула водню, яка має унікальні антиоксидантні властивості, здатна вибірково поглинати високоцитотоксичні активні форми кисню, такі як -ОН. Це свідчить про те, що він може бути потенційним засобом лікування ХА шляхом зменшення окисного стресу. Проте нині не існує ефективного методу безперервного й ефективного накопичення водню, що вводиться, у мозку хворих на ХА через його низьку розчинність.

Є дослідження, у якому розроблялися малорозмірні наночастинки гідриду Pd (PdH)

для доставки великої кількості водню та його постійного вивільнення *in situ* в мозку за ХА. Ефект каталітичного гідрування Pd дозволяє вивільненому водню з наночастинок PdH демонструвати високу біологічну відновлюваність, ефективно очищаючи цитотоксичний -ОН самокаталітичним способом. Біологічно відновлювальний водень здатний відновлювати мітохондріальну дисфункцію, запобігати утворенню й агрегації А $\beta$ , перешкоджати синаптичному та нейронному апоптозу, а також стимулювати енергетичний метаболізм нейронів шляхом усунення окиснювального стресу й активації антиоксидантного шляху, що, як наслідок, покращує когнітивні порушення в мишей з АД [40]. Дана пропонує стратегія наномедицини відкриває новий шлях до лікування ХА, проте досі не використовується.

Розсіяний склероз – це запальне захворювання, за якого активні форми кисню (АФК), що беруть участь в ізоляції нервових клітин головного та спинного мозку, незворотно пошкоджуються, порушуючи зв'язок між різними компонентами нервової системи. Цей процес призводить до появи широкого спектра ознак і симптомів, найпоширенішим із яких є парестезія. Тяжкість імунної реакції, а також розташування і розмір бляшок є визначальними чинниками розвитку рухових і вегетативних симптомів із боку спинного мозку. Патофізіологія РС охоплює низку взаємопов'язаних компонентів, зокрема й судинні, окиснювально-відновні, нейродегенеративні та запальні/автоімунні процеси [41]. Щодо доцільності використання саме молекулярного водню з метою нормалізації процесів окисно-відновних реакцій і виявлення нейропротекторної дії

ведуться дискусії, оскільки не вдається довести ефективність. Проте в наш час активно запроваджується технологія використання сірководню з метою зменшення поширення дегенеративних змін мієлінової оболонки.

Також відзначається, що H<sub>2</sub>S особливо ефективний у використанні з метою пом'якшення нейродегенеративних захворювань, які виникають у хворих із цукровим діабетом. Окиснювальний стрес у хворих на цукровий діабет призводить до дисфункції під час секреції інсуліну в нервовій системі, що призводить до нейродегенерації, як-от діабетична периферична нейропатія (далі – ДПН). Дисфункція периферичного нерва за наявності ЦД спостерігається із симптомами в дистальній частині, яка містить до 75% уражень унаслідок захворювання. Зниження регуляції шванівських клітин, агрегація сорбіту під час сигналізації поліолового шляху, інактивація Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> сигналізації й індукований гіперглікемією окисдаивний стрес є причинними факторами нейропатії в головному мозку [42]. За оцінками, приблизно у 50% осіб із цукровим діабетом спостерігаються неврологічні ускладнення, які є найбільш поширеними супутніми захворюваннями, пов'язаними із цим станом.

Термін «окисний стрес», як було сказано раніше, уживається для опису ефектів, які є наслідком надмірного утворення активних форм кисню (АФК) і активних форм азоту. Найвідоміші АФК й активні форми азоту включають перекис водню (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), супероксид (O<sup>-2</sup>), гідроксил (-ОН), оксид азоту (NO<sup>-</sup>) та пероксинітрит (ONOO<sup>-</sup>), які генерують вільні радикали через свою нестабільність (рис. 1) [43].

Проте вплив окисного стресу можна пом'якшити за допомогою антиоксидантних

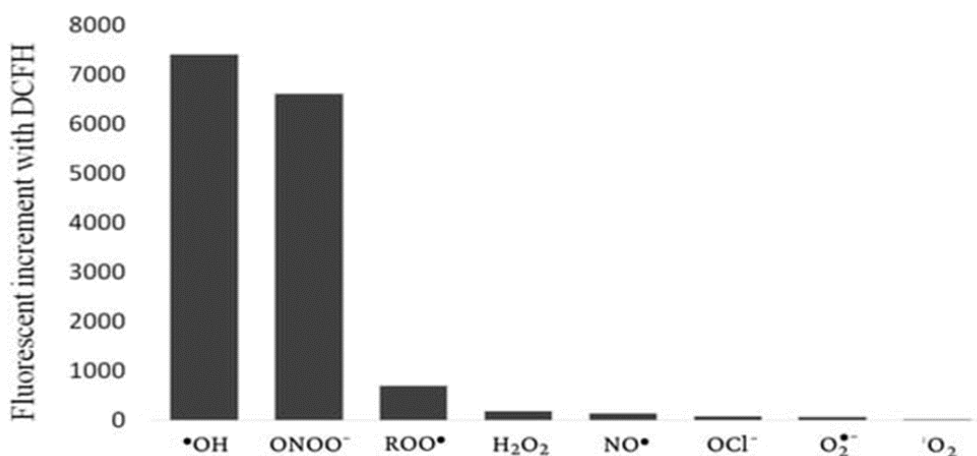


Рис. 1. Відносний окислювальний потенціал деяких біоокислювачів [43]

молекул. Сірководень ( $H_2S$ ) відіграє деяку роль в антиоксидантній функції через його участь у ферментативних шляхах. Наприклад, супероксиддисмутаза (СОД1), СОД2, глутатіон (GSH), глутатіонпероксидаза (GPx) і каталаза (КАТ) є ферментами, які забезпечують  $H_2S$ -опосередковану антиоксидантну функцію. Оцінювання окисного стресу у разі РС показує, що індукований гіперглікемією оксидативний стрес призводить до збільшення продукції  $H_2O_2$  та перекисного окиснення ліпідів за участю протейнінази С (ПКС), а також до накопичення просунутих кінцевих продуктів глікації (AGEs), які пригнічують регенерацію аксонів [44].

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Breathing Hydrogen-Oxygen Mixture Decreases Inspiratory Effort in Patients with Tracheal Stenosis / Zi-Qing Zhou et al. *Respiration*. 2018. Vol. 97. № 1. P. 42–51. <https://doi.org/10.1159/000492031>.
2. Роль молекулярного водню та оксиду азоту в патогенезі Covid-19 / О. С. Покопило та ін. *Medical and Clinical Chemistry*. 2021. № 1. С. 93–100. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681x.2021.i1.12119>.
3. Ostojic S. M. Targeting molecular hydrogen to mitochondria: Barriers and gateways. *Pharmacological Research*. 2015. Vol. 94. P. 51–53. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.02.004>.
4. Redox Effects of Molecular Hydrogen and Its Therapeutic Efficacy in the Treatment of Neurodegenerative Diseases / Md Habibur Rahman et al. *Processes*. 2021. Vol. 9. № 2. P. 308. <https://doi.org/10.3390/pr9020308>.
5. Effects of 7-day intake of hydrogen-rich water on physical performance of trained and untrained subjects / Rafael Timyn et al. *Biology of Sport*. 2020. <https://doi.org/10.5114/biolisport.2020.98625>.
6. The effects of 6-month hydrogen-rich water intake on molecular and phenotypic biomarkers of aging in older adults aged 70 years and over: A randomized controlled pilot trial / Dragana Zanini et al. *Experimental Gerontology*. 2021. Vol. 155. P. 111574. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2021.111574>.
7. Hydrogen Sulphide-Based Therapeutics for Neurological Conditions: Perspectives and Challenges/AmirH.Sharifetal. *NeurochemicalResearch*. 2023. <https://doi.org/10.1007/s11064-023-03887-y>.
8. Munteanu C. Hydrogen Sulfide: An Emerging Regulator of Oxidative Stress and Cellular Homeostasis: A Comprehensive One-Year Review / Constantin Munteanu et al. *Antioxidants*. 2023. Vol. 12. № 9. P. 1737. <https://doi.org/10.3390/antiox12091737>.
9. Hydrogen, a Novel Therapeutic Molecule, Regulates Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis / Yan Tian et al. *Frontiers in Physiology*. 2021. Vol. 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.789507>.
10. Effects of hydrogen-rich water prepared by alternating-current-electrolysis on antioxidant activity, DNA

Отже, давно доведено, що  $H_2S$  може пом'якшити вплив окиснювального стресу на нервові клітини.  $H_2S$  є ендogenousним біологічним медіатором, який виробляється ферментами цистатіонін- $\beta$ -синтази (CBS), цистатіонін-гамма-ліази (CSE), цистеїнамінонотрансферази та 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази (3MST). Сірководень та комплексна терапія в поєднанні з оксидом азоту виявляють виразну антиоксидантну та нейропротекторну дію, що робить доцільним їх використання в допоміжній терапії за наявності нейродегенеративних захворювань. Використання молекулярного водню без утворення сполук з іншими елементами не спричиняє такого ефекту, хоч і виявляє деяку нейропротекторну дію [45].

oxidative injuries, and diabetes-related markers / R. Asada et al. *Medical Gas Research*. 2020. Vol. 10. № 3. P. 0. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.296041>.

11. Oral Administration of Si-Based Agent Attenuates Oxidative Stress and Ischemia-Reperfusion Injury in a Rat Model: A Novel Hydrogen Administration Method / M. Kawamura et al. *Frontiers in Medicine*. 2020. Vol. 7. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00095>.

12. Estimation of the hydrogen concentration in rat tissue using an airtight tube following the administration of hydrogen via various routes / C. Liu et al. *Scientific Reports*. 2014. Vol. 4. № 1. <https://doi.org/10.1038/srep05485>.

13. Fu Z., Zhang J. Molecular hydrogen is a promising therapeutic agent for pulmonary disease. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*. 2022. Vol. 23. № 2. P. 102–122. <https://doi.org/10.1631/jzus.b2100420>.

14. Molecular hydrogen: A potential radioprotective agent / Q. Hu et al. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020. Vol. 130. P. 110589. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110589>.

15. Potential Cytoprotective Activity of Ozone Therapy in SARS-CoV-2/COVID-19 / G. Martinez-Sanchez et al. *Antioxidants*. 2020. Vol. 9. № 5. P. 389. <https://doi.org/10.3390/antiox9050389>.

16. Pharmacokinetics of a single inhalation of hydrogen gas in pigs / M. Sano et al. *PLOS ONE*. 2020. Vol. 15. № 6. P. e0234626. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234626>.

17. Simultaneous oral and inhalational intake of molecular hydrogen additively suppresses signaling pathways in rodents / S. Sobue et al. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2015. Vol. 403. № 1–2. P. 231–241. <https://doi.org/10.1007/s11010-015-2353-y>.

18. Beneficial biological effects and the underlying mechanisms of molecular hydrogen – comprehensive review of 321 original articles / M. Ichihara et al. *Medical Gas Research*. 2015. Vol. 5. № 1. <https://doi.org/10.1186/s13618-015-0035-1>.

19. Redox metabolism: ROS as specific molecular regulators of cell signaling and function / Claudia Lennicke et al. *Molecular Cell*. 2021. Vol. 81. № 18. P. 3691–3707. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.08.018>.

20. Analysis of the effect of health insurance on health care utilization in Rwanda: a secondary data analysis of Rwandan integration living condition survey 2016-2017 (EICV 5) / Roger Muremyi et al. *PAMJ – One Health*. 2021. Vol. 4. <https://doi.org/10.11604/pamj-oh.2021.4.10.25256>.
21. Hydrogen therapy: recent advances and emerging materials / Zheng Jiang et al. *Biomaterials Science*. 2024. <https://doi.org/10.1039/d4bm00446a>.
22. The Effects of Hydrogen-Rich Water on Blood Lipid Profiles in Metabolic Disorders Clinical Trials: A Systematic Review and Meta-analysis / Hamid Jamialahmadi et al. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2024. Vol. 22. № 3. <https://doi.org/10.5812/ijem-148600>.
23. A Systematic Review of Molecular Hydrogen Therapy in Cancer Management / Muhammad Nooraiman Zufayri Mohd Noor et al. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2023. Vol. 24. № 1. P. 37–47. <https://doi.org/10.31557/apjcp.2023.24.1.37>.
24. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? / Tarique Hussain et al. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016. Vol. 2016. P. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2016/7432797>.
25. Intake of Molecular Hydrogen in Drinking Water Increases Membrane Transporters, p-Glycoprotein, and Multidrug Resistance-Associated Protein 2 without Affecting Xenobiotic-Metabolizing Enzymes in Rat Liver / Hsien-Tsung Yao et al. *Molecules*. 2019. Vol. 24. № 14. P. 2627. <https://doi.org/10.3390/molecules24142627>.
26. Hydrogen-rich water reduces inflammatory responses and prevents apoptosis of peripheral blood cells in healthy adults: a randomized, double-blind, controlled trial / Minju Sim et al. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10. № 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68930-2>.
27. Molecular hydrogen: a preventive and therapeutic medical gas for various diseases / Li Ge et al. *Oncotarget*. 2017. Vol. 8. № 60. P. 102653–102673. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21130>.
28. The Impact of Hydrogen Inhalation Therapy on Blood Reactive Oxygen Species Levels: A Randomized Controlled Study / Mohamed Chair et al. *Free Radical Biology and Medicine*. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2024.07.010>.
29. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications / Zewen Liu et al. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017. Vol. 2017. P. 1–11. <https://doi.org/10.1155/2017/2525967>.
30. Neuroprotective effects of hydrogen inhalation in an experimental rat intracerebral hemorrhage model / Kyu-Sun Choi et al. *Brain Research Bulletin*. 2018. Vol. 142. P. 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.07.006>.
31. Hydrogen protects against chronic intermittent hypoxia induced renal dysfunction by promoting autophagy and alleviating apoptosis / Peng Guan et al. *Life Sciences*. 2019. Vol. 225. P. 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.04.005>.
32. A New Approach for the Prevention and Treatment of Cardiovascular Disorders. Molecular Hydrogen Significantly Reduces the Effects of Oxidative Stress / Tyler W. LeBaron et al. *Molecules*. 2019. Vol. 24. № 11. P. 2076. <https://doi.org/10.3390/molecules24112076>.
33. Cuadrado A. Pharmacological targeting of GSK-3 and NRF2 provides neuroprotection in a preclinical model of tauopathy / Antonio Cuadrado et al. *Redox Biology*. 2018. Vol. 14. P. 522–534. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.10.010>.
34. Autophagy and Akt/CREB signalling play an important role in the neuroprotective effect of nimodipine in a rat model of vascular dementia / Ming Hu et al. *Behavioural Brain Research*. 2017. Vol. 325. P. 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.11.053>.
35. FoxO1-mediated autophagy plays an important role in the neuroprotective effects of hydrogen in a rat model of vascular dementia / Xin Jiang et al. *Behavioural Brain Research*. 2019. Vol. 356. P. 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.05.023>.
36. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide in Parkinson's disease / Haitao Shen et al. *Medical Gas Research*. 2023. P. 0. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.385945>.
37. Role of Gasotransmitters in Oxidative Stresses, Neuroinflammation, and Neuronal Repair / Ulfuara Shefa et al. *BioMed Research International*. 2017. Vol. 2017. P. 1–15. <https://doi.org/10.1155/2017/1689341>.
38. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases / Ewa Niedzielska et al. *Molecular Neurobiology*. 2015. Vol. 53. № 6. P. 4094–4125. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9337-5>.
39. Sustained release of bioactive hydrogen by Pd hydride nanoparticles overcomes Alzheimer's disease / Lei Zhang et al. *Biomaterials*. 2019. Vol. 197. P. 393–404. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.01.037>.
40. New Insights in the Mechanisms of Impaired Redox Signaling and its Interplay with Inflammation and Immunity in Multiple Sclerosis / D. Michalickova et al. *Physiological Research*. 2020. P. 1–19. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934276>.
41. Diabetic Neuropathy: A Position Statement by the American Diabetes Association / Rodica Pop-Busui et al. *Diabetes Care*. 2016. Vol. 40. № 1. P. 136–154. <https://doi.org/10.2337/dc16-2042>.
42. Hydrogen sulfide is neuroprotective in Alzheimer's disease by sulfhydrating GSK3 $\beta$  and inhibiting Tau hyperphosphorylation / Daniel Giovinazzo et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2021. T. 118. № 4. P. e2017225118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2017225118>.
43. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases / Sha Li et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015. Vol. 16. № 11. P. 26087–26124. <https://doi.org/10.3390/ijms161125942>.
44. Protective effect of hydrogen sulfide on oxidative stress-induced neurodegenerative diseases / NaYoung Jeong et al. *Neural Regeneration Research*. 2020. Vol. 15. № 2. P. 232. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.265543>.
45. Kumar Mohit, Sandhir Rajat. Hydrogen Sulfide in Physiological and Pathological Mechanisms in Brain. *CNS & Neurological Disorders. Drug Targets*. 2018. Vol. 17. № 9. P. 654–670. <https://doi.org/10.2174/1871527317666180605072018>.

## REFERENCES

- Zhou, Z.-Q., Zhong, C.-H., Su, Z.-Q., Li, X.-Y., Chen, Y., Chen, X.-B., Tang, C.-L., Zhou, L.-Q., & Li, S.-Y. (2018). Breathing Hydrogen-Oxygen Mixture Decreases Inspiratory Effort in Patients with Tracheal Stenosis. *Respiration*, 97 (1), 42–51. <https://doi.org/10.1159/000492031>.
- Pokotylo, O. S., Korda, M. M., Kravchuk, Y. S. (2021). Rol molekuliarnoho vodniu ta oksydu azotu v patohenezi Covid-19 [The role of molecular hydrogen and nitric oxide in the pathogenesis of Covid-19]. *Medical and Clinical Chemistry*, (1), 93–100. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681x.2021.i1.121119>.
- Ostojic, S. M. (2015). Targeting molecular hydrogen to mitochondria: Barriers and gateways. *Pharmacological Research*, 94, 51–53. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.02.004>.
- Rahman, M. H., Bajgai, J., Fadriqueña, A., Sharma, S., Trinh, Thi T., Akter, R., Goh, S. H., Kim, C.-S., Lee, K.-J. (2021). Redox Effects of Molecular Hydrogen and Its Therapeutic Efficacy in the Treatment of Neurodegenerative Diseases. *Processes*, 9 (2), 308. <https://doi.org/10.3390/pr9020308>.
- Timon, R., Olcina, G., Gonzalez-Custodio, A., Camacho-Cardenosa, M., Camacho-Cardenosa, A., & Guardado, I. (2020). Effects of 7-day intake of hydrogen-rich water on physical performance of trained and untrained subjects. *Biology of Sport*. <https://doi.org/10.5114/biolspor.2020.98625>.
- Zanini, D., Todorovic, N., Korovljević, D., Stajer, V., Ostojic, J., Purac, J., Kojic, D., Vukasinovic, E., Djordjievski, S., Sopic, M., Guzonjic, A., Ninic, A., Erceg, S., & Ostojic, S. M. (2021). The effects of 6-month hydrogen-rich water intake on molecular and phenotypic biomarkers of aging in older adults aged 70 years and over: A randomized controlled pilot trial. *Experimental Gerontology*, 155, 111574. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2021.111574>.
- Sharif, A. H., Iqbal, M., Manhoosh, B., Gholampoor, N., Ma, D., Marwah, M., & Sanchez-Aranguren, L. (2023). Hydrogen Sulphide-Based Therapeutics for Neurological Conditions: Perspectives and Challenges. *Neurochemical Research*. <https://doi.org/10.1007/s11064-023-03887-y>.
- Munteanu, C., Turnea, M. A., & Rotariu, M. (2023). Hydrogen Sulfide: An Emerging Regulator of Oxidative Stress and Cellular Homeostasis: A Comprehensive One-Year Review. *Antioxidants*, 12 (9), 1737. <https://doi.org/10.3390/antiox12091737>.
- Tian, Y., Zhang, Y., Wang, Y., Chen, Y., Fan, W., Zhou, J., Qiao, J., Wei, Y. (2021). Hydrogen, a Novel Therapeutic Molecule, Regulates Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis. *Frontiers in Physiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.789507>.
- Asada, R., Tazawa, K., Sato, S., & Miwa, N. (2020). Effects of hydrogen-rich water prepared by alternating-current-electrolysis on antioxidant activity, DNA oxidative injuries, and diabetes-related markers. *Medical Gas Research*, 10 (3), 0. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.296041>.
- Kawamura, M., Imamura, R., Kobayashi, Y., Taniguchi, A., Nakazawa, S., Kato, T., Namba-Hamano, T., Abe, T., Uemura, M., Kobayashi, H., & Nonomura, N. (2020). Oral Administration of Si-Based Agent Attenuates Oxidative Stress and Ischemia-Reperfusion Injury in a Rat Model: A Novel Hydrogen Administration Method. *Frontiers in Medicine*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00095>.
- Liu, C., Kurokawa, R., Fujino, M., Hirano, S., Sato, B., & Li, X.-K. (2014). Estimation of the hydrogen concentration in rat tissue using an airtight tube following the administration of hydrogen via various routes. *Scientific Reports*, 4 (1). <https://doi.org/10.1038/srep05485>.
- Fu, Z., & Zhang, J. (2022). Molecular hydrogen is a promising therapeutic agent for pulmonary disease. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 23 (2), 102–122. <https://doi.org/10.1631/jzus.b2100420>.
- Hu, Q., Zhou, Y., Wu, S., Wu, W., Deng, Y., & Shao, A. (2020). Molecular hydrogen: A potential radioprotective agent. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 110589. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110589>.
- Martinez-Sánchez, G., Schwartz, A., & Di Donna, V. (2020). Potential Cytoprotective Activity of Ozone Therapy in SARS-CoV-2/COVID-19. *Antioxidants*, 9 (5), 389. <https://doi.org/10.3390/antiox9050389>.
- Sano, M., Ichihara, G., Katsumata, Y., Hiraide, T., Hirai, A., Momoi, M., Tamura, T., Ohata, S., & Kobayashi, E. (2020). Pharmacokinetics of a single inhalation of hydrogen gas in pigs. *PLOS ONE*, 15 (6), e0234626. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234626>.
- Sobue, S., Yamai, K., Ito, M., Ohno, K., Ito, M., Iwamoto, T., Qiao, S., Ohkuwa, T., & Ichihara, M. (2015). Simultaneous oral and inhalational intake of molecular hydrogen additively suppresses signaling pathways in rodents. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 403(1–2), 231–241. <https://doi.org/10.1007/s11010-015-2353-y>.
- Ichihara, M., Sobue, S., Ito, M., Ito, M., Hirayama, M., & Ohno, K. (2015). Beneficial biological effects and the underlying mechanisms of molecular hydrogen – comprehensive review of 321 original articles. *Medical Gas Research*, 5 (1). <https://doi.org/10.1186/s13618-015-0035-1>.
- Lennicke, C., Cocheme, H. M. (2021). Redox metabolism: ROS as specific molecular regulators of cell signaling and function. *Molecular Cell*, 81 (18), 3691–3707. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.08.018>.
- Muremyi, R., Dominique, H., Niragire, F., Ignace, K., & Abayisenga, S. (2021). Analysis of the effect of health insurance on health care utilization in Rwanda: a secondary data analysis of Rwandan integration living condition survey 2016–2017 (EICV 5). *PAMJ – One Health*, 4. <https://doi.org/10.11604/pamj-oh.2021.4.10.25256>.
- Jiang, Z., Ainiwaer, M., Liu, J., Ying, B., Luo, F., & Sun, X. (2024). Hydrogen therapy: recent advances and emerging materials. *Biomaterials Science*. <https://doi.org/10.1039/d4bm00446a>.
- Mohd Noor, M. N. Z., Alauddin, A. S., Wong, Y. H., Looi, C. Y., Wong, E. H., Madhavan, P., Yeong, C. H. (2023). A Systematic Review of Molecular Hydrogen Therapy in Cancer Management. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 24 (1), 37–47. <https://doi.org/10.31557/apjcp.2023.24.1.37>.
- Jamialahmadi, H., Khalili-Tanha, G., Rezaei-Tavirani, M., & Nazari, E. (2024). The Effects of Hydrogen-Rich Water on Blood Lipid Profiles in Metabolic Disorders Clinical Trials: A Systematic Review and Meta-analysis.

*International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 22 (3). <https://doi.org/10.5812/ijem-148600>.

24. Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C. B., & Rahu, N. (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2016/7432797>.

25. Yao, H.-T., Yang, Y.-H., & Li, M.-L. (2019). Intake of Molecular Hydrogen in Drinking Water Increases Membrane Transporters, p-Glycoprotein, and Multidrug Resistance-Associated Protein 2 without Affecting Xenobiotic-Metabolizing Enzymes in Rat Liver. *Molecules*, 24 (14), 2627. <https://doi.org/10.3390/molecules24142627>.

26. Sim, M., Kim, C.-S., Shon, W.-J., Lee, Y.-K., Choi, E. Y., & Shin, D.-M. (2020). Hydrogen-rich water reduces inflammatory responses and prevents apoptosis of peripheral blood cells in healthy adults: a randomized, double-blind, controlled trial. *Scientific Reports*, 10 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68930-2>.

27. Ge, L., Yang, M., Yang, N.-N., Yin, X.-X., & Song, W.-G. (2017). Molecular hydrogen: a preventive and therapeutic medical gas for various diseases. *Oncotarget*, 8 (60), 102653–102673. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21130>.

28. Chair, M., Al Aani, H., Lafci Fahrioglu, S., Ben Hamda, C., Fahrioglu, U., & Degheidy, T. (2024). The Impact of Hydrogen Inhalation Therapy on Blood Reactive Oxygen Species Levels: A Randomized Controlled Study. *Free Radical Biology and Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2024.07.010>.

29. Liu, Z., Zhou, T., Ziegler, A. C., Dimitrion, P., & Zuo, L. (2017). Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2017/2525967>.

30. Choi, K. S., Kim, H. J., Do, S. H., Hwang, S. J., Yi, H. J. (2018). Neuroprotective effects of hydrogen inhalation in an experimental rat intracerebral hemorrhage model. *Brain Research Bulletin*, 142, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.07.006>.

31. Guan, P., Sun, Z.-M., Luo, L.-F., Zhou, J., Yan S., Zhao Y.-S., Yu, F.-Y., An, J.-R., Wang, N., & Ji, E. S. (2019). Hydrogen protects against chronic intermittent hypoxia induced renal dysfunction by promoting autophagy and alleviating apoptosis. *Life Sciences*, 225, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.04.005>.

32. LeBaron, T. W., Kura, B., Kalocayova, B., Tribulova, N., & Slezak, J. (2019). A New Approach for the Prevention and Treatment of Cardiovascular Disorders. Molecular Hydrogen Significantly Reduces the Effects of Oxidative Stress. *Molecules*, 24 (11), 2076. <https://doi.org/10.3390/molecules24112076>.

33. Cuadrado, A., Kьgler, S., & Lastres-Becker, I. (2018). Pharmacological targeting of GSK-3 and NRF2 provides neuroprotection in a preclinical model of tauopathy. *Redox Biology*, 14, 522–534. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.10.010>.

34. Hu, M., Liu, Z., Lv, P., Wang, H., Zhu, Y., Qi, Q., & Xu, J. (2017). Autophagy and Akt/CREB signalling play an important role in the neuroprotective effect of nimodipine in a rat model of vascular dementia. *Behavioural*

*Brain Research*, 325, 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.11.053>.

35. Jiang, X., Niu, X., Guo, Q., Dong, Y., Xu, J., Yin, N., Qi, Q., Jia, Y., Gao, L., He, Q., & Lv, P. (2019). FoxO1-mediated autophagy plays an important role in the neuroprotective effects of hydrogen in a rat model of vascular dementia. *Behavioural Brain Research*, 356, 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.05.023>.

36. Shen, H., Yu, Z., Ye, Y., Xu, J., Chen, G. (2023). Neuroprotective effects of hydrogen sulfide in Parkinson's disease. *Medical Gas Research*, 0. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.385945>.

37. Shefa, U., Yeo, S. G., Kim, M.-S., Song, I. O., Jun, J., Jeong, N. Y., Huh, Y. (2017). Role of Gasotransmitters in Oxidative Stresses, Neuroinflammation, and Neuronal Repair. *BioMed Research International*, 2017, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2017/1689341>.

38. Niedzielska, E., Smaga, I., Gawlik, M., Moniczewski, A., Stankowicz, P., Pera, J., Filip, M. (2015). Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Molecular Neurobiology*, 53 (6), 4094–4125. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9337-5>.

39. Zhang, L., Zhao, P., Yue, C., Jin, Z., Liu, Q., Du, X., He, Q. (2019). Sustained release of bioactive hydrogen by Pd hydride nanoparticles overcomes Alzheimer's disease. *Biomaterials*, 197, 393–404. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.01.037>.

40. Michalickova, D., Sima, M., Slanar, O. (2020). New Insights in the Mechanisms of Impaired Redox Signaling and its Interplay with Inflammation and Immunity in Multiple Sclerosis. *Physiological Research*, 1–19. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934276>.

41. Pop-Busui, R., Boulton, A. J. M., Feldman, E. L., Bril, V., Freeman, R., Malik, R. A., Sosenko, J. M., & Ziegler, D. (2016). Diabetic Neuropathy: A Position Statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*, 40 (1), 136–154. <https://doi.org/10.2337/dc16-2042>.

42. Giovanazzo, D., Bursac, B., Sbodio, J. I., Nalluru, S., Vignane, T., Snowman, A. M., Albacarys, L. M., Sedlak, T. W., Torregrossa, R., Whiteman, M., Filipovic, M. R., Snyder, S. H., & Paul, B. D. (2021). Hydrogen sulfide is neuroprotective in Alzheimer's disease by sulfhydrating GSK3 $\beta$  and inhibiting Tau hyperphosphorylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118 (4), e2017225118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2017225118>.

43. Li, S., Tan, H.-Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., & Feng, Y. (2015). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 16 (11), 26087–26124. <https://doi.org/10.3390/ijms161125942>.

44. Jeong N., Jung J., & Tabassum R. (2020). Protective effect of hydrogen sulfide on oxidative stress-induced neurodegenerative diseases. *Neural Regeneration Research*, 15 (2), 232. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.265543>.

45. Kumar, M. Hydrogen Sulfide in Physiological and Pathological Mechanisms in Brain / Mohit Kumar, Rajat Sandhir. *CNS & Neurological Disorders – Drug Targets*. 2018. Vol. 17, № 9. P. 654–670. <https://doi.org/10.2174/1871527317666180605072018>.

## THE ROLE OF MOLECULAR HYDROGEN IN NEURODEGENERATE PROCESSES (LITERATURE REVIEW)

### Summary

**Introduction.** The beneficial effects of molecular hydrogen ( $H_2$ , hydrogen) have been confirmed in many disease models and human studies over the past decade, and the number of peer-reviewed articles on hydrogen biomedicine has exceeded 800 since 2005. More than two dozen clinical trials have been conducted to assess the therapeutic potential of  $H_2$ . It has been demonstrated that the use of additional molecular hydrogen improves a number of clinical signs in various diseases. These include neuromuscular, neurodegenerative and mental diseases, cardiovascular diseases, metabolic syndrome and diabetes, acute soft tissue injuries and skin pathologies, kidney disease, inflammatory diseases and cancer. Research is currently underway on the feasibility of using it for Covid-19, as well as for improving the endurance of athletes, and there are even studies claiming that hydrogen water can slow down the aging of the human body.

**The aim of the study.** To highlight the general characteristics and therapeutic properties of molecular hydrogen, the mechanisms of interaction with the body of hydrogen and its compounds, strategies for administration into the body, as well as the feasibility of using it in neurodegenerative disorders on the example of specific diseases (Parkinson's disease, Alzheimer's disease, multiple sclerosis and vascular dementia).

**Conclusions.** The analysis of the literature showed that molecular hydrogen and its compounds (hydrogen sulfide and complex therapy in combination with nitric oxide) have a pronounced antioxidant and neuroprotective effect, which makes it advisable to use them in adjuvant therapy for neurodegenerative diseases.

KEY WORDS: molecular hydrogen; oxidative stress; neurodegenerative diseases; hydrogenated water; nitric oxide.

## ПОРУШЕННЯ РЕДОКС-ГОМЕОСТАЗУ У ТКАНИНІ ЛЕГЕНЬ ЗА УМОВ ДМГ-ІНДУКОВАНОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ ТОВСТОЇ КИШКИ

**Вступ.** *Порушення редокс-гомеостазу є одним із ключових чинників, що сприяє прогресуванню злоякісних новоутворень, зокрема аденокарциноми товстої кишки. Зміни в окисно-відновному балансі можуть впливати на різні органи, на легені також, через системний оксидативний стрес і пов'язані з ним механізми клітинного пошкодження. Останні дослідження показують, що розвиток неопластичного ураження супроводжується підвищенням рівня активних форм кисню і порушенням діяльності антиоксидантних систем.*

**Мета дослідження** – оцінити вплив ДМГ-індукованого порушення редокс-гомеостазу на легеневу тканину, що є важливим для розуміння загальної картини оксидативного стресу за наявності колоректального раку.

**Методи дослідження.** Дослідження було проведено на 105 самцях білих щурів, які утримувались у стандартних умовах віварію. Тварини були розподілені на такі групи: I – контрольна група із 35 тварин; II – експериментальна група, яка протягом 30 тижнів отримувала N,N-диметилгідразин дигідрохлорид (70 щурів). Оцінювання рівня оксидативного стресу у тканині легень проводилось за показниками концентрації ТБК-активних продуктів, дієнових і трієнових кон'югатів, основ Шиффа, церулоплазміну, альдегідо- та кетонієвих нейтрального (ОМП<sub>370</sub>) та основного (ОМП<sub>430</sub>) характеру, а також за активністю каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та рівнем відновленого глутатіону.

**Результати й обговорення.** У статті досліджено складний взаємозв'язок між оксидативним стресом і розвитком раку, підкреслено його важливість на різних етапах канцерогенезу та прогресування пухлини. Дослідження показало, що ДМГ-індукована аденокарцинома товстої кишки призводить до суттєвого порушення редокс-гомеостазу у тканині легень, що проявляється підвищенням рівня активних форм кисню та зниженням активності антиоксидантних систем. Такі зміни в окисно-відновному балансі можуть підвищувати ризик оксидативного пошкодження клітин і сприяти розвитку вторинних патологій у легеневій тканині. Отримані дані є важливими для розуміння механізмів системного впливу колоректального раку на організм.

**Висновки.** Результати дослідження виявили, що аденокарцинома товстої кишки, індукована ДМГ, спричиняє значні порушення редокс-гомеостазу в легеневій тканині. Такі зміни в балансі окисно-відновних процесів підвищують ризик оксидативного ушкодження клітин, що може сприяти розвитку додаткових патологічних процесів у легеневій тканині.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аденокарцинома товстої кишки; тканина легень; оксидативний стрес; антиоксидантна система.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ВСТУП. Колоректальний рак (далі – КРР) значною мірою пов'язаний з оксидативним стресом, що зумовлено інтенсивним утворенням активних форм кисню (далі – АФК) у клітинах. До цих форм належать супероксид-аніони, пероксид водню й інші кисневі радикали, які провокують порушення метаболізму клітин та пошкодження ДНК [1; 2]. Такі зміни можуть стимулювати зростання й агресивність пухлинних клітин. У разі КРР цей процес пов'язаний з активацією ксантинооксидази, ферменту, що виробляє АФК і сприяє прогресуванню хвороби шляхом посилення запалення та порушення клітинних функцій [3].

Сучасні дослідження встановили безпосередній зв'язок між онкологічними захворюваннями й окислювальним стресом. Виявлено, що неконтрольовані процеси вільнорадикального окислення, які перевищують можливості антиоксидантної системи, можуть стати пусковим механізмом для прискореного розвитку ракових захворювань. Антиоксиданти, які пригнічують вільнорадикальні реакції, відіграють важливу роль у регулюванні процесів перекисного окислення ліпідів (далі – ПОЛ). Антиоксидантна система (далі – АОС) виконує адаптаційну функцію, підтримує резистентність організму та контролює рівень АФК і вільних радикалів за допомогою ферментативних і неферментативних механізмів [4; 5].

Порушення в роботі АОС сприяють розвитку різних захворювань, зокрема спричинених окисленням поліненасичених жирних кислот у клітинних ліпідах під впливом АФК [6]. Водночас високий рівень антиоксидантів стимулює проліферацію пухлинних клітин. У процесі злоякісного росту пухлина інтенсивно поглинає антиоксиданти із крові, що створює умови для подальшої прогресії захворювання. Це призводить до виснаження фізіологічних резервів АОС, зниження протипухлинної стійкості організму та прогресування новоутворення [7].

КРР залишається одним із найбільш поширених онкологічних захворювань і характеризується значним впливом на різні органи, зокрема легені. Незважаючи на те, що легені часто є місцем метастазування за наявності КРР, сам процес захворювання може впливати на функції дихальної системи іншими шляхами. Загальна слабкість організму, анемія й імуносупресія, що супроводжують прогресування КРР, підвищують схильність до інфекційних уражень дихальної системи, як-от пневмонія, бронхіт та інші респіраторні інфекції. Ослаблена імунна відповідь у хворих на колоректальний рак підвищує їхню вразливість до запальних процесів у легенях, що може призводити до таких симптомів, як задишка, стійкий кашель і порушення кисневого обміну в організмі.

Легені є особливо вразливими до процесів перекисного окислення ліпідів і подальших патологічних змін, що зумовлено високою швидкістю обміну речовин, обмеженими антиоксидантними ресурсами та специфічними фізіологічними характеристиками [8]. Дослідники вже підтвердили, що перекисне окислення ліпідів відіграє ключову роль у розвитку різних захворювань легень [9; 10]. Проте вплив дисбалансу окисно-відновних процесів і антиоксидантної відповіді на формування та прогресування пухлинних уражень ще не до кінця вивчений. Підвищення рівня активних форм кисню через розвиток окислативного стресу спричиняє збільшення перекисного окислення ліпідів, окислення білків і пошкодження ДНК. Перекисне окислення ліпідів також спричиняє утворення токсичних речовин, що можуть призвести до пошкодження альвеоцитів [11; 12].

Легені мають відносно слабкий антиоксидантний захист порівняно з іншими органами. Через дисбаланс між виробленням АФК і антиоксидантним захистом тканини легень стають дуже вразливими до окислативного стресу. Навіть незначні зміни

у функціях даного органу можуть призвести до серйозних наслідків. Окислювальне ушкодження в різних зонах легень може спричинити погіршення респіративних порушень. Важливо підкреслити, що хоча описані механізми свідчать про можливий зв'язок між ДМГ-індукованими пухлинами та впливом окислативного стресу на легені, необхідні додаткові дослідження для підтвердження цього зв'язку.

Отже, мета нашого експериментального дослідження – проаналізувати порушення окисно-відновного балансу й антиоксидантної реакції у тканинах легень за умов розвитку аденокарциноми товстої кишки, спричиненої ДМГ.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** *Тварини.* Дослідження проводилося на 105 статевозрілих білих безпородних щурах-самцях із масою тіла ( $175,0 \pm 4,2$ ) г, яких утримували у стандартних умовах віварію. Упродовж усього експерименту моніторили виживаність і масу тіла тварин. Вони мали необмежений доступ до питної води й основного харчування *ad libitum*. Піддослідні тварини були розподілені на такі групи: 1 – контрольна група (35 тварин); 2 – тварини, яким вводили диметилгідразин (далі – ДМГ) (70 тварин).

*Моделювання неопластичного ураження товстої кишки.* Для моделювання неопластичних уражень використовували диметилгідразинову модель (далі – ДМГ-модель), яка є високовідтворюваною і широко застосовується в експериментальній онкології як аналог спорадичного колоректального раку в людини [13]. Неопластичне ураження викликали за допомогою N,N-диметилгідразин дигідрохлориду (ДМГ) (Sigma-Aldrich Chemie, Японія; серія D161802), розведеного в ізотонічному розчині хлориду натрію, який вводили підшкірно в міжлопаткову ділянку в дозі 7,9 мг/кг маси тіла раз на тиждень упродовж 30 тижнів. Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин (0,1 мл на 100 г маси тіла) для імітації можливого стресового ефекту.

Оскільки моделювання аденокарциноми *in situ* товстої кишки тривало 30 тижнів, а тварин із кожної експериментальної групи виводили з експерименту для аналізу кожні 30 днів, експеримент було розділено на 7 етапів (кожен етап – 30 днів). Однакову кількість щурів із кожної групи присипляли тіопенталом (50 мг/кг, внутрішньоочеревино, Arterium, NUA/3916/01/02) через 24 години після

останньої ін'єкції ДМГ, а потім проводили евтаназію. Гістологічне дослідження підтвердило наявність аденокарциноми товстої кишки *in situ* в усіх тварин 2-ї групи після 30-тижневого введення ДМГ.

*Підготовка тканинного гомогенату.* У дослідженні використовували 10% гомогенат тканини. Для цього брали 100 мг тканини легень і додавали 1 мл 0,9% фізіологічного розчину. Кожен зразок обробляли індивідуально за допомогою магнітного гомогенізатора SilentCrusher S зі швидкістю до 75 000 об/хв. Отриманий супернатант використовували для проведення необхідних досліджень.

Оксидативний стрес оцінювали в гомогенаті тканини товстої кишки за зміною концентрацій ТБК-активних продуктів (далі – ТБК-АП), дієнових і трієнових кон'югатів (далі – ДК, ТК), основ Шиффа (далі – ОШ), альдегідо- та кетонпохідних нейтрального (ОМП<sub>370</sub>) і основного (ОМП<sub>430</sub>) характеру, церулоплазміну (далі – ЦП), а також за активністю каталази (далі – Кат), супероксиддисмутази (далі – СОД), глутатіонпероксидази (далі – ГП), глутатіонредуктази (далі – ГР) і рівня відновленого глутатіону (GSH) відповідно до загальноприйнятих методик [14].

Для статистичної обробки отриманих даних використовували комп'ютерну програму Microsoft Excel XP (США). Дані аналізували методами варіаційної статистики, за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA у програмі OriginPro 7.5. Різницю між середніми значеннями вважали значущою за рівня довірчої ймовірності не менше 0,95, тобто статистично значущими вважали відмінності за значення  $p \leq 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Утворення маркерів оксидативного стресу є природним результатом багатьох важливих біохімічних реакцій, які супроводжують як нормальні, так і патологічні процеси [15]. Зокрема, відомо, що під час розвитку неопластичних уражень кисневі радикали можуть накопичуватися в надмірній кількості. Дослідження показників оксидативного стресу, як-от продукти ліпопероксидації, ТБК-АП, активність антиоксидантних ферментів і неферментативних антиоксидантів, засвідчили значні відмінності в параметрах оксидативного стресу у тварин із ДМГ порівняно з контролем.

Аналіз отриманих результатів показав, що через 30 тижнів після початку формування

аденокарциноми товстої кишки кількість дієнових і трієнових кон'югатів значно перевищує ТБК-АП і швидко розпадається. Розпад цих кон'югатів призводить до утворення токсичних продуктів, як-от ТБК-АП, ОШ, альдегіди та кетони.

Кінцевим продуктом ПОЛ є ТБК-АП, який може формувати полімерні комплекси з білками і фосфоліпідами, що знижує проникність мембран, пригнічує активність мембранних ферментів і уповільнює фосфоліпідний обмін [16]. У тварин з індукованою аденокарциномою товстої кишки було зафіксовано зростання рівня ТБК-АП у 4,0 раза ( $p < 0,001$ ) у гомогенаті легень, порівняно з показниками контрольної групи (рис. 1). Крім того, відзначено значне підвищення концентрації дієнових і трієнових кон'югатів – у 2,6 та 2,5 раза ( $p < 0,001$ ) відповідно в тканині легень, порівняно з аналогічними даними в контрольній групі (рис. 1).

За умов ДМГ-індукованого канцерогенезу концентрація ОШ значно підвищується, збільшується у 2,5 раза ( $p < 0,001$ ) у гомогенаті легень порівняно з показниками в контрольній групі (рис. 1). Таке посилення оксидативного стресу порушує окисно-відновний баланс і пригнічує функціонування антиоксидантних ферментів.

АФК, які виникають за метаболізму ксенобіотиків, спричиняють процеси перекисного окислення компонентів клітини, зокрема ліпідів, ДНК та білків. Рівень окисної модифікації білків оцінювався за вмістом альдегідних і кетонних похідних як нейтральних, так і основних білків. У піддослідних тварин з експериментальною аденокарциномою товстої кишки рівень альдегідних і кетонних похідних нейтральних білків (ОМБ<sub>370</sub>) був у 2,8 раза вище ( $p < 0,001$ ) порівняно з контрольною групою, а основних білків (ОМБ<sub>430</sub>) – у 2,3 раза вище ( $p < 0,001$ ). Ці результати свідчать про зростання чутливості білків до оксидативного пошкодження в піддослідних тварин (рис. 2).

Дослідження показало, що під час розвитку аденокарциноми товстої кишки активність СОД знизилась на 61,5% ( $p < 0,001$ ) у тканині легень (рис. 3). За ДМГ-індукованого канцерогенезу активність КАТ також достовірно зменшується – у тканині легень на 51,0% ( $p < 0,001$ ), порівняно з аналогічними значеннями в контрольній групі (рис. 3). Установлено, що каталаза є вразливою до впливу АФК, зокрема пероксиду водню та супероксидного аніон-радикалу, які можуть пригнічувати її активність [17].

ЦП відіграє ключову роль у підтримці антиоксидантного захисту організму, оскільки не лише транспортує мідь для забезпечення роботи антиоксидантних ферментів, як-от СОД, але й нейтралізує вільні радикали, надає клітинам ефективний захист від окисних пошкоджень [18]. У дослідженні виявлено статистично значуще підвищення рівня

ЦП у тканині легень піддослідних тварин у 2,9 раза ( $p < 0,001$ ) після 30 тижнів експерименту порівняно з аналогічним показником у групі контрольних тварин.

Антиоксидантна активність глутатіонової системи зумовлена здатністю глутатіону відновлювати  $H_2O_2$ , органічні пероксиди – гідропероксиди й алкілпероксиди за допомогою

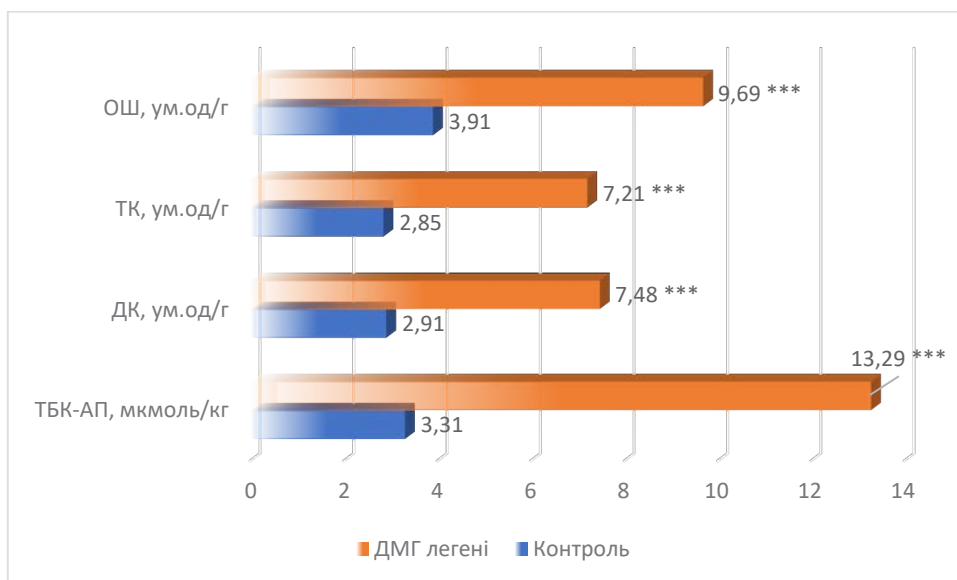


Рис. 1. Вплив ДМГ-індукованого КРР на рівень маркерів оксидативного стресу у тканині легень білих щурів за умов змодельованого канцерогенезу  
Примітка: \*\*\* – достовірні зміни між показниками контрольної й ураженої ДМГ групи тварин ( $p < 0,001$ )

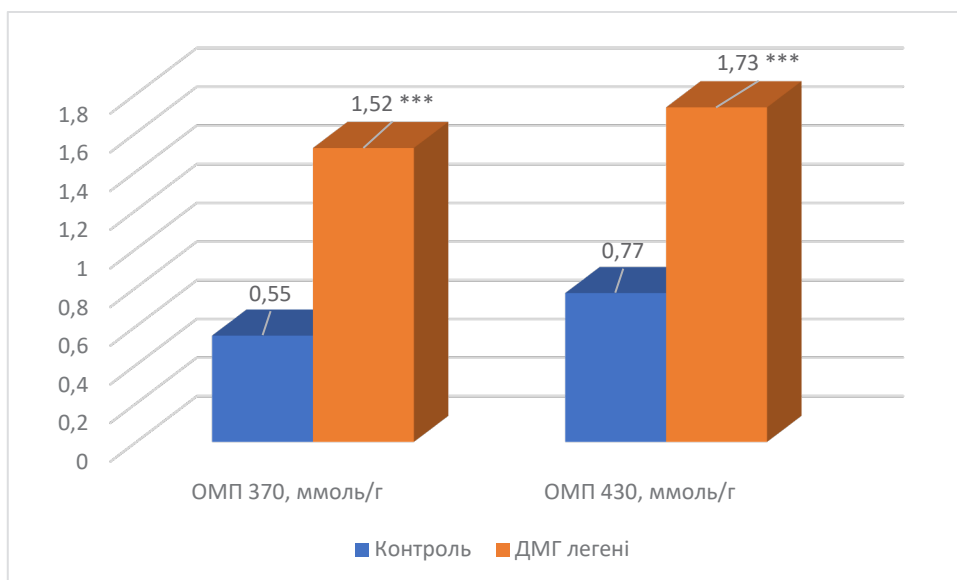


Рис. 2. Вплив ДМГ-індукованого КРР на концентрацію альдегідо- та кетонпохідних нейтрального (ОМП<sub>370</sub>) і основного (ОМП<sub>430</sub>) характеру в легенях білих щурів з індукованим канцерогенезом  
Примітка: \*\*\* – достовірні зміни між показниками контрольної й ураженої ДМГ групи тварин ( $p < 0,001$ )

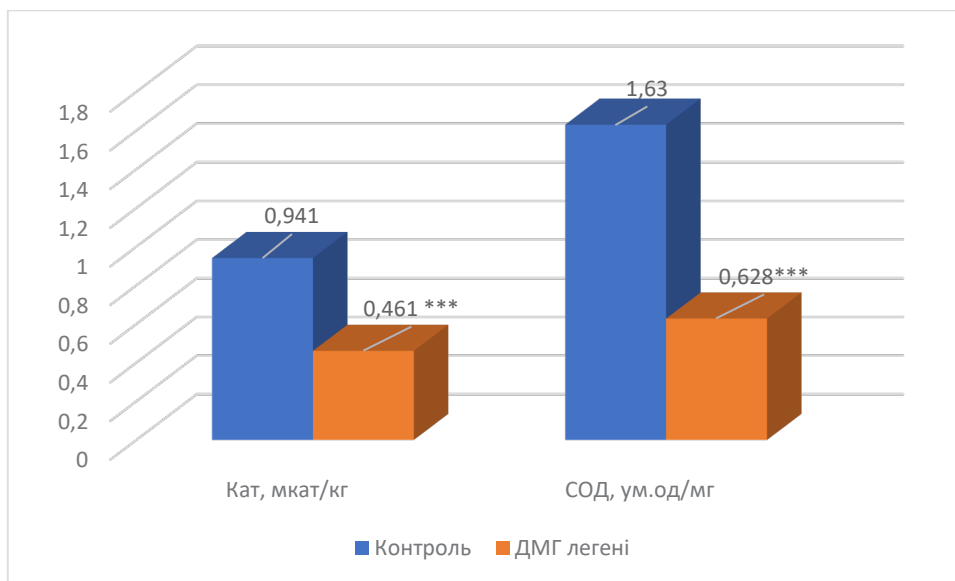


Рис. 3. Вплив ДМГ-індукованого КРР на рівень ферментів антиоксидантної системи у тканині легень білих щурів за умов змодельованого канцерогенезу  
Примітка: \*\*\* – достовірні зміни між показниками контрольної й ураженої ДМГ групи тварин ( $p < 0,001$ )

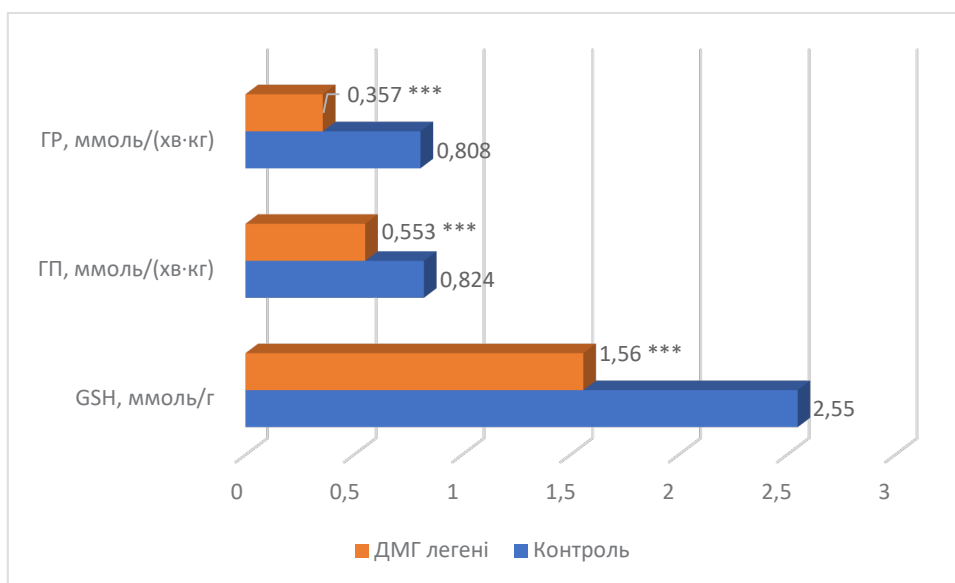


Рис. 4. Вплив ДМГ-індукованого КРР на рівень ферментів глутатіонової системи антиоксидантного захисту у тканині легень за умов змодельованого канцерогенезу  
Примітка: \*\*\* – достовірні зміни між показниками контрольної й ураженої ДМГ групи тварин ( $p < 0,001$ )

ферменту ГП, що містить селен. У результаті цих реакцій утворюються безпечні органічні спирти, які потім окислюються [19].

Важливу роль у глутатіоновій системі відіграє також глутатіонкон'югація, яка забезпечує детоксикацію ксенобіотиків і ендогенних метаболітів [20]. За умов експериментального онкогенезу товстої кишки у тканині легень було виявлено зниження концентрації GSH на 38,8%, зменшення активності ферментів

ГП на 32,9% і ГР на 55,8% ( $p < 0,001$ ) після 30 тижнів експерименту (рис. 4).

Низька активність ГР можлива лише за умов зменшення оптимального рівня внутрішньоклітинного GSH, який потрібен не лише як субстрат для реакцій, але і як важливий компонент для постійного відновлення селенольних груп у каталітичному центрі ферменту, що окислюються у процесі реакцій. Зниження активності ГР у клітині

відбувається зі зростанням концентрації окисленої форми NADH. Посилене окислення глутатіону й уповільнене його відновлення через низьку активність ГР і пригнічення функції ГП призводять до порушення роботи глутатіонової системи. Раніше виявлені зміни рівнів ГР і ГП свідчать про значні порушення в їх синтезі в ендоплазматичному ретикулумі, що знижує функціональну активність глутатіон-залежної частини антиоксидантної системи на тлі оксидативного стресу [21].

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Violation of the prooxidant-antioxidant balance in the spleen tissue under experimental carcinogenesis / Y. Soroka et al. *Georgian Med News*. 2023. Vol. 308. P. 123–128.
2. Influence of induced carcinogenesis on biological markers of endotoxemia / Ye. Lisnychuk et al. *World of Medicine and Biology*. 2018. Vol. 14. № 63. P. 137–140. DOI: 10.26724/2079-8334-2018-1-63-137-140.
3. Antioxidant barrier, redox status, and oxidative damage to biomolecules in patients with colorectal cancer. Can malondialdehyde and catalase be markers of colo-rectal cancer advancement? / J. Zińczuk et al. *Biomolecules*. 2019. Vol. 9. № 10. P. 637. DOI: 10.3390/biom9100637.
4. Barrera G. Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. *ISRN Oncology*. 2012. 137289. P. 1–21. DOI: 10.5402/2012/137289.
5. Lushchak V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stresses and their classifications. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2015. Vol. 87. № 6. P. 11–18. DOI: 10.15407/ubj87.06.011.
6. Oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases / M. Sharifi-Rad et al. *Front Physiol*. 2020. Vol. 87. № 694. DOI: 10.3389/fphys.2020.00694.
7. Ji L. L., Yeo D. Oxidative stress: an evolving definition. *Fac Rev*. 2021. Vol. 10. № 13. DOI: 10.12703/r/10-13.
8. Lung metastases from colorectal cancer: analysis of prognostic factors in a single institution study / M. G. Zampino et al. *Ann Thorac Surg*. 2014. Vol. 98. P. 1238–45. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2014.05.048.
9. Onder E. The Lipid Peroxidation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Turkish Thoracic Journal*. 2019. Vol. 20. № 1. P. 364. DOI: 10.5152/turkthoracj.2019.364.
10. Hou T. Lipid peroxidation triggered by the degradation of xCT contributes to gasdermin D-mediated pyroptosis in COPD. *Redox Biology*. 2024. P. 103388. DOI: 10.1016/j.redox.2024.103388.
11. Gaschler M. M., Stockwell B. R. Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2017. Vol. 482. № 3. P. 419–425. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086.
12. Rahman I. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. *European Respiratory Journal*. 2006. Vol. 28. № 1. P. 219–242. DOI: 10.1183/09031936.06.00053805.
13. Perše M., Cerar A. Morphological and molecular alterations in 1,2 dimethylhydrazine and azoxymethane induced colon carcinogenesis in rats. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011. P. 1–14. DOI: 10.1155/2011/473964.
14. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / В. В. Влізла та ін. ; за ред. В. В. Влізла. Львів : Сполом, 2012. 764 с.
15. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? / T. Hussain et al. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016. 7432797. DOI: 10.1155/2016/7432797.
16. Draper H. H., Hadley M. Evaluation of oxidative stress in biological samples using the thiobarbituric acid reactive substances assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 1990. Vol. 9. № 2. P. 139–173. DOI: 10.1016/0891-5849(90)90146-w.
17. Danchuk O. V. Lipid peroxidation and activity of the antioxidant protection system in pigs with different types of higher nervous activity : abstract of dissertation of Doctor of Veterinary Sciences : 03.00.13 ; National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. 2018. P. 46.
18. A preliminary study of the superoxide dismutase content of some human tumors / J. A. Sykes et al. *Cancer Res*. 1978. Vol. 38. P. 2759–2762.
19. Role of glutathione in cancer: from mechanisms to therapies / L. Kennedy et al. *Biomolecules*. 2020. Vol. 10. № 10. P. 1429. DOI: 10.3390/biom10101429.
20. Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance / N. Traverso et al. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2013. P. 1–10. DOI: 10.1155/2013/972913.
21. Функціонування глутатіонової системи ротової ріднини дітей за умов розвитку одонтогенного запального процесу / О. І. Годованець та ін. *Буковинський медичний вісник*. 2020. Vol. 3. № 95. P. 16–21. DOI: 10.24061/2413-0737.XXIV.3.95.2020.66.

## REFERENCES

1. Soroka, Y., Andriichuk, I., Lykhatskyi, P., et al. (2023). Violation of the prooxidant-antioxidant balance in the spleen tissue under experimental carcinogenesis. *Georgian Med News*, 308, 123–128.
2. Lisnychuk, Ye., Andriichuk, I. Ya., Soroka, Yu. Ya., et al. (2018). Influence of induced carcinogenesis on biological markers of endotoxemia. *World of Medicine and Biology*, 14 (63), 137–140. DOI: 10.26724/2079-8334-2018-1-63-137-140.
3. Zińczuk, J., Maciejczyk, M., Zaręba, K., et al. (2019). Antioxidant barrier, redox status, and oxidative damage to biomolecules in patients with colorectal cancer. Can malondialdehyde and catalase be markers of colo-rectal cancer advancement? *Biomolecules*, 9 (10). P. 637. DOI: 10.3390/biom9100637.
4. Barrera, G. (2012). Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. *ISRN Oncology*. 2012: 137289. 1–21. DOI: 10.5402/2012/137289.
5. Lushchak, V. I. (2015). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stresses and their classifications. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 87 (6), 11–18. DOI: 10.15407/ubj87.06.011.
6. Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., et al. (2020). Oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Front Physio*, 87 (694). DOI: 10.3389/fphys.2020.00694.
7. Ji, L. L., Yeo, D. (2021). Oxidative stress: an evolving definition. *Fac Rev*, 10 (13). DOI: 10.12703/r/10-13.
8. Zampino, M. G., Maisonneuve, P., Ravenda, P. S., et al. (2014). Lung metastases from colorectal cancer: analysis of prognostic factors in a single institution study. *Ann Thorac Surg*, 98, P. 1238–45. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2014.05.048.
9. Onder, E. (2019). The Lipid Peroxidation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Turkish Thoracic Journal*. 20 (1). P. 364. DOI: 10.5152/turkthoracj.2019.364.
10. Hou, T. (2024). Lipid peroxidation triggered by the degradation of xCT contributes to gasdermin D-mediated pyroptosis in COPD. *Redox Biology*. P. 103388. DOI: 10.1016/j.redox.2024.103388.
11. Gaschler, M. M., & Stockwell, B. R. (2017). Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 482 (3). 419–425. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086.
12. Rahman, I. (2006). Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. *European Respiratory Journal*, 28 (1), 219–242. DOI: 10.1183/09031936.06.00053805.
13. Perše, M., & Cerar, A. (2011). Morphological and molecular alterations in 1,2 dimethylhydrazine and azoxymethane induced colon carcinogenesis in rats. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. P. 1–14. DOI: 10.1155/2011/473964.
14. Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., & Ratych, I. B. (2012). Laboratorni metody doslidzhen u biolohii, tvarynnytstvi ta veterynarnii medytsyni: dovidnyk [Laboratory methods of research in biology, animal husbandry and veterinary medicine: a reference book]. Edited by V. V. Vlizlo. Lviv: SPOLOM, 764 p. [in Ukrainian].
15. Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., & Rahu, N. (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxidative medicine and cellular longevity*, 7432797. DOI: 10.1155/2016/7432797.
16. Draper, H. H., & Hadley, M. (1990). Evaluation of oxidative stress in biological samples using the thiobarbituric acid reactive substances assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 9 (2), 139–173. DOI: 10.1016/0891-5849(90)90146-w.
17. Danchuk, O. V. (2018). Lipid peroxidation and activity of the antioxidant protection system in pigs with different types of higher nervous activity: abstract of dissertation of Doctor of Veterinary Sciences: 03.00.13. National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. P. 46.
18. Sykes, J. A., McCor-mack, Jr., F. X., & O'Brien, T. J. (1978). A preliminary study of the superoxide dismutase content of some human tumors. *Cancer Res.*, 38. 2759–2762.
19. Kennedy, L., Sandhu, J. K., Sandhu, J. K. [et al.] (2020). Role of glutathione in cancer: from mechanisms to therapies. *Biomolecules*, 10 (10). P. 1429. DOI: 10.3390/biom10101429.
20. Traverso, N., Ricciarelli, R., & Nitti, M. (2013). Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1–10. DOI: 10.1155/2013/972913.
21. Godovanets, O. I., Vitkovsky, O. O., Kuzniak, L. V., & Murinyuk, T. I. (2020). Funktsionuvannia hlutationovoi systemy rotovoi ridyny ditei za umov rozvytku odontohennoho zapalnoho protsesu [Functioning of the glutathione system of children's oral fluid in the conditions of odontogenic inflammatory process development]. *Bukovinian Medical Herald*, 3 (95). 16–21. DOI: 10.24061/2413-0737.XXIV.3.95.2020.66.

## DISRUPTION OF REDOX HOMEOSTASIS IN LUNG TISSUE IN A DMH-INDUCED COLON ADENOCARCINOMA MODEL

### Summary

**Introduction.** Disruption of redox homeostasis is one of the key factors contributing to the progression of malignant neoplasms, including colorectal adenocarcinoma. Changes in the oxidative-reductive balance can affect various organs, including the lungs, through systemic oxidative stress and related cellular damage mechanisms. Recent studies show that the development of neoplastic lesions is accompanied by an increase in reactive oxygen species (ROS) and disruption of antioxidant system functions.

**The aim of the study.** This study aims to assess the impact of DMG-induced disruption of redox homeostasis on lung tissue, which is crucial for understanding the overall oxidative stress pattern in colorectal cancer.

**Research Methods.** The study was conducted on 105 male rats, housed under standard vivarium conditions. The animals were divided into two groups: Group I – control group with 35 animals; Group II – experimental group, which received N,N-dimethylhydrazine dihydrochloride (70 rats) for 30 weeks. The oxidative stress level in lung tissue was assessed using the concentration of TBARS-active products, dienic and trienic conjugates, Schiff bases, ceruloplasmin, aldehyde- and ketone-derived neutral (OMP<sub>370</sub>) and basic (OMP<sub>430</sub>) compounds, as well as the activity of catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, and the level of reduced glutathione.

**Results and Discussion.** This paper examines the complex relationship between oxidative stress and cancer development, highlighting its importance at various stages of carcinogenesis and tumor progression. The results show that oxidative stress can enhance the aggressive properties of cancer cells. The study demonstrated that DMG-induced colorectal adenocarcinoma leads to significant disruption of redox homeostasis in lung tissue, manifesting as an increase in reactive oxygen species and a decrease in antioxidant system activity. Such changes in the oxidative-reductive balance may increase the risk of oxidative cellular damage and contribute to the development of secondary pathologies in lung tissue. The findings are important for understanding the mechanisms of the systemic impact of colorectal cancer on the body and may serve as the basis for developing new antioxidant strategies in the comprehensive therapy of oncological diseases.

**Conclusions.** The study results revealed that DMG-induced colorectal adenocarcinoma causes significant disruption of redox homeostasis in lung tissue. This is manifested by an increase in reactive oxygen species and a decrease in the activity of antioxidant enzymes. Such changes in the oxidative-reductive balance increase the risk of oxidative cell damage, which may contribute to the development of additional pathological processes in lung tissue.

KEY WORDS: colon adenocarcinoma; lung tissue; oxidative stress; antioxidant system.

## ВПЛИВ КЛІТИННОЇ ТЕРАПІЇ НА ПРОЯВИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗА УМОВ КРАНІОСКЕЛЕТНОЇ ТРАВМИ

**Вступ.** Поєднана краніоскелетна травма (КСТ) належить до актуальних проблем сьогодення і трапляється в людей усіх вікових груп. У стратегії лікування краніоскелетної травми в післяшоковий період на перший план виступає профілактика вторинного ураження мозку та внутрішніх органів. У його патогенезі провідне місце належить оксидативному стресу (ОС). З метою корекції оксидативного стресу останніми роками активно вивчають клітинну терапію.

**Мета дослідження** – з'ясувати вплив клітинної терапії на розвиток оксидативного стресу в щурів різного віку за умов експериментальної краніоскелетної травми.

**Методи дослідження.** Дослідження проведено на білих щурах самцях лінії Вістар трьох вікових груп: статевонезрілих віком 100–120 днів, статевозрілих віком 6–8 місяців і старих віком 19–23 місяців. Щурам кожної вікової групи під тіопенталонатрієвим наркозом моделювали краніоскелетну травму. Щурів контрольної групи тільки вводили в наркоз. З метою корекції внутрішньовенно вводили суспензію кріоконсервованих клітин нейробластів (NBC) окремо та в поєднанні із внутрішньоочеревинним введенням мезенхімальних стовбурових клітин (MSC). Через 14 діб експерименту в печінці, нирках і легенях щурів різного віку визначали каталазну активність і вміст реагентів до тіобарбітурової кислоти, за відношенням яких розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ), ступінь зниження якого свідчить про тяжкість оксидативного стресу.

**Результати й обговорення.** Під впливом краніоскелетної травми через 14 діб посттравматичного періоду в печінці, нирках і легенях щурів незалежно від віку величина антиоксидантно-прооксидантного індексу була статистично вірогідно меншою, порівняно з контролем. Після застосування монотерапії NBC порівняно зі щурами без корекції в піддослідних щурів відмічали зростання величини антиоксидантно-прооксидантного індексу у внутрішніх органах, проте в печінці результат був статистично значущий лише у статевозрілих щурів, у нирці та легенях – у статевозрілих і статевонезрілих щурів. Застосування комбінації NBC та MSC порівняно зі щурами без корекції супроводжувалося зростанням величини антиоксидантно-прооксидантного індексу в усіх досліджуваних органах статевонезрілих і статевозрілих щурів. Порівняно з результатом монотерапії NBC результат виявився статистично вірогідно більшим лише у статевозрілих щурів.

**Висновки.** Існують вікові особливості впливу клітинної терапії на розвиток оксидативного стресу у внутрішніх органах щурів за умов краніоскелетної травми. Ефективність монотерапії NBC і комбінованої терапії NBC та MSC суттєво вища у статевозрілих щурів, порівняно зі щурами інших вікових груп.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** травма; печінка; нирка; легені; оксидативний стрес; клітинна терапія; вік.

ВСТУП. Поєднана краніоскелетна травма (далі – КСТ) належить до актуальних проблем сьогодення. Щороку КСТ трапляється в мільйонів людей усіх вікових груп. Тяжкий перебіг, висока летальність і стійкі неврологічні розлади тих, хто вижив, стають серйозним медичним і соціальним тягарем для суспільства [1].

Унаслідок механічного впливу значної сили виникає руйнування нервових і судинних структур, м'яких тканин і кісток опорно-рухового апарату. За цих умов у гострий період (1–2 доби) настає первинне ураження нейронів і глії, відмічають розвиток гіповолемічного або травматичного шоку. Згодом виникає вторинна дегенерація нервових структур (2–14 днів), а також вторинне ураження тканин і органів з формуванням поліорганної

недостатності. У їх патогенезі провідну роль відіграє утворення активних форм кисню, активізація вільнорадикального окиснення, вивільнення проапоптичних цитокінів з розвитком оксидативного стресу (далі – ОС) та синдрому системної відповіді на запалення [2; 3]. Навіть успішне виведення постраждалого із шоку не гарантує його подальше виживання та зменшення неврологічного дефіциту, що пов'язано з фізіологічно низьким постнатальним нейрогенезом та високою ймовірністю ускладнень, зумовлених вторинним ураженням внутрішніх органів [4; 5].

Як зазначає більшість авторів, у стратегії лікування КСТ після виведення постраждалого із шоку на перший план виступає профілактика вторинного ураження мозку та поліорганної дисфункції, стимуляція нейрогенезу та репаративних процесів у внутрішніх

органах [6; 7]. Із цією метою останніми роками активно вивчають клітинну терапію. Уважають, що трансплантовані стовбурові клітини можуть диференціюватися у функціональні нейрони та гліальні клітини, замінюючи втрачену тканину [8], або здатні виділяти чинники для зменшення вторинної дегенерації нервових клітин і паренхіматозних структур внутрішніх органів завдяки зменшенню інтенсивності процесів ліпідної пероксидації, порушень імунних реакцій і цитокиногенезу з вираженим тканинопротекторним ефектом, доведеним на світлооптичному та субмікроскопічному рівнях [9; 10]. Однак функціональна спроможність стовбурових клітин залежить від віку і зменшується зі старінням організму [11], що потребує дослідження терапевтичної ефективності клітинної терапії за умов КСТ у віковому аспекті.

**Мета дослідження** – з'ясувати вплив клітинної терапії на розвиток ОС в щурів різного віку за умов експериментальної КСТ.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для проведення експериментів випадковим методом на віварії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського було відібрано 129 білих щурів самців лінії Вістар трьох вікових груп: статевонезрілих віком 100–120 днів і масою 90–110 г; статевозрілих віком 6–8 місяців і масою 180–200 г та старих віком 19–23 місяців і масою 300–320 г. Усіх щурів утримували на стандартному раціоні віварію з постійним доступом до води.

У кожній віковій групі (по 36 щурів) під тіопенталонатрієвим наркозом ( $40 \text{ мг}\cdot\text{кг}^{-1}$ ) моделювали КСТ за методикою, описаною в роботі [12]. У статевонезрілих (молодих) щурів спершу по лівому стегну завдавали дозованого механічного удару твердим предметом із клиновидною насадкою й енергією  $0,320 \text{ Дж}$ , досягаючи закритого перелому стегнової кістки. Далі предметом із тупим кінцем завдавали дозованого удару по черепу з енергією  $0,226 \text{ Дж}$  у точці на  $3 \text{ мм}$  до переду від міжвушної лінії. У статевозрілих (дорослих) щурів для отримання перелому стегнової кістки завдавали аналогічного удару з енергією  $0,637 \text{ Дж}$  та дозованого удару по черепу в точці на  $5 \text{ см}$  до переду від міжвушної лінії з енергією  $0,375 \text{ Дж}$ . У старих щурів перелому стегнової кістки досягали шляхом завдання дозованого удару по стегну з енергією  $0,796 \text{ Дж}$ , черепно-мозкової травми (далі – ЧМТ) – дозованим ударом по черепу з енергією  $0,549 \text{ Дж}$  у точці на  $6 \text{ мм}$  до переду від міжвушної лінії.

Енергія удару в щурів різних вікових груп спричиняла ЧМТ середнього ступеня тяжкості

[6]. В експериментах не використовували щурів, у яких спостерігали проникаюче ураження черепа чи відкритий перелом стегна. У контрольних групах (по 7 щурів) тварин тільки вводили в тіопенталонатрієвий наркоз.

З метою корекції у групах щурів різного віку з КСТ застосовували криоконсервовані клітини нейробластів (далі – NBC) від щурів лінії Вістар (ASK Health Medical Diagnostic Center Limited Liability Company, м. Харків, Україна) та культивовані до четвертого пасажу мезенхімальні стовбурові клітини (далі – MSC) щурів, виділені з пуповинних канатиків плодів самки лінії Вістар на пізній стадії гестації, отримані в лабораторії клітинних культур Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Після розморожування суспензію клітин нейробластів вводили у хвостову вену через  $12 \text{ годин}$  після моделювання КСТ  $7$ -ми тваринам кожної вікової групи в дозі  $0,5 \text{ мл}$ , яка вміщувала  $10^6$  клітин. В іншій піддослідній групі поєднували введення нейробластів і внутрішньоочеревинне введення  $0,25 \text{ мл}$  суспензії MSC в дозі  $5\cdot 10^5$  клітин на щура [13]. Оцінювали ефективність застосування клітинної терапії через  $14 \text{ діб}$ . У групах порівняння доведено та внутрішньоочеревинно вводили фізіологічний розчин.

З експериментів щурів виводили в умовах наркозу методом тотального кровопускання із серця. Охолоджену і відмиту від крові печінку, нирки та легені гомогенізували в гомогенізаторі Silent Crasher 75000 (Німеччина). Розвиток ОС в щурів різного віку на тлі КСТ оцінювали за співвідношенням каталазної активності до вмісту реагентів до тіобарбітурової кислоти (антиоксидантно-прооксидантний індекс (далі – АПІ)) [14], які визначали в  $10\%$  екстракті гомогенату печінки, нирок і легень за методиками, описаними в роботі [15], з використанням спектрофотометра LabAnalyt SP-V1000 (Granum, Китай).

Під час проведення експериментів дотримувалися «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) та узгоджених із положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.), а також висновку комісії з питань біоетики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України № 72 від 6 січня 2023 р.

Одержаний цифровий матеріал обробляли у програмному пакеті STATISTICA

(StatSoft Inc., США). Визначали медіану (далі – Me), нижній і верхній кuartилі (далі – LQ, UQ). Для незалежного порівняння ступеня відхилення показників у тварин різних вікових груп розраховували середнє відношення індивідуальних величин досліджуваних показників до середньої величини контрольної групи [14]. Вірогідність відмінностей оцінювали за непараметричним критерієм Манна – Вітні.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Дослідження показали, що величина АПІ печінки під впливом КСТ у щурів різного віку порівняно з контролем через 14 діб посттравматичного періоду суттєво знижувалася (рис. 1): у статевозрілих щурів – на 80,3% ( $p < 0,05$ ), у старих щурів – на 77,2% ( $p < 0,05$ ), у старих щурів – на 86,5% ( $p < 0,05$ ). Окрім цього, у старих щурів показник виявився статистично вірогідно меншим, ніж у групах статевонезрілих статевозрілих щурів (відповідно на 48,3 та 42,3%,  $p < 0,05$ ).

Під впливом корекції NBC у статевонезрілих і старих щурів величина АПІ печінки порівняно зі щурами без корекції зростала, проте результат виявився статистично невірогідним ( $p > 0,05$ ). У статевозрілих щурів показник збільшився на 42,3%, що було статистично значущим ( $p < 0,05$ ).

Комбінована терапія NBC + MSC спричинила подальше зростання величини АПІ печінки. У статевонезрілих щурів показник порівняно зі щурами без корекції підвищився на 62,1% ( $p < 0,05$ ), порівняно зі щурами, які отримували лише NBC, – на 38,2% ( $p < 0,05$ ). Аналогічно показник зростав у статевозрілих щурів – відповідно на 42,3 та 29,7% ( $p < 0,05$ ). У старих щурів показник теж зростав, проте результат порівняно зі щурами без корекції та щурами з терапією лише NBC був статистично невірогідний ( $p > 0,05$ ).

З урахуванням наявності вікових відмінностей величини АПІ печінки в щурів із КСТ, з метою оцінювання ефективності клітинної терапії ми розраховали середнє відношення індивідуальних величин АПІ печінки щурів різного віку з КСТ, яким вводили NBC та NBC + MSC, до середньої величини щурів аналогічного віку без корекції (табл. 1).

Було встановлено, що у статевонезрілих і статевозрілих щурів комбінована клітинна терапія супроводжувалася суттєво більшим зростанням величини досліджуваного показника, ніж після застосування лише NBC (відповідно на 37,3 та 29,0%,  $p < 0,05$ ). У старих щурів відмінності показника під впливом різних видів клітинної терапії були статистично невірогідні ( $p > 0,05$ ).

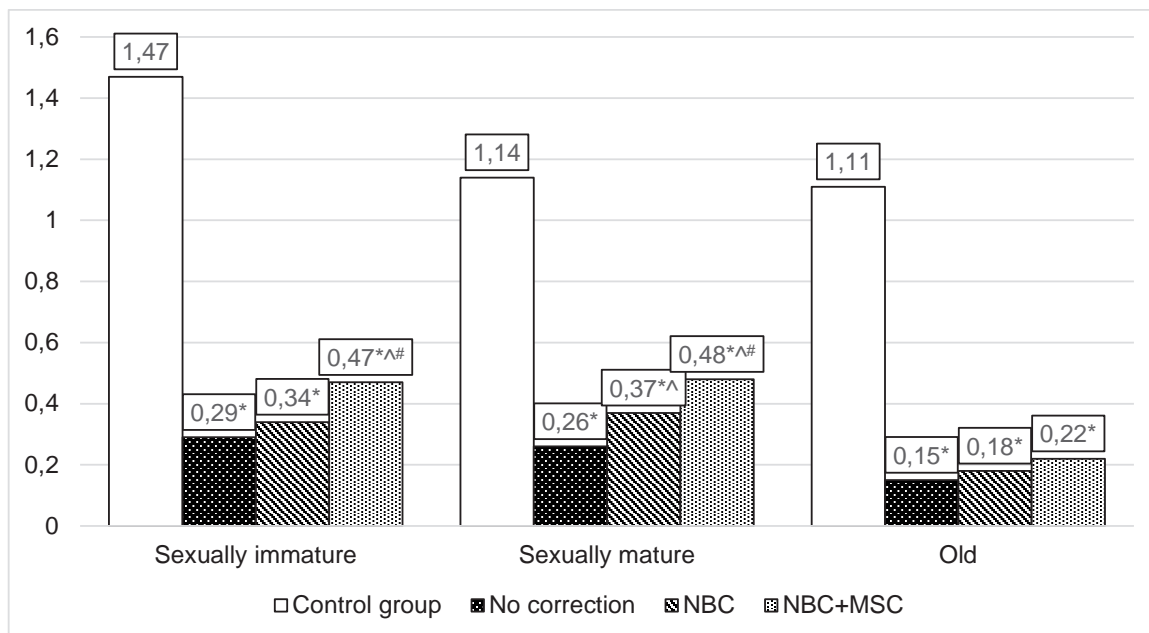


Рис. 1. Вплив клітинної терапії на величину АПІ печінки через 14 діб після завдання краніоскелетної травми в щурів різного віку

Примітки: тут і на рисунках 2 і 3: \* – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні,  $p < 0,05$ ; ^ – відмінності стосовно травмованих щурів без корекції статистично вірогідні,  $p < 0,05$ ; # – відмінності стосовно травмованих щурів із корекцією NBC статистично вірогідні,  $p < 0,05$ .

Таблиця 1 – Вплив клітинної терапії на середнє відношення індивідуальних величин АПІ печінки щурів різного віку з КСТ до середньої величини щурів без корекції через 14 днів після завдання краніоскелетної травми, Me (LQ; UQ) – медіана (нижній і верхній кuartилі)

Група тварин	NBC	NBC + MSC	p
Статевонезрілі	1,18 (0,94; 1,31)	1,62 (1,55; 1,72)	<0,05
Статевозрілі	1,45 (1,29; 1,47)	1,87 (1,71; 2,04)	<0,05
Старі	1,20 (0,97; 1,34)	1,43 (1,15; 1,58)	>0,05
$p_{1,2}$	>0,05	>0,05	
$p_{1,3}$	>0,05	>0,05	
$p_{2,3}$	>0,05	<0,05	

Примітки: тут і в табл. 2 і 3:

- 1) p – вірогідність відмінностей між групами щурів, які отримували NBC та NBC + MSC;
- 2)  $p_{1,2}$  – вірогідність відмінностей між групами статевонезрілих і статевозрілих щурів;
- 3)  $p_{1,3}$  – вірогідність відмінностей між групами статевонезрілих і старих щурів;
- 4)  $p_{2,3}$  – вірогідність відмінностей між групами статевозрілих і старих щурів.

Порівняння впливу NBC у травмованих щурів різного віку виявило, що середнє відношення індивідуальних величин АПІ печінки щурів різного віку з КСТ до середньої величини щурів без корекції у статевозрілих щурів було більшим порівняно зі статевонезрілими та старими щурами – відповідно на 22,9 та на 20,8%, проте результат виявився статистично невірогідним ( $p_{1,2} > 0,05$ ;  $p_{2,3} > 0,05$ ).

Порівняння комбінованого впливу MSC + NBC теж супроводжувалося більшим зростанням величини досліджуваного показника у статевозрілих щурів. Варто зауважити, що порівняно зі старими щурами показник виявився статистично значущим (на 30,8%,  $p_{2,3} < 0,05$ ).

У нирці через 14 днів після моделювання КСТ (рис. 2) у щурів різного віку величина АПІ була суттєво меншою, ніж у контролі: у статевонезрілих щурів – на 69,7% ( $p < 0,05$ ), у статевозрілих щурів – на 83,3% ( $p < 0,05$ ), у старих щурів – на 87,7% ( $p < 0,05$ ). У старих щурів показник у цей термін дослідження також був істотно меншим, ніж у статевонезрілих і статевозрілих щурів (відповідно на 31,0 та 20,7%,  $p < 0,05$ ).

Аналіз ефективності клітинної терапії за величиною АПІ нирки показав (див. рис. 2), що у статевонезрілих і статевозрілих щурів із КСТ застосування NBC викликало статистично вірогідне зростання величини досліджуваного показника порівняно зі щурами аналогічного віку без корекції (відповідно на 80,0% та у 2,30 рази,  $p < 0,05$ ). У старих щурів із КСТ під впливом NBC показник теж зростав, проте відмінності порівняно із групою щурів без корекції були статистично невірогідними ( $p > 0,05$ ).

Комбінована терапія в щурів різного віку з КСТ супроводжувалася подальшим зростанням величини АПІ нирки. У статевонезрілих щурів показник порівняно зі щурами без корекції зростав у 2,0 рази ( $p < 0,05$ ), порівняно зі щурами

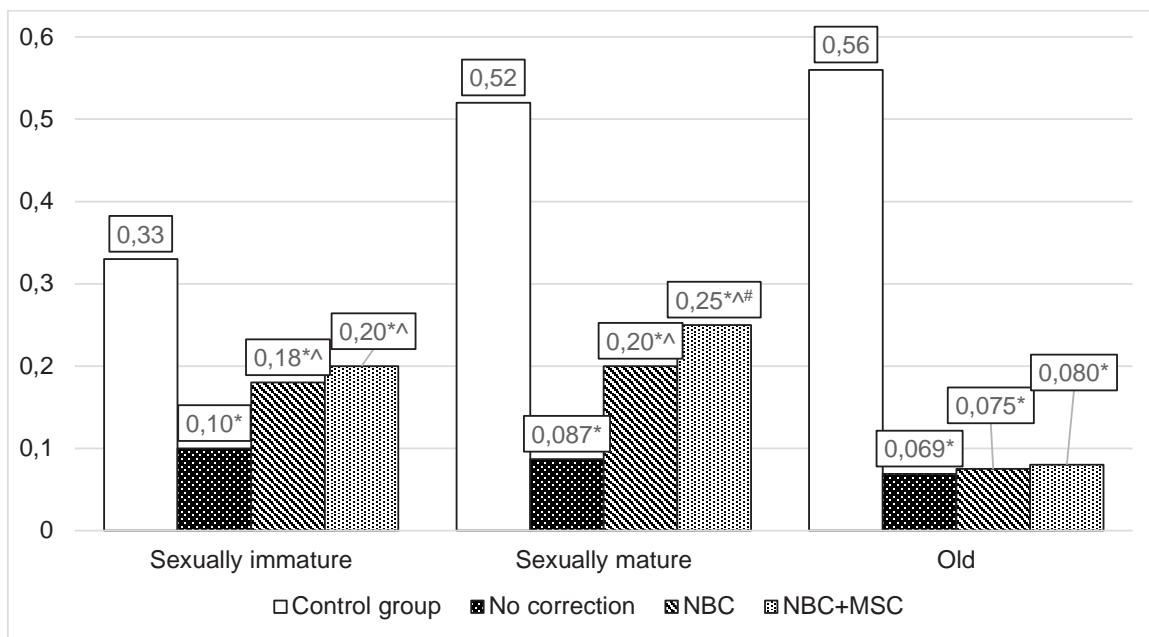


Рис. 2. Вплив клітинної терапії на величину АПІ нирки через 14 днів після завдання краніоскелетної травми в щурів різного віку

з терапією NSC – на 11,1%, проте результат був статистично незначущим ( $p > 0,05$ ). У статевозрілих щурів показник зростав відповідно у 2,87 раза та на 25,0% ( $p < 0,05$ ); у старих щурів – відповідно на 15,9 та 6,7%, що виявлялося теж статистично невіргодним ( $p > 0,05$ ).

Аналіз середнього відношення індивідуальних величин АПІ нирки щурів різного віку з КСТ після корекції NSC та NSC + MSC через 14 діб після завдання КСТ показав (табл. 2), що у статевонезрілих і старих щурів комбінована клітинна терапія супроводжувалася збільшенням величини досліджуваного показника порівняно з монотерапією NBC (відповідно на 12,5 і 6,4%), проте відмінності були неістотними ( $p > 0,05$ ).

Таблиця 2 – Вплив клітинної терапії на середнє відношення індивідуальних величин АПІ нирки щурів різного віку до середньої величини щурів без корекції через 14 діб після завдання краніоскелетної травми, Me (LQ; UQ) – медіана (нижній і верхній квантилі)

Група тварин	NBC	NBC + MSC	p
Статевонезрілі	1,28 (1,04; 1,37)	1,44 (1,23; 1,53)	>0,05
Статевозрілі	1,26 (1,09; 1,35)	1,56 (1,54; 1,76)	<0,05
Старі	1,09 (0,99; 1,11)	1,16 (1,11; 1,22)	>0,05
$p_{1,2}$	>0,05	<0,05	
$p_{1,3}$	>0,05	<0,05	
$p_{2,3}$	>0,05	<0,05	

У статевозрілих щурів показник під впливом NBC + MSC порівняно з монотерапією NBC зростав на 23,8%, що виявилось статистично значущим ( $p < 0,05$ ).

Порівняння ефективності клітинної терапії травмованих щурів різних вікових груп показало, що введення лише NBC не супроводжувалося суттєвими відмінностями показника у щурів різного віку з КСТ ( $p_{1,2} > 0,05$ ,  $p_{1,3} > 0,05$ ,  $p_{2,3} > 0,05$ ). Водночас комбінована терапія у статевозрілих щурів зумовила статистично вірогідне збільшення показника порівняно зі статевонезрілими та старими (відповідно на 8,3%,  $p_{1,2} < 0,05$  та на 34,5% ( $p_{2,3} < 0,05$ ). Варто зазначити, що у статевонезрілих щурів показник був істотно більшим, порівняно зі старими (на 24,1%,  $p_{1,3} < 0,05$ ).

Подібною була динаміка величини АПІ в легенях (рис. 3). Порівняно з контрольною групою у статевозрілих щурів із КСТ через 14 діб посттравматичного періоду показник був меншим на 72,0% ( $p < 0,05$ ), у статевозрілих щурів – на 75,5% ( $p < 0,05$ ), у старих щурів – на 79,8% ( $p < 0,05$ ). За цих умов у групі статевозрілих щурів показник виявився статистично вірогідно більшим, ніж у групах статевонезрілих і старих щурів (відповідно на 21,4 та 70,0%,  $p < 0,05$ ). Аналогічно у статевонезрілих щурів показник був істотно більшим порівняно зі старими щурами (на 40,0%,  $p < 0,05$ ).

Під впливом застосування лише NBC у групі статевонезрілих щурів із КСТ через 14 діб

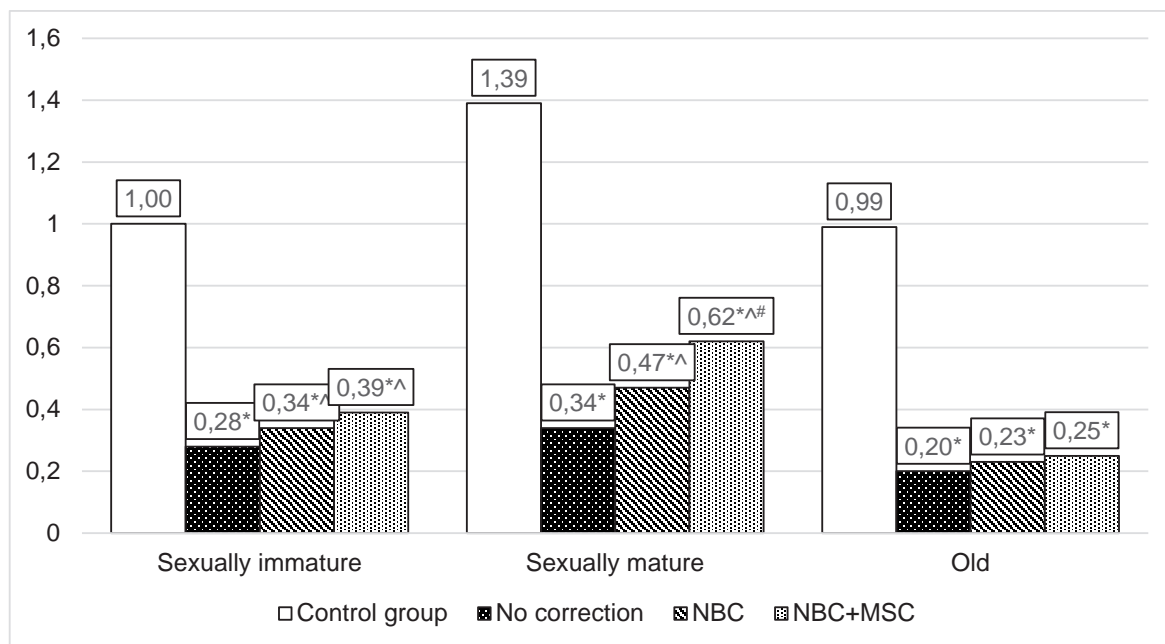


Рис. 3. Вплив клітинної терапії на величину АПІ легень через 14 діб після завдання краніоскелетної травми в щурів різного віку

посттравматичного періоду (див. рис. 3) величина АПІ легень зросла на 21,4% ( $p < 0,05$ ), у статевозрілих щурів – на 38,2% ( $p < 0,05$ ), у старих щурів – на 15,0%, проте результат був статистично невірогідний ( $p > 0,05$ ).

Після застосування комбінованої клітинної терапії показник у групах щурів різного віку продовжував підвищуватися і порівняно зі щурами без корекції у статевонезрілих щурів зростав на 39,3% ( $p < 0,05$ ), у статевозрілих щурів – на 82,4% ( $p < 0,05$ ), у старих щурів – на 25,0% ( $p > 0,05$ ). Порівняно зі щурами з монотерапією NBC, комбінована клітинна терапія супроводжувалася збільшенням величини досліджуваного показника, проте тільки у статевозрілих щурів результат був статистично вірогідним (на 27,6%,  $p < 0,05$ ).

Аналіз впливу клітинної терапії на середнє відношення індивідуальних величин АПІ легень щурів різного віку до середньої величини щурів без корекції через 14 діб після завдання КСТ (табл. 3) показав, що у групах щурів різного віку за умов комбінованої клітинної терапії показник був більшим, ніж після застосування монотерапії NBC, проте тільки у групі статевонезрілих щурів результат був статистично вірогідним (на 37,3%,  $p < 0,05$ ).

**Таблиця 3 – Вплив клітинної терапії на середнє відношення індивідуальних величин АПІ легень щурів різного віку до середньої величини щурів без корекції через 14 діб після завдання краніоскелетної травми, Me (LQ; UQ) – медіана (нижній і верхній квартилі)**

Група тварин	NBC	NBC + MSC	p
Статевонезрілі	1,23 (1,20; 1,44)	1,39 (1,32; 1,53)	>0,05
Статевозрілі	1,38 (1,21; 1,60)	1,84 (1,73; 2,05)	<0,05
Старі	1,00 (1,18; 1,29)	1,28 (0,99; 1,43)	>0,05
$p_{1-2}$	>0,05	<0,05	
$p_{1-3}$	>0,05	>0,05	
$p_{2-3}$	>0,05	<0,05	

Порівняння ефективності кожного із застосованих видів клітинної терапії серед щурів різного віку показало, що після монотерапії NBC середнє відношення індивідуальних величин АПІ легень щурів різного віку до середньої величини щурів без корекції між щурами різних вікових груп істотно не відрізнялось. Проте після застосування комбінованої клітинної терапії у групі статевозрілих щурів показник ставав статистично вірогідно більшим, порівняно зі статевонезрілими та старими щурами (відповідно на 32,4%,  $p_{1-2} < 0,05$  та 43,8%,  $p_{2-3} < 0,05$ ).

Отримані результати свідчать про те, що під впливом КСТ через 14 діб посттравматичного періоду в печінці, нирках і легенях щурів незалежно від віку антиоксидантно-прооксидантний баланс зміщений у бік домінування прооксидантних механізмів. Аналогічні порушення відмічали й інші автори, проте лише у статевозрілих щурів [16]. Уважають, що посилення ПОЛ та виснаження антиоксидантного захисту в цей термін є наслідком вторинного ураження тканин мозку та внутрішніх органів.

Після застосування монотерапії NBC у дослідних групах щурів різного віку відмічають зростання величини АПІ у внутрішніх органах порівняно зі щурами без корекції. Проте в печінці результат статистично значущий лише у статевозрілих щурів, у нирці та легенях – у статевозрілих і статевонезрілих щурів. Отже, доведення введення аллогенних нейробластів за умов КСТ зумовлює зменшення ОС на системному рівні. В основі отриманого результату, очевидно, лежить нейропротективний вплив, за допомогою якого NBC можуть покращити функціональні результати після експериментального ураження центральної нервової системи [17]. В основі виявленого феномену лежить паракринний вплив нейробластів завдяки секреції трофічних чинників, які беруть участь у нейропротекції [18]. Саме завдяки їм, як вважають окремі автори [10], застосування NBC сповільнювало вільнорадикальне окиснення мембранних ліпідів, суттєво знижувало у тканинах мозку вміст продуктів ПОЛ – дієнових і трієнових кон'югатів, шиффових основ, а також підвищувало в мозку активність антиоксидантних ферментів: каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази. Отримані результати, на думку автора, вказують на пряму антиоксидантну дію NBC. Подібні результати були отримані з уведенням фетальних нервових клітин на тлі КСТ, ускладненої гострою крововтратою, у статевозрілих щурів [11]. Автор зазначає, що клітинна терапія сприяла зниженню інтенсивності ПОЛ у печінці та депонуванню антиоксидантів. Посилення антиоксидантного захисту у тканинах головного мозку за умов моделі експериментальної деменції на тлі клітинної терапії окремі автори пов'язують із покращенням енергетичного балансу. За цих умов відмічали збільшення синтезу АТФ, підвищення активності ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутази та каталази), зниження у тканинах головного мозку рівня ТБК-активних продуктів [19; 20].

Привертає увагу той факт, що ефективність уведення NBC однозначно більша

у статевозрілих щурів, дещо менша – у статевонезрілих, несуттєва – у старих. Низький системний терапевтичний вплив у старих щурів, очевидно, зумовлений сукупністю вікових чинників, які знижують здатність плюрипотентних стовбурових поповнювати тканини організму належною кількістю диференційованих клітин [11]. Імовірно, це впливає і на їхні паракринні функції. Водночас ступінь зростання величини АПІ у щурів різних вікових груп був практично однаковим, що вказує на збільшення АПІ пропорційно до його рівня в щурів без корекції.

Застосування з метою корекції комбінації NBC та MSC порівняно зі щурами без корекції супроводжується більшим ефектом. Величина АПІ в досліджуваних органах у статевонезрілих і статевозрілих щурів стає суттєво більшою від контролю. У старих щурів показник зростає, проте відмінності стосовно контрольної групи продовжують залишатися статистично незначущими. Зауважимо, що лише у статевозрілих щурів комбінована клітинна терапія супроводжується більшим ефектом порівняно з монотерапією NBC.

Як видно, комбінований вплив, який включає 2 типи клітин із різним рівнем диференціації та властивостями, на тлі КСТ сприяє меншому розвитку ОС у внутрішніх органах і є більшим у статевозрілих щурів. Отриманий, очевидно, пов'язаний з ефектом сумачії біологічного впливу обох типів клітин, оскільки і для MSC характерні пригнічення запалення та синтезу біологічно активних речовин, які сприяють

нейропротекції та регенерації [20–22]. Водночас вік створює негативне тло для терапевтичного впливу як NBC, так і MSC.

Отже, отримані результати вказують на вікові особливості впливу клітинної терапії на розвиток ОС у внутрішніх органах щурів за умов КСТ, що варто враховувати під час розроблення стратегій клітинної терапії за умов тяжкої поєднаної травми.

**ВИСНОВКИ.** 1. За умов уведення NBC на тлі КСТ через 14 діб посттравматичного періоду порівняно зі щурами без корекції у статевонезрілих щурів у тканинах нирок і легень, у статевозрілих щурів – у всіх досліджуваних органах відмічають нижчий рівень ОС, про що свідчить статистично вірогідно більший АПІ. Ступінь збільшення показника між групами щурів різного віку суттєво не відрізняється, що вказує на пропорційне зростання під впливом NBC величини АПІ порівняно зі щурами без корекції

2. Комбінована трансплантація NBC та MSC щурам різного віку за умов КСТ супроводжується більшим зниженням ОС у тканинах печінки, нирок і легень. У статевонезрілих і статевозрілих щурів величина АПІ в досліджуваних внутрішніх органах суттєво більша порівняно зі щурами без корекції. Порівняно зі щурами з КСТ, яким проводили монотерапію NBC, комбінована терапія лише у статевозрілих щурів спричиняла статистично вірогідне зростання величини АПІ, а також супроводжувалася більшим ступенем приросту показника порівняно зі щурами без корекції.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. GBD 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet. Neurology*. 2019. Vol. 18. № 5. P. 459–480. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30499-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30499-X).
2. Traumatic spinal cord injury / C. S. Ahuja et al. *Nature reviews. Disease primers*. 2017. Vol. 3. P. 17018. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.18>.
3. McAllister T. W. Neurobiological consequences of traumatic brain injury. *Dialogues in clinical neuroscience*. 2011. Vol. 13. № 3. P. 287–300. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2011.13.2/tmcallister>.
4. Traumatic brain injury in China / J. Y. Jiang et al. *The Lancet. Neurology*. 2019. Vol. 18. № 3. P. 286–95. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(18\)30469-1](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(18)30469-1).
5. Прохоренко О. О., Цимбалюк Г. Ю. Динаміка показників функціональної активності печінки в період пізніх проявів краніоскелетної травми за умов супутнього хронічного гепатиту та ефективність корекції

армадіном. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2022. № 1. С. 119–126. DOI: 10.11603/1811-2471.2022.v.i1.12998.

6. Зяблицев С. В., Єльський В. М. Синдроми травматичної хвороби при черепно-мозковій травмі: монографія. Краматорськ: Каштан, 2020. 264 с.

7. Pentraxin 3 contributes to neurogenesis after traumatic brain injury in mice / C. Zhou et al. *Neural regeneration research*. 2020. Vol. 15. № 12. P. 2318–26. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.285001>.

8. Houli J. D., Reier P. J. Transplantation of fetal spinal cord tissue into the chronically injured adult rat spinal cord. *The Journal of comparative neurology*. 1988. Vol. 269. № 4. P. 535–547. <https://doi.org/10.1002/cne.902690406>.

9. Борис Р. М. Морфологічні і біохімічні зміни внутрішніх органів при експериментальній краніоскелетній травмі: монографія. Тернопіль: Укрмедкнига, 2013. 142 с.

10. Терапія фетальними нервними клетками в остром періоді експериментального ішемічного

инсульта (антиоксидантный эффект) / Д. В. Лебединец и др. *Проблемы криобиологии*. Т. 20. № 3. С. 338–347.

11. Effect of aging on stem cells / A. S. Ahmed, M. H. Sheng, S. Wasnik. *World journal of experimental medicine*. 2017. Vol. 7. № 1. P. 1–10. <https://doi.org/10.5493/wjem.v7.i1.1>.

12. Особливості ензимної ланки антиоксидантного захисту нирок щурів різного віку за умов експериментальної краніоскелетної травми / А. І. Гоженко, та ін.. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. № № 1–2. С. 279–290. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7618011>.

13. Павлова О. О., Лук'янова Є. М. Вплив мезенхімальних стовбурових клітин на динаміку експресії регулятора проліферації ендотелію у структурах головного мозку щурів з експериментальною деменцією альцгеймерівського типу. *Актуальні проблеми сучасної медицини : вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2023. Т. 23. № 4. С. 224–227. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.23.4.224>.

14. Гук Р. А., Гудима А. А. Статеві особливості розвитку оксидативного стресу в печінці під впливом краніоскелетної травми та його корекція. *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. 2024. № 2. С. 48–55. <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2024.2.14846>.

15. Лабораторні методи дослідження у біології, тваринництві і ветеринарній медицині : довідник / В. В. Влізла та ін. ; за ред. В. В. Влізла. Львів : Сполом, 2012. 764 с.

16. Прохоренко О. О., Цимбалюк Г. Ю. Динаміка активності процесів ліпідної пероксидації в пізній період краніоскелетної травми за умов хронічного

гепатиту та ефективність корекції армадіном. *Медична та клінічна хімія*. 2021. Т. 23. № 4. С. 15–21. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2021.i4.12728>.

17. Human neuroepithelial stem cell regional specificity enables spinal cord repair through a relay circuit / M. T. Dell'Anno et al. *Nature communications*. 2018. Vol. 9. № 1. P. 3419. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05844-8>.

18. An in vivo characterization of trophic factor production following neural precursor cell or bone marrow stromal cell transplantation for spinal cord injury / G. W. Hawryluk et al. *Stem cells and development*. 2012. Vol. 21. № 12. P. 2222–2238. <https://doi.org/10.1089/scd.2011.0596>.

19. Behavioral reactions and cognitive functions in rats with vascular model of Alzheimer's type dementia at different stages of disease before and after stem cell correction / Y. Lukyanova et al. *Inter Collegas*. 2020. Vol. 7. № 3. P. 118–124. <https://doi.org/10.35339/ic.7.3.118-124>.

20. Роль гіпоксії та мітохондріальної дисфункції в механізмах розвитку експериментальної деменції альцгеймерівського типу різного генезу у щурів, оцінка можливості корекції даного стану мезенхімальними стовбуровими клітинами / Є. М. Зоренко та ін. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. № 1. P. 66–72.

21. Mesenchymal stem cells in the treatment of spinal cord injuries : a review / V. R. Dasari et al. *World journal of stem cells*. 2014. Vol. 6. № 2. P. 120–133. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v6.i2.120>.

22. Bone marrow stromal stem cells transplantation in mice with acute spinal cord injury / V. Neirinckx et al. *Methods in molecular biology*. 2014. Vol. 1213. P. 257–264. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1453-1\\_21](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1453-1_21).

## REFERENCES

1. GBD 2016 Neurology Collaborators (2019). Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*, 18 (5), 459–480. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30499-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30499-X).

2. Ahuja, C. S., Wilson, J. R., Nori, S., Kotter, M. R. N., Druschel, C., Curt, A., & Fehlings, M. G. (2017). Traumatic spinal cord injury. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17018. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.18>.

3. McAllister, T. W. (2011). Neurobiological consequences of traumatic brain injury. *Dialogues in clinical neuroscience*, 13 (3), 287–300. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2011.13.2/tmcallister>.

4. Jiang, J. Y., Gao, G. Y., Feng, J. F., Mao, Q., Chen, L. G., Yang, X. F., Liu, J. F., Wang, Y. H., Qiu, B. H., & Huang, X. J. (2019). Traumatic brain injury in China. *The Lancet Neurology*, 18 (3), 286–295. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30469-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30469-1).

5. Prokhorenko, O. O., & Tsybaliuk, H. Y. (2022). Dynamika pokaznykiv funktsionalnoi aktyvnosti pechinky v period piznykh proiaviv kranioskелetnoi travmy za

umov suputnoho khronichnoho hepatytu ta efektyvnist korektsii armadinom. [Dynamics of liver functional activity indicators during late manifestations of craniockeletal trauma under constitutional chronic cheophetic hepatephetic]. *Zdobutky klinichnoi i eksperymentalnoi medytsyny – Achievements of Clinical and Experimental Medicine*, (1), 119–126. <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2022.vi1.12998> [in Ukrainian].

6. Ziablitsev, S. V., & Yelskyi, V. M. (2020) Syndromy travmatychnoi khvoroby pry cherepno-mozkovii travmi [Traumatic disease syndromes in traumatic brain injury]. Kramatorsk: Kashtan [in Ukrainian].

7. Zhou, C., Chen, H., Zheng, J. F., Guo, Z. D., Huang, Z. J., Wu, Y., Zhong, J. J., Sun, X. C., & Cheng, C. J. (2020). Pentraxin 3 contributes to neurogenesis after traumatic brain injury in mice. *Neural regeneration research*, 15 (12), 2318–2326. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.285001>.

8. Houli, J. D., & Reier, P. J. (1988). Transplantation of fetal spinal cord tissue into the chronically injured adult rat spinal cord. *The Journal of comparative neurology*, 269 (4), 535–547. <https://doi.org/10.1002/cne.902690406>.

9. Borys, R. M. (2013) Morfolohichni i biokhimichni zminy vnutrishnikh orhaniv pry eksperymentalni

kranioskeletnii travmi [Morphological and biochemical changes of internal organs in experimental kranioskeletal trauma]. Ternopil: Ukrmedknyha [in Ukrainian].

10. Lebedinec, D. V., Ovsyannikov, S. E., Lebedinec, V. V., Ostankov, M. V., & Golcev, A. N. (2010) Terapiya fetalnymi nervnymi kletkami v ostrom periode eksperimentalnogo ishemičeskogo insulta (antioksidantnyj effekt) [Therapy with Fetal Neuronal Cells in Acute Period of Experimental Ischemic Stroke (Antioxidative Effect)]. *Problemy kriobiologii – Problems of cryobiology*, 20 (3), 338–347 [in Russian].

11. Ahmed, A. S., Sheng, M. H., Wasnik, S., Baylink, D. J., & Lau, K. W. (2017). Effect of aging on stem cells. *World journal of experimental medicine*, 7 (1), 1–10. <https://doi.org/10.5493/wjem.v7.i1.1>.

12. Gozhenko, A. I., Sushko, Yu. I., Hudyma, A. A., & Zachepa, O. A. (2023). Osoblyvosti enzymnoi lanky antyoksydantnoho zakhystu nyrok shchuriv riznoho viku za umov eksperymentalnoi kranioskeletnoi travmy [Peculiarities of Enzymatic Pathway of Antioxidant Protection in Kidneys of rats of Different Age in Case of Experimental Cranioskeletal Injury]. *Aktualni problemy transportnoi medytsyny – Actual problems of transport medicine*. (1–2), 279–290. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7618011> [in Ukrainian].

13. Pavlova, O., & Lukyanova, E. (2023). Vplyv mezenkhimalnykh stovburovykh klityn na dynamiku ekspresii rehuliatora proliferatsii endoteliu u strukturakh holovnoho mozku shchuriv z eksperymentalnoi dementsiieiu altsheimerivskoho typu [The influence of mesenchymal stem cells on the dynamics of regulator of endothelial proliferation expressions in the brain structures of rats with experimental alzheimer-type dementia]. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny: Visnyk Ukrainської medychnoi stomatolohichnoi akademii – Actual Problems of the Modern Medicine: Bulletin of Ukrainian Medical Stomatological Academy*, 23 (4), 224–227. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.23.4.224> [in Ukrainian].

14. Huk, R. A., & Hudyma A. A. (2024). Statevi osoblyvosti rozvytku oksydatyvnoho stresu v pečintsii pid vplyvom kranioskeletnoi travmy ta yoho korektsiia [Sex peculiarities of oxidative stress development in the liver under the influence of cranioskeletal trauma and its correction]. *Shpytalna khirurgiia. Zhurnal imeni L. Ya. Kovalchuka – Hospital Surgery. Journal Named by L. Ya. Kovalchuk*, (2), 48–55. <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2024.2.14846> [in Ukrainian].

15. Vlizlo, V. V. (Ed.). (2012) *Laboratorni metody doslidzhennia u biologii, tvarynnytsvi i veterynarnii medytsyni* [Laboratory Research Methods in Biology, Animal Husbandry and Veterinary Medicine]. Lviv: Spolom [in Ukrainian].

16. Prokhorenko, O. O., & Tsymbaliuk, H. Y. (2022). Dynamika aktyvnosti protsesiv lipidnoi peroksydatsii v piznii period kranioskeletnoi travmy za umov khronichnoho hepatytu ta efektyvnist korektsii armadinom [Dynamics of the activity of lipid peroxidation processes in late period of cranioskeletal injury in case of chronic hepatitis and the effectiveness of correction with armadine]. *Medychna ta klinichna khimiia – Medical and Clinical Chemistry*, 23 (4), 15–21. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2021.i4.12728> [in Ukrainian].

17. Dell'Anno, M. T., Wang, X., Onorati, M., Li, M., Talpo, F., Sekine, Y., Ma, S., Liu, F., Cafferty, W. B. J., Sestan, N., & Strittmatter, S. M. (2018). Human neuroepithelial stem cell regional specificity enables spinal cord repair through a relay circuit. *Nature communications*, 9 (1), 3419. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05844-8>.

18. Hawryluk, G. W., Mothe, A., Wang, J., Wang, S., Tator, C., & Fehlings, M. G. (2012). An in vivo characterization of trophic factor production following neural precursor cell or bone marrow stromal cell transplantation for spinal cord injury. *Stem cells and development*, 21 (12), 2222–2238. <https://doi.org/10.1089/scd.2011.0596>.

19. Lukyanova, Y., Nikolaeva, O., Pavlova, O., Vasyleva, I., Naglov, O., Shchegelskaya, E., & Omelchenko, O. (2020). Behavioral reactions and cognitive functions in rats with vascular model of alzheimer's type dementia at the different stages of disease before and after stem cell correction. *Inter Collegas*, 7 (3), 118–124. <https://doi.org/10.35339/ic.7.3.118-124>.

20. Zorenko, Ye. M., Pavlova, O. O., Horbach, T. V., & Martynova, S. M. (2021) Rol hipoksii ta mitokondrialnoi dysfunksii v mekhanizmach rozvytku eksperymentalnoi dementsii altsheimerivskoho typu riznoho henezu u shchuriv, otsinka mozhlyvosti korektsii danoho stanu mezenkhimalnymy stovburovymy klitynamy [Role of hypoxia and mitochondrial dysfunction in the mechanism of the experimental alzheimer's type dementia induced by different ways in rats and assessment of possibilities to correct this condition by using mesenchymal stem cells]. *Bulletin of problems biology and medicine – Visnyk problem biologii i medytsyny*. (1): 66–72. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2021-1-159-66-72> [in Ukrainian].

21. Dasari, V. R., Veeravalli, K. K., & Dinh, D. H. (2014). Mesenchymal stem cells in the treatment of spinal cord injuries: A review. *World journal of stem cells*, 6 (2), 120–133. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v6.i2.120>.

22. Neirinckx, V., Rogister, B., Franzen, R., & Wislet-Gendebien, S. (2014). Bone marrow stromal stem cells transplantation in mice with acute spinal cord injury. *Methods in molecular biology*, 1213, 257–264. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1453-1\\_21](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1453-1_21).

## THE EFFECT OF CELL THERAPY ON THE MANIFESTATIONS OF OXIDATIVE STRESS IN RATS OF DIFFERENT AGES UNDER CONDITIONS OF CRANIO-SKELETAL TRAUMA

### Summary

**Introduction.** Combined cranio-skeletal trauma (CST) is one of the most pressing problems of our time and occurs in people of all age groups. In the strategy of CST treatment in the post-shock period, the prevention of secondary brain and internal organ damage is at the forefront. Oxidative stress (OS) plays a leading role in its pathogenesis. In recent years, cell therapy has been actively studied to correct OS.

**The aim of the study.** To determine the effect of cell therapy on the development of OS in rats of different ages under the conditions of experimental CST.

**Research Methods.** The experiment was conducted on white male Wistar line rats of three age groups: immature at the age of 100–120 days, mature at the age of 6–8 months and old at the age of 19–23 months. Rats of each age group under thiopental sodium anaesthesia were modelled with CST. Rats of the control group were only put into general anaesthesia. For the purpose of correction, a suspension of cryopreserved neuroblast cells (NBC) was injected intravenously separately and in combination with injected intraperitoneally injection of mesenchymal stem cells (MSC). After 14 days of the experiment, catalase activity and the content of thiobarbituric acid reagents were determined in the liver, kidneys and lungs of different aged rats, and the ratio of these parameters was used to calculate the antioxidant-prooxidant index (API), the degree of decrease of which indicates the severity of OS.

**Results and Discussion.** Under the influence of CST after 14 days of posttraumatic period in the liver, kidneys and lungs of rats, regardless of age, the value of API was statistically significantly lower compared to the control. After NBC monotherapy compared to rats without correction, an increase in API in internal organs was observed in experimental rats, but the result was statistically significant only in the liver of mature rats, and in the kidney and lungs of mature and immature rats. The use of a combination of NBC and MSC compared to rats without correction was accompanied by an increase in the value of API in all studied organs of immature and mature rats. Compared with the result of NBC monotherapy, the result was statistically significantly higher only in mature rats.

**Conclusions.** There are age-related peculiarities of cell therapy effect on the development of OS in the internal organs of rats under conditions of CST. The efficacy of NBC monotherapy and combined NBC and MSC therapy is significantly higher in mature rats compared to rats of other age groups.

KEY WORDS: trauma; liver; kidney; lungs; oxidative stress; cell therapy; age.

M. O. Tsebenko<sup>1</sup>, M. V. Bilets<sup>1</sup>, O. E. Omelchenko<sup>1</sup>, M. Ya. Spivak<sup>2</sup>, K. S. Neporada<sup>1</sup><sup>1</sup>POLTAVA STATE MEDICAL UNIVERSITY<sup>2</sup>ZABOLOTNY INSTITUTE OF MICROBIOLOGY AND VIROLOGY NAS OF UKRAINE

## EFFECT OF NANOCERIUM ON STRESS SYNDROME SEVERITY AND ANTHROPOMETRY IN RATS WITH CHRONIC STRESS AND OBESITY

**Introduction.** Nanotechnology has opened new promising directions in modern biology and medicine. Nanocrystalline materials, such as cerium dioxide-based nanomaterials, play a leading role in these developments. Significant experimental data have been accumulated, demonstrating the high biological activity of nanocrystalline cerium and revealing its potential use in the development and application of nanocomposites capable of activating cellular and humoral immune defense systems.

**The aim of the study** – effect of nanocerium on stress syndrome severity and anthropometry in rats with chronic stress and obesity.

**Research Methods.** Experimental studies were conducted on 103 white non-linear rats of both sexes, modeling obesity induced by glutamate, chronic stress, both separately and in combination. Obesity was induced by postnatal subcutaneous injection of sodium glutamate. The animals were maintained on a standard vivarium diet for 4 months. Body weight, BMI, and Lee index were monitored weekly throughout the experiment. Chronic stress was modeled using Hans Selye's method by immobilizing the animals on their backs for 5 hours. The severity of stress was assessed by Selye's triad. Starting from 1 month of age and for the next three months, the experimental rats were orally administered nanocrystalline cerium dioxide using a probe. Somatometric measurements showed that in obese animals, growth was stunted, and body weight did not significantly differ from intact animals.

**Results and Discussion.** For example, the body weight of intact animals was  $165,2 \pm 5,1$  g, while rats with glutamate-induced obesity weighed  $213,7 \pm 9$  g. Despite the increase in body weight, the body length of obese rats was shorter compared to intact animals. It has been shown that nanocrystalline cerium has high antioxidant activity and can be considered a candidate for the creation of a therapeutic agent for the treatment of obesity. Intravenous administration of nanocrystalline cerium to animals with modeled obesity and chronic stress associated with obesity significantly reduced BMI compared to respective control animals.

**Conclusions.** Nanocerium effectively prevented the development of visceral obesity in animals exposed to isolated and combined effects of obesity and stress, as evidenced by a significant reduction in fat mass in the visceral fat depot of the animals. Thus, nanocrystalline cerium dioxide is a potential agent for correcting experimental obesity under chronic stress conditions, as confirmed by other studies.

KEY WORDS: periodontal tissues; rats; monosodium glutamate; visceral fat; cerium oxide; thymus; adrenal glands.

INTRODUCTION. Over the past three decades, obesity has increased worldwide, particularly in low- and middle-income countries due to uncontrolled urbanization and the change-over to a “western-style” diet [1]. Obesity is a rapidly growing pandemic with serious health consequences. In recent years, there is increasing evidence that stress, and in particular increases in the glucocorticoid stress hormone – cortisol, plays a role in the development of obesity [2].

It is known that in our modern society, the obesity pandemic coincides with an increase in factors that enhance cortisol production, such as chronic stress, consumption of high-glycemic index foods, and sleep deprivation.

This indicates a vicious circle where increased glucocorticoid action, obesity and

stress interact and enhance each other [3]. Although it is known that the main cause of the obesity epidemic is an imbalance between energy intake and expenditure, however, when taking account of the effects of chronic exposure to cortisol, there is increasing evidence that cortisol is also a major factor in this pandemic. It has been proven that, on average, obese people have higher levels of cortisol in their hair. A meta-analysis by Stalder et al. also found evidence of a relationship between cortisol and BMI: cortisol in the hair of obese patients increased by 9,8% for every 2,5-point increase in BMI [4].

Nanotechnology is a branch of science that studies particles in the 1–100 nm range. These particles are called nanoparticles, and they exhibit unique electronic, optical, magnetic, and mechanical properties that distinguish them from the basic material. Nanotechnology

has opened up new and promising directions in modern biology and medicine. The leading role in them is occupied by nanocrystalline materials, which include nanomaterials based on cerium dioxide. Currently, considerable experimental material has been accumulated, which testifies to the high biological activity of nanocrystalline cerium and reveals the potential possibility of its use for the development and application of nanocompositions capable of activating the systems of cellular and humoral immune protection, prevention and therapy of viral diseases, as well as for increasing the effectiveness of the treatment of malignant neoplasms [5].

It has been proven that nanocrystalline cerium has high antioxidant activity, it exerts a neurotrophic and neuroprotective effect, increases the viability of brain cells, has antimicrobial properties [6], and can be considered as a candidate for the creation of a drug in the treatment of obesity [7].

**RESEARCH METHODS.** Experimental studies were conducted on 103 white nonlinear rats of both sexes, modeling glutamate-induced obesity, chronic stress, both separately and in combination.

Obesity was induced by postnatal subcutaneous administration of monosodium glutamate (MSG) to newborn rats [8] at a dose of 4 mg/g on days 2, 4, 6, 8, and 10 after birth. Control group rats received subcutaneous injections of physiological saline at a dose of 8  $\mu$ l/g. The animals were maintained on a standard vivarium diet for 4 months.

Body weight, BMI, and Lee index were monitored weekly throughout the experiment. Chronic stress was modeled according to Hans Selye's method by immobilizing the animals on their backs for 5 hours during the last week before slaughter, which was performed 2 hours after stress under thiopental anesthesia by exsanguination. Starting from 1 month of age and continuing for the next three months, the experimental rats were administered nanocrystalline cerium dioxide orally via a probe at a dose of 1 mg/kg dissolved in injection-grade water, with a volume of 2,9 ml/kg according to the following schedule: daily administration for 2 weeks, followed by a 2-week break, repeated for 3 months.

The work was carried out within the framework of the research project of the Department of Biochemistry at Poltava State Medical University, titled "Development of means to correct pathological changes in the organs of the

digestive system under conditions of civilization diseases" (0124U001922). The obtained results were subjected to statistical processing using the IBM SPSS Statistics 26 software package (2019). The Kruskal – Wallis test was used to determine statistically significant differences between groups. Differences were considered statistically significant at  $p < 0,05$ .

**RESULTS AND DISCUSSION.** The experimental efficacy of nanocerium was demonstrated based on the analysis of indicators reflecting the severity of stress, specifically the development of gastric mucosal ulcerations. The results showed a complete absence of ulcers in obese rats treated with nanocerium and a reduction in the frequency, severity, and multiplicity of ulcers in stressed animals and obese animals under stress when treated with nanocerium, compared to the respective control groups (Table 1).

In rats that received (MSG) at a dose of 4 mg/g, visceral obesity developed after 4 months after birth, primarily due to MSG-induced excitotoxicity [9].

Somatometry measurements indicate that growth was slowed in obese animals, while body weight did not significantly differ from intact animals. For example, the body weight of intact animals was  $165,2 \pm 5,1$  g, whereas rats with glutamate-induced obesity weighed  $213,7 \pm 9$  g. Despite the increased body weight, the body length of obese rats was shorter compared to intact animals. The shorter, more rounded body shape of MSG-treated rats explains the lack of difference in body weight. Hence, in this model of glutamate-induced visceral obesity, there is a simultaneous slow-down in development and growth with an accumulation of excess adipose tissue. The most objective anthropometric indicators are body mass index (BMI) and the Lee index.

We found that BMI increased by 22,9% in rats that received neonatal MSG, confirming obesity development in this group. Another crucial index for assessing obesity severity is the Lee index. Using this criterion allows for more precise assessment of differences between groups and the identification of significant differences not apparent with other criterion due to less variance in values.

It was found that glutamate-induced obesity significantly increased the Lee index. In rats with modeled obesity and chronic stress on top of obesity, this index significantly increased compared to intact animals. The combined effect of obesity and chronic stress led to a

Table 1 – Indicators of severity of stress syndrome in animals according to Selye’s triad ( $\bar{x} \pm SE$ , n = 103)

Animal groups	Rate of gastric mucous ulcers, %	Multiplicity (Number of ulcers for 1 rat per group)	Severity, scores	Relative weight of the thymus, mg/g	Relative weight of the adrenal gland, mg/g
1. Control, n = 10	–	–	–	1,08 ± 0,17	0,23 ± 0,02
2. Obesity, n = 14	–	–	–	1,10 ± 0,07	0,16 ± 0,02
3. Obesity + stress, n = 17	60	0.93	5	0,99 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,17 ± 0,02
4. Stress, n = 10	75	1.79	6	0,77 ± 0,16	0,30 ± 0,04
5. Nanocerium control, n = 10	–	–	–	0,89 ± 0,13	0,20 ± 0,04
6. Obesity + Nanocerium, n = 16	–	–	–	1,15 ± 0,08	0,23 ± 0,02
7. Obesity + stress + Nanocerium, n = 16	9	0.09	1	1,27 ± 0,10 <sup>b</sup>	0,31 ± 0,06
8. Stress + Nanocerium, n = 10	10	0.4	2	0,79 ± 0,06	0,29 ± 0,04

Note: In this and following tables, n is the number of animals ( $p < 0,05$ ).

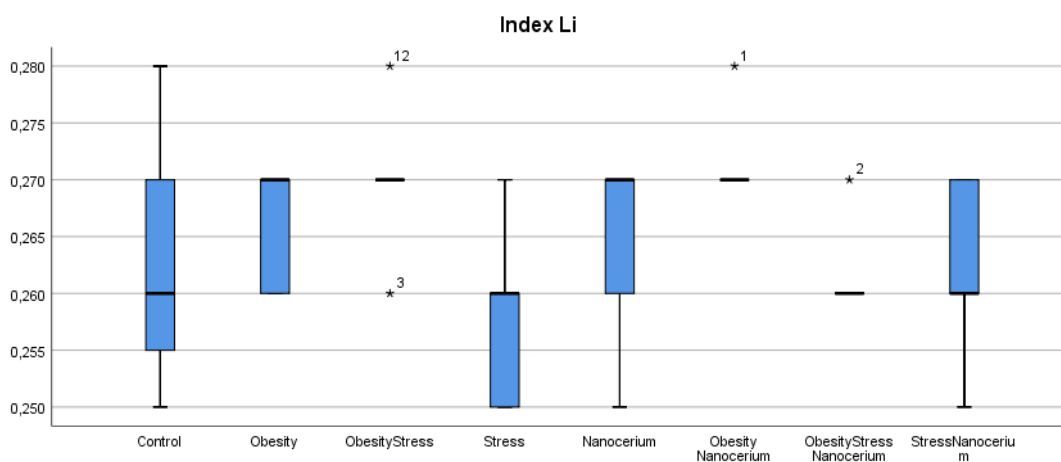


Fig. 1. Weekly Monitoring of the Lee Index ( $\bar{x} \pm SE$ , g/cm) in rats with glutamate-induced obesity, chronic stress, and nanocerium correction

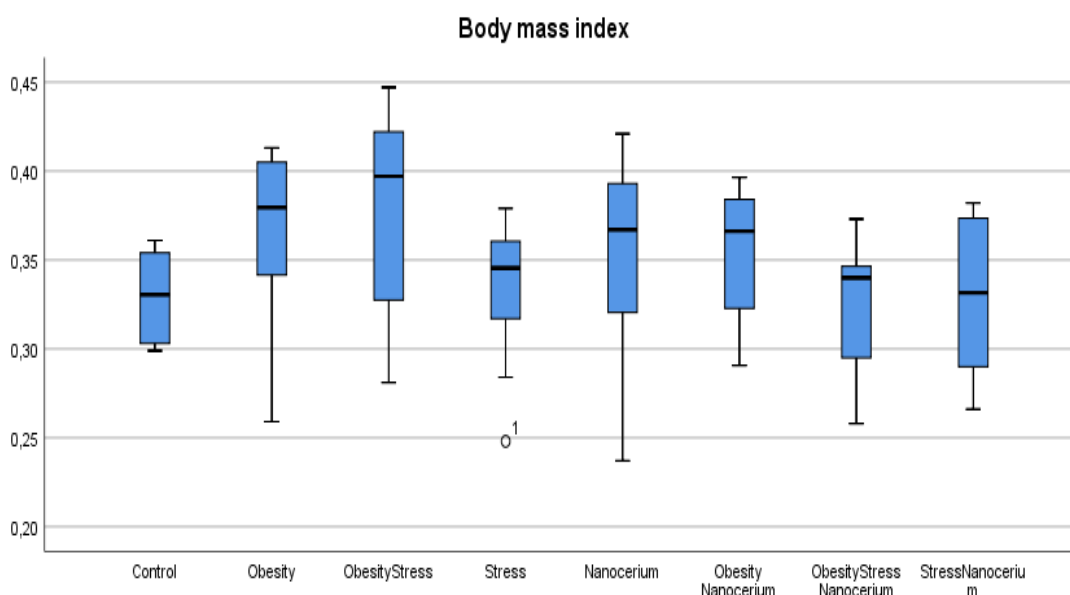


Fig. 2. Weekly Monitoring of Body Mass Index ( $\bar{x} \pm SE$ , g/cm<sup>2</sup>) in rats with glutamate-induced obesity, chronic stress, and nanocerium correction

Table 2 – Anthropometric indicators in 4-month-old rats with glutamate-induced obesity, chronic stress, and nanocerium correction ( $x \pm SE$ ,  $n = 103$ )

Animal groups	Lee index, g1/3/cm	Visceral fat mass, g	BMI, g/cm <sup>2</sup>
1. Control, n = 10	0,254 ± 0,003 <sup>a</sup>	0,50 ± 0,26 <sup>a</sup>	0,35 ± 0,01 <sup>a</sup>
2. Obesity, n = 14	0,268 ± 0,003 <sup>b</sup>	11,42 ± 1,30 <sup>b</sup>	0,43 ± 0,01 <sup>b</sup>
3. Obesity + stress, n = 17	0,263 ± 0,002 <sup>b</sup>	12,90 ± 0,74 <sup>b</sup>	0,39 ± 0,01 <sup>a</sup>
4. Stress, n = 10	0,258 ± 0,002	0,09 ± 0,09 <sup>c</sup>	0,37 ± 0,01
5. Nanocerium control, n = 10	0,257 ± 0,002	0,00 ± 0,00	0,39 ± 0,01
6. Obesity + Nanocerium, n = 16	0,258 ± 0,002 <sup>c</sup>	5,05 ± 1,08 <sup>c</sup>	0,37 ± 0,01 <sup>b</sup>
7. Obesity + stress + Nanocerium, n = 16	0,251 ± 0,003 <sup>c</sup>	1,59 ± 0,47 <sup>c</sup>	0,33 ± 0,01 <sup>b</sup>
8. Stress + Nanocerium, n = 10	0,255 ± 0,003 <sup>c</sup>	0,71 ± 0,38 <sup>c</sup>	0,36 ± 0,01

Note: different letters indicate values that differed one from another significantly within one line of the table according to the results of comparison using nonparametric Anova by Kruskal-Wallis.

statistically reliable increase in the Lee index and visceral fat mass compared to those in the glutamate-induced obesity group and intact group (table 2).

**CONCLUSIONS.** The administration of endogastrally nano-crystalline cerium to animals modeled with obesity and chronic stress contributed to a significant reduction in bmi compared to respective control animals (table 2). In rats with glutamate-induced obesity and chronic stress, nano-cerium administration led to a significant decrease in lee index, visceral fat mass, and bmi by 1.1-time, 8-times, and 1.2-time, respectively, compared to obese animals under chronic stress without correction (table 2). Nano-cerium effectively prevented the development of visceral obesity in animals exposed to isolated and combined effects of obesity and stress, as

evidenced by the probable reduction in fat mass in the visceral compartment of the animals' fat depots. Thus, nano-crystalline cerium dioxide is a potential means for correcting experimental obesity under conditions of chronic stress, supported by other researches [7]. El-seidy ama et al demonstrated the effectiveness of nano-cerium based on its positive impact in preventing oxidative stress, adipocyte hormone imbalance, and insulin resistance in obese rats [10].

The author declares no conflict of interest, financial or otherwise.

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### BIBLIOGRAPHY

1. Nano cerium oxide and cerium/zinc nanocomposites characterization and therapeutic role in combating obesity via controlling oxidative stress and insulin resistance in rat model / A. M. A. El-Seidy et al. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2023. P. 127312. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127312>.
2. Endalifer M. L., Diress G. Epidemiology, Predisposing Factors, Biomarkers, and Prevention Mechanism of Obesity : A Systematic Review. *Journal of Obesity*. 2020. Vol. 2020. P. 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/6134362>.
3. Obesity: Pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants / R. J. Hernández Bautista et al. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019. Vol. 111. P. 503–516. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.108>.
4. Glutamate Excitotoxicity; a Possible Mechanism for Apoptosis of Motoneurons in Adult Mouse Spinal Cord Slices / H. R. Momeni et al. *Neurophysiology*. 2020. Vol. 52. № 6. P. 408–414. <https://doi.org/10.1007/s11062-021-09898-1>.
5. Pilot in vivo investigation of cerium oxide nanoparticles as a novel anti-obesity pharmaceutical

formulation/A.Roccaetal.*Nanomedicine:Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2015. Vol. 11. № 7. P. 1725–1734. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.05.001>.

6. Antimicrobial Activity of Citrate-Coated Cerium Oxide Nanoparticles / E. V. Silina et al. *Nanomaterials*. 2024. Vol. 14. № 4. P. 354. <https://doi.org/10.3390/nano14040354>.

7. Stress-related and basic determinants of hair cortisol in humans: A meta-analysis / T. Stalder et al. *Psychoneuroendocrinology*. 2017. Vol. 77. P. 261–274. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.12.017>.

8. Stress and Obesity: Are There More Susceptible Individuals? / E. S. van der Valk et al. *Current Obesity Reports*. 2018. Vol. 7. № 2. P. 193–203. <https://doi.org/10.1007/s13679-018-0306-y>.

9. van Rossum E. F. C. Obesity and cortisol: New perspectives on an old theme. *Obesity*. 2017. Vol. 25. № 3. P. 500–501. <https://doi.org/10.1002/oby.21774>.

10. Cerium Oxide Nanoparticles Protect Cortical Astrocytes from Oxygen–Glucose Deprivation through Activation of the Ca<sup>2+</sup> Signaling System / E. G. Varlamova et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24. № 18. P. 14305. <https://doi.org/10.3390/ijms241814305>.

## REFERENCES

1. El-Seidy, A. M. A., Elbaset, M. A., Ibrahim, F. A. A., Abdelmottaleb Moussa, S. A., & Bashandy, S. A. (2023). Nano cerium oxide and cerium/zinc nanocomposites characterization and therapeutic role in combating obesity via controlling oxidative stress and insulin resistance in rat model. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 80, 127312. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127312>.
2. Endalifer, M. L., & Diress, G. (2020). Epidemiology, Predisposing Factors, Biomarkers, and Prevention Mechanism of Obesity: A Systematic Review. *Journal of Obesity*, 2020, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/6134362>.
3. Hernández Bautista, R. J., Mahmoud, A. M., Königsberg, M., & Lypez Dnaz Guerrero, N. E. (2019). Obesity: Pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111, 503–516. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.108>.
4. Momeni, H. R., Jarahzadeh, M., & Farjad, E. (2020). Glutamate Excitotoxicity; a Possible Mechanism for Apoptosis of Motoneurons in Adult Mouse Spinal Cord Slices. *Neurophysiology*, 52 (6), 408–414. <https://doi.org/10.1007/s11062-021-09898-1>.
5. Rocca, A., Moscato, S., Ronca, F., Nitti, S., Mattoli, V., Giorgi, M., & Ciofani, G. (2015). Pilot in vivo investigation of cerium oxide nanoparticles as a novel anti-obesity pharmaceutical formulation. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 11 (7), 1725–1734. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.05.001>.
6. Silina, E. V., Ivanova, O. S., Manturova, N. E., Medvedeva, O. A., Shevchenko, A. V., Vorsina, E. S., Achar, R. R., Parfenov, V. A., & Stupin, V. A. (2024). Antimicrobial Activity of Citrate-Coated Cerium Oxide Nanoparticles. *Nanomaterials*, 14 (4), 354. <https://doi.org/10.3390/nano14040354>.
7. Stalder, T., Steudte-Schmiedgen, S., Alexander, N., Klucken, T., Vater, A., Wichmann, S., Kirschbaum, C., & Miller, R. (2017). Stress-related and basic determinants of hair cortisol in humans: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, 77, 261–274. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.12.017>.
8. Van Der Valk, E. S., Savas, M., & Van Rossum, E. F. C. (2018). Stress and Obesity: Are There More Susceptible Individuals? *Current Obesity Reports*, 7 (2), 193–203. <https://doi.org/10.1007/s13679-018-0306-y>.
9. Van Rossum, E. F. C. (2017). Obesity and cortisol: New perspectives on an old theme. *Obesity*, 25 (3), 500–501. <https://doi.org/10.1002/oby.21774>.
10. Varlamova, E. G., Baryshev, A. S., Gudkov, S. V., Babenko, V. A., Plotnikov, E. Y., & Turovsky, E. A. (2023). Cerium Oxide Nanoparticles Protect Cortical Astrocytes from Oxygen–Glucose Deprivation through Activation of the Ca<sup>2+</sup> Signaling System. *International Journal of Molecular Sciences*, 24 (18), 14305. <https://doi.org/10.3390/ijms241814305>.

Адреса для листування: М. О. Цебенко, Полтавський державний медичний університет, вул. Шевченка, 23, Полтава, 36011, Україна, e-mail: tsebenkomari@gmail.com.

М. О. Цебенко<sup>1</sup>, М. В. Білець<sup>1</sup>, О. Є. Омельченко<sup>1</sup>, М. Я. Співак<sup>2</sup>, К. С. Непорада<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
<sup>2</sup>ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ВІРУСОЛОГІЇ ІМЕНІ Д. К. ЗАБОЛОТНОГО НАН УКРАЇНИ

## ВПЛИВ НАНОЦЕРІЮ НА ВАЖКІСТЬ СТРЕСОВОГО СИНДРОМУ ТА АНТРОПОМЕТРІЮ В ЩУРІВ ІЗ ХРОНІЧНИМ СТРЕСОМ ТА ОЖИРІННЯМ

**Вступ.** Нанотехнології відкрили нові перспективні напрями в сучасній біології та медицині. Нанокристалічні матеріали, як-от наноматеріали на основі діоксиду церію, відіграють провідну роль у цих розробках. Накопичено значні експериментальні дані, які демонструють високу біологічну активність нанокристалічного церію та його потенційне використання в розробленні та застосуванні нанокомпозитів, здатних активувати клітинний і гуморальний імунний захист.

**Мета дослідження** – вивчити вплив нанокристалічного церію на важкість стресового синдрому й антропометричні показники в щурів із хронічним стресом і ожирінням.

**Методи дослідження.** Експериментальні дослідження проводилися на 103 білих нелінійних щурах обох статей, моделювали ожиріння, індуковане глутаматом, хронічний стрес як окремо, так і в поєднанні. Ожиріння індукували шляхом постнатальних підшкірних ін'єкцій глутамату натрію. Тварин утримували на стандартній віварній дієті протягом 4 місяців. Протягом усього експерименту щотижня контролювали масу тіла, індекс маси тіла (ІМТ) та індекс Лі. Хронічний стрес моделювали за методом Ганса Сельє шляхом фіксації тварин на спині на 5 годин. Важкість стресу оцінювали за тріадою Г. Сельє. Починаючи з 1-місячного віку та протягом наступних трьох місяців експериментальним щурам вводили нанокристалічний діоксид церію перорально за допомогою зонда. Соматометричні вимірювання показали, що у тварин з ожирінням ріст був уповільнений, а маса тіла не відрізнялася значно від маси інтактних тварин.

**Результати й обговорення.** Наприклад, маса тіла інтактних тварин становила  $165,2 \pm 5,1$  г, тоді як щури з ожирінням, індукованим глутаматом, важили  $213,7 \pm 9$  г. Незважаючи на збільшення маси тіла, довжина тіла щурів з ожирінням була меншою порівняно з інтактними тваринами. Показано, що нанокристалічний церій має високу антиоксидантну активність і може розглядатися як кандидат на створення терапевтичного засобу для лікування ожиріння. Внутрішньовенне введення нанокристалічного церію тваринам зі змодельованим ожирінням і хронічним стресом, пов'язаним з ожирінням, значно знижувало індекс маси тіла порівняно з відповідними контрольними тваринами.

**Висновки.** Нанокристалічний церій ефективно запобігає розвитку вісцерального ожиріння у тварин, підданих ізольованій і комбінованій дії ожиріння та стресу, що підтверджується значним зменшенням жирової маси у вісцеральному жировому депо тварин. Отже, нанокристалічний діоксид церію є потенційним засобом для корекції експериментального ожиріння в умовах хронічного стресу, що підтверджується іншими дослідженнями.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пародонтальні тканини; щури; мононатрієвий глутамат; вісцеральний жир; діоксид церію; тимус; надниркові залози.

С. Ю. Чолач, М. С. Гнатюк, Л. В. Татарчук, Н. Я. Стець, О. Б. Ясіновський  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

## СТРУКТУРНО-БІОХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ КАМЕР СЕРЦЯ ПРИ ІНТОКСИКАЦІЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ХЛОРИДОМ КОБАЛЬТУ

**Вступ.** Кобальтова інтоксикація ушкоджує майже всі органи та системи організму. Структурно-функціональні зміни камер серця водночас цілковито не вивчені.

**Мета дослідження** – експериментально дослідити зміни показників антиоксидантної системи, пероксидного окиснення ліпідів, активності NO-синтаз і структур ендотеліоцитів артерій камер серця в разі кобальтової інтоксикації.

**Методи дослідження.** Досліди проведено на 62 статевозрілих щурах-самцях, яких поділили на дві групи. 1-ша група (30 тварин) слугувала контролем, тваринам 2-ї групи (32 щури) внутрішньошлунково вводили хлорид кобальту в дозі 4 мг/кг протягом 30 днів один раз на добу. Через місяць від початку експерименту здійснювали евтаназію дослідних тварин кровопусканням в умовах тіопенталового наркозу. У крові експериментальних тварин визначали показники антиоксидантного захисту організму: активність супероксиддисмутази, каталази та церулоплазміну. У гомогенатах камер серця визначали вміст дієнових кон'югатів, активних продуктів тіобарбітурової кислоти, нітрит-аніону, активність ендотеліальної NO-синтази. На мікропрепаратах камер серця виконували морфометрію артеріальних ендотеліоцитів. Проводили кореляційний аналіз між досліджуваними кількісними морфологічними параметрами та біохімічними показниками з визначенням коефіцієнта парної кореляції. Кількісні показники обробляли статистично.

**Результати й обговорення.** Тривала кобальтова інтоксикація експериментальних тварин призводить до вираженого погіршення антиоксидантного захисту організму, посилення процесів ліпопероксидації, зниження активності eNOS, рівня нітрит-аніону, структурної перебудови ендотеліоцитів і ураження їхніх структурних компонентів. Кореляційним аналізом виявлено сильні та значні позитивні взаємозв'язки переважно між морфометричними параметрами ендотеліоцитів і показниками перекисного окиснення ліпідів, негативні взаємозв'язки між активністю eNOS і рівнями нітрит-аніонів.

**Висновки.** 1. Інтоксикація білих щурів хлоридом кобальту призводить до вираженого зниження антиоксидантного захисту організму, зростання вмісту дієнових кон'югатів, активних продуктів тіобарбітурової кислоти, зменшення активності ендотеліальної NO-синтази, рівнів нітрит-аніону та пошкодження ендотеліоцитів артерій камер серця. 2. Ремодельовання ендотеліальних клітин артерій камер серця під впливом хлориду кобальту характеризується нерівномірною, диспропорційною зміною площ ендотеліоцитів, їхніх ядер, порушеннями відношень між ними, зростанням відносних об'ємів пошкоджених ендотеліоцитів, що домінувало в лівому шлуночку. 3. Вираженість порушень антиоксидантного захисту, ступеня ліпопероксидації, активності NO-синтаз досліджуваного органа корелює зі ступенем структурних пошкоджень ендотеліоцитів.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** артерії камери серця; артерії; ендотеліоцити; біохімічні показники; хлорид кобальту.

ВСТУП. Широка розповсюдженість захворювань серцево-судинної системи, високі показники смертності населення розвинутих країн від різних форм кардіопатології обґрунтовують необхідність дальшого поглибленого вивчення механізмів адапційно-компенсаторної перебудови пошкодженого серця [1]. Останніми роками дослідники здебільшого зосереджують свою увагу на дослідженні уражень серцевого м'яза хімічними речовинами, кількість яких постійно зростає в довіллі. У сучасних джерелах медико-біологічної літератури вказується,

що інтоксикація організму кобальтом призводить до ушкодження та дисфункції серцево-судинної, травної, нервової, ендокринної, сечостатевої й імунної систем організму [2]. Відомо, що антиоксидантній системі та перекисному окисненню ліпідів, активності NO-синтаз відводиться важлива роль у патоморфогенезі багатьох патологічних станів [3–6], проте їхні взаємозв'язки зі структурно-функціональними змінами ендотеліоцитів судинного русла серця в разі кобальтового отруєння остаточно не з'ясовані.

**Мета дослідження** – експериментально дослідити зміни показників антиоксидантної

системи, пероксидного окиснення ліпідів, активності NO-синтаз і структур ендотеліоцитів артерій камер серця за кобальтової інтоксикації.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Біохімічними методами та кількісними морфологічними методами вивчені ендотеліоцити камер серця 62 лабораторних статевозрілих білих щурів-самців, які були розділені на 2 групи. 1-а група включала 30 експериментальних інтактних тварин, 2-а – 32 щури, яким вводили у шлунок хлорид кобальту в добовій дозі 4 мг/кг протягом 30 діб [2]. Через місяць від початку експерименту здійснювали евтаназію дослідних тварин кровопусканням в умовах тіопенталового наркозу.

У крові експериментальних тварин визначали показники антиоксидантного захисту організму: активність супероксидисмутази (далі – СОД), каталази (далі – КТ) та церулоплазміну (далі – ЦП) [7]. У гомогенатах камер серця визначали вміст дієнових кон'югатів (далі – ДК), активних продуктів тіобарбітурової кислоти (далі – ТБК-АП), нітрит-аніону, активність ендотеліальної NO-синтази [7].

З камер серця білих щурів вирізали шматочки, які фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну, проводили через етилові спирти концентрації, що зростає, та поміщали в парафінові блоки. Мікротомні зрізи завтовшки 5–6 мкм після депарафінізації забарвлювали гематоксилін-еозином. за ван-Гізона, Маллорі, Вейгертом, Массону, толудіновим синім [8]. Морфометрично на мікропрепаратах визначали в артеріях дрібного (зовнішнім діаметром 26–50 мкм) та середнього (зовнішнім діаметром 51–125 мкм) калібрів лівого (далі – ЛШ), правого (далі – ПШ) шлуночків, лівого (далі – ЛП) та правого (далі – ПП) передсердь площу ендотеліоцита (далі – ПЕ), його ядра (далі – ПЯ), ядерно-цитоплазматичні відношення в цих клітинах (далі – ЯЦВ), відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів (далі – ВОПЕ) [9; 10]. Морфометрію досліджуваних структур серця проводили за допомогою світлового мікроскопа *Olimpus VX-23* із цифровою відеокамерою та пакетом прикладних програм «Відеотест 5,0» та «Відеорозмір 5,0».

Здійснювали кореляційний аналіз між досліджуваними кількісними морфологічними параметрами та біохімічними показниками з визначенням коефіцієнта парної кореляції ( $r$ ). Під час проведення аналізу кореляційних зв'язків між вказаними біохімічними

та морфометричними показниками сильним кореляційним зв'язком уважали значення коефіцієнта парної кореляції в межах від 0,7 до 0,9, значним – 0,5–0,7, помірним – 0,3–0,5, слабким –  $<0,3$ . Отримані кількісні показники обробляли статистично. Оброблення кількісних даних проведено у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України у програмному пакеті "Statsoft Statistica" (ліцензія № ВХХR303F737429FA-8). Достовірність різниці між порівнювальними характеристиками визначали за критеріями Ст'юдента [11; 12]. Варто зазначити, що утримання щурів, експерименти та їх евтаназію виконували з дотриманням «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.), та відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в дослідних та інших наукових цілях [13; 14].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Проведеними дослідженнями встановлено, що в разі інтоксикації організму щурів хлоридом кобальту виражено зміненими виявилися показники, що відображали стан антиоксидантної системи (табл. 1). У змодельованих експериментальних умовах активність СОД з вираженою статистично вірогідною різницею ( $p < 0,001$ ) зменшилася на 16,0%, КАТ – на 28,4% ( $p < 0,001$ ). Вміст церулоплазміну водночас знизився на 14,1% ( $p < 0,001$ ) порівняно з контрольним показником.

У змодельованих експериментальних умовах посилювалися процеси ліпопероксидації в камерах серця (табл. 2). Так, рівень ДК у лівому шлуночку збільшився з  $(1,162 \pm 0,030)$  ум. од./г до  $(3,950 \pm 0,090)$  ум. од./г.

Наведені показники виражено статистично вірогідно відрізнялися один від одного ( $<0,001$ ). Рівень ДК за умови дії на організм хлориду кобальту перевищував аналогічну контрольну величину у 3,4 раза. Майже аналогічно змінювалася концентрація ТБК-АП у тканинах лівого шлуночка. Установлено, що в разі інтоксикації білих щурів хлоридом кобальту рівень ТБК-АП зріс у досліджуваних тканинах у 5,3 раза ( $p < 0,001$ ).

У правому шлуночку рівень ДК у 2-й групі спостережень із вираженою статистично вірогідною різницею ( $p < 0,001$ ) збільшився у 3,2 раза порівняно з контрольним показником, а концентрація ТБК-АП – у 5 разів ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 1 – Показники антиоксидантного захисту в експериментальних тварин (M ± m)

Показник	Група спостереження	
	Перша	Друга
СОД, ум. од./мл	2,965 ± 0,030	2,490 ± 0,020***
КАТ, мкат/л	0,148 ± 0,002	0,106 ± 0,001***
ЦП, мг/л	86,420 ± 1,810	74,230 ± 1,410**

Примітка: \*\* – p < 0,01; \*\*\* – p < 0,001.

У лівому та правому передсердях процеси ліпопероксидації змінювалися аналогічно наведеному вище, що підтверджувалося динамікою рівнів ДК та ТБК-АП. Так, у лівому передсерді концентрація ДК за кобальтової інтоксикації зросла у 2,9 раза (p < 0,001), ТБК-АП – у 4,5 раза (p < 0,001). У правому передсерді в умовах змодельованого експерименту наведені показники відповідно змінилися у 2,9 та у 4,4 раза (p < 0,001).

У тканинах камер серця в разі етанолової інтоксикації виражено змінювалися також вміст нітрит-аніонів та активність eNOS. Так, активність eNOS у лівому шлуночку за інтоксикації білих щурів хлоридом кобальту з високим ступенем статистичної достовірної різниці (p < 0,001) зменшилася на 40,2%, а концентрація нітрит-аніонів – на 37,9% (p < 0,001). У тканинах правого шлуночка наведені вище показники відповідно змінилися на 39,5 та 36,5% (p < 0,001).

Установлено також, що в лівому передсерді активність eNOS зменшилася на 34,5% (p < 0,001), вміст нітрит-аніонів – на 34,0% (p < 0,001), у тканинах правого передсердя дані показники виявилися відповідно зміненими на 33,7 та 32,0% (p < 0,001).

Отримані біохімічні дані свідчать, що інтоксикація організму експериментальних тварин хлоридом кобальту супроводжується посиленням пероксидного окиснення ліпідів у тканинах камер серця, зниженням антиоксидантного захисту організму та зменшенням активності eNOS і концентрації нітрит-аніонів.

Аналізом отриманих морфометричних параметрів ендотелоцитів (табл. 3) досліджуваних судин камер серця встановлено, що в умовах кобальтової інтоксикації вони суттєво змінювалися. Так, у неушкодженному лівому шлуночку площа ендотеліальних клітин артерій дрібного та середнього калібрів дорівнювала (30,20 ± 0,21) мкм<sup>2</sup>, а під впливом хлориду кобальту – (26,90 ± 0,15) мкм<sup>2</sup>. Наведені кількісні морфологічні величини статистично достовірно (p < 0,0010) відрізнялися одна від одної. Водночас останній морфометричний параметр виявився меншим за попередній на 10,9%. Площа ядра ендотеліоцита в даних умовах експерименту з вираженою статистично вірогідною різницею (p < 0,001) збільшилася на 13,1%. Неоднозначні зміни просторових характеристик ядра

Таблиця 2 – Біохімічні показники камер серця експериментальних тварин (M ± m)

Камера серця	Показник	Група спостереження	
		Перша	Друга
Лівий шлуночок	ДК, ум. од./г	1,162 ± 0,030	3,950 ± 0,090***
	ТБК-АП, мкмоль/кг	0,634 ± 0,015	3,410 ± 0,030***
	eNOS, нмоль/хв*г	0,184 ± 0,001	0,110 ± 0,001***
	Нітрит-аніон, мкмоль/кг	15,40 ± 0,11	9,55 ± 0,06***
Правий шлуночок	ДК, ум. од./г	1,154 ± 0,030	3,690 ± 0,030***
	ТБК-АП, мкмоль/кг	0,636 ± 0,004	3,180 ± 0,021***
	eNOS, нмоль/хв*г	0,182 ± 0,001	0,110 ± 0,001***
	Нітрит-аніон, мкмоль/кг	15,36 ± 0,11	9,75 ± 0,06***
Ліве передсердя	ДК, ум. од./г	1,130 ± 0,006	3,320 ± 0,021***
	ТБК-АП, мкмоль/кг	0,622 ± 0,004	2,798 ± 0,018***
	eNOS, нмоль/хв*г	0,165 ± 0,001	0,108 ± 0,001***
	Нітрит-аніон, мкмоль/кг	15,10 ± 0,11	9,96 ± 0,07***
Праве передсердя	ДК, ум. од./г	1,126 ± 0,006	3,266 ± 0,030***
	ТБК-АП, мкмоль/кг	0,620 ± 0,004	2,728 ± 0,015***
	eNOS, нмоль/хв*г	0,163 ± 0,001	0,108 ± 0,001***
	Нітрит-аніон, мкмоль/кг	15,12 ± 0,11	10,28 ± 0,12***

Примітка: \*\*\* – p < 0,001 порівняно з 1-ю групою.

та цитоплазми ендотеліоцита призводили до порушень відношень між ними, що адекватно відображали ядерно-цитоплазматичні відношення в досліджуваних клітинах, які під впливом хлориду кобальту зросли на 27,8% ( $p < 0,001$ ). Відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів артерій дрібного калібру за кобальтової інтоксикації зріс у 16,2 раза ( $p < 0,001$ ) порівняно з контрольним показником.

У правому шлуночку наведені морфометричні параметри ендотеліоцитів відповідно змінилися на 10,3, 12,1, 24,7%, у 14,9 раза ( $p < 0,001$ ).

У лівому та правому передсердях і морфометричні параметри ендотеліальних клітин досліджуваних артерій змінювалися аналогічно. Так, у лівому передсерді площа ендотеліоцита у вказаних судинах зменшилася на 8,9% ( $p < 0,001$ ), ядерно-цитоплазматичні відношення в них зросли на 14,8%, відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів – у 15 разів ( $p < 0,001$ ). У артеріях правого передсердя досліджувані морфометричні параметри ендотеліоцитів відповідно виявилися зміненими на 7,6, 14,8% та в 11,4 раза ( $p < 0,001$ ). Зміни ядерно-цитоплазматичних відношень в ендотеліоцитах досліджуваних судин свідчать про порушення структурного клітинного гомеостазу та виснаження адаптивних резервів ядерних структур [9].

Проведеним кореляційним аналізом виявлені взаємозв'язки між біохімічними та морфометричними параметрами. З'ясовано існування сильних позитивних зв'язків між концентраціями ДК, ТБК-АП і відносним

об'ємом пошкоджених ендотеліоцитів ( $r = +0,850 \pm 0,006$ ). Між вмістом ДК, ТБК-АП і ядерно-цитоплазматичними відношеннями в ендотеліоцитах досліджувані взаємозв'язки виявилися значними ( $r = +0,660 \pm 0,004$ ). Наведене вище доводить, що процеси пероксидного окиснення ліпідів відіграють важливу роль у пошкодженні ендотеліоцитів і порушенні структурного клітинного гомеостазу, що підтверджувалось отриманими морфометричними параметрами ендотеліальних клітин.

Установлено також, що між активністю eNOS, вмістом нітрит-аніонів і відносним об'ємом пошкоджених ендотеліоцитів існував сильний негативний кореляційний взаємозв'язок ( $r = -0,810 \pm 0,005$ ), а між активністю eNOS, вмістом нітрит-аніонів і ядерно-цитоплазматичними відношеннями в ендотеліоцитах він виявився дещо слабшим ( $r = -0,610 \pm 0,003$ ). Такий же взаємозв'язок виявлено між вказаними морфометричними параметрами і показниками СОД, КАТ та ЦП.

Натепер відомо також, що ендотелій – це активний ендокринний орган, який синтезує різні біологічно активні субстанції, необхідні для регуляції життєво важливих процесів організму: зсідання крові, тонус судин, функціональну активність нирок, скоротливість серця, дифузію води, іонів, продуктів метаболізму. Ендотеліальні клітини впливають на ремоделювання судинної стінки, тобто зміни її структури та функції в різних фізіологічних і патологічних умовах. Ендотеліоцити

Таблиця 3 – Морфометрична характеристика ендотеліоцитів камер серця експериментальних тварин ( $M \pm m$ )

Показник	Група спостереження	
	Перша	друга
ПЕЛШ, мкм <sup>2</sup>	30,20 ± 0,21	26,90 ± 0,15***
ПЯЛШ, мкм <sup>2</sup>	7,60 ± 0,05	8,60 ± 0,06***
ЯЦЛШ	0,252 ± 0,002	0,322 ± 0,002***
ВОПЕЛШ, %	2,14 ± 0,02	34,60 ± 0,24***
ПЕПШ, мкм <sup>2</sup>	30,22 ± 0,21	27,10 ± 0,15***
ПЯПШ, мкм <sup>2</sup>	7,58 ± 0,05	8,50 ± 0,06***
ЯЦПШ	0,251 ± 0,002	0,313 ± 0,002***
ВОПЕПШ, %	2,10 ± 0,02	31,40 ± 0,21***
ПЕЛП, мкм <sup>2</sup>	26,40 ± 0,15	24,06 ± 0,12***
ПЯЛП, мкм	9,30 ± 0,06	9,80 ± 0,07***
ЯЦЛП	0,352 ± 0,004	0,407 ± 0,003***
ВОПЕЛП, %	1,80 ± 0,02	22,60 ± 0,15***
ПЕПП, мкм <sup>2</sup>	26,20 ± 0,15	24,04 ± 0,12***
ПЯПП, мкм <sup>2</sup>	9,20 ± 0,06	9,70 ± 0,08***
ЯЦПП	0,350 ± 0,004	0,402 ± 0,003***
ВППЕПП, %	1,75 ± 0,003	20,30 ± 0,15***

Примітка: \*\*\* –  $p < 0,001$ .

синтезують вазоконстрикторні субстанції (ендотелін, ангіотензин-2, тромбоксан, простогландин-3 та вазодилататори – оксид азоту (NO). Пошкодження значної кількості ендотеліоцитів призводить до їх дисфункції, блокади NO синтази, зменшення синтезу NO, активації процесів його деградації, підвищення продукції вазоконстрикторів: ендотеліну, ангіотензину-2, тромбоксину, простагландину-2, які посилюють спазм, зменшення просвіту артерій, суттєво погіршують кровопостачання органів, що супроводжується гіпоксією [4; 5]. Остання призводить до дистрофічно-некробіотичних змін клітин, тканин, інфільтрації та склерозування [9].

Світлооптично відмічалось, що потовщення стінки артеріальних судин і звуження їхнього просвіту, що проходило через збільшення товщини медії, адвентиційної оболонки, а також посилення тону, гіперплазії та гіпертрофії гладком'язових клітин. Виражена звивистість внутрішньої еластичної мембрани досліджуваних артерій свідчала про їх посилений тонус. Гістологічно в камерах серця за хронічної кобальтової інтоксикації спостерігалися виражені судинні розлади, повнокров'я, розширення переважно венозних судин, перивазальні та стромальні набряки,

осередки дистрофічно, некробіотично, апоптично змінених ендотеліоцитів, кардіоміоцитів, вогнищеві інфільтрати та розростання сполучної тканини. Відмічався також набряк ендотеліоцитів, їхня дистрофія, некробіоз, десквамація та проліферація. Останнє свідчило про наявність гіпоксії [9].

**ВИСНОВКИ.** 1. Інтоксикація білих щурів хлоридом кобальту призводить до вираженого зниження антиоксидантного захисту організму, зростання вмісту дієнових кон'югатів, активних продуктів тіобарбітурової кислоти, зменшення активності ендотеліальної NO-синтази, рівнів нітрит-аніону та пошкодження ендотеліоцитів артерій камер серця. 2. Ремодельовання ендотеліальних клітин артерій камер серця під впливом хлориду кобальту характеризується нерівномірною, диспропорційною зміною площ ендотеліоцитів, їхніх ядер, порушеннями відношень між ними, зростанням відносних об'ємів пошкоджених ендотеліоцитів, що домінувало в лівому шлуночку. 3. Вираженість порушень антиоксидантного захисту, ступеня ліпероксидації, активності NO-синтаз досліджуваного органа корелює зі ступенем структурних пошкоджень ендотеліоцитів.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Acute myocardial infarction / G. W. Reed et al. *Lancet*. 2017. № 389 (10065). P. 197–210. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30677-8.
2. Toxic cardiac effect of cobalt chloride excessive chronic consumption in male Wistar rats / T. P. Sataieyva et al. *Ecological question*. 2019. № 3. P. 25–32. DOI: 10.12775/EQ.2019.016.
3. Endothelial function in patients with atrial fibrillation / A. A. Khan et al. *Annals of Medicine*. 2019. № 52 (1–2). P. 1–11. doi.org/10.1080/07853890.2019.1711158.
4. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS / Y. Zhao et al. *J. Pharm. Sci.* 2015. № 129 (2). P. 83–94. https://doi.org/10.1016/j.jphs.2015.09.002.
5. Amraei R., Rahimi N. COVID-19, Renin-Angiotensin System and Endothelial Dysfunction. *Cells*. 2020. № 9 (7). P. 1652. doi.org/10.3390/cells9071652.
6. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 / Z. Varga et al. *The Lancet*. 2020. № 395 (10234). P. 1417–1418. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5.
7. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / В. В. Влізла та ін. Львів : Сполом, 2012. 764 с.

8. Методики морфологічних досліджень / М. М. Багрий та ін. Вінниця : Нова книга, 2016. 238 с.
9. Morphometric aspects of remodeling of the arterial bed of the testicles in postresection portal and pulmonary hypertension / M. S. Hnatjuk et al. *Polski Mercuriusz Lekarski*. 2024. № 1. P. 67–70.
10. Mandarim-de-Lacerda C. A., Del Sol M. Tips for studies with quantitative morphology (morphometry and stereology). *J. Morphol.* 2017. № 35 (4). P. 1482–1494. DOI: 10.4067/S0717-95022017000401482.
11. Festing M., Nevalainen T. The design and statistical analysis of animal experiments introduction to this issue. *Ilar J.* 2014. № 55 (3). P. 379–372.
12. Petrie A., Sabin C. Medical statistics at a Glance. 4<sup>th</sup> ed. New York : Wiley, 2019. https://doi.org/10.33029/9704-5904-1-2021-NMS-1-232.
13. Запорожан В. М., Аряєв М. Л. Біоетика та біобезпека. Київ : Здоров'я, 2013. 456 с.
14. Правове та законодавче обґрунтування порядку вилучення біологічних об'єктів від трупа людини для наукових досліджень з анатомії, гістології, цитології / В. Д. Мішалов та ін. *Морфологія*. 2016. № 1 (10). С. 107–111.

## REFERENCES

1. Reed, G. W., Rossi, J. E., & Cannon, C. P. (2017). Acute myocardial infarction. *Cannon Lancet*, 389 (10065), 197–210. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30677-8.
2. Sataieyva, T. P., Zadnipyryany, I. V., & Zukov, W. (2019). Toxic cardiac effect of cobalt chloride excessive chronic consumption in male Wistar rats, *Ecological question*, 3, 25–32. DOI: 10.12775/EQ.2019.016.
3. Khan, A. A., Thomas, G. N., Lip, G. H., & Shantsila, A. (2019). Endothelial function in patients with atrial fibrillation. *Annals of Medicine*, 52 (1–2), 1–11. <https://doi.org/10.1080/07853890.2019.1711158>.
4. Zhao, Y., Vanhoutte, P. M., & Leung, W. S. (2015). Vascular nitric oxide: Beyond eNOS, *J. Pharm. Sci*, 129 (2), 83–94. <https://doi.org/10.1016/j.jpsh.2015.09.002>.
5. Amraei, R., & Rahimi, N. (2020). COVID-19, Renin-Angiotensin System and Endothelial Dysfunction, *Cells*, 9 (7), 1652. <https://doi.org/10.3390/cells9071652>.
6. Varga, Z., Flammer, A. J., & Steiger, P. (2020). Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19, *The Lancet*, 395 (10234), 1417–1418. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5).
7. Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., & Ratysh, I. V. (2012). Laboratorni metody doslidzhen u biologii, tvarynyystvi ta veterynarii medytsyni [Laboratory research methods in biology animal husbandry and veterinary medicine]. Lviv: Spolon [in Ukrainian].
8. Bagriy, M. M., Dibrova, V. A., Popadynets, O. G., & Grishchuk, I. M. (2016). *Metodyky norpholohichnych doslidczern* [Methods of morphological research]. Vinnytsia: Nova knyha [in Ukrainian].
9. Hnatjuk, M. S., Nesteruk, S. O., & Jasinovsky, O. B. (2024). Morphometric aspects of remodeling of the arterial bed of the testicles in postresection portal and pulmonary hypertension, *Polski Mercuriusz Lekarski*, 1, 67–70.
10. Mandarim-de-Lacerda, C. A., & Del Sol, M. (2017). Tips for studies with quantitative morphology (morphometry and stereology), *Int. J. Morphol.*, 35 (4), 1482–1494. DOI: 10.4067/S0717-95022017000401482.
11. Festing, M., & Nevalainen, T. (2014). The design and statistical analysis of animal experiments introduction to this issue. *IlarJ*, 55 (3), 379–372.
12. Petrie, A., & Sabin, C. (2019). *Medical statistics at a Glance*. New York: Wiley. <https://doi.org/10.33029/9704-5904-1-2021-NMS-1-232>.
13. Zaporozhyan, V. M., & Aryaev, M. L. (2013). *Bioetyka i biobezheka* [Bioethics and biosafety]. Kyiv: Zdorovia [in Ukrainian].
14. Mishalov, V. D., Tverdokhlib, I. V., & Yurchenko, V. T. (2016). Pravove ta zakonodavche obhruntuvannia poriadku vyluchennia biologichnykh obietiv vid trupa lidyny dlia naukovykh doslidzhen z anatomii, histolohii, tsytolohii [Legal and legislative study of biological, objects be withdrawn from human corpse for scientific research in anatomy, histology, cytology]. *Morphologia – Morphology*, 10 (1), 107–110 [in Ukrainian].

Адреса для листування: М. С. Гнатюк, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: hnatjuk@tdmu.edu.ua.

S. Ju. Cholach, M. S. Hnatjuk, L. V. Tatarchuk, N. Ja. Stets, O. B. Jasinovsky  
I. HORBACHEVSKY TERNOPII NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

## STRUCTURAL AND BIOCHEMICAL STUDY OF HEART CHAMBERS AT EXPERIMENTAL ANIMAL INTOXICATION WITH COBALT CHLORIDE

### Summary

**Introduction.** Cobalt intoxication damages almost all organs and systems of the body. The structural and functional changes in the chambers of heart have not been fully studied.

**The aim of the study** – to experimentally investigate changes in indicators of the antioxidant system, lipid peroxidation, activity of NO-synthases and structures of endotheliocytes of the arteries of the chambers of the heart at cobalt intoxication.

**Research Methods.** Experiments were conducted on 62 sexually mature male rats, which were divided into two groups. The 1 group (30 animals) served as a control, the animals of the 2 group (32 rats) were intragastrically injected with cobalt chloride at a dose of 4 mg/kg for 30 days once a day. One month after the start of the experiment, the experimental animals were euthanized by bloodletting under thiopental anesthesia. In the blood of experimental animals, indicators of antioxidant protection of the body were determined: the activity of superoxide dismutase, catalase, and ceruloplasmin. The content of diene conjugates, active products of thiobarbituric acid, nitrite anion, and the activity of endothelial NO-synthase were determined in the homogenates of the heart chambers. Morphometry of arterial endotheliocytes was performed on micropreparations of heart chambers. Correlation analysis was carried out between the studied quantitative morphometrical parameters and biochemical indicators with determination of the pairwise correlation coefficient. Quantitative indicators were processed statistically.

**Results and Discussion.** Long-term cobalt intoxication of experimental animals leads to a pronounced deterioration of the body's antioxidant protection, increased lipoperoxidation processes, decreased eNOS activity, nitrite anion level, structural rearrangement of endotheliocytes and damage to their structural components. Correlation analysis revealed strong and significant positive correlations mainly between morphometric parameters of endotheliocytes and indicators of lipid peroxidation and negative correlations between eNOS activity and nitrite anion levels.

**Conclusions.** 1. Intoxication of white rats with cobalt chloride leads to a pronounced decrease in the body's antioxidant defense, an increase in content of diene conjugates, active products of thiobarbituric acid, a decrease in activity of endothelial NO-synthase, nitrite-anion levels, and damage to the endotheliocytes of arteries of heart chambers. 2. Remodeling of the endothelial cells of arteries of chambers of heart under the influence of cobalt chloride is characterized by an uneven, disproportionate change in the area of endotheliocytes, their nuclei, violations of the relationship between them, and an increase in relative volumes of damaged endotheliocytes, which dominated in the left ventricle. 3. The expression of violations of antioxidant protection, the degree of liperoxidation, the activity of NO-synthase of the organ under study correlates with the degree of structural damage of endotheliocytes.

KEY WORDS: arteries of heart chamber; endotheliocytes; biochemical parameters; cobalt chloride.

М. М. Щурко<sup>1</sup>, Л. А. Любінець<sup>1</sup>, Н. Б. Сопнева<sup>1</sup>, І. Я. Кузик<sup>2</sup>, І. С. Двудят-Лешневська<sup>1</sup><sup>1</sup>ЛЬВІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ІМЕНІ АНДРЕЯ КРУПІНСЬКОГО<sup>2</sup>ЗФПО «ПЕРШИЙ КИЇВСЬКИЙ ФАХОВИЙ МЕДИЧНИЙ КОЛЕДЖ»

## СУБКЛІНІЧНИЙ ДЕФІЦИТ КАЛЬЦІУ В ДІТЕЙ МОЛОДШОГО ШКІЛЬНОГО ВІКУ

**Вступ.** Раціональне харчування (РХ), яке забезпечує організм усіма необхідними нутрієнтами, є важливим чинником для розвитку дітей і формування їхнього здоров'я. Натепер приблизно 3 мільярди людей у світі, або майже половина населення планети, страждають від дисбалансу в харчуванні – як від надмірного, так і від недостатнього. Неочікувано для науковців і лікарів, навіть у періоди відносноного благополуччя, виявлено брак мінералів і вітамінів у раціоні людей. Відомо, що, окрім підтримки балансу обмінних процесів в організмі, належне забезпечення потреби у вітамінах та мінералах сприяє зниженню ризику розвитку деяких захворювань.

**Мета дослідження** – оцінити рівень кальцію у крові дітей молодшого шкільного віку. Підвищити ефективність діагностики та своєчасної корекції субклінічного дефіциту кальцію в дітей молодшого шкільного віку.

**Методи дослідження.** Обстежено 60 школярів, яким було проведено анкетування, яке допомогло оцінити харчову поведінку та харчові звички школярів молодшої школи. Зокрема, з них 20 дітей, які вживають молочні продукти двічі на тиждень, інші 20 – уживають украй рідко, та 20 – контрольна група (у яких є збалансоване харчування). Середній вік пацієнтів становить  $10 \pm 3$  роки.

Оцінювали харчовий раціон за допомогою комп'ютерної програми "Dietplan7", біохімічні дослідження для визначення загального кальцію, іонізованого кальцію проводили після надання батьками дітей інформативної згоди на інвазивне втручання.

**Результати й обговорення.** Згідно з результатами досліджень рівень кальцію в сироватці крові пацієнтів 1-ї групи ( $2,3 \pm 0,46$ ) ммоль/л в 1,09 рази був нижче контрольної групи ( $2,5 \pm 0,12$ ) ммоль/л ( $p < 0,05$ ). Середня його концентрація в сироватці крові пацієнтів 2-ї групи становила ( $2,1 \pm 0,47$ ) ммоль/л, що в 1,2 рази менше за контрольне значення (рис. 1).

Отримані результати досліджень рівня іонізованого кальцію в сироватці крові пацієнтів 1-ї групи ( $1,18 \pm 0,56$ ) ммоль/л в 1,02 рази нижче контрольної групи ( $1,2 \pm 0,34$ ) ммоль/л ( $p < 0,05$ ). Середня його концентрація в сироватці крові пацієнтів 2-ї групи становила ( $1,13 \pm 0,24$ ) ммоль/л, що в 1,06 рази менше за контрольне значення.

**Висновки.** Отже, споживання кальцію в дитячому та підлітковому віці має вирішальне значення, оскільки адекватне надходження цього елемента в даний період життєвого циклу сприяє формуванню позитивного кальцієвого балансу, оптимальної щільності кісток, необхідної для зміцнення скелета, а також знижує ризик переломів і остеопорозу в майбутньому.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кальцій; школярі; харчування; дефіцит.

ВСТУП. Серед харчових дефіцитів у дітей особливе значення має нестача кальцію [1; 5]. У 2017 р. було затверджено нові норми фізіологічних потреб населення України в основних поживних речовинах і енергії (наказ № 1073 від 3 вересня 2017 р.), які треба враховувати в оцінюванні адекватності щоденного споживання нутрієнтів школярами [4].

У педіатричній практиці не вистачає комплексного підходу до дослідження дефіциту мікронутрієнтів у дітей: лише в окремих регіонах установлено популяційні нормативи, бракує системного аналізу чинників, що впливають на нутритивний статус дітей різних вікових груп. У зв'язку із цим дослідження

забезпеченості дітей необхідними нутрієнтами розглядається як одне із ключових завдань сучасної педіатрії.

Дослідження Інституту педіатрії, акушерства та гінекології АМН України показали, що харчування майже 80% здорових дітей є не досить збалансованим, з вираженим дефіцитом кальцію та вітаміну D<sub>3</sub>. Порушення кальцієвого балансу може виникати не тільки через недостатнє споживання кальцію, але й у результаті патологічних змін у системах, що регулюють його обмін. Це пояснює наявність у клінічній педіатрії випадків безсимптомного аліментарного дефіциту кальцію, що призводить до поступової демінералізації кісткової тканини та знижує компенсаторні можливості дитячого організму. Окрім того, доведено, що у здорових дітей молодшого

шкільного віку нерідко спостерігається прихований дефіцит вітаміну D, який впливає на кальцій-фосфорний обмін і структуру клітинних мембран, що може сприяти розвитку захворювань, розглядуваних як преморбідний стан [2; 6; 8].

У дітей із недоїданням частіше виникають важкі інфекційні захворювання через порушення імунної відповіді організму [3]. Недоїдання впливає на кілька аспектів імунної системи, зокрема і клітинну імунну відповідь, вироблення цитокінів і гуморальну реакцію (вироблення антитіл), особливо ту, яка потребує підтримки Т-клітин [9; 13].

У дитячому віці одним із ключових харчових ризиків є шкідливі харчові звички, які найчастіше формуються під впливом сім'ї, засобів масової інформації та шкільного середовища. Шкідливі звички передбачають пропуск прийомів їжі, уживання великої кількості «нездорової» їжі та дотримання деяких дієт. Одним із результатів таких звичок стає неналежне споживання кальцію, що є життєво важливим для молодого організму [7; 8; 13].

Кальцій відіграє важливу роль у багатьох біологічних процесах організму людини: він необхідний для формування структури кісток і зубів, передачі нервових імпульсів, скорочення м'язів, регулювання ферментативної активності та згортання крові [2; 3]. Підвищене споживання кальцію рекомендується немовлятам і дітям для підтримки росту та розвитку, людям похилого віку для профілактики й лікування остеопорозу, а також вагітним і жінкам, які годують, для задоволення підвищених потреб організму [4; 5]. Дієтичні норми кальцію значно різняться в різних країнах. Усесвітня організація охорони здоров'я (далі – ВООЗ) радить вагітним жінкам із регіонів із низьким рівнем споживання кальцію додатково вживати 1,5–2,0 г елементарного кальцію на добу із 20-го тижня вагітності до пологів, щоб знизити ризик розвитку гестозу [12].

Відкладення кальцію в організмі залежить від багатьох чинників, як-от вік, рівень натрію та наявність деяких тваринних білків [10], а також регулюється кальцитоніном [9]. Накопичення кальцію в кістках пов'язане зі швидкістю росту: від народження до 30 років у скелеті щодня відкладається приблизно 150 мг кальцію [11]. У дорослому віці (30–50 років) поглинання кальцію змінюється, залежно від його споживання, а після 50 років баланс кальцію стає негативним, і кістки починають втрачати кальцій [12]. Тому споживання кальцію в дитинстві та підлітковому віці надзвичайно важливе,

оскільки забезпечення організму цим елементом у ранні періоди життя сприяє формуванню позитивного кальцієвого балансу, збільшенню щільності кісток і зміцненню скелета [3], що знижує ризик переломів і остеопорозу в майбутньому [10].

Оскільки організм людини не здатен синтезувати мінерали, їх рівень залежить суто від раціону харчування. З їжі засвоюється лише 20–40% від загальної кількості кальцію. Кальцій міститься в багатьох продуктах, проте молоко та молочні продукти, як-от йогурт, сир і пахта, є найкращими джерелами цього елемента (~1150 мг/л), оскільки в них він легше засвоюється. Кальцій також міститься в деяких овочах, борошні, квасолі, яйцях і рибі. Для окремих груп населення мінеральна вода також може бути додатковим джерелом кальцію [6].

Особливість кальцієвого гомеостазу полягає в тому, що в деяких процесах, як-от побудова кісткової тканини та деякі регуляторні функції, кальцій виконує роль макроелемента. В інших випадках, наприклад у регуляції мембранної збудливості або зв'язку збудження із секрецією, кальцієвий іон діє як мікроелемент [9].

Рекомендації щодо споживання кальцію різняться залежно від віку, статі, а також генетичних і екологічних чинників. Проте всі міжнародні рекомендації підкреслюють важливість достатнього споживання кальцію для підтримки мінеральної щільності кісток. Оптимальне споживання кальцію становить приблизно 1 000 мг на добу для дітей 6–8 років і приблизно 1 300 мг на добу для дітей 9–18 років і підлітків.

Дослідження також показують, що дефіцит кальцію може сприяти виникненню таких хронічних захворювань, як гіпертензія, інсулінорезистентність, ожиріння та рак товстої кишки. У країнах, що розвиваються, кальцій має велике значення для профілактики рахіту, остеомалачії, гіпертензивних розладів під час вагітності, остеопорозу, затримки внутрішньоутробного розвитку та передчасних пологів.

З огляду на важливу роль кальцію та вітаміну D<sub>3</sub> в численних метаболічних процесах у дитячому організмі необхідно більш детально вивчити сучасний рівень щоденного забезпечення цими важливими нутрієнтами дітей різних вікових груп, зокрема дітей молодшого шкільного віку.

**Мета дослідження.** Підвищити ефективність діагностики та своєчасної корекції субклінічного дефіциту кальцію в дітей

молодшого шкільного віку можна через упровадження сучасних методів оцінювання нутритивного статусу, оптимальних діагностичних підходів і ефективною корекції дефіциту кальцію та вітаміну D. Це передбачає модифікацію раціону та використання препаратів кальцію та вітаміну D.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Обстежено 60 школярів, яким було проведено анкетування, яке допомогло оцінити харчову поведінку та харчові звички школярів молодшої школи. Зокрема, з них 20 дітей, які вживають молочні продукти двічі на тиждень, інші 20 – уживають украй рідко, 20 – контрольна група (у яких збалансоване харчування). Середній вік пацієнтів становить  $10 \pm 3$  роки.

Харчовий раціон оцінювали за допомогою комп'ютерної програми "Dietplan7", біохімічні дослідження для визначення загального кальцію, іонізованого кальцію проводили після надання їхніми батьками інформативної згоди на інвазивне втручання.

Для визначення загального кальцію у крові використовували: метод обстеження – колориметричний аналіз. Матеріал дослідження – венозна кров. Аналізатор і тест-система – Cobas 6000; Roche Diagnostics (Швейцарія). Референтні значення, ммоль/л, 2–12 років: 2,2–2,7. Коефіцієнт перерахунку: ммоль/л  $\times 4,01 = \text{мг/дл}$ .

Для визначення іонізованого кальцію у крові використовували: метод обстеження – іоно-селективний аналіз. Матеріал дослідження – венозна кров. Аналізатор і тест-система – AVL 9180; Roche Diagnostics (Швейцарія). Референтні значення: ммоль / 1,16–1,32.

Статистичну обробку одержаних результатів здійснювали за допомогою одержаних даних із використанням методів математичної статистики за допомогою програми "STATISTICA 8,0" (Statsoft, USA).

Результати представлені у вигляді середнього значення та стандартного відхилення. Вірогідними вважали значення за  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Відомо, що рівень кальцію в сироватці крові стабільний протягом різних вікових періодів життя людини (2,25–2,75 ммоль/л), але це не означає, що потреба в цьому елементі також стабільна. Особливо це помітно в «пик» періоду розвитку – у дитячому віці, коли спостерігається найбільший дисонанс між потребою та надходженням в організм кальцію.

Під час проведення аналізу отриманих результатів лабораторних досліджень крові

пацієнтів виявлено вірогідні відмінності показників різних груп (таблиця 1).

Таблиця 1 – Показники кальцію в пацієнтів досліджуваних груп

Групи обстежених		
Контрольна група (n = 20)	Група 1 (n = 20)	Група 2 (n = 20)
Кальцій, ммоль/л		
2,5 $\pm$ 0,12	2,3 $\pm$ 0,46*	2,1 $\pm$ 0,47*#
Іонізований кальцій у крові, ммоль/л		
1,2 $\pm$ 0,34	1,18 $\pm$ 0,56*	1,13 $\pm$ 0,24*#

Примітки:

1) \* – вірогідність відмінності в порівнянні з показниками контрольної групи ( $p < 0,05$ );

2) # – вірогідність відмінності в порівнянні з показниками групи 1 ( $p < 0,05$ ).

Згідно з результатами досліджень рівень кальцію в сироватці крові пацієнтів 1-ї групи ((2,3  $\pm$  0,46) ммоль/л) в 1,09 раза нижче контрольної групи ((2,5  $\pm$  0,12) ммоль/л ( $p < 0,05$ )). Середня його концентрація в сироватці крові пацієнтів 2-ї групи становила (2,1  $\pm$  0,47) ммоль/л, що в 1,2 раза менше за контрольне значення (рис. 1).

Отримані результати досліджень рівня іонізованого кальцію в сироватці крові пацієнтів 1-ї групи ((1,18  $\pm$  0,56) ммоль/л) в 1,02 раза нижче контрольної групи ((1,2  $\pm$  0,34) ммоль/л ( $p < 0,05$ )). Середня його концентрація в сироватці крові пацієнтів 2-ї групи становила (1,13  $\pm$  0,24) ммоль/л, що в 1,06 раза менше за контрольне значення (рис. 1).

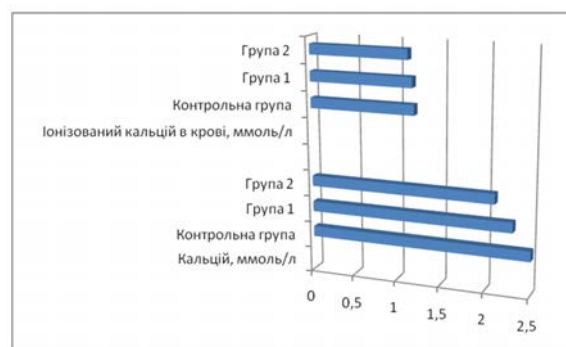


Рис. 1. Зміни рівня кальцію в сироватці крові досліджуваних груп

Примітки: 1) \* – вірогідність відмінності показників у порівнянні з показниками контрольної групи ( $p < 0,05$ );

2) # – вірогідність відмінності показників у порівнянні з показниками групи 1 ( $p < 0,05$ ).

Найвищі позитивні значення коефіцієнта кореляції R за Спірменом спостерігалися між рівнем кальцію у крові та споживанням

йогуртів ( $R = 0,56$ ,  $p < 0,01$ ), що вказує на кореляцію середньої сили між цими показниками. З іншого боку, чинник небажання вживати молоко або сир має найбільший за модулем негативний зв'язок із рівнем кальцію у крові, що підтверджується найменшими значеннями  $R$  серед усіх досліджених чинників. Окрім того, рівень іонізованого кальцію у крові молодших школярів залежав від низки чинників, виявлених під час анкетного опитування на першому етапі нашого дослідження.

Необхідно лише наголосити на необхідності застосування для дітей препаратів, що містять іонізовані форми Са. Рекомендовані добові і максимальні дози елементарного Са наведено в таблиці 2.

Отже, споживання кальцію в дитячому та підлітковому віці має вирішальне значення, оскільки адекватне надходження цього елемента в даний період життєвого циклу сприяє формуванню позитивного кальцієвого балансу, оптимальної щільності кісток, необхідної для зміцнення скелета, а також знижує ризик переломів і остеопорозу в майбутньому [5; 6].

Таблиця 2 – Рекомендовані добові і максимальні дози елементарного Са

Вік	Рекомендовані дози елементарного кальцію (мг/добу)	Максимальна доза кальцію (мг/добу)
0–6 міс.	300	1 000
6–12 міс.	400	1 500
1–3 роки	500	2 500
4–6 років	700	2 500
7–9 років	800	3 000
10–18 років	1 300	3 000

**ВИСНОВКИ.** Харчування є одним із ключових чинників, що сприяє підтримці здоров'я, працездатності, довголіття, творчих здібностей і профілактиці різних захворювань. Раціональне харчування дітей є основною умовою для збереження здоров'я нації. Проте в сучасних соціально-економічних умовах лише в небагатьох людей харчування можна вважати збалансованим. Дефіцит кальцію є серйозною проблемою для здоров'я і пов'язаний із багатьма хворобами, зокрема підвищує ризик загальної захворюваності та смертності у старшому віці.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Weaver C. M., Heaney R. P. Calcium. *Modern Nutrition in Health Disease* / A. C. Ross et al., eds. 11th ed. Baltimore, MD : Lippincott Williams & Wilkins, 2022. P. 133–149.
- Desirable Dietary Pattern for Bangladesh / Q. Nahar et al. Dhaka, Bangladesh : Bangladesh Institute of Research and Rehabilitation in Diabetes, Endocrine and Metabolic Disorders, 2023. № 23. P. 34–67.
- World Health Organization / Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition*. 2nd ed. Geneva, Switzerland : World Health Organization, 2020. № 12. P. 1–34.
- World Health Organization. *Guideline: Calcium Supplementation in Pregnant Women*. Geneva, Switzerland : World Health Organization, 2020. № 23. P. 3–45.
- Bhutta Z. A., Das J. K., Rizvi A. Evidence-based interventions for improvement of maternal and child nutrition: what can be done and at what cost? *Lancet*. 2021. № 382 (9890). P. 452–477.
- Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems / G. J. Hofmeyr et al. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020. P. 56–78.
- Imdad A., Bhutta Z. A. Effects of calcium supplementation during pregnancy on maternal, fetal and birth outcomes. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2022. № 26 (suppl 1). P. 138–152.
- Pre-eclampsia / B. W. Mol et al. *Lancet*. 2021. № 387 (10022). P. 999–1011.
- Institute of Medicine Committee on Understanding Premature Birth and Assuring Healthy Outcome. *Premature Birth: Causes, Consequences, and Prevention*. Washington, DC : National Academies Press, 2020. P. 56–67.
- Calcium supplementation (other than for preventing or treating hypertension) for improving pregnancy and infant outcomes / P. Buppasiri et al. *Cochrane Database Syst Rev*. 2021. P. 79–89.
- Long-term developmental outcomes of low birthweight infants / M. Hack et al. *Future Child*. 2020. № 5 (1). P. 176–196.
- Low intake of calcium and vitamin D, but not zinc, iron or vitamin A, is associated with stunting in 2- to 5-year-old children / M. E. Stuijvenberg et al. *Nutrition*. 2021. № 31 (6). P. 841–846.
- Bueno A. L., Czepliewski M. A. The importance for growth of dietary intake of calcium and vitamin D. *J Pediatr (Rio J)*. 2020. № 84 (5). P. 386–394.

## REFERENCES

- Weaver, C. M., Heaney, R. P. Calcium. In: Ross, A. C., Caballero, B., Cousins, R. J., Tucker, K. I., Ziegler, T. R., eds. (2022). *Modern Nutrition in Health Disease*. 11th ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, (34): 133–149.
- Nahar, Q., Choudhury, S., Faruque, M. O., Sultana, S. S., & Siddiquee, M. A. (2023). Desirable Dietary Pattern for Bangladesh. Dhaka, Bangladesh: Bangladesh Institute of Research and Rehabilitation in Diabetes. *Endocrine and Metabolic Disorders*, (23): 34–67.
- World Health Organization (2020). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition. 2nd ed. Geneva, Switzerland: *World Health Organization*, (12): 1–34.
- World Health Organization (2020). Guideline: Calcium Supplementation in Pregnant Women. Geneva, Switzerland: *World Health Organization*, (23): 3–45.
- Bhutta, Z. A., Das, J. K., & Rizvi, A. (2021). Evidence-based interventions for improvement of maternal and child nutrition: what can be done and at what cost? *Lancet*, 382 (9890): 452–477.
- Hofmeyr, G. J., Lawrie, T. A., Atallah, A. N., Duley, L., & Torloni, M. R. (2020). Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. *Cochrane Database Syst Rev*. (20): 56–78.
- Imdad, A., & Bhutta, Z. A. (2022). Effects of calcium supplementation during pregnancy on maternal, fetal and birth outcomes. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 26 (suppl 1): 138–152.
- Mol, B. W., Roberts, C. T., Thangaratnam, S., Magee, L. A., de Groot, C. J., & Hofmeyr, G. J. (2021). *Pre-eclampsia*. *Lancet*. 387 (10022): 999–1011.
- Institute of Medicine Committee on Understanding Premature Birth and Assuring Healthy Outcome (2020). *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention*. Washington, DC: *National Academies Press*, 56–67.
- Buppasiri, P., Lumbiganon, P., Thinkhamrop, J., Ngamjarus, C., Laopaiboon, M., & Medley, N. (2021). Calcium supplementation (other than for preventing or treating hypertension) for improving pregnancy and infant outcomes. *Cochrane Database Syst Rev*. (23): 79–89.
- Hack, M., Klein, N. K., & Taylor, H. G. (2020). Long-term developmental outcomes of low birthweight infants. *Future Child*. 5 (1): 176–196.
- Stuijvenberg, M. E., Nel, J., Schoeman, S. E., Lombard, C. J., du Plessis, L. M., & Dhansay, M. A. (2021). Low intake of calcium and vitamin D, but not zinc, iron or vitamin A, is associated with stunting in 2- to 5-year-old children. *Nutrition*. 31 (6): 841–846.
- Bueno, A. L., & Czepielewski, M. A. (2020). The importance for growth of dietary intake of calcium and vitamin D. *J Pediatr (Rio J)*. 84 (5): 386–394.

Адреса для листування: М. М. Щурко, Комунальний заклад вищої освіти Львівської обласної ради "Львівська медична академія імені Андрія Крупинського", вул. Дорошенка, 70, Львів, 79000, Україна, e-mail: moyseyivna@ukr.net.

M. M. Shchurko<sup>1</sup>, L. A. Liubinets<sup>1</sup>, N. B. Sopneva<sup>1</sup>, I. Ya. Kuzyk<sup>2</sup>, I. S. Dvuliat-Leshnevskaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ANDREI KRUPYNSKYI LVIV MEDICAL ACADEMY

<sup>2</sup>FIRST KYIV PROFESSIONAL MEDICAL COLLEGE

## SUBCLINICAL CALCIUM DEFICIENCY IN PRIMARY SCHOOL AGE CHILDREN

### Summary

**Introduction.** Rational nutrition, which provides the body with all the necessary nutrients, is an important factor for the development of children and the formation of their health. Today, about 3 billion people in the world, or almost half of the planet's population, suffer from an imbalance in nutrition – both from excess and from insufficient.

Unexpectedly for scientists and doctors, even in periods of relative well-being, a lack of minerals and vitamins was found in people's diet. It is known that, in addition to maintaining the balance of metabolic processes in the body, adequate provision of the need for vitamins and minerals helps to reduce the risk of developing some diseases.

**The aim of the study** – to assess the level of calcium in the blood of children of primary school age. Increase the efficiency of diagnosis and timely correction of subclinical calcium deficiency in children of primary school age.

**Research Methods.** 60 schoolchildren were examined, and a questionnaire was administered, which helped to assess the eating behavior and eating habits of junior high school students. In particular, 20 of them are children who consume dairy products 2 times a week, the other 20 are extremely rare, and 20 are a control group (who have a balanced diet). The average age of patients is 10 ± 3 years.

Dietary assessment was carried out using the Dietplan7 computer program, biochemical studies to determine total calcium, ionized calcium were carried out after their parents gave informed consent for invasive intervention.

**Results and Discussion.** According to the study results, the serum calcium level in patients of group 1 ((2,3 ± 0,46) mmol/L) was 1,09 times lower than in the control group ((2,5 ± 0,12) mmol/L, p < 0,05). The mean serum calcium concentration in patients of group 2 was (2,1 ± 0,47) mmol/L, which is 1,2 times lower than the control value.

The obtained results of ionized calcium levels in the blood serum of patients in group 1 ((1,18 ± 0,56) mmol/L) were 1,02 times lower than in the control group ((1,2 ± 0,34) mmol/L, p < 0,05). The mean ionized calcium concentration in the blood serum of patients in group 2 was (1,13 ± 0,24) mmol/L, which is 1,06 times lower than the control value.

**Conclusions.** Thus, calcium intake during childhood and adolescence is crucial, as adequate intake of this element during this life stage promotes the formation of a positive calcium balance, optimal bone density necessary for skeletal strengthening, and also reduces the risk of fractures and osteoporosis in the future.

KEY WORDS: calcium; schoolchildren; nutrition; deficiency.

## ПРАВИЛА ОФОРМЛЕННЯ СТАТЕЙ

1. Для друку потрібно надсилати статті українською або англійською мовою, в яких публікуються результати оригінальних досліджень, а також інформація про основні наукові проблеми та результати наукових робіт у сфері медицини, біології, фармації, ветеринарної медицини.

2. Під текстом статті обов'язково необхідно вказати прізвище, ім'я, по батькові, місце роботи кожного автора, а також **електронну адресу** автора, з яким можна вести листування і переговори.

3. Електронний варіант статті потрібно зареєструвати в системі OJS на електронній сторінці журналу (сайт <http://ojs.tdmu.edu.ua>) і надіслати на електронну пошту (**journal@tdmu.edu.ua** або **yaroshenko@tdmu.edu.ua**, або **yaroshenkotya@ukr.net**).

4. Обсяг оригінальної статті, включаючи таблиці, рисунки, список літератури, резюме, повинен перевищувати 5 сторінок, обсяг проблемної статті, огляду літератури, лекції – бути більшим 12 сторінок, обсяг короткого повідомлення, рецензії – в межах 5 сторінок.

5. Таблиці, рисунки та інший ілюстративний матеріал потрібно надсилати кожний окремим файлом. Формат файлів для тексту і таблиць – документ MS Word (doc, docx або rtf), для рисунків та іншого ілюстративного матеріалу – jpg, tif, bmp чи pdf. Для формул бажано використовувати редактор формул Microsoft Equation. У підписах до мікрофотографій слід зазначати збільшення і метод фарбування матеріалу. Фотографії повинні бути контрастними, рисунки – чіткими. Таблиці повинні мати короткі заголовки і власну нумерацію. Відтворення одного й того ж матеріалу у вигляді таблиць і рисунків не допускається.

6. Статті треба писати за такою схемою: УДК, ініціали і прізвища авторів українською мовою, повна назва установи українською мовою (великими літерами), назва роботи українською мовою (великими літерами), резюме українською мовою (250–300 слів), яке повинно містити такі структурні елементи, як **вступ, мета дослідження, методи дослідження, результати й обговорення, висновки**, ключові слова українською мовою (до 8), вступ, методи дослідження, результати й обговорення, висновки, список літератури, references, ініціали і прізвища авторів англійською мовою, повна назва установи англійською мовою (великими літерами), назва статті англійською мовою (великими літерами), структуроване резюме англійською мовою (1800 знаків), ключові слова англійською мовою (до 8). Складовими резюме оглядових статей повинні бути **вступ, мета дослідження, висновки**, ключові слова українською мовою (до 8).

7. Текст статті (опис оригінальних та експериментальних досліджень) повинен містити такі розділи, як:

- постановка проблеми в загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими або практичними завданнями;

- аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор; виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми, яким присвячена означена стаття;

- формулювання цілей статті (постановка завдання);

- виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням отриманих наукових результатів;

- висновки з даного дослідження і перспективи подальших досліджень у цьому напрямку.

Кожен із цих розділів потрібно виділити.

8. Усі позначення мір (одиниці різних величин, цифрові дані клінічних і лабораторних досліджень) необхідно подавати відповідно до Міжнародної системи одиниць (СІ) згідно з вимогами групи стандартів ДСТУ 3651-97 "Одиниці фізичних величин". Назви фірм, реактивів і препаратів потрібно наводити в оригінальній транскрипції.

9. В описі експериментальних досліджень слід вказувати вид, стать, кількість тварин, методи анестезії при маніпуляціях, пов'язаних із завданням тваринам болю, метод їх умертвіння. Обов'язковою умовою є гуманне ставлення до тварин при проведенні експериментів.

10. У тексті статті при посиланні на публікацію слід зазначати її номер у порядку згадування у квадратних дужках.

11. Необхідно надсилати два варіанти списку літератури – традиційний і додатковий для закордонних баз даних (references). Перший варіант оформити звичайним способом, згідно з ДСТУ ГОСТ 7.1:2006 – як у дисертаційних роботах. Другий варіант сформувати за стандартом APA – American Psychological Association (<http://www.citethisforme.com>). Він повністю повторює перший, але транслітерований латиницею. У списку латиницею необхідно вказати всіх авторів літературного джерела (ДСТУ ГОСТ 7.1:2006 цього не передбачає). Назву джерела (журналу, книги, конференції) завжди виділяти курсивом.

**Вимоги до оформлення додаткового списку літератури (references):**

**1. Структура бібліографічного посилання на кириличне джерело:**

- прізвище(а) й ініціали автора(ів) (транслітерація);

- рік публікації у круглих дужках ( );

- назва англійською мовою;
- назва джерела (журналу, конференції) англійською мовою;
- вихідні дані (місце видання, сторінки) англійською мовою.

## **2. Алгоритм оформлення блоку references:**

- додати в кінці [in Ukrainian];
- у книзі вказати англійською мовою повне місце видання (скажімо, Київ), назву видавництва транслітерувати.

**ВАЖЛИВО:** в елементах опису можна використовувати лише прямі лапки (") та заборонено замінювати латинські літери кириличними.

### **Зразки оформлення цитувань у стилі APA**

#### **Стаття в журналі**

Прізвище(а) й ініціали автора(ів) транслітеровані. (Рік публікації). *Назва статті англійською мовою. Назва журналу англійською мовою, том, номер, випуск, сторінка(и).*

**Приклад:**

Author, A.A. (2015). Title of article. *Library science. Document science. Informology*, 4 (1), 121-135 [in Ukrainian].

Один автор – Author, A.A.

Два автори – Author, A.A., & Author, B.B.

Від трьох до семи авторів – Author, A.A., Author, B.B., Author, C.C., Author, D.D., Author, E.E., Author, F.F., & Author, G.G.

Більше семи авторів – Author, A.A., Author, B.B., Author, C.C., Author, D.D., Author, E.E., Author, F.F., ... Author, Z.Z.

#### **Книга**

Прізвище(а) й ініціали автора(ів) транслітеровані. (Рік публікації). Назва книги англійською мовою. Місто англійською мовою: Назва видавництва транслітерована.

**Приклад:**

Author, A.A. (2015). *Title of book*. Kyiv: Naukova dumka [in Ukrainian].

Author, A.A. (2015). Subtitle. In *Title of book* (Vol. 10, pp. 33–44). Kyiv: Naukova dumka [in Ukrainian].

#### **Дисертація, автореферат дисертації**

Назву дисертації перекласти. Обов'язково вказати PhD dissertation, Extended abstract of PhD dissertation, Master's thesis. Навести або правильний офіційний переклад назви установи, або транслітерацію назви.

**ВАЖЛИВО:** краще посилатися на повний текст дисертації, а не на автореферат.

**Приклад:**

Author, A.A. (2015). *Title of dissertation. PhD dissertation (Social Communication)*. Kharkiv State Academy of Culture, Kharkiv [in Ukrainian].

Author, A.A. (2015). *Title of dissertation. Extended abstract of PhD dissertation (Social Communication)*. Kharkiv State Academy of Culture, Kharkiv [in Ukrainian].

#### **Тези доповідей, матеріали конференцій**

Тези доповідей – *Abstracts of Papers*.

Матеріали (труди) конференцій – *Proceedings of the Conference Name*.

Матеріали з Міжнародної конференції/симпозіуму/з'їзду... – *Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Conference/Symposium/Congress...*

**Приклад:**

Author, A.A. (2015). Title of the article. *Abstracts of Papers. Conference Name*. Kyiv, June 1–3. 2015. (pp. 29-42). Kyiv: VNLU [in Ukrainian].

Author, A.A. (2015). Title of the article. In *Title of book* (якщо є): *Proceedings of the Conference*. Kyiv, June 1–3. 2015. (pp. 29–42). Kyiv: VNLU [in Ukrainian].

12. Редакція виправляє орфографічні, пунктуаційні та стилістичні помилки, усуває зайві ілюстрації, при потребі скорочує текст.

13. Статей, оформлених без дотримання наведених правил, не реєструють. Перш за все друкують статті передплатників журналу, а також матеріали, що замовлені редакцією.

14. Автор несе повну відповідальність за достовірність даних, наведених у статті, й списку літератури.

15. Публікація статей платна. Оплата здійснюється після рецензування статті (необхідно надсилати рецензії двох незалежних експертів, які є докторами наук із цієї тематики).

Наукове видання

**МЕДИЧНА ТА КЛІНІЧНА ХІМІЯ**

Науковий журнал

**MEDICAL AND CLINICAL CHEMISTRY**

Scientific Journal

**4(102)<sup>ТОМ 26</sup>  
2024**

Коректура • Ірина Миколаївна Чудеснова

Комп'ютерна верстка • Наталія Сергіївна Кузнєцова

Формат 60x84/8. Гарнітура Arimo. Підписано до друку: 30.12.2024.  
Папір офсет. Цифровий друк. Ум. друк. арк. 7,67. Замов. № 0225/112. Наклад 300 прим.

Видавництво і друкарня – Видавничий дім «Гельветика»  
65101, Україна, м. Одеса, вул. Інглєзі, 6/1  
Телефон +38 (095) 934 48 28, +38 (097) 723 06 08  
E-mail: mailbox@helvetica.ua  
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи  
ДК № 7623 від 22.06.2022 р.